

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kollątaja w Krakowie

Sprawozdanie końcowe z realizacji projektu:

**Identyfikacja genetyczna taksonów modrzewia obcych
dla flory Tatrzańskiego Parku Narodowego**

Projekt sfinansowano ze środków funduszu leśnego Państwowego Gospodarstwa Leśnego Lasy Państwowe przekazanych Tatrzańskiemu Parkowi Narodowemu w roku 2017.



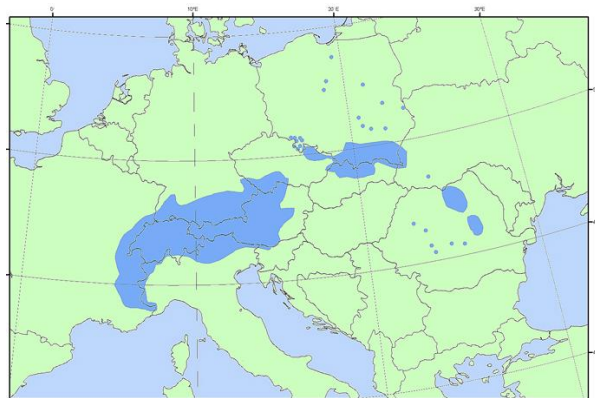
Kraków 2017r.

Spis treści

1. Wstęp i cel pracy	3
3. Materiał i metody	5
3.1. Zbiór materiału do badań	5
3.2. Analiza genetyczna	6
3.2.1. Identyfikacja gatunkowa modrzewia	6
3.2.2. Identyfikacja podgatunkowa modrzewia	7
4. Wyniki	10
4.1. Identyfikacja genetyczna gatunków obcych dla flory Tatrzańskiego Parku Narodowego	10
4.1. Identyfikacja przynależności podgatunkowej modrzewia europejskiego	16
5. Podsumowanie i wnioski końcowe	22
6. Literatura	23
7. Aneks	24

1. Wstęp i cel pracy

Modrzew europejski (*Larix decidua* Mill.) jest to gatunek o charakterze pionierskim, związany z klimatem kontynentalnym, odporny na wysokie wahania temperatury, ogień i wiatr. W Europie ma charakter endemiczny i cechuje się stosunkowo niewielkim, silnie podzielonym zasięgiem występowania (Ryc. 1). Największy i najbardziej zwarty fragment występuje w Alpach. W części północno – wschodniej zasięgu modrzew spotykany jest w Sudetach, w rejonie Gór Świętokrzyskich, w Karpatach Zachodnich (Tatry) oraz w Karpatach Wschodnich, gdzie obejmuje ostoje małe i bardzo pofragmentowane. Izolacja poszczególnych wysp zasięgowych doprowadziła do wytworzenia się lokalnych ras, nazywanych niekiedy klimatypami lub ekotypami i opisywanymi jako samodzielne taksony, nawet w randze podgatunków. Obecnie przyjmuje się, że modrzew europejski w szerokim pojęciu – *L. decidua* sensu lato obejmuje dwa podgatunki: subsp. *decidua* – modrzew europejski charakterystyczny dla Alp i Tatr (z dodatkowo dwoma wyróżnianymi odmianami: var. *sudetica* z Sudetów i var. *adenocarpa* z Tatr) oraz subsp. *polonica* – modrzew polski charakterystyczny dla rejonu Gór Świętokrzyskich. W Tatrach modrzew spotykany jest przede wszystkim w górnych partiach regla górnego, przy górnej granicy lasu. Pojedyncze drzewa, lub nawet skupienia drzew można spotkać również powyżej górnej granicy lasu w kosodrzewinie oraz w niższych położeniach górskich, wśród skałek reglowych, zwykle w towarzystwie sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.). Modrzew sudecki rośnie wyłącznie w reglu dolnym, zaś modrzew polski ma mniejszy zasięg i występuje najczęściej w piętrze pogórza i na niżu zwłaszcza w regionie świętokrzyskim. Występujące na terenie Polski taksony modrzewia, nie różnią się pod względem cech morfologicznych, wykazując jedynie odmienność cech adaptacyjnych, wzrostowych oraz odpornościowych na uprawach doświadczeń proveniencyjnych tego gatunku.



