Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби

УДК 581.9:582.635.38 (574.51)(043.3) на правах рукописи

ЕДИЛОВА АЙГУЛЬ КАНАТОВНА

Современное состояние популяций *Humulus lupulus* L. в условиях Алматинской области и перспективы их использования

8D05108 – Геоботаника

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Отечественный научный консультант:
к.б.н., профессор Инелова З.А.

Зарубежный научный консультант:
к.б.н. Куцев М.Г.

Республика Казахстан
Алматы, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ..... 4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ..... 5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ……..... 6
ВВЕДЕНИЕ…….. 7
1 **ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**..... 11
1.1 Степень изученности и современное состояние исследований популяции *Humulus lupulus* L.……..... 11
1.2 Места произрастания и ареал распространения популяций *Humulus lupulus* L.…..... 14
1.3 Физико-географическая характеристика Алматинской и Жетысуской областей..... 17
1.4 Фитохимическая и медико-биологическая изученность растений рода *Humulus lupulus* L..... 20
1.5 Использование молекулярно-генетических методов в исследовании *Humulus lupulus* L. ……..... ……..... 23
2 **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**……..... 26
2.1 Объекты и районы исследования ….….... 26
2.2 Методы исследований .....…..... 30
2.2.1 Методы геоботанического исследования ценопопуляций *Humulus lupulus* L..... 30
2.2.2 Методы анализа почвенных образцов 38
2.2.3 Методы фитохимического исследования..... 39
2.2.4 Методы исследования антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L..... 58
2.2.5 Методы молекулярно-генетического исследования популяций *Humulus lupulus* L..... 76
2.2.6 Статистическая обработка полученных данных..... 82
3 **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ**…..... 84
3.1 Современное состояние популяций *Humulus lupulus* L. в условиях Алматинской и Жетысуской областей..... 84
3.1.1 Эколого-ценотическая характеристика растительных сообществ... 85
3.1.2 Флористический состав растительного сообществ, в пределах которых произрастает популяция *Humulus lupulus* L..... 98
3.1.3 Структура и численность популяций *Humulus lupulus* L..... 106
3.1.4 Физико-химические свойства почв ценопопуляций *Humulus lupulus* L..... 119
3.2 Фитохимический анализ растения *Humulus lupulus* L. и его основных химических компонентов..... 125
3.3 Антимикробная и фунгицидная активность экстрактов *Humulus lupulus* L..... 146

3.4 Молекулярно-генетическая характеристика образцов *Humulus lupulus* L. из исследованных популяций..... 152
3.5 Филогенетический анализ *Humulus lupulus* L. на основе маркеров *ITS, rbcL, matK* и *trnH–psbA*..... 157
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……... 159
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ……... 164
ПРИЛОЖЕНИЕ А…… 173

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

Данная диссертация написана и оформлена в соответствии со следующими стандартами:

ГОСТ 7.12-93 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.32-2017 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.9-95 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 7.82-2001. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Библиографические описание электронных ресурсов. Общие правила составления.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Гербарий (*herbarium*) - научно оформленная коллекция высушенных и систематизированных образцов растений, используемая для документирования флористических находок, подтверждения таксономической принадлежности и хранения эталонного материала.

Индивид - отдельная особь растения, являющаяся элементарной структурной единицей популяции и объектом морфологического и онтогенетического анализа.

Популяция - совокупность особей одного вида, произрастающих на определённой территории и объединённых общностью происхождения, условий обитания и воспроизводства.

Ценопопуляция - часть популяции вида, функционирующая в пределах конкретного растительного сообщества (фитоценоза) и характеризующаяся определённой численностью, плотностью и структурой.

Фитоценоз - исторически сложившееся растительное сообщество, характеризующееся определённым видовым составом, структурой и эколого-ценотическими связями.

Флористический состав фитоценоза - совокупность видов растений, входящих в состав растительного сообщества и определяющих его таксономическую структуру.

Жизненная форма - устойчивый морфологический тип растения, отражающий особенности его роста и приспособленность к условиям среды.

Жизненное состояние - стадия онтогенеза растения, характеризующая его морфофизиологическое состояние и участие в структуре ценопопуляции.

Плотность популяции - количество особей вида, приходящееся на единицу площади, используемое для оценки состояния и пространственной организации популяции.

Ценотическая приуроченность - приуроченность вида или популяции к определённым типам растительных сообществ, обусловленная экологическими условиями местообитания.

Фитохимический состав - совокупность биологически активных соединений, содержащихся в растительном сырье и определяющих его фармакологические свойства.

Антимикробная активность - способность экстрактов или отдельных соединений подавлять рост и развитие микроорганизмов, используемая как показатель биологической активности растительного сырья.

GPS (Global Positioning System) - спутниковая навигационная система, применяемая для определения географических координат и пространственного положения исследуемых популяций в ходе полевых работ.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

БАВ — биологически активные вещества

ООН — Организация Объединённых Наций

ГХ/МС — газовая хроматография–масс-спектрометрия

ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография

МС — масс-спектрометрия

RT — время удерживания (retention time)

OD — оптическая плотность (optical density)

УФ — ультрафиолетовое излучение

MIC — минимальная ингибирующая концентрация

MBC — минимальная бактерицидная концентрация

MFC — минимальная фунгицидная концентрация

ATCC — Американская коллекция типовых культур микроорганизмов

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР — полимеразная цепная реакция

ITS — внутренний транскрибируемый спейсер ядерной ДНК

rbcL — маркер пластидной ДНК

matK — маркер пластидной ДНК

trnH–psbA — межгенный спейсер пластидной ДНК

CTAB — цетилтриметиламмонийбромид

BLAST — инструмент поиска сходства нуклеотидных последовательностей

MEGA — программный пакет для молекулярно-эволюционного анализа

ЦП — ценопопуляция

МСОП / IUCN — Международный союз охраны природы

pH — водородный показатель

GPS — глобальная система позиционирования

GIS — географическая информационная система

QGIS — программный пакет геоинформационного анализа

ArcGIS — программный комплекс геоинформационного картографирования

J — коэффициент флористического сходства Жаккара

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работ. Настоящая работа посвящена комплексному изучению современного состояния природных популяций *Humulus lupulus* L., произрастающих на территории Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан, с учётом их эколого-географических, ценотических, морфологических, фитохимических и молекулярно-генетических особенностей. Особое внимание уделено оценке устойчивости популяций хмеля обыкновенного в условиях естественного ареала, а также анализу факторов среды, определяющих их пространственное распределение и популяционную структуру. В рамках исследования рассматриваются перспективы рационального использования природных популяций *Humulus lupulus* L. как ценного растительного сырья для фармацевтической, пищевой и биотехнологической отраслей с одновременным учётом задач сохранения биоразнообразия и генетического потенциала вида. Полученные результаты направлены на формирование научно обоснованных рекомендаций по охране и устойчивому использованию природных ресурсов хмеля обыкновенного в условиях юго-востока Казахстана.

Актуальность исследования. В настоящее время во всём мире наблюдается устойчивая тенденция к расширению использования в медицине натуральных лекарственных средств и биологически активных веществ растительного происхождения. Существенную долю фармакологического сырья по-прежнему составляют дикорастущие лекарственные растения, запасы которых формируются исключительно в природных экосистемах. При этом потребность в лекарственном растительном сырье не только сохраняется, но и возрастает, тогда как существующие технологии его заготовки, воспроизводства и рационального использования в природных условиях во многих случаях остаются недостаточно совершенными. Известно, что препараты растительного происхождения обладают более мягким, комплексным и физиологически сбалансированным действием на организм человека по сравнению с синтетическими аналогами, что определяет их широкое применение при лечении хронических заболеваний. *Humulus lupulus* L. (хмель обыкновенный) относится к числу ценных лекарственных растений с выраженной фармакологической активностью [1]. Препараты на его основе применяются в качестве болеутоляющих, седативных и снотворных средств, а также при повышенной нервной возбудимости, нарушениях сна, невралгиях, вегетососудистой дистонии, функциональных нарушениях сердечно-сосудистой системы, тахикардии и на ранних стадиях гипертонической болезни. Согласно классификации ресурсов лекарственных растений, *Humulus lupulus* L. характеризуется широким ареалом распространения, однако отличается ограниченными природными запасами сырья, поскольку в естественных условиях не образует обширных и плотных зарослей [2].

В последние годы в изучении природных популяций растений всё более широко применяется комплексный подход, сочетающий онтоморфологические,

популяционно-экологические, эколого-ценотические и пространственные методы исследования. Такой подход позволяет объективно оценивать современное состояние вида в составе растительных сообществ и выявлять особенности его пространственной организации в различных экологических условиях.

В связи с изложенным, комплексное изучение природных популяций *Humulus lupulus* L. в условиях Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан, включая анализ их эколого-ценотических особенностей, популяционной структуры и ресурсного потенциала, является актуальной научной задачей и имеет важное теоретическое и практическое значение. В последнее время в изучении природных популяций растений применяется комплексный подход, включающий онтоморфологические и популяционно-экологические исследования. Это позволяет комплексно оценить современное состояние вида и особенности его существования в растительных сообществах.

Цель исследования. Целью настоящего исследования является комплексная оценка современного состояния природных популяций *Humulus lupulus* L. на территории Алматинской и Жетысуской областей на основе анализа эколого-ценотических условий произрастания, структурной организации ценопопуляций, фитохимических характеристик растительного сырья и молекулярно-генетической характеристики исследованных образцов.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать места произрастания и ареал распространения популяций *Humulus lupulus* L.
2. Исследовать флористический состав популяций *Humulus lupulus* L.
3. Изучить структурные особенности ценопопуляций *Humulus lupulus* L. (численность, плотность).
4. Провести фитохимическое исследование *Humulus lupulus* L.
5. Оценить особенности применения молекулярно-генетических методов при изучении генетической структуры популяций *Humulus lupulus* L.
6. Дать комплексную оценку состояния изученных природных популяций *Humulus lupulus* L.

Объект исследования: Объектом исследования являлись природные популяции *Humulus lupulus* L., произрастающие на территории Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан, в пределах г. Алматы, Талгарского, Енбекшиказахского, Сарканского и Алакольского районов.

Методы исследования: В работе использован комплекс взаимодополняющих методов, включающий геоботанические, почвенно-аналитические, фитохимические, микробиологические, молекулярно-генетические и статистические подходы. Геоботанические исследования проводились маршрутно-рекогносцировочным методом [13–14] с закладкой пробных площадей, описанием фитоценозов, определением видового состава, обилия и структуры ценопопуляций. Определение видов осуществлялось по сводкам «Флора Казахстана» (т. 1–9) [15–16], «Определитель растений Средней Азии» [17], «Иллюстрированный определитель» (т. 1–2) [17]. Номенклатура

уточнялась согласно базе Plants of the World Online (POWO) [20]; редкие виды проверялись по Красной книге Республики Казахстан [19]. Картографирование выполнено в программах QGIS и ArcGIS 10.8.2. Почвенно-аналитические исследования включали определение морфологических и агрохимических показателей почв исследуемых участков. Фитохимический анализ надземных органов *Humulus lupulus* L. проводился с использованием водных и 50 % водно-спиртовых экстрактов. Качественный и количественный состав биологически активных соединений определяли методами ВЭЖХ и ГХ-МС. Антимикробная активность оценивалась методом серийных разведений в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans* с определением минимальных ингибирующих, бактерицидных и фунгицидных концентраций. Молекулярно-генетические исследования включали выделение ДНК методом CTAB, амплификацию маркеров *ITS, matK, rbcL* и *psbA–trnH*, секвенирование, множественное выравнивание последовательностей с использованием алгоритма MUSCLE и филогенетическую реконструкцию байесовским методом в программе MrBayes 3.1.23.

Научная новизна исследования. Впервые для природных популяций *Humulus lupulus* L., произрастающих на территории Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан, проведено комплексное эколого-геоботаническое, фитохимическое, антимикробное и молекулярно-генетическое исследование, позволяющее всесторонне оценить их современное состояние, биологическую активность и перспективы рационального использования.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Полученные в ходе исследования результаты расширяют научные представления об эколого-ценотических особенностях, фитохимическом составе, антимикробной активности и молекулярно-генетических характеристиках *Humulus lupulus* L. в условиях юго-востока Казахстана.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных при разработке научно обоснованных рекомендаций по сохранению и рациональному использованию природных ресурсов хмеля, а также в фармакогнозии, фитохимии, биотехнологии и в образовательном процессе при подготовке специалистов биологического и медицинского профиля.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Природные популяции *Humulus lupulus* L. в Алматинской и Жетысуской областях характеризуются выраженной эколого-ценотической дифференциацией, обусловленной климатическими и почвенными условиями.
2. Структура и численность ценопопуляций *Humulus lupulus* L. различаются в зависимости от условий местообитаний и отражают особенности их современного состояния.
3. Дикорастущий *Humulus lupulus* L. исследуемого региона содержит широкий спектр биологически активных соединений, а полученные

экстракты проявляют антимикробную активность в отношении отдельных тест-штаммов микроорганизмов.

4. Молекулярно-генетический анализ с использованием ядерного маркера *ITS* и хлоропластных маркеров *matK, rbcL* и *psbA–trnH* подтвердил таксономическую принадлежность исследованных образцов к *Humulus lupulus* L. и позволил оценить их филогенетическое положение.
5. Полученные эколого-геоботанические, фитохимические и молекулярно-генетические данные могут быть использованы при разработке рекомендаций по сохранению и рациональному использованию природных популяций *Humulus lupulus* L.

Публикации. Основные результаты диссертационного исследования отражены в 8 печатных работах, в том числе:

- 1 статья, опубликованная в международном рецензируемом научном журнале, индексируемом в базе данных Scopus и имеющем импакт-фактор по данным SJR = 0,594 (Q1, 82-й процентиль);
- 3 статьи в научных изданиях, входящих в перечень журналов, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (КОКСНВО МНВО РК).;
- 3 тезиса докладов в материалах международных научных конференций;
- 1 патент.

Личный вклад докторанта заключался в планировании и выполнении полного комплекса полевых, лабораторных и аналитических исследований по теме диссертации. Автором осуществлены сбор, систематизация и анализ исходных данных, проведение геоботанических, фитохимических, антимикробных и молекулярно-генетических исследований, статистическая обработка и интерпретация результатов, их научное обобщение, подготовка и публикация научных работ, а также написание и оформление диссертационной работы.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 177 страницах и включает следующие разделы: обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, список использованных источников и приложения. Список использованных источников включает 169 наименования, из которых 132 представлены на английском языке. Работа содержит 26 таблиц, 52 рисунка и 1 приложение.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Степень изученности и современное состояние исследований популяции *Humulus lupulus* L.

Современная биомедицина и фармацевтика функционируют в условиях нарастающих биологических и технологических вызовов, среди которых особое место занимают снижение эффективности антибактериальных препаратов, рост хронических воспалительных и метаболических патологий, а также необходимость перехода к устойчивым моделям использования природных ресурсов. В этих условиях возрастает интерес к растительным источникам биологически активных веществ, поскольку они представляют собой результат длительной эволюции химических защитных и регуляторных механизмов.

Вторичные метаболиты растений формируют сложные многокомпонентные системы, способные взаимодействовать с различными физиологическими мишенями. Именно поэтому растительные экстракты и индивидуальные фитохимические соединения рассматриваются как основа для разработки новых лекарственных форм, отличающихся высокой биологической активностью при относительно низкой токсичности [3].

В данном контексте *Humulus lupulus* L. представляет собой уникальный объект, сочетающий хозяйственную значимость с выраженным фармакологическим потенциалом. Хмель является не только агрокультурой пивоваренной промышленности, но и природным продуцентом широкого спектра биологически активных веществ, формирующихся в естественных экосистемах. Такое двойственное положение вида обусловливает необходимость его рассмотрения одновременно как экономического ресурса и как элемента природных биогеоценозов.

Использование хмеля в лечебных и ферментационных целях имеет древние корни, однако систематические научные исследования начались лишь после включения вида в ботаническую номенклатуру XVIII века. В дальнейшем хмель стал объектом интенсивных морфологических, анатомических и эколого-географических исследований, в результате которых была выявлена высокая внутривидовая вариабельность и способность растения адаптироваться к широкому диапазону природных условий [4].

Современная систематика относит род Humulus к семейству Cannabaceae и выделяет в его составе два вида. При этом *Humulus lupulus* L. характеризуется выраженной пространственной и генетической неоднородностью, обусловленной географической изоляцией популяций и локальными адаптациями. Это проявляется в различиях морфологии, фенологии и биохимического профиля растений в разных регионах.

Фитохимический потенциал хмеля является одним из наиболее изученных среди лекарственных растений умеренной зоны. В тканях растения синтезируется большое количество соединений, включая горькие кислоты, пренилированные флавоноиды и летучие компоненты эфирных масел. Эти вещества участвуют в регуляции микробиологических, воспалительных и

нейрофизиологических процессов, что объясняет их широкое фармакологическое применение [5].

Особый интерес представляют пренилированные флавоноиды, которые демонстрируют выраженную антимикробную, гормоноподобную и нейромодулирующую активность. Их роль в механизмах защиты растения и взаимодействии с окружающей средой делает эти соединения перспективными объектами биомедицинских исследований.

Развитие молекулярных методов позволило перейти от морфологических к генетическим критериям оценки внутривидового разнообразия *Humulus lupulus* L. Применение молекулярных маркеров выявило наличие регионально дифференцированных генетических линий, отражающих исторические процессы расселения и локальной адаптации вида. Это подтверждает, что природные популяции являются ключевым носителем эволюционного потенциала хмеля.

Экологически хмель связан преимущественно с увлажнёнными местообитаниями - поймами рек, луговыми и опушечными сообществами. Он формирует устойчивые ценопопуляции с развитой вегетативной и генеративной структурой, оказывая влияние на устойчивость почв и микроклимат биотопов.

Современные изменения климата и антропогенная трансформация ландшафтов приводят к фрагментации природных местообитаний хмеля и нарушению его популяционной структуры. Это создаёт риски утраты генетического и биохимического разнообразия, особенно в регионах с высокой экологической контрастностью.

Современные направления изучения *Humulus lupulus* L. связаны с комплексной оценкой его биологических свойств, экологической устойчивости и возможностей практического использования. Мировые исследования последних лет фокусируются на влиянии климатических факторов на продуктивность и химический состав хмеля. Согласно данным Mozny et al. (2023), повышение температуры и сокращение количества осадков в Европе привели к снижению содержания альфа-кислот, что делает актуальными работы по поиску устойчивых популяций и адаптивных форм растения [6].

В Казахстане *Humulus lupulus* L. представляет особый интерес как перспективный лекарственный вид с высоким генетическим и биохимическим потенциалом. Комплексное изучение его природных популяций в Алматинской и Жетысуской областях позволяет оценить современное состояние популяций, особенности их экологической адаптации и перспективы рационального использования природных ресурсов.

Научная значимость исследования обусловлена тем, что природные популяции *Humulus lupulus* L. формируются под влиянием различных экологических факторов, включая климатические условия, увлажнение, состав почв и структуру растительных сообществ, что оказывает влияние на морфологические особенности растений и синтез биологически активных соединений.

Природные популяции хмеля представляют особую ценность как источник естественного генетического и химического разнообразия, поскольку развиваются в естественных условиях без селекционного воздействия. Это создаёт предпосылки для выявления перспективных форм и биологически активных хемотипов, представляющих интерес для фармакологии и рационального использования растительных ресурсов. С позиции молекулярной экологии хмель является удобной моделью для изучения процессов генетической дифференциации и локальной адаптации. Ограниченный перенос пыльцы и семян между удалёнными популяциями способствует формированию региональных генетических структур, отражающих историю расселения и приспособления вида. Такие различия могут проявляться не только на уровне ДНК-маркеров, но и в особенностях метаболизма, устойчивости к патогенам и реакции на стрессовые факторы среды.

Для территории Казахстана данная проблематика приобретает особую актуальность в связи с выраженной контрастностью природных условий. Предгорные и пойменные экосистемы Алматинской и Жетысуской областей отличаются высокой мозаичностью микроклиматов, почвенного покрова и растительных сообществ. Популяции *Humulus lupulus* L., сформировавшиеся в этих условиях, потенциально могут содержать уникальные сочетания генетических и биохимических признаков, представляющие интерес как для фармакологии, так и для селекционных программ.

Современное состояние природных местообитаний *Humulus lupulus* L. характеризуется усилением антропогенного воздействия, включая урбанизацию, изменение землепользования и рекреационную нагрузку, что приводит к фрагментации популяций и снижению их устойчивости. В связи с этим возрастает необходимость комплексного мониторинга природных популяций, включающего оценку их численности, генетического разнообразия и фитохимических особенностей. Особый интерес представляет изучение взаимосвязи между экологическими условиями, генетической структурой популяций и накоплением биологически активных веществ, что имеет важное значение для рационального использования *Humulus lupulus* L. как перспективного лекарственного растения [7].

Углублённое изучение *Humulus lupulus* L. на основе интеграции геоботанических, молекулярно-генетических и фитохимических данных является необходимым условием формирования научно обоснованной системы его использования как лекарственно-сырьевого и биоресурсного вида в условиях Казахстана и сопредельных территорий. Такой подход обеспечивает переход от фрагментарных описаний к целостному пониманию механизмов, определяющих пространственную, генетическую и биохимическую дифференциацию популяций.

Анализ степени изученности *Humulus lupulus* L. показывает, что при высоком уровне исследования его фитохимических и фармакологических характеристик в мировом масштабе эколого-ценотические, популяционно-генетические и регионально-специфические особенности вида на территории

Казахстана остаются недостаточно изученными. В связи с этим проведение комплексных исследований, объединяющих геоботанические, молекулярно-генетические и фитохимические подходы, является научно обоснованным и практически значимым, поскольку формирует основу для сохранения генетического разнообразия и устойчивого использования природных популяций хмеля в условиях изменяющегося климата и усиливающегося антропогенного воздействия.

1.2 Места произрастания и ареал распространения популяций *Humulus lupulus* L.

Humulus lupulus L. (хмель обыкновенный) — многолетняя двудомная травянистая лиана рода Humulus семейства Cannabaceae Martinov (коноплёвые), порядка Rosales. Представители семейства Cannabaceae характеризуются наличием раздельнополых цветков, развитых секреторных (железистых) структур и способностью к синтезу широкого спектра биологически активных вторичных метаболитов, что определяет их экологическую адаптивность и фармакологическую значимость [8–9].

В природных условиях *Humulus lupulus* L. является типичным компонентом увлажнённых фитоценозов умеренной зоны Северного полушария и характеризуется выраженной эколого-ценотической приуроченностью к местообитаниям с достаточным водообеспечением и наличием опорной растительности. Вид распространён в поймах рек, оврагах, на влажных лугах, в кустарниковых зарослях и галерейных лесах. Оптимальные условия произрастания связаны с рыхлыми, хорошо аэрируемыми и богатыми органическим веществом почвами с нейтральной или слабокислой реакцией среды, что обеспечивает интенсивный вегетативный рост, активное развитие корневой системы и формирование устойчивых локальных ценопопуляций [10].

Согласно современным ботанико-географическим представлениям, нативный ареал *Humulus lupulus* L. охватывает обширную территорию умеренной зоны Евразии — от Западной и Центральной Европы до Сибири (включая её западные и восточные регионы) и сопредельных территорий Восточной Азии. В Северной Америке вид представлен как автохтонными формами комплекса *Humulus lupulus* L., так и натурализованными популяциями европейского происхождения, вышедшими из культуры. Помимо естественного распространения, хмель широко интродуцирован и культивируется в различных регионах с умеренным климатом, что значительно расширило его современный ареал и хозяйственное значение [11–12].

Географическое распространение *Humulus lupulus* L., включающее территории его естественного произрастания, а также основные регионы интродукции и культивирования, представлено на рисунке 1. Распространение вида в различных географических регионах связано с широким диапазоном условий его произрастания.

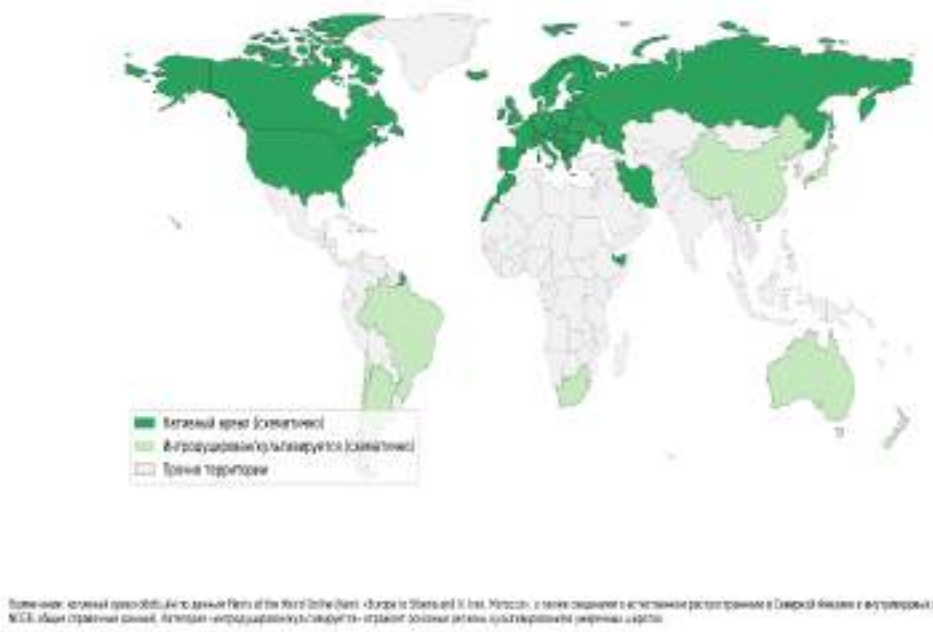
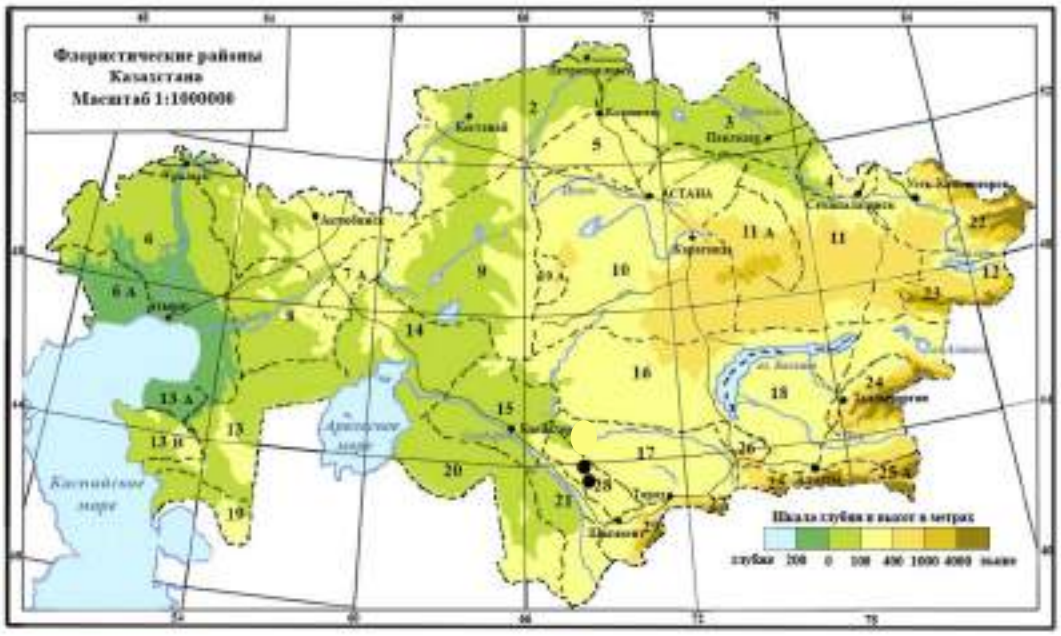


Рисунок 1 — Мировой ареал распространения *Humulus lupulus* L.

Как видно на карте (рисунок 1), основные массивы природных популяций приурочены к умеренно-влажным широтам Северного полушария. В Евразии хмель образует протяжённую, но мозаично структурированную полосу распространения, включающую Центральную и Восточную Европу, Сибирь и предгорные районы Восточной Азии. В Северной Америке вид распространён преимущественно в восточных и северо-западных регионах, где климатические условия сходны с евразийскими местообитаниями хмеля.



1 — Общие Сыртовые возвышенности; **2 — Тобол–Есильский район**; **3 — Иртышский район; 4 — Семей–Бурабайский район;** 5 — Кокшетауский район; 6 — Каспийский район; 6а — Букеевский район; 7 — Актюбинский район; 7а — Мугалжарский район; 8 — Эмбинский район; 9 —

Торгайский район; 10 — Западный мелкосопочник; 10а — Улытауский район; 11 — Восточный мелкосопочник; 11а — Каркаралинский район; 12 — Зайсанский район; 13 — Северный Устюрт; 13а — Бозащинский район; 13б — Мангышлакский район; 14 — Приаралье; 15 — Кызылординский район; 16 — Бетпак-Дала; 17 — Мойынкум; 18 — Балхаш–Алаколь; 19 — Южный Устюрт; 20 — Кызылкум; 21 — Туркестанский район; **22 — Алтай; 23 — Тарбагатай; 24 — Джунгарский Алатау; 25 — Заилийский Алатау; 25а — Кетмень–Терскей Алатау; 26 — Шу-Илийские горы;** 27 — Кыргызский Алатау; 28 — Каратау; 29 — Западный Тянь-Шань.

Рисунок 2 - Районы распространения *Humulus lupulus* L. в пределах флористических районов Казахстана (на основе флористического районирования Казахстана).

Как показано на рисунке 2, распространение *Humulus lupulus* L. на территории Казахстана носит очаговый характер и приурочено преимущественно к юго-восточной части страны, охватывая отдельные флористические районы. Основные участки произрастания вида локализованы в зоне предгорий и межгорных понижений, а также в долинах рек, где формируются наиболее благоприятные условия по увлажнению и микроклимату. В рамках настоящего исследования устойчивые природные популяции *Humulus lupulus* L. выявлены в пределах Алматинской и Жетысуской областей, что полностью согласуется с данными флористического районирования, представленными на рисунке 2. В этих регионах хмель приурочен к пойменным, долинным и предгорным экосистемам, включая речные террасы, овраги, галерейные леса и кустарниково-травянистые сообщества. Пространственное распределение популяций обусловлено сочетанием континентального климата, сезонной изменчивости температурного режима и вариабельного увлажнения. Такие условия способствуют формированию локальных ценопопуляций *Humulus lupulus* L., адаптированных к специфическим эколого-ценотическим условиям юго-востока Казахстана. Ограниченность ареала и мозаичность распространения вида подчёркивают его зависимость от гидрологических факторов и подтверждают необходимость детального популяционно-экологического анализа в пределах выявленных флористических районов [13]. Экологическая мозаичность этих территорий, обусловленная сочетанием горного рельефа, развитой гидрографической сети и разнообразия почвенного покрова, способствует формированию внутривидовой дифференциации *Humulus lupulus* L. В таких условиях популяции могут различаться по плотности, возрастной структуре и морфолого-биохимическим признакам, что определяет их потенциальную ценность как источника генетического и фитохимического разнообразия.

В целом анализ мест произрастания и ареала распространения *Humulus lupulus* L. показывает, что данный вид является характерным компонентом увлажнённых фитоценозов умеренной зоны и отличается широким, но пространственно фрагментированным распространением. Природные популяции Алматинской и Жетысуской областей занимают южный фрагмент евразийской части ареала и представляют особый интерес для изучения

адаптивных и биоресурсных характеристик хмеля в условиях континентального климата.

1.3 Физико-географическая характеристика Алматинской и Жетысуской областей

Благодаря своим антимикробным, антиоксидантным и адаптационным свойствам хмель (*Humulus lupulus* L.) рассматривается как перспективный вид в органическом земледелии и фармакологии. Его использование позволяет снижать зависимость агросистем от синтетических химических средств, что особенно важно для устойчивого сельского хозяйства и производства экологически чистых продуктов. Высокая экологическая пластичность хмеля делает его перспективным кандидатом для культивирования в регионах со сложными климатическими условиями, включая Средиземноморье и Центральную Азию [17].

В Казахстане Жетысуская и Алматинская области, обладающие разнообразием ландшафтов и высоким уровнем биоразнообразия, рассматриваются как ключевые регионы для изучения и сохранения лекарственных растений. Среди них хмель выделяется как ценное растение не только для фармацевтической промышленности, но и для народной медицины благодаря своим седативным, противовоспалительным и антисептическим свойствам. Он активно используется для лечения бессонницы, тревожных состояний, а также как средство, поддерживающее пищеварение. С учётом роли этого растения в региональных экосистемах и его лечебного потенциала крайне важно сохранять популяции хмеля и рационально управлять природными ресурсами, обеспечивая устойчивое существование вида и сохранение его полезных компонентов.

Полевые исследования экосистем юго-восточного Казахстана показали, что *Humulus lupulus* L. обладает высокой экологической пластичностью и способен адаптироваться к широкому спектру почвенных условий, характерных для Алматинской области. Полученные данные указывают на перспективность расширения его культивирования и использования в медицинской практике.

Важной задачей является разработка устойчивых эколого-экономических методов использования этого ресурса, что будет способствовать сохранению природного наследия и повышению эффективности производства лекарственного сырья.

В последние годы отмечается рост интереса медицины и фармацевтики к лекарственным средствам и биологически активным веществам растительного происхождения. Значительная часть сырья поступает из дикорастущих растений, однако технологии их заготовки и воспроизводства остаются недостаточно совершенными (Frontiers in Pharmacology, 2024). Лекарственные растения характеризуются мягким и комплексным воздействием на организм, что определяет их эффективность при лечении хронических заболеваний. В то же время усиление антропогенного воздействия приводит к сокращению

природных ресурсов, что обусловливает необходимость углублённого изучения их химического состава, биологических свойств и возможностей устойчивого использования [22].

Хмель обыкновенный (*Humulus lupulus* L.) — ценное растение, широко применяемое как анальгезирующее и успокаивающее средство, а также при лечении различных нарушений сна. В народной и официальной медицине он используется при нервном перенапряжении, бессоннице, невралгии, дисфункции вегетативной нервной системы, спазмах коронарных сосудов, тахикардии и на ранних стадиях гипертонической болезни [23].

Согласно оценкам ресурсов лекарственных растений, *Humulus lupulus* L. — это вид с широким ареалом распространения, но с ограниченными запасами сырья в естественных популяциях, что делает актуальными меры по его сохранению и рациональному использованию.

Humulus lupulus L. (хмель обыкновенный) — многолетняя травянистая лиана, относящаяся к семейству Cannabaceae и являющаяся одним из трёх видов рода Humulus. Это растение двудомное: мужские и женские цветки обычно формируются на разных особях, хотя в отдельных случаях встречаются однодомные экземпляры [24].

Цветки мелкие, опыление происходит преимущественно ветром. Женские растения образуют стробилы (шишки хмеля) длиной от 2,5 до 5 см, которые формируются вскоре после опыления и состоят из перекрывающихся желтовато-зелёных прицветников, прикреплённых к центральной оси. Каждый прицветник окружает небольшой сухой плод, который не раскрывается при созревании [25].

Зрелые шишки содержат широкий спектр химических соединений, активно используемых в различных отраслях промышленности, особенно в пивоварении. Мужские растения формируют метёлки для опыления, тогда как женские шишки являются основным сырьём в производстве пива. Семена *Humulus lupulus* L. мелкие, плотные, водоустойчивые, обладают длительным периодом покоя и медленным прорастанием. У женских растений формирование шишек начинается только спустя несколько лет после посадки. Большинство культурных сортов бессемянные, так как наличие семян способно изменять вкус пива [26].

В естественных условиях *Humulus lupulus* L. встречается в долинах рек, оврагах, кустарниковых зарослях, на опушках лесов, а также культивируется в садах и огородах. В Казахстане его ареал охватывает регионы Тобыл–Есиль, Иртыш, Семей, Кокшетау, Актобе, Западный и Восточный мелкосопочник, Алтай, Тарбагатай, Джунгарский Алатау, Заилийский (Иле) Алатау, Каратал, а также прибрежные районы Балхаша. За пределами Казахстана растение распространено в Южной Европе, на Кавказе, в Западной Сибири, Западной Европе, Средиземноморье, Малой Азии и Северной Америке [27].

Алматинская и Жетысуская области расположены на юго-востоке Казахстана и отличаются разнообразием природных условий, что делает их ключевыми регионами для изучения и сохранения лекарственных растений. Алматинская область включает Заилийский (Иле-Алатауский) хребет, который

граничит с Кыргызстаном, Китаем, а также с Жамбылской и Жетысуской областями. Жетысуская область расположена восточнее, охватывает горы Жетысу Алатау и прилегающие территории возле озера Балхаш. Эти районы характеризуются сочетанием равнинных и горных ландшафтов и континентальным климатом, который в высокогорьях сменяется более холодными условиями [28].

Алматинская область включает Талгарский и Чиликский районы, известные своими водными ресурсами — реками Иле и Каратал. Здесь встречаются разнообразные ландшафты: от степей и полупустынь до лесов. Природные объекты, такие как Кольсайские озёра и национальный парк «Иле-Алатау», привлекают внимание туристов и исследователей. Жетысуская область включает Сарканский и Алакольский районы, а также горный массив Жетысу Алатау и прибрежные территории Балхаша. Особое значение имеет озеро Алаколь, известное своими целебными свойствами и уникальной природой.

Город Алматы, расположенный у подножия Иле-Алатау, является крупнейшим мегаполисом региона и страны. В последние десятилетия климат Алматинской и Жетысуской областей претерпел существенные изменения под влиянием глобального потепления и локальных экологических факторов. По данным гидрометеорологической службы, среднегодовая температура в южных регионах Казахстана увеличивается примерно на 0,4–0,5 °C за десятилетие, особенно летом. Количество дней с экстремальными температурами (выше +35 °C) возрастает, а число морозных дней снижается. Одновременно наблюдается уменьшение суммарного количества осадков, что ведёт к усилению засушливости и дефициту водных ресурсов. В частности, в Жетысу Алатау фиксируется таяние ледников, что может привести к сокращению речного стока и усугублению водного дефицита в будущем [29].

Алматинская и Жетысуская области отличаются выраженной континентальностью климата: летом на равнинах температура колеблется от +25 °C до +35 °C (иногда достигая +40 °C), а в горах - +15…+20 °C. Зимой на равнинах температура опускается до –5…–15 °C, а при сильных морозах — до –30 °C; в горах - ещё ниже, нередко ниже –20 °C. Эти температурные колебания в сочетании с уменьшением осадков усиливают засушливость и создают вызовы для сельского хозяйства и экосистем региона [30].

Почвенно-растительный покров этих областей отличается высоким разнообразием, обусловленным географическим положением, климатом и рельефом. На равнинах преобладают степные экосистемы, полупустыни и пастбищные угодья, тогда как горные районы характеризуются хвойными и лиственными лесами, альпийскими лугами и высокогорными растениями. Чернозёмные и каштановые почвы распространены в низинных и равнинных районах и считаются одними из самых плодородных в Казахстане. В некоторых местах встречаются солончаки, обогащённые растворёнными солями, непригодные для сельского хозяйства. В горах почвы менее плодородны (бурые и серые), поддерживающие горные экосистемы. На больших высотах в альпийской и субальпийской зонах почвы ещё более кислые, что ограничивает

возможности земледелия, но создаёт условия для горных трав и кустарников [31].

Растительность низинных и предгорных районов представлена степными злаками - ковылём, тимофеевкой, полынью и кустарниками, хорошо адаптированными к сухому климату и широко используемыми для пастбищного животноводства. В предгорных и горных районах распространены хвойные и лиственные леса с такими породами, как сосна, ель, пихта, берёза и осина. Эти леса играют важную роль в экосистемах, регулируя водный баланс и предотвращая эрозию почв. На высотах около 2500–3000 м преобладают альпийские и субальпийские луга, где встречаются горечавка, люцерна, фиалки и другие виды, адаптированные к холодному климату и короткому летнему периоду. В южных районах флора переходит в полупустынные и саванные сообщества - солянки, полынь, различные виды ковылей, саксаул, устойчивые к жаркому климату и засухе [32].

Почвенно-растительное разнообразие Алматинской и Жетысуской областей определяется высотной поясностью, климатическими условиями и рельефом, что обусловливает формирование сложных и уникальных экосистем, поддерживающих высокий уровень биоразнообразия региона.

Основной целью данного этапа исследования являлась эколого-геоботаническая оценка современного состояния природных популяций *Humulus lupulus* L. в юго-восточном Казахстане. Работа была направлена на характеристику эколого-ценотических особенностей и структуры исследованных популяций в различных природных условиях региона. На основе полученных данных планируется подготовить рекомендации по сохранению и рациональному использованию данного вида, а также по снижению негативного воздействия антропогенных факторов на популяции хмеля в районах исследования - Алматы, Талгарском, Енбекшиказахском, Сарканском и Алакольском районах.

Комплексный подход, включающий полевые наблюдения и лабораторные исследования, позволяет оценить структуру и численность популяций, а также охарактеризовать эколого-ценотические особенности произрастания *Humulus lupulus* L. в исследуемых районах

1.4 Фитохимическая и медико-биологическая изученность растений рода *Humulus lupulus* L.

Систематическое изучение химического состава растений рода Humulus началось в первой половине XX века. Одними из первых фундаментальных работ в данном направлении стали исследования Б.Н. Рутовского (1931), заложившие основу для последующего фитохимического анализа представителей рода. Однако к настоящему времени углублённо и всесторонне исследован преимущественно один вид — *Humulus lupulus* L., тогда как остальные представители рода (*H. scandens, H. japonicus, H. cordifolius*) изучены

фрагментарно и, как правило, без учёта эколого-географической изменчивости [33].

Анализ литературных источников показывает, что растения рода Humulus характеризуются накоплением широкого спектра вторичных метаболитов различных химических классов, включая флавоноиды и их гликозиды, фенольные соединения, ароматические спирты и терпеноиды. При этом химический состав большинства видов изучен ограниченно и не отражает полного метаболического разнообразия рода [34].

Наиболее детально исследован химический состав *Humulus lupulus* L., отличающийся разнообразием биологически активных веществ. В различных органах растения (шишки, листья, побеги) выявлены терпеноиды (моно-, ди- и сесквитерпены), пренилированные производные флороглюцина, фенольные соединения, халконы, флавоноиды, стильбены, фенолкарбоновые и органические кислоты, жирные кислоты и витамины. Существенную роль в формировании фармакологической активности играют горькие кислоты и их производные [35].

Флавоноидный комплекс *Humulus lupulus* L. представлен агликонами и гликозидами, включая пренилированные формы с высокой биологической активностью. В составе растения также обнаружены катехины, проантоцианидины и стильбены, что обусловливает выраженные антиоксидантные свойства и расширяет спектр терапевтического применения [36].

Медико-биологические исследования показывают, что экстракты *Humulus lupulus* L. обладают антимикробной, противовоспалительной, антиоксидантной, седативной и эстрогеноподобной активностью. Биологический эффект носит комплексный характер и обусловлен суммарным действием вторичных метаболитов [37].

Вместе с тем большинство исследований выполнено на культивируемых или зарубежных образцах. Влияние эколого-географических факторов и популяционной структуры на формирование химического профиля *Humulus lupulus* L. изучено недостаточно, особенно для природных популяций Казахстана [38].

Анализ литературных данных показывает, что химический состав *Humulus lupulus* L. в целом изучен достаточно подробно, однако систематизированные сведения о фитохимических и медико-биологических особенностях его природных популяций в условиях Алматинской и Жетысуской областей отсутствуют. Это обусловливает научную новизну и актуальность комплексного исследования хмеля обыкновенного с учётом эколого-географических, фитохимических и биологических факторов, выполненного в рамках настоящей диссертационной работы.

Биологическая активность фитопрепаратов растений рода Humulus L.

Растения рода *Humulus* L., и прежде всего *Humulus lupulus* L., характеризуются широким спектром биологической активности, обусловленным присутствием в их составе пренилированных флавоноидов, халконов, горьких

кислот, фенольных соединений, терпенов и полифенольных комплексов. Согласно литературным данным, биологическое действие препаратов хмеля носит выраженный многофакторный и поливалентный характер, что определяет их устойчивый интерес со стороны фармакологии и медицины [39].

Одной из наиболее изученных групп биологически активных соединений хмеля являются пренилфлавоноиды и халконы, среди которых особое значение придаётся ксантогумолу, изоксантогумолу, 6- и 8-пренилнарингенину. Эти соединения демонстрируют выраженную антифунгальную и антибактериальную активность, а также способность ингибировать рост патогенных микроорганизмов, включая грибы и бактерии, что подтверждено экспериментальными исследованиями *in vitro* и *in vivo*. Горькие кислоты хмеля (гумулон, лупулон и их производные) также проявляют антисептические и антибиотикоподобные свойства, усиливая антимикробный потенциал фитопрепаратов на основе соплодий хмеля [40].

Экстракты и галеновые препараты *Humulus lupulus* L. традиционно применяются в клинической и народной медицине как седативные, противовоспалительные, анальгезирующие и спазмолитические средства. Настои и отвары соплодий используются при функциональных расстройствах желудочно-кишечного тракта, заболеваниях печени и желчевыводящих путей, снижении аппетита, а также в составе седативных сборов при повышенной нервной возбудимости, нарушениях сна, вегетососудистой дистонии и климактерических расстройствах. Отмечено регулирующее влияние препаратов хмеля на минеральный обмен и функциональное состояние центральной нервной системы [41].

Экспериментальные исследования свидетельствуют о выраженной стресс-протективной и антигипоксической активности водных и спиртовых экстрактов соплодий хмеля. Установлено, что на фоне длительного эмоционального стресса они способствуют снижению выраженности дегенеративных и катаболических изменений во внутренних органах, нормализации эмоционального состояния и восстановлению когнитивных функций, что связывают с модуляцией нейромедиаторных систем мозга. Особый интерес представляет эстрогеноподобная активность 8-пренилнарингенина, обусловившая применение препаратов хмеля в акушерско-гинекологической практике, включая коррекцию функциональных нарушений менструального цикла и климактерических состояний. Наряду с этим, ряд соединений хмеля демонстрирует антиаллергическое, антидепрессивное и контрацептивное действие в экспериментальных моделях [42].

Значительное внимание в современной литературе уделяется противоопухолевому и хемопревентивному потенциалу ксантогумола и родственных пренилхалконов. Показано, что данные соединения способны ингибировать пролиферацию опухолевых клеток различных линий, подавлять ангиогенез, модулировать ферментативные системы детоксикации и снижать канцерогенный риск. Кроме того, полифенольный комплекс соплодий хмеля проявляет выраженную антиоксидантную и антимутагенную активность, что

подтверждает его защитную роль на клеточном и тканевом уровнях. Иммуномодулирующие свойства выявлены также у жирнокислотной фракции соплодий хмеля, тогда как эфирное масло растения характеризуется репеллентным действием, в том числе в отношении кровососущих насекомых. Совокупность этих эффектов подчёркивает высокую биологическую ценность хмеля как источника фармакологически значимых соединений [43].

В настоящее время препараты на основе *Humulus lupulus* L. широко используются в фармацевтической и пищевой промышленности ряда стран. В медицинской практике применяются соплодия хмеля и различные экстракты, а в пищевой промышленности — хмель-сырец, гранулированные и экстракционные формы, а также лупулиновые препараты [44].

Анализ литературных данных указывает на высокую фармакологическую значимость растений рода Humulus L. и их биологически активных компонентов. В то же время природные популяции *Humulus lupulus* L. на территории Казахстана остаются недостаточно изученными в фитохимическом и биологическом отношении, что обусловливает актуальность их комплексного исследования с позиций экологии, фитохимии, антимикробной активности и молекулярно-генетических особенностей, а также перспектив расширения сырьевой базы отечественной фармацевтической продукции.

1.5 Использование молекулярно-генетических методов в исследовании *Humulus lupulus* L.

Изучение генетических особенностей *Humulus lupulus* L. имеет длительную историю и развивалось поэтапно, в тесной связи с задачами систематики, селекции и рационального использования данного вида. На ранних этапах исследований, охватывающих первую половину XX века, основное внимание уделялось классическим методам генетики и цитологии. В этот период были установлены ключевые биологические особенности хмеля, в том числе его двудомность и диплоидное число хромосом (2n = 20), что определяет специфику наследования признаков и усложняет селекционные процессы. Генетическая изменчивость оценивалась преимущественно по морфологическим, фенологическим и хозяйственно ценным признакам [45].

До внедрения молекулярно-генетических подходов представления о внутривидовой структуре *Humulus lupulus* L. основывались главным образом на данных географического распространения и фенотипического разнообразия. Такой подход позволял выявлять экотипы и формы, однако не обеспечивал объективной оценки генетического родства между популяциями и не отражал скрытую внутривидовую дифференциацию [46].

С развитием молекулярной биологии во второй половине XX века исследования хмеля перешли на принципиально новый уровень. Внедрение методов анализа нуклеиновых кислот открыло возможность прямого изучения структуры генома и оценки генетического разнообразия независимо от фенотипической изменчивости. Первые молекулярно-генетические работы были

ориентированы на использование универсальных ядерных и хлоропластных маркеров, применяемых для уточнения таксономического положения и реконструкции филогенетических связей внутри рода Humulus. Особое значение имели исследования, основанные на анализе ядерного региона ITS и пластидных участков ДНК, которые позволили выявить выраженную генетическую дифференциацию между географическими группами хмеля. Было показано, что европейские, восточноазиатские и североамериканские формы *Humulus lupulus* L. формируют самостоятельные генетические кластеры, отражающие особенности исторического расселения и эволюционного развития вида [47].

На следующем этапе в исследования активно внедрялись методы анализа полиморфизма ДНК, включая RAPD-, ISSR-, AFLP- и SSR-маркеры. Применение этих подходов позволило детально изучить внутрипопуляционную и межпопуляционную структуру, оценить уровень генетического разнообразия, а также выявить влияние природно-климатических и антропогенных факторов на формирование генофонда хмеля. Было установлено, что природные популяции характеризуются более высоким уровнем генетической изменчивости по сравнению с культивируемыми формами [48].

Современный этап молекулярно-генетических исследований *Humulus lupulus* L. связан с широким использованием методов секвенирования и интеграцией генетических данных с экологическими и географическими характеристиками популяций. Анализ последовательностей ядерных и хлоропластных локусов позволяет не только уточнять филогенетические связи, но и выявлять адаптивные особенности, связанные с условиями произрастания. Такие подходы широко применяются при изучении природных популяций и разработке стратегий их сохранения [49].

Несмотря на значительный объём исследований, выполненных в разных регионах мира, природные популяции *Humulus lupulus* L. на территории Казахстана до настоящего времени практически не изучались с использованием молекулярно-генетических методов. Отсутствуют данные о генетической структуре популяций, уровне их разнообразия и степени дифференциации в условиях Алматинской и Жетысуской областей, характеризующихся специфическими эколого-климатическими условиями.

В связи с этим в настоящей работе для молекулярно-генетической характеристики образцов *Humulus lupulus* L. использованы ядерный маркер *ITS* и хлоропластные маркеры *matK, rbcL* и *psbA–trnH*, позволяющие проводить молекулярную идентификацию исследуемых образцов и оценивать их филогенетическое положение.

Например, Jakse и коллеги (2011) [50] разработали набор микросателлитных маркеров (*SSR*), который успешно применялся для различения сортов хмеля и определения уровня их генетического разнообразия. В свою очередь, Natsume et al. (2015) [51] представили черновой вариант генома хмеля, что стало значимым достижением в области геномной биоинформатики и селекционного прогноза.

Работы CBOL Plant Working Group (2009) и Chen et al. (2010) [52,53] обосновали выбор универсальных генетических участков для молекулярной идентификации растений. В их число вошли хлоропластные гены *rbcL* и *matK*, а также ядерный кластер *ITS* [54, 55, 56]. Эти маркеры признаны эталонными в систематике высших растений.

До начала настоящего проекта молекулярно-генетическая характеристика дикорастущих популяций хмеля на территории Казахстана практически не проводилась. Таким образом, представленное исследование является первой попыткой комплексного генетического анализа природных форм *Humulus lupulus* L., произрастающих в Алматинской и Жетысуской областях.

В рамках настоящего исследования для оценки генетической структуры и подтверждения видовой принадлежности образцов были использованы четыре универсальных молекулярных маркера: три хлоропластных — *rbcL, matK* и *trnH–psbA*, характеризующиеся высокой консервативностью и применяемые в систематике растений, а также один ядерный маркер — *ITS*, обладающий большей вариабельностью и позволяющий анализировать внутривидовую дифференциацию популяций. Проведены этапы выделения ДНК, амплификации целевых участков, прямого секвенирования, а также биоинформатического анализа с использованием международных генетических баз данных (NCBI GenBank). Полученные результаты молекулярно-генетического анализа позволили подтвердить таксономическую принадлежность исследованных образцов к *Humulus lupulus* L. и оценить их филогенетическое положение на основе ядерного и хлоропластных ДНК-маркеров. На основании выявленных различий и степени генетической уникальности отдельных популяций была научно обоснована необходимость разработки мер по охране, сохранению и рациональному использованию генетических ресурсов казахстанского хмеля как стратегически значимого компонента природного биоразнообразия страны. Таким образом, результаты исследования представляют значительный интерес для ботаников, генетиков, селекционеров и специалистов по биоресурсам.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объекты и районы исследования

В соответствии с задачами диссертационного исследования в период 2019–2025 гг. проведены полевые обследования на территории Алматинской и Жетысуской областей. Основной целью исследований являлось изучение природных популяций *Humulus lupulus* L., а также определение особенностей их ареала распространения, приуроченности к рельефу и эколого-географическим условиям произрастания.

Отдел: *Magnoliophyta* – Покрытосеменные
Класс: *Magnoliopsida* – Двудольные
Порядок: *Rosales* – Розоцветные
Семейство: *Cannabaceae* Endl. – Коноплевые
Род: *Humulus* L. – Хмель
Вид: *Humulus lupulus* L. – Хмель обыкновенный

Для обследования данного вида были выбраны пять регионов Алматинской области: г. Алматы, Талгарский район, Енбекшиказахский район, Саркандский район и Алакольский район.

В качестве объекта исследования выбран вид *Humulus lupulus* L., относящийся к семейству Cannabaceae (рисунок 3).



