

УДК 63.631:634.5
AGRI F30

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/05>

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *CORYLUS AVELLANA* L. НА МАЛОМ КАВКАЗЕ В ПРЕДЕЛАХ АЗЕРБАЙДЖАНА

©Ибрагимов З. А., д-р с.-х. наук, Азербайджанский государственный аграрный университет, г. Гянджа, Азербайджан

©Ализаде Р. А., Азербайджанский государственный аграрный университет, г. Гянджа, Азербайджан

GENETIC DIVERSITY *CORYLUS AVELLANA* L. IN LESSER CAUCASUS OF AZERBAIJAN

©Ibragimov Z., Dr. habil., Azerbaijan State Agrarian University, Ganja, Azerbaijan

©Alizade R., Azerbaijan State Agrarian University, Ganja, Azerbaijan

Аннотация. Статья посвящена результатам исследования генетического полиморфизма лещины (*Corylus avellana* (L.) H. Karst.), произрастающей на Малом Кавказе в пределах Азербайджана. В анализах использовано ядерная ДНК, экстрагированная из листового материала. Экстрагирование ДНК, проведение PCR и ISSR анализов проведены по стандартным методикам (CTAB, PCR, ISSR протоколы). По результатам анализов с применением 4 ISSR–праймеров, количество идентифицированных фрагментов составило 42, что соответствует 9–12 локусам на праймер (в среднем 10,8). Из идентифицированных 42 фрагментов, 34 (80,95%) — являются полиморфными, а 8 (19,05%) — мономорфны. Количество полиморфных локусов меняется в пределах 7–10. При наименьшем количестве амплифицированных локусов у праймера UBC811, наибольшее их количество приходится на праймер UBC827. В зависимости от праймера количество амплифицированных полиморфных локусов меняется в пределах 63–90%. Уровень полиморфизма ISSR–праймеров в среднем 86% (75–96%). Среднее значение фактической гетерозиготности (H_0) — 0,359; а ожидаемая гетерозиготность (H_E) — 0,414. По результатам кластер анализа 70 генотипов лещины объединены в 9 кластерах. Несмотря на то, что популяции дистанционно и орографически достаточно изолированы, что исключает поток генетической информации между ними, результаты кластер анализа показывают, что генотипы разных популяций по показателям генетического сходства объединены в общий субкластер. Это объясняется общностью происхождения лещины в популяциях. Этот вид в далеком прошлом был представлен обширным общим ареалом, который в результате геологических процессов был разобщен. Произошла гомогенная дизъюнкция сплошного ареала.

Abstract. The article is devoted to the results of a study of the genetic polymorphism of hazel (*Corylus avellana* (L.) H. Karst.), growing in the Lesser Caucasus within Azerbaijan. For the analyzes used nuclear DNA extracted from sheet material. DNA extraction, PCR and ISSR analyzes were carried out according to standard methods (CTAB, PCR, ISSR protocols). According to the results of analyzes using 4 ISSR primers, the number of identified fragments was 42, which corresponds to 9–12 loci per primer (~10.8). Of the 42 fragments identified, 34 (80.95%) are polymorphic, and 8 (19.05%) are monomorphic. The number of polymorphic loci varies in the range of 7–10. With the smallest number of amplified loci in the UBC811 primer, the largest number of them occurs in the UBC827 primer. Depending on the primer, the number of amplified

polymorphic loci varies within 63–90%. The level of ISSR primer polymorphism is on average 86% (75–96%). The average value of the actual heterozygosity (H_0) is 0.359, and the expected heterozygosity (H_E) is 0.414. According to the results of the cluster analysis, 70 hazel genotypes are combined in 9 clusters. Despite the fact that the populations are remotely and orographically sufficiently isolated, which excludes the flow of genetic information between them, the results of the cluster analysis show that genotypes from different populations are combined into a common sub-cluster in terms of genetic similarity. This is due to the common origin of hazel in populations. In the distant past, this species was represented by an extensive common range, which was fragmented as a result of geological processes. The homogeneous disjunction of the continuous range occurred.