Ryc. 1. Zasięg występowania modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.) w Europie (www.euforgen.pl)

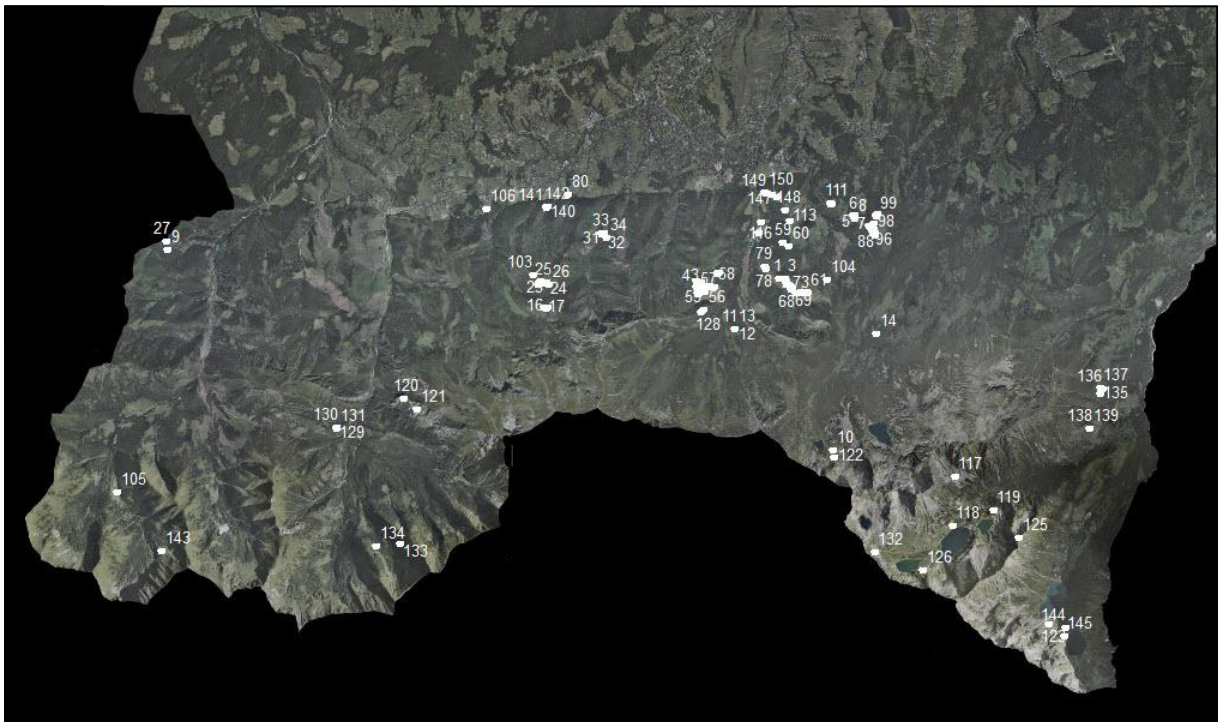
Tatry są jedynym w Karpatach masywem o typowo alpejskim układzie siedlisk. Odrębność geomorfologiczna oraz swoistość tatrzańskiego klimatu przyczyniły się do wytworzenia siedlisk i formacji roślinnych charakterystycznych jedynie dla tego regionu. Historia obecności modrzewia w lasach tatrzańskich jest burzliwa i odwzorowuje tendencje gospodarcze minionych lat. Gatunek ten, ze względu na cechy drewna, stanowił cenny materiał dla rozwijającego się w XVIII i XIX wieku hutnictwa, budownictwa oraz górnictwa. Nie oparł się również ekspansywnej gospodarce pasterskiej. Konsekwencją tych działań było niemal całkowite usunięcie tego gatunku z terenów dostępnych człowiekowi, a naturalne ostoje zachowały się jedynie w wyższych położeniach gór, w miejscach odizolowanych i trudno dostępnych. W XX wieku rozpoczęło się masowe i często niekontrolowane wprowadzanie do lasów tatrzańskich świerka, jodły oraz modrzewia, których pochodzenie nie zostało niestety udokumentowane. Działania te spowodowały, że na teren Tatrzańskiego Parku Narodowego (TPN) sprowadzono taksony obce dla flory Tatr, a nawet Polski. Doniesienia literaturowe (Madeyski 1974) wskazują, że w ramach nasadzeń wprowadzano wówczas prawdopodobnie modrzewia japońskiego (*Larix kaempferi* (Lambert) Carricre). Gatunek ten cechuje się również łatwością krzyżowania z modrzewiem europejskim, tworząc trudne do zidentyfikowania na podstawie cech morfologicznych mieszańce, określane jako modrzew eurojapoński (*Larix x eurolepis* Henry). Obecnie najlepszym dostępnym narzędziem identyfikacji, jak również weryfikacji gatunkowej i podgatunkowej modrzewia jest polimorfizm sekwencji DNA.

Celem pracy była genetyczna weryfikacja doniesień o występowaniu w drzewostanach Tatrzańskiego Parku Narodowego obcych dla Polski taksonów modrzewia, takich jak: modrzew japoński i modrzew eurojapoński oraz weryfikacja występowania obcych dla Tatr taksonów modrzewia sudeckiego, polskiego oraz alpejskiego.