а - хмель обыкновенный, б - листья, в – шишки

Рисунок 3 – растение *Humulus lupulus* L.

Humulus lupulus L. широко распространён в южных и юго-восточных регионах Казахстана и приурочен преимущественно к понижениям предгорной равнины, долинам малых рек и участкам с повышенной влажностью.

Исследование природных популяций *Humulus lupulus* L. проводилось в 2019–2025 гг. на территории Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан (таблица 1). Исследуемые популяции располагались в различных

природно-климатических условиях и относились к предгорным, горно-предгорным и равнинным территориям Ирано-Туранской флористической области. Это позволило провести сравнительный анализ экологических, флористических и ценопопуляционных особенностей *Humulus lupulus* L. в разных условиях произрастания.

Таблица 1 – Флористико-географическая характеристика районов исследования *Humulus lupulus* L.

№	Район исследования	Флористическая область	Подобласть	Провинция	Подпровинция	Тип территории
1	г. Алматы	Ирано-Туранская	Северо-Туранская	Северо-Тяньшанская	Присеверотяньшанская (IVa)	Предгорная
2	Талгарский район	Ирано-Туранская	Северо-Туранская	Северо-Тяньшанская	Присеверотяньшанская (IVa)	Предгорная
3	Енбекшиказахский район	Ирано-Туранская	Северо-Туранская	Северо-Тяньшанская	Присеверотяньшанская (IVa)	Предгорная
4	Саркандский район	Ирано-Туранская	Северо-Туранская	Джунгарская горная	Джунгарская (V)	Горно-предгорная
5	Алакольский район	Ирано-Туранская	Северо-Туранская	Восточно-Северотуранская	Восточно-Северотуранская (Iг)	Равнинная

Как видно из таблицы 1, все исследованные популяции *Humulus lupulus* L. относятся к Ирано-Туранской флористической области, однако различаются по провинциальной и подпровинциальной принадлежности. Популяции Алматы, Талгарского и Енбекшиказахского районов относятся к Присеверотяньшанской подпровинции Северо-Тяньшанской провинции и характеризуются предгорным типом территории. Популяция Саркандского района относится к Джунгарской провинции, а Алакольская популяция — к Восточно-Северотуранской подпровинции равнинного типа, что отражает различия экологических условий и флористического состава исследованных популяций.

Исследованные популяции различались также по географическому положению, рельефу местности, высоте над уровнем моря и условиям увлажнения. Большинство исследованных местообитаний было приурочено к пойменным и долинным участкам, расположенным вблизи рек, временных водотоков и участков с повышенной влажностью почвы. Для предгорных территорий были характерны более благоприятные мезофитные условия, развитый травянистый покров и сравнительно высокое видовое разнообразие. В то же время популяции равнинных территорий Алакольского района формировались в условиях более континентального и засушливого климата.

Для каждой исследованной популяции были определены географические координаты и высота над уровнем моря. Координаты исследуемых популяций *Humulus lupulus* L. представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Координаты популяций *Humulus lupulus* L.

Названия растения	№	Пункт сбора	Место сбора	Координаты (N, E)	Высота, м
Humulus lupulus L.	1	Алматы 1	Алматы, Медеуском районе на улице Полтавская 11 60 м. от улицы Куратова д. 7 на запад	N 43°15.961 E 076°57.833'	500
		Алматы 2	г. Алматы, Медеуский район, ул Макатаева от р. Казачка 30 м. на запад. Рельеф долина р. Казачка.	N 43°15.942 E 076°58.029'	500
		Алматы 3	г. Алматы, микрорайон Алатау-3, ул. Татибекова.	N 43°17.611 E 076°58.761'	500
	2	Талгар 1	Алматинская область, Талгар. Ул. Райымбека батыра. 220 м. на юг от трассы.	N 43°18.500 E 077°06.919'	973
		Талгар 2	Талгар, ул. Кунаева 17. 70 м. от улицы Кунаева на север. GPS координаты N 43°18.291', E 077°12.968'	N 43°18.291 E 077°12.968'	973
	3	Енбекшіказак 1	Алматинская область, ул. Момышулы и Жибек жолы. Ул. Кадырова.	N 43°35.664' E 079°16.555'	612
		Енбекшіказак 2	Алматинская область, ул.Целинная между улицами Бижанова и Виноградная, возле речки.	N 43°35.239' E 078°14.962'	612
		Енбекшіказак 3	Алматинская область, ул.Кирпичный пересечение улицы Жибек Жолы.	N 43°35.933' E 078°13.906'	612
	4	Сарканд 3	Алматинская область, Саркандский район, село Сарканд. 30 м. на запад от колодца.	N 45°24.327 E 079°54.830'	728
	5	Ушарал 1	Алматинская область, Алакольский район, с. Ушарал. 50м на юг от ул. Кошалкова №98.	N 46°09.951 E 080°56.077'	347
		Ушарал 2	Алматинская область, Алакольский район, с. Ушарал 100 м. на запад от трассы.	N 46°10.241 E 080°52.113'	347
		Ушарал 3	Алматинская область, Алакольский район, с. Ушарал 70 м на восток от трассы.	N 46°12.137 E 080°53.529'	347

В исследованных районах *Humulus lupulus* L. встречается в составе злаково-разнотравных, тростниково-хмельных, сорнотравно-злаково-разнотравных ассоциаций, а также в древесно-кустарниковых зарослях. Выбор данных регионов обусловлен их выраженной эколого-географической неоднородностью, контрастными почвенно-климатическими условиями и высокой флористической насыщенностью, что позволяет всесторонне оценить экологическую пластичность, структуру популяций и адаптационные стратегии хмеля обыкновенного. В ходе полевых обследований были выделены пять репрезентативных популяций, расположенных в различных ландшафтных зонах: в пределах города Алматы, а также в Талгарском, Енбекшиказахском, Саркандском и Алакольском районах.

Первая популяция расположена в пределах города Алматы и приурочена к предгорной наклонной равнине и долинам малых рек. Высотный диапазон местообитаний составляет 500 м над уровнем моря. Климат здесь сравнительно более мягкий и увлажнённый по сравнению с равнинными районами, что связано с орографическим влиянием хребта Иле Алатау. Почвенный покров представлен преимущественно обыкновенными и лугово-серозёмными почвами, сформированными на аллювиально-делювиальных отложениях. Эти почвы отличаются хорошей структурой, высокой водопроницаемостью и развитым гумусовым горизонтом, что обеспечивает оптимальные условия для развития корневой системы и вегетативного роста хмеля. В данных биотопах *Humulus lupulus* L. образует мощные куртины, активно используя древесно-кустарниковые породы в качестве опоры, и характеризуется высокой биомассой и устойчивостью ценопопуляций.

Вторая популяция выявлена в Талгарском районе и приурочена к предгорным слабоволнистым равнинам на высотах 973 м над уровнем моря. Здесь хмель преимущественно произрастает в понижениях рельефа и вдоль временных водотоков, где формируются участки с повышенной влажностью. Почвы представлены лугово-серозёмными и серозёмно-луговыми разновидностями с суглинистым механическим составом и высокой влагоёмкостью. Эти эдафические условия способствуют стабильному водно-питательному режиму и обеспечивают устойчивость популяции даже при значительных сезонных колебаниях температуры и осадков. Растения данной популяции отличаются хорошо развитым вегетативным аппаратом и регулярным формированием генеративных побегов.

Третья популяция расположена в Енбекшиказахском районе на высотах 612 м над уровнем моря и развивается в условиях более выраженной антропогенной трансформации ландшафта. Почвы здесь представлены обыкновенными и слабогумусированными серозёмами, нередко уплотнёнными и карбонатными, что ограничивает их влагоудерживающую способность. В этих условиях *Humulus lupulus* L. приурочен преимущественно к микробиотопам с аккумуляцией влаги - вдоль оросительных каналов, речных долин и понижений рельефа. Несмотря на менее благоприятный почвенный фон, популяция

сохраняет устойчивость благодаря высокой экологической пластичности вида и способности к вегетативному возобновлению в локально увлажнённых участках.

Четвёртая популяция выявлена в Саркандском районе и приурочена к предгорной волнистой равнине на высотах около 728 м над уровнем моря. Почвенный покров здесь формируют преимущественно аллювиально-луговые и лугово-серозёмные почвы, отличающиеся повышенной влагоудерживающей способностью и сравнительно высоким содержанием органического вещества. Такие условия создают стабильный водно-воздушный режим, благоприятный для развития корневищ и побегов хмеля. В результате растения формируют устойчивые и относительно плотные ценопопуляции в составе злаково-разнотравных и древесно-кустарниковых фитоценозов.

Пятая популяция расположена в Алакольском районе, в долине реки Тентек и вблизи артезианских источников, на высотах 347 м над уровнем моря. Этот регион характеризуется резко континентальным и засушливым климатом, а почвы представлены преимущественно светлыми серозёмами и солонцеватыми образованиями с низким содержанием гумуса и повышенной минерализацией. Вне пойменных и оазисных участков такие почвы малопригодны для мезофильных видов. Однако наличие подземных вод и речного стока формирует локальные увлажнённые аллювиально-луговые почвы, в которых *Humulus lupulus* L. способен формировать жизнеспособные, хотя и менее мощные по габитусу, популяции. Эти растения отличаются более компактными размерами и сниженной вегетативной массой, что отражает их адаптацию к дефициту влаги и высокой инсоляции.

Каждая из исследованных популяций *Humulus lupulus* L. формируется под влиянием специфического сочетания высотного положения, климатических и почвенных условий, что обусловливает выраженную эколого-географическую дифференциацию вида в пределах Алматинской и Жетысуской областей и способствует формированию локально адаптированных экотипов и хемотипов.

2.2 Методы исследований

2.2.1 Методы геоботанического исследования ценопопуляций *Humulus lupulus* L.

Объектом исследования являлись природные популяции *Humulus lupulus* L. В ходе работы проводились комплексные экспериментальные исследования, направленные на изучение структуры, состояния и экологических особенностей популяций данного вида.

Растительные сообщества с участием *Humulus lupulus* L. впервые были охарактеризованы в геоботаническом и флористическом аспектах с учётом их видового состава и эколого-ценотической приуроченности. Обработку, идентификацию и сравнительный анализ растительного материала осуществляли с использованием морфологических и географических методов.

В полевых условиях изучение флоры проводили с применением традиционных флористических подходов, включая маршрутно-рекогносцировочный метод, позволяющий оценить пространственное распределение видов и особенности растительных сообществ (рисунок 4).



Рисунок 4 - Период полевых исследований популяций *Humulus lupulus* L.

Сбор образцов *Humulus lupulus* L. осуществляли в период плодоношения в 2019–2025 гг. на территории пяти природных популяций, расположенных в Алматинской и Жетысуской областях. Выбор исследуемых участков был обусловлен их эколого-географической неоднородностью и различиями природных условий, что позволило оценить влияние факторов среды на формирование популяционной структуры вида. В число обследованных территорий вошли: долина реки Казачка вблизи города Алматы; участок Талгарского района вдоль автодороги Алматы–Талгар (на расстоянии около 220 м к югу от трассы); предгорная равнина Енбекшиказахского района; а также участки в Сарканском районе (предгорная холмистая равнина) и в Алакольском районе вдоль долины реки Тентек.

На каждой исследуемой площадке фиксировали географические координаты (с использованием GPS), высоту над уровнем моря, экспозицию и уклон склона, тип почвы, степень освещённости и увлажнённости, а также уровень антропогенного воздействия. Учёт проводили на пробных площадках размером 4×5 м, что соответствует общепринятым геоботаническим подходам. В пределах площадок определяли плотность и встречаемость *Humulus lupulus* L., структуру возрастных состояний особей, проективное покрытие, а также видовой состав и обилие сопутствующих растений.

Сбор, гербаризация и сушка образцов выполнялись по общепринятой методике, изложенной в работах Скворцова [57], с соблюдением требований к отбору, маркировке и сохранению диагностических признаков растений для последующего морфологического и систематического анализа (рисунок 5).



Рисунок 5 – Процесс подготовки гербарных образцов
Humulus lupulus L. (сбор, прессование, сушка и оформление гербария)

Гербарная обработка растительного материала проводилась в соответствии с общепринятыми методическими рекомендациями, изложенными в работах И. И. Скворцова [57]. Растения, собранные в ходе полевых геоботанических исследований, помещались в картонные папки и высушивались в гербарных прессах с заменого прокладочного материала по мере высыхания образцов. Каждый гербарный экземпляр оформлялся этикеткой установленного образца, содержащей сведения о пункте и дате сбора, а также краткую характеристику экологических и фитоценотических условий произрастания. Таксономическая идентификация видов, собранных в ходе полевых геоботанических исследований, проводилась с использованием «Иллюстрированного определителя растений Казахстана» [58, 59]. Диагностика семейств и родовой принадлежности осуществлялась на основе материалов многотомного издания «Флора Казахстана» под редакцией М. С. Байтенова [60]. Таксономическое положение видов и таксонов более высокого ранга рассматривалось в рамках классификационной системы А. Л. Тахтаджяна [61]. Корректность латинских названий, авторских обозначений и актуальность номенклатуры проверялись по сводке сосудистых растений С. К. Черепанова [62]. Видовая принадлежность *Humulus lupulus* L. устанавливалась на основании совокупности диагностических морфологических признаков с применением общепринятых определительных ключей, приведённых во «Флоре Казахстана». Номенклатура уточнялась согласно базе Plants of the World Online (POWO) [20]. Сбор растений осуществлялся с обязательным включением как вегетативных, так и генеративных органов. Фиксация морфологических характеристик проводилась путём линейных измерений и цифровой фотодокументации в полевых и лабораторных условиях.

Гербарные экземпляры *Humulus lupulus* L. переданы на постоянное хранение в гербарий Института ботаники и фитоинтродукции (г. Алматы, Республика Казахстан). Номер гербарного образца — 0003575 (рисунок 6). Сформированный гербарный фонд использовался в дальнейшем при проведении морфологических, геоботанических и молекулярно-генетических исследований.



Рисунок 6 - Гербарные образцы *Humulus lupulus* L., собранные в различных природных популяциях Алматинской и Жетысуской областей

Полученные полевые данные подвергались статистической обработке с применением методов количественного анализа, широко используемых в экологии и геоботанике. Сравнительный анализ флористического состава исследуемых участков осуществлялся с использованием коэффициентов флористического сходства, в том числе коэффициента Жаккара, что обеспечивало количественную оценку сходства и различий между растительными сообществами. С целью выявления экологических предпочтений и границ толерантности *Humulus lupulus* L. анализировались показатели экологической амплитуды вида по основным абиотическим факторам среды. Дополнительно проводилась оценка пространственной организации ценопопуляций, включающая анализ плотности, характера размещения особей и степени пространственной неоднородности в пределах исследуемых участков.

Пространственная обработка и картографическая визуализация результатов осуществлялись с применением геоинформационных систем, в том числе ArcGIS и QGIS, что позволило отразить распределение популяций, флористический состав сообществ и пространственные особенности их структуры.

Расчёт статистических показателей выполнялся с использованием стандартных средств обработки данных. Результаты анализа представлены в виде таблиц, графических и картографических материалов, обеспечивающих наглядность интерпретации и сопоставимость полученных данных между исследуемыми популяциями.



Рисунок 7 – Карта расположения исследованных ценопопуляций *Humulus lupulus* L. в пределах ботанико-географических районов (IVa – Присеверотяньшаньский, V – Джунгарский, Iг – Восточно-Северотуранский).

Популяция 1 – Алматы – восточная часть города, долинные местообитания, 500 м н.у.м.
Популяция 2 – Талгарский район, предгорья Заилийского Алатау, пойменные местообитания, 973 м н.у.м.
Популяция 3 – Енбекшиказахский район, долинно-пойменные местообитания, 612 м н.у.м.
Популяция 4 – Саркандский район – предгорная зона Джунгарского Алатау, 728 м
Популяция 5 – Алакольский район – приозёрные местообитания, 347 м.

Для оценки современного состояния природных популяций *Humulus lupulus* L. в пределах его естественного ареала были проведены комплексные полевые геоботанические исследования маршрутным методом на территории Алматинская область и Жетысуская область. Полевые работы выполнялись в течение вегетационного периода и охватывали различные фазы жизненного цикла растений; всего осуществлено шесть экспедиционных выездов, что обеспечило репрезентативность собранного материала.

Основное внимание уделялось предгорным и нижнегорным районам, включая участки Иле Алатау и Жетысу Алатау, характеризующимся высокой мозаичностью рельефа, разнообразием экотопов и благоприятными условиями для формирования устойчивых ценопопуляций хмеля. В ходе маршрутных обследований проводились геоботанические описания фитоценозов, фиксировались состав сопутствующей флоры, особенности пространственного размещения особей и эколого-ценотические условия местообитаний.

Сходство флористического состава растительных сообществ и популяций *Humulus lupulus* L. в различных районах оценивалось с использованием коэффициента флористического сходства — индекса Жаккара, широко применяемого в геоботанике и флористике для количественной характеристики степени общности таксономического состава (1) [63]:

$$K_j = \frac{c}{\mathrm{a+b-c}} \qquad (1)$$

Расчёт индекса позволил выявить уровень сходства и различий между исследованными популяциями и оценить пространственную дифференциацию растительного покрова в пределах изучаемого региона.

Видовой состав растительных сообществ и основные параметры растительного покрова уточнялись в соответствии с общепринятыми методическими подходами геоботаники и флористики [64].

Оценка состояния растений в пределах ценопопуляций, а также анализ их морфологических и биологических характеристик проводились на основе методических положений, разработанных Т. А. Работновым и А. А. Урановым [65-70]. Возрастная структура популяций определялась с использованием концепции онтогенетических состояний, предложенной А. А. Урановым. Для этого в пределах каждой исследуемой популяции закладывались 5–7 учётных трансектов площадью по 20 м², размещённых с учётом мозаичности растительного покрова и особенностей пространственного распределения особей. В пределах трансектов фиксировались численность растений, их возрастное состояние и характер размещения. Плотность популяций рассчитывалась как количество особей на единицу площади (20 м²).

Географическая привязка популяций осуществлялась с использованием GPS-навигации; координаты точек произрастания определялись с помощью навигатора «GARMIN GPS map 60CSx» (Garmin Ltd., США), что обеспечивало точность пространственного позиционирования исследуемых объектов.

Подход к оценке плотности и обилия целевого вида основывался на методических рекомендациях и протоколах, применяемых в программах мониторинга природных популяций [71-72]. Исследования популяций *Humulus lupulus* L. включали анализ морфологии растений, эколого-ценотических условий местообитаний, возрастной структуры, особенностей семенной продуктивности, а также общей жизнеспособности популяций и отдельных особей и проводились по общепринятым методикам популяционной экологии растений [73-80].

Для изучения географического распространения *Humulus lupulus* L. применялся маршрутно-рекогносцировочный метод, дополненный традиционными приёмами геоботанического анализа морфологии растений, структуры растительных сообществ и эколого-биологических особенностей вида. Выполнялось геоботаническое картирование исследуемой территории в среднем масштабе (1:250 000) с использованием топографических карт и спутниковых снимков. При этом применялись ландшафтные и маршрутные

профилировки, позволяющие отразить пространственную неоднородность растительного покрова. Контурные карты создавались в программной среде ArcGIS 10.8 на основе спутниковых данных SRTM с пространственным разрешением 90 м и сопоставлялись с топографическими картами, что обеспечивало достоверность пространственной интерпретации результатов (рисунок 1).

Полевые исследования проводились с опорой на методические разработки Н. И. Работнова [81], чьи классические работы по растительности Заилийского (Иле) Алатау и Жетысу Алатау послужили теоретической и методической основой для настоящего исследования. В анализ также были включены гербарные материалы Института ботаники и фитоинтродукции.

Микроклиматические данные

Микроклиматические условия районов произрастания *Humulus lupulus* L. проанализированы на основании метеорологических данных за 2023–2024 гг. (рисунок 8). Метеорологическая информация получена с официального ресурса «Gismeteo» и отражает показатели, зарегистрированные метеостанциями, расположенными вблизи исследуемых популяций на территории города Алматы, Талгарского, Енбекшиказахского, Сарканд и Алакольского районов.

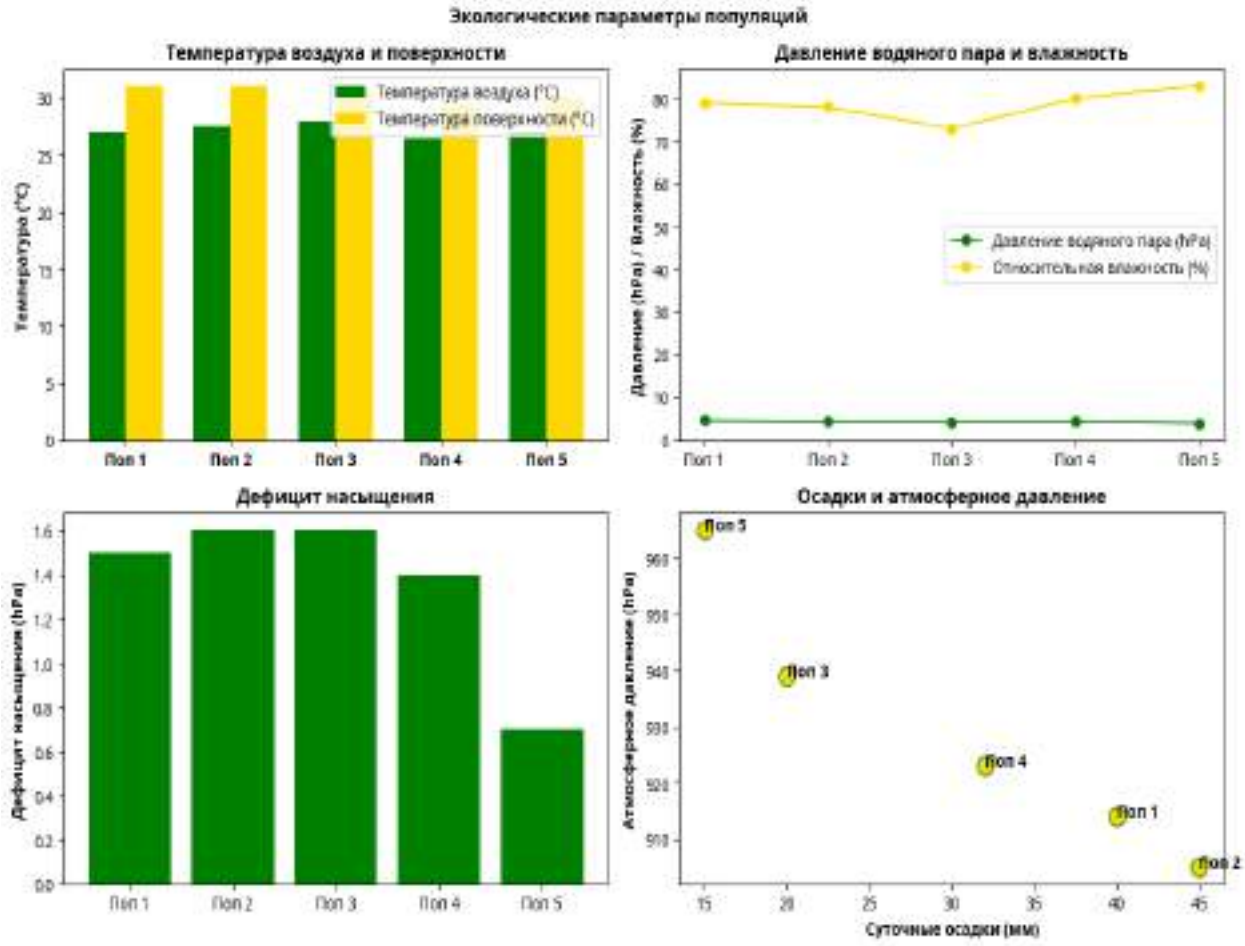


Рисунок 8 - Сравнение годовых данных метеостанций

На рисунке 8 представлены усреднённые годовые значения основных микроклиматических параметров, характеризующих температурный режим, влагообеспеченность и атмосферные условия исследуемых территорий. Установлено, что средняя температура воздуха в тёплый период года варьирует в пределах 25,3–27,8 °C, температура поверхности почвы достигает 31–34 °C. Парциальное давление водяного пара изменяется от 3,41 до 4,49 гПа, относительная влажность воздуха составляет 73–83 %, дефицит насыщения — 1,40–1,60 гПа. Атмосферное давление колеблется в интервале 898,9–972,0 гПа, а среднесуточное количество осадков — от 14,0 до 44,7 мм.

Совокупность указанных параметров отражает особенности умеренно континентального климата юго-востока Казахстана с жарким летом и неравномерным распределением осадков. Климатические условия различаются в зависимости от высоты и рельефа. Горно-предгорные территории Алматы и Талгарского района характеризуются более высокой влажностью и количеством осадков, что способствует формированию благоприятных условий для мезофитных и гигромезофитных фитоценозов.

Саркандский район расположен в предгорной зоне Жетысу Алатау и характеризуется умеренно континентальным предгорным климатом. Для данной территории типичны тёплое, местами жаркое лето, умеренная влагообеспеченность и выраженная сезонная изменчивость метеорологических условий. Количество осадков здесь выше, чем в равнинных и котловинных районах, но ниже по сравнению с горно-предгорными участками Иле Алатау. Такая климатическая обстановка формирует переходные эколого-ценотические условия, благоприятные для существования мезофитно-мезоксерофитных видов, в том числе *Humulus lupulus* L.

Енбекшиказахский район характеризуется наиболее высокими средними значениями температуры воздуха (до 27,8 °C) и температуры почвы (до 34 °C), что указывает на интенсивный прогрев подстилающей поверхности в летний период. В Алакольском районе климатические условия отличаются повышенной континентальностью, меньшим количеством осадков и периодическим дефицитом влаги, что обусловлено котловинным положением территории и влиянием аридных воздушных масс. Вместе с тем относительная влажность воздуха в отдельные периоды здесь повышается за счёт локального влияния водной поверхности озера Алаколь.

Выявленные различия микроклиматических условий между исследуемыми районами свидетельствуют о широкой экологической амплитуде *Humulus lupulus* L. по отношению к основным абиотическим факторам среды, прежде всего температуре и влагообеспеченности. Вид устойчиво формирует жизнеспособные ценопопуляции как в более увлажнённых горных и предгорных экосистемах (Алматы, Талгар, Сарканд), так и в условиях повышенной континентальности и относительной аридности (Алакольский район). Способность *Humulus lupulus* L. сохранять стабильную структуру популяций при температуре воздуха до 27–28 °C, прогреве почвы до 34 °C и значительных колебаниях относительной влажности указывает на его мезофитно-мезоксерофитный характер с

выраженной экологической пластичностью. При этом наибольшая плотность и наиболее развитые ценопопуляции приурочены к экотопам с более стабильным водным режимом, характерным для предгорных территорий, включая Саркандский район.

Микроклиматические условия исследуемых территорий формируют широкий спектр экологических факторов, в пределах которого *Humulus lupulus* L. реализует адаптационный потенциал. Это обусловливает мозаичный характер его распространения и свидетельствует об экологической устойчивости вида в разнообразных фитоценотических условиях Алматинской и Жетысуской областей [167].

2.2.2 Методы анализа почвенных образцов

Для изучения почвенных условий местообитаний *Humulus lupulus* L. применялся комплекс полевых и лабораторных методов почвоведения и агрохимии. Полевой этап исследований включал отбор почвенных образцов и закладку почвенных разрезов, а лабораторный этап был направлен на определение физико-химических и агрохимических свойств почв.

Полевые исследования проводились методом ключевых трансект с выбором типичных участков, характеризующих условия произрастания исследуемых популяций. В ходе обследований использовались морфологические методы оценки почвенного профиля и растительного покрова, включая описание генетических горизонтов, окраски, гранулометрического состава, структуры и степени увлажнения почвы [82]. Отбор почвенных проб осуществлялся по методу «конверта». На однородных по рельефу и растительности участках закладывались пробные площадки размером 4 × 5 м, в пределах которых отбор почвы проводился в четырёх углах и в центре площадки. В соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02–84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического и гельминтологического анализа» [83-86] из каждого участка отбирали по пять точечных проб с глубины до 30 см с равномерным снятием слоя почвы толщиной 4–5 см. Отобранные точечные пробы из одного почвенного горизонта тщательно перемешивались в чистой ёмкости, после чего формировалась средняя объединённая проба. Масса объединённой пробы определялась в зависимости от вида планируемых лабораторных анализов. Подготовленные образцы упаковывались в двойные полиэтиленовые пакеты типа zip-lock и снабжались идентификационными вкладышами с указанием места отбора, даты, номера образца, глубины отбора и фамилии исследователя.

Лабораторные исследования включали определение содержания гумуса в почве по методу Тюрина [87]. Реакция почвенного раствора (pH) определялась в соответствии с требованиями действующих ГОСТ [88]. Содержание подвижных форм фосфора и калия, а также микроэлементов (цинк, марганец, бор) определялось по стандартным агрохимическим методикам, рекомендованным для почвенных исследований [89-91]. Всего для физико-химического анализа было отобрано 15 объединённых почвенных проб, каждая из которых

анализировалась в трёхкратной повторности, что обеспечило достоверность и воспроизводимость полученных результатов. Полученные данные использовались для характеристики почвенных условий местообитаний *Humulus lupulus* L. и последующего анализа их влияния на структуру и устойчивость природных популяций вида.

Полевой отбор проб

Для оценки растительного покрова и экологических условий местообитаний исследуемых популяций *Humulus lupulus* L. закладывались пробные площадки площадью 20 м². Выбранная площадь обеспечивала возможность проведения сравнительной характеристики растительных сообществ и учета основных показателей состояния исследуемых ценопопуляций. Полевые исследования проводились непосредственно в естественных местообитаниях вида с учетом особенностей рельефа, растительного и почвенного покрова исследуемых участков.

В пределах каждой пробной площадки выполнялось геоботаническое описание растительного сообщества. Определялись общий видовой состав, доминирующие и сопутствующие виды, оценивалось проективное покрытие растительности и отмечались особенности пространственного распределения *Humulus lupulus* L. Полученные полевые данные использовались для последующей сравнительной характеристики эколого-ценотических особенностей исследованных популяций.

Для каждого исследуемого участка регистрировались GPS-координаты и абсолютная высота над уровнем моря, отмечались особенности рельефа, состояние почвенного покрова и общий характер растительности. Особое внимание уделялось характеристике условий произрастания *Humulus lupulus* L. и составу растительных сообществ, в которых встречался исследуемый вид. Жизненные формы выявленных растений классифицировались в соответствии с используемыми в работе методическими подходами [92-93].

2.2.3 Методы фитохимического исследования

Фитохимическое исследование образцов *Humulus lupulus* L. было направлено на качественную идентификацию и количественную оценку основных классов биологически активных соединений, а также на сравнительный анализ химического профиля растений, произрастающих в различных природных популяциях Алматинской и Жетысуской областей. Особое внимание уделялось соединениям вторичного метаболизма, определяющим фармакологические и технологические свойства хмеля.

В качестве объектов анализа использовали генеративные органы (шишки), а также листья и побеги, отобранные в фазу полного цветения и начала плодоношения, когда, согласно литературным данным и предварительным наблюдениям, содержание вторичных метаболитов достигает максимальных значений. Выбор указанных органов обусловлен их различной функциональной

ролью в метаболизме растения и неодинаковым распределением биологически активных соединений.

Подготовка растительного сырья

Собранный растительный материал подвергали первичной подготовке, включающей удаление механических примесей и загрязнений. Образцы промывали проточной водой и высушивали в тени при температуре 25–30 °С в условиях естественной вентиляции до достижения воздушно-сухого состояния, что позволяло минимизировать термическую и окислительную деградацию термолабильных соединений. Высушенное сырьё измельчали до однородного порошкообразного состояния с использованием лабораторной мельницы, обеспечивающей равномерный размер частиц и воспроизводимость последующих экстракционных процедур. Полученные порошкообразные образцы хранили в герметично закрытых контейнерах при температуре +4 °С, в условиях, исключающих воздействие света и влаги, до проведения аналитических исследований. Такая схема подготовки образцов обеспечивала сохранность химического состава растительного сырья и воспроизводимость результатов фитохимического анализа при сравнении образцов, полученных из различных природных популяций.

Методы товароведческой оценки качества растительного сырья

Определение массовой доли влаги

Определение массовой доли влаги в растительном сырье проводили с целью оценки его доброкачественности, стабильности при хранении и соответствия нормативным требованиям. Для анализа использовали предварительно подготовленную аналитическую пробу, которую измельчали до фрагментов размером 8–10 мм с последующим тщательным перемешиванием для обеспечения однородности материала. Из подготовленного сырья отбирали навеску массой 1,00 г, взвешенную на аналитических весах с точностью ±0,01 г. Навеску помещали в предварительно высушенный до постоянной массы и взвешенный бюкс. Высушивание проводили в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С до достижения постоянной массы, что контролировали последовательными взвешиваниями с интервалами времени. Массовую долю влаги (X) в процентах вычисляли по формуле (2):

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m} \qquad (2)$$

где: m - масса сырья до высушивания, в г; m_1- масса сырья после высушивания, в г [94-97].

Массовую долю влаги в растительном сырье рассчитывали в процентах по разности массы образца до и после высушивания по отношению к исходной массе навески. Полученные значения использовались для характеристики физического состояния сырья и оценки его пригодности для дальнейших фитохимических исследований и хранения.

Определение общей золы растительного сырья

Определение содержания общей золы проводили с целью оценки суммарного количества минеральных веществ и неорганических примесей в исследуемом растительном сырье. Для анализа использовали аналитическую навеску предварительно высушенного и измельчённого сырья, отобранную с высокой точностью. Навеску равномерно распределяли по дну фарфорового тигля, предварительно прокалённого до постоянной массы и точно взвешенного. Сжигание органической части осуществляли постепенно, начиная с мягкого нагрева при пониженной температуре, что позволяло избежать вспенивания и потерь материала. После удаления основной массы органического вещества тигель подвергали прокаливанию в муфельной печи при температуре около 500 °C до получения остатка светло-серого или белого цвета. В случае неполного сгорания углеродистых частиц остаток охлаждали, обрабатывали насыщенным раствором нитрата аммония, после чего выпаривали на водяной бане и повторно прокаливали. Прокаливание продолжали до достижения постоянной массы, строго контролируя температурный режим с целью предотвращения спекания золы и её стекания по стенкам тигля. По завершении процесса тигель охлаждали в эксикаторе до комнатной температуры и взвешивали на аналитических весах.

Массовую долю общей золы (X, %) рассчитывали по формуле (3), исходя из разницы масс тигля с золой и пустого тигля, отнесённой к массе навески исследуемого сырья:

$$x = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2} \qquad (3)$$

где: m - масса тигля с сырьем после прокаливания, в г; m_1- масса тигля, в г; m_2- масса навески сырья, в г [98-100].

Определение золы, нерастворимой в 10 % растворе хлороводородной кислоты

Определение содержания золы, нерастворимой в 10 % растворе хлороводородной кислоты, проводили с целью оценки доли минеральных примесей преимущественно неорганического происхождения (песка, силикатов и других механических включений), присутствующих в растительном сырье. В качестве исходного материала использовали зольный остаток, полученный после определения общей золы. К содержимому фарфорового тигля прибавляли 10 % раствор хлороводородной кислоты в объёме, достаточном для полного покрытия зольного остатка, после чего тигель накрывали часовым стеклом и нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 минут. По окончании нагревания в тигель добавляли горячую дистиллированную воду, одновременно промывая часовое стекло, чтобы обеспечить полный перенос растворимых компонентов. Полученную суспензию фильтровали через беззольный фильтр, тщательно перенося нерастворимый остаток с использованием горячей воды. Фильтр с осадком промывали горячей водой до полного удаления хлорид-ионов, что контролировали по отрицательной реакции промывных вод на хлориды. После завершения промывания фильтр с остатком переносили в тот же фарфоровый тигель, высушивали, сжигали и прокаливали при температуре около 500 °C до

постоянной массы в условиях, исключающих спекание золы. Охлаждённый в эксикаторе тигель взвешивали на аналитических весах.

Массовую долю золы, нерастворимой в 10 % растворе хлороводородной кислоты (X, %), рассчитывали по формуле (4), исходя из массы зольного остатка, отнесённой к массе навески исследуемого растительного сырья:

$$x = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2} \quad (4)$$

где: m - масса тигля с золой общей, в г; m_1- масса тигля, в г; m_2- масса навески сырья, в г [101-102].

Определение сульфатной золы растительного сырья

Содержание сульфатной золы определяли с целью получения воспроизводимой характеристики минеральной составляющей растительного сырья путём перевода неорганических компонентов в термодинамически устойчивую сульфатную форму. Такой подход позволяет минимизировать потери летучих соединений и повысить точность количественной оценки минерального остатка. Для проведения анализа отбирали точную навеску предварительно высушенного и тонко измельчённого растительного материала, которую помещали в фарфоровый тигель, заранее прокалённый до постоянной массы. Навеску равномерно распределяли по поверхности тигля и осторожно смачивали концентрированной серной кислотой. Нагрев осуществляли постепенно на песчаной бане до обугливания органической матрицы, контролируя процесс во избежание вспенивания и потерь образца. После охлаждения зольный остаток повторно обрабатывали серной кислотой и подвергали мягкому нагреву до полного удаления летучих продуктов реакции. Далее тигель помещали в муфельную печь и прокаливали при температуре около 600 °C до полного окисления органической фазы и формирования равномерного минерального остатка. Температурный режим подбирали таким образом, чтобы исключить спекание золы и её адгезию к стенкам тигля.

По завершении прокаливания тигель охлаждали в эксикаторе и взвешивали на аналитических весах. Массовую долю сульфатной золы выражали в процентах по отношению к массе исходной навески растительного сырья на основании разности масс тигля с остатком и пустого тигля. Содержание сульфатной золы (X) в процентах вычисляли по формуле (5):

$$x = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2} \quad (5)$$

где: m - масса тигля с золой после прокаливания, в г; m_1- масса тигля, в г; m_2- масса навески сырья, в г [103-105].

Методы фитохимического анализа растительного сырья

Определение алкалоидов. Качественный анализ

Качественное выявление алкалоидов проводили осадочной реакцией с фосфорномолибденовой кислотой. К 2,0 мл 50%-ного водно-спиртового

экстракта добавляли 2,0 мл 1%-ного раствора фосфорномолибденовой кислоты. Образование жёлтого осадка, постепенно приобретающего синеватую окраску при выдерживании в течение 20 мин, рассматривали как положительную реакцию на присутствие алкалоидных соединений [106-107].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания алкалоидов осуществляли по модифицированной методике [108]. Точную навеску (около 1,0 г) измельчённого растительного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляли 10,0 мл 25%-ного раствора гидроксида натрия и тщательно перемешивали до получения равномерно увлажнённой массы. Образец выдерживали при комнатной температуре в течение 2 ч, после чего прибавляли 50,0 мл хлороформа и оставляли смесь на 1 ч для экстракции алкалоидов. Без взмучивания фаз отбирали 15,0 мл органического извлечения и переносили в делительную воронку вместимостью 100 мл. Алкалоиды последовательно реэкстрагировали 2%-ным раствором серной кислоты тремя порциями объёмом 20 и 10 мл до получения отрицательной реакции с кремневольфрамовой кислотой. Объединённые кислые извлечения фильтровали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объём до метки 2%-ным раствором серной кислоты. Оптическую плотность раствора измеряли при длине волны 420 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм, используя 2%-ный раствор серной кислоты в качестве раствора сравнения.

Содержание алкалоидов в пересчёте на берберина бисульфат (X, %) вычисляли по формуле (6):

$$x = \frac{50 \cdot 50 \cdot D \cdot 100 \cdot 100}{15 \cdot 128 \cdot m \cdot (100 - W)} \qquad (6)$$

где: D – оптическая плотность сернокислотного извлечения при длине волны 420 нм; 128 – удельный показатель поглощения берберина бисульфата при длине волны 420 нм; W - потеря в массе при высушивании сырья в процентах; m - масса навески сырья, в граммах.

Определение антрахинонов. Качественный анализ.

Качественное выявление антрахиноновых соединений проводили в водно-спиртовом экстракте исследуемого растительного сырья. К 2,0 мл экстракта добавляли 2,0 мл кислого 1%-ного раствора нитрата циркония, после чего смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 5 минут. Появление характерного красно-фиолетового осадка рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о присутствии производных антрахинона [109].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания антрахинонов осуществляли по модифицированной методике [109] с предварительным кислотным гидролизом гликозидных форм. Для этого растительное сырьё подвергали обработке 5%-ным раствором серной кислоты с целью перевода связанных антрахинонов в агликоновую форму. После завершения гидролиза точную навеску высушенного и измельчённого сырья помещали в колбу

вместимостью 100 мл, добавляли 7,5 мл ледяной уксусной кислоты и нагревали смесь с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 часа. По окончании нагревания, не прекращая охлаждения, через холодильник вводили 50,0 мл этилацетата и продолжали кипячение ещё в течение 1 часа для экстракции антрахинонов. Полученные извлечения охлаждали, фильтровали и переносили в делительную воронку, после чего добавляли 20,0 мл щелочно-аммиачного раствора. После полного расслоения фаз интенсивно окрашенный нижний слой отделяли. Экстракцию щелочно-аммиачным раствором повторяли до полного прекращения окрашивания водной фазы, что свидетельствовало о завершении извлечения антрахиноновых соединений.

Оптическую плотность объединённых щелочно-аммиачных извлечений измеряли спектрофотометрически при длине волны 525 ± 5 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм, используя щелочно-аммиачный раствор в качестве холостого опыта. Содержание производных антрахинона рассчитывали по калибровочному графику в пересчёте на хризофановую кислоту с учётом массы навески и потери в массе при высушивании сырья. Результат выражали в процентах от абсолютно сухого вещества и вычисляли по формуле (7):

$$X = \frac{C \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)} \qquad (7)$$

где: C - содержание производных антрахинона в 1 мл испытуемого раствора, найденное по калибровочному графику, в граммах; m - масса навески сырья, в граммах; W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Калибровочный график для количественного определения производных антрахинона строили с использованием стандартных растворов хлорида кобальта, предварительно высушенного до постоянной массы. Выбор данного стандарта обусловлен тем, что 1%-ный раствор хлорида кобальта характеризуется оптической плотностью при длине волны 525 ± 5 нм, эквивалентной поглощению 4,3 мг хризофановой кислоты либо 3,6 мг изтизина или эмодина в 1 л щелочно-аммиачного раствора. Это соотношение использовали для пересчёта оптической плотности анализируемых растворов в содержание антрахиноновых соединений. Для получения щелочно-аммиачного раствора в химический стакан помещали 50,0 г гидроксида натрия и растворяли его при постоянном перемешивании в 870 мл очищенной воды. После полного растворения и охлаждения полученного раствора до комнатной температуры добавляли 80,0 мл концентрированного раствора аммиака и тщательно перемешивали до получения однородной среды. Приготовленный щелочно-аммиачный раствор использовали в течение 24 часов.

Выделение суммарной фракции антрахинонов и ее компонентный анализ: Выделение суммарной фракции антрахинонов из растительного сырья *Humulus lupulus* L. осуществляли методом многократной экстракции с последующим фракционированием и хроматографическим разделением компонентов. Экстракцию проводили 70%-ным этиловым спиртом при кипячении на водяной бане с использованием обратного холодильника. Процесс осуществляли

трёхкратно продолжительностью 30, 20 и 10 минут при соотношении растительного сырья и экстрагента 1:10. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали до небольшого объёма при пониженном давлении.

Сгущённый спиртовой экстракт подвергали последовательному жидкостно-жидкостному фракционированию с использованием n-гексана и хлороформа, что позволяло разделить соединения по степени полярности. n-Гексановую фракцию концентрировали и дополнительно очищали методом колонночной хроматографии на силикагеле. Элюирование проводили в градиентном режиме смесью n-гексан–этилацетат с постепенным увеличением доли полярного компонента от 10:0 до 7:3. Хлороформную фракцию также наносили на колонку с силикагелем и разделяли путём элюирования хлороформом и смесями хлороформа с метанолом в соотношениях от 9:1 до 1:1. Контроль разделения и чистоты фракций осуществляли методом тонкослойной хроматографии в системе растворителей толуол – этиловый эфир муравьиной кислоты – муравьиная кислота (5:4:1). Окончательную очистку и компонентный анализ индивидуальных антрахинонов выполняли с использованием препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разделение проводили на обращённо-фазовых колонках Lichrospher RP-18 и Spherisorb ODS-1. В качестве подвижных фаз применяли:

– смесь метанол–вода с градиентным изменением состава от 45:55 до 80:20 в течение 80 минут;

– изократическую систему ацетонитрил–вода (65:35);

– многокомпонентную систему, включающую 0,02 М раствор лимонной кислоты (с добавлением 0,14 % триэтиламина), ацетонитрил, метанол и тетрагидрофуран в соотношении 100:50:25:5.

Детектирование компонентов осуществляли с использованием УФ-детектора при длине волны 254 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и оценку чистоты индивидуальных антрахиноновых соединений [110].

Определение белков

Качественное выявление белковых соединений в растительном сырье проводили с использованием водного экстракта. К 2,0 мл исследуемого экстракта добавляли 2,0 мл реактива Миллона, после чего смесь нагревали на кипящей водяной бане в течение 10 минут. Появление белого осадка, переходящего при дальнейшем нагревании в характерную кирпично-красную окраску, рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о присутствии белковых веществ, содержащих ароматические аминокислотные остатки [111].

Количественное определение содержания белков

Количественное определение суммарного содержания белков в растительном сырье осуществляли биуретовым методом, основанным на образовании окрашенного комплекса между пептидными связями белковых молекул и ионами меди в щелочной среде. Для анализа отбирали точную навеску высушенного и измельчённого растительного сырья, которую экстрагировали очищенной водой. Навеску заливали 20,0 мл воды и настаивали при комнатной

температуре в течение 24 часов, после чего полученное извлечение фильтровали для удаления механических примесей. К 10,0 мл водного экстракта добавляли 40,0 мл биуретового реактива, тщательно перемешивали и выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут для полного развития окраски. Оптическую плотность полученного раствора измеряли спектрофотометрически при длине волны 540 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм. Содержание белков в исследуемых образцах определяли по калибровочному графику.

Калибровочную зависимость строили с использованием стандартных растворов яичного белка с известными концентрациями (2, 4, 6, 8 и 10 мг/мл). Для каждого стандартного раствора проводили биуретовую реакцию в аналогичных условиях и измеряли оптическую плотность при длине волны 540 нм. По полученным данным строили график зависимости оптической плотности от концентрации белка, который использовали для расчёта содержания белков в исследуемых образцах [112].

Качественное определение дубильных веществ

Качественное выявление дубильных веществ в растительном сырье осуществляли с использованием водного экстракта. К 2,0 мл исследуемого экстракта добавляли 2,0 мл 5%-ного раствора нитрозометилуретана и нагревали смесь на кипящей водяной бане в течение 10 минут. Образование осадка рассматривали как предварительный признак присутствия дубильных соединений.

Образовавшийся осадок отделяли фильтрованием, после чего к полученному фильтрату добавляли несколько капель 1%-ного раствора железо-аммониевых квасцов и кристалл ацетата натрия. Появление характерного фиолетового окрашивания свидетельствовало о наличии дубильных веществ фенольной природы в исследуемом образце [113].

Количественное определение содержания дубильных веществ

Количественное определение суммарного содержания дубильных веществ в растительном сырье проводили титриметрическим методом, регламентированным фармакопейными требованиями [114], с использованием перманганатометрического окисления в присутствии индигосульфокислоты. Для анализа отбирали навеску высушенного и измельчённого растительного сырья массой 5,0 г, которую помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл. К сырью добавляли 50,0 мл горячей очищенной воды и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 часов при периодическом перемешивании. Полученное водное извлечение аккуратно декантировали, после чего к растительному остатку добавляли ещё 50,0 мл горячей воды и повторяли экстракцию в аналогичных условиях. Объединённые водные извлечения фильтровали и переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводя объём раствора очищенной водой до метки. Из полученного экстракта отбирали аликвоту объёмом 10,0 мл, переносили её в коническую колбу вместимостью 500 мл, добавляли 100 мл очищенной воды и 10,0 мл раствора индигосульфокислоты. Титрование проводили 0,02 М раствором перманганата калия при постоянном

перемешивании до появления устойчивого золотисто-жёлтого окрашивания раствора.

Контрольный опыт выполняли параллельно, титруя 10,0 мл раствора индигосульфокислоты в 100 мл очищенной воды без добавления экстракта. Разность объёмов титранта, израсходованных в основном и контрольном опытах, использовали для расчёта содержания дубильных веществ.

Принято, что 1 мл 0,02 М раствора перманганата калия соответствует 0,004157 г гидролизуемых дубильных веществ в пересчёте на танин. Содержание дубильных веществ (X, %) рассчитывали с учётом объёма экстракта, массы навески и потери в массе при высушивании сырья. Результат выражали в процентах от абсолютно сухого вещества. Содержание дубильных веществ вычисляли по формуле (8):

$$x = \frac{(V_1 - V_2) \cdot K \cdot D \cdot V \cdot 100 \cdot 100}{V_3 \cdot m \cdot (100 - W)} \qquad (8)$$

где: V_1 - объем 0.02М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование экстракта, в мл.; V_2 - объем 0.02М раствора калия перманганата, израсходованного на титрование в контрольном опыте, в мл.; V_3 - объем экстракта, взятого на титрование, в мл.; V - объем экстракта, в мл.; m - масса навески сырья, в г.; W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах; D – коэффициент пересчета на соответствующие дубильные вещества.

Выделение суммарной фракции дубильных веществ и компонентный анализ

Для выделения суммарной фракции дубильных веществ применяли метод последовательной экстракции растительного сырья с использованием растворителей различной полярности, что позволяло поэтапно удалять сопутствующие примеси и концентрировать целевую группу соединений. На первом этапе сырьё экстрагировали бензолом с целью удаления хлорофилла, смолистых веществ и других неполярных компонентов. Далее экстракцию последовательно проводили диэтиловым эфиром, этилацетатом и этиловым спиртом, обеспечивая переход дубильных веществ в более полярные фракции.

Полученные экстракты упаривали в щадящих условиях при температуре не выше 40 °C с использованием вакуума водоструйного насоса, что предотвращало термическое разложение фенольных соединений. Концентрированный этилацетатный экстракт подвергали повторной очистке методом колонночной хроматографии на сефадексе LH-20, элюируя компоненты водно-спиртовыми смесями с постепенным увеличением доли спирта (от 1:9 до 1:1).

Спиртовой концентрат дополнительно фракционировали на колонке с сефадексом HW-40, используя в качестве элюентов водные растворы метанола с возрастающей концентрацией (10 → 20 → 30 → 40 → 50 % MeOH), а также смесь метанол–вода–ацетон в соотношении 7:1:2. Полученные элюаты объединяли на основании данных хроматографического контроля и упаривали до концентрированного состояния.

Для селективного выделения дубильных веществ полученные фракции обрабатывали 10%-ным раствором ацетата свинца, в результате чего образовывались труднорастворимые соли дубильных соединений. Осадок отделяли центрифугированием и подвергали кислотному разложению 5%-ным раствором серной кислоты. Образовавшийся сернокислый раствор нейтрализовали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия и концентрировали для дальнейшего анализа [115-120].

Компонентный анализ выделенных дубильных веществ осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием аутентичных стандартов. Разделение проводили на обращённо-фазовой колонке LiChrospher-100 RP-18 (размер частиц 5 мкм). В качестве подвижной фазы применяли смесь 0,01 М фосфорной кислоты, 0,01 М дигидрофосфата калия и ацетонитрила в соотношении 47,5:47,5:5. Детектирование осуществляли с помощью УФ-детектора при длине волны 254 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и количественную оценку индивидуальных компонентов дубильного комплекса [121-123].

Определение ксантонов

Качественный анализ

Качественное выявление ксантоновых соединений проводили в водно-спиртовом экстракте растительного сырья. К 2,0 мл экстракта добавляли 2,0 мл 5%-ного раствора хлорида алюминия и тщательно встряхивали. Появление характерного зелено-голубого окрашивания рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о присутствии ксантоновых производных, способных образовывать комплексные соединения с ионами алюминия [124-126].

Количественное определение

Количественную оценку суммарного содержания ксантонов осуществляли методом тонкослойной хроматографии с последующей спектрофотометрической детекцией [127]. Для анализа точную навеску предварительно высушенного и измельчённого растительного сырья помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 30,0 мл 50%-ного водного ацетона и 5,0 мл концентрированной хлороводородной кислоты. Смесь нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа для проведения кислотного гидролиза гликозидных форм ксантонов. После охлаждения гидролизат фильтровали, упаривали до объёма 2–3 мл и наносили на пластинки с силикагелем. Хроматографирование проводили в присутствии стандартного образца мангиферина, используя в качестве подвижной фазы 15%-ный раствор уксусной кислоты. Зоны, соответствующие мангиферину (Rf = 0,38–0,42), а также другим ксантоновым соединениям, проявлявшиеся в виде ярко-оранжевых пятен в ультрафиолетовом свете, аккуратно отделяли с пластинки. Соскобленный сорбент элюировали в 15,0 мл 50%-ного водного ацетона путём настаивания в течение 15 часов. Полученные элюаты фильтровали, после чего измеряли их оптическую плотность при длине волны 372 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм.

