

И. И. Коршиков, А. А. Слепых
Донецкий ботанический сад НАН Украины

АЛЛОЗИМНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR* L.) НА ПРИМЕРЕ ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ В ДОНЕЦКОЙ ОБЛАСТИ

Изучена генетическая изменчивость двух популяций дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Донецкой области на основе 8 аллозимных локусов. Определены значения основных параметров генетического разнообразия и дифференциации популяций. Все локусы оказались полиморфными. Ожидаемая гетерозиготность (H_E) варьировала от 0,285 до 0,288. Межпопуляционный показатель дифференциации (F_{ST}) между исследуемыми популяциями, в среднем, составил 0,030. Вопреки тому, что данные популяции пространственно изолированы, а также растут в области, которая испытывает на себе наибольшее антропогенное воздействие по стране, исследуемые популяции отличались довольно высокими уровнями генетической изменчивости по исследуемым локусам.

Введение

Важнейшая количественная и качественная составляющая популяции — это генетическая структура, стабильно воспроизводимая в панмиктических популяциях в пространстве и во времени [1, 2]. Она во многом определяется уровнем полиморфизма и степенью благоприятности среды обитания. Частоты аллелей и генотипов, группирование особей на генетически близкие образования и связь между ними в череде поколений — основные характеристики генетической структуры популяции [3]. Стратегия лесной генетики и селекции должна строиться на познании механизмов поддержания устойчивости и высокой продуктивности природных популяций. Центральное место в такой стратегии занимает дифференциация популяций в соответствии с биологией вида и оценка внутривидовой изменчивости в различной биогеоценотической группировке [5, 6].

Дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) — аборигенный вид и одна из главных лесообразующих пород Европы, его естественный ареал распространяется на большую часть территории Украины. *Q. robur* в разнообразных, часто контрастных условиях рельефа, почв и климата — от Приатлантической Европы до сухих степей Заволжья — обнаруживает высокую изменчивость таксономических признаков [7]. Имеет высокий адаптационный потенциал, которому способствует дальний перенос пыльцы до 50–80 км [4, 12]. Однако, в настоящее время, отмечается деградация и массовое усыхание дубрав

практически во всех частях ареала вида. В связи с этим возникшая проблема восстановления дубрав осложняется периодичностью плодоношения *Q. robur* и трудностями закладки лесосеменных плантаций [8]. Учитывая специфику Донецкого региона, отличающегося высокой антропогенной нагрузкой, проблема сохранения и восстановления дубовых насаждений и краевых популяций здесь сопряжено с определенными сложностями. Следует отметить, что популяционно-генетическое разнообразие *Q. robur* на территории Украины изучено фрагментарно в отличие от западноевропейской части его ареала. Краевые популяции, находящиеся на юго-востоке Украины и расположенные вне зоны экологического оптимума, где возможен дрейф генов, до недавнего времени находились вне поля зрения популяционных генетиков. Изучение генетической структуры небольших изолированных популяций *Q. robur* в юго-восточной Украине является актуальным по причине, вызванной комплексом неблагоприятных климатических и усиливающихся антропогенных факторов. Успех в исследовании генетических причин и последствий этого явления возможен при использовании методов молекулярной биологии и эффективных генетических маркеров, среди которых, наиболее популярными остаются аллозимы [10, 14].

Изоферментный анализ успешно используется с конца 50-х годов 20 века как эффективный инструмент во многих сферах генетических исследований.

Изоферменты являются на сегодняшний день очень информативными генетическими маркерами, несмотря на быстрое развитие методов анализа ДНК. С помощью изоферментов можно получать точную генетическую информацию за короткое время. По сравнению с морфологическими признаками проявление электрофоретической изменчивости не зависит от условий среды, отражает различия непосредственно в генотипах особей [15, 16].

Цель исследования — выяснение генетической структуры *Q. robur* в Донецкой области на примере 2-х популяций при помощи аллозимных генетических маркеров.