3. Materiał i metody

3.1. Zbiór materiału do badań

Zbiór uigłonych pędów dokonano w lipcu i sierpniu 2017r. z 48 drzew zlokalizowanych w większości w rejonie górnej granicy lasu oraz w reglu górnym na obszarze całego Tatrzańskiego Parku Narodowego. Ze względu na trudną lokalizację stanowisk, znajdujących się poza obszarem łatwo dostępnym dla człowieka oraz ze względu na wiek drzew sięgający według szacunków często ok. 100 lat, grupa ta uznawana jest za modrzewie naturalnego pochodzenia. Próbki zebrano również z 96 drzew z rejonu Doliny Strążyskiej, Doliny Jaworzynki, Uplązu Kalackiego i Kopieńca (po ok. 24 próbki/lokalizację). Są to populacje co, do których istniało podejrzenie, że są taksonami obcymi dla flory Tatr, pochodzącymi ze sztucznych nasadzeń z połowy XX wieku. Lokalizację drzew, z których pobrano materiał do badań DNA przedstawia rycina 2. Mapę wykonano w programie ArcGIS 10.5.1 firmy ESRI na podkładzie ortofotomapy GEOPORTALU (www.geoportal.gov.pl). Charakterystykę poszczególnych drzew zawarto w tabeli A1 zamieszczonej w Aneksie.



Ryc. 2. Lokalizacja geograficzna drzew wytypowanych do zbioru materiału badawczego z terenu Tatrzańskiego Parku Narodowego.

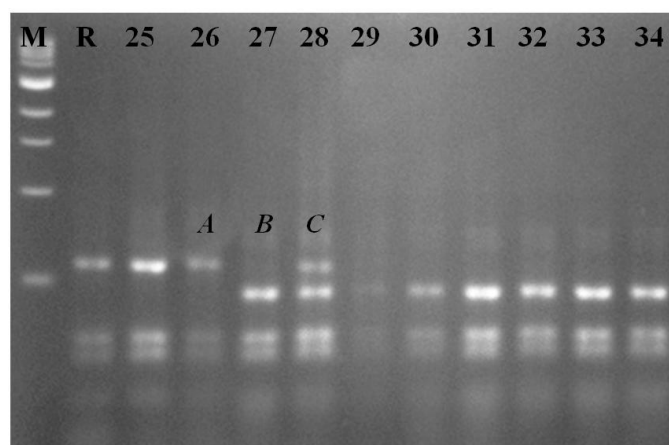
3.2. Analiza genetyczna

Zebrane próby opisano i zabezpieczono, a następnie przewieziono do laboratorium. Kolekcję zgromadzonych do analiz próbek ze 144 osobników, powiększono o 4 dodatkowe zebrane z terenu Tatrzańskiego Parku Narodowego w ramach działalności naukowo-badawczej tej jednostki. Dla każdej próbki część pobranego materiału biologicznego została wysuszona w obecności żelu krzemionkowego, a część zamrożona w stanie świeżym. Izolację DNA wykonano z wykorzystaniem gotowego kitu do izolacji DNA EURx, według metodyki podanej przez producenta. Po izolacji i określeniu wydajność ekstrakcji DNA próbki zostały zabezpieczone do dalszych analiz.

3.2.1. Identyfikacja gatunkowa modrzewia

Do identyfikacji gatunkowej modrzewia europejskiego, modrzewia japońskiego i modrzewia eurojapońskiego wykorzystano polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych genu *rbcL* zlokalizowanego w chloroplastowym DNA z zastosowaniem starterów dostępnych w literaturze (Petit i in. 1998) i enzymu restrykcyjnego TaqI (Thermo Fisher Scientific) tzw. chloroplastowy marker II-TaqI (Petit i in. 1998, Acheré i in. 2004, Jagielska 2008). Amplifikacja DNA (PCR ang. *Polymerase Chain Reaction*) obejmowała: denaturację wstępną (94°C, 6 min), amplifikację właściwą (94°C, 45 s; 55°C, 45 s; 70°C 3 min 30 s) powtarzaną w 35 cyklach oraz syntezę końcową (72°C, 10 min). Skład mieszaniny reakcyjnej PCR zawierał 10 µl RedTaqReady Mix (Sigma-Aldrich), 2 µl mieszanki starterów (5 µM Z1 + 5 µM Z1351R), 2 µl DNA oraz 6 µl H₂O. Fragmenty DNA po amplifikacji oczyszczono i poddano trawieniu enzymem restrykcyjnym TaqI (Thermo Fisher Scientific). Mieszaninę składającą się z 2,5µl enzymu wraz z buforem TaqI (Thermo Fisher Scientific) oraz 10 µl produktu PCR inkubowano przez 60 minut w temperaturze 65⁰C. Uzyskane po trawieniu fragmenty DNA rozdzielano podczas elektroforezy w 1,5% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny (0,5mg/ml).