Содержание ксантонов выражали в процентах от абсолютно сухого сырья в пересчёте на мангиферин, используя соотношение оптических плотностей испытуемого раствора и стандартного образца с учётом объёмов нанесённых растворов, массы навески и потери в массе при высушивании сырья. Содержание ксантонов в абсолютно сухом сырье, в пересчёте на мангиферин (X, %), вычисляли по формуле (9):

$$x = \frac{D \cdot V_2 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 100}{D_1 \cdot V_1 \cdot m \cdot (100 - W)} \quad (9)$$

где: D - оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 372 нм; D_1– оптическая плотность раствора СО при длине волны 372 нм; m – масса навески сырья, в г.; m_1 – масса навески СО, в г.; V_1 – объем раствора СО, в мл., нанесенного на хроматограмму; V_2 – объем испытуемого раствора в мл., нанесенного на хроматограмму; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Выделение суммарной фракции ксантонов и компонентный анализ

Для выделения суммарной фракции ксантоновых соединений использовали воздушно-сухое растительное сырьё, которое подвергали последовательной экстракции в аппарате Сокслета растворителями возрастающей полярности. Экстракцию проводили петролейным эфиром, дихлорметаном и этилацетатом, каждый этап продолжался до 48 часов, что обеспечивало максимально полное извлечение ксантоновых агликонов и гликозидов. Сконцентрированные петролейно-эфирные и дихлорметановые экстракты, содержащие преимущественно агликонные формы ксантонов, очищали методом колонночной хроматографии на силикагеле L 60/120. Элюирование осуществляли гексаном и смесями гексан–этилацетат в соотношениях 98:2 и 95:5. Ксантоновые гликозиды выделяли из концентрированной этилацетатной фракции путём колонночной хроматографии на силикагеле L 60/120 с градиентным элюированием системами n-гексан–этилацетат (20:1, 10:1 и 5:1), дихлорметан–ацетон (10:1, 5:1 и 1:0), а также дихлорметан–метанол (10:1, 5:1 и 1:0). Полученные фракции дополнительно очищали методом рехроматографии на сефадексе LH-20, используя в качестве подвижной фазы 75%-ный водный метанол. Индивидуальные ксантоновые соединения выделяли из очищенных фракций перекристаллизацией из смесей ацетона и гексана, что обеспечивало получение веществ аналитической чистоты [128].

Хроматографический контроль суммарных фракций и индивидуальных ксантонов осуществляли методами бумажной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для бумажной хроматографии применяли системы растворителей: хлороформ–ацетон–муравьиная кислота (80:20:1), толуол–этилацетат–муравьиная кислота (65:35:1) и петролейный эфир–этилацетат–муравьиная кислота (70:30:1). Проявление хроматограмм проводили обработкой 5%-ным раствором хлорида алюминия, что позволяло визуализировать ксантоновые соединения.

Компонентный анализ ксантонов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием аутентичных стандартов. Разделение проводили на обращённо-фазовой колонке LiChrospher-100 RP-18 (размер частиц сорбента 5 мкм) в условиях изократического элюирования. В качестве подвижной фазы использовали смеси метанол–вода в соотношениях 1:1, 2:3, 7:13 и 9:1. Детектирование осуществляли с применением УФ-детектора при длине волны 237 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и оценку состава ксантоновых соединений [129].

Определение кумаринов

Качественный анализ

Качественное выявление кумариновых соединений проводили в водно-спиртовом экстракте растительного сырья. К 2,0 мл экстракта добавляли 3,0 мл пиридина, после чего по каплям вводили 2,0 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия. В присутствии нескольких капель спиртового раствора бромтимолового синего наблюдали последовательное изменение окраски раствора от жёлтой через зелёную к синей, что рассматривали как характерную реакцию, свидетельствующую о наличии кумариновых производных [130].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания кумаринов осуществляли по модифицированной спектрофотометрической методике [120]. Для анализа точную навеску предварительно высушенного и измельчённого растительного сырья помещали в колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50,0 мл хлороформа и нагревали смесь при постоянном перемешивании на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов. После завершения экстракции раствор охлаждали и фильтровали через бумажный фильтр. Из полученного хлороформного извлечения отбирали 20,0 мл, переносили в делительную воронку, добавляли 1,0 г хлорида натрия и интенсивно встряхивали в течение 5 минут для удаления сопутствующих примесей. Хлороформную фазу упаривали на кипящей водяной бане до полного удаления растворителя. Сухой остаток растворяли в 10,0 мл 96%-ного этилового спирта и количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводя объём раствора тем же растворителем до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряли спектрофотометрически при длине волны 272 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм, используя 96%-ный этиловый спирт в качестве раствора сравнения.

Содержание производных кумарина в абсолютно сухом сырье в пересчёте на стандартный образец (СО) в процентах (X, %) вычисляли по формуле (10):

$$x = \frac{D \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100}{734 \cdot 20 \cdot m \cdot (100 - W)} \qquad (10)$$

где: D - оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 272 нм; 734 – удельный показатель поглощения СО кумарина при длине волны 272

нм; m – масса навески сырья, в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Выделение суммарной фракции кумаринов и компонентный анализ

Для выделения суммарной фракции кумариновых соединений растительное сырьё подвергали многоступенчатой обработке с использованием растворителей различной полярности. На предварительном этапе материал экстрагировали петролейным эфиром с целью удаления липофильных примесей (жиров, хлорофилла, восков и смолистых веществ). После этого проводили исчерпывающую экстракцию кумаринов хлороформом и этиловым спиртом. Полученный спиртовой экстракт концентрировали в щадящих условиях при температуре 40–50 °C с применением вакуума водоструйного насоса, что позволяло избежать термического разложения кумариновых соединений. Для удаления кислотных и фенольных примесей концентрат последовательно обрабатывали 0,5%-ным водным раствором гидроксида калия, а затем 5%-ным водно-спиртовым раствором гидроксида калия с выдерживанием в течение 1 часа. Индифферентные компоненты экстракта (стеролы, высшие спирты, углеводороды и другие нейтральные соединения) удаляли экстракцией щелочного раствора диэтиловым эфиром. После этого водно-щелочной раствор подкисляли разбавленной хлороводородной кислотой. Смесь кумаринов и сопутствующих кислот извлекали пятикратной экстракцией диэтиловым эфиром. Остаточные кислотные компоненты удаляли путём капельного добавления 0,5%-ного раствора гидроксида калия до завершения их нейтрализации [131].

Компонентный анализ выделенной суммарной фракции кумаринов осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием аутентичных стандартных образцов. Разделение проводили на обращённо-фазовой колонке LiChrospher-100 RP-18 (размер частиц сорбента 5 мкм). В качестве подвижной фазы применяли систему диоксан – 0,01 М раствор гидрофосфата натрия в соотношении 36,3:63,7 при значении pH 7,3. Детектирование кумариновых соединений осуществляли с помощью УФ-детектора при длине волны 340 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и анализ компонентного состава кумаринов [132].

Определение моно- и полисахаридов

Качественный анализ полисахаридов

Качественное выявление полисахаридных соединений в растительном сырье проводили с использованием водного экстракта. К 5,0 мл водного извлечения добавляли четырёхкратный по объёму избыток 95%-ного этилового спирта. Образование характерного хлопьевидного осадка рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о присутствии высокомолекулярных углеводов полисахаридной природы [133].

Количественное определение полисахаридов

Количественное определение суммарного содержания полисахаридов осуществляли по модифицированной гравиметрической методике [134]. Для анализа навеску измельчённого растительного сырья массой 5,0 г помещали в

колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50,0 мл очищенной воды и нагревали на водяной бане при постоянном перемешивании в течение 1 часа, используя обратный холодильник. После охлаждения экстракцию водой повторяли дважды по 30 минут в аналогичных условиях. Полученные водные извлечения объединяли и фильтровали через три слоя марли в мерную колбу вместимостью 250 мл. Остаток на фильтре промывали очищенной водой, доводя общий объём раствора до метки. Из объединённого извлечения отбирали аликвоту объёмом 25,0 мл, переносили её в центрифужную пробирку и добавляли 75,0 мл 95%-ного этилового спирта. Смесь тщательно перемешивали и подогревали на водяной бане при температуре 60 °C в течение 5 минут для осаждения полисахаридов. Через 30 минут суспензию центрифугировали при скорости вращения 5000 об/мин в течение 30 минут. Надосадочную жидкость удаляли вакуумной фильтрацией через предварительно высушенный до постоянной массы стеклянный фильтр ПОР-16. Осадок количественно переносили на тот же фильтр и промывали 15,0 мл 95%-ного этилового спирта. Фильтр с осадком высушивали при температуре 100–105 °C до постоянной массы.

Содержание полисахаридов, в пересчёте на абсолютно сухое сырьё в процентах (X), вычисляли по формуле (11):

$$x = \frac{(m_2 \cdot m_1)\cdot 250\cdot 100\cdot (100)}{m\cdot 25\cdot (100-W)} \qquad (11)$$

где: m_1 - масса фильтра, в г.; m_2 - масса фильтра с осадком, в г.; m - масса навески сырья, в г.; W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах.

Выделение суммарной фракции углеводов и компонентный анализ

Выделение суммарной фракции углеводов осуществляли из водного маточника исследуемого растительного сырья, полученного после поэтапного фракционирования 30%-ного водно-спиртового экстракта органическими растворителями различной полярности. На предварительных стадиях экстракт последовательно обрабатывали бензолом, хлороформом, ацетоном и этилацетатом с целью удаления липофильных, среднеполярных и фенольных соединений, не относящихся к углеводному комплексу. В результате данных операций формировался водный маточник, обогащённый моно- и полисахаридными компонентами. Водный маточник концентрировали в щадящих условиях при температуре около 50 °C с использованием вакуума водоструйного насоса, что обеспечивало сохранность термолабильных углеводов. Полученный концентрат наносили на колонку с сефадексом LH-20, где разделение углеводных соединений осуществляли методом гель-фильтрации с использованием воды в качестве подвижной фазы. Элюирование водой позволяло эффективно отделить углеводы от остаточных низкомолекулярных примесей и солей.

Компонентный анализ выделенной суммарной фракции углеводов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением аутентичных стандартных образцов. Разделение осуществляли на обращённо-фазовой колонке Nucleosil 100-C18. В качестве подвижной фазы

использовали смесь 75 мМ ацетата натрия и 0,15 М гидроксида натрия. Детектирование углеводных компонентов выполняли с помощью УФ-детектора при длине волны 192 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и сравнительный анализ индивидуальных сахаров в составе исследуемого образца [135].

Определение тритерпеноидов

Качественный анализ

Качественное выявление тритерпеноидных соединений в растительном сырье проводили с использованием реакции Кедде. Для этого к 2,0 мл хлороформного экстракта добавляли 2,0 мл 1%-ного спиртового раствора m-динитробензойной кислоты в щелочной среде. Появление интенсивного ярко-зелёного окрашивания рассматривали как положительную реакцию, указывающую на присутствие тритерпеноидов в исследуемом образце [136].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания тритерпеноидов осуществляли спектрофотометрическим методом по модифицированной методике [120]. Для анализа точную навеску предварительно высушенного и измельчённого растительного сырья помещали в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 50,0 мл 70%-ного этилового спирта и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 2 часов. После завершения экстракции раствор охлаждали и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводя объём извлечения тем же растворителем до метки. Для приготовления рабочего раствора 10,0 мл полученного экстракта переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объём 70%-ным этиловым спиртом до метки. Из рабочего раствора отбирали 2,0 мл, помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл и добавляли 5,0 мл свежеприготовленного 0,7%-ного раствора ванилина в 65%-ной серной кислоте. Смесь выдерживали в термостате при температуре 60 °С в течение 1 часа для образования окрашенного комплекса. По окончании реакции раствор охлаждали в ледяной воде в течение 10 минут. Оптическую плотность полученного раствора измеряли спектрофотометрически при длине волны 560 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения раствор ванилина, подвергнутый аналогичной термической обработке.

Содержание тритерпеноидов в абсолютно сухом сырье в процентах (X, %) определяли в пересчёте на стандартный образец (СО) дазиантозида А по формуле (12):

$$x = \frac{D \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{200 \cdot m \cdot (100 - W)} \qquad (12)$$

где: D - оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 560 нм; E=200 – удельное поглощение раствора дазиантозида А с ванилином и кислотой серной при длине волны 560 нм; W – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах; m – масса навески сырья, в граммах.

Выделение суммарной фракции тритерпеноидов и компонентный анализ

Для выделения суммарной фракции тритерпеноидных соединений предварительно высушенное и измельчённое растительное сырьё подвергали экстракции этиловым спиртом. Экстракцию осуществляли методом настаивания при комнатной температуре с использованием трёхкратного объёма растворителя в течение 72 часов, что обеспечивало максимально полное извлечение тритерпеноидов из растительной матрицы. Полученный спиртовой экстракт концентрировали и подвергали фракционированию путём пятикратной обработки хлороформом с целью обогащения тритерпеноидной фракции. Хлороформные извлечения объединяли и упаривали в щадящих условиях при температуре 40–50 °C с применением вакуума водоструйного насоса. Сконцентрированный экстракт наносили на колонку с силикагелем и разделяли методом колонночной хроматографии с использованием градиентного элюирования. В качестве элюентов последовательно применяли смеси n-гексан–этилацетат с изменением соотношения от 100:0 до 0:100, а затем систему этилацетат–этанол в диапазоне соотношений от 100:0 до 90:10. Контроль эффективности разделения и состава получаемых фракций осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol UV-254» в системах растворителей n-бутанол–этанол–аммиак (7:2:5) и бензол–этилацетат (1:1). Фракции с аналогичным хроматографическим профилем объединяли и подвергали дополнительной очистке методом рехроматографии на колонке с сефадексом LH-20, используя в качестве подвижной фазы смеси дихлорметан–этилацетат с постепенным изменением соотношения от 3:7 до 7:3. Окончательную очистку индивидуальных тритерпеноидов осуществляли путём перекристаллизации из смеси хлороформ–метанол (1:4) [137-145].

Компонентный анализ выделенных тритерпеноидов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием аутентичных стандартных образцов. Разделение проводили на обращённо-фазовой колонке Lichrospher 100 RP-18. В качестве подвижной фазы применяли 0,1 М раствор формиата аммония в 40%-ном метаноле с последующим градиентным увеличением концентрации формиата аммония в метаноле от 0,1 до 1,0 М, а также 4 мМ раствор тетра-n-бутиламмония гидросульфата в 20%-ном метаноле. Детектирование тритерпеноидных соединений осуществляли с использованием УФ-детектора при длине волны 270 нм, что обеспечивало надёжную идентификацию и сравнительный анализ компонентного состава тритерпеноидной фракции [146].

Определение фенолокислот

Качественный анализ

Качественное выявление фенолокислот проводили в ацетоновом экстракте исследуемого растительного сырья. К экстракту добавляли равный объём реакционной смеси, состоящей из 1%-ного раствора гексацианоферрата (III) калия и 2%-ного раствора железо-аммониевых квасцов. Появление интенсивного тёмно-синего окрашивания рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о наличии фенольных кислот, способных вступать в окислительно-восстановительное взаимодействие с ионами железа [147].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания фенолокислот осуществляли спектрофотометрическим методом по модифицированной методике [148]. Для анализа точную навеску измельчённого растительного сырья массой 1,0 г помещали в круглодонную колбу, добавляли 50,0 мл этилового спирта концентрацией 70–90 % и экстрагировали на кипящей водяной бане в течение 2 часов с обратным холодильником. После завершения экстракции раствор охлаждали и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводя объём извлечения этиловым спиртом до метки. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре при длине волны 290 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали 96%-ный этиловый спирт.

Содержание фенолокислот выражали в процентах от абсолютно сухого сырья и рассчитывали по данным оптической плотности с учётом объёма экстракта, массы навески и потери в массе при высушивании. Количественную оценку проводили в пересчёте на галловую кислоту, используя удельный показатель поглощения при длине волны 290 нм, равный 510. Содержание фенолокислот в сырье, в процентах (X, %), вычисляли по формуле (13):

$$\mathrm{X} = \frac{\mathrm{D}\cdot V_1\cdot 100\cdot 100}{\mathrm{P}\cdot V_2\cdot m\cdot(100-W)} \qquad (13)$$

где: D – оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 290 нм; V_1 – объем испытуемого раствора, в мл; V_2 – объем аликвоты испытуемого раствора, в мл; m – масса навески сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья, в процентах; P – удельный показатель поглощения раствора СО при длине волны 290 нм = 510 для кислоты галловой.

Определение флавоноидов

Качественный анализ

Качественное выявление флавоноидных соединений осуществляли с использованием реакции Мартини–Беттоло. Для этого к водно-спиртовому извлечению растительного сырья добавляли равный объём насыщенного раствора пентахлорида сурьмы в четырёххлористом углероде. Появление характерного оранжевого окрашивания рассматривали как положительную реакцию, свидетельствующую о присутствии флавоноидов в исследуемом образце [149].

Количественное определение

Количественное определение суммарного содержания флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом по модифицированной методике [150] с пересчётом результатов на доминирующий в сырье флавоноид — кверцетин. Для анализа навеску измельчённого растительного сырья массой 2,0 г помещали в колбу со шлифом вместимостью 150 мл, добавляли 30,0 мл 90%-ного этилового спирта, содержащего 1% концентрированной хлороводородной кислоты, и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 1 часа. После охлаждения экстракт фильтровали через бумажный фильтр

в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяли ещё дважды в аналогичных условиях, объединяя все извлечения в ту же мерную колбу. Фильтр дополнительно промывали 90%-ным этиловым спиртом, после чего объём объединённого фильтрата доводили тем же растворителем до метки (раствор А). Для проведения анализа 2,0 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 1,0 мл 1%-ного раствора хлорида алюминия в 95%-ном этиловом спирте и доводили объём раствора тем же растворителем до метки. Через 20 минут, необходимых для образования комплексного соединения флавоноидов с ионами алюминия, измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 430 нм в кювете с толщиной оптического слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения использовали раствор, приготовленный аналогично, но без добавления раствора хлорида алюминия (2,0 мл раствора А, доведённые 95%-ным этиловым спиртом до метки в колбе вместимостью 25 мл). Содержание суммы флавоноидов выражали в процентах от абсолютно сухого сырья в пересчёте на кверцетин и рассчитывали по величине оптической плотности с учётом массы навески, потери в массе при высушивании сырья и удельного показателя поглощения комплекса кверцетина с хлоридом алюминия при длине волны 430 нм, равного 764,6.

Содержание суммы флавоноидов в пересчёте на кверцетин и абсолютно сухое сырьё, в процентах (X, %), вычисляли по формуле (14):

$$x = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{764.6 \cdot m \cdot 2 \cdot (100 - W)} \qquad (14)$$

где: D - оптическая плотность испытуемого раствора; 764.6 - удельный показатель поглощения комплекса кверцетина с алюминия хлоридом при 430 нм; W - потеря в массе при высушивании сырья, в процентах; m - масса навески сырья, в граммах.

Определение фосфолипидов

Качественную характеристику и количественное определение суммарного содержания фосфолипидов в растительном сырье проводили гравиметрическим методом, основанным на их селективном осаждении из органического экстракта. Для анализа навеску измельчённого растительного сырья массой 5,0 г помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл с притёртой пробкой и добавляли 25,0 мл смеси хлороформ–96%-ный этиловый спирт в соотношении 2:1. Экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 3 часов при периодическом перемешивании, после чего экстракт фильтровали. Процедуру экстракции повторяли ещё дважды, используя свежие порции хлороформно-спиртовой смеси по 25,0 мл. Объединённые органические извлечения обрабатывали 150 мл ацетона, тщательно перемешивали и оставляли для отстаивания на 30 минут. В результате происходило осаждение фосфолипидной фракции. Образовавшийся осадок отделяли фильтрованием через бумажный фильтр и промывали 50,0 мл ацетона для удаления сопутствующих липидных примесей.

Фильтр с осадком высушивали при температуре 50–60 °C до достижения постоянной массы. Содержание суммы фосфолипидов выражали в процентах от

абсолютно сухого растительного сырья, рассчитывая показатель на основании массы полученного осадка с учётом потери в массе при высушивании [151].

Содержание эфирного масла в объёмно-весовых процентах (X, %) вычисляли по формуле (15):

$$x = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)} \quad (15)$$

где: V – объем эфирного масла, в мл.; m – масса навески сырья, в г.; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.

Получение фитопрепаратов Humulus lupulus L.

Для приготовления фитопрепаратов, предназначенных для последующего биологического скрининга, использовали надземную часть *Humulus lupulus* L. в воздушно-сухом состоянии. Растительное сырьё очищали от механических примесей, измельчали до однородной фракции (до получения равномерной по размеру частиц массы) и подвергали предварительной обработке, направленной на удаление смолистых и избыточно липофильных компонентов.

С этой целью измельчённое сырьё настаивали в бензоле при комнатной температуре в течение 48 часов. Предварительное обезсмоливание и обезжиривание является технологически важной стадией, поскольку снижает содержание веществ, способных ухудшать извлечение полифенольного комплекса, затруднять фильтрацию и приводить к появлению помех при последующем анализе биологической активности. По завершении настаивания органическую фазу отделяли фильтрованием, остаток растительного материала дополнительно подсушивали при комнатной температуре до удаления следов растворителя.

После обезжиривания из подготовленного сырья получали серию экстрактов различной полярности, что позволяло охватить широкий спектр биологически активных веществ, отличающихся растворимостью. Для экстракции последовательно применяли следующие растворители: вода (водный экстракт), 50% водно-спиртовая смесь (50% водно-спиртовый экстракт), 96% этанол (спиртовый экстракт), 50% водный ацетон (водно-ацетоновый экстракт) и ацетон (ацетоновый экстракт). Соотношение растительное сырьё: экстрагент во всех вариантах составляло 1:5, что обеспечивало достаточный объём растворителя для перехода экстрагируемых компонентов в раствор и повышало воспроизводимость экстракции при сравнении образцов. Экстрагирование проводили в течение 4 часов при температуре кипения соответствующего экстрагента, что обеспечивало интенсификацию массопереноса и повышение выхода экстрактивных веществ. После завершения процесса растворы отделяли от растительного остатка фильтрованием до получения прозрачных извлечений без механических включений. Далее экстракты подвергали концентрированию в щадящих условиях: упаривание выполняли под вакуумом (с использованием водоструйного насоса) при температуре водяной бани не выше 40 °C. Выбор мягкого температурного режима обусловлен необходимостью сохранения термолабильных и легкоокисляемых компонентов, включая отдельные

фенольные соединения и терпеновые производные. Сконцентрированные извлечения доводили до сухого остатка, высушенные образцы герметично упаковывали и использовали в последующих исследованиях, включая оценку антимикробной активности.

Определение выхода экстрактов

После завершения процесса упаривания и получения сухих фитопрепаратов массу каждого экстракта определяли с использованием аналитических весов с высокой точностью. Перед взвешиванием образцы доводили до постоянной массы, что позволяло исключить влияние остаточной влаги или растворителя на результат измерений. Выход экстракта рассчитывали, как отношение массы сухого экстракта к массе исходного воздушно-сухого растительного сырья и выражали в процентах по формуле (16):

$$Y = \frac{m_{\text{экстракта}}}{m_{\text{сырья}}} \times 100 \qquad (16)$$

где: m_экстракта — масса сухого экстракта, m_сырья — масса исходного сырья.

Определение выхода экстрактов являлось важным количественным показателем, отражающим эффективность используемых растворителей и условий экстрагирования. Сравнение выходов позволило оценить способность различных экстрагентов извлекать из *Humulus lupulus* L. соединения разной химической природы, включая полифенолы, терпеновые и липофильные компоненты. Эти данные использовали для интерпретации результатов фитохимического и биологического анализа.

Хранение и маркировка фитопрепаратов

Полученные сухие экстракты подвергали обязательной маркировке, включающей указание региона происхождения растительного сырья, типа применённого экстрагента и даты получения препарата. Такая система идентификации обеспечивала прослеживаемость образцов на всех этапах исследования и исключала возможность их перепутывания при дальнейшем использовании. Для хранения фитопрепараты помещали в герметично закрытые флаконы из тёмного стекла, препятствующие воздействию света и атмосферного кислорода. Образцы хранили при температуре около +4 °C в холодильной камере. Выбранные условия хранения позволяли минимизировать процессы окисления, фотодеструкции и химической деградации биологически активных веществ, обеспечивая стабильность состава экстрактов в течение всего периода экспериментов.

2.2.4 Методы исследования антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L.

Подготовка экстрактов к биологическим исследованиям

Непосредственно перед проведением антимикробных и других биологических тестов сухие экстракты переводили в растворимое состояние.

Для этого использовали растворители, совместимые с биологическими системами и обеспечивающие максимальную растворимость компонентов экстракта, включая воду, этанол или диметилсульфоксид в зависимости от свойств конкретного образца. Приготовленные растворы очищали от нерастворимых частиц и механических примесей путём фильтрации через стерильные мембранные фильтры. Все операции выполняли в асептических условиях для предотвращения микробного загрязнения, которое могло бы исказить результаты антимикробных испытаний. Такая стандартизированная схема подготовки обеспечивала воспроизводимость экспериментов, сопоставимость данных между сериями испытаний и высокую достоверность оценки биологической активности фитопрепаратов *Humulus lupulus* L.

Методы по определению антимикробной активности сухого водного экстракта и сухого 50%-го водно-спиртового экстракта Humulus lupulus L. *Определение антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного Humulus lupulus* L. *Цель и обоснование исследования*

Данный этап работы был направлен на экспериментальную оценку антимикробного потенциала экстрактов *Humulus lupulus* L. в отношении клинически и биологически значимых микроорганизмов. Выбор сухого водного и сухого 50%-го водно-спиртового экстрактов был обусловлен тем, что именно эти фракции содержат максимальное количество полярных и умеренно полярных биологически активных соединений, включая полифенолы, флавоноиды и кислородсодержащие терпеноиды.

Исследование минимальных бактерицидных и фунгицидных концентраций позволило не только оценить факт ингибирования роста микроорганизмов, но и количественно охарактеризовать силу антимикробного действия фитопрепаратов. Испытательное оборудование и средства измерения, применяемые при проведении исследований:

№ п/п	Наименование и тип (марка) испытательного оборудования и средства измерения	Характеристика	Дата поверки (аттестации, калибровки)
1	Термостат инкубатор BD - 115	от +4 до +100 ºС; d= ± 1 ºС	04.10.2019
2	Денситометр DEN-1	0-15 McF	31.03.2020
3	Пипетка переменного объема Capp Bravo	0,1-1 мл, d=0,1 %	06.05.2020
4	Пипетка переменного объема Eppendorf Research	20-200 мкл; d=1,44 %	19.06.2019
5	Ламинарный бокс BioIIA/G	Скорость потока 1100 м3/ч	05.10.2019
6	Гигрометр ВИТ-1	от 20 % до 90 %, d = 0,17°С (k=2, P=0,95) рабочий предел от + 15°С до + 40 °С	22.05.2018

Условия проведения экспериментов и характеристика исследуемого образца

Все микробиологические испытания выполнялись в помещении лаборатории при контролируемых параметрах окружающей среды. Температура

воздуха в рабочей зоне поддерживалась на уровне 24 °C, а относительная влажность составляла около 66 %. Поддержание стабильных микроклиматических условий являлось важным фактором для обеспечения воспроизводимости экспериментальных данных, поскольку рост микроорганизмов, стабильность питательных сред и свойства исследуемых экстрактов чувствительны к изменениям температуры и влажности. Контроль параметров воздуха осуществляли с использованием измерительных приборов, что позволяло исключить влияние внешних факторов на результаты антимикробных испытаний и обеспечить сопоставимость данных между сериями экспериментов.

Характеристика исследуемого вещества

В качестве объекта исследования применяли сухой водный экстракт надземной части *Humulus lupulus* L., предназначенный для оценки его антимикробной активности. В лабораторию микробиологии образец был доставлен в количестве 12,0 г и использовался для приготовления исходных и рабочих растворов. Флакон находился в картонной упаковке, предохраняющей содержимое от механических повреждений и воздействия света (рисунок 9). Дата изготовления образца составляла 04.02.2020 г., а заявленный срок хранения — 2–3 года, что соответствовало требованиям для сухих растительных экстрактов. На момент проведения исследований препарат находился в пределах установленного срока годности. По физическому состоянию экстракт представлял собой неоднородный порошок зеленовато-коричневого цвета, характерный для водных экстрактов растений, богатых полифенольными соединениями и другими вторичными метаболитами. Такая окраска и структура косвенно указывают на присутствие комплекса биологически активных веществ, что делает данный препарат перспективным объектом для микробиологического тестирования.



Рисунок 9 – Исследуемое вещество
(сухой водный экстракт Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L.)

Активность исследуемого сухого водного экстракта *Humulus lupulus* L. обусловлена совокупным действием комплекса природных соединений, синтезируемых растением. В его состав входят фенольные вещества, флавоноиды, терпеновые производные и другие вторичные метаболиты, обладающие выраженными биологическими свойствами. Именно сочетание этих компонентов формирует антимикробный и фунгицидный потенциал экстракта, поскольку действие фитопрепаратов носит, как правило, многофакторный и синергетический характер.

В отличие от индивидуальных химических веществ, растительные экстракты представляют собой сложные системы, в которых биологическая активность является результатом взаимодействия нескольких классов соединений. Это особенно характерно для *Humulus lupulus* L., известного высоким содержанием полифенолов и терпенов, участвующих в защите растения от микроорганизмов и окислительного стресса.

Дезинфицирующее средство

Обеззараживание рабочих поверхностей, лабораторного оборудования и инструментов осуществляли с применением дезинфицирующего препарата «Комбидез» (производитель — ООО «КиилтоКлин», Россия). Средство использовали в рабочей концентрации 0,5 %, обеспечивающей эффективную инактивацию микроорганизмов при сохранении безопасности для персонала и оборудования.

Применение стандартизированного дезинфицирующего раствора являлось обязательным элементом микробиологического протокола и позволяло исключить постороннюю микрофлору, способную исказить результаты определения антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L.

Питательные среды и реактивы

№ п/п	Наименование и кодировка питательных сред и реагентов	Производитель	Характеристика
1	Агар Мюллера-Хинтона (M173)	HiMedia, Индия	pH (при 25 °C) 7,3±0,1
2	Бульон Мюллера-Хинтона (M391)	HiMedia, Индия	pH (при 25 °C) 7,4±0,2
3	Натрий хлористый	Михайловский завод химических реактивов, Россия	хч
4	Этанол	«Талгар Спирт», Казахстан	96 %
5	Диметилсульфоксид (ДМСО)	AppliChem, Германия	99,5%

Тестовые штаммы микроорганизмов

1) *Candida albicans* ATCC 10231 – тест-штамм, полученный из Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), США;

2) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P – тест-штамм, полученный из Республиканской коллекции микроорганизмов (РКМ), Астана, РК;
3) *Escherichia coli* ATCC 8739 – тест-штамм, полученный из Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), США.

Нормативно-методическое обеспечение исследования

Проведение микробиологических испытаний осуществлялось на основе действующих внутренних регламентов лаборатории, в которых подробно описаны процедуры определения антимикробной активности веществ методом серийных разведений. Используемая методика охватывала все ключевые этапы эксперимента — от подготовки исследуемых растворов и микробных культур до инкубации и интерпретации результатов.

Для обеспечения корректности и международной сопоставимости полученных данных методологическая схема эксперимента была приведена в соответствие с рекомендациями Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, США), являющегося ведущим мировым разработчиком стандартов в области клинико-лабораторной микробиологии. Применение данных принципов гарантировало соблюдение требований к воспроизводимости, точности и биологической интерпретации результатов [152].

Использованные нормативные документы и методические источники приведены в библиографическом разделе диссертации.

Приготовление stock-раствора агента

Концентрация базового раствора образца, используемая в исследовании, составила 20 000 мкг/мл. Stock-раствор исследуемого экстракта готовили по формуле (17):

$$\mathrm{mAA} = \frac{\mathrm{C} \times \mathrm{V}}{\mathrm{a}} \qquad (17)$$

где, m_{AA} – расчетная навеска исследуемого образца, мг;
C – необходимая концентрация агента, мкг/мл;
V – объем растворителя, мл;
a – активность агента, мкг/мл.
Подставляя значения в формулу (18), получаем:

$$\mathrm{mAA} = \frac{20000\text{мкг/мл} \times 5{,}5\text{мл}}{1000\ \text{мкг/мл}} = 110\text{мг} = 0{,}11\text{г}. \qquad (18)$$

Активность образца (величина «а») принимали за 1000 мкг/мл (100%) по причине отсутствия данных по количеству активного вещества в экстракте. Навеску экстракта массой 0,11 г. растворили в 5,5 мл растворителя, получив концентрацию stock-раствора равную 20 000 мкг/мл.

В связи с ограниченной растворимостью исследуемого экстракта в воде, физиологическом растворе и 96%-м этаноле, в качестве среды для приготовления

рабочих растворов был выбран диметилсульфоксид (ДМСО). Данный растворитель обладает высокой способностью растворять широкий спектр органических соединений и одновременно характеризуется низкой токсичностью в используемых концентрациях, что делает его подходящим для биологических тест-систем.

Применение альтернативных органических растворителей различной полярности в данном случае не использовали, поскольку их введение могло приводить к селективному извлечению отдельных групп биологически активных веществ, изменяя тем самым реальный состав экстракта и искажая оценку его антимикробного действия [153].

Следует отметить, что ввиду ограниченной растворимости фитопрепарата полученные растворы имели негомогенный характер. Для контроля возможного влияния самого растворителя на рост микроорганизмов в каждом эксперименте параллельно проводили тестирование ДМСО без добавления экстракта. Это позволило исключить появление ложноположительных результатов и обеспечить корректную интерпретацию антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L.

Приготовление суспензии микроорганизмов

Для проведения антимикробных испытаний из каждого тест-штамма готовили стандартизированную микробную суспензию. Суточные культуры микроорганизмов отбирали стерильной бактериологической петлёй и переносили в стерильные пробирки, содержащие 5 мл изотонического раствора хлорида натрия (0,9 % NaCl). Полученные суспензии тщательно перемешивали до равномерного распределения клеток.

Концентрацию микроорганизмов в исходных суспензиях контролировали с помощью денситометра DEN-1 путём измерения оптической плотности. Плотность инокулюмов приводили к значению 0,5 по шкале МакФарланда, что соответствует приблизительно $1{,}5 \times 10^8$ колониеобразующих единиц на миллилитр (КОЕ/мл).

Для получения рабочей концентрации инокулюма выполняли дополнительное разбавление: 0,05 мл первичной суспензии переносили в пробирку с 4,95 мл стерильного физиологического раствора. В результате формировалась рабочая микробная суспензия с концентрацией $1{,}5 \times 10^6$ КОЕ/мл, которая использовалась для засева культуральных планшетов в опытах по определению антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L.

Оценка антимикробного действия экстрактов методом последовательных разведений

Антимикробные свойства экстрактов *Humulus lupulus* L. изучали с применением метода последовательных двукратных разведений в жидкой питательной среде. В качестве среды использовали бульон Мюллера–Хинтона, который обеспечивает оптимальные условия для роста большинства клинически значимых микроорганизмов. Эксперименты проводили в стерильных культуральных планшетах с 48 лунками, изготовленных из полистирола, что

позволяло одновременно анализировать ряд концентраций исследуемого вещества [154].

В каждую лунку предварительно вносили фиксированный объём питательной среды, после чего в начальные лунки каждого ряда добавляли экстракт в максимальной исследуемой концентрации. Последующее разведение осуществляли путём поэтапного переноса части смеси в соседние лунки, содержащие свежую среду. После каждого переноса смесь тщательно гомогенизировали, обеспечивая равномерное распределение активных компонентов. В последней лунке избыточный объём удаляли, что позволяло сохранить одинаковый объём во всех ячейках. Формировали градиент концентраций экстракта, охватывающий диапазон от высоких до минимальных значений, достаточных для определения порогов биологической активности. Такой подход позволял установить зависимость между дозой фитопрепарата и степенью ингибирования роста микроорганизмов.

После приготовления рядов разведений в каждую лунку вносили стандартизированную микробную суспензию с одинаковой клеточной плотностью. Для каждого тест-штамма анализ проводили отдельно, что исключало перекрёстное влияние культур. Инкубацию осуществляли при 37 °C в течение 24 часов.

По завершении инкубации из лунок выполняли высев на плотную питательную среду с предварительным разделением чашек Петри на сектора, соответствующие исследуемым концентрациям экстракта. Такой подход позволял оценить жизнеспособность микроорганизмов после воздействия исследуемого образца. Повторная инкубация позволяла определить минимальные концентрации, вызывающие полную гибель микроорганизмов, что служило основанием для установления бактерицидного и фунгицидного действия экстракта.

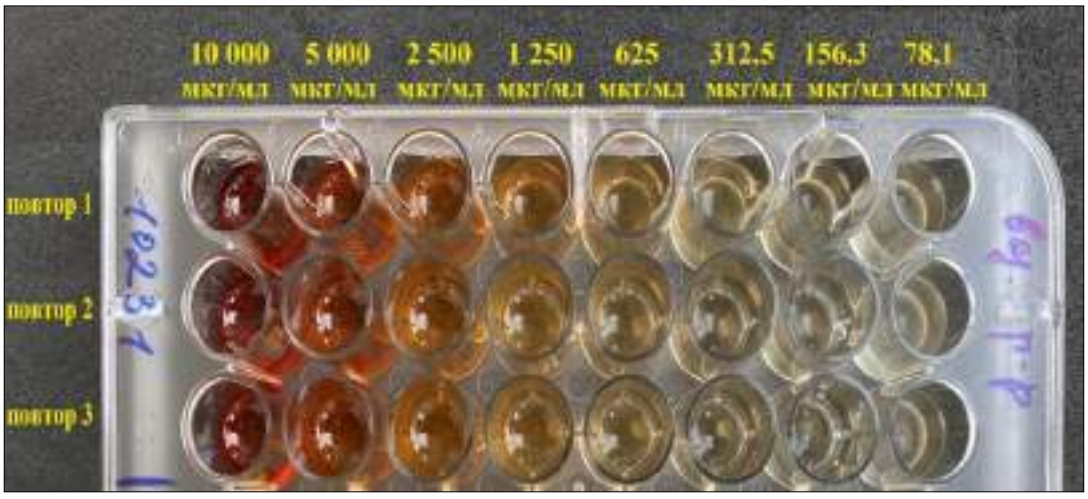


Рисунок 10 – Тестирование антимикробной активности сухого водного экстракта хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. методом двукратных серийных разведений в отношении *C. albicans* ATCC 10231



Рисунок 11 – Тестирование антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. методом двукратных серийных разведений в отношении *E.coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538-P

Оценку антимикробного эффекта экстрактов проводили по результатам роста микроорганизмов на плотной питательной среде после инкубации. Появление колоний свидетельствовало о сохранении жизнеспособности микробных клеток, тогда как их отсутствие указывало на подавляющее действие исследуемого вещества.

За минимальную бактерицидную либо фунгицидную концентрацию принимали наименьшую дозу экстракта, при которой в соответствующем секторе чашки Петри не регистрировали рост микроорганизмов. Такой критерий позволял отличить временное ингибирование размножения от полной гибели клеточной популяции. Все серии опытов проводили в трёхкратной повторности, что обеспечивало надёжность полученных данных и позволяло оценить воспроизводимость антимикробного эффекта фитопрепаратов *Humulus lupulus* L.

Определение антимикробной активности сухого 50%-го водно-спиртового экстракта Хмеля обыкновенного Humulus lupulus L.

Данный этап исследования был посвящён изучению антимикробного потенциала сухого 50%-го водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. Основной задачей являлась экспериментальная проверка его способности ингибировать рост и вызывать гибель микроорганизмов, относящихся к различным таксономическим и физиологическим группам.

В рамках работы проводили количественную оценку минимальных концентраций экстракта, обеспечивающих полное подавление жизнедеятельности тест-культур бактерий и дрожжеподобных грибов. Такой подход позволял объективно охарактеризовать выраженность антибактериального и фунгицидного действия экстракта, а также сопоставить его биологическую активность с результатами, полученными для других фракций хмеля. Использование стандартных музейных штаммов микроорганизмов обеспечивало воспроизводимость экспериментов и возможность сопоставления полученных данных с результатами, представленными в международной научной литературе [155].

Испытательное оборудование и средства измерения, применяемые при проведении исследований:

№ п/п	Наименование и тип (марка) испытательного оборудования и средства измерения	Характеристика	Дата поверки (аттестации, калибровки)
1	Термостат инкубатор BD - 115	от +4 до +100 ºС d= ± 1 ºС	04.10.2019
2	Денситометр DEN-1	0-15 McF	31.03.2020
3	Пипетка переменного объема Capp Bravo	0,1-1 мл, d=0,1 %	06.05.2020
4	Пипетка переменного объема Eppendorf Research	20-200 мкл; d=1,44 %	19.06.2019
5	Ламинарный бокс BioIIA/G	Скорость потока 1100 м3/ч	05.10.2019
6	Гигрометр ВИТ-1	от 20 % до 90 %, d = 0,17 °С (k=2, P=0,95) рабочий предел от + 15°С до + 40 °С	22.05.2018

Условия проведения экспериментов

Все исследования, направленные на оценку антимикробной активности 50%-го водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L., выполнялись в условиях стабильного лабораторного микроклимата. Температура воздуха в помещении на протяжении всего эксперимента поддерживалась на уровне 24 °С, а относительная влажность составляла 66 %. Контроль этих параметров был необходим для исключения влияния факторов внешней среды на рост микроорганизмов и сохранность исследуемых образцов, что обеспечивало корректность и воспроизводимость полученных данных.

Характеристика исследуемого препарата

В качестве объекта исследования использовали сухой 50%-й водно-спиртовой экстракт надземной части *Humulus lupulus* L., предназначенный для микробиологических испытаний. В лабораторию микробиологии препарат был доставлен в количестве 12,0 г и использовался для приготовления исходных растворов и серийных разведений.

Экстракт находился в герметично закрытом флаконе из светлого стекла, снабжённом эластичной пробкой и дополнительной парафиновой герметизацией, что обеспечивало защиту содержимого от влаги, кислорода и микробного загрязнения. Для дополнительной механической и световой защиты флакон был размещён в картонной упаковке (рисунок 12).

Дата получения экстракта составляла 04.02.2020 г., установленный срок хранения — 2–3 года. На момент проведения исследований образец находился в пределах допустимого срока годности. По физическому состоянию препарат представлял собой однородный порошок зеленовато-коричневого цвета, характерный для концентрированных водно-спиртовых экстрактов растений, богатых фенольными соединениями и другими вторичными метаболитами.



Рисунок 12 – Исследуемое вещество (сухой 50 %-ный водно-спиртовый экстракт Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L.)

Фармакологическая активность сухого 50%-го водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. определяется совокупностью вторичных метаболитов, характерных для данного вида растения. В экстракте присутствуют соединения фенольной и терпеновой природы, а также другие фитохимические компоненты, которые в комплексе формируют выраженное антимикробное действие. Для растительных экстрактов характерно многоцелевое воздействие, при котором биологический эффект обусловлен одновременным влиянием нескольких групп веществ, усиливающих действие друг друга.

Средство для дезинфекции

Для поддержания стерильности при выполнении микробиологических процедур все рабочие зоны, инструменты и лабораторные поверхности регулярно обрабатывали дезинфицирующим препаратом «Комбидез» (производство ООО «КиилтоКлин», Россия). Раствор применяли в рабочей концентрации 0,5 %, обеспечивающей эффективное подавление бактериальной и грибковой микрофлоры. Использование данного средства позволяло предотвратить перекрёстное загрязнение образцов и обеспечить достоверность

результатов, полученных при исследовании антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L. [156]

Питательные среды и реактивы

№ п/п	Наименование и кодировка питательных сред и реагентов	Производитель	Характеристика
1	Агар Мюллера-Хинтона (M173)	HiMedia, Индия	pH (при 25 °C) 7,3±0,1
2	Бульон Мюллера-Хинтона (M391)	HiMedia, Индия	pH (при 25 °C) 7,4±0,2
3	Натрий хлористый	Михайловский завод химических реактивов, Россия	хч
4	Этанол	«Талгар Спирт», Казахстан	96 %
5	Диметилсульфоксид (ДМСО)	AppliChem, Германия	99,5%

Тестовые штаммы микроорганизмов

1) *Candida albicans* ATCC 10231 – тест-штамм, полученный из Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), США;
2) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P – тест-штамм, полученный из Республиканской коллекции микроорганизмов (РКМ), Астана, РК;
3) *Escherichia coli* ATCC 8739 – тест-штамм, полученный из Американской Коллекции Типовых Культур (ATCC), США.

Методологическое и нормативное обеспечение исследования

Все этапы микробиологических испытаний выполнялись в соответствии с утверждёнными внутренними регламентами лаборатории, определяющими порядок оценки антимикробного действия исследуемых веществ с использованием метода последовательных разведений. Данные документы регламентируют требования к подготовке образцов, условиям инкубации, работе с культурами микроорганизмов и критериям интерпретации полученных результатов.

При выборе и проведении экспериментальных процедур также руководствовались рекомендациями Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, США), широко применяемыми в клинико-лабораторных и микробиологических исследованиях. Соблюдение данных рекомендаций обеспечивало стандартизацию методики, воспроизводимость полученных результатов и возможность их сопоставления с данными других исследований. Особое внимание уделяли соблюдению условий культивирования микроорганизмов, параметров инкубации и последовательности выполнения экспериментальных этапов. Это позволило минимизировать влияние

методических факторов на результаты определения антимикробной активности исследуемого экстракта. Использованные методические источники и нормативные документы представлены в списке использованной литературы диссертации.

Приготовление исходного раствора исследуемого агента

Для проведения антимикробных испытаний из сухого 50%-го водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. готовили исходный (stock) раствор с заданной концентрацией 20 000 мкг/мл. Такой уровень концентрации обеспечивал возможность получения широкого диапазона рабочих разведений, необходимых для определения минимальных бактерицидных и фунгицидных концентраций.

Подготовка базового раствора осуществлялась путём растворения рассчитанной навески сухого экстракта в подходящем растворителе с последующим тщательным перемешиванием до достижения максимально возможной однородности. Полученный раствор использовали в качестве исходного материала для дальнейших серийных разведений в микробиологических тестах.

Stock-раствор исследуемого экстракта был приготовлен по следующей формуле (18):

$$mAA = \frac{\mathrm{C}\times\mathrm{V}}{a} \qquad (19)$$

где, m_{AA} – расчетная навеска исследуемого образца, мг;
C – необходимая концентрация агента, мкг/мл;
V – объем растворителя, мл;
a – активность агента, мкг/мл.
Подставляя значения в формулу (20), получаем:

$$mAA = \frac{20000\text{мкг/мл}\times 5{,}5\text{мл}}{1000\ \text{мкг/мл}} = 110\text{мг} = 0{,}11\text{г}. \qquad (20)$$

Ввиду отсутствия информации о количественном содержании отдельных фармакологически активных компонентов в составе исследуемого экстракта, его активность в расчётах принимали за условную величину, соответствующую 100 % биологической активности. Такой подход является общепринятым при работе с многокомпонентными фитопрепаратами и позволяет корректно проводить количественную оценку дозозависимого эффекта.

Для получения исходного раствора использовали навеску сухого экстракта массой 0,11 г, которую растворяли в 5,5 мл подходящего растворителя. Это обеспечивало формирование базового раствора с концентрацией 20 000 мкг/мл, служившего исходной точкой для приготовления серийных разведений.

С учётом низкой растворимости экстракта в воде, физиологическом растворе и этаноле в качестве растворяющей среды был выбран диметилсульфоксид (ДМСО). Данный растворитель обладает высокой

способностью солюбилизировать широкий спектр органических соединений и при этом характеризуется минимальным биологическим воздействием в применяемых концентрациях. Использование альтернативных органических растворителей не применяли, поскольку их различная полярность могла приводить к селективному извлечению отдельных групп веществ и, как следствие, к искажению химического профиля экстракта.

Для контроля возможного влияния растворителя на рост микроорганизмов в каждом эксперименте проводили параллельные пробы с чистым ДМСО. Это позволяло исключить вклад растворителя в наблюдаемый антимикробный эффект и обеспечивало достоверность интерпретации результатов.

Приготовление суспензии микроорганизмов

Для проведения антимикробных испытаний из каждого тест-штамма готовили стандартизированную клеточную суспензию. Суточные культуры микроорганизмов отбирали стерильной бактериологической петлёй и переносили в стерильные пробирки, содержащие 5 мл изотонического раствора хлорида натрия (0,9 % NaCl). Полученные суспензии тщательно перемешивали до равномерного распределения клеток. Концентрацию микроорганизмов в первичных суспензиях контролировали с помощью денситометра DEN-1, измеряя оптическую плотность инокулюмов. Плотность культур приводили к значению 0,5 по шкале МакФарланда, что соответствует приблизительно $1,5 \times 10^8$ колониеобразующих единиц в 1 мл.

Для получения рабочей микробной нагрузки выполняли дополнительное разбавление: 0,05 мл исходной суспензии вносили в 4,95 мл стерильного физиологического раствора. В результате формировалась рабочая суспензия с концентрацией около $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл, которая использовалась для засева лунок культуральных планшетов при тестировании антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L.

Определение антимикробной активности экстракта методом последовательных двукратных разведений

Антимикробное действие сухого 50%-го водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. оценивали с использованием количественного метода последовательных двукратных разведений в жидкой питательной среде. В качестве универсальной среды для культивирования микроорганизмов применяли бульон Мюллера–Хинтона, который обеспечивает стабильные условия роста большинства бактериальных и грибковых культур и широко используется в международных протоколах тестирования антимикробных препаратов.

Эксперимент проводили в стерильных 48-луночных планшетах: в каждую лунку вносили по 0,5 мл питательной среды и готовили последовательные двукратные разведения экстракта (исходная концентрация 20 000 мкг/мл) с переносом 0,5 мл смеси в лунки со свежей средой. В результате формировали градиент концентраций 10 000–78,1 мкг/мл.

После этого вносили по 0,05 мл стандартизированной микробной суспензии ($1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл), инкубировали при 37 ± 1 °C в течение 18–24 часов. По

окончании проводили контрольный высев для оценки бактериостатического и бактерицидного (фунгицидного) действия экстракта.

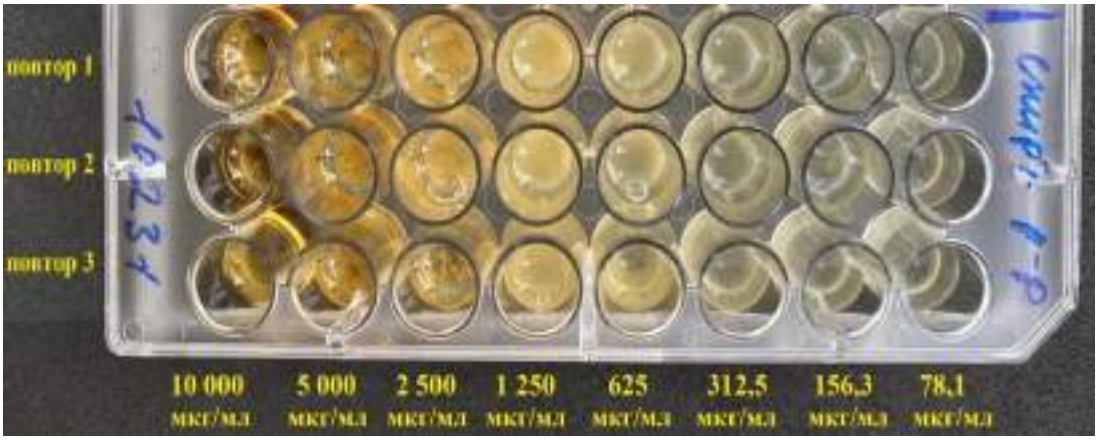


Рисунок 13 – Тестирование антимикробной активности сухого 50 %-ного водноспиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. методом двукратных серийных разведений в отношении *Candida albicans* ATCC 10231

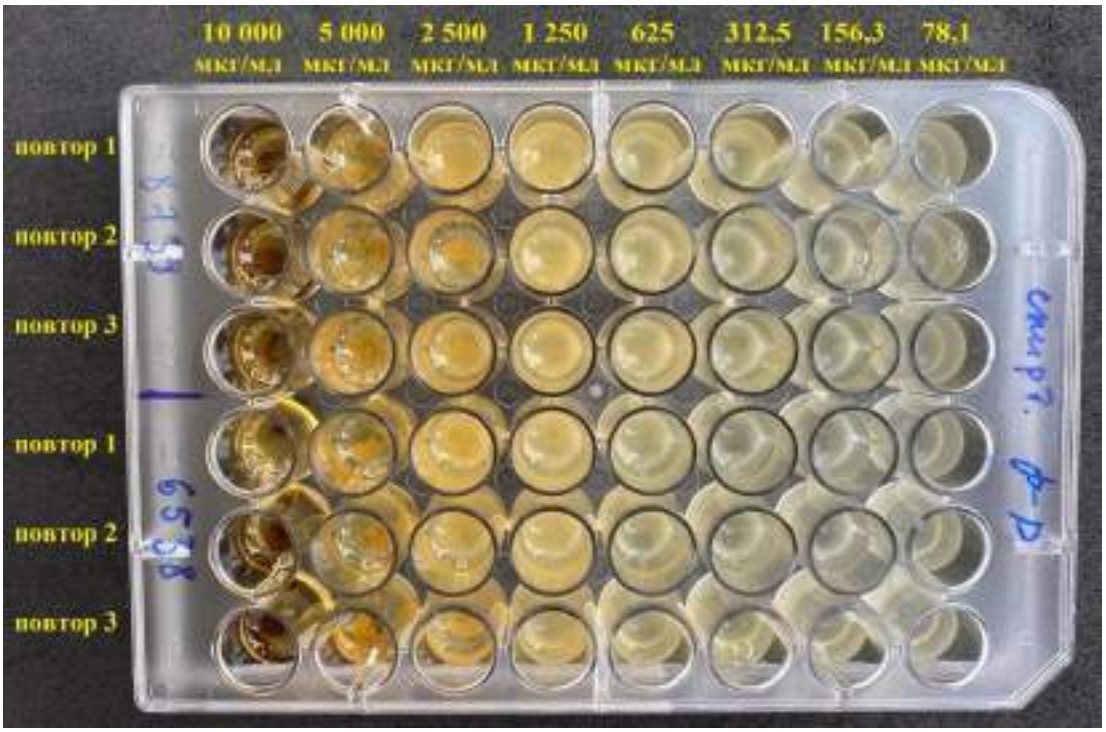


Рисунок 14 – Тестирование антимикробной активности сухого 50 %-ного водноспиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. методом двукратных серийных разведений в отношении *Escherichia coli* ATCC 8739 и *S. aureus* ATCC 6538-P

После внесения микробных суспензий планшеты с культурами помещали в термостат и выдерживали при температуре 37 ± 1 °C в течение 18–24 часов, что

обеспечивало оптимальные условия для развития исследуемых микроорганизмов.