Материалы и методы

Для выделения изоферментов использованы почки, взятые в марте 2014 года в двух популяциях *Q. robur*: из 25 деревьев Регионального ландшафтного парка (РЛП) «Зуевский» (с. Зуевка)

и из 22 деревьев пгт Ольгинка. Расстояние между популяциями — 94 км (Рис. 1). Выделяемые из почек ферменты электрофоретически разделяли в 7,5% полиакриламидном геле с использованием трис-глициновой буферной системы (рН 8,3). Для идентификации электрофореграмм использовалась стандартная методика Пракаша [25], а также методические рекомендации по изучению изоферментов дуба черешчатого *Q. robur* и дуба скального *Q. petraea* (Matt.) Liebl. [13].

Гистохимическое проявление зон активности осуществляли для следующих ферментных систем: алкогольдегидрогеназа (ADH) (КФ 1.1.1.1), глутаматдегидрогеназа (GDH) (КФ 1.4.1.2), глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT) (КФ 2.6.1.1), диафороза (DIA) (КФ 1.8.1.4.), формиатдегидрогеназа (FDH) (КФ 1.2.1.2.), кислая фосфатаза (ACP) (КФ 3.1.3.2.), лейцинаминопептидаза (LAP) (КФ 3.4.11.1).



Рис. 1. Месторасположение изучаемых популяций *Q. robur* L. в Донецкой области

Определяли такие показатели, как: доля полиморфных локусов (P), среднее число аллелей на локус (A), ожидаемая (H_E) и наблюдаемая гетерозиготность (H_O), коэффициент инбридинга (F), уровень межпопуляционной дифференциации (F_{ST}), генетическое расстояние Нея между популяциями (D_N). Статистическая обработка результатов анализа осуществлена с применением компьютерных программ *GenAlEx* [23] и *GENRES* [24].

Результаты и обсуждения

Ниже представлены описания выбранных изоферментов для анализа *Q. robur*, а также характер их проявления на гелевых пластинках.

Глутаматоксалоацетаттрансаминаза (GOT) — фермент катализирующий трансаминирование аминокислот (высвобождении NH_3), превращение оксалоацетата в аспартат. Вторым продуктом реакции является α -кетоглутарат.

На гелевых пластинках в нашем исследовании изоферментный спектр глутаматоксалоацетаттрансаминазы четко представлен в виде одной зоны активности Got-1, которая имеет 4 аллеля Got-1^{0.85}, Got-1^{1.00}, Got-1^{1.10}, Got-1^{1.20}.

Глутаматдегидрогеназа (GDH) считается одним из наиболее изученных ферментов белкового обмена, который катализирует обратимую реакцию превращения L-глутаминовой кислоты в α -кетоглутаровую. На стадии α -кетоглутаровой кислоты в цикле трикарбоновых кислот может иметь место выход этой кетокислоты из круга и превращение её в L-глутаминовую кислоту посредством аминирования за счёт свободного аммиака или обратимой реакции переаминирования.

При гистохимическом окрашивании проявляется одна зона активности фермента Gdh, которая контролируется одним локусом с четырьмя аллелями Gdh^{1.00} и Gdh^{1.10}, Gdh^{1.20}, Gdh^{1.30}. Стоит отметить, что аллель Gdh-1^{1.30} наблюдается только в РЛП «Зуевский».

Диафораза (DIA) — фермент класса оксидоредуктаз, катализирующий реакцию восстановления амидопировой кислоты в амид-дегидролипоевую кислоту; принимает участие в обмене энергии и дыхания клетки растений.

Электрофоретический спектр данного фермента четко представлен в виде одной зоны активности Dia-1, с двумя аллелями: Dia-1^{1.00/1.00} и Dia-1^{1.20}.

Кислая фосфатаза (ACP) — фермент, катализирующий гидролиз ортофосфорных моноэфиров

с отщеплением фосфатной группы, проявляющий оптимальную активность в кислой среде.

На гелевых пластинках четко наблюдается один локус фермента Acp-1, представленный четырьмя аллелями: Acp-1^{0.95}, Acp-1^{1.00}, Acp-1^{1.10} и Acp-1^{1.20}. В литературе описывается до четырех зон активности этого фермента, а интерпретируется, как правило, лишь одна, наиболее четкая [21].