Ключевые слова: лещина, популяция, генетический полиморфизм, ISSR-праймеры, кластер анализ.

Keywords: hazel, population, genetic polymorphism, ISSR primers, cluster analysis.

Введение

Лещина, лесной ореха (*Corylus avellana* (L.) Н. Karst.) занимает обширный ареал естественного распространения в умеренном поясе Северного полушария. В Азербайджане произрастает в зоне мезофильных широколиственных лесов Большого и Малого Кавказа и горах Талыша, занимая относительные высоты 1000–2000 м над уровнем моря. Лесной орех является родоначальником многих прекрасных сортов фундука народной селекции, широко возделываемых в Азербайджане. На сегодняшний день не существовали бы многие коммерческие сорта фундука, если бы не генплазма диких сородичей [1–3].

Лесной орех — ветроопыляемый перекрестник, исключительно полиморфный вид. Полиморфизм лещины проявляется в морфологических, биологических, экологических и др. признаках и формирует генофонд популяции. В современном представлении популяция рассматривается как элементарная единица эволюционного процесса. С этих позиций главный критерий популяции отсутствие обмена генетической информацией (инбридинг и аутбридинг) с соседними популяциями и способность свободного обмена генетической информацией внутри популяции (панмиксия). С генетико-эволюционных позиций панмиксия определяет позиции популяции [4–6].

Полиморфизм рассматривается как сосуществование в популяции в течение многих поколений особей с двумя и более отчетливо выраженными формами (морфами), различающимися строением и выполняемыми функциями. Полиморфизм используется для обозначения прерывистой генетической изменчивости, имеет большое биологическое значение, свидетельствует о различной селективной ценности признаков, формирует генофонд популяции и характеризует биоразнообразие вида [7–8].

Морфологический метод описания видимого полиморфизма не позволяет проследить эволюционный путь развития, оценить генетическую структуру и генетический полиморфизм вида. Молекулярно-генетические исследования, подбор и апробация ISSR-праймеров позволяет установить и оценить генетический потенциал, генетический полиморфизм сортов и видов растений, выявить полезные для сельского хозяйства аллели.

Ускоренное развитие молекулярно-маркерной технологии за последние 20 лет позволяет установить генетическое разнообразие генотипов, картирование геномов и распечатку генома (DNA fingerprinting). Впервые система ДНК маркеров нашла применение в RFLP (restriction fragment length polymorphism) анализах. После открытия полимеразной

цепной реакции (PCR) нашло применение система маркеров для проведения RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) анализов.

Внедрение ДНК-маркеров было революционным в геномных исследованиях многих видов растений, а также сортов плодовых и орехоплодных. ДНК-маркеры, используемые для этих целей объединяют в две группы: маркеры на основе гибридизации (RFLP) и маркеры на основе PCR (RAPD, SSR, AFLP и т. д.). В настоящее время чаще используются маркеры на основе PCR [3, 8–11].

ISSR-праймеры относятся к классу молекулярных маркеров, короткие повторы ДНК основаны на тандемных последовательностях. Эти микросателлитные повторы (тандемы) позволяют обнаруживать высокий полиморфизм генотипов. Для исследования генетического полиморфизма лещины использовано 4 ISSR-праймера. Было синтезировано (амплифицировано) 42 фрагмента ДНК (в среднем 10,5 фрагмента на праймер), из которых 34 фрагмента (в среднем 8,5 на праймер) оказались полиморфными и зафиксирован высокий генетический полиморфизм (86%) лещины.

Материалы и методы

Генетический полиморфизм лещины исследован в 3 популяциях (Гекгельская, Кедабекская и Товузская), произрастающих на северо-восточных склонах Малого Кавказа в пределах Азербайджана.

Популяции расположены в зоне мезофильных буковых лесов (*Fagus orientalis* Lipsky) на относительных высотах 1200–1400 м над уровнем моря. В этой зоне лещина произрастает в основном по долинам горных рек и ложбинам, где достаточное количество усвояемой влаги в почве (количество осадков 600–700 мм в год) дополнительно поддерживается проточным увлажнением. В популяциях лещины распространены аккумулятивно-гумусовые (перегнойные) бурые горно-лесные подтипы почв. Популяции дистанционно и орографически достаточно изолированы, что исключает инбридинг и аутбридинг, обеспечивает панмиксию.