Для подтверждения бактерицидного или фунгицидного эффекта экстракта после завершения инкубации из каждой лунки отбирали фиксированный объём суспензии и переносили его на плотную питательную среду. Чашки Петри с агаром Мюллера–Хинтона предварительно разделяли на восемь отдельных секторов, соответствующих отдельным концентрациям экстракта в ряду планшета. Такой подход позволял однозначно сопоставить результаты жидкой фазы с ростом микроорганизмов на твёрдой среде. Из каждой лунки осуществляли высев стандартного объёма культуры на соответствующий сектор чашки Петри, после чего чашки вновь инкубировали при температуре 37 ± 1 °C в течение 18–24 часов. Оценку результатов проводили по наличию или отсутствию колониального роста микроорганизмов на поверхности агара. Полное отсутствие роста в соответствующем секторе расценивали как проявление бактерицидного или фунгицидного эффекта. Минимальную бактерицидную или фунгицидную концентрацию определяли как наименьшую дозу экстракта, при которой не наблюдалось роста микроорганизмов после повторной инкубации.

Каждый эксперимент выполняли в трёх независимых сериях, что обеспечивало надёжность, воспроизводимость и статистическую достоверность полученных данных.

Получение, очистка и концентрирование экстрактов Humulus lupulus L.

Для проведения комплексных фитохимических и хроматографических исследований из растительного сырья *Humulus lupulus* L. получали жидкие экстракты с последующей их очисткой и концентрированием. Данный этап пробоподготовки имел ключевое значение для обеспечения воспроизводимости аналитических измерений и повышения достоверности результатов, так как содержание механических примесей и растворителя может существенно влиять на эффективность разделения и детектирования компонентов при газовой и жидкостной хроматографии.

После завершения стадии экстрагирования полученный раствор отделяли от твёрдых растительных остатков методом фильтрации. Фильтрацию осуществляли через бумажные фильтры, что позволяло эффективно удалять частицы клеточных стенок, фрагменты тканей и другие нерастворимые компоненты растительного материала. В результате получали прозрачный жидкий экстракт, содержащий растворённые органические вещества хмеля, включая фенольные соединения, терпеноиды и другие вторичные метаболиты.

Фильтрованный экстракт подвергали дальнейшей обработке с целью увеличения концентрации целевых компонентов. Для этого применяли метод вакуумного упаривания на роторном испарителе. Упаривание проводили при пониженном давлении и контролируемой температуре, что позволяло эффективно удалять растворитель без термического разрушения биологически активных соединений. Использование вакуума существенно снижало

температуру кипения растворителя, благодаря чему минимизировалось воздействие тепла на термолабильные молекулы.

В процессе упаривания объём экстракта постепенно уменьшался, а содержание растворённых органических веществ возрастало. Это обеспечивало получение концентрированных экстрактов, оптимально подходящих для последующего анализа методами ГХ-МС и ВЭЖХ, где требуется высокая концентрация аналитов для надёжной регистрации пиков и идентификации соединений.

После завершения стадии концентрирования полученный экстракт разделяли на отдельные фракции и переносили в герметичные ёмкости для хранения. Фракционирование позволяло получать образцы с различным составом и концентрацией компонентов, что было важно для последующего сравнительного анализа и оценки химического профиля экстрактов из разных географических популяций *Humulus lupulus* L.

Полученные концентрированные фракции использовали для дальнейших аналитических исследований, включая газовую хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием и высокоэффективную жидкостную хроматографию. Такая многоступенчатая пробоподготовка обеспечивала высокую чистоту образцов и их соответствие требованиям современных инструментальных методов анализа.

Основные этапы получения и подготовки экстрактов *Humulus lupulus* L. представлены на рисунке 15.



а - стадия фильтрации жидкого экстракта;
б - стадия упаривания экстракта на роторном испарителе;
в - образцы фракций экстракта после концентрирования.
Рисунок 15 - Основные стадии получения экстракта *Humulus lupulus* L.

Исследование экстрактов Humulus lupulus L. *методом высокоэффективной жидкостной хроматографии*

Для характеристики растворимых компонентов экстрактов *Humulus lupulus* L. использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии,

позволяющий регистрировать широкий спектр органических соединений, различающихся по химической природе и полярности. Данный аналитический подход обеспечивает высокую разрешающую способность и применяется для изучения сложных фитохимических матриц.

Хроматографическое разделение выполняли на жидкостной системе Shimadzu LC-40, оборудованной автоматическим инжектором и прецизионной системой подачи подвижной фазы. В анализ вводили по 10 мкл каждого экстракта, при этом температура автосамплера поддерживалась на уровне 40 °C для сохранения стабильности состава проб.

Компоненты экстрактов разделяли на обращённо-фазной колонке C18 (25 см × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм), обеспечивающей эффективное удерживание и элюирование фенольных соединений, флавоноидов и других вторичных метаболитов хмеля. В качестве подвижной фазы применяли бинарную систему, включающую ацетонитрил и водный раствор уксусной кислоты (1%), при скорости потока 1,0 мл/мин. Изменение соотношения компонентов подвижной фазы позволяло оптимизировать разделение соединений с различной степенью гидрофобности.

Регистрацию хроматограмм, управление оборудованием и обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Shimadzu LabSolutions. В ходе обработки рассчитывали времена удерживания и площади хроматографических пиков, которые использовали для сравнительного анализа экстрактов и оценки относительного содержания отдельных соединений.

Сформированные ВЭЖХ-профили применяли для выявления различий в химическом составе экстрактов, полученных из разных популяций *Humulus lupulus* L., а также для сопоставления с результатами газохроматографического анализа.

Определение органических соединений в экстрактах Humulus lupulus L. *методом газовой хроматографии–масс-спектрометрии*

Компонентный состав экстрактов *Humulus lupulus* L. исследовали методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС), обеспечивающим эффективное разделение летучих и полулетучих соединений и их идентификацию по масс-спектральным характеристикам. Применение данного метода позволяет получать воспроизводимые и высокоинформативные данные о составе многокомпонентных растительных экстрактов. Идентификацию компонентов проводили на основе сопоставления масс-спектров с библиотечными данными и анализа индексов удерживания. Дополнительно оценивали относительное содержание компонентов по площадям пиков хроматограмм, что позволяло провести полуколичественный анализ состава экстрактов.

Анализ выполняли на газохроматографической системе Agilent 7890A, оснащённой масс-селективным детектором 5975C, что обеспечивало высокую чувствительность и регистрацию соединений в широком диапазоне молекулярных масс. Перед анализом экстракты фильтровали и концентрировали для удаления механических примесей и повышения содержания анализируемых

компонентов. В хроматограф вводили 0,5 мкл образца. Инжекцию осуществляли при температуре 280 °C в режиме без деления потока, что обеспечивало полный перенос аналитов в колонку и повышало точность количественной оценки.



Рисунок 16 – Процедура подготовки и загрузки экстрактов *Humulus lupulus* L. для газовой хроматографии-масс-спектрометрии

Хроматографическое разделение проводили на капиллярной колонке DB-WaxEtr длиной 30 м, с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм. Выбор данной колонки был обусловлен её высокой селективностью к полярным и кислородсодержащим органическим соединениям, характерным для экстрактов растений. В качестве газа-носителя использовали гелий высокой чистоты при постоянной скорости потока 1,0 мл/мин, что обеспечивало стабильность условий разделения и хорошую воспроизводимость результатов.

Температурный режим термостата колонки программировали с учётом необходимости элюирования соединений с различной летучестью. Начальную температуру устанавливали на уровне 40 °C, после чего осуществляли линейный нагрев со скоростью 5 °C/мин до 300 °C с последующей выдержкой при конечной температуре в течение 5 минут. Продолжительность одного анализа составляла 57 минут.

Регистрацию масс-спектров проводили в режиме полного сканирования (SCAN) в диапазоне m/z 34–750. Ионизацию молекул осуществляли электронным ударом, что обеспечивало формирование воспроизводимых фрагментационных спектров, пригодных для последующей идентификации соединений.

Сбор и обработку экспериментальных данных выполняли с использованием программного обеспечения Agilent MSD ChemStation (версия 1701EA). В ходе обработки определяли времена удерживания компонентов, интегрировали площади пиков и анализировали соответствующие масс-спектры,

что позволяло оценивать качественный и относительный количественный состав экстрактов.

Идентификацию индивидуальных веществ проводили путём сравнения полученных масс-спектров с библиотечными данными Wiley (7-е издание) и NIST’02, содержащими более 550 000 эталонных спектров. Соединения считались достоверно установленными при высоких коэффициентах совпадения и согласовании экспериментальных времён удерживания с литературными данными.

Применение ГХ-МС обеспечило получение детального химического профиля экстрактов *Humulus lupulus* L., включая выявление терпенов, фенольных соединений, алифатических и ароматических компонентов, что послужило основой для дальнейшей интерпретации их биологической активности и фармакологического потенциала.

2.2.5 Методы молекулярно-генетического исследования популяций *Humulus lupulus* L.

Молекулярно-генетические исследования проводились с целью подтверждения таксономической принадлежности исследуемых образцов *Humulus lupulus* L., а также оценки генетической однородности представителей природных популяций, произрастающих в различных эколого-географических условиях Алматинской и Жетысуской областей Республики Казахстан. В ходе экспедиционных работ, выполненных в мае 2024 года, было собрано 15 гербарных образцов *Humulus lupulus* L. из трёх природных популяций. Отбор материала осуществлялся в фазу активной вегетации растений, что обеспечивает высокую физиологическую активность тканей и оптимальные условия для выделения нуклеиновых кислот. Для анализа использовали молодые листья без признаков механических повреждений, фитопатологического поражения и некротических изменений.

Все образцы были гербаризированы в соответствии с общепринятыми ботаническими методиками, зашифрованы и включены в лабораторную коллекцию с соблюдением условий, предотвращающих деградацию генетического материала.

Для последующего молекулярно-генетического анализа были отобраны три образца, представляющие различные экологические условия произрастания и характеризующиеся наилучшим качеством и концентрацией выделенной ДНК. Указанные образцы использовались для амплификации и секвенирования стандартных молекулярных маркеров ядерного и хлоропластного генома (*ITS, rbcL, matK, trnH–psbA*), широко применяемых в систематике и филогенетике сосудистых растений.

Выделение ДНК

Выделение геномной ДНК осуществляли из высушенных листовых пластинок с использованием модифицированного CTAB-метода,

адаптированного для растительного сырья с высоким содержанием фенольных соединений и полисахаридов, характерных для *Humulus lupulus* L.

Перед экстракцией листья подвергали кратковременной термической обработке в термостате при температуре 50 °C в течение 40 минут с целью удаления остаточной влаги. Гомогенизацию растительного материала проводили на автоматическом гомогенизаторе TissueLyser LT (Qiagen) в течение 10 минут до получения мелкодисперсной массы. Для снижения концентрации вторичных метаболитов и ингибиторов ПЦР растительный гомогенат подвергали двукратной промывке сорбитоловым буфером с последующим центрифугированием при 5000×g и удалением супернатанта. Лизис клеток осуществляли путём добавления 700 мкл предварительно подогретого CTAB-буфера с последующей инкубацией при 65 °C в течение 1 часа при периодическом перемешивании. Очистку нуклеиновых кислот проводили экстракцией органической смесью хлороформ–изоамиловый спирт (24:1) с последующим центрифугированием при 13 000×g. Осаждение ДНК осуществляли из водной фазы с использованием изопропанола и ацетата натрия (3 M, pH 5,2) при температуре −20 °C в течение 1 часа. Полученный осадок промывали 70%-ным этанолом, высушивали при комнатной температуре и растворяли в 100 мкл буфера TE. Для стабилизации и полного растворения ДНК пробы дополнительно инкубировали при 37 °C в течение 30 минут. Качество и концентрацию выделенной ДНК оценивали спектрофотометрически и визуально по результатам электрофоретического анализа, после чего образцы использовали в реакциях ПЦР и последующем секвенировании.

Сорбитоловый промывочный буфер

Для предварительной очистки растительного материала использовали сорбитоловый промывочный буфер следующего состава: 100 мМ Tris-HCl (pH 8,0), 0,35 М сорбитол, 5 мМ EDTA (pH 8,0), 1% (w/v) поливинилпирролидона (PVP-40; средняя молекулярная масса 40 000). Непосредственно перед использованием в буфер добавляли 2-меркаптоэтанол до конечной концентрации 1% (v/v) с целью инактивации окислительных ферментов и связывания фенольных соединений. Буферная основа без добавления 2-меркаптоэтанола хранилась при температуре +4 °C и сохраняла стабильность в течение до шести месяцев.

После завершения этапа промывки к растительному гомогенату в пробирки добавляли по 700 мкл предварительно подогретого CTAB-лизисного буфера. Содержимое пробирок тщательно перемешивали методом вортексирования до получения однородной суспензии, после чего переходили к этапу термической инкубации для полного лизиса клеток и высвобождения геномной ДНК. (100 мМ Трис-HCl pH 8,0, 0,35 М сорбитол, 5мМ ЭДТА pH 8.0, 1% (в/в) поливинилпирролидона (средняя молекулярная масса 40 000; PVP40)) готовится к использованию путем добавления 2-меркаптоэтанола (1% в/в) непосредственно перед экстракцией. Буферная основа может храниться при 4˚C до шести месяцев. Добавляем в пробирки с образцами по 700 мкл

предварительно прогретый буфер для CTAB буфер для лизиса, хорошо вортексируем.

CTAB буфер для лизиса

1. (100mM Tris HCL pH-8, 3M NaCl, 3% CTAB, 20mM ЭДТА, 1% PVP-40) готовится к использованию путем добавления 2-меркаптоэтанола (1% в/в) непосредственно перед экстракцией.

2. Инкубируем при 65^0C в течении 1 час, периодически каждые 10 мин вортексируем.

3. Охлаждаем 10 мин при комнатной температуре.

4. Добавляли 700 мкл хлороформа: изоамилового спирта (24:1 v/v;),

5. Хорошо вортексируем 15 сек. Убираем шарики с пробирки

6. ЦФ 13 000 x g 10 минут

7. Переносим супернатант в новую пробирку.

8. Добавляем 50 мкл 3 М ацетата натрия pH 5,2+ 0,66 V кратного объема холодного изопропанола (хранится при -20˚C). Пробирки перемешивали переворачиванием и выдерживали при -20˚C в течение часа.

9. ЦФ при 13 000 x g в течение 10 минут при комнатной температуре, удаляем супернатант

10. Добавлением 1 мл 70% этанола и ЦФ 13 000 x g 10 минут, удаляем супернатант (Повтор 1 раза)

11. Сушим ДНК в течение часа, добавляем 100 мкл ТЕ, с и инкубированием при 37˚C в течение 30 минут.

Спектрофотометрическое определение концентрации и чистоты ДНК

Количественную оценку выделенной геномной ДНК проводили спектрофотометрическим методом с использованием микроспектрофотометра NanoDrop One (Thermo Scientific, США). Измерения осуществляли в ультрафиолетовом диапазоне при длинах волн 260 и 280 нм, что является стандартным подходом для оценки концентрации и степени очистки нуклеиновых кислот. Концентрацию ДНК рассчитывали на основании оптической плотности при 260 нм, исходя из того, что одна оптическая единица ($OD_{(260)}$ = 1,0) соответствует 50 мкг/мл двуцепочечной ДНК. Полученные значения концентрации ДНК варьировали в пределах 2,01–2,08 мкг/мкл, что свидетельствует о достаточном выходе генетического материала для последующей ПЦР-амплификации и секвенирования. Качество и степень очистки ДНК оценивали по соотношению оптических плотностей A_{260}/A_{280}. Значения данного показателя находились в диапазоне, близком к оптимальному для высокоочищенной ДНК растительного происхождения, что указывает на минимальное содержание белковых примесей и фенольных соединений. Дополнительно контролировали соотношение A_{260}/A_{230} для исключения контаминации полисахаридами и остаточными реагентами экстракции.

Полученные показатели подтверждают высокое качество выделенной ДНК и её пригодность для проведения молекулярно-генетических исследований,

включая ПЦР-анализ и последующее секвенирование хлоропластных и ядерных маркеров.

Постановка ПЦР с использованием четырёх пар праймеров

Для амплификации хлоропластных и ядерных маркеров *Humulus lupulus* L. использовали четыре пары универсальных праймеров, нацеленных на регионы *matK, trnH–psbA, ITS* и *rbcL*. Характеристика праймеров, их нуклеотидные последовательности, температурные параметры отжига и источники публикаций приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Праймеры, использованные для амплификации целевых ДНК-маркеров *Humulus lupulus* L.

№	Название праймера	Последовательность праймеров	Ген	T_a (°C)	Источник публикации
1	MatK_390-F	CGATCTATTCATTCAATATTTC	matK	53	[7]
2	MatK_1326-R	TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT		53	[7]
3	trnHF_05-F	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	trnH-psbA	58	[8]
4	psbA3f-R	GTTATGCATGAACGTAATGCTC		58	[8]
5	ITS-Bel3-F	GACGCTTCTCCAGACTACAAT	ITS	60	[6]
6	ITS-p5-R	CCTTATCACTTAGAGGAAGGAG		60	[6]
7	rbcLa-F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	rbcL	50	[5]
8	rbcLr590	AGTCCACCGCGTAGACATTCAT		50	[5]

Условия постановки ПЦР

ПЦР-амплификацию проводили в общем объёме 25 мкл с использованием амплификатора Mastercycler Pro S (Eppendorf, Германия). Реакционная смесь для одной реакции включала:

1) 12,5 мкл BioMaster UDG HS-qPCR (2×) (Биолабмикс, Россия);
2) по 1,0 мкл каждого праймера (конечная концентрация 10 пМ);
3) 1–2 мкл матричной ДНК;
4) стерильную дистиллированную воду - до общего объёма 25 мкл.

Состав реакционной смеси подбирался таким образом, чтобы обеспечить специфичную амплификацию целевых фрагментов при минимальном уровне неспецифических продуктов.

Программа ПЦР-амплификации

Амплификацию проводили по следующей температурной программе:

1) Предварительная активация — 50 °C, 2 мин

2) Начальная денатурация — 95 °C, 2 мин
3) 30 циклов амплификации, включающих:
- денатурацию — 95 °C, 30 с;
- отжиг праймеров — 40 с при температуре, соответствующей каждой паре праймеров (таблица 2);
- элонгацию — 72 °C, 40 с;

4) Финальная элонгация — 72 °C, 5 мин.

Температуры отжига подбирались индивидуально для каждой пары праймеров на основании их термодинамических характеристик и данных литературы (таблица 2).

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР-амплификации

Анализ продуктов ПЦР-амплификации целевых фрагментов ДНК проводили методом горизонтального агарозного гель-электрофореза. Разделение ампликонов осуществляли в 1,5% агарозном геле, приготовленном на 1× TAE-буфере, с добавлением интеркалирующего флуоресцентного красителя бромистого этидия для последующей визуализации ДНК. Электрофорез выполняли в камере горизонтального электрофореза PowerPac с использованием источника питания Bio-Rad Electrophoretic Bath при стандартных условиях, обеспечивающих чёткое разделение фрагментов ДНК по молекулярной массе. В качестве электродного буфера использовали 1× TAE. Во всех анализируемых образцах регистрировались чёткие амплификационные полосы, соответствующие ожидаемым размерам фрагментов целевых генетических маркеров (*matK, trnH–psbA, ITS* и *rbcL*), что подтверждает специфичность и успешность ПЦР-амплификации. В отрицательном контрольном образце амплификационные продукты отсутствовали, что свидетельствует об отсутствии посторонней ДНК и контаминации реакционной смеси в ходе проведения ПЦР.

Результаты электрофоретического анализа представлены на рисунке 17.

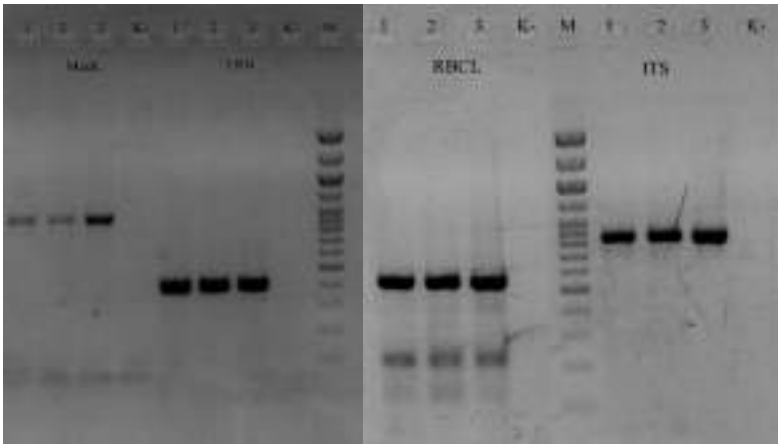


Рисунок 17 – Электрофореграмма продуктов ПЦР-амплификации фрагментов целевых генов *Humulus lupulus* L.
Обозначения: 1–3 — исследуемые образцы в соответствии с таблицей 1; M — маркер молекулярной массы (Биолабмикс, диапазон 100–3000 п.н., шаг 100 п.н.); К– — отрицательный контроль (без матричной ДНК).

Определение нуклеотидной последовательности

Перед секвенированием продукты ПЦР подвергали очистке от несвязавшихся праймеров и остаточных дезоксинуклеотидтрифосфатов (*dNTP*) методом магнитной сорбции. Очистку проводили с использованием магнитных частиц коммерческого набора НемоГен (Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Применение магнитной очистки обеспечивало удаление примесей, способных ингибировать реакцию секвенирования, и получение высокоочищенных ампликонов, пригодных для последующего определения нуклеотидной последовательности.

Очистка ПЦР-продуктов магнитными частицами и секвенирование

Очистку продуктов ПЦР от несвязавшихся праймеров, дезоксинуклеотидтрифосфатов и побочных примесей проводили методом магнитной сорбции с использованием магнитных частиц, покрытых силикагелем.

Приготовление связывающего буфера

Для получения связывающего раствора готовили смесь, содержащую 20% полиэтиленгликоля (ПЭГ) и 2,5 М NaCl. Для этого 2,00 г ПЭГ и 1,46 г NaCl растворяли в 7 мл деионизированной воды при тщательном перемешивании, после чего доводили объём раствора до 10 мл деионизированной водой. Полученный раствор хранили при комнатной температуре.

В качестве элюирующих растворов использовали:

- 1× ТЕ-буфер,
- 10 мМ Tris-HCl (pH 8,0),
- деионизированную воду.

Процедура очистки ПЦР-продуктов

Для очистки использовали 15 мкл ПЦР-продукта, содержащего ДНК *Humulus lupulus* L. с концентрацией около 1 нг/мкл. Рабочую суспензию магнитных частиц готовили путём смешивания 10 мкл 5%-ной суспензии магнитных частиц (размер 1–3 мкм, покрытых силикагелем) с 490 мкл связывающего буфера (20% ПЭГ, 2,5 М NaCl), получая конечную концентрацию магнитных частиц 0,1%.

Для оценки эффективности очистки применяли как исходные магнитные частицы, так и частицы, предварительно промытые 3%-ным раствором HCl. К 15 мкл ПЦР-продукта добавляли 15 мкл 0,1%-ной суспензии магнитных частиц в соответствующем связывающем буфере. Смесь инкубировали при интенсивном перемешивании на шейкере в течение 2 минут (1800 об/мин), затем выдерживали при комнатной температуре в течение 10 минут для связывания ДНК с поверхностью частиц.

После инкубации пробирки устанавливали на магнитный штатив, супернатант удаляли, а сорбированные комплексы ДНК–магнитные частицы дважды промывали 70%-ным этанолом (по 100 мкл) для удаления остаточных контаминантов. После удаления этанола адсорбированную ДНК элюировали выбранным элюирующим раствором при температуре 60 °C в течение 10 минут.

Затем пробирки вновь устанавливали на магнитный штатив и отбирали очищенный ПЦР-продукт.

Секвенирование

Реакцию секвенирования проводили с использованием набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) в соответствии с протоколом производителя. Разделение продуктов секвенирования осуществляли методом капиллярного электрофореза на автоматическом генетическом анализаторе 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems).

2.2.6. Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с целью количественной оценки различий между природными популяциями *Humulus lupulus* L., выявления закономерностей их эколого-ценотической организации, фитохимической структуры, антимикробной активности и молекулярно-генетической изменчивости. На начальном этапе проводилась систематизация результатов полевых геоботанических описаний, лабораторных фитохимических анализов, микробиологических испытаний и молекулярно-генетических исследований. Все количественные показатели были приведены к сопоставимому виду, структурированы в табличной форме и использованы для последующего сравнительного анализа.

Для оценки сходства флористического состава исследуемых сообществ применялся коэффициент флористического сходства Жаккара, позволяющий количественно определить степень общности видового состава между популяциями. Дополнительно анализировались показатели видового богатства, распределение видов по экологическим группам и структура жизненных форм в соответствии с классификацией К. Раункиера. Сравнительная оценка проводилась на основе относительных показателей, выраженных в процентах, что позволило сопоставить особенности ценотической организации сообществ различных территорий.

Фитохимические данные, полученные методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хромато-масс-спектрометрии, подвергались описательной статистической обработке. В рамках ВЭЖХ-анализа учитывались значения времени удерживания (Rt), площади хроматографических пиков и концентрации идентифицированных соединений, что позволило провести сравнительную оценку фитохимического профиля популяций. При анализе данных ГХ-МС определялось общее число выявленных соединений, их относительное содержание и распределение по основным химическим группам. Структурные и количественные различия между популяциями визуализировались в виде диаграмм, обеспечивающих наглядное представление полученных результатов [158].

Оценка антимикробной активности экстрактов *Humulus lupulus* L. проводилась методом серийных разведений с определением минимальных бактерицидных и фунгицидных концентраций. Полученные показатели имели

пороговый характер, в связи с чем их интерпретация осуществлялась с использованием сравнительного описательного анализа без применения параметрических статистических критериев. Сравнение проводилось между водным и 50 % водно-спиртовым экстрактами по спектру чувствительности тест-микроорганизмов, а результаты представлены в табличной и графической форме.

Молекулярно-генетическая изменчивость популяций оценивалась на основе анализа последовательностей ядерного маркера *ITS* и хлоропластных ДНК-участков. Филогенетические связи между исследуемыми популяциями и родственными таксонами анализировались методом кластеризации с последующим построением филогенетического древа.

При расчётах применялись общепринятые показатели биоразнообразия: коэффициент Жаккара $J = a / (a + b + c)$, где a — число общих видов, b и c — число видов, встречающихся только в одном из сравниваемых сообществ. Расчёт показателей, обработка данных и построение диаграмм выполнялись с использованием программ Microsoft Excel и Python, что обеспечило автоматизацию вычислений и воспроизводимость результатов, а молекулярно-генетический анализ и построение филогенетического древа осуществлялись в программе MrBayes 3.1.23.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Современное состояние популяций *Humulus lupulus* L. в условиях Алматинской и Жетысуской областей

Анализ результатов полевых и камеральных исследований, выполненных на территории Алматинской и Жетысуской областей, позволяет рассмотреть современное состояние природных популяций *Humulus lupulus* L. в контексте разнообразия природно-климатических и ландшафтно-экологических условий юго-востока Казахстана. Полученные данные свидетельствуют о способности данного вида формировать жизнеспособные и устойчивые популяции в широком диапазоне экосистем, отличающихся по рельефу, почвенному покрову и уровню увлажнения.

Установлено, что *Humulus lupulus* L. успешно произрастает как в горно-предгорных районах, приуроченных к восточным склонам Жетысуского Алатау и южным предгорьям Тянь-Шаня, так и в равнинных ландшафтах Алматинской и Жетысуской областей, включая Алакольский и Саркандский районы. Такое пространственное распространение отражает высокую экологическую пластичность вида и его адаптацию к контрастным условиям среды, что проявляется в способности поддерживать устойчивую структуру популяций в различных эколого-географических зонах. Равнинные территории исследования характеризуются сочетанием различных типов почв и микроклиматов, что создаёт мозаичность местообитаний. Наиболее благоприятные условия для произрастания *Humulus lupulus* L. формируются в пойменных и предгорных биотопах, где обеспечивается достаточный уровень увлажнения и сохраняется стабильный водный режим почвы. Именно в таких условиях отмечается активный рост надземных побегов и высокая плотность популяций.

В 2019-2025 гг. для оценки современного состояния природных популяций хмеля была проведена комплексная экспедиция на территории пяти районов юго-восточного Казахстана, включая город Алматы и прилегающие районы Алматинской и Жетысуской областей. Полевые исследования осуществлялись в летний период и охватывали широкий спектр экосистем — луговые, пойменные, лесные, кустарниково-травянистые и предгорные сообщества. В каждом районе закладывались трансекты и модельные участки, что позволило сопоставить особенности популяций в различных экологических условиях.

Изучение возрастной структуры популяций *Humulus lupulus* L. проводилось на учётных площадках площадью 20 м². На этих участках осуществлялся детальный учёт особей по онтогенетическим состояниям — от ювенильных и имматурных до виргинильных, генеративных и постгенеративных стадий. Такой подход позволил оценить не только численность и плотность популяций, но и характер их возобновления, а также устойчивость возрастной структуры. Геоботанический анализ выполнялся на уровне ценопопуляций, что обеспечило комплексную оценку взаимодействия хмеля с окружающим растительным сообществом.

Климат региона исследования отличается резко континентальными чертами и значительной сезонной изменчивостью. Зимний период характеризуется устойчивыми отрицательными температурами, достигающими –14…–19 °C, тогда как в летние месяцы температура воздуха в равнинных районах нередко превышает +30 °C и в отдельные годы достигает +36 °C. Подобные температурные колебания создают стрессовые условия для растений и требуют наличия механизмов адаптации к экстремальным значениям факторов среды.

Количество атмосферных осадков также существенно варьирует в зависимости от рельефа. В степных и равнинных районах годовая сумма осадков составляет около 240 мм, в то время как в горных и предгорных зонах, вследствие орографического эффекта, она возрастает до 650–750 мм. Горные массивы Тянь-Шаня и Жетысуского Алатау формируют выраженные микроклиматические различия, обеспечивая более высокую влажность на склонах по сравнению с прилегающими равнинами. Эти условия оказываются особенно благоприятными для формирования стабильных популяций *Humulus lupulus* L., приуроченных к увлажнённым экотопам [159].

Почвенный покров Алматинской и Жетысуской областей отличается значительным разнообразием и формируется под влиянием климатических факторов и рельефа. В равнинных районах преобладают луговые чернозёмы, каштановые и серозёмные почвы, тогда как в предгорьях и горах чётко прослеживается вертикальная почвенная зональность. Светлые серозёмы характеризуются сравнительно низким содержанием гумуса (1,0–1,5 %), в то время как в тёмных серозёмах его количество достигает 3–4 %. Наличие достаточного количества органического вещества, а также благоприятный минеральный состав почв с оптимальным содержанием фосфора и калия создают условия, способствующие активному росту и развитию лекарственных растений, включая хмель обыкновенный. Хорошая водо- и воздухопроницаемость почв в сочетании с отсутствием длительного застойного переувлажнения обеспечивает развитие мощной корневищной системы и способствует преобладанию вегетативного возобновления популяций.

Обсуждение полученных результатов позволяет заключить, что современное состояние популяций *Humulus lupulus* L. в Алматинской и Жетысуской областях определяется совокупным действием климатических, почвенных и ценотических факторов. Высокая экологическая пластичность вида, способность к адаптации в условиях контрастного климата и преобладание вегетативной стратегии размножения обеспечивают устойчивость природных популяций и их длительное существование в разнообразных экосистемах юго-востока Казахстана.

3.1.1 Эколого-ценотическая характеристика растительных сообществ

В ходе полевых и геоботанических исследований на территории Алматинской и Жетысуской областей было выявлено пять природных

популяций *Humulus lupulus* L. — многолетнего лианного растения, имеющего значительную хозяйственную ценность и широко используемого в пивоваренной, фармацевтической и пищевой промышленности. Выявленные популяции приурочены к различным природно-ландшафтным условиям, что позволяет рассматривать хмель обыкновенный как важный компонент региональных растительных сообществ.

Территория исследования характеризуется выраженной ландшафтной и эколого-географической неоднородностью, обусловленной сочетанием горных, предгорных и равнинных форм рельефа. Такое разнообразие орографических условий определяет значительную вариабельность климатических параметров, почвенного покрова и гидрологического режима, что, в свою очередь, оказывает существенное влияние на формирование растительного покрова, структуру фитоценозов и характер землепользования в регионе. В условиях данной мозаичности *Humulus lupulus* L. включён в состав различных по структуре и происхождению растительных сообществ.

По результатам экспедиционных исследований были выделены пять основных популяций, получивших наименования в соответствии с их географическим положением:

1. Популяция города Алматы;
2. Популяция Талгарского района (Алматинская область);
3. Популяция Енбекшиказахского района (Алматинская область);
4. Популяция Саркандского района (Жетысуская область);
5. Популяция Алакольского района (Жетысуская область).

Пространственное расстояние между исследованными популяциями варьирует от 20 до 300 км, что позволяет рассматривать их как относительно изолированные ценопопуляции, сформировавшиеся в различных эколого-географических условиях, но при этом принадлежащие к единой региональной системе распространения вида. Такая пространственная разобщённость создаёт предпосылки для формирования локальных экотипов и отражает влияние природных факторов на структуру растительных сообществ. При этом ограниченный обмен генетическим материалом между удалёнными популяциями способствует усилению процессов внутривидовой дифференциации. Дополнительно различия в экологических параметрах местообитаний определяют вариабельность морфологических и физиологических признаков растений в пределах вида.

Каждая из выявленных популяций представлена значительным числом особей *Humulus lupulus* L., характеризуется устойчивым положением в составе соответствующих фитоценозов и способна к самостоятельному возобновлению за счёт сочетания вегетативного и генеративного размножения. Длительное существование популяций в занимаемых биотопах, а также стабильность их пространственной и ценотической структуры свидетельствуют о высокой экологической устойчивости хмеля обыкновенного и его адаптации к условиям юго-востока Казахстана [21].

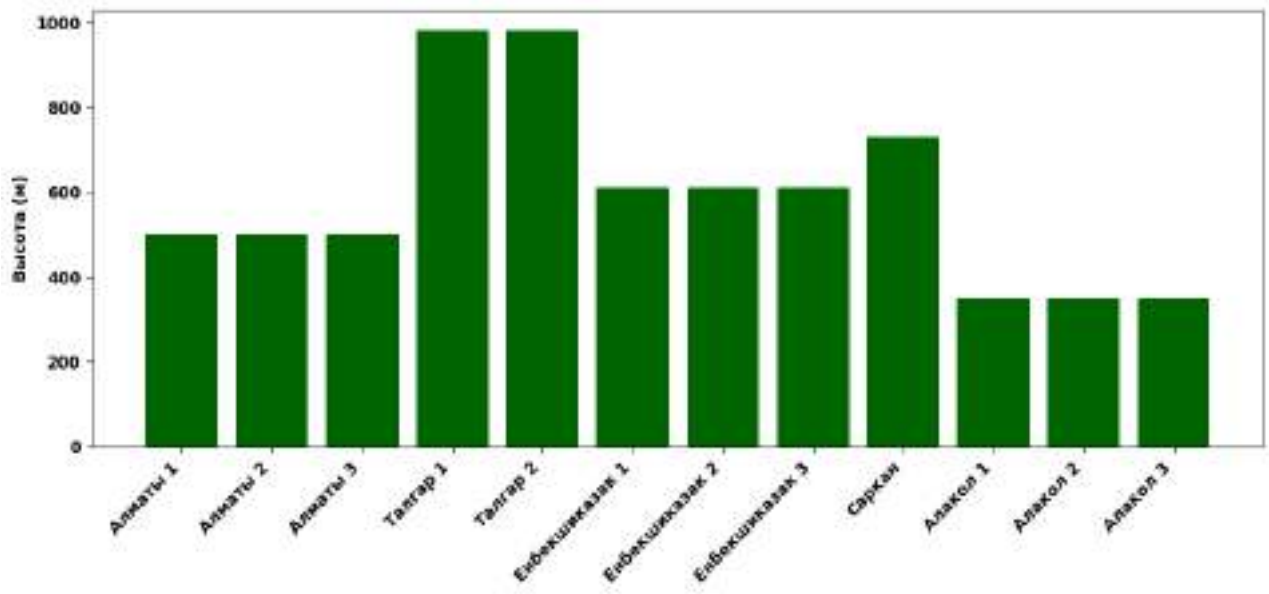


Рисунок 18 – Высотное распределение популяций *Humulus lupulus* L. в Алматинской и Жетысуской областях

Анализ рисунка 18 показывает, что популяции *Humulus lupulus* L. распространены в широком высотном диапазоне и приурочены к различным эколого-фитоценотическим условиям. Вид встречается в лугово-разнотравных, злаково-разнотравных, кустарниково-травянистых и прибрежно-долинных сообществах. Наиболее характерны долины рек, пойменные участки и другие местообитания с устойчивым или периодическим увлажнением, что подчёркивает важную роль гидрологического режима в распространении вида.

Пространственная организация популяций носит выраженный мозаичный характер и преимущественно связана с линейными элементами ландшафта, которые обеспечивают благоприятные условия влагообеспеченности и смягчают воздействие экстремальных температур. Географическое расположение исследованных популяций свидетельствует о вытянутом в меридиональном направлении ареале, охватывающем предгорные зоны Иле Алатау и Жетысу Алатау, а также внутриконтинентальные равнинные территории Алакольской впадины. Флористическое окружение во всех изученных сообществах представлено главным образом мезофитными и мезоксерофитными видами, что указывает на приуроченность *Humulus lupulus* L. к умеренно увлажнённым местообитаниям с хорошей аэрацией почв. Преобладание злаково-разнотравных и древесно-кустарниковых формаций формирует благоприятную вертикальную структуру фитоценозов, в рамках которой хмель реализует лианную жизненную форму, используя кустарниковую и древесную растительность в качестве опорных элементов.

Проективное покрытие растительного покрова в большинстве исследованных фитоценозов составляет 65–80 %, что способствует формированию устойчивого микроклимата, снижению интенсивности испарения и сохранению почвенной влаги. Наличие развитых травянистого и кустарникового ярусов повышает структурную устойчивость сообществ и

создаёт условия для длительного и стабильного существования популяций *Humulus lupulus* L. Выраженная эколого-географическая неоднородность условий произрастания *Humulus lupulus* L., обусловленная различиями высоты над уровнем моря, режимов увлажнения, почвенных характеристик и состава фитоценозов, создаёт предпосылки для формирования локально адаптированных экотипов и хемотипов. Данная вариабельность имеет принципиальное значение для последующей фитохимической и фармакологической оценки природных популяций хмеля и подчёркивает необходимость комплексного подхода к их изучению, сохранению и рациональному использованию.

Популяция г. Алматы (Популяция 1)

Популяция *Humulus lupulus* L. № 1 выявлена в пределах городской территории Алматы, в Медеуском районе, в зоне, прилегающей к долине реки Казачка. Участок исследования расположен примерно в 30 м к западу от русла реки и характеризуется сочетанием устойчивого увлажнения, благоприятного микроклимата и хорошо развитого растительного покрова, типичного для пойменных экосистем предгорной зоны. Географическое положение исследуемого участка определяется координатами 43°15.942′ с. ш. и 76°58.029′ в. д., абсолютная высота над уровнем моря составляет около 500 м. Положение популяции в пределах долины водотока обуславливает наличие стабильного водного режима, смягчённого температурного фона и повышенной влажности воздуха, что создаёт оптимальные условия для роста и вегетативного развития *Humulus lupulus* L. и способствует формированию устойчивых ценопопуляций в условиях городской среды.



Рисунок 19 - *Humulus lupulus* L. в Алматинской популяции. Естественные местообитания: рельеф долины реки Казачка.

Растительный покров территории Алматинской популяции представлен преимущественно сообществами злаково-разнотравного типа, отличающимися

высокой флористической насыщенностью и сложной пространственной организацией. Формирование данных фитоценозов происходит в условиях умеренного увлажнения и связано главным образом с пойменными участками долины реки, опушечными зонами, полянами и прибрежными экотопами водотоков. Совокупность указанных факторов обеспечивает благоприятный микроклимат и способствует устойчивому функционированию растительных сообществ с участием *Humulus lupulus* L. Структура фитоценозов характеризуется чётко выраженной ярусностью. Основной вклад в проективное покрытие вносит травянистый ярус, доля которого составляет около 70–75 %, тогда как кустарниковая растительность формирует в среднем 15–20 % общего покрова. Такое соотношение ярусов способствует снижению интенсивности испарения, поддержанию оптимального водного режима почв и формированию стабильных микроклиматических условий в пределах сообщества.

Как многолетняя травянистая лиана, *Humulus lupulus* L. реализует в данных условиях вьющуюся жизненную форму, активно используя травянистые и кустарниковые растения, а также элементы микрорельефа в качестве опорных структур. Это позволяет хмелю эффективно осваивать вертикальное пространство фитоценоза и повышает его конкурентоспособность в борьбе за световые ресурсы. С эколого-ценотической точки зрения хмель обыкновенный в алматинской популяции занимает нишу вида, приуроченного к умеренно увлажнённым, хорошо аэрируемым почвам и сообществам с развитой вертикальной структурой растительного покрова. При умеренной сомкнутости травостоя растение демонстрирует интенсивный рост и способность к пространственному расширению, тогда как в условиях плотных злаковых сообществ его развитие может частично ограничиваться усилением межвидовой конкуренции. В целом растительные сообщества, в составе которых сформирована алматинская популяция *Humulus lupulus* L., относятся к устойчивым злаково-разнотравным и кустарниковым фитоценозам пойменного типа. Их структурные и экологические особенности создают благоприятные условия для произрастания и длительного существования данного вида в условиях городской и пригородной экосистемы.

Талгарский район (популяция 2)

Популяция *Humulus lupulus* L. Талгарского района приурочена к предгорной зоне слабоволнистого рельефа, характеризующейся наличием понижений, связанных с сухими руслами временных водотоков. Абсолютная высота территории составляет около 973 м над уровнем моря, что определяет особенности микроклимата и условия формирования растительных сообществ. Для данного района характерно сочетание умеренно увлажнённых и периодически подсушиваемых участков, формирующих мозаичную структуру экотопов. Растительные сообщества территории относятся к древесно-кустарниково-злаково-разнотравному типу. В пределах популяции выделены древесно-разнотравно-злаковые, злаково-разнотравно-сорные и кустарниково-разнотравные ассоциации. Проективное покрытие растительного покрова достигает около 80 %, что свидетельствует о высокой сомкнутости фитоценозов

и их биологической продуктивности. Экологические особенности Талгарского района, включая предгорный рельеф, умеренно влажный микроклимат, развитую растительность и наличие защитных микробиотопов, создают благоприятные условия для формирования стабильных и продуктивных популяций *Humulus lupulus* L. (рисунок 20).



Рисунок 20 – *Humulus lupulus* L. в популяции Талгарского района

Местообитания *Humulus lupulus* L. в Талгарском районе приурочены преимущественно к участкам с повышенной влажностью воздуха и почвы, особенно вблизи временных и постоянных водотоков. В данных зонах формируются наиболее благоприятные микроклиматические условия, обеспечивающие защиту растений от резких температурных колебаний и дефицита влаги. Экологические условия территории можно охарактеризовать как мезофитно-мезоксерофитные, что соответствует биологическим требованиям хмеля к умеренному увлажнению и частичной затенённости (рисунок 20). В эколого-ценотическом отношении *Humulus lupulus* L. произрастает преимущественно на слегка наклонённых предгорных равнинах, занятых разнотравно-злаковой растительностью. Наиболее благоприятные условия для развития вида складываются вблизи водоисточников, где сохраняется относительно стабильный водный режим в течение вегетационного периода. В таких условиях формируются плотные фитоценозы с высокой сомкнутостью растительного покрова. Структура растительных сообществ Талгарского района характеризуется преобладанием травянистого яруса при незначительном участии кустарниковой растительности. Травянистые виды формируют около 77 % общего проективного покрытия, что указывает на преимущественно травянистый характер фитоценозов. Наличие кустарников и отдельных древесных форм способствует формированию вертикальной

структуры сообщества и созданию благоприятных микробиотопов для произрастания лианных видов.

Экологическая структура фитоценозов Талгарского района характеризуется преобладанием мезофитных и мезоксерофитных видов. Уровень синантропизации составляет около 30 %, что указывает на антропогенное воздействие, связанное с сельскохозяйственной, транспортной и рекреационной деятельностью. Несмотря на это, растительные сообщества сохраняют благоприятные условия для произрастания *Humulus lupulus* L.

Енбекшиказахский район (популяция 3)

Популяция *Humulus lupulus* L. № 3 в Енбекшиказахском районе расположена на территории Алматинской области, в пределах населённого пункта, на улице Целинная, между улицами Бижанова и Виноградная, вблизи небольшого водотока. Географические координаты участка составляют 43°35.239′ с. ш. и 78°14.962′ в. д. Рельеф исследуемой территории представлен слабоволнистой предгорной равниной, формирующей относительно выровненные условия с умеренными уклонами и локальными понижениями рельефа. Наличие таких микрорельефных форм способствует аккумуляции почвенной влаги и созданию благоприятных микробиотопов для произрастания *Humulus lupulus* L., что наглядно отражено в естественных местообитаниях данной популяции (рисунок 21).



Рисунок 21 – *Humulus lupulus* L. в популяции Енбекшиказахского района

Популяции *Humulus lupulus* L. в пределах Енбекшиказахского района преимущественно приурочены к лугово-травянистым склонам и увлажнённым экосистемам, относящимся к пойменным и прибрежным биотопам. Данные участки характеризуются высокой флористической насыщенностью и представлены сочетанием травянистых, кустарниковых и древесных видов,

формирующих сложную пространственную структуру фитоценозов, типичную для предгорных долин малых водотоков.

В обследованной зоне преобладают фитоценозы сорнополынно-злаково-древесно-кустарникового типа с общим проективным покрытием около 65 %. Такие сообщества характерны для предгорных территорий Заилийского Алатау и долин малых рек, включая бассейн реки Чилик и прилегающие водотоки. Пространственная организация растительного покрова отличается выраженной мозаичностью, обусловленной чередованием увлажнённых понижений рельефа и более сухих участков.

Местообитания *Humulus lupulus* L. в данном районе приурочены преимущественно к поймам рек, зонам водоразделов, кустарниково-древесным и луговым сообществам, а также к участкам с умеренно увлажнёнными, хорошо дренированными почвами и достаточной инсоляцией. Существенную роль в формировании устойчивых ценопопуляций играют гидрологический режим и микрорельеф, обеспечивающие сохранение влаги в почве в течение вегетационного периода.

Экологические условия данных биотопов являются благоприятными для развития *Humulus lupulus* L., поскольку вид предпочитает почвы с устойчивым водным режимом, защиту от сильных ветров и резких температурных колебаний, а также наличие опорных элементов в виде кустарниковой и древесной растительности. В условиях Енбекшиказахского района хмель формирует длинные вьющиеся побеги, поднимающиеся по кустарникам и деревьям, что позволяет растениям эффективно использовать вертикальное пространство фитоценоза и снижать конкурентное давление за световые ресурсы.

В ценотическом отношении *Humulus lupulus* L. входит в состав смешанных травянистых и кустарниковых фитоценозов, где совместно произрастает с злаковыми, бобовыми и многолетними разнотравными видами. Такая структура сообществ способствует формированию благоприятного микроклимата, удержанию почвенной влаги и созданию устойчивых условий для вегетативного и генеративного развития хмеля.

Генеративные растения в пределах данной популяции представлены раздельнополыми особями — мужскими и женскими, что является характерной биологической особенностью вида. В условиях Енбекшиказахского района генеративные побеги формируются преимущественно в наиболее увлажнённых микробиотопах, что способствует успешному прохождению генеративной фазы и поддержанию популяционной устойчивости.

Популяция *Humulus lupulus* L. Енбекшиказахского района характеризуется чёткой экологической приуроченностью к предгорным и пойменным экосистемам, выраженной ценотической интеграцией в растительные сообщества и высокой степенью адаптации к условиям умеренно увлажнённых местообитаний. Сочетание благоприятных абиотических факторов и развитой структуры фитоценозов обеспечивает формирование устойчивых и жизнеспособных ценопопуляций хмеля.

Саркандский район (Популяция 4)

Популяция *Humulus lupulus* L. № 4 выявлена в предгорной зоне Саркандского района Жетысуской области, в окрестностях населённого пункта Сарканд, на абсолютной высоте около 728 м над уровнем моря. Рельеф исследуемой территории представлен слабоволнистой предгорной равниной, характеризующейся наличием выровненных участков и локальных понижений, формирующих благоприятные условия для накопления почвенной влаги и развития растительного покрова (рисунок 22).

Географическое положение участка определяется координатами 45°24.327′ с. ш. и 79°54.830′ в. д., что соответствует предгорной зоне Жетысуского Алатау с характерными для неё эколого-ценотическими условиями произрастания *Humulus lupulus* L.



Рисунок 22 – *Humulus lupulus* L. в популяции Саркандского района

Территория характеризуется сочетанием степных и луговых природных комплексов, формирующих смешанные фитоценозы, в составе которых устойчиво произрастает *Humulus lupulus* L. Участки отличаются хорошей освещённостью — как прямой, так и рассеянной, что положительно отражается на фотосинтетической активности растений и способствует интенсивному накоплению вегетативной массы. Экологические условия соответствуют мезофитно–мезоксерофитному типу, обеспечивая оптимальное соотношение влагообеспеченности и аэрации почв. Растительный покров представлен преимущественно злаково-разнотравными и древесно-кустарниковыми ассоциациями. Общее проективное покрытие достигает около 65 %, что свидетельствует о достаточно плотной структуре фитоценоза и хорошей сомкнутости растительного яруса. Выраженная мозаичность растительного покрова обусловлена сочетанием открытых травянистых участков и зон с участием кустарниковой и древесной растительности.

Местообитания *Humulus lupulus* L. приурочены главным образом к слабонаклонным предгорным склонам и участкам с развитым травяным покровом, где присутствуют как травянистые виды, так и кустарниковая растительность, обеспечивающая опорные элементы для лианообразного роста. В таких условиях хмель эффективно использует вертикальное пространство фитоценоза, снижая конкурентное давление со стороны травянистых растений. В ценотическом отношении в популяции 4 доминируют вегетативные формы *Humulus lupulus* L., что свидетельствует о высокой активности корневищного размножения и преобладании вегетативной стратегии расселения. Генеративные особи встречаются реже, что может быть связано с особенностями локальных эколого-климатических условий, а также с высокой сомкнутостью травяного яруса, ограничивающей условия для успешного семенного возобновления. Фитоценозы Саркандского района характеризуются выраженной ярусностью. Основной ярус формируют травянистые растения, на долю которых приходится около 80 % общего проективного покрытия. Кустарниковые виды составляют около 6 %, а древесные породы — около 4 %, выполняя важную роль в формировании микроклимата и обеспечении опорных структур для хмеля. Такое соотношение ярусов создаёт благоприятные условия для устойчивого роста и длительного существования лианных форм.

Экологическая структура растительных сообществ определяется преобладанием мезофитных видов при заметном участии мезоксерофитов и ксерофитов, что отражает умеренно засушливые, но в целом благоприятные почвенно-климатические условия Саркандского района. Данное сочетание экологических групп формирует оптимальную среду для развития *Humulus lupulus* L., который предпочитает участки с умеренным увлажнением, хорошей аэрацией почвы и частичной затенённостью. В целом растительные сообщества Саркандского района, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L., характеризуются высокой экологической устойчивостью, плотным растительным покровом и благоприятным сочетанием абиотических факторов. Эти условия обеспечивают формирование устойчивых и жизнеспособных ценопопуляций хмеля, способных к длительному существованию в условиях предгорных экосистем Жетысуской области.

Алакольский район (популяция 5)

Пятая популяция *Humulus lupulus* L. выявлена в Жетысуской области, Алакольском районе, в окрестностях села Ушарал, примерно в 100 м к западу от автомобильной трассы. Участок приурочен к долине реки Тентек и расположен на абсолютной высоте около 347 м над уровнем моря. Географическое положение и близость водотока формируют специфические гидрологические и микроклиматические условия, благоприятные для произрастания хмеля. Рельеф территории представлен слабоволнистой предгорной равниной, в пределах которой сочетаются элементы пойменных и степных ландшафтов. Такая морфология поверхности способствует формированию мозаичных экотопов с различной степенью увлажнения и инсоляции, что определяет

пространственную неоднородность растительного покрова и условия произрастания *Humulus lupulus* L.



Рисунок 23 - *Humulus lupulus* L. в популяции Алакольского района.

Растительный покров с участием *Humulus lupulus* L. представлен древесно-кустарниково-травянистыми сообществами с общим проективным покрытием около 70 %. Хмель входит в состав смешанных фитоценозов, объединяющих степные и луговые виды, что отражает переходный характер экосистем данной территории. Пространственная структура сообществ характеризуется сочетанием открытых травянистых участков и зон с участием кустарниковой и древесной растительности.

Освещённость местообитаний варьирует от полного солнечного облучения до рассеянного света, что обеспечивает высокую фотосинтетическую активность и способствует интенсивному вегетативному развитию лиан хмеля. Экологическая структура фитоценозов определяется преобладанием мезофитных и мезоксерофитных видов, что указывает на умеренный водный режим и относительно стабильные температурные условия в течение вегетационного периода.

Почвенный покров Алакольского района отличается выраженной пестротой и представлен луговыми, аллювиальными и более сухими, местами каменистыми почвами. Такое сочетание субстратов создаёт благоприятные условия для произрастания *Humulus lupulus* L., который предпочитает плодородные, хорошо аэрируемые и умеренно увлажнённые почвы без застойного переувлажнения. Среднегодовое количество осадков в регионе составляет около 400–550 мм, с максимумами в весенний и осенний периоды, что способствует поддержанию стабильного водного режима почв.

Местообитания *Humulus lupulus* L. в пределах алакольской популяции приурочены главным образом к пологим травянистым склонам и берегам реки

Тентек, где формируются оптимальные условия для роста лиан за счёт сочетания влагообеспеченности, аэрации почв и наличия опорных элементов. В ценотическом отношении хмель активно использует вертикальное пространство фитоценоза, опираясь на кустарниковую и древесную растительность [21].