Лейцинаминопептидаза (LAP) — представитель группы пептидаз, гидролизующих концевые NH_2 -пептидные связи. Этот фермент получил широкое распространение в природе как популяционно-генетический маркер. Фермент действует в первую очередь на пептиды, у которых аминокислота на N-конце имеет не замкнутую в кольцо боковую цепь. Установлено, что лейцинаминопептидаза у *Q. robur* характеризуется наличием одного локуса Lap [20]. Данный фермент представлен в изученных популяциях 3 аллелями: LAP^{0.95}, LAP^{1.00}, LAP^{1.05}.

Алкогольдегидрогеназа (ADH) — фермент класса дегидрогеназ, которая катализирует окисление спиртов и ацеталей до органических соединений карбонильной группы — альдегидов и кетонов.

Локализуется на геле в виде двух зон, которые контролируются двумя локусами: Adh-1 и Adh-2 [32]. Оба локуса Adh представлены у *Q. robur* тремя аллелями: Adh-1^{0.85}, Adh-1^{1.00}, Adh-1^{1.15}.

Формиатдегидрогеназы (FDH) представляют собой набор ферментов, которые катализируют окисление формиата-иона до углекислого газа. При окрашивании гелевых пластинок у *Q. robur* проявляется одна зона активности, которая кодируется одним локусом — Fdh. Этот локус был представлен тремя аллелями: Fdh^{0.80}, Fdh-1^{1.00} и Fdh-1^{1.20}. Аллель Fdh^{0.80} отсутствовал в зуевской популяции. У гетерозигот локуса Fdh, как правило, образуется трехполосный фенотип.

Обе популяции *Q. robur* отличались достаточно высоким уровнем изменчивости (табл. 1).

Исследуемые ферменты у *Q. robur* были все полиморфными. Среднее число аллелей можно считать высоким, так как полученные показатели для дубрав в Донецкой области выше, чем сообщается для покрытосеменных ($A=2,10$) и коренных ($A=2,27$) видов, растений лесной и лесостепной зон ($A=2,58$), распространяющих семена автобарохорным способом (вследствие опадения семян под влиянием гравитации) ($A=2,48$) [28]. Что касается ожидаемой гетерозиготности, то выявленные

значения H_E (0,285–0,288) сравнимы с таковыми в насаждениях Германии (0,247–0,321), России (европейская часть лесостепи) (0,227–0,318) и значительно превышают величины H_E , установленные для насаждений из Республики Марий Эл (0,162–0,184) и Финляндии (0,188), Италии (0,214–0,253), Франции (0,250), Белорусского

Полесья (0,217–0,243) [17–19, 22, 26–31]. Отрицательные значения коэффициента инбридинга Райта говорят о запасе гетерозигот в исследуемых популяциях. Избыток гетерозигот в исследуемых популяциях *Q. robur* подтверждают отрицательные средние значения коэффициентов F_{IS} и F_{IT} (табл. 2).

1. Значение основных показателей генетической изменчивости в популяциях *Q. robur* в Донецкой области

Популяция	Доля полиморфных локусов, P	Среднее число аллелей на локус, A	Гетерозиготность*		Коэффициент инбридинга, F
			ожидаемая H_E , $M \pm m$	наблюдаемая H_O , $M \pm m$	
РЛП «Зуевский»	1,00	2,750	0,288 ± 0,064	0,270 ± 0,041	-0,017
Ольгинка	1,00	2,875	0,285 ± 0,054	0,301 ± 0,063	-0,074

* Примечания: M — среднее; $\pm m$ — стандартное отклонение

2. Параметры F-статистики Райта для двух популяций *Q. robur* в Донецкой области

Локус	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Dia-1	-0,061	-0,046	0,014
Adh-1	-0,135	-0,126	0,008
Adh-2	-0,138	-0,135	0,002
Lap	0,076	0,121	0,048
Got-1	0,362	0,398	0,056
Gdh	-0,240	-0,114	0,101
Fdh	-0,121	-0,119	0,002
Asp-1	-0,128	-0,118	0,009
Среднее	-0,048	-0,018	0,030