Гекгельская популяция лещины охватывает территории Гаджикедского и Зурнабадского лесничеств, Гекгельского лесхоза, также охватывает территорию Гекгельского национального парка. С популяции было собрано 34 коллекции листьев (образцы G 1–36).

Кедабекская популяция узкой прерывистой лентой на несколько километров простирается по побережью реки Шамкирчай на территории Кедабекского лесхоза (образцы листьев К 1–36).

Товузская популяция произрастает в ущелье Асрик Дерё Джирдаханского лесничества Товузского лесхоза (образцы Т 1–36).

ДНК материал был собран с 36 кустов лещины в пределах каждой популяции. Образцы свежих листьев с каждого куста были собраны в отдельный пронумерованный бумажный конверт. Для фиксации собранного материала в каждый конверт был вложен стандартный пакетик геля кварца (5 г), для поглощения влаги использован сульфат кальция с индикатором хлорида кобальта.

Для выявления уровня полиморфизма ДНК протестированы 10 ISSR-праймера, результаты 4 праймеров оказались наиболее эффективным и они были отобраны для проведения анализов (Таблица 1).

Анализы выполнены в лаборатории биотехнологии института генетических ресурсов НАН Азербайджана. Ядерное ДНК экстрагировано из замороженных в жидком азоте сухих

листьев (100 мг) методом воздействия цетилтриметиламмоний бромида (ЦТАБ/СТАВ) [12–13].

Таблица 1.

ХАРАКТЕРИСТИКА ISSR ПРАЙМЕРОВ

| Праймер | Нуклеотидная последовательность | Температура амплификации, T_m , °C |
|---------|---------------------------------|--------------------------------------|
| UBC808 | (AG) ₈ C | 48,8 |
| UBC811 | (GA) ₈ C | 46,8 |
| UBC818 | (CA) ₈ G | 51,0 |
| UBC827 | (AC) ₇ C | 49,3 |

Для экстрагирования ДНК–материала использованы 96 образцов, что позволила 96-и тьюбиковая стандартная плата для единовременного анализа (по 32 образца из каждой популяции). На дно каждого тьюбика кладется стальной шарик диаметром 4 мм, сверху — 100 мг сухого листового ДНК материала и сверху второй стальной шарик, закрывается кнопкой-крышкой. Сеть из 96-и тьюбиков на одну минуту погружается в жидкий азот. Замороженный в жидком азоте ДНК материал в течение 15 мин размалывается на генетической мельнице (Geno/Grinder-2000) при 6000 об/мин.

В нагретую на водяной бане в течение 10 мин при температуре 65 °C СТАБ буфер добавляли β-этанол, который после по 0,5 мл добавлялся в каждый тьюбик с размельченной на генетическом вибраторе ДНК смеси. После тщательного перемешивания на генетическом вибраторе в течение одной минуты в режиме 1200 об/мин, 96-и тьюбиковая плата с ДНК материалом инкубировали на водяной бане в течении 10 мин.

После в каждый тьюбик добавлялось по 0,3 мл раствор хлороформ–изомали (24:1) и перемешивалось в течение 10 сек в режиме 500 об/мин с последующей инкубацией в течение 10 мин. После центрифугирования на генетическом вибраторе 15 мин в режиме 6000 об/мин проявляется стратификация (*stratum* — лат., слой, расслоение), т. е. расположение фракций в четко разграниченных слоях. Самый верхний слой содержит ДНК материал, который с помощью электронной пипетки переносится в новую 96-и тьюбиковую плату.