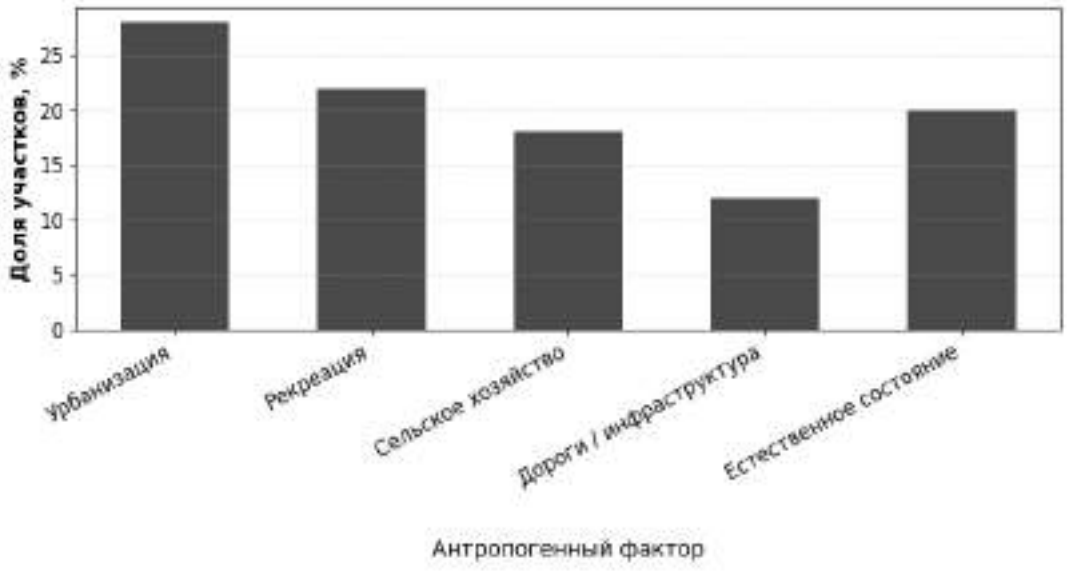


Рисунок 24 — Степень антропогенной трансформации растительных сообществ с участием *Humulus lupulus* L.

Оценка антропогенного фактора проводилась на основе геоботанического анализа состояния фитоценозов с учётом степени нарушенности растительного покрова, изменения видового состава, доли рудеральных (сорных) видов, степени вытаптывания, близости к источникам антропогенного воздействия (дороги, населённые пункты, сельскохозяйственные угодья), а также характера хозяйственной нагрузки. Анализ антропогенной трансформации показал, что наибольшее воздействие на растительные сообщества с участием *Humulus lupulus* L. оказывают процессы урбанизации (28 %) и рекреационной нагрузки (22 %), совокупно охватывающие около 50 % обследованных участков. Существенный вклад в изменение структуры фитоценозов вносит также сельскохозяйственное использование территорий (18 %), сопровождающееся нарушением почвенного покрова и трансформацией видового состава. Меньшая доля антропогенного воздействия связана с развитием дорожно-инфраструктурной сети (12 %), оказывающей локальное, но устойчивое влияние на состояние растительного покрова. В то же время наличие участков с близким к естественному состоянием (около 20 %) свидетельствует о сохранении относительно ненарушенных фитоценозов, обладающих высоким потенциалом устойчивости. Такие участки играют важную роль в поддержании стабильности ценопопуляций *Humulus lupulus* L., обеспечивая сохранение биоразнообразия, восстановление популяционной структуры и реализацию адаптационных механизмов вида в условиях антропогенного воздействия. В то же время наличие слабо нарушенных фитоценозов (около 20 %) свидетельствует о сохранении

естественных местообитаний, обладающих высоким потенциалом устойчивости. Такие участки играют ключевую роль в поддержании стабильности ценопопуляций *Humulus lupulus* L., обеспечивая сохранение биоразнообразия, восстановление популяционной структуры и реализацию адаптационных механизмов вида в условиях антропогенного прессинга.

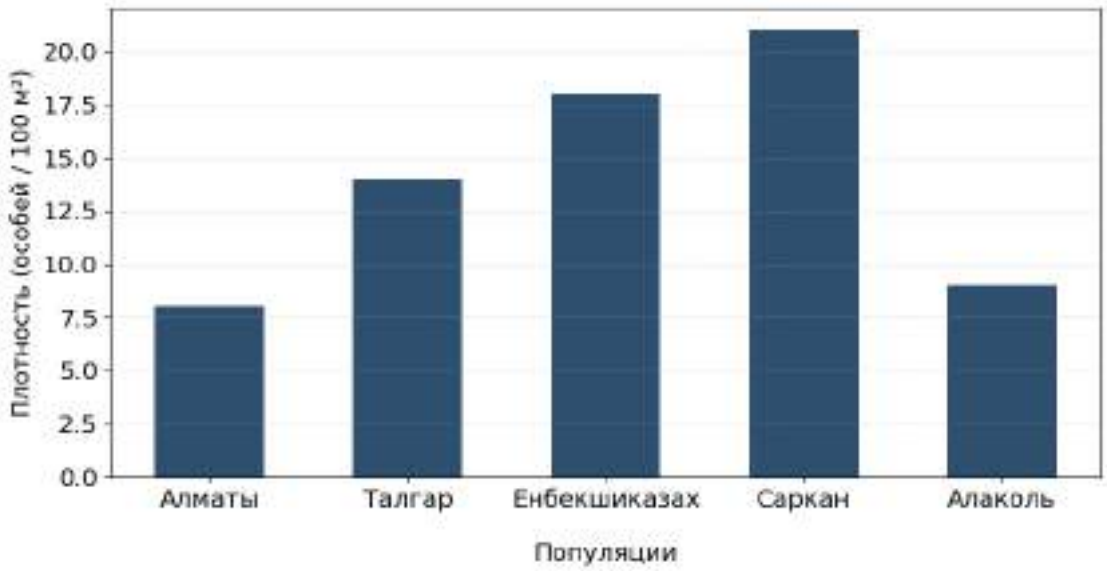


Рисунок 25 — Плотность популяций *Humulus lupulus* L. в исследованных районах.

Ресурсная оценка показала, что наибольшей плотностью и, соответственно, высоким ресурсным потенциалом характеризуются популяции Енбекшиказахского и Саркандского районов. Эти популяции отличаются стабильной онтогенетической структурой и относительно низкой степенью антропогенного воздействия, что делает их перспективными для ограниченного и рационального использования. Популяции г. Алматы и Алакольского района обладают низким ресурсным потенциалом и требуют преимущественно охранного режима.

Растительные сообщества Алакольского района, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L., характеризуются экологической пластичностью и устойчивостью, обеспечивающими формирование стабильных ценопопуляций. Комплексное исследование показало, что природные популяции вида в Алматинской и Жетысуской областях формируются в составе флористически богатых злаково-разнотравных сообществ с преобладанием мезофитов и гемикриптофитов. Молекулярно-генетический анализ выявил внутривидовую дифференциацию, связанную с эколого-географическими условиями, что подтверждает высокую экологическую пластичность *Humulus lupulus* L. и перспективность отдельных популяций для сохранения и рационального использования [21] .

3.1.2 Флористический состав растительного сообществ, в пределах которых произрастает популяция *Humulus lupulus* L.

Растительные сообщества, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L., характеризуются высоким уровнем флористического разнообразия и представлены значительным числом видов сосудистых растений, относящихся к различным таксономическим и экологическим группам. Формирование флористического состава данных сообществ обусловлено сочетанием рельефа, гидрологических условий, почвенного покрова и степени антропогенного воздействия, что определяет разнообразие растительных ассоциаций в пределах исследуемых территорий.

Во всех исследованных районах флора сообществ с участием *Humulus lupulus* L. представлена преимущественно мезофитными и мезоксерофитными видами, что соответствует приуроченности хмеля к умеренно увлажнённым экотопам. В таксономической структуре флоры доминируют представители семейств Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, формирующие основу травяного покрова. Существенную роль также играют виды семейств Rosaceae, Ulmaceae, Polygonaceae и ряда других таксонов, что отражает сложную и многоярусную организацию растительных сообществ.

Популяция г. Алматы (Популяция 1)

Растительные сообщества алматинской популяции *Humulus lupulus* L. характеризуются высокой флористической насыщенностью и представлены преимущественно злаково-разнотравными и древесно-кустарниковыми ассоциациями пойменного типа. Флора данных сообществ формируется в условиях умеренного увлажнения и отличается участием широкого спектра мезофитных видов, типичных для долинных экосистем предгорной зоны.

В составе фитоценозов алматинской популяции *Humulus lupulus* L. произрастает совместно с такими видами, как *Urtica dioica* L., *Plantago major* L., *Elymus repens* (L.) Gould - (= *Elytrigia repens* (L.) Nevski), а также с кустарниковыми формами родов Ribes и Amelanchier. Присутствие указанных видов отражает мезофитный характер растительных сообществ и их приуроченность к плодородным, хорошо аэрируемым почвам с устойчивым водным режимом. Подобный состав сопутствующей флоры характеризует экологические условия местообитания исследуемой популяции. Флористический анализ показал доминирование представителей семейства Poaceae (24,1 %), а также значительное участие Asteraceae (20,7 %) и Fabaceae (13,8 %), что характерно для злаково-разнотравных пойменных сообществ. В меньшей степени представлены Polygonaceae, Rosaceae и Ulmaceae, повышающие таксономическое разнообразие фитоценоза. Распределение видов по семействам (таблица 4) отражает преобладание злаковых и сложноцветных видов, формирующих основу травяного яруса, при участии кустарниковых и древесных форм, обеспечивающих ярусную структуру растительного сообщества.

Таблица 4. Распределение семейств растений в популяции 1

Семейство	Процентное соотношение (%)	Доминирующие виды растений
Poaceae Barnhart	24,1%	*Poa pratensis* L., *Setaria viridis* (L.) P.Beauv., *Bromus inermis* Leyss.
Asteraceae Dumort.	20,7%	*Taraxacum officinale* F.H.Wigg., *Cichorium intybus* L., *Arctium lappa* L.
Fabaceae Lindl.	13,8%	*Vicia sepium* L., *Trifolium pratense* L.
Polygonaceae Juss.	10,3%	*Polygonum aviculare* L., *Rumex acetosa* L.
Amaranthaceae Juss.	6,9%	*Chenopodium album* L., *Atriplex tatarica* L.
Cannabaceae Endl.	6,9%	*Humulus lupulus* L., *Cannabis sativa* L.
Malvaceae Juss.	6,9%	*Malva pusilla* Sm., *Lavatera thuringiaca* L.
Lamiaceae Martinov	6,9%	*Mentha longifolia* (L.) L., *Marrubium vulgare* L.
Прочие семейства	3,5%	—

Полученные данные показывают, что алматинская популяция *Humulus lupulus* L. характеризуется высоким флористическим разнообразием, экологической устойчивостью и приуроченностью к злаково-разнотравным и кустарниковым фитоценозам пойменного типа. Благоприятные гидрологические условия, развитая вертикальная структура растительного покрова и способность вида к вегетативному размножению обеспечивают её стабильное существование в городской экосистеме.

Популяция Талгарского района (Популяция 2)

Растительные сообщества Талгарского района, в пределах которых произрастает *Humulus lupulus* L., характеризуются высокой флористической насыщенностью и таксономическим разнообразием.

Флористический состав представлен преимущественно мезофитными и мезоксерофитными видами. В структуре растительного покрова доминируют травянистые формы, формирующие разнотравно-злаковый ярус, в котором *Humulus lupulus* L. занимает значимое положение как лианное растение. Ведущую роль играют представители семейств Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, определяющие структуру и продуктивность сообществ. Злаковые формируют основу травяного покрова, виды Asteraceae широко представлены в разнотравье, а Fabaceae способствуют повышению биологической продуктивности и участвуют в азотном балансе почв. Древесно-кустарниковые элементы создают опорную структуру фитоценозов и обеспечивают условия для реализации лианной жизненной формы хмеля. Соотношение основных таксономических групп растений представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение семейств растений в популяции 2 (Талгарский район)

Семейство	Процентное соотношение (%)	Доминирующие виды растений
Asteraceae Dumort.	22,7%	*Taraxacum officinale* F.H. Wigg., *Cichorium intybus* L., *Artemisia absinthium* L.
Poaceae Barnhart	18,2%	*Poa pratensis, Setaria viridis, Bromus inermis*
Fabaceae Lindl.	13,6%	*Medicago falcata, Trifolium pratense*
Polygonaceae Juss.	9,1%	*Polygonum aviculare* L., *Rumex acetosa* L.
Amaranthaceae Juss.	9,1%	*Chenopodium album* L., *Atriplex tatarica* L.
Cannabaceae Endl.	9,1%	*Humulus lupulus* L., *Cannabis sativa* L.
Malvaceae Juss.	4,5%	*Lavatera thuringiaca* L.
Convolvulaceae Juss.	4,5%	*Convolvulus arvensis* L.
Euphorbiaceae Juss.	4,5%	*Euphorbia humifusa* Willd.
Прочие семейства	4,7%	—

Флористическая структура фитоценозов Талгарского района характеризуется доминированием широко распространённых мезофитных и мезоксерофитных видов, что соответствует условиям умеренного увлажнения и периодически проявляющихся засушливых интервалов, типичных для предгорной зоны. Значительная доля травянистых растений, составляющая около 77 % общего проективного покрытия, указывает на преимущественно травянистый характер растительных сообществ, в пределах которых произрастает *Humulus lupulus* L.

Уровень синантропизации флоры Талгарского района составляет около 30 %, что свидетельствует о заметном влиянии антропогенных факторов, включая сельскохозяйственное освоение территории, развитие транспортной инфраструктуры и рекреационную нагрузку. Вместе с тем, несмотря на выраженное антропогенное воздействие, флористический состав сохраняет относительную устойчивость и сбалансированную структуру, обеспечивая благоприятные условия для существования популяции *Humulus lupulus* L.

Флористический состав растительных сообществ Талгарского района отличается высоким уровнем таксономического разнообразия и экологической сбалансированностью. Доминирование злаково-разнотравных комплексов в сочетании с участием древесных и кустарниковых видов формирует оптимальные условия для роста, развития и устойчивого существования популяции *Humulus lupulus* L. в условиях предгорных экосистем.

Енбекшиказахского района (популяция 3)

Растительные сообщества Енбекшиказахского района, в пределах которых произрастает популяция *Humulus lupulus* L., характеризуются высоким уровнем флористического разнообразия и сложной таксономической структурой. Формирование данных фитоценозов происходит в условиях предгорной зоны и приурочено преимущественно к лугово-травянистым и пойменно-прибрежным экосистемам, что в значительной степени определяет специфику их флористического состава.

Флора исследуемых сообществ представлена сочетанием травянистых, кустарниковых и древесных видов. В структуре растительного покрова доминируют представители мезофитных и мезоксерофитных экологических групп, что отражает умеренно увлажнённые условия местообитаний и относительно устойчивый водный режим почв. *Humulus lupulus* L. входит в состав смешанных травянистых и кустарниковых фитоценозов, занимая устойчивую нишу среди лианных растений.

Наибольшая доля во флористическом составе принадлежит семейству Cannabaceae, представленному *Humulus lupulus* L. и *Cannabis ruderalis* L., суммарная доля которого достигает 20 %. Это указывает на благоприятные условия для произрастания представителей данного семейства и сходство их экологических требований. Существенную роль в формировании фитоценозов играют также представители семейств Poaceae (15 %) и Ulmaceae (12 %), определяющие структуру травянистого и древесного ярусов.

Древесные породы семейств Ulmaceae, Aceraceae и Salicaceae формируют опорную структуру сообществ и создают благоприятные условия для реализации лианной жизненной формы хмеля. В составе сообществ *Humulus lupulus* L. произрастает в смешанных травянистых и кустарниковых фитоценозах совместно с представителями злаков, бобовых и многолетних разнотравных видов, количественная характеристика которых приведена в таблице 6. Генеративные растения хмеля представлены раздельнополыми особями — мужскими и женскими, что является характерной биологической особенностью вида. В условиях данного района генеративные побеги формируются преимущественно в наиболее увлажнённых микробиотопах, что способствует успешному семенному возобновлению и поддержанию популяционной устойчивости.

Популяция *Humulus lupulus* L. Енбекшиказахского района характеризуется чётко выраженной экологической приуроченностью к предгорным и пойменным экосистемам, высоким уровнем флористического разнообразия, активным вегетативным развитием и способностью к формированию устойчивых и жизнеспособных ценопопуляций в условиях умеренно увлажнённых местообитаний. Благоприятное сочетание почвенно-экологических условий и достаточного увлажнения способствует сохранению стабильной структуры популяции и нормальному прохождению основных этапов онтогенетического развития.

Таблица 6 – Распределение семейств растений в популяции 3 (Енбекшиказахский район)

Семейство	Процентное соотношение (%)	Доминирующие виды растений
Poaceae Barnhart	23,8%	*Poa pratensis* L., *Setaria viridis* (L.) P.Beauv., *Elymus repens* (L.) Gould
Asteraceae Dumort.	19,0%	*Taraxacum officinale* F.H.Wigg., *Cichorium intybus* L., *Artemisia absinthium* L.
Fabaceae Lindl.	14,3%	*Medicago falcata* L., *Trifolium pratense* L.
Polygonaceae Juss.	9,5%	*Polygonum aviculare* L., *Rumex acetosa* L.
Amaranthaceae Juss.	9,5%	*Chenopodium album* L., *Atriplex tatarica* L.
Cannabaceae Endl.	9,5%	*Humulus lupulus* L., *Cannabis sativa* L.
Lamiaceae Martinov	9,5%	*Mentha longifolia* (L.) L., *Marrubium vulgare* L.
Прочие семейства	4,9%	—

Экологическая структура флоры характеризуется преобладанием мезофитных видов, доля которых составляет 57 % от общего числа растений. Значительное участие мезоксерофитов (17 %) и ксерофитов (14 %) отражает способность растительных сообществ адаптироваться к колебаниям увлажнения. Доля мезогигрофитов и гигромезофитов (по 6 %) указывает на наличие устойчиво увлажнённых микробиотопов, приуроченных к водотокам и понижениям рельефа. Таким образом, выявленная экологическая структура свидетельствует о мозаичности условий увлажнения и высокой экологической пластичности растительных сообществ. Экологическое распределение видов по группам представлено в таблице 7.

Таблица 7 – Экологическая характеристика популяции *Humulus lupulus* L.

Экологические группы растений	Общее количество, %
Мезофиты	57
Ксерофиты	14
Мезоксерофиты	17
Гигромезофиты	6
Мезогигрофиты	6

Флористический состав растительных сообществ Енбекшиказахского района характеризуется высокой таксономической насыщенностью,

выраженным сочетанием травянистых, кустарниковых и древесных форм, а также доминированием мезофитных видов. Многоярусная организация фитоценозов и разнообразие экологических групп отражают устойчивость данных сообществ и их способность поддерживать стабильные микроклиматические условия. Наличие редких и охраняемых видов подчёркивает высокую природоохранную и научную ценность исследуемых экосистем. Совокупность указанных факторов создаёт благоприятные условия для формирования жизнеспособных и устойчивых ценопопуляций *Humulus lupulus* L. в предгорных ландшафтах Енбекшиказахского района [164-168].

Саркандский район (популяция 4)

Растительные сообщества Саркандского района, в пределах которых сформирована популяция *Humulus lupulus* L., характеризуются достаточно высоким уровнем флористического разнообразия и сложной таксономической организацией. В обследованных фитоценозах выявлено более 36 видов сосудистых растений, что обусловлено сочетанием предгорного рельефа, умеренной увлажнённости и выраженной мозаичности микробиотопов, формирующих разнообразие экологических ниш.

Флористический состав сообществ представлен сочетанием травянистых, кустарниковых и древесных форм. Ведущую роль в структуре растительного покрова играют травянистые виды, формирующие основной ярус фитоценозов и определяющие их продуктивность. Кустарниковые и древесные компоненты выполняют важную эколого-ценотическую функцию, способствуя формированию благоприятного микроклимата и обеспечивая опорные элементы для лианообразного роста *Humulus lupulus* L.

Наибольшая доля во флористическом составе принадлежит семейству Poaceae, представители которого формируют основной травянистый ярус и обеспечивают структурную устойчивость сообществ. Существенное участие принимают также виды семейств Cannabaceae, Asteraceae и Fabaceae. Семейство Cannabaceae представлено непосредственно *Humulus lupulus* L., что подчёркивает его значимую ценотическую роль и устойчивое положение в структуре растительных сообществ Саркандского района.

Представители семейства Asteraceae широко распространены в составе разнотравья и приурочены как к относительно естественным, так и к частично трансформированным экотопам, что отражает определённую степень антропогенного воздействия на территорию. Виды семейства Fabaceae способствуют повышению биологической продуктивности сообществ и участвуют в поддержании азотного баланса почв.

Количественное соотношение основных семейств растений, формирующих фитоценоз популяции № 4, представлено в таблице 8. Полученные данные отражают таксономическую структуру растительного покрова и позволяют оценить роль *Humulus lupulus* L. в организации и функционировании фитоценозов Саркандского района.

Таблица 8 – Распределение семейств растений в популяции №4 (*Humulus lupulus* L., Саркандский район)

Семейство	Процентное соотношение (%)	Доминирующие виды растений
Poaceae Barnhart	28,6%	*Setaria viridis* (L.) P.Beauv., *Elymus repens* (L.) Gould
Asteraceae Dumort.	26,6%	*Taraxacum officinale* F.H.Wigg., *Artemisia terrae-albae* Krasch.
Fabaceae Lindl.	16,3%	*Medicago falcata* L.
Polygonaceae Juss.	14,3%	*Polygonum aviculare* L.
Cannabaceae Endl.	14,3%	*Humulus lupulus* L.

Экологическая структура флоры характеризуется преобладанием мезофитных видов при заметном участии мезоксерофитов и ксерофитов, что отражает умеренно засушливые условия предгорной зоны. Такое соотношение экологических групп обеспечивает устойчивость растительных сообществ к колебаниям влагообеспеченности и температурного режима. Флористический состав растительных сообществ Саркандского района включает как широко распространённые виды, характерные для лугово-степных и предгорных экосистем, так и виды, выполняющие структурообразующую функцию в фитоценозах. Их совместное произрастание с *Humulus lupulus* L. формирует устойчивые и биологически насыщенные растительные комплексы. Флористический состав растительных сообществ Саркандского района отличается достаточной таксономической насыщенностью и сбалансированной структурой. Доминирование злаково-разнотравных комплексов в сочетании с участием древесных и кустарниковых видов создаёт благоприятные условия для устойчивого существования популяции *Humulus lupulus* L. в предгорных экосистемах Жетысуской области.

Алакольский район (популяция 5)

Растительные сообщества Алакольского района, в пределах которых выявлена популяция *Humulus lupulus* L., характеризуются сравнительно высоким уровнем флористического разнообразия, обусловленного сочетанием пойменных, луговых и степных элементов растительного покрова. В обследованных фитоценозах зарегистрировано более 23 видов сосудистых растений, формирующих устойчивые, структурно разнородные сообщества переходного типа с выраженной экотонной организацией.

Флористический состав представлен преимущественно травянистыми видами, формирующими основной ярус растительного покрова. Кустарниковые и древесные формы обеспечивают вертикальную стратификацию фитоценозов и создают естественные опоры для лианообразного роста *Humulus lupulus* L. Наибольшая доля во флористической структуре принадлежит семейству Poaceae,

представители которого формируют основу травянистого яруса. Значимое участие принимают также Cannabaceae, Asteraceae и Fabaceae, отражающие мезофитно-ксеромезофитный характер местообитаний. Семейство Cannabaceae представлено *Humulus lupulus* L., являющимся характерным компонентом исследуемых сообществ. Представители Asteraceae входят в состав разнотравья и характеризуются широкой экологической амплитудой, тогда как виды Fabaceae участвуют в поддержании азотного баланса почв и повышении биологической продуктивности сообществ.

Представители семейства Ulmaceae формируют элементы древесно-кустарникового яруса, способствуя пространственной дифференциации растительного покрова и созданию благоприятных условий для произрастания *Humulus lupulus* L. Доминирующие таксономические группы, представленные в таблице 9, отражают эколого-флористическую специфику, ценотическую структуру и особенности местообитания исследуемой популяции.

Таблица 9. Распределение семейств растений в популяции 5 (Алакольский район)

Семейство	Процентное соотношение (%)	Доминирующие виды растений
Poaceae Barnhart	26,1%	*Setaria viridis* (L.) P.Beauv., *Elymus repens* (L.) Gould, *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Agrostis stolonifera* L.
Asteraceae Dumort.	21,7%	*Artemisia terrae-albae* Krasch., *Ambrosia artemisiifolia* L., *Taraxacum officinale* F.H.Wigg.
Fabaceae Lindl.	13,0%	*Medicago falcata* L., *Trifolium pratense* L.
Polygonaceae Juss.	8,7%	*Polygonum aviculare* L., *Rumex acetosa* L.
Amaranthaceae Juss.	8,7%	*Chenopodium album* L., *Atriplex tatarica* L.
Cannabaceae Endl.	8,7%	*Humulus lupulus* L., *Cannabis sativa* L.
Ulmaceae Mirb.	4,3%	*Ulmus laevis* Pall.
Salicaceae Mirb.	4,3%	*Salix alba* L.
Прочие семейства	4,5%	—

Экологическая структура флоры Алакольского района характеризуется преобладанием мезофитных и мезоксерофитных видов, что отражает умеренный водный режим и переходный лугово-степной характер экосистем данной территории. Присутствие как гигрофильных, так и более засухоустойчивых растений свидетельствует о выраженной мозаичности условий увлажнения, обусловленной влиянием реки Тентек, особенностями микрорельефа и неравномерным распределением почвенной влаги.

В составе флоры, помимо доминирующих семейств, отмечено участие представителей Polygonaceae, Salicaceae, эти виды не оказывают определяющего влияния на структуру фитоценозов, однако существенно повышают их таксономическую насыщенность и отражают сложную пространственно-экологическую организацию растительного покрова.

Флористический состав растительных сообществ Алакольского района отличается сбалансированной таксономической структурой и сочетанием луговых, степных и пойменных элементов. Доминирование злаково-разнотравных комплексов в сочетании с участием древесных и кустарниковых форм создаёт благоприятные условия для устойчивого существования популяции *Humulus lupulus* L. и обеспечивает её стабильное функционирование в экосистемах долины реки Тентек [164-168].

3.1.3 Структура и численность популяций *Humulus lupulus* L.

Оценка структуры и численности популяций является одним из ключевых этапов при изучении состояния и устойчивости природных ценопопуляций многолетних растений. Для *Humulus lupulus* L., обладающего выраженной лианной формой роста и высокой способностью к вегетативному размножению, анализ популяционной организации позволяет выявить особенности пространственного распределения, характер возрастной структуры и потенциал самовозобновления в различных эколого-географических условиях.

В рамках настоящего исследования была проведена комплексная популяционно-структурная оценка пяти природных популяций *Humulus lupulus* L., расположенных в пределах города Алматы, Алматинской и Жетысуской областей. Анализ включал определение плотности произрастания, возрастной структуры и соотношения вегетативных и генеративных особей, что позволило всесторонне охарактеризовать состояние популяций и степень их устойчивости.

Полевые исследования осуществлялись на модельных участках с использованием учётных площадок площадью 20 м². В каждой популяции закладывали не менее 10 пробных площадок, что обеспечивало репрезентативность и сопоставимость полученных данных. В ходе учёта фиксировали общее количество особей, число побегов, а также распределение растений по основным возрастным состояниям: ювенильные (j), имматурные (i), виргинильные (v) и генеративные (g).

Плотность популяций *Humulus lupulus* L. изменялась в широких пределах — от 5 до 20 особей на 1 м² — и находилась в тесной зависимости от эколого-

географических условий местообитаний. Наибольшие значения плотности отмечались в условиях устойчивого увлажнения и умеренной сомкнутости растительного покрова, тогда как в более сухих или конкурентно насыщенных фитоценозах численность растений была существенно ниже.

Анализ возрастной структуры показал, что во всех исследованных популяциях преобладают особи в вегетативной фазе развития, что является характерной особенностью многолетних лианных видов. Доля вегетативных растений составляла 60–80 % от общей численности популяций. Эти особи формировали побеги преимущественно за счёт развитой корневищной системы и обеспечивали устойчивое вегетативное возобновление ценопопуляций.

Генеративные особи, формирующие соцветия и шишки, составляли от 10 до 30 % общей численности популяций. Их наибольшая доля отмечалась в популяциях, приуроченных к предгорным и равнинным районам с более мягкими климатическими условиями и относительно равномерным распределением осадков. Генеративные растения, как правило, отличались меньшим числом побегов и менее развитой корневищной системой по сравнению с вегетативными особями.

Индексы возрастной структуры популяций *Humulus lupulus* L. варьировали в пределах 0,25–0,40, что свидетельствует о умеренной стабильности и сбалансированности возрастных состояний. Во всех исследованных популяциях сохранялось устойчивое соотношение ювенильных, виргинильных и генеративных особей, указывающее на регулярное возобновление и отсутствие выраженных признаков деградации.

Количественное распределение растений по возрастным группам в исследованных популяциях представлено в таблице 10.

Таблица 10. Сравнительная характеристика морфологических признаков растений *Humulus lupulus* L.

Название популяции	Общее количество	Ювенильные (j)	Имматурные (i)	Виргинильные (v)	Генеративные(g)
Популяция 1	47	7	15	17	8
Популяция 2	75	16	19	26	14
Популяция 3	90	19	25	29	17
Популяция 4	109	22	29	38	20
Популяция 5	57	5	22	23	7

По совокупности показателей численности, возрастной структуры и соотношения вегетативных и генеративных особей все исследованные популяции *Humulus lupulus* L. могут быть охарактеризованы как гомеостатические. Они отличаются высокой жизнеспособностью, способностью к внутренней саморегуляции и устойчивому воспроизводству в пределах,

занимаемых экотопов. Преобладание вегетативного возобновления при одновременном сохранении генеративных особей обеспечивает стабильность популяционной структуры и создаёт предпосылки для длительного существования популяций в широком диапазоне эколого-географических условий.

г. Алматы (популяция 1)

Алматинская популяция *Humulus lupulus* L. характеризуется сравнительно высокой плотностью произрастания и чётко выраженной клональной организацией. По результатам полевых учётов плотность растений в пределах обследованных участков варьировала от 8 до 17 особей на 1 м² и находилась в тесной зависимости от степени увлажнения почвы, сомкнутости растительного покрова и структуры фитоценоза. Максимальные значения плотности отмечались в пойменных участках долины реки Казачка и вблизи водотоков, где сохраняется стабильный гидрологический режим.

Пространственная структура популяции представлена куртинно-клональными группировками, формирование которых обусловлено активным вегетативным размножением за счёт корневищ. Такая стратегия обеспечивает эффективное освоение пространства и высокую устойчивость популяции в условиях городской среды. Возрастная структура популяции включает все основные онтогенетические состояния. В общей численности преобладают вегетативные особи, доля которых составляет 70–80 %. Они формируют многочисленные побеги и обеспечивают стабильное вегетативное возобновление. Генеративные растения составляют около 15–20 % численности и приурочены к участкам с оптимальными микроклиматическими условиями. Ювенильные и имматурные особи представлены в количестве 15–25 %, что свидетельствует о регулярном обновлении популяции. Индекс возрастной структуры варьирует в пределах 0,30–0,38, что указывает на устойчивое состояние популяции. В целом алматинская популяция относится к гомеостатическим и отличается высокой экологической устойчивостью.

Талгарский район (популяция 2)

Популяция *Humulus lupulus* L. Талгарского района характеризуется умеренно высокой плотностью и выраженной пространственной неоднородностью. Плотность произрастания варьировала от 8 до 18 особей на 1 м² и определялась микрорельефом и уровнем увлажнения местообитаний. Наиболее плотные скопления растений отмечались вблизи временных и постоянных водотоков.

Пространственное распределение растений носит мозаичный характер, с формированием локальных сгущений в наиболее благоприятных микробиотопах. Клональная структура популяции выражена умеренно и сочетается с участием генеративных особей. Возрастная структура представлена всеми онтогенетическими стадиями. Доля вегетативных особей составляет 65–80 %, что указывает на доминирование вегетативного возобновления. Генеративные растения представлены в количестве 15–25 % и приурочены к участкам с умеренной сомкнутостью травостоя. Ювенильные и имматурные

растения составляют около 15–25 % общей численности. По совокупности показателей популяция Талгарского района относится к устойчивым гомеостатическим популяциям с сохранённым репродуктивным потенциалом.

Енбекшиказахский район (популяция 3)

Популяция *Humulus lupulus* L. Енбекшиказахского района характеризуется одной из наиболее высоких плотностей среди исследованных популяций — от 10 до 20 особей на 1 м². Высокие показатели численности обусловлены благоприятным гидрологическим режимом и наличием устойчиво увлажнённых микробиотопов вблизи водотоков.

Пространственная структура популяции ярко выраженно клональная, с формированием плотных куртин. Такая организация свидетельствует о ведущей роли вегетативного размножения и высокой устойчивости популяции. Возрастная структура популяции представлена всеми стадиями онтогенеза. Общее число учтённых особей составило 90, из которых 81 % приходится на вегетативные стадии (j + i + v). Высокая доля виргинильных растений указывает на значительный потенциал генеративного обновления. Генеративные особи составляют около 19 % и представлены раздельнополыми растениями. Индекс возрастной структуры (0,30–0,40) отражает сбалансированное состояние популяции. Популяция относится к гомеостатическим и характеризуется высокой жизнеспособностью.

Саркандский район (популяция 4)

Популяция *Humulus lupulus* L. Саркандского района характеризуется плотностью от 7 до 16 особей на 1 м². Распределение растений определяется сочетанием увлажнённых и более сухих предгорных экотопов. Наиболее плотные куртины приурочены к участкам с развитым травяным покровом и наличием опорных элементов.

Пространственная структура популяции носит куртинно-клональный характер. Активное вегетативное размножение обеспечивает высокую устойчивость популяции к внешним воздействиям. Возрастная структура представлена всеми онтогенетическими стадиями. Общее число особей составило 109, при этом доля вегетативных форм достигает 82 %. Генеративные растения составляют около 18 % и обеспечивают возможность семенного возобновления. Индекс возрастной структуры (0,28–0,38) свидетельствует о стабильном состоянии популяции. В целом популяция относится к устойчивым гомеостатическим и характеризуется высоким адаптационным потенциалом.

Алакольский район (популяция 5)

Алакольская популяция *Humulus lupulus* L. отличается сравнительно меньшей плотностью — от 5 до 14 особей на 1 м², что связано с более контрастными гидрологическими условиями и лугово-степным характером экосистем. Наиболее высокая численность отмечается в пойменных участках долины реки Тентек.

Пространственная структура популяции выраженно мозаичная и представлена куртинными и клональными группировками. Вегетативное размножение играет ведущую роль в поддержании численности популяции.

Возрастная структура включает все основные стадии онтогенеза. Из 57 учтённых особей 88 % относятся к вегетативным стадиям, что указывает на доминирование клонального обновления. Генеративные растения составляют около 12 %, что, вероятно, обусловлено климатическими и гидрологическими ограничениями. Индекс возрастной структуры варьирует в пределах 0,25–0,35, что соответствует умеренно устойчивому состоянию популяции. Несмотря на менее благоприятные условия, популяция сохраняет способность к саморегуляции и длительному существованию.

Все исследованные популяции *Humulus lupulus* L. относятся к гомеостатическим, характеризуются преобладанием вегетативных особей, выраженной клональной структурой и устойчивым воспроизводством. Различия в плотности и возрастной структуре обусловлены эколого-географическими условиями местообитаний, однако в целом вид демонстрирует высокий уровень экологической пластичности и адаптационного потенциала.

Сравнительный эколого-флористический анализ популяций Humulus lupulus L.

Сравнительный анализ флористического состава пяти природных популяций *Humulus lupulus* L., расположенных в пределах города Алматы, Алматинской и Жетысуской областей, показал наличие выраженного флористического ядра, формируемого ограниченным числом доминирующих таксономических групп. Наибольшей представленностью и экологической устойчивостью отличаются семейства Poaceae и Cannabaceae, суммарная доля которых в общей структуре флоры достигает 29,83 %. Представители данных семейств формируют основу травяного яруса и играют ключевую роль в поддержании структурной стабильности фитоценозов, обеспечивая высокий уровень биомассы и устойчивость растительных сообществ. Сравнение видового состава между популяциями выявило устойчивое доминирование широко распространённых семейств Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, характерных для луговых, лугово-степных и предгорных экосистем юго-востока Казахстана. Присутствие этих таксонов во всех исследованных районах указывает на сходство базовых экологических условий и общность типов фитоценозов, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L.

Семейство Poaceae является наиболее богатым по числу видов и занимает ведущее положение во всех исследованных популяциях. Злаковые формируют каркас травяного покрова, определяют пространственную организацию фитоценозов и создают благоприятные условия для произрастания лианных форм за счёт формирования устойчивого микроклимата и регулируемого уровня затенённости. Высокая представленность Poaceae отражает адаптацию растительных сообществ к условиям умеренного увлажнения и периодических колебаний водного режима.

Второе место по видовому разнообразию и степени участия в структуре растительных сообществ занимает семейство Asteraceae, представители которого широко распространены в лугово-степных и рудеральных экотопах. Высокая доля сложноцветных обусловлена их экологической пластичностью,

способностью к быстрому заселению нарушенных участков и устойчивостью к антропогенному воздействию, что особенно характерно для территорий с разной степенью трансформации ландшафта.

Семейство Fabaceae занимает устойчивое положение в структуре флоры исследованных популяций, внося существенный вклад в повышение биологической продуктивности фитоценозов и поддержание азотного баланса почв. Наличие бобовых видов создаёт благоприятные эдафические условия для роста *Humulus lupulus* L. и способствует формированию устойчивых растительных сообществ. Помимо доминирующих семейств, во всех популяциях отмечено участие представителей Rosaceae, Ulmaceae, Polygonaceae и Caryophyllaceae, доля которых варьирует в зависимости от эколого-географических условий и степени увлажнения местообитаний. Эти таксоны повышают таксономическую насыщенность флоры и формируют многоярусную структуру фитоценозов, обеспечивая наличие опорных элементов и пространственную неоднородность растительного покрова. Сравнительный анализ флористического состава показал, что сообщества с участием *Humulus lupulus* L. характеризуются устойчивой таксономической структурой, наличием общего флористического ядра и преобладанием семейств, типичных для мезофитных и мезоксерофитных экосистем. Несмотря на различия природных условий и антропогенной нагрузки, исследованные популяции формируются в достаточно устойчивых фитоценозах. Таксономический состав доминирующих семейств растений в популяциях *Humulus lupulus* L. представлен на рисунке 26.

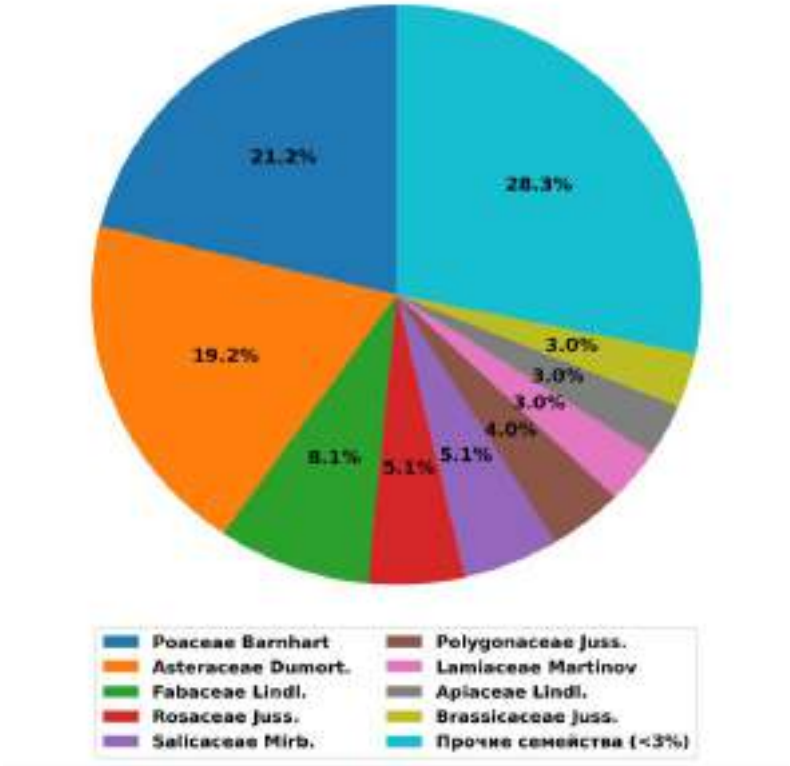


Рисунок 26. Таксономический состав доминирующих семейств в популяциях *Humulus lupulus* L.

Сравнительный анализ видового состава исследованных популяций выявил сходство в участии широко распространённых семейств Poaceae, Asteraceae и Fabaceae, формирующих основу травяного покрова во всех изученных районах. Кроме того, в большинстве популяций отмечено присутствие представителей семейств Rosaceae и Caryophyllaceae, что свидетельствует о сходстве базовых экологических условий и общности типов фитоценозов, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L.

Популяции *Humulus lupulus* L., распространённые на территории города Алматы, Алматинской и Жетысуской областей, характеризуются высоким уровнем флористического разнообразия и включают значительное число видов растений, обладающих эколого-ценотическим и хозяйственным значением. В горно-предгорных районах в составе растительных сообществ широко представлены лекарственные и эфиромасличные виды, такие как *Achillea millefolium* L., *Artemisia absinthium* L., *Mentha longifolia* (L.) L., *Marrubium vulgare* L., *Hypericum perforatum* L., активно используемые в медицине и фитотерапии. Существенную роль в структуре растительного покрова также играют кормовые, лекарственные и сорные виды, традиционно используемые местным населением. Совокупность этих растений формирует устойчивые и продуктивные экосистемы, имеющие важное значение для рационального природопользования.

Флора популяций *Humulus lupulus* L. отличается высокой таксономической насыщенностью и включает представителей ряда ключевых семейств. Значительное участие принимают виды семейства Fabaceae (например, *Trifolium pratense* L., *Medicago falcata* L.), а также представители Caryophyllaceae (*Stellaria media* (L.) Vill.). Существенную роль играют лекарственные растения семейства Lamiaceae, в том числе *Mentha longifolia* (L.) L. и *Marrubium vulgare* L., а также представители Hypericaceae, прежде всего *Hypericum perforatum* L., что отражает высокий фитотерапевтический потенциал растительных сообществ с участием хмеля обыкновенного.

Наиболее многочисленным и структурообразующим семейством во флоре исследованных популяций является Poaceae, представленное широким спектром злаковых видов. Злаки формируют основу травянистого покрова, обеспечивают кормовую базу и играют ключевую роль в стабилизации почв, регулировании водного режима и круговороте веществ. В целом представители Poaceae составляют значительную долю флоры исследованных территорий (в среднем около 20–25 % по числу видов). Наиболее типичными видами являются *Poa pratensis* L., *Elymus repens* (L.) Gould, *Setaria viridis* (L.) P.Beauv., *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth и *Festuca valesiaca* Gaudin., формирующие основу травяного покрова и определяющие пространственную структуру фитоценозов [110].

Экологическая структура флоры и адаптационная стратегия вида

Анализ экологической структуры флоры растительных сообществ, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L., показал, что в большинстве исследованных популяций преобладают мезофитные и мезоксерофитные виды. Такое соотношение экологических групп отражает приуроченность данных

фитоценозов к условиям умеренного увлажнения и относительно стабильного почвенно-климатического режима, характерного для долин рек, пойменных и предгорных экосистем Алматинской и Жетысуской областей.

В алакольской популяции, как и в других исследованных районах, доминирование мезофитов и мезоксерофитов связано с переходным лугово-степным характером экосистем и мозаичностью условий увлажнения. Наличие как более влаголюбивых, так и относительно засухоустойчивых видов указывает на высокую экологическую неоднородность местообитаний, обусловленную влиянием речных долин, микрорельефа и сезонных колебаний водного режима. В таких условиях *Humulus lupulus* L. успешно занимает устойчивую экологическую нишу, демонстрируя конкурентоспособность и способность к адаптации в разнородных фитоценозах.

Экологическая стратегия *Humulus lupulus* L. в исследуемых районах в целом соответствует мезофитно-гигрофитному типу адаптации, что отражает его приуроченность к увлажнённым биотопам — долинам рек, поймам, лесным и кустарниковым сообществам. В то же время установлено, что вид обладает выраженной экологической пластичностью и способен переносить кратковременные периоды дефицита влаги. Наличие элементов ксерофитной устойчивости позволяет хмелю сохранять жизнеспособность в условиях временного подсушивания почв, характерного для предгорных и лугово-степных экосистем.

Важной адаптивной особенностью *Humulus lupulus* L. является сочетание лианной жизненной формы и преобладания вегетативного размножения. Использование кустарниковых и древесных растений в качестве опоры обеспечивает эффективное освоение вертикального пространства фитоценозов и снижение конкурентного давления со стороны травянистых видов. Вегетативное возобновление за счёт корневищ и подземных побегов способствует устойчивости популяций и их способности к быстрому восстановлению после неблагоприятных воздействий.

Основными факторами, ограничивающими распространение *Humulus lupulus* L. в пределах исследуемой территории, являются режим увлажнения почв, температурные условия, тип и механический состав субстрата, а также интенсивность межвидовой конкуренции. Существенную роль играют и антропогенные факторы, включая сельскохозяйственное использование земель, фрагментацию местообитаний и рекреационную нагрузку. Совокупность абиотических и биотических факторов определяет особенности условий произрастания и пространственного распределения исследованных популяций *Humulus lupulus* L. в пределах Алматинской и Жетысуской областей.

Humulus lupulus L. следует рассматривать как экологически пластичный мезофит с элементами гигрофитной и ксерофитной адаптации, способный формировать устойчивые популяции в широком диапазоне эколого-ценотических условий. Высокая адаптационная способность вида обеспечивает его стабильное существование в разнообразных фитоценозах и подчёркивает

значимость хмеля как перспективного объекта для дальнейших эколого-биологических и ресурсных исследований.

Флористическое сходство популяций Humulus lupulus L.

С целью оценки степени сходства флористического состава растительных сообществ, в пределах которых произрастают популяции *Humulus lupulus* L., был проведён сравнительный анализ с использованием коэффициента флористического сходства Жаккара. Результаты расчётов показали умеренный уровень видового сходства между исследованными популяциями (рисунок 28), что отражает сочетание общего флористического ядра с выраженной региональной спецификой растительного покрова.

Значения индекса Жаккара варьировали в пределах 0,061–0,121, что соответствует 6,1–12,1 % совпадения видового состава между отдельными парами популяций. Такие показатели характерны для природных фитоценозов, формирующихся в условиях сходных макроэкологических факторов при существенном влиянии локальных экотопических и антропогенных условий.

Наибольшее флористическое сходство выявлено между популяциями г. Алматы и Талгарского района (J = 0,121). Это обусловлено их приуроченностью к предгорной зоне, сходством климатических параметров, почвенного покрова и типов фитоценозов, а также близким уровнем антропогенного воздействия. Относительно высокий показатель сходства также отмечен между популяциями г. Алматы и Енбекшиказахского района (J = 0,103), что указывает на общность эколого-ценотических условий и наличие схожих лугово-пойменных и кустарниковых сообществ.

Минимальные значения коэффициента Жаккара зафиксированы между популяциями Талгарского и Енбекшиказахского районов (J = 0,061). Низкий уровень флористического сходства в данном случае, вероятно, связан с различиями в гидрологическом режиме, типах почв, степени сомкнутости растительного покрова и характере антропогенной трансформации ландшафтов. Существенное влияние оказывает также мозаичность экотопов и пространственная разобщённость местообитаний.

Остальные пары популяций демонстрируют промежуточные значения индекса Жаккара (0,063–0,100), что отражает сложную пространственную организацию растительного покрова и неоднородность экологических условий в пределах исследуемых территорий. Такие показатели свидетельствуют о наличии как общих, так и уникальных флористических компонентов, формирующихся под влиянием локальных факторов среды.

Несмотря на относительно низкие абсолютные значения флористического сходства, во всех исследованных популяциях сохраняется общее флористическое ядро, представленное видами семейств Poaceae, Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae и Caryophyllaceae. Эти таксоны формируют основу травянистого и кустарникового ярусов и играют ключевую роль в поддержании структурной устойчивости фитоценозов с участием *Humulus lupulus* L.

Результаты анализа флористического сходства подтверждают, что популяции *Humulus lupulus* L. развиваются в условиях экологически близких, но

локально дифференцированных фитоценозов. Умеренный уровень видового сходства отражает высокую экологическую пластичность вида и его способность адаптироваться к различным эколого-ценотическим условиям, сохраняя устойчивое положение в составе природных растительных сообществ.

Флористическое сходство между исследованными популяциями варьирует в пределах от 6,1 до 12,1 %. Сходство видового состава между отдельными популяциями выражается следующими значениями индекса Жаккара:

Популяция 1 и популяция 2: J = 0,121 (12,1 %)
Популяция 1 и популяция 3: J = 0,103 (10,3 %)
Популяция 1 и популяция 4: J = 0,069 (6,9 %)
Популяция 1 и популяция 5: J = 0,100 (10,0 %)
Популяция 2 и популяция 3: J = 0,061 (6,1 %)
Популяция 2 и популяция 4: J = 0,0625 (6,3 %)
Популяция 2 и популяция 5: J = 0,0909 (9,1 %)
Популяция 3 и популяция 4: J = 0,074 (7,4 %)
Популяция 3 и популяция 5: J = 0,069 (6,9 %)
Популяция 4 и популяция 5: J = 0,071 (7,1 %)

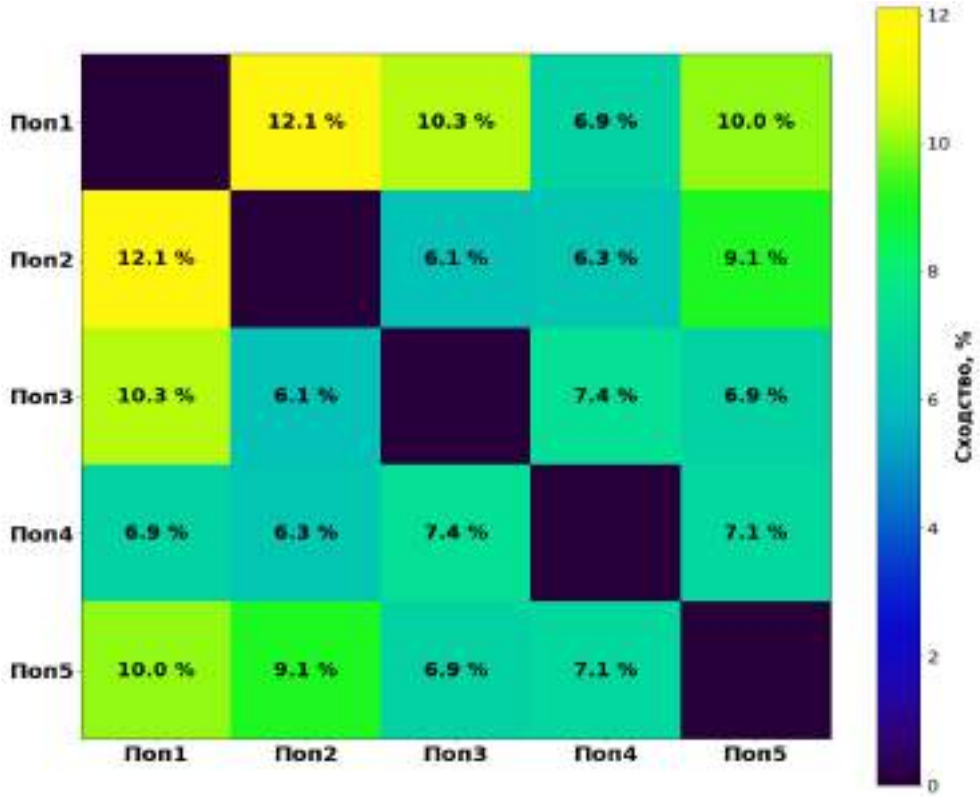


Рисунок 27 - Индекс флористического сходства исследованных популяций *Humulus lupulus* L., рассчитанный по формуле Жаккара.

Наименьшее флористическое сходство установлено между первой и третьей, а также между второй и третьей популяциями *Humulus lupulus* L. Это, по-видимому, обусловлено их пространственной разобщённостью, а также выраженными различиями почвенно-климатических и эколого-ценотических

условий. Существенное значение имеет и тот факт, что флористический состав третьей популяции включает значительное число видов, характерных для иных экологических зон и типов фитоценозов, что снижает степень её флористического сходства с остальными исследованными популяциями. Расчёт коэффициентов флористического сходства по индексу Жаккара выявил умеренный уровень перекрытия видового состава между популяциями, отражающий одновременное проявление общности региональной флоры и её пространственной дифференциации. Наибольшая степень сходства зафиксирована между популяциями г. Алматы и Талгарского района (12,1 %), что, вероятно, связано с близостью географического положения, сходством экотопов, почвенно-климатических параметров и сопоставимым уровнем антропогенной трансформации ландшафтов.

Минимальное значение индекса Жаккара отмечено между популяциями Талгарского и Енбекшиказахского районов (6,1 %). Низкий уровень флористического сходства в данном случае может быть обусловлен различиями в эдафических условиях, особенностями гидрологического режима, а также неодинаковой направленностью сукцессионных процессов, формирующих структуру растительных сообществ. Для остальных пар популяций значения индекса варьировали в пределах 6,3–10,0 %, что свидетельствует о мозаичности растительного покрова и локальной дифференциации фитоценозов под влиянием факторов среды.

В целом полученные результаты указывают на высокую экологическую пластичность растительных сообществ, в составе которых произрастает *Humulus lupulus* L. Несмотря на различия в климатических условиях, типах почв, рельефе и степени антропогенного воздействия, данные фитоценозы сохраняют структурную устойчивость и адаптационный потенциал, обеспечивающий длительное существование хмеля в широком спектре эколого-ценотических условий [166].