Анализируя показатели F-статистики Райта у *Q. robur*, можно сделать вывод, что 97% генетической изменчивости, у 2-х изученных популяций в Донецкой области, реализуется внутри популяций. На долю межпопуляционной составляющей приходится 3% ($F_{ST}=0,030$). Генетическое расстояние (D_N) между 2 популяциями, рассчитанное по частотам аллелей 8 локусов, составило 0,026.

Достоверные отличия фактического распределения генотипов от теоретически ожидаемого, согласно закону Харди-Вайнберга в исследуемых популяциях *Q. robur* для популяций пгт Ольгинка касаются только локуса Got-1, а для РЛП «Зуевский» — для локусов Got-1 и Lap. Существенная аллельная

гетерогенность в исследуемых популяциях *Q. robur* имела место только по двум локусам — Got-1 и Gdh. Достоверные различия при анализе гетерогенности генотипов не обнаружены.

Выводы

Таким образом, изученные небольшие изолированные популяции *Q. robur* в Донецкой области характеризуются сравнительно высоким уровнем генетического разнообразия, но слабой дифференциацией. Это свойственно для *Q. robur* и в других частях его ареала [4, 33]. Для более объективной оценки генетического разнообразия *Q. robur* на юго-востоке Украины необходимы исследования

большого количества популяций с использованием большего числа ген-ферментных систем.

Перечень ссылок

1. Семеригов Л. Ф. Популяционная структура древесных растений (на примере видов дуба европейской части СССР и Кавказа) / Л. Ф. Семеригов. — М.: Наука, 1986. — 140 с.
2. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов — Изд. 3-е. — М.: Академкнига, 2003. — 432 с.
3. Мудрик Е. А. Динамика генетической структуры природных популяций некоторых видов семейства *Rinasciae* Lindl. в Украине: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.15 / Мудрик Елена Анатольевна. — Донецк, 2006. — 200 с.
4. Petit R. J. Chloroplast DNA variation in European white oaks / R. J. Petit, U. M. Csaikl, S. Bordács // Forest Ecology and Management. — 2002. — Vol. 156, № 1–3. — P. 5–26.
5. Майр Э. Популяции, виды, эволюция / Э. Майр. — М.: Мир, 1974. — 460 с.
6. Вавилов Н. И. Линнеевский вид как система (доклад V Международному ботаническому конгрессу в Кембридже, август 1930 г.) / Н. И. Вавилов // Труды по прикл. бот., ген. и сел. — 1931. — Т. 26, № 3. — С. 109–134.
7. Семеригов Л. Ф. Изменчивость дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) на восточной границе ареала / Л. Ф. Семеригов // Экология. — 1976. — № 5. — С. 13–21.
8. Карпеченко К. А. Изучение метаболизма плюсовых деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) / К. А. Карпеченко, И. Ю. Карпеченко, О. А. Землянухина и др. // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 1 (2). — С. 287–291.
9. Савушкина И. Г. Содержание некоторых тяжелых металлов в листьях дубов, маркированных по случайно амплифицированной полиморфной ДНК / И. Г. Савушкина, В. В. Оберемок, А. П. Симчук // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. — Симферополь: ТНУ, 2004. — С. 24–29.