В экстрагированную и очищенную ДНК смесь после перенесения в новый тьюбик добавляется по 0,3 мл изопропанола и после этого инкубируется в холодильной камере при 4 °C (обычно оставляется на ночь). На следующий день проводится центрифугирование в течение 15 мин при 6000 об/мин. После центрифугирования происходит оседание на дно тьюбиков ДНК в виде диска беловатого цвета. Путем осторожного сливания раствора на дне тьюбиков сохранялся беловатый ДНК диск. В каждый тьюбик для промывки ДНК осадка добавлялась 0,5 мл буфер вода, инкубировалась в течение 15 мин, после центрифугировалась 5 мин в режиме 6000 об/мин.

Путем осторожного сливания промывочного раствора на дне тьюбиков сохранялся беловатый диск ДНК, который в открытых тьюбиках оставлялся в вытяжном шкафу для полного высыхания. В каждый тьюбик с высушенным ДНК диском добавлялось по 0,3 мл ТЕ буфер, и этот раствор являлся исходным ДНК материалом для PCRC использованием молекулярных ISSR–праймеров. Исходный ДНК материал был разбавлен до концентрации 5 мг/мл и хранился при температуре +4 °C.

Качество и концентрация исходного ДНК материала оценено электрофорез–методом в геля агарозы. По результатам оценки исходного ДНК материала (прибор NanoDrop 2000) для дальнейших анализов (PCR) было использовано 70 образцов исходного ДНК материала.

Экстрагированный в жидком азоте ДНК материал инкубировали до реакции полимеразы — ПЦР (PCR). ПЦР — быстрый метод получения рестрикционных фрагментов ДНК и не требует использования клеток хозяина (Polymerase chain reaction (PCR)). Каждая (одна) проба для анализов содержала 1 мл 10× буфер *PCR*, 2,5 мл $MgCl_2$, 2,5 мл *dNTP*, 0,04 мл каждого маркера *6FAM*, *HEX* и *NED*, 0,5 мл *UTaq* полимеразы (New England Biolabs), 0,15–0,25 мл ДНК материала.

Объем каждой пробы добавлением dH_2O доводился до 10 мл.

ДНК материал (10 мл) инкубировался до ПЦР при температуре 72 °С.

Для ПЦР использован термоциклер–амплификатор с программным обеспечением заданного температурного режима (Bio–RadPCR).

Термоциклер обеспечивает автоматическом режиме работы при 94 °С в течение 5 мин, сопровождаемый 30 циклами 94 °С в течение 30 сек, 55 °С в течение 30 сек, и 72 °С в течение 40 сек с завершающим циклом 7 мин при 46–51°С в зависимости от праймера.

Все три этапа ПЦР — *денатурация* двойной цепи ДНК, *отжиг* праймеров и *синтез* *Taq*-полимеразой — называются *циклом* реакции. ПЦР является цепной реакцией, потому что число вновь синтезированной ДНК удваивается в каждом новом цикле: на каждом этапе денатурации и «старые», и «новые» цепи являются матрицей для вновь синтезируемых молекул ДНК.

Продолжительность одного цикла ПЦР — 3–5 минут, а общее число циклов 35. Таким образом, вся ПЦР проходит менее чем за 3 часа. В результате ПЦР начальное количество ДНК увеличивается более чем 10^6 раз. В термоциклерах можно задавать определенные условия ПЦР. В зависимости от целей исследований полученная в результате ПЦР ДНК может быть визуализирована, секвенирована, обработана ферментами рестрикции и пр.

Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) использована реакционная смесь, включающая 2 единицы *Tag*-полимеразы, 2,5 мкл стандартного 10× буфера для ПЦР, 25 пМ праймера, 2,5 мМ Mg^{2+} , 0,25 мМ *dNTP*, 5 мкл геномной ДНК. Амплификация проведена в Bio–Rad PCRSYSTEM 9700 по программе: предварительная денатурация 94 °С, 2 мин.; первые пять циклов — 94 °С, 20 сек.; t° отжига, 10 сек.; 72 °С, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах — 94 °С, 5 сек.; t° отжига, 5 сек.; 72 °С, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72°С. Температура отжига в зависимости от праймеров варьировала от 46 до 51 °С.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7% агарозном геле в 1×TBE буфере.

Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе Gel_Doc XR (Bio–Rad Gel Documentation).

Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы QuantityOne в системе гель–документирования Gel_DocXR. Для компьютерной обработки полученные данные представлены в виде матрицы бинарных данных. В ней наличие или отсутствие в спектре одинаковых по размеру фрагментов ДНК рассматривается как состояние 1 или 0 соответственно [9].

Используя метод кластеризации, генотипы лещины из различных популяций по показателям генетического сходства сгруппированы, что нашло свое отражение в дендрограмме (кластере) генетического сходства (и расхождения).

Кластерный анализ выполнен с использованием UPGMA пакета программы PAST Statistics на основе коэффициента сходства П. Жаккара (P. Jaccard, 1901).

Результаты исследований и обсуждение

Оценка 4 микросателлитных повторов показала наличие существенного полиморфизма генотипов лещины в пределах популяций (Таблица 2). Количество идентифицированных фрагментов ДНК составило 42, что соответствует 9–12 локусам на праймер (~10,8). Из идентифицированных 42 фрагментов ДНК 34 (80,95%) являются полиморфными, а 8 (19,05%) — мономорфны.

Количество полиморфных локусов в молекуле ДНК меняется в пределах 7–10. При наименьшем количестве амплифицированных локусов у праймера UBC 811, наибольшее их количество приходится на праймер UBC 827. В зависимости от праймера количество амплифицированных полиморфных локусов меняется в пределах 63–90%. Уровень полиморфизма ISSR праймеров в среднем 86% (75–96%). Среднее значение фактической гетерозиготности (H_0) — 0,359; а ожидаема гетерозиготность (H_E) — 0,414.

По результатам полиморфизма локусов 4 ISSR–праймеров для 70 генотипов лещины из 3 популяций проведен кластер анализ. Построена дендрограмма ISSR локусов, отражающая генетическое сходство (расхождение) генотипов лещины (Рисунок 1). Индекс генетического сходства (ИГС) меняется в пределах 0–1. Наибольшее генетическое расстояние наблюдается между генотипами K32 и G6, у которых ИГС равно 0. Наибольшее генетическое сходство наблюдается между генотипами K3 и K1, а также между G9 и K29, у которых ИГС равна 1.

Таблица 2.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОТИПОВ ЛЕЩИНЫ НА ОСНОВЕ ISSR ПРАЙМЕРОВ

| Праймер | Нуклеотидная последовательность (5'–3') | КАФ | КПФ | ППФ | R_p | H_0 | МЭ | МИ | H_E | ПГИ |
|---------|---|------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| UBC808 | (AG) ₈ C | 10 | 9 | 90 | 7,93 | 0,44 | 8,10 | 3,57 | 0,79 | 96 |
| UBC811 | (GA) ₈ C | 12 | 10 | 83 | 4,75 | 0,23 | 8,33 | 1,98 | 0,47 | 83 |
| UBC818 | (CA) ₈ G | 11 | 7 | 63 | 1,46 | 0,40 | 4,45 | 1,82 | 0,14 | 75 |
| UBC827 | (AC) ₇ C | 9 | 8 | 88 | 2,39 | 0,35 | 7,11 | 2,48 | 0,24 | 90 |
| Общее | — | 42 | 34 | — | — | — | — | — | — | — |
| Среднее | — | 10,5 | 8,5 | 81 | 4,138 | 0,359 | 7,000 | 2,465 | 0,414 | 86 |

Примечание: КАФ — количество амплифицированных фрагментов; КПФ — количество полиморфных фрагментов (аллелей в локусе); ППФ — процент полиморфизма локуса; R_p — индекс полиморфизма праймеров; H_0 — наблюдаемая гетерозиготность (фактическая); МЭ — мультиплексная (множественная) эффективность (полиморфизм локусов, кол-во полиморфных аллелей в локусе); МИ — маркерный индекс; H_E — ожидаемая гетерозиготность; ПГИ — процент генетической изменчивости.