Хозяйственно-биологическая характеристика сопутствующей флоры

Популяции *Humulus lupulus* L., распространённые на территории города Алматы, Алматинской и Жетысуской областей, формируются в составе растительных сообществ, отличающихся высоким уровнем флористического разнообразия и включающих значительное число видов, обладающих важным хозяйственным, биологическим и эколого-ценотическим значением. Сопутствующая флора представлена растениями различного функционального назначения, что отражает многообразие природных условий и устойчивость экосистем, в пределах которых произрастает хмель.

В составе фитоценозов с участием *Humulus lupulus* L. выявлены лекарственные, кормовые, пищевые, медоносные, технические и декоративные растения, а также виды, играющие ключевую роль в стабилизации почвенного покрова и поддержании биоразнообразия. Наличие большого числа хозяйственно ценных видов свидетельствует о высокой природной продуктивности и ресурсном потенциале исследуемых территорий. Существенную часть сопутствующей флоры составляют лекарственные

растения, широко применяемые в традиционной и официальной медицине. Их присутствие свидетельствует о высокой фитотерапевтической ценности фитоценозов и подтверждает перспективность комплексного использования растительных ресурсов. Многие виды обладают противовоспалительными, антимикробными и седативными свойствами, что согласуется с фармакологическим потенциалом *Humulus lupulus* L.

Значительную долю составляют кормовые растения, преимущественно представители семейств Poaceae и Fabaceae, обеспечивающие кормовую базу и участвующие в поддержании азотного баланса почв. Их совместное произрастание с *Humulus lupulus* L. способствует формированию устойчивых и продуктивных сообществ. В составе фитоценозов также отмечены пищевые, ягодные и медоносные виды, играющие важную роль в природопользовании и поддержании трофических связей. Наряду с этим выявлены технические и декоративные растения, а также виды с почвозащитными функциями, способствующие стабилизации экосистем.

Полученные данные показывают, что сопутствующая флора популяций *Humulus lupulus* L. характеризуется высокой хозяйственно-биологической многофункциональностью. Сочетание видов различного назначения формирует устойчивые растительные комплексы с высоким природно-ресурсным потенциалом, что имеет значение для рационального природопользования и сохранения биоразнообразия.

Основные хозяйственно значимые группы растений, сопутствующие популяциям *Humulus lupulus* L., представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Основные хозяйственно значимые группы растений, сопутствующие популяциям *Humulus lupulus* L.

Группы растений	Общее количество, %
Сорные растения	11,5
Пищевые растения	6,7
Лекарственные растения	6,0
Медоносные растения	14,3
Эфиромасличные растения	5,9
Кормовые растения	13,7
Декоративные растения	12,7
Красильные растения	5,3
Витаминоносные растения	6,5
Технические растения	17,4

В растительных сообществах с участием *Humulus lupulus* L. значительное место занимают лекарственные и эфиромасличные виды, преимущественно представители семейств Asteraceae и Lamiaceae, что отражает фитохимическую и эколого-ценотическую специфику данных фитоценозов. К числу наиболее типичных сопутствующих видов относятся *Achillea millefolium* L., *Artemisia absinthium* L., *Cichorium intybus* L., а также представители семейства Lamiaceae — *Mentha longifolia* (L.) L. и *Marrubium vulgare* L. Указанные растения приурочены к умеренно увлажнённым местообитаниям с хорошо аэрируемыми почвами и достаточным содержанием органического вещества, что обусловливает их устойчивое совместное произрастание с хмелем в природных и полуприродных экосистемах. С хозяйственно-биологической точки зрения наибольшую ценность представляют *Mentha longifolia* (L.) L., *Achillea millefolium* L. и *Artemisia absinthium* L., обладающие выраженными фармакологическими свойствами и широко используемые в медицине и фитотерапии.

Присутствие данных видов в фитоценозах с участием *Humulus lupulus* L. повышает биоресурсную и фармакологическую значимость исследуемых растительных сообществ, а также подчёркивает перспективность их комплексного использования и сохранения в рамках рационального природопользования.

Ярусная организация и ценотическая роль Humulus lupulus L.

Растительные сообщества с участием *Humulus lupulus* L. характеризуются хорошо выраженной ярусной организацией, отражающей сложную эколого-ценотическую структуру фитоценозов. Формирование многоярусного растительного покрова способствует более эффективному использованию ресурсов среды, повышению устойчивости сообществ и созданию благоприятного микроклимата для произрастания вида.

I ярус (древесный) представлен древесными видами, среди которых преобладают *Ulmus laevis* Pall., *Ulmus pumila* L., а также представители рода *Salix* (*Salix alba* L., *Salix starkeana* Willd.). Древесный ярус формирует верхний уровень фитоценоза, создаёт затенение и поддерживает более стабильный температурно-влажностный режим. Кроме того, древесные виды служат естественной опорой для лианной формы *Humulus lupulus* L.

II ярус (кустарниково-травянистый) включает кустарниковые и высокотравные виды, такие как *Rubus caesius* L., *Rubus idaeus* L., а также *Humulus lupulus* L. В данном ярусе *Humulus lupulus* L. занимает доминирующее ценотическое положение, активно развивает вегетативную массу и формирует генеративные органы. Именно в этом ярусе наиболее полно проявляется ценотическая роль вида в структуре сообщества.

III ярус (травянистый) образован злаково-разнотравными видами, среди которых доминируют представители Poaceae (*Poa pratensis* L., *Elymus repens* (L.) Gould, *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth), а также виды Asteraceae (*Taraxacum officinale* F.H.Wigg., *Cichorium intybus* L., *Arctium lappa* L.) и другие разнотравные растения (*Polygonum aviculare* L., *Chenopodium album* L., *Atriplex*

tatarica L.). Данный ярус формирует основной проективный покров и участвует в сохранении влажности почвы и устойчивости растительного сообщества.

Следует отметить, что степень выраженности ярусности различалась в зависимости от экологических условий местообитаний. В популяциях предгорного типа ярусная структура была выражена более чётко благодаря высокой сомкнутости древесно-кустарниковой растительности и достаточному увлажнению. В популяциях равнинных территорий Алакольского района ярусность была выражена слабее, что связано с более засушливыми условиями и меньшей плотностью растительного покрова. Анализ флористического состава, экологической структуры, ярусной организации и показателей флористического сходства свидетельствует о наличии общего флористического ядра, сформированного представителями семейств Poaceae, Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae и Cannabaceae, которое обеспечивает устойчивость сообществ и создаёт благоприятные условия для существования *Humulus lupulus* L.

В составе исследованных фитоценозов *Humulus lupulus* L. выполняет важную ценотическую роль, интегрируясь в многоярусную структуру сообществ и эффективно используя вертикальное пространство за счёт лианной жизненной формы. Преобладание вегетативного возобновления в сочетании с наличием генеративных особей обеспечивает устойчивость популяций и их способность к длительному существованию в различных эколого-ценотических условиях. *Humulus lupulus* L. следует рассматривать как экологически пластичный мезофит с широким адаптационным потенциалом, способный формировать устойчивые и жизнеспособные популяции в разнообразных фитоценотических условиях Алматинской и Жетысуской областей. Выявленные особенности эколого-флористической организации сообществ создают предпосылки для формирования локально адаптированных экотипов и представляют основу для дальнейших фитохимических, фармакологических и природоохранных исследований данного вида [110].

3.1.4 Физико-химические свойства почв ценопопуляций *Humulus lupulus* L.

Почва как сложная многофункциональная система обладает высокой способностью аккумулировать и удерживать влагу, что играет ключевую роль в обеспечении растений оптимальными условиями роста и развития. В почве постоянно поддерживается определённый уровень влагообеспеченности, формирующий водный режим корнеобитаемого слоя. Поступление воды в почву осуществляется за счёт атмосферных осадков, грунтовых вод, конденсации водяных паров и, при необходимости, орошения. Эта способность почвы особенно важна для *Humulus lupulus* L., поскольку хмель является мезофитным видом и требует достаточного увлажнения, особенно в периоды активного вегетативного роста.

Популяция 1. Тип почвы: Предгорные лугово-серозёмные почвы. Почвенный покров участка первой популяции представлен серозёмами с

глинистым механическим составом. Почвы тёмно-бурого цвета, обогащены корневыми остатками растений, характеризуются наличием сухой корки и значительным количеством мелких обломков каменистого материала. Структура почвы зернистая, влажная, с чётко выраженной границей между генетическими горизонтами. Водопроницаемость средняя. Механический состав — среднесуглинистый, ближе к тяжёлому, что приводит к образованию плотной корки при орошении. Содержание элементов минерального питания невысокое, вследствие чего требуется регулярное внесение органических и минеральных удобрений. В пределах деградированных участков встречаются лугово-серозёмные и луговые тяжёлые почвы.

Популяция 2. Тип почвы: горно-предгорные лугово-серозёмные почвы, суглинистые. Почвы второй популяции имеют серый цвет с тёмно-бурым оттенком, слабоуплотнённые, порошисто-чешуйчатые, с отчётливо выраженным переходом к нижележащим горизонтам. Характеризуются высоким уровнем увлажнения и лёгким суглинистым механическим составом. Эти почвы отличаются хорошо выраженной агрегатной структурой и относительно высоким содержанием органического вещества. Верхний горизонт тёмный, богат гумусом, что обеспечивает высокое естественное плодородие. Пористая и рыхлая структура способствует хорошему водо- и воздухообмену, создавая благоприятные условия для развития корневой системы хмеля.

Популяция 3. Тип почвы: типичные серозёмы предгорных равнин, среднесуглинистый. Почвы третьей популяции имеют серовато-бурый оттенок, слабоуплотнённую, порошистую структуру без выраженного карбонатного вскипания. В Енбекшиказахском районе данные почвы сформированы под эфемерно-злаковой растительностью на пролювиальных отложениях. Они характеризуются нормальной водопроницаемостью, однако при орошении образуют плотную поверхностную корку, что может ограничивать газообмен и инфильтрацию воды в корнеобитаемый слой.

Популяция 4. Тип почвы: светло-каштановые почвы степной зоны, среднесуглинистый – тяжелосуглинистый. Почвы четвёртой популяции имеют тёмно-серую окраску и отличаются высоким содержанием растительных остатков. Микроструктура рыхлая, с выраженной агрегатностью и повышенной гумусированностью. Наблюдается значительная пестрота окраски, связанная с различной степенью разложения органических веществ. Повышенное содержание гумуса формирует благоприятные физико-химические свойства почвы, обеспечивая устойчивое питание растений и высокую биологическую активность.

Популяция 5. Тип почвы: светло-каштановые почвы полупустынной зоны, тяжелосуглинистый – глинистый. Почвы пятой популяции серо-бурые, с растительным покровом, слабовлажные, плотные, с тяжёлым глинистым механическим составом. Для Алакольского района характерно пониженное содержание гумуса, что ограничивает доступность ряда микроэлементов, в частности цинка и железа. Эти почвы обладают средней и мелкокомковатой структурой, хорошей водо- и воздухопроницаемостью, однако подвержены

быстрому испарению влаги, что требует рационального водного режима, особенно в засушливые годы. Гумус, являясь ключевым компонентом органического вещества почвы, улучшает её структурные и водно-физические свойства, повышает буферность и обеспечивает растения доступными элементами питания, что особенно важно для мезофитного вида *Humulus lupulus* L., требующего оптимального водно-воздушного режима и достаточной трофности почвы; показатели его содержания в исследуемых почвах представлены в таблице 12.

Таблица 12. Содержание гумуса

Популяция	Содержание гумуса (%)
Популяция 1	1,46
Популяция 2	2,88
Популяция 3	2,99
Популяция 4	3,45
Популяция 5	2,68

Результаты определения содержания гумуса в почвах исследованных популяций *Humulus lupulus* L. выявили выраженную пространственную дифференциацию органического вещества, отражающую неоднородность почвенно-экологических условий местообитаний (таблица 12). Минимальное значение показателя зафиксировано в почвах первой популяции (1,46 %), тогда как максимальное — в четвёртой популяции (3,45 %). В почвах второй, третьей и пятой популяций содержание гумуса занимало промежуточное положение и варьировало в пределах 2,68–2,99 %.

Установленные различия свидетельствуют о вариабельности интенсивности гумусообразовательных процессов, обусловленной совокупным влиянием гидротермического режима, гранулометрического состава почв, характера растительного покрова и степени антропогенной трансформации территорий. Повышенное содержание гумуса, характерное для четвёртой популяции, указывает на активные процессы аккумуляции органического вещества, высокую биологическую активность почвы и интенсивный круговорот элементов питания. Это способствует формированию благоприятных агрофизических свойств, улучшению структуры почвы, повышению её влагоёмкости и обеспеченности доступными формами макроэлементов.

Пониженное содержание гумуса в почвах первой популяции свидетельствует о сниженной интенсивности гумусообразования и связано с менее благоприятными гидрологическими условиями и повышенной антропогенной нагрузкой, что приводит к ухудшению структуры почвы, снижению её буферности и доступности элементов питания, негативно влияя на продуктивность фитоценозов. В целом содержание гумуса является одним из

показателей почвенно-агрохимических условий местообитаний *Humulus lupulus* L. и может учитываться при оценке экологических условий произрастания исследованных популяций.



Рисунок 28 – Содержание pH почв в популяциях *Humulus lupulus* L.

Оптимальные значения pH почвы для культивирования *Humulus lupulus* L. находятся в интервале от 5,7 до 7,5. В этих пределах элементы минерального питания находятся в наиболее доступных для растений формах, что обеспечивает нормальный рост, развитие и формирование генеративных органов. Отклонение реакции почвенного раствора в кислую или щелочную сторону приводит к нарушению усвоения макро- и микроэлементов и может способствовать развитию физиологических расстройств и болезней растений. Химические свойства почв исследованных местообитаний *Humulus lupulus* L. характеризовались вариабельностью по показателю pH (рисунок 29).

В исследованных популяциях реакция почвенного раствора варьировала от нейтральной до выраженно щелочной (pH 7,60–8,75). Наиболее высокие значения pH были зафиксированы в пятой популяции (pH 8,55), что указывает на устойчивость растений к карбонатным почвам с повышенной щёлочностью. Популяции 1, 2 и 3 характеризовались сходными значениями pH (8,53; 8,24 и 8,17 соответственно), что свидетельствует об их адаптации к умеренно щелочным условиям. Наименьшие значения pH (7,60–7,69) были отмечены в популяции 4, что, вероятно, связано с геологическими особенностями района и более высоким содержанием органического вещества, способствующего частичному подкислению почвы (таблица 12).

Почвы с pH выше 7,6–8,7 выходят за пределы оптимального диапазона для *Humulus lupulus* L., что может отрицательно сказываться на росте и жизнеспособности растений. В условиях повышенной щёлочности снижается

доступность таких микроэлементов, как железо, марганец, цинк и бор, что приводит к хлорозам, задержке роста и снижению продуктивности. Для коррекции щелочной реакции рекомендуется использование подкисляющих агромелиорантов (элементарная сера, торф, органические кислые удобрения), а также регулярный мониторинг pH почвы.

Полученные данные подтверждают способность *Humulus lupulus* L. существовать в широком диапазоне почвенно-климатических условий, однако наилучшие параметры роста формируются на нейтральных и слабощелочных почвах с повышенным содержанием органического вещества.

Хмель является высокопродуктивной культурой, формирующей значительную биомассу побегов, листьев и соплодий. Его успешное развитие напрямую зависит от сбалансированного поступления элементов питания, как макро-, так и микроэлементов. Дефицит или избыток отдельных элементов нарушает физиологические процессы, снижает устойчивость растений и ограничивает урожайность. Анализ химического состава почв в местах произрастания *Humulus lupulus* L. выявил выраженные различия в обеспеченности элементами питания. Содержание фосфора колебалось от 26 до 162 мг/кг, калия — от 270 до 430 мг/кг, цинка — от 3,80 до 57,3 мг/кг, марганца — от 89,0 до 171,8 мг/кг, бора — от 4,16 до 15,68 мг/кг. Эти различия отражают широкий диапазон эдафических условий и подтверждают высокую адаптационную способность вида. В то же время дефицит цинка в популяции 1 (3,80 мг/кг) и бора в популяции 2 (4,16 мг/кг) указывает на необходимость целенаправленного агрохимического регулирования. Особое значение для хмеля имеют фосфор и калий. Фосфор критически важен на ранних этапах вегетации для формирования корневой системы, тогда как калий играет ключевую роль в период активного роста побегов и формирования шишек. Дисбаланс этих элементов может приводить к антагонизму и снижению их усвоения, как, например, при повышенных концентрациях фосфора (популяция 4) или калия (популяция 3).

Микроэлементы, прежде всего цинк и бор, также оказывают существенное влияние на физиологию хмеля. При повышенном pH доступность цинка резко снижается, что вызывает угнетение роста и снижение общей жизнеспособности растений. Поэтому регулирование реакции почвенного раствора и микроэлементного статуса является ключевым фактором для поддержания высокой продуктивности хмеля.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости комплексного учёта кислотности почвы и её минерального состава при оценке экологических условий произрастания и разработке научно обоснованных подходов к рациональному использованию и культивированию *Humulus lupulus* L. Указанные параметры являются ключевыми факторами, определяющими доступность элементов питания, интенсивность физиологических процессов и уровень продуктивности растений в различных эколого-географических условиях.

Таблица 13. Содержание доступных форм элементов питания в почвах исследованных популяций

Популяция	Фосфор (мг/кг)	Калий (мг/кг)	Цинк (мг/кг)	Марганец (мг/кг)	Бор (мг/кг)
Популяция 1	37	350	3,80	89,0	5,35
Популяция 2	26	360	5,40	171,8	4,16
Популяция 3	126	430	29,0	154,6	15,68
Популяция 4	162	370	57,3	115,2	14,87
Популяция 5	26	270	7,40	129,9	6,69

Анализ данных, представленных в таблице 13, демонстрирует выраженную пространственную неоднородность обеспеченности почв элементами минерального питания в различных популяциях *Humulus lupulus* L., отражающую различия агрохимических и эколого-почвенных условий местообитаний. Наиболее существенные вариации отмечены по содержанию фосфора, калия и ряда микроэлементов, участвующих в регуляции метаболических процессов, росте и формировании генеративных органов растений. Выявленные различия могут определять особенности минерального питания и адаптации исследуемых популяций к локальным условиям произрастания.

Почвы первой и второй популяций характеризуются пониженным содержанием цинка и бора, что может оказывать влияние на ранние этапы онтогенеза, включая развитие корневой системы, дифференциацию побегов и формирование репродуктивных структур. При щелочной реакции почвенной среды доступность данных микроэлементов для растений может дополнительно снижаться. В противоположность этому, почвы третьей и четвёртой популяций отличаются более высокой обеспеченностью микроэлементами, формируя благоприятный агрохимический фон для роста и развития растений. Такие условия могут способствовать поддержанию физиологической активности и процессов биосинтеза вторичных метаболитов.

В пятой популяции отмечено снижение содержания ряда макро- и микроэлементов, в том числе калия, участвующего в регуляции водного режима и адаптационных реакциях растений. В условиях резко континентального климата Алакольского региона особенности минерального питания могут выступать одним из факторов, определяющих состояние популяции. В целом выявленная пространственная неоднородность агрохимических показателей почв свидетельствует о различиях условий минерального питания исследуемых популяций *Humulus lupulus* L. и может быть связана с особенностями их роста, устойчивости и биохимического профиля [164–168].

3.2 Фитохимический анализ растения *Humulus lupulus* L. и его основных химических компонентов

Оценку доброкачественности растительного сырья *Humulus lupulus* L. проводили с использованием фармакопейных методов в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан. В исследуемых образцах определяли влажность, содержание общей золы, золы, нерастворимой в 10%-ном растворе HCl, и сульфатной золы (таблица 14). Указанные показатели использовали для характеристики содержания влаги и минеральных компонентов, а также для косвенной оценки степени чистоты исследуемого растительного материала. Полученные значения сопоставляли с соответствующими фармакопейными критериями и использовали для комплексной оценки качества сырья перед проведением последующих фитохимических исследований.

Таблица 14 – Физико-химические показатели сырья *Humulus lupulus* L.

Вид сырья	Влажность	Зола общая	Зола, не растворимая в 10% HCl	Сульфатная зола
Трава	5,72	11,04	2,09	7,91
Листья	3,69	6,35	1,19	4,47
Шишки	6,02	7,52	1,44	5,28

Полученные результаты отражают различия между органами *Humulus lupulus* L. Влажность сырья составляла 3,69–6,02%, содержание общей золы — 6,35–11,04%, золы, нерастворимой в 10% HCl, — 1,19–2,09%, сульфатной золы — 4,47–7,91%. Наиболее высокое содержание золы отмечено в траве.

Фракционирование и качественный анализ биологически активных веществ Humulus lupulus L.

Для выявления основных групп биологически активных веществ (БАВ) применяли ступенчатую экстракцию растворителями различной полярности: 10–70%-ными растворами ацетона и этанола, а также гексаном, бензолом и хлороформом. Использование растворителей с различными физико-химическими свойствами обеспечивало последовательное извлечение и фракционирование компонентов растительного сырья в зависимости от их полярности и растворимости. Качественный анализ полученных экстрактов методом бумажной хроматографии позволил выявить основные классы БАВ, включая фенольные кислоты, флавоноиды, дубильные вещества, кумарины, алкалоиды, тритерпеноиды и полисахариды. Выявленные группы соединений характеризуют разнообразие фитохимического состава исследуемого растительного материала *Humulus lupulus* L. Полученные результаты представлены в таблице 15 и использованы в качестве основы для последующего анализа компонентного состава исследуемых образцов.

Таблица 15 - Качественная характеристика биологически активных веществ *Humulus lupulus* L. в зависимости от органа растения

Реагент	Результат качественного определения		
	стебли	листья	шишки
1% кислота фосфорно-молибденовая (алкалоиды)	желтый→ интенсивно синий	желтый→ синий	желтый→ синий
1% раствора циркония нитрата (антрахиноны)	красно-фиолетовый осадок	красно-синий осадок	красно-фиолетовый осадок
Реактив Миллона (белки)	Белый осадок→ Кирпично-красный	Белый осадок→ Кирпично-красный	Белый осадок→ Кирпично-красный
5% нитрозометилуретан, 1% ЖАК, NaAc (гидролизуемые танины)	Фиолетовый	Фиолетовый	Фиолетовый
5% раствора алюминия хлорида (ксантоны)	Зелено-голубой	Зелено-голубой	Сине-зеленый
пиридин, 0.1 н NaOH, бромтимоловый синий (кумарины)	Желтый→ зеленый→ синий	Желтый→ зеленый→ синий	Желтый→ синий
95% EtOH (полисахариды)	Обильный белый осадок	Белый осадок	Обильный белый осадок
1% м-динитробензойная кислота в щелочной среде (тритерпеноиды)	Зеленый	Зеленый	Ярко-зеленый
1% $K_2Fe(CN)_6$ и 2% раствор ЖАК (фенолокислоты)	Темно-синий	Синий	Темно-синий
$SbCl_5$ в CCl_4 (флавоноиды)	Оранжевый	Ярко-оранжевый	Оранжевый
Осаждение ацетоном из хлороформно-спиртового экстракта (фосфолипиды)	Кремовый осадок	Бежевый осадок	Кремовый осадок
1% раствор брома в хлороформе (эфирные масла)	Голубой	Голубой	Синий

Для оценки фитохимического профиля различных органов *Humulus lupulus* L. (стеблей, листьев и шишек) проводили качественный анализ экстрактов с использованием специфических аналитических реакций. Наличие отдельных классов биологически активных веществ (БАВ) устанавливали по характерным изменениям окраски, образованию осадка и интенсивности реакции. Результаты качественного анализа представлены в таблице.

В исследуемых образцах выявлены алкалоиды, антрахиноны, белки, гидролизуемые дубильные вещества, ксантоны, кумарины, полисахариды, тритерпеноиды, фенольные кислоты, флавоноиды, фосфолипиды и эфирные масла.

Алкалоиды определяли по характерному изменению окраски при взаимодействии с фосфорно-молибденовой кислотой, антрахиноны — по появлению красно-фиолетовой или красно-синей окраски в реакции с нитратом

циркония. Белковые соединения выявляли с помощью реакции Миллона, а гидролизуемые дубильные вещества — по характерной фиолетовой окраске соответствующей качественной реакции.

Наличие ксантонов и кумаринов устанавливали по специфическим цветовым реакциям, полисахаридов — по образованию белого осадка при добавлении 95%-ного этанола. Тритерпеноиды выявляли по появлению зелёной окраски в щелочной среде, фенольные кислоты — по синей окраске, а флавоноиды — по образованию оранжево окрашенных комплексов. Фосфолипиды определяли по образованию осадка при добавлении ацетона к хлороформно-спиртовым экстрактам, эфирные масла — по характерному изменению окраски при взаимодействии с раствором брома в хлороформе.

Полученные результаты свидетельствуют о разнообразии фитохимического состава исследованных органов *Humulus lupulus* L. Различия в выраженности качественных реакций указывают на особенности органоспецифического распределения отдельных групп БАВ. Наиболее выраженные реакции на эфирные масла и ряд фенольных соединений отмечены в шишках, тогда как листья и стебли характеризовались различной выраженностью реакций на другие группы метаболитов. Полученные данные были использованы для дальнейшего изучения компонентного состава *Humulus lupulus* L. инструментальными методами.

Фитохимический и компонентный анализ биологически активных веществ Humulus lupulus L.

Для количественной и компонентной оценки биологически активных веществ *Humulus lupulus* L. воздушно-сухое измельчённое сырьё экстрагировали растворителями различной полярности в течение 2 часов при контролируемом нагревании. В полученных экстрактах определяли содержание основных групп БАВ с использованием фармакопейных и общепринятых аналитических методик [120–146].

Для уточнения фитохимического профиля применяли высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с использованием стандартных образцов для идентификации и количественной оценки отдельных компонентов [120–158]. Полученные данные позволили охарактеризовать компонентный состав и выявить особенности распределения отдельных соединений в исследуемых образцах *Humulus lupulus* L. Результаты анализа представлены в таблице 16 и использованы для дальнейшей сравнительной оценки исследуемых образцов.

Таблица 16 — Результаты фитохимического и компонентного анализа БАВ надземной части *Humulus lupulus* L.

Класс БАВ / идентифицированное соединение	Содержание БАВ, %		
	стебли	листья	шишки
Алкалоиды	0.33	0.12	0.09
Антрахиноны	0.89	0.42	0.66
хризофанол	++	+	++

Продолжение таблицы 16

эмодин	+	+	+
фисцион	+	+	+
реин	++	+	+
пареэтиновая кислота	-	+	++
Белки	11.53	10.75	14.86
Дубильные вещества	3.24	2.71	3.82
3,6-*O*-гексаоксидифеноил-*D*-глюкоза	+	-	+
1,4-ди-*O*-галлоил-3,6-*O*-гексаоксидифеноил -*β*-*D*-глюкоза	+	+	++
2,3-ди-*O*-галлоил-*D*-глюкоза	+	+	+
1,2,4-три-*O*-галлоил-*β*-*D*-глюкоза	+	-	+
1,3,4-три-*O*-галлоил-*β*-*D*-глюкоза	-	+	+
Ксантоны	1.21	1.03	1.58
гентизин	+	-	+
гентизеин	-	+	+
мангин	+	-	+
мангиферин	+	+	++
Кумарины	2.36	2.01	2.76
4,5-диоксикумарин	+	+	+
7-оксикумарин	+	+	+
скополетин	+	-	+
6-метоксикумарин-7-O-β-D-ксилопиранозид	+	+	-
7-оксикумарин-6-O-β-D-ксило-пиранозид	-	-	+
ксантилетин	+	+	+
сиселин	+	-	+
Полисахариды	12.96	8.64	11.79
Моносахариды	0.56	0.85	0.71
глюкоза	+	+	+
галактоза	-	+	+
рамноза	+	+	+
манноза	+	-	-
ксилоза	+	-	+
арабиноза	+	-	-
Тритерпеноиды	1.79	1.54	2.19
ланостерол	+	-	+
окситетрагиманол	+	+	++
мультифлор-7-ен-12α-ол	+	+	+
δ-амирин	+	+	-
Феноло- и оксикоричные кислоты	0.42	0.24	0.35
Флавоноиды	2.30	3.62	2.57
Фосфолипиды	3.13	2.37	3.82
Эфирные масла	0.52	0.39	1.18

Анализ данных, представленных в таблице 16, свидетельствует о выраженной органоспецифичности накопления биологически активных веществ в надземных органах *Humulus lupulus* L., что отражает функциональную дифференциацию метаболизма растения.

Стебли хмеля характеризуются повышенным содержанием алкалоидов (0,33%), антрахинонов (0,89%), полисахаридов (12,96%) и феноло- и оксикоричных кислот (0,42%). Выявление в стеблях таких антрахинонов, как хризофанол, телошистин и реин, указывает на высокую антиоксидантную и потенциально противомикробную активность этих органов. Преобладание структурных и энергетических полисахаридов свидетельствует о роли стеблей как депо запасных и пластических веществ, обеспечивающих вегетативный рост и устойчивость растения. Листья отличаются максимальным накоплением флавоноидов (3,62%) и моносахаридов (0,85%), включая глюкозу, рамнозу и галактозу. Такое распределение отражает высокую интенсивность фотосинтетических и вторичных метаболических процессов, так как флавоноиды выполняют функции антиоксидантов, фотопротекторов и регуляторов роста. Повышенное содержание углеводов указывает на активный синтез и транспорт ассимилятов, необходимых для обеспечения генеративных органов и вегетативного разрастания. Шишки хмеля демонстрируют наибольшую концентрацию белков (14,86%), гидролизуемых дубильных веществ (3,82%), ксантонов (1,58%), кумаринов (2,76%), тритерпеноидов (2,19%), фосфолипидов (3,82%) и эфирных масел (1,18%). Это подтверждает их ключевую роль как специализированных репродуктивных и секреторных органов, в которых сосредоточены вещества с выраженной биологической активностью, включая антимикробные, антиоксидантные, противовоспалительные и мембраностабилизирующие соединения. Высокое содержание мангиферина, гентизеина и окситетрагиманола подчёркивает фармакологическую значимость шишек как перспективного сырья для фитопрепаратов.

Полученные данные свидетельствуют о чёткой органоспецифической дифференциации метаболитов у *Humulus lupulus* L.: стебли преимущественно выполняют структурно-метаболические функции, листья — фотосинтетические и защитные, а шишки — биосинтетические и аккумулятивные, связанные с формированием и защитой генеративных структур. Установленные различия в распределении биологически активных веществ имеют важное прикладное значение и могут быть использованы при рациональном использовании различных органов хмеля в фармацевтической, пищевой и биотехнологической промышленности, а также при оптимизации технологий заготовки и переработки растительного сырья [165].

Структуры идентифицированных веществ Humulus lupulus L.

Впервые для природных популяций *Humulus lupulus* L. Алматинской и Жетысуской областей проведён комплексный фитохимический и компонентный анализ надземных органов растения (стебли, листья и шишки), позволивший выявить широкий спектр биологически активных соединений, часть из которых

ранее не была описана для представителей рода *Humulus*. В ходе исследования установлено, что хмель обыкновенный является источником не только традиционно известных флавоноидов и эфирных масел, но и ряда новых для рода классов вторичных метаболитов, включая антрахиноны, гидролизуемые дубильные вещества, ксантоны, кумарины, тритерпеноиды и специфические углеводные комплексы. Выявленные соединения обладают выраженным фармакологическим потенциалом (антиоксидантным, антимикробным, противовоспалительным и цитопротекторным действием), что существенно расширяет представления о биоресурсной ценности *Humulus lupulus* L. Полученные данные свидетельствуют о высокой химической пластичности и адаптивном потенциале хмеля, обусловленных влиянием почвенно-климатических и эколого-географических факторов региона произрастания.

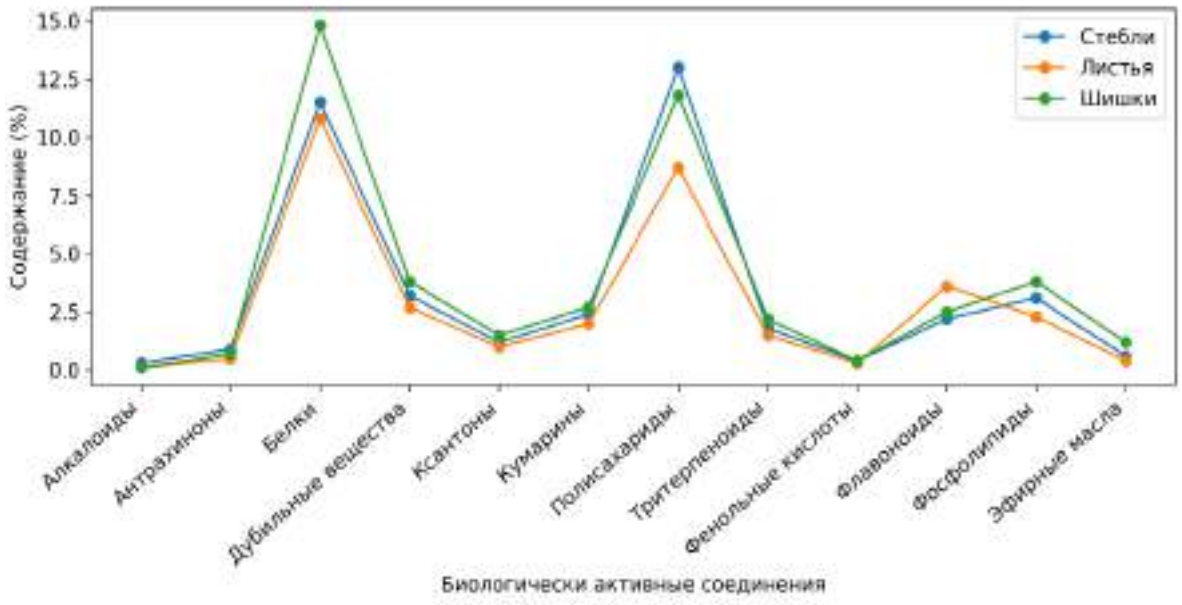


Рисунок 29 - Сравнительное содержание биологически активных соединений в различных органах *Humulus lupulus* L.

На рисунке 30 представлено распределение основных групп биологически активных веществ в различных органах *Humulus lupulus* L. - стеблях, листьях и шишках, выраженное в процентах от общего содержания экстрактивных веществ. Наиболее высокие концентрации всех исследуемых соединений характерны для шишек, что подтверждает их ключевую фармакологическую и биохимическую значимость. Особенно выражено преобладание шишек по содержанию белков (около 15 %), полисахаридов (около 12 %) и фосфолипидов (около 4 %), что существенно превышает соответствующие показатели в листьях и стеблях.

Полисахариды составляют одну из доминирующих фракций во всех органах растения, однако их максимальное содержание зафиксировано в стеблях

(≈13 %) и шишках (≈12 %), тогда как в листьях этот показатель ниже (≈9 %). Белки также широко представлены, особенно в шишках и стеблях.

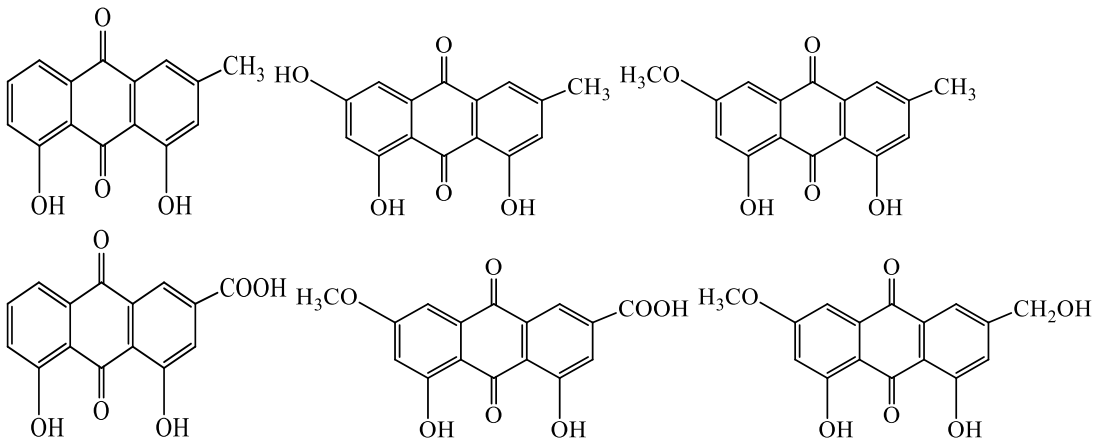
Флавоноиды и фосфолипиды демонстрируют выраженную органоспецифичность: листья характеризуются максимальным уровнем флавоноидов (≈3,5 %), что указывает на их роль в фотозащитных и антиоксидантных механизмах листового аппарата, тогда как фосфолипиды в наибольшем количестве обнаружены в шишках. Тритерпеноиды, кумарины и ксантоны присутствуют во всех органах, однако их концентрации в шишках стабильно выше, что подтверждает их участие в формировании защитных и фармакологически значимых свойств генеративных органов растения. Антрахиноны, фенольные кислоты и эфирные масла выявлены в относительно низких концентрациях (<1–1,5 %), однако их суммарный вклад важен с точки зрения антиоксидантной и антимикробной активности [165].

Анализ графических данных показывает выраженную органоспецифическую дифференциацию биологически активных веществ у *Humulus lupulus* L.: шишки выступают основным аккумулятором фармакологически значимых соединений, листья — источником флавоноидов и фенольных соединений, тогда как стебли характеризуются преобладанием структурных полисахаридов и белков.

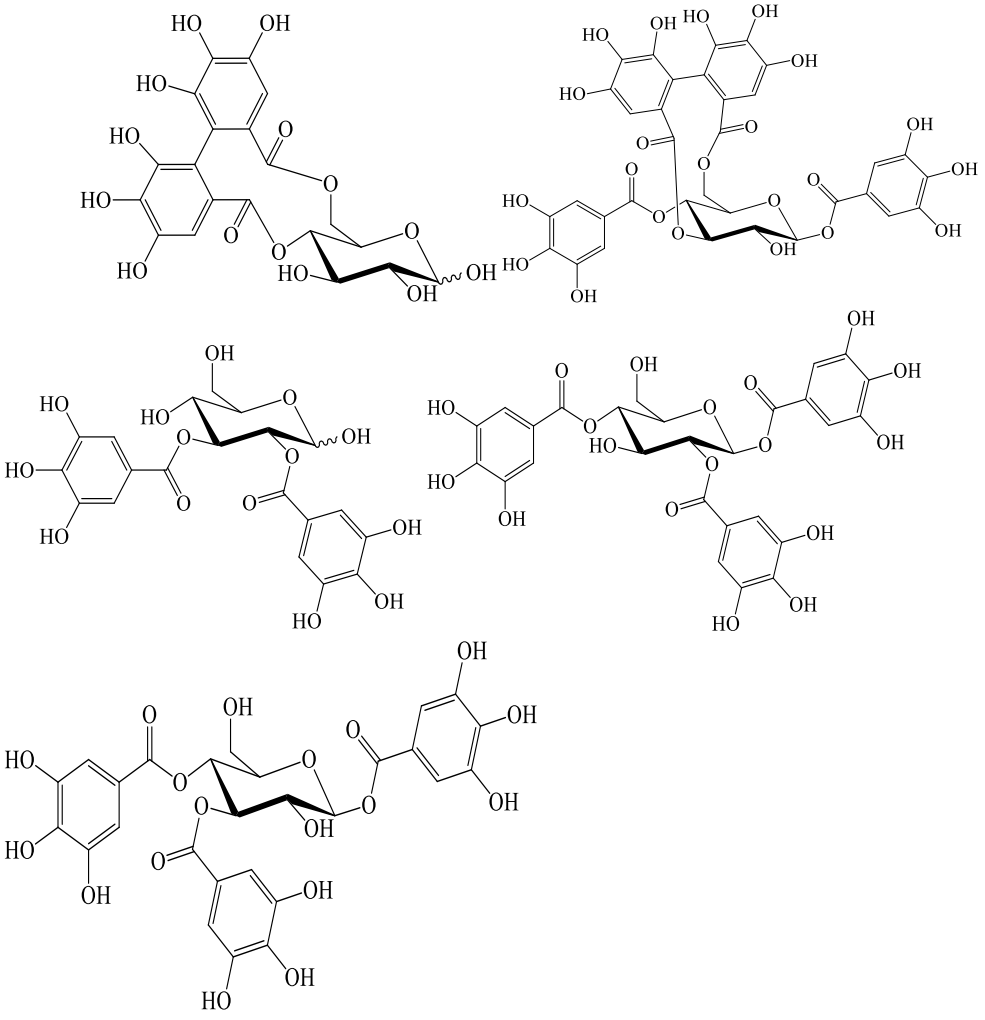


Рисунок 30 — Новые для *Humulus lupulus* L. группы биологически активных веществ (антрахиноны, гидролизуемые дубильные вещества, ксантоны, кумарины, тритерпеноиды и углеводы) и индивидуальные соединения, впервые выявленные в исследуемых образцах.

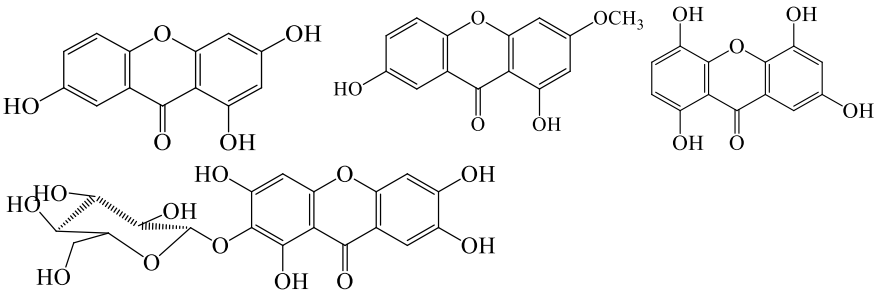
Антрахиноны - ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



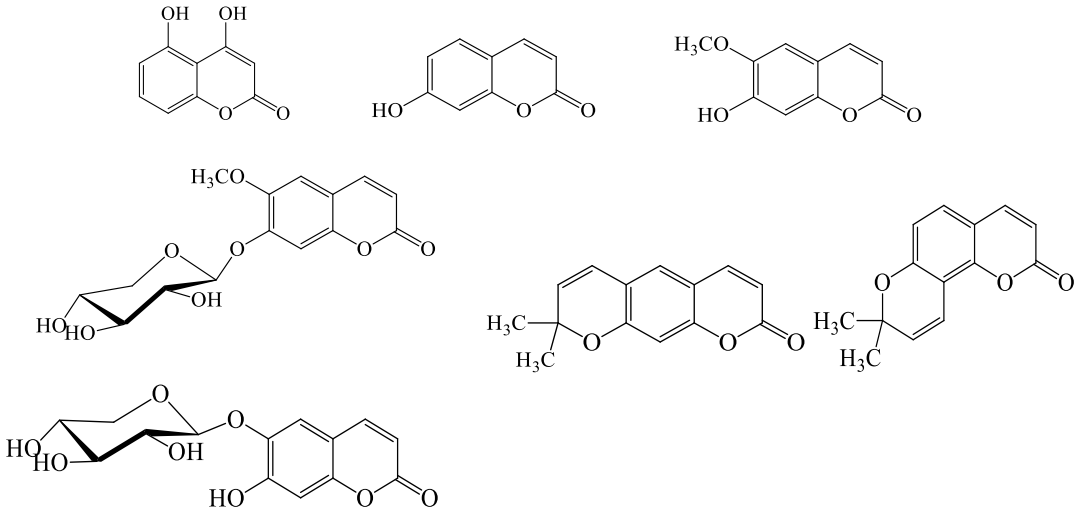
- Дубильные вещества гидролизуемого типа – ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



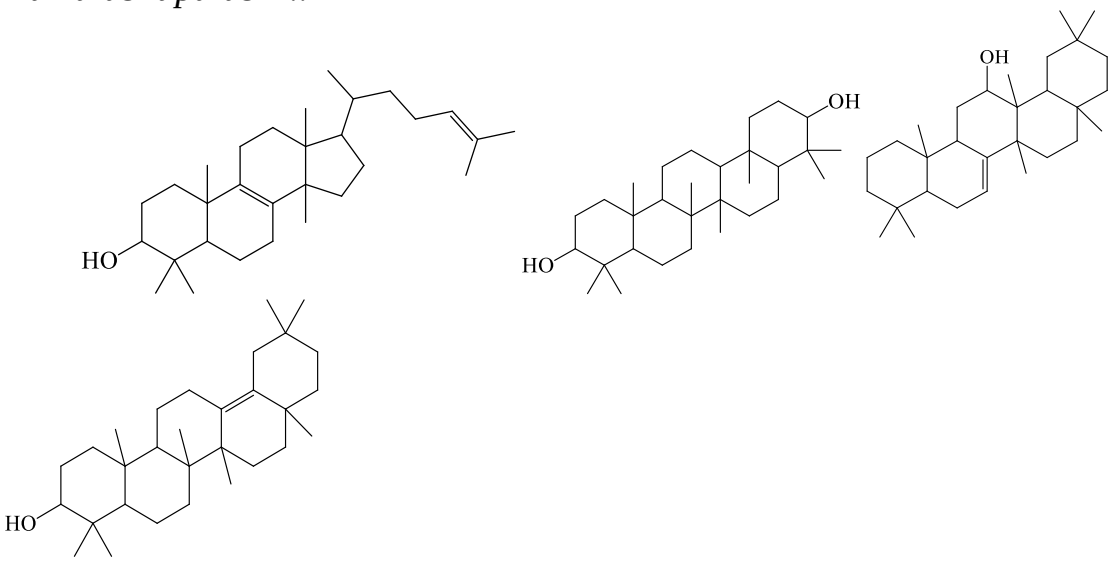
- Ксантоны, ранее не описанные для ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



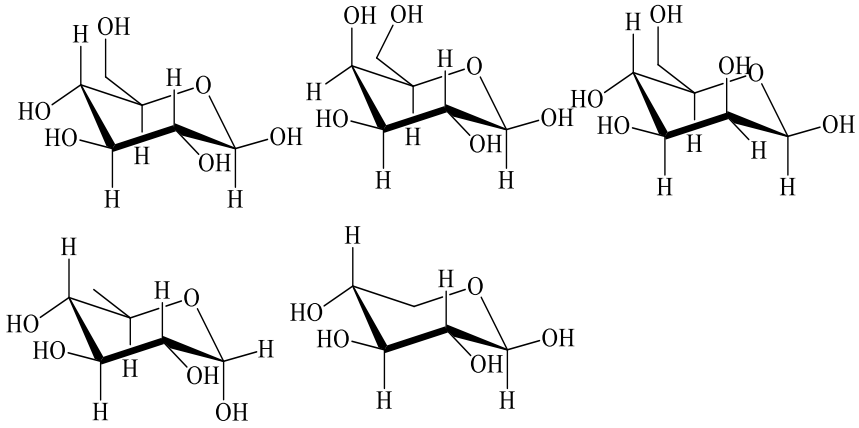
- Кумарины – ранее не описанные для ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



-Тритерпеноиды – ранее не описанные для ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



-Углеводы –ранее не описанные для *Humulus lupulus* L.:



Фитохимическая дифференциация популяций Humulus lupulus L. по данным ВЭЖХ

Для проведения сравнительного анализа флавоноидного состава экстрактов *Humulus lupulus* L., полученных из различных природных популяций, применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием бинарной системы подвижной фазы ацетонитрил – 1% водный раствор уксусной кислоты. Выбор данной системы элюентов обеспечивал стабильное разделение полярных фенольных соединений и позволял получать воспроизводимые хроматографические профили экстрактов хмеля.

В качестве внешнего калибровочного стандарта использовали кверцетин — широко распространённый флавоноид, обладающий выраженной биологической активностью и характерными хроматографическими свойствами. Применение стандартного раствора кверцетина позволило определить параметры удерживания данного соединения и использовать их для достоверной идентификации соответствующих пиков в растительных экстрактах, полученных из образцов популяций г. Алматы, Енбекшиказахского района (Чилик) и Алакольского района.

Анализ хроматограммы стандарта показал наличие чётко выраженного, симметричного и хорошо разрешённого пика при времени удерживания около 23,5 мин, что свидетельствует о стабильной работе хроматографической системы и адекватности выбранных условий элюирования для разделения флавоноидных соединений. Полученные параметры (время удерживания и форма пика) использовали в качестве референтных значений при сопоставлении с хроматограммами растительных образцов и проведении количественных расчётов.

Анализ стандарта кверцетина в системе ацетонитрил – 1 % уксусная кислота являлся ключевым этапом методологии ВЭЖХ, обеспечивающим надёжную идентификацию, корректную валидацию удерживания и количественную оценку данного флавоноида в экстрактах *Humulus lupulus* L. из различных географических регионов.

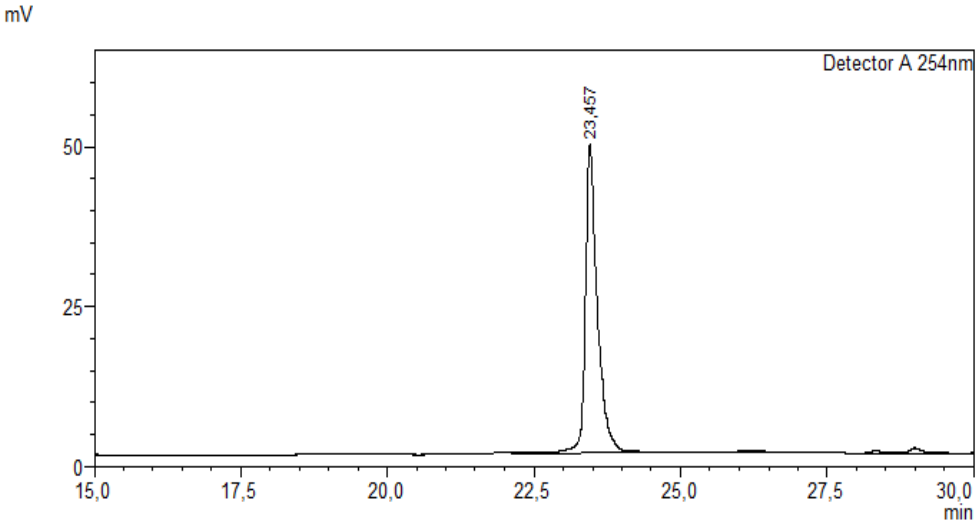


Рисунок 31 – Хроматограмма стандарта Quercetin

Таблица 17 – Результаты ВЭЖХ анализа стандарта

Время удерживания	Площадь	Высота	Концентрация	Единица измерения	Наименование
23,457	737239	48312	59,729	мг/л	Quercetin

Количественные параметры стандарта (таблица 17) подтверждают стабильность аналитической системы и корректность калибровки.

В экстракте хмеля обыкновенного из Алматинского региона был обнаружен пик с временем удерживания 23,355 мин, совпадающим со стандартом кверцетина, что свидетельствует о его присутствии в составе растения.

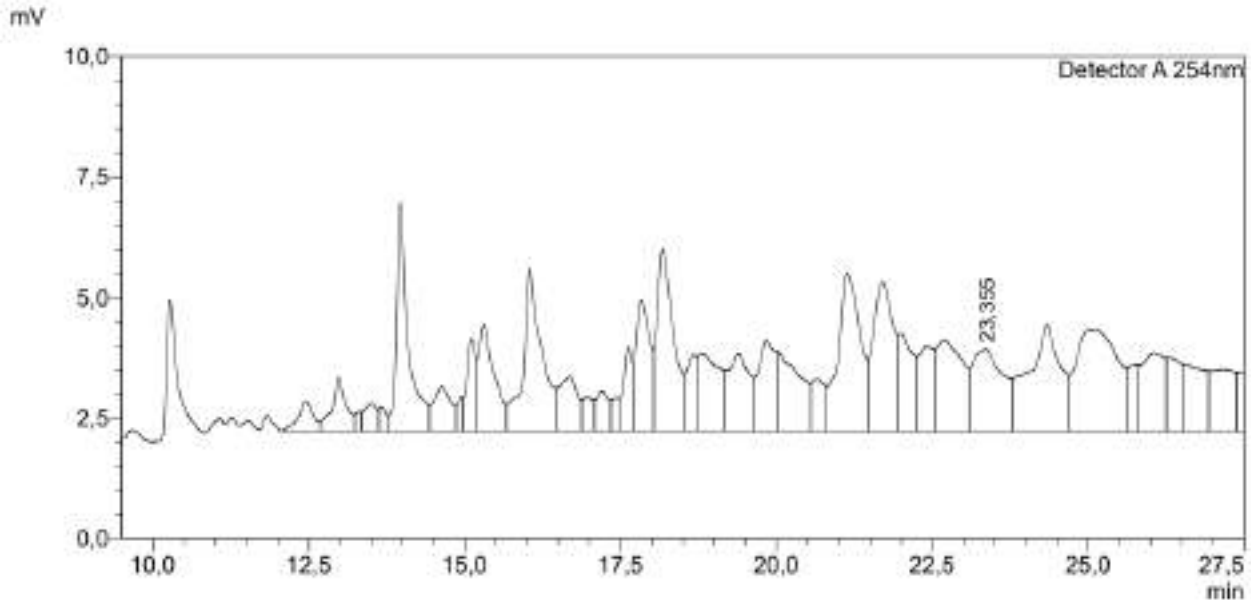


Рисунок 32 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяции г. Алматы

Таблица 18 – Результаты ВЭЖХ-анализа экстракта *Humulus lupulus* L., полученного из образцов популяции г. Алматы

Время удерживания	Площадь	Высота	Концентрация	Единица измерения	Наименование
23,355	157945	1710	4,695	мг/л	Quercetin

Концентрация кверцетина в данном образце составила 4,695 мг/л (таблица 18), что указывает на умеренный уровень накопления данного флавоноида.

Аналогичный хроматографический профиль был получен для экстракта хмеля из Чилика, где пик кверцетина регистрировался при времени удерживания 23,368 мин.