10. Sambrook J. Molecular Cloning: Laboratory Manual. / J. Sambrook, E. F. Fritisch and T. Maniatis. — N.Y.: Cold Spring Harbour Univ. Press, 1989. — 1626 p.
11. Bailey J. K. Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic-level interactions / Joseph K. Bailey, Stuart C. Wooley, Richard L. Lindroth and Thomas G. Whitham // Ecology letters. — 2006. — Vol. 9, № 1. — P. 78–85.
12. Buschbom J., Yanbaev Y., Degen B. Efficient Long-Distance Gene Flow into an Isolated Relict Oak Stand / Jutta Buschbom, Yulay Yanbaev and Bernd Degen // Journal of Heredity. — 2011. — Vol. 102, № 4. — P. 464–472.
13. Bund-Län-der-Arbeitsgruppe “Erhaltung forstlicher Genressourcen”, Selbstverlag.
14. Konnert M. Anleitung für Isozymuntersuchungen bei Stieleiche (*Quercus robur*) und Traubeneiche (*Quercus petraea*): Anleitungen zur Trennmethodik und Auswertung der Zymogramme / Monika Konnert, Martin Fromm und Thomas Wimmer // Bayerisches Amt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht (ASP). — Teisendorf: Stieleiche, 2004. — S. 1–19.
15. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений / Е. В. Левитес; Отв. ред. С. И. Малецкий. — Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1986. — 144 с.
16. Gregorius H. — R. The attribution of phenotypic variation to genetic or environmental variation in ecological studies / H. — R. Gregorius // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations: Proceedings of the joint meeting of the IUFRO working parties Genetic aspects of air pollution (Grosshansdorf, August 3–7, 1987) / [Eds. F. Scholz, H. — R. Gregorius and D. Rudin]. — Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1989. — P. 3–15.
17. Gregorius H. — R. The importance of genetic multiplicity for tolerance of atmospheric pollution / H. — R. Gregorius // Genetic effects of air pollutants in forest tree populations: Proceedings of the joint meeting of the IUFRO working parties Genetic aspects of air pollution (Grosshansdorf, August 3–7, 1987) / [Eds. F. Scholz, H. — R. Gregorius and D. Rudin]. — Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1989. — P. 163–172.
18. Kleinschmit J. R. G. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.) / J. R. G. Kleinschmit, R. Bacilieri, A. Kremer and A. Rolof // Silvae Genetica. — 1995. — Vol. 44, № 5/6. — P. 256–269.
19. Mattila A. Genetic variation in English oak (*Quercus robur* L.) in Finland / A. Mattila, A. Pakkanen, P. Vakkari and J. Raisio // Silva Fennica. — 1994. — Vol. 28, № 4. — P. 251–256.
20. Samuel R. Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from eastern Austria / R. Samuel, W. Pinsker and F. Ehrendorf // Bot. Acta. — 1995. — Vol. 108, № 4. — P. 290–299.
21. Ковалевич А. И. Рекомендации по генетической инвентаризации объектов лесосеменной базы и их