Как видно из Рисунка дендрограмма состоит из 9 кластеров из которых 4 кластера (1, 2, 4 и 9) являются самостоятельными (моноструктурны).

Третий кластер объединяет 8 генотипов лещины, которые представляют Товузскую популяцию. Состоит из 2 субкластеров, из которых — один объединяет генотипы T14, T17 и T21, другой — генотипы T18, T26, T31, T33 и T35. Из сгруппированных в кластере генотипов генетически отдаленными являются T14 и T18 (ИГС 0,464), а наиболее близкими — T31 и T33 (ИГС 0,994).

Очередной, пятый кластер объединяет 4 генотипа, из которых K2 и K27 представляет Кедабекскую, T7 Товузскую и G18 Гекгельскую популяции. Среди этой группировки наиболее отдаленными генотипами выступают K27 и G18 (ИГС 0,471), а наиболее близкими — K2 и K27 (ИГС 0,588).

Шестой кластер сгруппировал 29 генотипов, большинство из которых представляют Гекгельскую (Gx) и Кедабекскую (Kx) популяции. Наибольшее генетическое сходство оценивается между генотипами Кедабекской популяции K18 и K9 при ИГС 0,957; наибольшее генетическое расхождение между генотипами G28 и K31 при ИГС 0,321.

В седьмой кластер объединены 22 генотипа, большинство из которых, как и в шестом кластере, представляют собранные из Гекгель (Gx) и Кедабека (Kx) образцы. Полное генетическое сходство (ИГС 1,00) наблюдается между генотипами K1 и K3, а наибольшее генетическое расхождение — между генотипами K5 и G21 (ИГС 0,332).

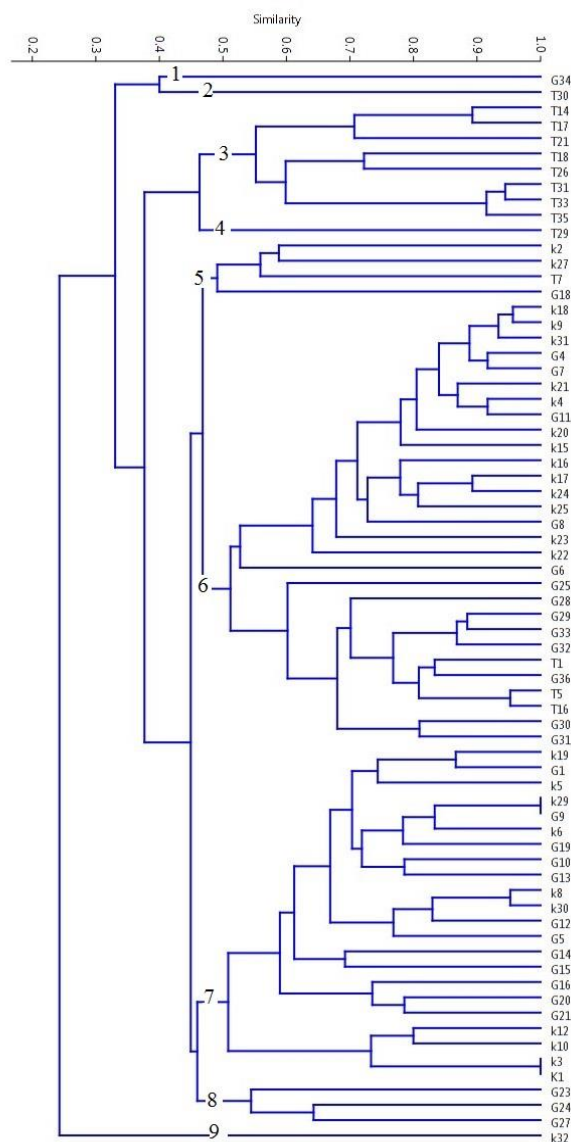


Рисунок. Дендрограмма генетического сходства (и расхождения) генотипов лещины в популяциях.

Восьмой кластер представлен генотипами одной популяции. Здесь сгруппированы 3 генотипа Гекгельской популяции. В этом кластере генетически близкими генотипами выступают G24 и G27 (ИГС 0,643), а генетически отдаленными — G23 и G24 (ИГС 0,533).