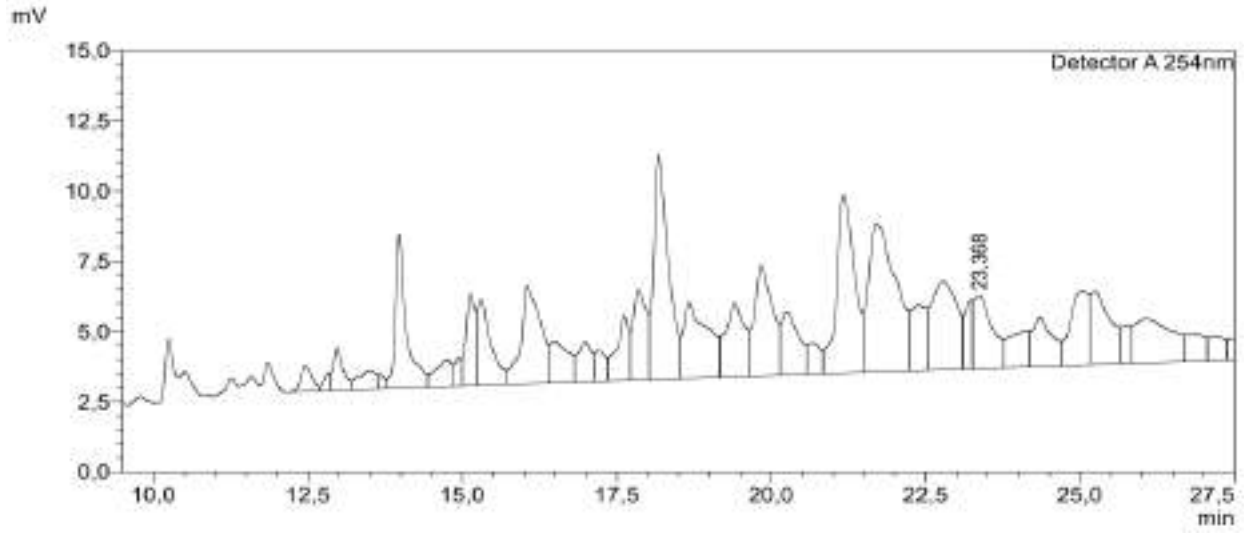


Рисунок 33 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяций Енбекшиказахского района (Чилик)

Таблица 19 – Результаты ВЭЖХ-анализа экстракта *Humulus lupulus* L., полученного из образцов популяций Енбекшиказахского района (Чилик)

Время удерживания	Площадь	Высота	Концентрация	Единица измерения	Наименование
23,368	54852	2605	4,444	мг/л	Quercetin

Содержание кверцетина в этом образце составило 4,444 мг/л (таблица 19), что практически соответствует уровню, выявленному для Алматинской популяции. Наиболее выраженный пик кверцетина был зарегистрирован в экстрактах хмеля, собранных в Алакольском регионе. Время удерживания соединения составило 23,411 мин, что полностью соответствует стандарту.

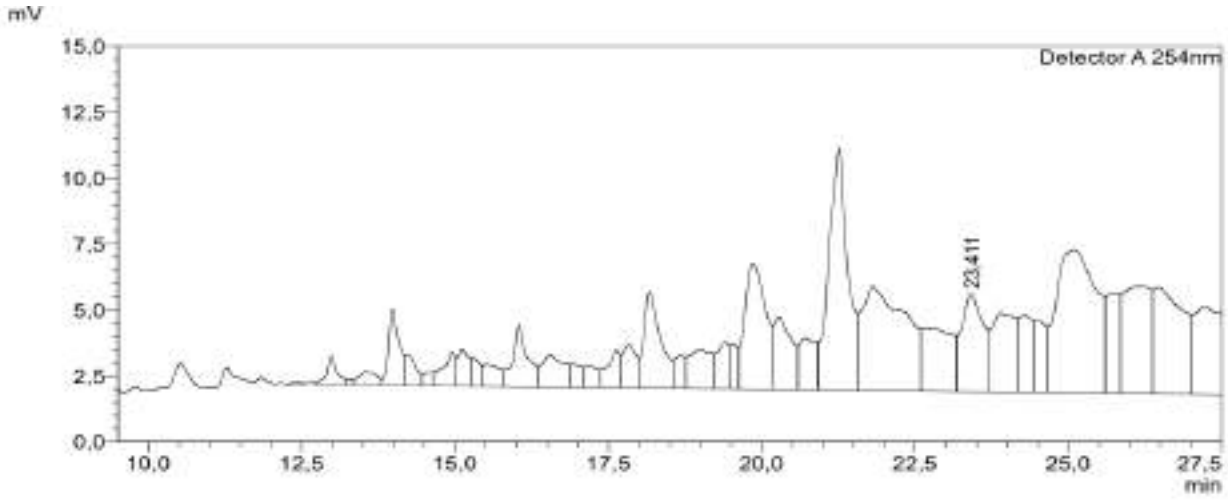


Рисунок 34 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяций Алакольского района

Таблица 20 – Результаты ВЭЖХ-анализа экстракта *Humulus lupulus* L., полученного из образцов популяций Алакольского района

Время удерживания	Площадь	Высота	Концентрация	Единица измерения	Наименование
23,411	91891	9709	7,445	мг/л	Quercetin

Концентрация кверцетина в данном образце достигала 7,445 мг/л (таблица 20), что в 1,6 раза превышает значения, характерные для образцов из Алматы и Чилика. Полученные данные свидетельствуют о выраженной региональной дифференциации флавоноидного состава *Humulus lupulus* L., что наглядно представлено на рисунке 36.

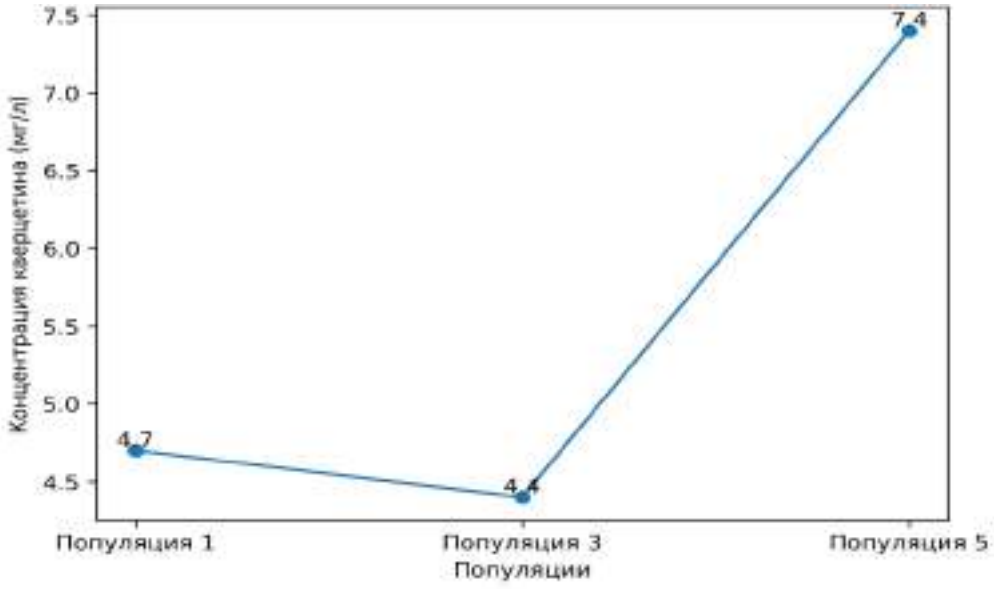


Рисунок 35 - Региональная вариация содержания кверцетина в экстрактах *Humulus lupulus* L. по данным ВЭЖХ

Повышенный уровень кверцетина, зафиксированный в образцах из Алакольского региона, вероятно обусловлен спецификой природных условий данной территории. Высокая интенсивность солнечного излучения, резкие суточные и сезонные колебания температуры, а также особенности почвенного состава могут усиливать биосинтез фенольных соединений, которые выполняют защитную функцию в растительном организме, повышая его устойчивость к стрессовым факторам окружающей среды.

Учитывая выраженную антиоксидантную и противовоспалительную активность кверцетина, популяции *Humulus lupulus* L., произрастающие в Алакольской зоне, представляют особый интерес как потенциальный источник биологически активных флавоноидов для использования в фармакологии, нутрицевтике и биотехнологических разработках.

Результаты ВЭЖХ-анализа не только подтвердили присутствие кверцетина во всех исследованных экстрактах, но и продемонстрировали существенные различия в степени его накопления в зависимости от географического происхождения растений, что является важным показателем фитохимической вариабельности и адаптационного потенциала данного вида.

Фитохимический профиль экстрактов Humulus lupulus L. *по данным газовой хроматографии-масс-спектрометрии*

Газохроматографический анализ с масс-спектрометрическим детектированием позволил получить детализированную картину органического состава экстрактов *Humulus lupulus* L., собранных в различных географических зонах Казахстана. В каждом образце выявлены десятки индивидуальных соединений, относящихся к различным химическим классам: алифатические углеводороды, высшие жирные кислоты и их эфиры, сесквитерпены, тритерпеноиды, фенольные производные и высокомолекулярные спирты. Такая комплексность состава отражает высокую метаболическую активность растений и значительный биохимический потенциал вида.

Экстракт хмеля, полученный из Алматинского региона, характеризуется выраженным преобладанием длинноцепочечных липофильных компонентов. Как видно из таблицы 21 и хроматограммы (рисунок 36), наиболее значимым соединением является тетракозанол-1, доля которого превышает 46%, что указывает на высокое содержание воскообразных фракций и производных высших жирных спиртов. Подобные соединения участвуют в формировании защитных покровов растения и повышают его устойчивость к испарению влаги и неблагоприятным внешним воздействиям.

Помимо липидных компонентов, в экстракте Алматы обнаружены биологически активные терпеноиды, включая α- и β-эудесмол, а также фенольные соединения, такие как 2,4-ди-трет-бутилфенол. Эти вещества обладают выраженной антиоксидантной и противомикробной активностью, что подтверждает функциональную ценность экстракта даже при преобладании липофильных фракций. Дополнительное присутствие сквалена, алифатических альдегидов и кетонов указывает на сложный и многоуровневый характер метаболизма растений данной популяции.

Таблица 21 – Результаты хроматографического анализа экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяции г. Алматы

№	Время удерживания, мин	Соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	11,76	1,6-Octadiene, 2,7-dimethyl-	76	3,14
2	13,30	Butanoic acid, butyl ester	75	0,31
3	14,92	Butanoic acid, 3-methylbutyl ester	79	0,82
4	15,81	2(5H)-Furanone, 5,5-dimethyl-	90	2,72
5	17,00	Nonanal	86	0,36
6	18,34	Undecane, 2-methyl-	73	0,37
7	19,33	Tetrahydrofuran-2-acetic acid ethyl ester	71	1,66
8	21,73	Undecane	73	0,78
9	22,01	Tetradecane	89	0,17
10	22,32	2-Undecanone	83	0,37
11	25,40	2-Hexanol, 2,5-dimethyl-, (S)-	70	0,74
12	26,49	2-Hydroxy-2,5-dimethyl-hept-6-en-3-one	73	0,37
13	27,67	5-Phenylbicyclo [2,2,1] hept-2-ene	74	0,45
14	27,85	Eudesma-4(14),11-diene	88	0,69
15	27,92	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	77	0,39
16	28,85	2,3,3-Trimethyl-2-(4-methylpentanoyl)-cyclopentanone	70	0,98
17	29,27	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	93	2,71
18	30,17	Tetradecanal	86	0,34
19	33,20	α-Eudesmol	72	2,18
20	33,33	β-Eudesmol	70	3,34
21	35,79	Eicosane	72	0,67
22	37,71	Hexadecanoic acid	81	3,88
23	37,93	Isopropyl palmitate	70	0,74
24	40,96	Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-	72	1,51
25	41,09	Dibutyl phthalate	90	3,28
26	41,33	Heneicosane	86	1,50
27	47,74	Hexacosane	91	4,08
28	49,62	Tetracosanol-1	96	46,81
29	49,81	Diisooctyl phthalate	82	3,27
30	51,86	Squalene	95	8,59
31	56,64	Androstane-17,19-diol, 3,3-ethylenedioxy-4,4-dimethyl-	69	2,79

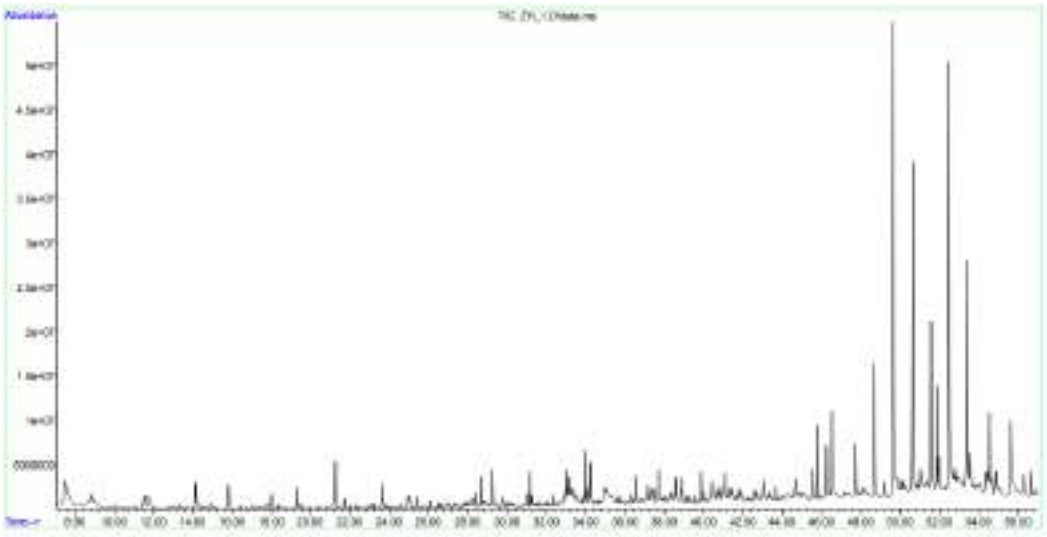


Рисунок 36 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяции г. Алматы

Химический профиль экстракта из образцов популяций Енбекшиказахского района (Чилик) отличается от алматинских более высоким терпеновым разнообразием (таблица 22, рисунок 37). В его составе, помимо длинноцепочечных спиртов и углеводородов, выявлены сесквитерпены и их кислородсодержащие производные (γ-муролен, α-селинен, β-эудесмол, кубенол, спатуленол), что свидетельствует об активном вторичном метаболизме и адаптивных защитных механизмах растения.

Высокое содержание октакозанола, тетракозанола и эудесмолов свидетельствует о значительной представленности алифатических спиртов и терпеновых компонентов в составе исследуемого экстракта. Выявление глобулола, агароспирола и фитола дополнительно характеризует разнообразие его липофильной фракции и расширяет спектр идентифицированных соединений. В совокупности полученные данные демонстрируют региональные особенности химического профиля *Humulus lupulus* L. и позволяют предположить влияние эколого-географических условий произрастания на качественный и количественный состав вторичных метаболитов исследуемых популяций.

Таблица 22 – Результаты хроматографического анализа экстракта Хмеля обыкновенного из Чилика

№	Время удерживания, мин	Соединения	Вероятность идентификаци, %	Процентное содержание, %
1	11,76	1,6-Octadiene, 2,7-dimethyl-	75	1,90
2	13,30	Butanoic acid, butyl ester	67	0,45
3	13,43	Undecane	83	0,45

Продолжение таблицы 22

4	14,92	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester	79	0,63
5	15,81	2(5H)-Furanone, 5,5-dimethyl-	89	1,14
6	16,39	Dodecane	86	0,32
7	17,00	Nonanal	81	0,16
8	19,33	Tetrahydrofuran-2-acetic acid ethyl ester	71	0,98
9	19,50	Dodecane, 2,7,10-trimethyl-	83	0,64
10	22,01	Tetradecane	88	0,22
11	22,33	2-Undecanone	88	0,45
12	22,98	4-Decenoic acid, methyl ester	87	0,16
13	23,28	Heptadecane	85	0,29
14	23,52	Benzaldehyde, 2,5-dimethyl-	86	0,22
15	24,62	Pentadecane	86	0,42
16	25,40	2-Hexanol, 2,5-dimethyl-, (S)-	68	0,76
17	27,09	Hexadecane	86	0,36
18	27,22	2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	90	0,78
19	27,37	γ-Muurolene	89	0,95
20	27,46	2-Tridecanone	93	0,68
21	27,67	5-Phenylbicyclo[2,2,1]hept-2-ene	70	0,35
22	27,86	Eudesma-4(14),11-diene	94	6,16
23	28,00	α-Selinene	93	4,17
24	28,66	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl-	80	1,91
25	29,05	(-)-Spathulenol	74	0,42
26	29,27	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	92	2,33
27	29,61	Cadina-1,3,5-triene	87	0,26
28	29,99	Heneicosane	84	0,40
29	31,60	3-Oxabicyclo[5,3,0]decan-2-one, 9-isopropylidene-, trans-	68	0,12
30	32,10	Globulol	73	0,58
31	32,50	γ-Eudesmol	75	0,51
32	32,78	Agarospirol	82	1,02
33	33,12	2-methyltetracosane	83	2,77
34	33,21	α-Eudesmol	91	3,32
35	33,34	β-Eudesmol	78	5,57
36	33,77	Nonadecane	89	1,37
37	35,79	Eicosane	83	0,67
38	36,57	6-(3,3-Dimethyl-oxiran-2-ylidene)-5,5-dimethyl-hex-3-en-2-one	66	1,59
39	37,48	Cubenol	70	4,23
40	37,70	Hexadecanoic acid	88	3,01
41	39,74	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester	67	0,34
42	39,86	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	81	1,07

Продолжение таблицы 22

43	40,11	Phytol	78	0,73
44	40,31	4,4,8 Trimethyltricyclo[6,3,1,0(1,5)]dodecane-2,9-diol	79	0,98
45	41,09	Dibutyl phthalate	89	1,54
46	41,33	Heneicosane	90	1,00
47	43,02	Tetracosane	77	1,43
48	45,57	Octadecanal	86	2,10
49	45,92	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	79	0,26
50	46,24	1-Heptatriacotanol	70	2,13
51	49,61	Tetracosanol-1	95	23,75
52	49,81	Diisooctyl phthalate	79	1,10
53	51,86	Squalene	94	2,69
54	55,60	Octacosanol	92	8,17

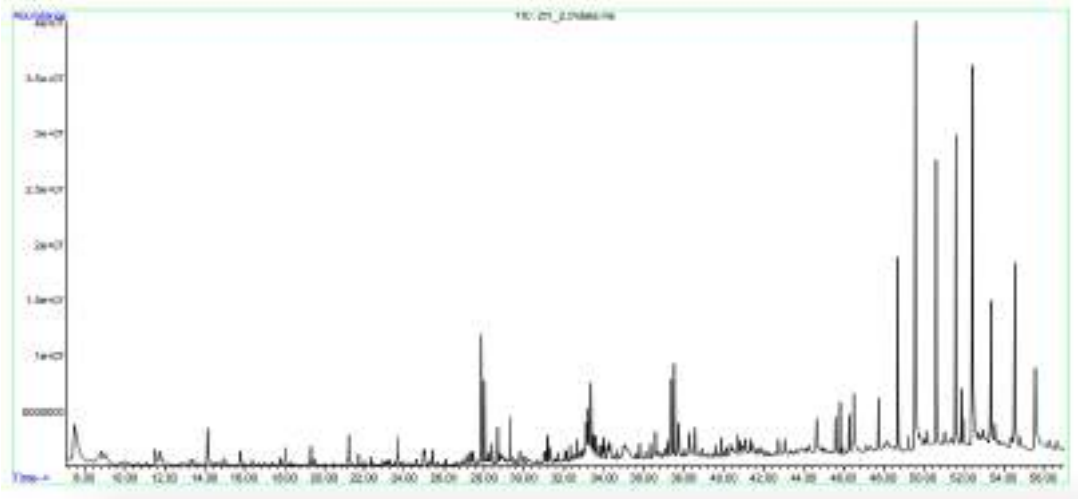


Рисунок 37 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяций Енбекшиказахского района (Чилик)

Наиболее богатый и сложный химический состав выявлен в экстракте хмеля из Алакольского региона (таблица 23, рисунок 38). Этот образец отличается высокой концентрацией биологически активных терпенов и тритерпеноидов. Особо следует отметить высокие уровни α-амирина, лупеола, сквалена, β-эудесмена и α-селинена - соединений, которые широко исследуются в фармакологии благодаря их противовоспалительным, антиоксидантным, противомикробным и цитопротекторным свойствам. Присутствие карьофиллена, гумулена и их окисленных форм указывает на развитую эфирномасличную фракцию, характерную для высокоадаптированных популяций, произрастающих в условиях повышенной солнечной радиации и климатического стресса. Кроме того, обнаружение длинноцепочечных спиртов и жирных кислот свидетельствует о структурной стабильности клеточных мембран и кутикулы растений.

Таблица 23 – Результаты хроматографического анализа экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяций Алакольского района

№	Время удерживания, мин	Соединения	Вероятность идентификации, %	Процентное содержание, %
1	12,28	β-Myrcene	86	1,80
2	13,44	Undecane	88	0,51
3	14,92	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-methylbutyl ester	81	0,72
4	15,81	2(5H)-Furanone, 5,5-dimethyl-	89	1,40
5	16,40	Dodecane	86	0,49
6	17,00	Nonanal	89	0,60
7	19,33	Tetrahydrofuran-2-acetic acid ethyl ester	91	1,70
8	20,46	2-Propenal, 3-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	80	0,43
9	21,73	Undecane, 2,7-dimethyl-	69	1,22
10	22,01	Tetradecane	89	0,18
11	22,33	2-Undecanone	92	0,90
12	23,28	Hexadecane	89	0,31
13	23,52	Benzaldehyde, 2,5-dimethyl-	91	0,52
14	25,42	2-Heptanol, 2-methyl-	68	1,36
15	25,66	Caryophyllene	94	1,97
16	26,08	Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)-, acetate	75	0,40
17	26,87	Humulene	91	0,71
18	27,09	Hexadecane	87	0,42
19	27,37	γ-Muurolene	84	0,68
20	27,46	2-Tridecanone	93	0,79
21	27,86	β-Eudesmene	94	6,50
22	28,00	α-Selinene	93	6,41
23	28,67	Heptadecane, 2,6,10,15-tetramethyl-	78	2,06
24	28,79	β-Gurjunene	86	1,36
25	28,89	Octadecane, 1-chloro-	66	0,77
26	29,27	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-	92	1,31
27	29,81	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl-	76	1,36
28	31,61	Caryophyllene oxide	91	1,27
29	32,57	Spathulenol	80	1,00
30	33,12	2-methylhexacosane	83	2,46
31	33,21	α-Eudesmol	91	3,15
32	33,34	β-Eudesmol	86	3,57
33	35,62	Benzene, (1-ethylundecyl)-	72	0,25
34	36,57	Benzene, (1-methyldodecyl)-	88	1,19

Продолжение таблицы 23

35	37,16	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl-	82	1,03
36	37,70	Hexadecanoic acid	86	3,00
37	39,87	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	74	1,67
38	40,11	Phytol	88	1,15
39	40,96	Hexadecane, 2,6,11,15-tetramethyl-	69	1,40
40	41,04	Dibutyl phthalate	91	0,49
41	42,21	Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate	72	0,20
42	45,92	4,8,12,16-Tetramethylheptadecan-4-olide	86	0,50
43	46,23	1-Heptatriacotanol	71	1,78
44	46,53	Behenic alcohol	93	9,50
45	47,73	Heptacosane	89	3,04
46	49,81	Diisooctyl phthalate	78	2,54
47	51,86	Squalene	95	5,87
48	55,46	α-Amyrin	90	9,90
49	55,80	Lupeol	84	8,18



Рисунок 38 – Хроматограмма экстракта Хмеля обыкновенного полученного из образцов популяций Алакольского района

Результаты ГХ–МС-анализа показали, что экстракты *Humulus lupulus* L. обладают сложным многокомпонентным составом, включающим алифатические углеводороды, жирные кислоты и спирты, а также терпеновые и фенольные соединения. Установлена выраженная региональная вариабельность их качественного и количественного состава, отражающая специфику вторичного метаболизма.

Экстракты Алматинской популяции характеризуются преобладанием липидной фракции (длинноцепочечные спирты и жирные кислоты),

выполняющей структурно-защитные функции. В образцах из Чилика отмечается более сбалансированное соотношение липидных и терпеновых компонентов, что свидетельствует об активизации защитных метаболических процессов. Наиболее выраженная биохимическая специализация выявлена у Алакольской популяции. В её экстрактах зафиксированы высокие концентрации тритерпеноидов и терпенов, включая α-амирин, лупеол, сквален и β-эудесмен, которые синтезируются по изопреновому пути и относятся к классу соединений с выраженной антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностью. Такое распределение указывает на интенсивную работу защитных и регуляторных метаболических механизмов у растений данной популяции.

Сравнительные различия в накоплении ключевых биологически активных соединений между региональными популяциями *Humulus lupulus* L. наглядно представлены на рисунке 40.

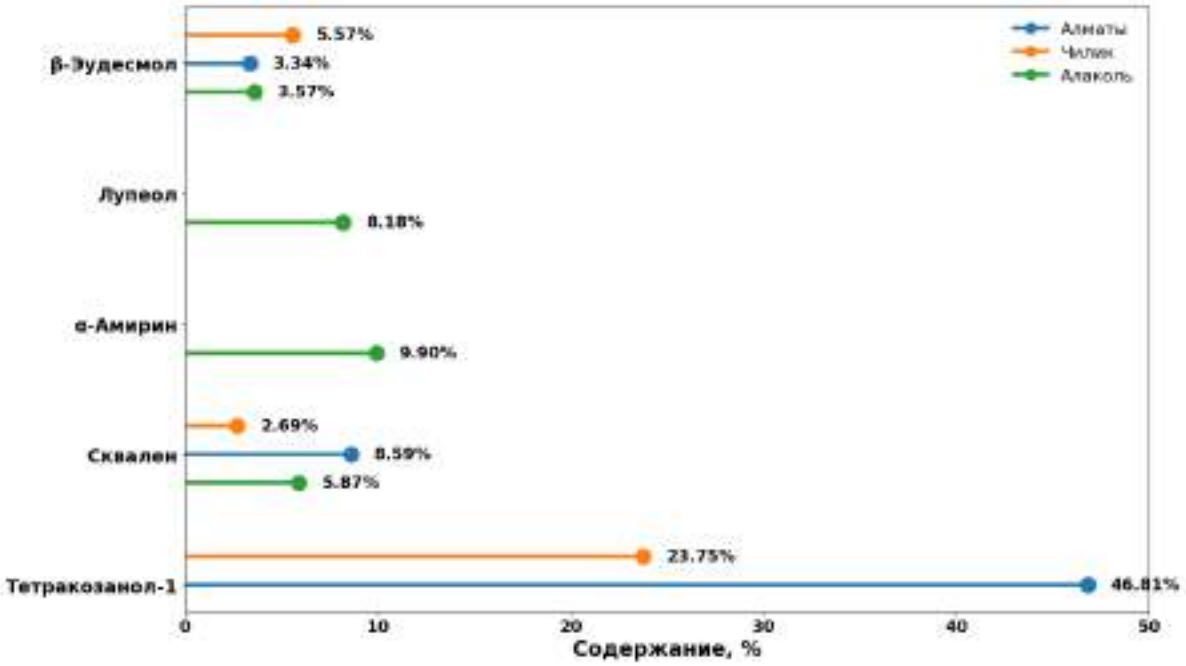


Рисунок 39 — Сравнительное содержание ключевых биологически активных соединений (tetracosan-1-ol, squalene, α-amyrin, lupeol, β-eudesmol) в экстрактах *Humulus lupulus* L., полученных из образцов популяций г. Алматы, Енбекшиказахского района (Чилик) и Алакольского района, по данным ГХ-МС.

Алакольская популяция характеризуется наибольшим содержанием тритерпеноидов и терпеновых соединений, тогда как образцы из Алматы отличаются преобладанием липидных компонентов, а Чилик занимает промежуточное положение, что свидетельствует о геохимической дифференциации популяций и их адаптации к различным условиям среды. Результаты ГХ–МС-анализа подтверждают значительное влияние географического фактора на фитохимический профиль *Humulus lupulus* L., при этом Алакольская популяция может рассматриваться как перспективный

источник биологически активных терпенов для фармакологических и фитохимических исследований.

3.3 Антимикробная и фунгицидная активность экстрактов *Humulus lupulus* L.

Результаты тестирования антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. методом двукратных серийных разведений в отношении музейных микроорганизмов представлены в таблице 1 и рисунках 3-5. Результаты оценки антимикробной активности водного экстракта *Humulus lupulus* L. демонстрируют, что данный экстракт обладает фунгидицным действием в отношении штамма *Candida albicans* ATCC 10231 в концентрации равной 1250 мкг/мл. (Рисунок 40)

Таблица 24 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L.

Тест-штамм	Минимальная бактерицидная/фунгицидная концентрация, мкг/мл M±StD
C.albicans ATCC 10231	1250±0,0
S. aureus ATCC 6538-P	Не определена
E.coli ATCC 8739	Не определена



повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 40 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus L.* в отношении *Candida albicans* ATCC 10231

Антимикробный эффект для штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P и *Escherichia coli*.

ATCC 8739 проявляется в бактериостатическом эффекте при концентрациях равных 5000 мкг/мл и 2500 мкг/мл. (Рисунки 41, 42)

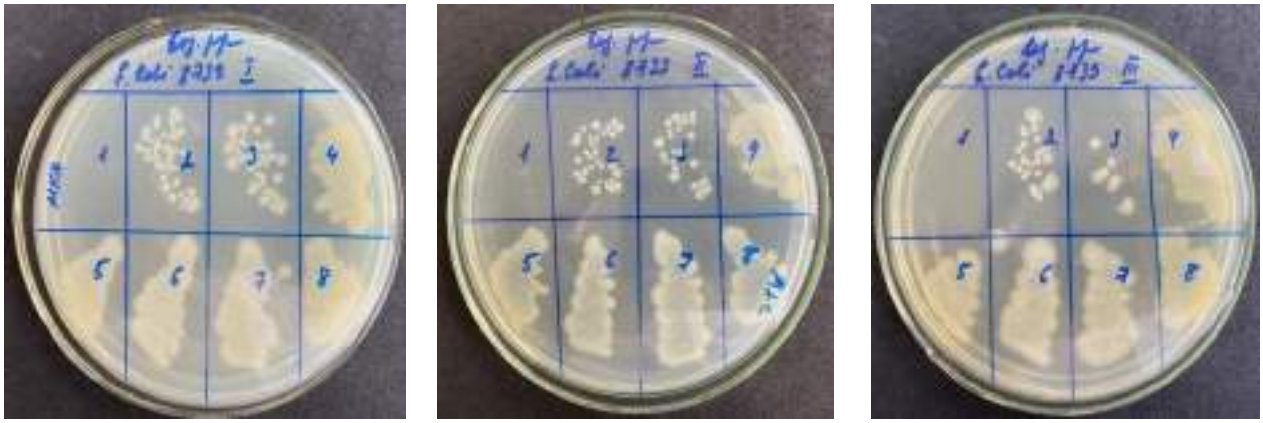
Первые ячейки, характеризующиеся отсутствием роста данных двух тест-штаммов, не учитывается по причине антимикробной активности использованного в эксперименте растворителя ДМСО (рисунок 43).

Полученные в ходе исследования данные по оценке антимикробной активности сухого водного экстракта *Humulus lupulus* L. свидетельствуют о наличии данной активности. Наибольший эффект экстракт проявляет в отношении штамма дрожжей *Candida albicans* ATCC 10231.



повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 41 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus L.* в отношении *S. aureus* ATCC 6538-P



повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 42 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого водного экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. в отношении *E. coli* ATCC 8739



а **б** **в**

Рисунок 43– Контроль растворителя ДМСО

(ячейка 1 – соотношение МХБ: ДМСО = 1:1; ячейка 2 – 1:2; ячейка 3 – 1:4; ячейка 4 –1:16)

а – *C. albicans* АТСС 10231; б – *S. aureus* АТСС 6538-Р; в – *E. coli* АТСС 8739

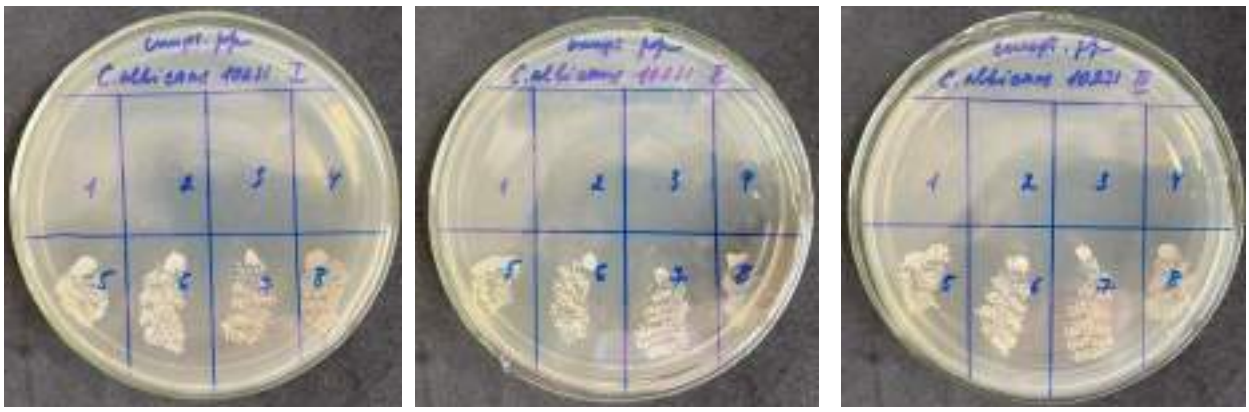
На культуры золотистого стафилокка и кишечной палочки водный экстракт *Humulus lupulus* L. не оказывает бактерицидного эффекта, однако следует заметить бактериостатический эффект в отношении *S. aureus* АТСС 6538-Р в двух исследуемых концентрациях (5000 мкг/мл; 2500 мкг/мл). Наличие бактериостатического эффекта в отношении кишечной палочки, показанного в чашках Петри, обусловлено эффектом растворителя ДМСО.

Результаты тестирования антимикробной активности сухого 50 %-ного водноспиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus L.* методом двукратных серийных разведений в отношении музейных микроорганизмов представлены в таблице 25 и рисунках 44-46.

Таблица 25 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого 50%-ного водно-спиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L.

Тест-штамм	Минимальная бактерицидная/фунгицидная концентрация, мкг/мл M±StD
C.albicans АТСС 10231	1250±0,0
S. aureus АТСС 6538-Р	5000±0,0
E. coli АТСС 8739	Не определена

Результаты оценки антимикробной активности 50%-ного водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. показали наличие выраженного фунгицидного действия в отношении тест-штамма *Candida albicans* АТСС 10231. Полное подавление жизнеспособности микроорганизма отмечено при концентрации экстракта 1250 мкг/мл, что свидетельствует о его противогрибковой активности (рисунок 44).



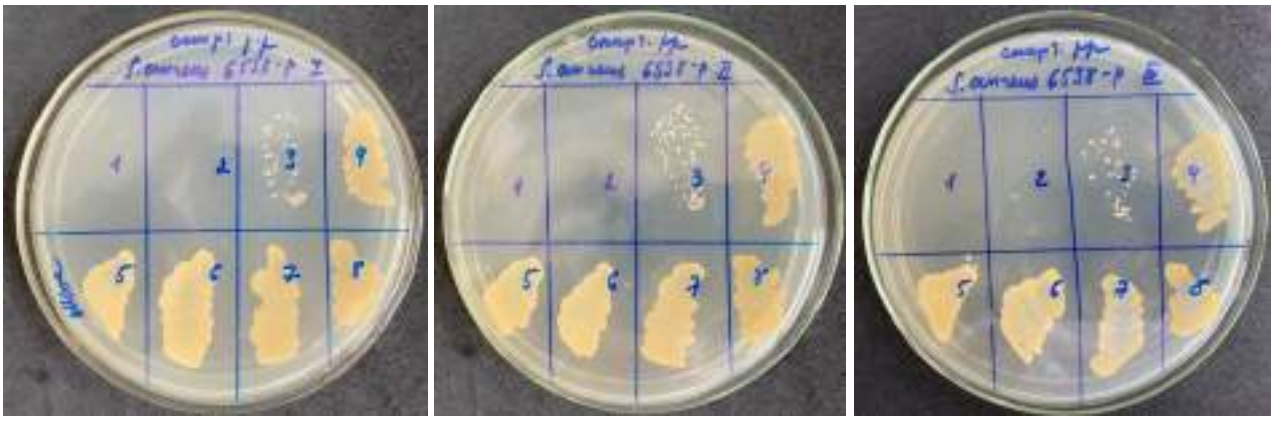
повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 44 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого 50 %-ного водно-спиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. в отношении *C. albicans* АТСС 10231

Минимальная бактерицидная концентрация в отношении штамма *S. aureus* АТСС 6538-Р составила 5000 мкг/мл. Концентрация экстракта, равная 2500 мкг/мл оказывает бактериостатический эффект, наблюдается редуцирование роста тест-штамма (рисунок 45).

Эффект экстракта по отношению к *E. coli* АТСС 8739 проявляется также в бактериостатическом эффекте при концентрациях равных 5000 мкг/мл и 2500 мкг/мл. (рисунок 46).

Первая ячейка, характеризующаяся отсутствием роста тест-штамма, не учитывается по причине антимикробной активности использованного в эксперименте растворителя ДМСО (рисунок 47).



повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 45 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого 50 %-ного водно-спиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. в отношении *S. aureus* АТСС 6538-Р



повтор 1 **повтор 2** **повтор 3**

Рисунок 46 – Результаты тестирования антимикробной активности сухого 50 %-ного водно-спиртового экстракта Хмеля обыкновенного *Humulus lupulus* L. в отношении *E. coli* АТСС 8739



а **б** **в**

Рисунок 47 – Контроль растворителя ДМСО

(ячейка 1 – соотношение МХБ: ДМСО = 1:1; ячейка 2 – 1:2; ячейка 3 – 1:4; ячейка 4 –1:16)

а – *C. albicans* АТСС 10231; б – *S. aureus* АТСС 6538-Р; в – *E. coli* АТСС 8739

Полученные в ходе исследования данные по оценке антимикробной активности сухого 50 %-ного водно-спиртового экстракта *Humulus lupulus* L. свидетельствуют о наличии данной активности. Выявленный эффект, вероятно, обусловлен присутствием в экстракте комплекса биологически активных соединений, включая флавоноиды и горькие кислоты, обладающие антимикробными свойствами. Наибольший эффект экстракт проявляет в отношении штамма дрожжей *C. albicans* АТСС 10231 (1250 мкг/мл) и золотистого стафилококка *S. aureus* АТСС 6538-Р (5000 мкг/мл). Полученные результаты подтверждают селективный характер антимикробного действия экстракта в отношении грамположительных микроорганизмов и грибов.

На культуру кишечной палочки экстракт *Humulus lupulus* L. не оказывает бактерицидного эффекта, наличие бактериостатического эффекта, показанного в чашках Петри, обусловлено бактериостатическим эффектом растворителя ДМСО.

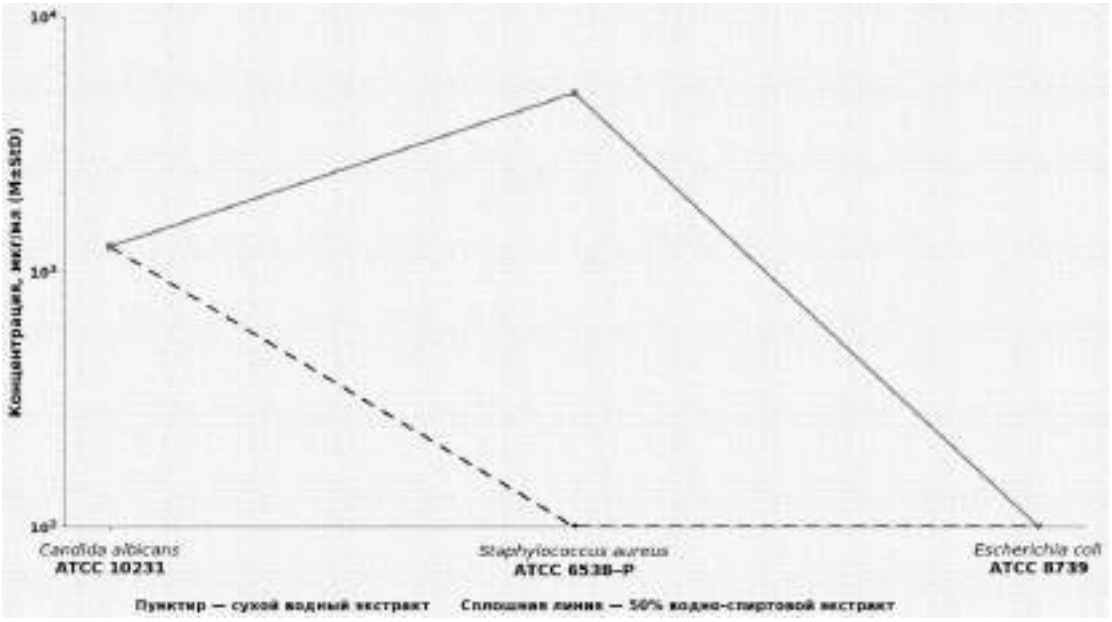


Рисунок 48 - Сравнительная антимикробная активность водного и 50 % водно-спиртового экстрактов *Humulus lupulus* L.

Сравнительный анализ показал, что антимикробная активность экстрактов *Humulus lupulus* L. существенно зависела от полярности используемого экстрагента. Водный экстракт характеризовался низким уровнем биологической активности и проявлял лишь слабое ингибирующее действие в отношении *Staphylococcus aureus*, при отсутствии выраженного фунгицидного эффекта против *Candida albicans* и полной резистентности *Escherichia coli*.

В отличие от него, 50 % водно-спиртовой экстракт продемонстрировал выраженную биологическую активность: в отношении *Candida albicans* установлена фунгицидная активность при MFC = 1250 мкг/мл, а в отношении *Staphylococcus aureus* - бактерицидная активность при MBC = 5000 мкг/мл. Отсутствие эффекта в отношении *Escherichia coli* сохранялось независимо от типа экстракта.

Полученные данные коррелируют с результатами фитохимического анализа. Согласно данным ВЭЖХ и ГХ-МС, водно-спиртовой экстракт характеризуется более высоким содержанием фенольных соединений, флавоноидов и других вторичных метаболитов, обладающих антимикробным потенциалом. Этанол обеспечивает более эффективную экстракцию соединений средней полярности, включая флавоноиды и фенольные кислоты, что повышает биологическую активность экстракта.

Устойчивость *Escherichia coli* может быть обусловлена структурными особенностями клеточной стенки грамотрицательных бактерий, в частности наличием наружной липополисахаридной мембраны, ограничивающей проникновение гидрофобных и высокомолекулярных соединений. Подобные результаты описаны и в литературных источниках, где отмечается более высокая чувствительность грамположительных бактерий к растительным экстрактам по сравнению с грамотрицательными.

Сравнение с опубликованными данными свидетельствует о том, что экстракты хмеля проявляют преимущественную активность в отношении грамположительных микроорганизмов, что связывают с присутствием ксантогумола, изо-альфа-кислот и фенольных соединений. В контексте полученных результатов можно предположить, что выраженный эффект 50 % водно-спиртового экстракта обусловлен синергическим действием комплекса вторичных метаболитов.

С учётом полученных данных можно заключить, что выбор экстрагента является определяющим фактором антимикробной эффективности, а водно-спиртовые экстракты *Humulus lupulus* L. представляют наибольший интерес для дальнейших фармакологических исследований.

3.4 Молекулярно-генетическая характеристика образцов *Humulus lupulus* L. из исследованных популяций

В ходе экспедиционных исследований 2024 г. были собраны образцы *Humulus lupulus* L. из трех географически разобщенных природных популяций юго-востока Казахстана, расположенных в Енбекшиказахском районе, г. Алматы и Алакольском районе. Для молекулярно-генетического анализа из собранного материала были отобраны три образца, характеризующиеся наилучшим качеством и концентрацией выделенной ДНК. Для каждого отобранного образца были зафиксированы географические координаты места сбора и присвоен индивидуальный код. Молекулярно-генетическую характеристику исследованных образцов проводили с использованием ядерного и хлоропластных ДНК-маркеров. В качестве ядерного маркера использовали регион *ITS*, а в качестве хлоропластных маркеров — кодирующие гены *matK* и *rbcL*, а также межгенный спейсер *psbA–trnH*. Применение комплекса ядерного и хлоропластных маркеров позволило провести молекулярную идентификацию исследованных образцов и оценить их филогенетическое положение.

Полученные нуклеотидные последовательности были депонированы в международной базе данных GenBank (NCBI) с присвоением уникальных номеров доступа. Сведения о происхождении исследованных образцов, координатах мест сбора и номерах доступа представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Происхождение образцов *Humulus lupulus* L., использованных для молекулярно-генетического анализа, и номера доступа нуклеотидных последовательностей в базе данных GenBank

Код образца	Вид	Место происхождения	Координаты, N, E	Год сбора	*ITS*	*matK*	*rbcL*	*psbA–trnH*
HL_Shilik_KZ	*Humulus lupulus* L.	Енбекшиказахский район	43.45305556 N, 77.17805556 E	2024	PZ231314	PZ281568	PZ281571	PZ281574
HL_Almaty_KZ	*Humulus lupulus* L.	г. Алматы	43.84250000 N, 78.46833333 E	2024	PZ231315	PZ281569	PZ281572	PZ281575
HL_Alakol_KZ	*Humulus lupulus* L.	Алакольский район	46.23805556 N, 81.02861111 E	2024	PZ231316	PZ281570	PZ281573	PZ281576

В результате секвенирования трех исследованных образцов *Humulus lupulus* L. были получены последовательности четырех маркерных участков ДНК: *ITS*, *matK*, *rbcL* и *psbA–trnH*. Всего в базе данных GenBank зарегистрировано 12 нуклеотидных последовательностей — по три последовательности для каждого исследованного маркера. Для образцов из Енбекшиказахского района, г. Алматы и Алакольского района последовательностям ITS присвоены номера доступа PZ231314–PZ231316, matK — PZ281568–PZ281570, rbcL — PZ281571–PZ281573 и psbA–trnH — PZ281574–PZ281576 соответственно.

Нуклеотидные последовательности, полученные в результате прямого и обратного секвенирования каждого амплифицированного участка ДНК, выравнивали и объединяли с формированием консенсусных последовательностей с использованием программного обеспечения SeqMan (DNASTAR, USA). На этапе редактирования удаляли концевые участки, соответствующие последовательностям праймеров, а также фрагменты с низкими показателями качества секвенирования.

Таксономическую принадлежность полученных последовательностей предварительно оценивали путем их сопоставления с референсными последовательностями, представленными в базе данных GenBank (NCBI), с использованием алгоритма BLAST. Результаты сравнительного анализа подтвердили принадлежность исследованных образцов к виду *Humulus lupulus* L.

Для оценки филогенетического положения исследованных образцов анализ проводили раздельно для последовательностей ядерного рибосомального региона ITS и хлоропластных маркеров matK, rbcL и psbA–trnH. Такой подход позволил независимо оценить филогенетический сигнал ядерных и пластидных участков ДНК. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли с использованием алгоритма MUSCLE. Филогенетическую реконструкцию осуществляли байесовским методом в программе MrBayes 3.1.23.

Для каждого набора данных проводили два независимых анализа, каждый из которых включал четыре цепи Маркова (Markov Chain Monte Carlo, MCMC). Анализ выполняли в течение 10 млн поколений с сохранением деревьев через каждые 100 поколений. Первые 25 % полученных деревьев исключали как период разогрева (burn-in), а оставшиеся использовали для построения консенсусного дерева по правилу большинства (majority-rule consensus tree). Надёжность сформированных клад оценивали по значениям апостериорной вероятности (posterior probability, PP).

Для укоренения филогенетических деревьев в качестве внешней группы (outgroup) использовали *Aphananthe aspera* (Thunb.) Planch., что позволило определить положение исследуемых образцов *Humulus lupulus* L. относительно внешнего таксона.

Филогенетический анализ региона *ITS*

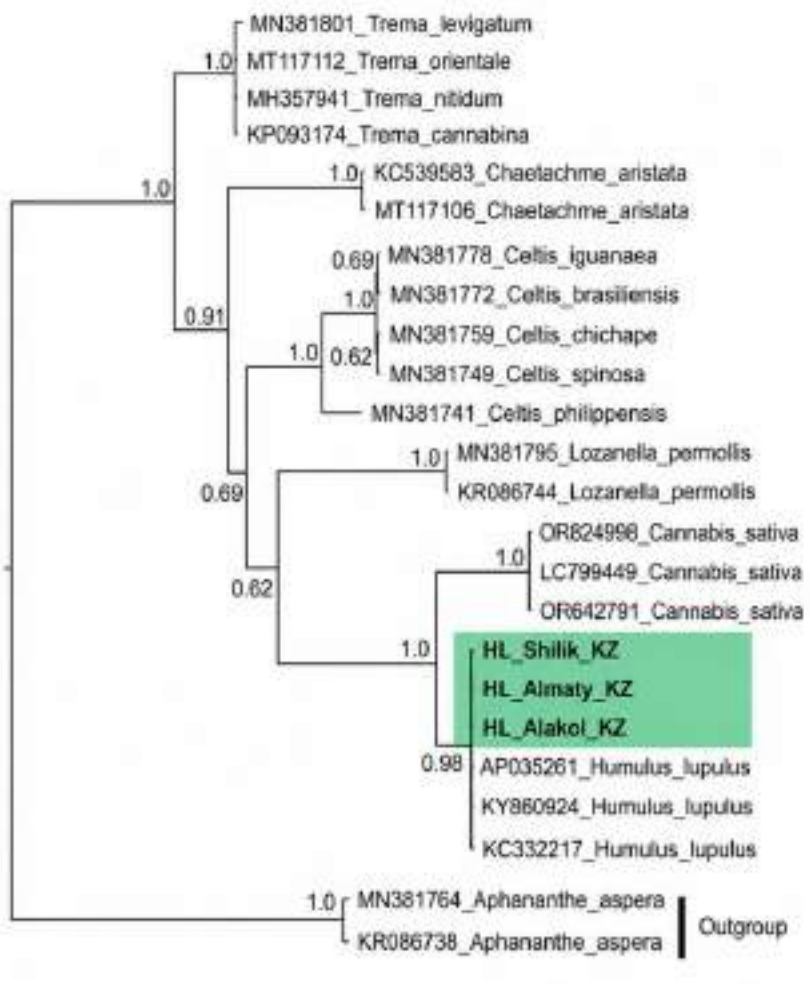


Рисунок 49 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидных последовательностей региона *ITS*.

Согласно филогенетическому дереву, построенному на основании последовательностей *ITS*, исследованные образцы группируются совместно с референсными последовательностями *Humulus lupulus* L., представленными в базе данных GenBank (NCBI), формируя общую филогенетическую кладу. Такое положение исследованных образцов подтверждает их генетическую близость к *Humulus lupulus* L. по данному ядерному маркеру. Вместе с тем высокая степень сходства последовательностей *ITS* между исследованными образцами свидетельствует об ограниченной разрешающей способности данного региона для выявления их более тонкой генетической дифференциации. В связи с этим для более детальной оценки внутривидовой изменчивости целесообразно совместное использование более вариабельных участков генома, включая хлоропластные межгенные спейсеры, а также морфологических и других молекулярных признаков.

Филогенетический анализ гена *matK*

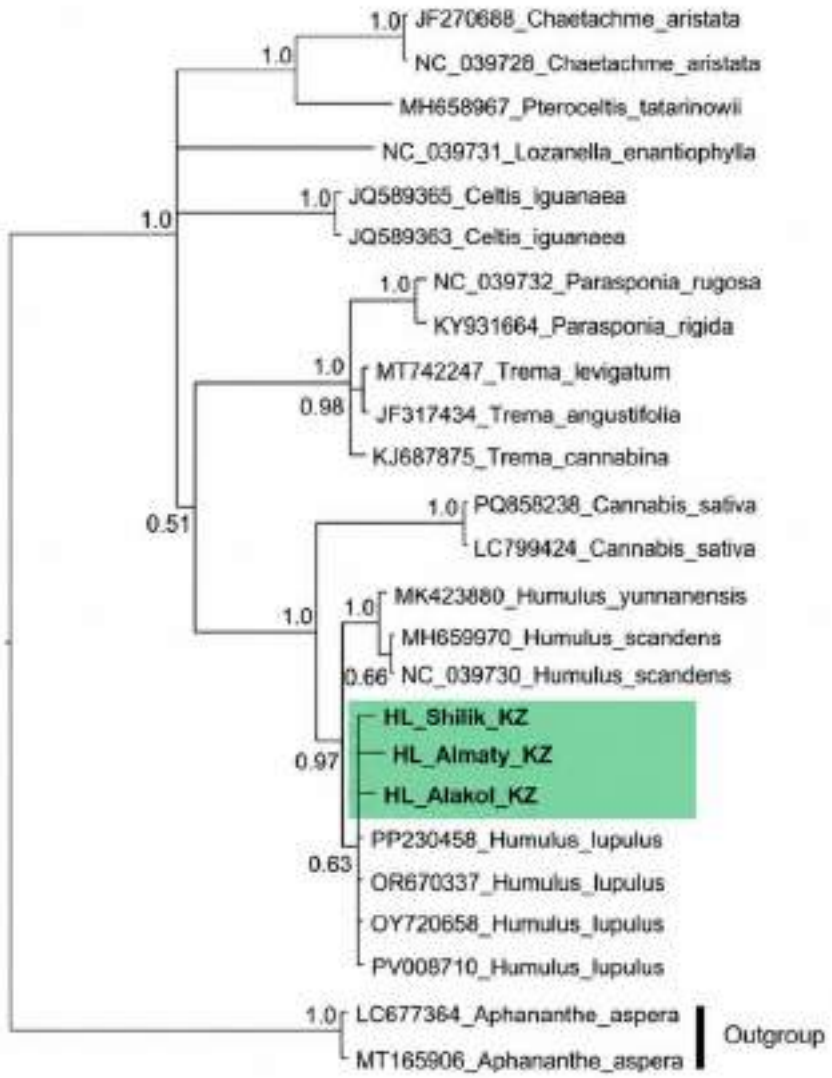


Рисунок 50 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидных последовательностей гена *matK*.