- использованию: утв. М-вом лесного хозяйства Респ. Беларусь 06.03.12 / А. И. Ковалевич и др. — Минск, 2012. — 50 с.
22. Curtu A. L. Genetic variation and differentiation within a natural community of five oak species (*Quercus* spp.). / A. L. Curtu, O. Gailing, L. Leinemann, and R. Finkeldey // *Plant Biology*. — 2007. Vol. 9, № 1. — P. 116–126.
 23. Zanetto A. Inheritance of isozymes in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). / A. Zanetto, A. Kremer, G. Muller-Starck and H. H. Hattemer // *Journal of Heredity* 1996, — Vol. 87, № 5. — P. 364–370.
 24. Peakall R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / Rod Peakall and P. E. Smouse // *Molecular Ecology Notes* 2006, — Vol. 6, № 1. — P. 288–295.
 25. Демкович А. Е. Программа «Genres» для анализа данных популяционно-генетических исследований хвойных / А. Е. Демкович // *Пром. ботаника*. — 2007. — Вып. 7. — С. 33–36.
 26. Prakash S. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations: IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura* / Satya Prakash, R. C. Lewontin, and J. L. Hubby // *Genetics*. — 1969. — Vol. 61, № 4. — P. 841–858.
 27. Ducouso A. Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. / A. Ducouso, H. Michaud and R. Lumaret // *Annals of Forest Science*. — 1993. — Vol. 50, № Supplement. — P. — 91s–106s.
 28. Kremer A. Gene diversity in natural populations of oak species / A. Kremer and R. J. Petit // *Annals of Forest Science*. — 1993. — Vol. 50, № Supplement. — P. 186s–202s.
 29. Hamrick J. L. Allozyme diversity in plant species / J. L. Hamrick and M. J. W. Godt // *Plant population genetics, breeding, and genetic resources* / [Eds. A. H. D. Brown, M. T. Clegg, A. L. Kahler, and B. S. Weir]. — Sunderland: Sinauer Associates, 1989. — P. 43–63.
 30. Янбаев Ю. А. Естественное возобновление дуба черешчатого на северо-восточной границе ареала / Ю. А. Янбаев, А. А. Габитова, Ю. Бушбом и др. // *Аграрная Россия (Специальный выпуск: Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы дендрэкологии и адаптации растений», посвященной 80-летию со дня рождения профессора Юрия Захаровича Кулагина)*. — 2009. — С. 16–17.
 31. Бушбом Ю. Динамика генетического разнообразия во времени в изолированной популяции дуба черешчатого *Quercus robur* L. (*Fagaceae*) / Ю. Бушбом, Ю. А. Янбаев, Б. Деген, А. А. Габитова // *Генетика*. — 2012. — Т. 48, № 1. — С. 135–137.
 32. Каган Д. И. Популяционно-генетическая структура дуба черешчатого в лесосеменных плантациях и насаждениях белорусского полесья: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.03.01 «Лесные культуры, селекция, семеноводство» / Д. И. Каган; Государственное научное учреждение «Институт леса Национальной академии наук Беларуси» — Гомель. — 2012. — 23 с.
 33. Карпеченко Н. А. Анализ белкового спектра ферментов метаболических путей и инвертированных повторов ДНК в популяции древесных растений дуба черешчатого, произрастающих в лесостепи Европейской части Российской Федерации: дис. канд. ... биол. наук: 03.01.04 «Биохимия» / Никита Александрович Карпеченко; Воронежский государственный университет. — Воронеж, 2014. — 137 с.
 34. Yakovlev I. A. Genetic variability of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in the left-bank part of the Mari El Republic / I. A. Yakovlev, D. Gömöry, L. Paule and V. V. Starodubceva // *Russian journal of Genetics*. — 1999. — Vol. 35, № 7. — P. 790–796.
- Рекомендував до друку Опалко А. І.
- Коршиков І. І., Слепих О. О.
Донецький ботанічний сад НАН України
- ### АЛЛОЗИМНА МІНЛИВІСТЬ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR* L.) НА ПРИКЛАДІ ДВОХ ПОПУЛЯЦІЙ В ДОНЕЦЬКІЙ ОБЛАСТІ
- Вивчена генетична мінливість у двох популяціях дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в Донецькій області на основі 8 алозимних локусів. Визначено основні параметри генетичного різноманіття та диференціації популяцій. Всі локуси виявились поліморфними. Очікувана гетерозиготність (H_E) варіювала від 0,285 до 0,288. Міжпопуляційний показник диференціації (F_{ST}) між досліджуваними популяціями, в середньому, склав 0,030. Всупереч тому, що дані популяції розташовані ізольовано, а також в області, яка потерпає від найбільшого антропогенного навантаження в країні, досліджувані популяції характеризувались досить високими рівнями генетичної мінливості за вивченими локусами.

I. I. Korshykov, O. O. Slepkyh
Donetsk Botanical Garden of the NAS of Ukraine

ALLOZYME VARIABILITY OF ENGLISH OAK (*QUERCUS ROBUR* L.) IN TWO POPULATIONS IN DONETSK REGION

The genetic variability in two populations of English oak (*Quercus robur* L.) in the Donetsk region based on 8 allozyme loci was studied. The basic parameters of genetic diversity and differentiation of populations were determined. All loci examined were polymorphic. Expected heterozygosity (H_E) ranged from 0.285 to 0.288. Interpopulational rate differentiation (F_{ST}) between study populations, on average, amounted to 0,030. The study populations were characterized by quite high levels of genetic variability at the loci studied despite the fact that these populations spatially isolated and grows in an area that suffers from greatest anthropogenic impact on the country.