Выводы

Информативность примененных ISSR-маркеров позволяет констатировать высокий генетический полиморфизм лещины. Количество полиморфных фрагментов 7–10 с частотой

встречаемости 0,81. Обнаруженный высокий полиморфизм ISSR–маркеров, а также выровненность вычисленной доли полиморфных локусов (изменяется в диапазоне от 0,75–0,96) делает их удобным и информативным инструментом для широкого спектра генетических исследований, на основе которых можно разработать меры по охране и рациональному использованию генетических ресурсов лесного ореха.

Несмотря на то, что популяции дистанционно и орографически достаточно изолированы, что исключает поток генетической информации между ними, результаты кластер–анализа показывает, что генотипы с разных популяций по показателям генетического сходства объединены в общий субкластер. Это объясняется общностью происхождения лещины в популяциях. Этот вид в далеком прошлом был представлен обширным общим ареалом, который в результате геологических процессов (тектонические и вулканические) был разобщен. Произошла гомогенная дизъюнкция сплошного ареала.

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководству и коллективу Института генетических ресурсов НАН Азербайджана за предоставленную возможность и поддержку в проведении молекулярно–генетических анализов.

Список литературы:

1. Гасанов З. М., Ибрагимов З. А., Садыгов Т. Н., Сардарова Д. И., Ализаде Р. А. Дикорастущие сородичи орехоплодных культур на Малом Кавказе в пределах Азербайджана // Современное садоводство. 2016. №1 (17). С. 36-52.
2. Ibrahimov Z. A., Nabiev V. R., Sadigov E. N., Alizade R. A. Wild nut-bearing plants: protection and rational use of the gene pool // Methodical recommendations. ASAU. Ganja. 2016. 40 p.
3. Биганова С. Г., Сухоруких Ю. И., Исушева Т. А. Генофонд лещины обыкновенной и перспективы ее разведения в Республике Адыгея // Садоводство и виноградарство. 2014. №4. С. 28-32.
4. Ibrahimov Z. A. Walnut (*Juglans regia*) biodiversity and cultivations. Baku, 2015. 408 p.
5. Honig J. A., Muehlbauer M. F., Capik J. M., Kubik C., Vaiciunas J. N., Mehlenbacher S. A., Molnar T. J. Identification and Mapping of Eastern Filbert Blight Resistance Quantitative Trait Loci in European Hazelnut Using Double Digestion Restriction Site Associated DNA Sequencing // Journal of the American Society for Horticultural Science. 2019. V. 144. №5. P. 295-304. <https://doi.org/10.21273/JASHS04694-19>
6. Yilmaz M. Pomological, morphological and molecular characterization of some hazelnut varieties and genotypes. 2009.
7. Ибрагимов З. А. Генетические центры происхождения *Juglans regia* и мировое производство орехов // Аграрная наука. 2010. №7. С. 17-20.
8. Hedrick P. Genetics of populations. Jones & Bartlett Learning, 2011.
9. Янбаев Ю. А., Боронникова С. В., Ахметов А. Р., Нечаева Ю. С., Пришневская Я. В. Информативность ISSR–маркеров для выявления генетического разнообразия клена остролистного на Южном Урале // Вестник Оренбургского государственного университета. 2014. №6 (167). С. 94-97.
10. Aradhya M. K., Manshardt R. M., Zee F., Morden C. W. A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region // Genetic Resources and Crop Evolution. 1999. V. 46. №6. P. 579-586. <https://doi.org/10.1023/A:1008786531609>

11. Сухоруких Ю. И., Биганова С. Г. Полиморфизм качественных признаков лещины обыкновенной на Северо-Западном Кавказе // Новые технологии. 2013. №3. Р. 115-124.
12. Stanford A. M., Harden R., Parks C. R. Phylogeny and biogeography of Juglans (Juglandaceae) based on matK and ITS sequence data // American Journal of Botany. 2000. V. 87. №6. P. 872-882. <https://doi.org/10.2307/2656895>
13. CTAB, PCR and SSR protocols (2007). Analysis methods. NCGR USDA ARS, UC Davis, CA. 4 p.