На филогенетическом дереве, реконструированном по последовательностям гена *matK*, исследованные образцы объединяются в одну кладу с референсными последовательностями *Humulus lupulus* L., представленными в базе данных GenBank (NCBI). Полученные результаты подтверждают их филогенетическую близость и соответствие виду *Humulus lupulus* L. по данному хлоропластному маркеру. Относительно консервативный характер *matK* обеспечивает его информативность для таксономической идентификации, однако может ограничивать выявление слабовыраженной внутривидовой изменчивости. В связи с этим для более детальной дифференциации образцов целесообразно комплексное использование *matK* совместно с более вариабельными ядерными и хлоропластными маркерами.

Филогенетический анализ региона *psbA–trnH*

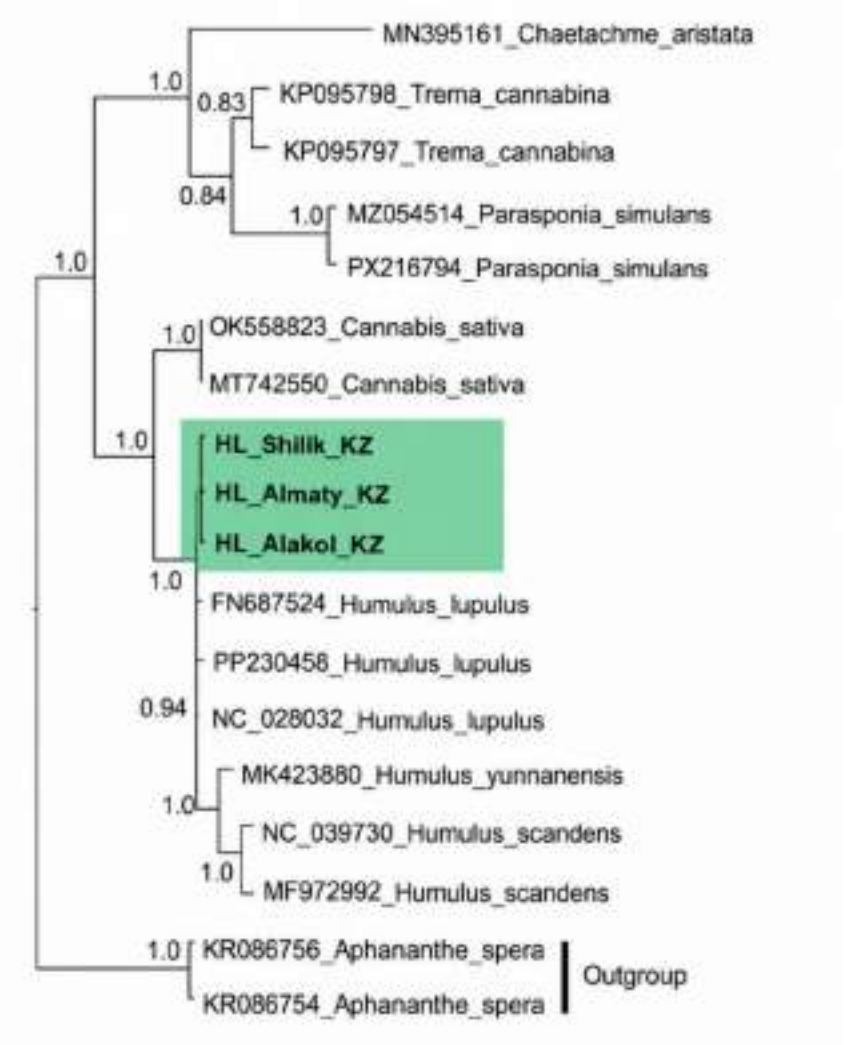


Рисунок 51 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидных последовательностей межгенного спейсера *psbA–trnH*.

Филогенетический анализ межгенного спейсера *psbA–trnH* показал группирование исследованных образцов совместно с референсными последовательностями *Humulus lupulus* L., представленными в GenBank (NCBI). Полученная топология подтверждает генетическую близость исследованных образцов к *Humulus lupulus* L. Несмотря на сравнительно высокую вариабельность межгенного спейсера *psbA–trnH*, исследованные образцы характеризовались высокой степенью сходства последовательностей. Для повышения разрешающей способности филогенетического анализа целесообразно использовать комплексный подход, сочетающий данные *psbA–trnH* с другими ядерными и хлоропластными маркерами.

Филогенетический анализ гена *rbcL*

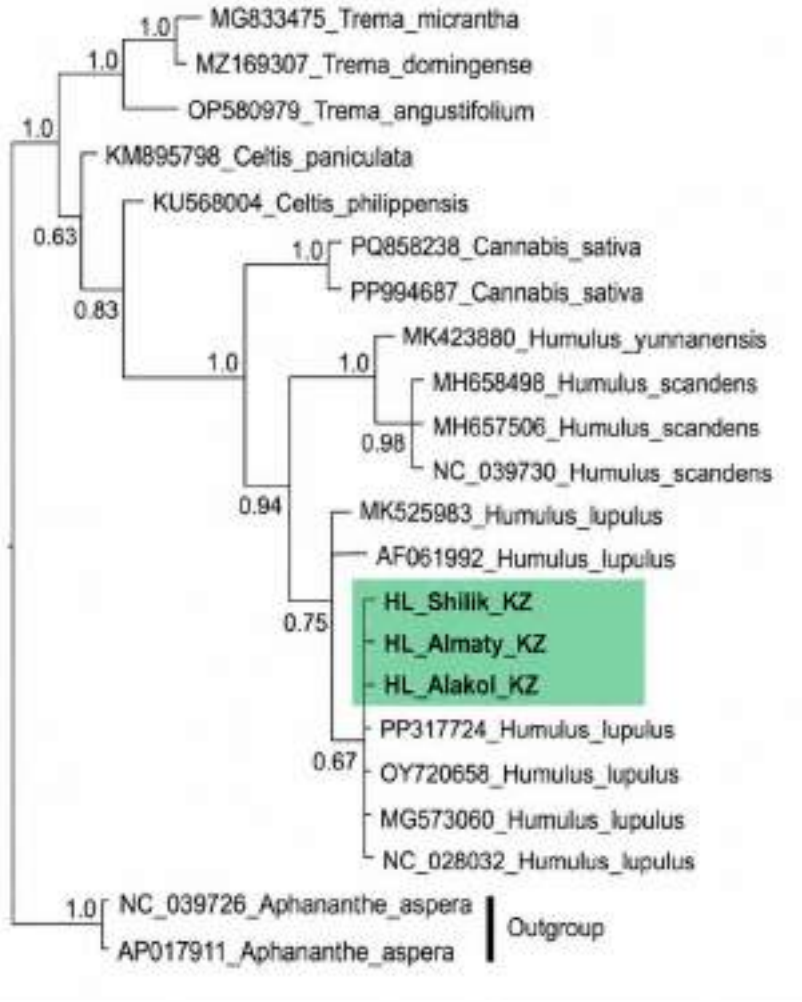


Рисунок 52 – Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидных последовательностей гена *rbcL*.

По результатам анализа последовательностей гена *rbcL* исследованные образцы объединяются в одну филогенетическую кладу с референсными последовательностями *Humulus lupulus* L. из базы данных GenBank (NCBI). Полученные данные подтверждают их близкое генетическое положение по данному хлоропластному маркеру. Вместе с тем ген *rbcL* является относительно консервативным и характеризуется ограниченной разрешающей способностью при анализе близкородственных таксонов и внутривидовой изменчивости. В связи с этим его использование наиболее информативно в сочетании с более вариабельными маркерами, такими как *ITS* и *psbA–trnH*, что позволяет повысить надежность молекулярно-филогенетической интерпретации полученных данных.

3.5 Филогенетический анализ вида *Humulus lupulus* L. на основе маркеров *ITS, matK, trnH-psbA* и *rbcL.*

Впервые в условиях Казахстана проведён комплексный молекулярно-генетический анализ природных популяций хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.), произрастающих в Алматинской и Жетысуской областях, с применением четырёх ДНК-маркеров: *ITS, matK, trnH-psbA* и *rbcL*.

Результаты ПЦР-амплификации и последующего секвенирования подтвердили высокое качество выделенного генетического материала и успешность амплификации всех образцов. Выравнивание полученных нуклеотидных последовательностей и построение филогенетических деревьев показали, что исследуемые образцы чётко кластеризуются с эталонными последовательностями *Humulus lupulus* L. из базы GenBank, что подтверждает их видовую принадлежность.

Дендрограммы, построенные на основе маркеров *ITS* (рисунок 49), *matK* (рисунок 50), *trnH-psbA* (рисунок 51) и *rbcL* (рисунок 52), демонстрируют высокую степень генетической схожести между исследуемыми и референсными образцами, что свидетельствует о консервативности этих участков и ограниченной вариабельности между популяциями на уровне выбранных маркеров.

Тем не менее, полученные результаты также указывают на ограниченность используемых маркеров для оценки внутривидового разнообразия. Для более детального изучения генетической структуры популяций необходимо применять дополнительные маркеры, обладающие большей полиморфностью - такие как ядерные белок-кодирующие гены, SSR-маркеры и AFLP-анализ. Также рекомендуется сопоставление генетических данных с морфологическими, анатомическими и эколого-ценотическими характеристиками для всесторонней оценки адаптационного потенциала популяций и выделения ценных форм.

Проведённое исследование формирует основу для генетической паспортизации дикорастущих популяций хмеля в Казахстане, что имеет значение для сохранения биоразнообразия, мониторинга генетических ресурсов и отбора перспективных форм для фармакологии и селекции.

Перспективы дальнейших исследований связаны с расширением географии выборки и использованием высокоинформативных молекулярных маркеров для более точной оценки генетического разнообразия и популяционной структуры вида. Перспективным направлением является интеграция морфологических данных и методов ДНК-баркодинга, а также изучение связи генетической вариабельности с устойчивостью популяций к абиотическим и антропогенным факторам. В дальнейшем целесообразно создание национального ДНК-банка и каталога форм *Humulus lupulus* L. для сохранения генофонда, селекции и развития биотехнологий. Полученные результаты расширяют представления о генетической структуре популяций хмеля юга Казахстана и могут использоваться в качестве молекулярно-биологической характеристики растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая диссертационная работа представляет собой первое в Республике Казахстан комплексное междисциплинарное исследование природных популяций *Humulus lupulus* L., выполненное с применением интегрированного геоботанического, эколого-ценотического, почвенно-агрохимического, фитохимического, микробиологического и молекулярно-генетического подходов. Реализация данной методологической стратегии позволила получить системное представление о закономерностях формирования, функционирования и адаптационного потенциала дикорастущих популяций хмеля в условиях юго-восточного Казахстана, а также определить их ресурсную и фармакологическую значимость.

Геоботанические исследования показали, что популяции *Humulus lupulus* L. формируются в составе пойменных, лесных и лугово-кустарниковых фитоценозов, различающихся по флористическому составу, уровню антропогенной трансформации и микроклиматическим условиям. Пространственная структура популяций характеризуется выраженной мозаичностью, отражающей неоднородность среды. Исследованные ценопопуляции *Humulus lupulus* L. произрастали в местообитаниях, различающихся по водно-тепловому режиму, характеристикам почвенного покрова и составу растительных сообществ.

В пределах исследуемой территории выявлено пять основных популяций, формирующихся в специфических экологических условиях. Количественная оценка флористического сходства с использованием коэффициента Жаккара показала варьирование значений от 0,061 до 0,121. Максимальное значение (0,121) установлено между первой и второй популяциями, минимальное значение (0,061) — между второй и третьей популяциями. В целом низкие значения коэффициента Жаккара свидетельствуют о выраженных различиях флористического состава исследованных растительных сообществ. Таким образом, ведущую роль в формировании флористической структуры играют экологические и эдафические факторы.

Установлено, что флористическое сходство между популяциями варьирует в пределах 6,1–12,1 %, что указывает на выраженную пространственную дифференциацию растительного покрова. В фитоценозах доминируют представители семейств Poaceae, Asteraceae, Fabaceae и Rosaceae. Одновременно в ряде районов выявлен высокий уровень синантропизации (до 35 %), особенно в Талгарском и Саркандском, что свидетельствует о значительном антропогенном воздействии.

Анализ возрастной структуры популяций, выполненный методом трансект, показал наличие всех онтогенетических групп — ювенильных, имматурных, виргинильных и генеративных растений. Это подтверждает функционирование популяций как самоподдерживающихся динамических систем. Установлено, что ведущим способом воспроизводства является вегетативное размножение посредством корневищ, обеспечивающее формирование плотных клональных

куртин. Семенное размножение, хотя и менее выраженное, играет важную роль в поддержании генетического разнообразия.

Почвенно-агрохимический анализ выявил значительное разнообразие типов почв: обыкновенные и луговые серозёмы, северные серозёмы. Содержание гумуса варьировало в широких пределах, а уровень pH находился в диапазоне 6,5–7,2 в наиболее продуктивных популяциях. Сопоставление почвенно-агрохимических показателей исследованных местообитаний показало различия в содержании гумуса и элементов минерального питания. Популяции 3 и 4 характеризовались более высокой обеспеченностью отдельными элементами питания и высокой долей генеративных растений. Полученные результаты отражают различия почвенных условий местообитаний исследованных популяций *Humulus lupulus* L. В популяциях 1 и 5 дефицит микроэлементов ограничивал физиологические процессы и снижал воспроизводственный потенциал. Таким образом, сбалансированное питание является ключевым фактором устойчивости популяций.

Фитохимическое исследование надземных органов *Humulus lupulus* L. впервые для дикорастущих популяций Казахстана позволило идентифицировать 31 биологически активное соединение: 6 антрахинонов, 5 дубильных веществ, 4 ксантона, 7 кумаринов, 4 тритерпеноида и 5 углеводов. Установлены органоспецифические различия в накоплении БАВ.

Антимикробные исследования показали выраженную зависимость биологической активности от типа экстрагента. 50 % водно-спиртовой экстракт продемонстрировал фунгицидную активность в отношении *Candida albicans* (MFC = 1250 мкг/мл) и бактерицидное действие против *Staphylococcus aureus* (MBC = 5000 мкг/мл), при отсутствии активности в отношении *Escherichia coli*.

Молекулярно-генетический анализ с использованием маркеров *ITS, matK, rbcL* и *psbA–trnH* подтвердил таксономическую принадлежность исследованных образцов к *Humulus lupulus* L. и позволил определить их филогенетическое положение.

Сопоставление полученных данных позволило комплексно охарактеризовать эколого-ценотические, почвенные, фитохимические и биологические особенности исследованных популяций *Humulus lupulus* L. Популяции, характеризующиеся более благоприятными эдафическими условиями и меньшей антропогенной нагрузкой, демонстрируют более стабильный химический состав и выраженную антимикробную активность.

Природные популяции *Humulus lupulus* L. Алматинской и Жетысуской областей представляют интерес как источник растительного сырья и биологически активных соединений, а полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения, сохранения и рационального использования вида.

Работа формирует научную основу для развития национальных программ по изучению и рациональному использованию дикорастущих лекарственных растений. Результаты исследования расширяют сведения о биоразнообразии Казахстана, способствуют формированию национальной базы данных

генетических и фитохимических ресурсов и могут быть использованы при разработке программ сохранения редких и хозяйственно значимых видов.

Полученные данные создают предпосылки для развития агробиотехнологии, фармацевтической индустрии и селекционных программ, направленных на создание перспективных форм хмеля с заданными фармакологическими характеристиками. Работа способствует укреплению научного потенциала страны в области популяционной ботаники, экологической генетики и фитохимии.

Исследование дополняет глобальные данные о внутривидовой вариабельности *Humulus lupulus* L. и расширяет географические границы изучения вида. Результаты сопоставимы с международными исследованиями, посвящёнными генетическому и химическому разнообразию хмеля, и представляют интерес для сравнительных популяционно-генетических и фитохимических исследований.

Работа соответствует современным направлениям интегративной ботаники, экологической геномики и биоресурсных исследований, что обеспечивает её актуальность в международном научном пространстве.

ВЫВОДЫ

1. В результате полевых исследований на территории Алматинской и Жетысуской областей выявлено и охарактеризовано 5 природных популяций и 12 ценопопуляций *Humulus lupulus* L. Установлено, что вид приурочен преимущественно к пойменным, лугово-кустарниковым и предгорным местообитаниям, характеризующимся благоприятными почвенно-климатическими условиями и достаточным увлажнением.

2. Флористический анализ показал, что в растительных сообществах с участием *Humulus lupulus* L. зарегистрировано 99 видов сосудистых растений, относящихся к 64 родам и 31 семействам. Доминирующее положение занимают Poaceae (21,2 %) и Asteraceae (19,2 %), далее следуют Fabaceae (8,1 %), Rosaceae (5,1 %). Анализ сходства флоры по индексу Жаккара показал близость видового состава между отдельными популяциями.

3. Исследование ценопопуляционной структуры показало различия в численности, плотности и возрастной структуре растений. Проведена оценка численности и плотности пяти природных популяций Установлено, что плотность варьирует в пределах 5–20 особей/м² и определяется условиями увлажнения и структурой фитоценозов. Наибольшая численность отмечена в предгорных и пойменных местообитаниях с устойчивым гидрологическим режимом. Во всех популяциях доминируют вегетативные особи, обеспечивающие клональное возобновление. Пространственная структура имеет куртинно-клональный характер

4. Экологический анализ флоры показал, что в растительных сообществах с участием *Humulus lupulus* L. преобладают мезофитные и мезоксерофитные виды, что соответствует приуроченности хмеля к умеренно увлажнённым местообитаниям. Исследованные фитоценозы характеризуются различиями

экологической структуры, обусловленными особенностями гидрологического режима и условий местообитания.

5. Фитохимический анализ шишек *Humulus lupulus* L., проведённый методами ВЭЖХ и ГХ-МС, выявил наличие основных групп биологически активных соединений — флавоноидов, фенольных соединений, терпеноидов, органических кислот и эфирных компонентов. Содержание кверцетина варьировало в зависимости от региона произрастания и составило: Алакол – 7,445 мг/л, Алматы – 4,695 мг/л, Шелек – 4,444 мг/л. Установлено, что 50 % водно-спиртовой экстракт растения проявляет антимикробную активность против *Candida albicans* ATCC 10231 (1250 мкг/мл) и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P (5000 мкг/мл).

6. Молекулярно-генетический анализ исследованных образцов *Humulus lupulus* L. проведён с использованием ядерного маркера *ITS* и хлоропластных маркеров *matK, rbcL* и *psbA–trnH*. Сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с референсными последовательностями базы данных GenBank (NCBI) подтвердило таксономическую принадлежность исследованных образцов к *Humulus lupulus* L. Филогенетический анализ позволил оценить положение исследованных образцов относительно референсных последовательностей *Humulus lupulus* L. по использованным ядерному и хлоропластным маркерам.

Проведённые исследования позволили установить флористические, экологические, почвенные, фитохимические и генетические особенности природных популяций *Humulus lupulus* L., а также подтвердили перспективность данного вида как источника биологически активных соединений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется включить выявленные наиболее устойчивые и продуктивные популяции *Humulus lupulus* L. Алматинской и Жетысуской областей в региональные программы мониторинга и охраны редких и хозяйственно ценных растений.

2. Выделенные фитохимически богатые популяции целесообразно использовать в качестве источника сырья для фармакологических, пищевых и биотехнологических разработок.

3. Антимикробно активные экстракты *Humulus lupulus* L. могут быть рекомендованы для дальнейших фармакологических и токсикологических исследований с целью создания фитопрепаратов.

4. Полученные молекулярно-генетические данные следует использовать при формировании генетического банка и разработке программ селекции и интродукции перспективных форм хмеля.

5. Рекомендуется расширение географии генетического мониторинга с включением популяций из других регионов Казахстана и сопредельных территорий.

6. Полученные данные о почвенно-агрохимических условиях местообитаний *Humulus lupulus* L. могут учитываться при выборе участков для дальнейших исследований по интродукции и культивированию вида.

7. Материалы диссертации могут быть использованы при разработке учебных курсов по геоботанике, экологии, фармакогнозии и биотехнологии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Беленовская Л.М., Буданцев А.Л. Компонентный состав и биологическая активность *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae): обзор результатов исследований последних десятилетий // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44, вып. 2. – С. 132–154.
2. Zanoli P., Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. // Journal of Ethnopharmacology. – 2008. – Vol. 116. – P. 383–396.
3. Neve R.A. Hops. – London: Chapman and Hall, 1991. – 269 p.
4. Moir M. Hops – A millennium review // Journal of the American Society of Brewing Chemists. – 2000. – Vol. 58, No. 4. – P. 131–146.
5. Bocquet L., Sahpaz S., Hilbert J.-L., Rambaud C., Rivière C. *Humulus lupulus* L., a very popular beer ingredient and medicinal plant: overview of its phytochemistry, bioactivity and biotechnology // Phytochemistry Reviews. – 2018. – Vol. 17, No. 5. – P. 1047–1090.
6. Brown D. The Herb Society of America: New encyclopedia of herbs and their uses. – London: Dorling Kindersley, 2001. – 448 p.
7. Blumenthal M., Goldberg A., Brinckmann J. Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs. – Newton, MA: Integrative Medicine Communications, 2000. – P. 297–303.
8. Korpelainen H., Pietiläinen M. Hop (*Humulus lupulus* L.): traditional and present use, and future potential // Economic Botany. – 2021. – Vol. 75(3). – P. 302–322.
9. Astray G., Gullón P., Gullón B., Munekata P.E.S., Lorenzo J.M. *Humulus lupulus* L. as a natural source of functional biomolecules // Applied Sciences. – 2020. – Vol. 10(15). – 5074. – doi:10.3390/app10155074.
10. González-Salitre L., et al. Hops and human health: an updated overview // Food Chemistry. – 2023. – Vol. 405. – 134959.
11. Small E. A numerical and nomenclatural analysis of morpho-geographic taxa of Humulus // Systematic Botany. – 1978. – Vol. 3. – P. 37–76.
12. Basarova G., Savel J., Basar P., Lejsek T. Pivovarství: Teorie a praxe výroby piva (Brewing: theory and practice of beer production). – Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2010. – 863 p.
13. Roberts T.R., Wilson R.J.H. Hops // Handbook of Brewing. – 2nd ed. – Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. – P. 177–280.
14. Harrison J. Effect of hop seeds on beer quality // Journal of the Institute of Brewing. – 1971. – Vol. 77. – P. 350–352.
15 Байтенов М.С. Флора Казахстана. – Алматы: Ғылым, 2001. – Т. 1-2.
16 Флора Казахстана. – Алма-Ата, 1956. Т.1 – 354 с.; 1958. Т.2 – 292 с.; 1960. Т.3 – 460 с.; 1961. Т.4 – 548 с.; 1961. Т.5 – 515 с.; 1963. Т.6 – 465 с.; 1964. Т.7 – 497 с.; 1965. Т.8 – 447 с.; 1966. Т.9 – 640 с.
17 Определитель растений Средней Азии.; под редакц. Ковалевской С.С. Том 1. – Ташкент: Изд. «Фан» УзбССР, 1968. – 225 с.
18 Голоскоков В.П. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1969-1972. – Т.1-2.

19 Plants of the World Online | Kew Science https://powo.science.kew.org/
20 Красная книга Казахстана. Т.2, Ч. 2. Растения (2–е изд., исправленное и дополненное). – Астана: LTD «Art–Print XXI», 2014.
21. Yedilova A. et al. Evaluating the Status of *Humulus Lupulus* Populations in Kazakhstan: Implications for Conservation, Sustainability and Forest Ecosystem Management //ES Energy and Environment. – 2025. – T. 27. – C. 1426.
22. Rossini F., Virga G., Loreti P., Iacuzzi N., Ruggeri R., Provenzano M.E. Hops (*H. lupulus*) as a novel multipurpose crop for the Mediterranean region // Agriculture. – 2021. – Vol. 11. – 484. – doi:10.3390/agriculture11060484.
23. Marceddu R., Carrubba A., Sarno M. Cultivation trials of hop in semi-arid environments // Heliyon. – 2020. – Vol. 6, No. 10. – e05215.
24. Agehara S., et al. Growing hops in subtropical climates // Agronomy Journal. – 2025. – Vol. 117. – P. 1453–1466.
25. Acosta-Rangel A., Agehara S., Rechcigl J. Double-season production of hops in subtropics // Scientia Horticulturae. – 2024. – 113177.
26. Leles N.R., et al. Phenology of hop cultivars in a two-crop-a-year system // Horticulturae. – 2025. – Vol. 11(5). – 498.
27. Sabino B.C.C., et al. Phytochemical characterization of hop varieties grown in subtropics // Horticulturae. – 2025. – Vol. 11(5). – 470.
28. Rubira A., et al. Valorization of hop pruning residues // Industrial Crops and Products. – 2024. – Vol. 203. – 117103.
29. Modzelewska A., et al. Pretreatment of spent hops after $scCO_2$ extraction // Bioresource Technology. – 2025. – Vol. 403. – 130094.
30. Bober A., et al. Brewing quality of Ukrainian hop varieties // Ukrainian Journal of Food Science. – 2025. – Vol. 13. – P. 22–34.
31. Stevens J.F., Ivancic M., Hsu V.L., Deinzer M.L. Prenylflavonoids from *Humulus lupulus* // Phytochemistry. – 1997. – Vol. 44, No. 8. – P. 1575–1585.
32. Stevens R. The chemistry of hop constituents // Chemical Reviews. – 1967. – Vol. 67. – P. 19–71.
33. Chadwick L.R., Nikolic D., Burdette J.E., et al. Estrogens and congeners from spent hops (*Humulus lupulus*) // Journal of Natural Products. – 2004. – Vol. 67, No. 12. – P. 2024–2032.
34. Carson J.F. The structure of humulone and lupulone as revealed by ozonization // Journal of the American Chemical Society. – 1951. – Vol. 73. – P. 4652–4654.
35. De Keukeleire J., Heyerick A., Roldán-Ruiz I., van Bockstaele E. Formation and accumulation of alpha-acids and prenylflavonoids during flowering of hops // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2003. – Vol. 51, No. 15. – P. 4436–4441.
36. Naya Y., Kotake M. Volatile constituents of hops // Nippon Kagaku Zasshi. – 1968. – Vol. 89, No. 11. – P. 1113–1117.
37. Naya Y., Kotake M. The volatile composition of *Humulus lupulus* L. var. cordifolia // Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1970. – Vol. 43, No. 9. – P. 2956–2959.
37. Csedo C., Racz G., Nemeth T. Thermofractochromatographic separation of volatile oils of hop cones // Revue de Médecine. – 1975. – Vol. 21, No. 2. – P. 26–29.

39. Bemotiene G., Nivinskiene O., Butkiene R., Mockute D. Chemical composition of essential oils of hops growing in Aukstaitija // Chemija. – 2004. – Vol. 15, No. 2. – P. 31–36.
40. Peppard T.L., Sharpe F.R. 2,3,4-Trithiopentane in the essential oil from *Humulus lupulus* // Phytochemistry. – 1977. – Vol. 16, No. 12. – P. 2020–2021.
41. Howard G.A., Stevens R. The occurrence of 2-methylbutyl esters in hop oil // Chemical Industry. – 1959. – No. 48. – P. 1518–1519.
42 Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. – Л.: Наука,1987. – 439 с.
43 Черепанов С.К. Сосудистые растения СССР. – Л.: Наука, 1981. – 509 с.
44 Серебряков И.Г. Экологические группы и жизненные формы растений. Ботаника (Анатомия и морфология растений). – М,1978. – С. 431– 436.
45 Raunkier C. The life forms of plants and statistical plant geography. – Oxford: Clarendon press, 1934. – 632 p.
46 Быков Б.А. Доминанты растительного покрова Советского Союза. Академия Наук КазССР. – Алма-Ата, 1960 – Т.1. – 316 с.
47 Быков Б.А. Доминанты растительного покрова Советского Союза. – Наука: Алма-Ата, 1965. –Т.3. – 462 с.
48 Соколова Л.С., Павлова Е.В., Шушеначева А.М., Ефремов А.А. Особенности компонентного состава эфирного масла надземной части Phlomis tuberosa L. и *Humulus lupulus* L. // Химия растительного сырья. – 2012. – № 2. – С. 101–104.
49 Почвы Алма-Атинской области / под ред. С.И. Соколова – Академия наук КазССР: Алма-Ата,1962. – Т.16. – 424 с.
50. Hampton R., Nickerson G., Whitney P., Haunold A. Comparative chemical attributes of native North American hop, *Humulus lupulus* var. lupuloides // Phytochemistry. – 2002. – Vol. 61. – P. 855–862.
51. Haseleu G., Intelmann D., Hofmann T. Novel bitter compounds from β-acids of hop upon wort boiling // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 116. – P. 71–81.
52. Tanaka Y., Yanagida A., Komeya S., et al. Comprehensive separation and structural analyses of polyphenols from hop bracts // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2014. – Vol. 62. – P. 2198–2206.
53. Żuk N., et al. Purification of xanthohumol from spent hops // Antioxidants. – 2025. – Vol. 14(3). – 314.
54. Piekara J., et al. Hop phenolic compounds depending on cultivar and organ // Molecules. – 2025. – Vol. 30(11). – 2365.
55. Mitton F.M., et al. Hop leaves as functional antioxidant in foods // Food Chemistry. – 2025. – Vol. 421. – 136045.
56. Hong K., et al. Varietal differences in hop phytochemicals during ripening // Food Chemistry. – 2022. – Vol. 374. – 131748.
57. Santos B. Bioactive compounds of hops: composition and variability // Journal of Food Composition and Analysis. – 2022. – Vol. 110. – 104513.
58. Mizobuchi Sh., Sato Y. A new flavanone with antifungal activity isolated from hops // Reports of Research Laboratory Kirin Brewery. – 1985. – No. 28. – P. 33–38.
59. Hansel R., Schulz J. Desmethylxanthohumol: isolation from hops and cyclization to flavanones // Archiv der Pharmazie. – 1988. – Vol. 321, No. 1. – P. 37–40.

60. Song-San S., Watanabe S., Saito T. Chalcones from *Humulus lupulus* // Phytochemistry. – 1989. – Vol. 28, No. 6. – P. 1776–1777.
61. Etteldorf N., Becker H. New chalcones from hop *Humulus lupulus* L. // Zeitschrift für Naturforschung C. – 1999. – Vol. 54. – P. 610–612.
62. Chesnokova A.N., Lutskii V.I., Gorshkov A.G. Prenylated chalcones from *Humulus lupulus* // Chemistry of Natural Compounds. – 2009. – Vol. 45, No. 5. – P. 712–714.
63. Чеснокова А.Н. Фенольные соединения хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.) и хмелепродуктов: автореф. дисс. … канд. хим. наук. – Иркутск, 2011. – 24 с.
64. Stevens J.F., Taylor A.W., Nickerson B., et al. Prenylflavonoid variation in *Humulus lupulus* // Phytochemistry. – 2000. – Vol. 53. – P. 759–775.
65. Silva G.V.A., Arend G.D., Zielinski A.A.F., et al. Xanthohumol: properties and extraction strategies // Food Chemistry. – 2023. – Vol. 404. – 134629.
66. Tsionkis G., Pergantas P. Hop-derived compounds: meta-analysis of antiproliferative activity // Pharmaceuticals. – 2025. – Vol. 18(8). – 1139.
67. Simpson W.J., Smith A.R.W. Factors affecting antibacterial activity of hop compounds and their derivatives // Journal of Applied Bacteriology. – 1992. – Vol. 72. – P. 327–334.
68. Stavri M., Schneider R., O'Donnell G., et al. Antimycobacterial components of hops // Phytotherapy Research. – 2004. – Vol. 18, No. 9. – P. 774–776.
69. Natarajan P., Katta S., Ambati V.B.R., et al. Positive antibacterial co-action between hop constituents and antibiotics // Phytomedicine. – 2008. – Vol. 15. – P. 194–201.
70. Yamaguchi N., Satoh-Yamaguchi K., Ono M. Antibacterial and antioxidant activities of hop components // Phytomedicine. – 2009. – Vol. 16. – P. 369–376.
71. Gerhauser C. Broad spectrum antiinfective potential of xanthohumol from hop // Mol. Nutr. Food Res. – 2005. – Vol. 49, No. 9. – P. 827–831.
72. Srinivasan V., Goldberg D., Haas G. Contributions to the antimicrobial spectrum of hop constituents // Economic Botany. – 2005. – Vol. 58. – P. 230–238.
73. Alonso-Esteban J.I., Pinela J., Barros L., et al. Phenolic composition and antimicrobial properties of hop seeds // Industrial Crops and Products. – 2019. – Vol. 134. – P. 154–159.
74. Bedini S., Flamini G., Cosci F., et al. Essential oils of Cannabis sativa and *Humulus lupulus* against Aedes albopictus // Industrial Crops and Products. – 2016. – Vol. 85. – P. 318–323.
75. DeGrandi-Hoffman G., Ahumada F., Probasco G., Schantz L. Effects of beta-acids of hops on Varroa destructor // Experimental and Applied Acarology. – 2012. – Vol. 58. – P. 407–421.
76. Bland J.S., Minich D., Lerman R., et al. Isohumulones from hops in medical nutrition therapy // PharmaNutrition. – 2015. – Vol. 3. – P. 46–52.
77. Luzak B., Golanski J., Przygodzki T., et al. Spent hop extract reduces platelet aggregation // Journal of Functional Foods. – 2016. – Vol. 22. – P. 257–269.

78. Schiller H., Forster A., Vonhoff C., et al. Sedating effects of *Humulus lupulus* extracts // Phytomedicine. – 2006. – Vol. 13. – P. 535–541.
79. Miranda C.L., Stevens J.F., Helmrich A., et al. Antiproliferative effects of prenylated flavonoids from hops // Food and Chemical Toxicology. – 1999. – Vol. 37. – P. 271–285.
80. Wang Q., Ding Z.H., Liu J.K., Zheng Y.T. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent from hops // Antiviral Research. – 2004. – Vol. 64, No. 3. – P. 189–194.
81. Takubo M., Inoue T., Jiang S., et al. Effects of hop extracts on nasal rubbing and sneezing in mice // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2006. – Vol. 29, No. 4. – P. 689–692.
82. Kiofentzoglou D., et al. Antimicrobial activity of hop compounds: meta-analysis // Applied Sciences. – 2025. – Vol. 15(14). – 7806.
83. Bilska A., et al. Antioxidant activity of hop phenolic extracts // Molecules. – 2024. – Vol. 29(7). – 1561.
84. Milligan S.R., Kalita J.C., Pocock V., et al. Endocrine activities of 8-prenylnaringenin and related hop flavonoids // Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. – 2000. – Vol. 85, No. 12. – P. 4912–4915.
85. Bowe J., Li X.F., Kinsey-Jones J., et al. Hop phytoestrogen 8-prenylnaringenin and skin temperature // Journal of Endocrinology. – 2006. – Vol. 191, No. 2. – P. 399–405.
86. Monteiro R., Becker H., Azevedo J., Calhau C. Effect of hop flavonoids on aromatase activity // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – Vol. 54, No. 8. – P. 2938–2943.
87. Nikolic D., Li Y., Chadwick L.R., van Breemen R.B. Intestinal permeability and metabolism of 8-prenylnaringenin // Pharmaceutical Research. – 2006. – Vol. 23, No. 5. – P. 864–872.
88. Vervarcke S. Innovative application of hops for menopause-related symptoms // NutraCos. – 2005. – Vol. 4, No. 3. – P. 14–16.
89. Overk C.R., Guo J., Chadwick L.R., et al. In vivo estrogenic comparisons of *Humulus lupulus* and Trifolium pratense // Chemico-Biological Interactions. – 2008. – Vol. 176. – P. 30–39.
90. Chadwick L.R., Pauli G.F., Farnsworth N.R. Pharmacognosy of *Humulus lupulus* with emphasis on estrogenic properties // Phytomedicine. – 2006. – Vol. 13. – P. 119–131.
91. Murakami A., Darby P., Javornik B., et al. Microsatellite DNA analysis of wild hops (*Humulus lupulus*) // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2006. – Vol. 53. – P. 1553–1562.
92. Jakse J., Lanzini T., Satovic Z., et al. Nuclear and chloroplast DNA analysis of hop genetic diversity // Theoretical and Applied Genetics. – 2011. – Vol. 122. – P. 1109–1121.
93. Natsume S., et al. Draft genome sequence of hop (*Humulus lupulus*) // DNA Research. – 2015. – Vol. 22, No. 5. – P. 431–438.
94. Easterling K.A., Pitra N.J., Jones R.J., et al. 3D molecular cytology of hop meiotic chromosomes // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 9. – Article 1501.

95. Pitra N., Schwekendiek A., Matthews P. Digital gene expression analysis of the hop transcriptome // Acta Horticulturae. – 2019. – No. 1236. – P. 135–144.
96. CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. – Vol. 106(31). – P. 12794–12797.
97. Kress W.J., Erickson D.L. A two-locus global DNA barcode for land plants // PLoS ONE. – 2007. – Vol. 2(6). – e508.
98. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics // PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. – San Diego: Academic Press, 1990. – P. 315–322.
99. Cuenoud P., Savolainen V., Chatrou L.W., et al. Molecular phylogenetics based on nuclear 18S rDNA and plastid rbcL, atpB, and matK sequences // American Journal of Botany. – 2002. – Vol. 89(1). – P. 132–144.
100. Sang T., Crawford D.J., Stuessy T.F. Chloroplast DNA phylogeny and biogeography of Paeonia // American Journal of Botany. – 1997. – Vol. 84(8). – P. 1120–1136.
101. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28(19). – P. 2537–2539.
102. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5 // Molecular Ecology Resources. – 2010. – Vol. 10. – P. 564–567.
103. Флора Казахстана. – Т. 3. – Алма-Ата, 1958. – С. 76.
104. Миньков С.Г. Медоносные растения Казахстана. – Алматы: Қайнар, 1974. – 286 с.
105. Әдекенов С.М., Рақымов Қ.Д., Исмабаев Ә.И., Сауранбаев Б.Н., Көкенов М.К. Қазақстанның дәрілік өсімдіктері және оның қолданылуы. – Алматы: Ғылым, 1998. – С. 33–66.
106. Агелеуов Е.А., Джакупова Н.У. К итогам изучения флоры и растительности Актюбинской области. – Ақтөбе, 1992. – 148 с.
107. Базарғалиева Ә.А., Аралбаев Н.К. Қобда өзені аңғарының табиғи флорасын талдау. – Ақтөбе, 2005. – 129 б.
108. Грудзинская Л.М., Гемеджиева Н.Г., Нелина Н.В., Каржаубекова Ж.Ж. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – Алматы, 2014. – 200 с.
109. Инелова З.А. Биоразнообразие растений в фитоценозах на территории разрушенного склада, хранилища пестицидов п.Бескайнар // Man in the modern world: identity and intercultural communication. International monography. Interkulturelle Weiterbildungsgesellschaft e.V. (Düsseldorf, Germany), Encyclopedist-Maximum, 2019. – 583 p.
110. Yedilova A. K., Inelova Z. A. Features of the structure of natural populations *Humulus lupulus* L. //Bulletin of the National Academy of Sciences. – 2020. – Т. 1. – №. 337. – С. 33-40.
111. Vavilov N.I. Centers of origin of cultivated plants. – Leningrad: Academy of Sciences, 1935.
112. Linke V. Beiträge zur Biologie des Hopfens // Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. – 1937. – Bd. 55. – S. 175–191.

113. Vent L. Die Hopfenpflanze und ihre Verbreitung in Europa // Flora Europaea Review. – 1948. – Bd. 12. – S. 145–156.
114. Zhukova L.A., Kulikov P.V. Flora Sibirica. – Novosibirsk: Nauka, 2004.
115. Mozny M., Trnka M., Vlach V., et al. Climate-induced decline in the quality and quantity of European hops // Nature Communications. – 2023. – Vol. 14. – Article 6028.
116. FAO. World Hop Production Statistics. – Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019.
117. Kyrgyzbay K., Kakimzhanov Y., Sagin J. Climate data verification for assessing climate change in Almaty region // Climate Services. – 2023. – Vol. 32. – 100423.
118. Salnikov V., Talanov Y., Polyakova S., et al. Assessment of temperature and precipitation extremes in Kazakhstan // Climate. – 2023. – Vol. 11. – 33.
119. Tokbergenova A.A., Kaliyeva D.M., Zulpykharov K.B., et al. Soil fertility assessment in the Almaty region using GIS // Journal of Geography and Environmental Management. – 2023. – Vol. 69. – P. 34–48.
120. Arinushkina E.V. Methods for determination of total humus in soils // Manual of chemical analysis of soils. – Moscow, 1961. – P. 130–139.
121. Bulgakov V., Gadzalo I., Adamchuk V., et al. Dynamics of humus content under different chernozem treatments // Journal of Ecological Engineering. – 2022. – Vol. 23. – P. 118–128.
122. CLSI. M07-A10. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. – 10th ed. – Wayne, PA, 2015.
123. CLSI. M27-A2. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. – Wayne, PA.
124. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.12.1890-04. – М., 2004.
125. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – Алматы: Жибек жолы, 2008. – Т. 1. – 592 с.
126. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – Алматы: Жибек жолы, 2009. – Т. 2. – 804 с.
127. Jaccard P. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et du Jura // Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles. – 1901. – Vol. 37. – P. 547–579.
128. Shannon C.E. A mathematical theory of communication // Bell System Technical Journal. – 1948. – Vol. 27. – P. 379–423; 623–656.
129. Simpson E.H. Measurement of diversity // Nature. – 1949. – Vol. 163. – P. 688.
130. Magurran A.E. Ecological Diversity and Its Measurement. – Princeton: Princeton University Press, 1988. – 192 p.
131. Zar J.H. Biostatistical Analysis. – 5th ed. – Upper Saddle River: Prentice Hall, 2010. – 944 p.
132. Legendre P., Legendre L. Numerical Ecology. – 3rd ed. – Amsterdam: Elsevier, 2012. – 1006 p.

133. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package // Palaeontologia Electronica. – 2001. – Vol. 4(1). – 9 p.
134. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Molecular Biology and Evolution. – 2018. – Vol. 35(6). – P. 1547–1549.
135. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor // Nucleic Acids Symposium Series. – 1999. – No. 41. – P. 95–98.
136. Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // Nucleic Acids Research. – 2004. – Vol. 32(5). – P. 1792–1797.
137. Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7 // Molecular Biology and Evolution. – 2013. – Vol. 30(4). – P. 772–780.
138. Altschul S.F., et al. Basic local alignment search tool // Journal of Molecular Biology. – 1990. – Vol. 215. – P. 403–410.
139. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5 in Excel // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28(19). – P. 2537–2539.
140. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5 // Molecular Ecology Resources. – 2010. – Vol. 10. – P. 564–567.
141. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. – New York: Springer, 2016. – 260 p.
142. Virtanen P., et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python // Nature Methods. – 2020. – Vol. 17. – P. 261–272.
143. Ikhalaynen Y.A., et al. Hopomics: untargeted metabolomics for hop cultivar classification // Metabolites. – 2022. – Vol. 12. – 312.
144. Nezi P., et al. Metabolomic and proteomic profile of dried hop extracts // Separations. – 2022. – Vol. 9(8). – 204.
145. Veiga B.A., et al. Compressed-fluid extraction of hops // Journal of Supercritical Fluids. – 2021. – Vol. 176. – 105327.
146. Grudniewska A., et al. Spent hops biorefinery // Biomass Conversion and Biorefinery. – 2023. – Vol. 13. – P. 345–361.
147. Valente J.V., et al. Hop aqueous extract and hydrolate for cosmetics // Industrial Crops and Products. – 2024. – Vol. 202. – 117024.
148. Ducrocq F., et al. Genotype–soil effects on hop specialized metabolites // Frontiers in Plant Science. – 2025. – Vol. 16. – 1289012.
149. Jagani S., et al. Viroid ecology in hops // Frontiers in Microbiology. – 2025. – Vol. 16. – 1276543.
150. Zhang G.J., et al. Transposable elements in Cannabaceae // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – 1198342.
151. Ortega D.R., et al. Hop extract enhances redox resilience // Nutrients. – 2026. – Vol. 18(1). – 152.
152. Caban M., et al. Spent hop extract attenuates IBD pathways // Cells. – 2025. – Vol. 14(14). – 1099.
153. Wanionok N.E., et al. Hop promotes osteoblast activity // Biology. – 2025. – Vol. 14(5). – 582.

154. Dias G.S., et al. Metabolomic relationships of hop cultivars // ACS Omega. – 2025. – Vol. 10. – P. 14567–14579.
155. Singh T., et al. Metabolomics and ionomics of hops // Data in Brief. – 2025. – Vol. 51. – 109682.
156. Bauerle W.L. Hop strobilus physiology revisited // Frontiers in Plant Science. – 2025. – Vol. 16. – 1290044.
157. Sabino B.C.C., et al. Harvest and drying effects on hop chemistry // Horticulturae. – 2024. – Vol. 10. – 121.
158. Leles N.R., et al. Cultivar performance under double harvest // Horticulturae. – 2024. – Vol. 10. – 772.
159. Azpe de Santiago H.M. Future of hops in Mexico // Agroecology and Sustainable Food Systems. – 2025. – Vol. 49. – 2557259.
160. Kharitintsev B., Popova E. Phytocenoses with Tilia and associated hops // E3S Web of Conferences. – 2023. – Vol. 371. – 01096.
161. Joh. Barth & Sohn GmbH & Co. KG. The Barth Report – Hops (2000–2014). – 2015. – URL: http://www.barthhaasgroup.com
162. Plant DNA C-values Database. – Royal Botanic Gardens, Kew. – URL: http://www.kew.org/cvalues
163. ClinicalTrials.gov. Database of privately and publicly funded clinical studies. – URL: https://clinicaltrials.gov
164. Едилова А.К., Инелова З.А. Характеристика флористического состава популяции *Humulus lupulus* L. некоторых районов Алматинской области (на примере г. Алматы, Талгарского, Енбекшиказахского, Сарканского, Алакольского районов) // Ізденістер, нәтижелер – Исследование, результаты. – 2020. – № 4 (88). – С. 220–229. – DOI: 10.37884/4-88-2020.
165. Едилова А.К., Инелова З.А. Phytochemical Study of Medicinal Plant *Humulus lupulus* L. for the Purpose of Obtaining Biologically Active Substances // Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. – 2025. – № 2. – P. 229–241. – DOI: 10.32014/2025.2518-1483.355.
166. Едилова А.К. Некоторые особенности природных популяций *Humulus lupulus* L. // Материалы Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Фараби әлемі». – Алматы: Казахский национальный университет имени аль-Фараби, 2020. – С. 40.
167. Едилова А.К. Климатические и агротехнические условия как детерминанты заболеваний *Humulus lupulus* L. в Алматинской и Жетысуской областях // Материалы Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Фараби әлемі». – Алматы: Казахский национальный университет имени аль-Фараби, 2025. – С. 27.
168. Yedilova A.K., Inelova Z.A., Matthews P. Floristic Features of the Population of *Humulus lupulus* L. in the Almaty Region // 5th International Humulus Symposium. – University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, 9–11 March 2021.
169. Инелова З.А., Едилова А.К., Matthews P. Антисептическое средство // Патент на полезную модель Республики Казахстан № 5818.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А - Флористический состав растительных сообществ с участием *Humulus lupulus* L. в исследуемых регионах

№	Семейство	№	Виды	г. Алматы			Талгарский район		Енбекшиказахский район			Сарканский район	Алакольский район		
				СР1	СР2	СР3	СР4	СР5	СР6	СР7	СР8	СР9	СР10	СР11	СР12
1	Cannabaceae Endl.	1	*Humulus lupulus* L.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		2	*Cannabis sativa* L.	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Vitaceae Juss.	3	*Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch.	+											
3	Plantaginaceae Juss.	4	*Plantago major* L.	+											
4	Amaranthaceae Juss.	5	*Chenopodium album* L.	+			+	+	+			+		+	
		6	*Atriplex tatarica* L.				+	+	+						
		7	*Atriplex cana* C.A.Mey.											+	
5	Polygonaceae Juss.	8	*Polygonum aviculare* L.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		9	*Rumex acetosa* L.	+				+	+					+	
		10	*Rumex crispus* L.				+	+							
		11	*Rumex confertus* Willd.				+								
6	Fabaceae Lindl.	12	*Vicia sepium* L.	+											
		13	*Vicia cracca* L.						+		+				
		14	*Lathyrus tuberosus* L.	+	+				+			+			
		15	*Medicago falcata* L.				+	+	+				+		
		16	*Trifolium pratense* L.						+			+	+		
		17	*Glycyrrhiza glabra* L.			+			+	+					
		18	*Melilotus albus* Medik.						+	+	+				
		19	*Glycyrrhiza pachycarpa* Pall.							+					
7	Malvaceae Juss.	20	*Malva pusilla* Sm.	+											
		21	*Lavatera thuringiaca* L.	+				+							
8	Lamiaceae Martinov	22	*Mentha longifolia* (L.) L.	+		+	+		+					+	
		23	*Marrubium vulgare* L.	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+

Продолжение Таблицы А

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
		24	*Melissa officinalis* L.		+										
9	Boraginaceae Juss.	25	*Echium vulgare* L.	+	+	+	+		+	+				+	+
10	Geraniaceae Juss.	26	*Geranium rotundifolium* L.		+										
		27	*Geranium pusillum* L.			+									
11	Poaceae Barnhart	28	*Poa pratensis* L.	+					+			+			+
		29	*Poa trivialis* L.	+				+		+					+
		30	*Avena fatua* L.	+			+		+						+
		31	*Setaria pumila* (Poir.) Roem. & Schult.	+		+	+	+		+	+				+
		32	*Setaria viridis* (L.) P.Beauv.	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		33	*Bromus inermis* Leyss.		+	+		+							
		34	*Bromus tectorum* L.			+		+							
		35	*Stipa capillata* L.				+			+					
		36	*Dactylis glomerata* L.									+			
		37	*Phleum pratense* L.									+			
		38	*Elymus repens* (L.) Gould						+	+	+	+	+		
		39	*Cynodon dactylon* (L.) Pers.						+		+				
		40	*Aegilops cylindrica* Host						+			+			
		41	*Calamagrostis epigejos* (L.) Roth									+			
		42	*Calamagrostis pseudophragmites* (Haller f.) Koeler				+				+				
		43	*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.									+			
		44	*Arthraxon hispidus* (Thunb.) Makino					+							
		45	*Festuca valesiaca* Gaudin				+								

Продолжение Таблицы А

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
		46	*Agrostis stolonifera* L.									+			
		47	*Hordeum murinum* L.				+								
		48	*Lolium perenne* L.	+											
12	Asteraceae Dumort.	49	*Arctium lappa* L.	+		+	+	+		+			+		
		50	*Arctium tomentosum* Mill.		+										
		51	*Carduus nutans* L.	+	+		+	+	+			+	+	+	
		52	*Cirsium arvense* (L.) Scop.				+								
		53	*Cirsium vulgare* (Savi) Ten.						+						
		54	*Artemisia absinthium* L.				+								
		55	*Artemisia vulgaris* L.		+	+		+					+		
		56	*Artemisia annua* L.										+		
		57	*Artemisia scoparia* Waldst. & Kit.											+	
		58	*Artemisia terrae-albae* Krasch.										+	+	
		59	*Taraxacum officinale* F.H.Wigg.		+		+	+			+				
		60	*Cichorium intybus* L.			+		+			+	+			
		61	*Ambrosia artemisiifolia* L.		+	+	+	+		+			+	+	
		62	*Achillea millefolium* L.						+	+	+				
		63	*Scorzonera rubra* L.						+			+			
		64	*Lactuca tatarica* (L.) C.A.Mey.	+			+		+			+			
		65	*Conyza canadensis* (L.) Cronquist			+									
		66	*Jacobaea vulgaris* Gaertn.						+			+			
		67	*Xanthium spinosum* L.											+	
13	Convolvulaceae Juss.	68	*Convolvulus arvensis* L.				+	+			+				
		69	*Convolvulus lineatus* L.						+						
14	Cyperaceae Juss.	70	*Carex songorica* Kar. & Kir.						+						
15	Typhaceae Juss.	71	*Typha angustifolia* L.									+			

Продолжение Таблицы А

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
16	Euphorbiaceae Juss.	72	*Euphorbia humifusa* Willd.		+	+		+							
		73	*Euphorbia jaxartica* Prokh.				+								
17	Verbenaceae J.St.-Hil.	74	*Verbena officinalis* L.											+	
18	Caryophyllaceae Juss.	75	*Stellaria media* (L.) Vill.				+								
19	Solanaceae Juss.	76	*Datura stramonium* L.		+										
20	Brassicaceae Burnett	77	*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.				+								
		78	*Lepidium ruderale* L.			+		+							
		79	*Lepidium draba* L.			+							+		
		80	*Thlaspi arvense* L.						+			+			
21	Scrophulariaceae Juss.	81	*Verbascum blattaria* L.				+							+	
22	Papaveraceae Juss.	82	*Fumaria vaillantii* Loisel.			+									
23	Apiaceae Lindl.	83	*Daucus carota* L.				+	+						+	
		84	*Cicuta virosa* L.				+								
		85	*Ferula dissecta* (Ledeb.) Ledeb.											+	
24	Urticaceae Juss.	86	*Urtica dioica* L.			+		+							
		87	*Urtica urens* L.			+									
25	Oleaceae Hoffmanns. & Link	88	*Fraxinus sogdiana* Bunge		+										
26	Ulmaceae Mirb.	89	*Ulmus laevis* Pall.		+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
27	Salicaceae Mirb.	90	*Salix alba* L.									+			
		91	*Salix starkeana* Willd.											+	+
28	Elaeagnaceae Juss.	92	*Elaeagnus oxycarpa* Schlecht.						+	+					

Продолжение Таблицы А

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
29	Tamaricaceae Link	93	*Tamarix ramosissima* Ledeb.									+			
30	Hypericaceae Juss.	94	*Hypericum perforatum* L.						+			+			
31	Rosaceae Juss.	95	*Rubus idaeus* L.	+		+	+	+		+	+	+	+	+	
		96	*Rubus caesius* L.		+	+	+		+		+	+		+	+
		97	*Malus domestica* Borkh.										+	+	
		98	*Crataegus songarica* K.Koch		+									+	+
		99	*Prunus armeniaca* L.									+		+	