References:

1. Hasanov, Z. M., Ibragimov, Z. A., Sadigov, T. N., Sardarova, D. I., & Alizade, R. A. (2016). Wild relatives of Nut Species in Lesser Caucasus of Azerbaijan. *Sovremennoe sadovodstvo*, (1), 36-52 (in Russian).
2. Ibrahimov, Z. A., Nabiev, V. R., Sadigov, E. N., & Alizade, R. A. (2016). Wild nut-bearing plants: protection and rational use of the gene pool. Methodical recommendations. ASAU. Ganja. 40.
3. Biganova, S. G., Sukhorukikh, Y. I., & Isusheva, T. A. (2014). Gene pool of *Corylus pontica* K. Koch and its breeding prospects in the Republic of Adygea. *Gardening and viticulture*, (4), 28-32. (in Russian).
4. Ibrahimov, Z. A. (2015). Walnut (*Juglans regia*) biodiversity and cultivations. Baku, 408.
5. Honig, J. A., Muehlbauer, M. F., Capik, J. M., Kubik, C., Vaiciunas, J. N., Mehlenbacher, S. A., & Molnar, T. J. (2019). Identification and Mapping of Eastern Filbert Blight Resistance Quantitative Trait Loci in European Hazelnut Using Double Digestion Restriction Site Associated DNA Sequencing. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 144(5), 295-304. <https://doi.org/10.21273/JASHS04694-19>
6. Yilmaz, M. (2009). Pomological, morphological and molecular characterization of some hazelnut varieties and genotypes.
7. Ibrahimov, Z. A. (2010): Genetic centers of *Juglans regia* origin and world nuts production. *Agrarian science*, (7), 17-20. (in Russian).
8. Hedrick, P. (2011). Genetics of populations. Jones & Bartlett Learning.
9. Yanbaev, Y. A., Boronnikova, S. V., Akhmetov, A. R., Nechaeva, Y. S., & Prishvinskaya, Y. V. (2014). ISSR-markers as a tool for investigations of population Genetic diversity: a case study of the Norway maple (*Acer platanoides* L.). *Vestnik of the Orenburg State University*, 6(167), 94-97. (in Russian).
10. Aradhya, M. K., Manshardt, R. M., Zee, F., & Morden, C. W. (1999). A phylogenetic analysis of the genus *Carica* L. (Caricaceae) based on restriction fragment length variation in a cpDNA intergenic spacer region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46(6), 579-586. <https://doi.org/10.1023/A:1008786531609>
11. Sukhorukikh, Yu. I., & Biganova, S. G. (2013). Polimorfizm kachestvennykh priznakov leshchiny obyknovennoi na Severo-Zapadnom Kavkaze [Polymorphism of qualitative features of hazelnut in the north West Caucasus]. *Novye tekhnologii*, (3), 115-124. (in Russian).
12. Stanford, A. M., Harden, R., & Parks, C. R. (2000). Phylogeny and biogeography of Juglans (Juglandaceae) based on matK and ITS sequence data. *American Journal of Botany*, 87(6), 872-882. <https://doi.org/10.2307/2656895>

13. CTAB, PCR and SSR protocols (2007). Analysis methods. NCGR USDA ARS, UC Davis, CA. 4.

*Работа поступила
в редакцию 14.09.2019 г.*

*Принята к публикации
19.09.2019 г.*

Ссылка для цитирования:

Ибрагимов З. А., Ализаде Р. А. Генетический полиморфизм *Corylus avellana* L. на Малом Кавказе в пределах Азербайджана // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №10. С. 40-49. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/05>

Cite as (APA):

Ibragimov, Z., & Alizade, R. (2019). Genetic Diversity *Corylus avellana* L. in Lesser Caucasus of Azerbaijan. *Bulletin of Science and Practice*, 5(10), 40-49. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/47/05> (in Russian).