Sposób interpretacji otrzymanych obrazów elektroforetycznych przedstawia rycina 3. W analizach jako próbę referencyjną (R) wykorzystano osobnika modrzewia japońskiego z Arboretum Wirty w Nadleśnictwie Kaliska. W badaniach nie wykorzystano próbki referencyjnej w postaci modrzewia eurojapońskiego, gdyż nie udało się znaleźć hybrydy, o potwierdzonej tożsamości gatunkowej. Nie miało to jednak wpływu na sposób interpretacji otrzymanych wyników. Wykorzystanie jako próby referencyjnej modrzewia japońskiego było wystarczające, aby bezbłędnie interpretować otrzymane elektroforogramy, zgodnie z metodyką przyjętą w literaturze (Acheré i in. 2004, Jagielska 2008).



Ryc. 3. Przykładowy obraz rozdziału elektroforetycznego produktów PCR po trawieniu DNA enzymem restrykcyjnym drzew o numerach 25-34. Próbką A - modrzew japoński, B - modrzew europejski, C - modrzew eurojapoński, M – marker wielkości, R – próbka referencyjna.

3.2.2. Identyfikacja podgatunkowa modrzewia

Genotypy wszystkich osobników zostały określone przy użyciu 11 wysoce polimorficznych loci mikrosatelitarnych jądrowego DNA wybranych na podstawie wcześniejszych opracowań (Wagner i in. 2012, Wagner 2013), których charakterystykę przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Charakterystyka loci mikrosatelitarnego DNA.

Locus	Sekwencja primerów (5' – 3')	Znacznik fluorescencyjny	Źródło
LD50	F: GAAGGCGACTTTACATGCC R: TCCATCTTTATGTCTCTTCCATGC	PET	Wagner 2012
LD56	F: AGCCATCGTGGTTCTTCTTTG R: CTTGTAAGTGTGCACCCACC	PET	Wagner 2012
bcLK189	F: ACCATACGCATACCCAATAGA R: AGTTTTCTTTCCACACAAT	NED	Isoda & Watanabe 2006
bcLK211	F: CCATTCTCCATAGGTTTCATTG R: ATGCTCCTTACTAAGTCAGATACAC	NED	Isoda & Watanabe 2006
LD31	F: TTGAACTAGGGAGATCCGGC R: AATAAAAATAGCATTCCATGTGTAGC	FAM	Wagner 2012
LD45	F: TGTGGGAGGTATAGCTTGGC R: AGTAGGATGGAATGATGGAAACAC	FAM	Wagner 2012
bcLK229	F: ATGCCCAAAAACGAAAAAGT R: TTTGCACTGCCAGATTCAGA	PET	Isoda & Watanabe 2006
bcLK228	F: CCCTAACCTAGAAATCCAATAA R: GAGGAAGGCGACAAGTCATT	PET	Isoda & Watanabe 2006
LD101	F: ACACCAAGGACTCTCTGACTAC R: GGTGATTCCAGAAGCAGGTG	VIC	Wagner 2012
bcLK263	F: CGATTGGTATAGTGGTCATTGT R: CCATCATACTTCTTGAAGAG	NED	Isoda & Watanabe 2006
LD 42	F: TCGTATGCATTGTCCAAATTTCC R: TCCAAGTGAGGTCACACGAG	FAM	Wagner 2012

Reakcję amplifikacji (PCR) genomowego DNA wykonano dla dwóch zestawów multipleks. Amplifikacja DNA obejmowała denaturację wstępną (95°C, 15 min), amplifikację właściwą (94°C, 30 s; 56°C, 1 min; 72°C 1 min) powtarzaną w 32 cyklach oraz syntezę końcową (60°C, 30 min). Skład mieszanin reakcyjnych dla poszczególnych multipleksów przedstawiają tabele 2 i 3. Produkty PCR zostały rozdzielone w automatycznym sekwenatorze ABI 3130XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), ze standardem wielkości LIZ600. Identyfikacja długości fragmentów poszczególnych alleli została przeprowadzona przy użyciu programu GENOTYPER 3.7.

Tabela 2. Skład mieszaniny reakcyjnej (Multipleks1).

	Ilość w μ l	Stężenie wyjściowe	Stężenie w reakcji
MMM	5	2x	1x
BSA	0,5	10 mg/ml	0,5 mg/ml
LD 50	0,2	5 mM	100 nM
LD 56	0,2	5 mM	100 nM
bcLK189	0,25	5 mM	125 nM
bcLK211	0,4	5 mM	200 nM
LD 31	0,2	5 mM	100 nM
LD 45	0,2	5 mM	100 nM
DNA	1	10 ng/ μ l	10 ng/ μ l
H ₂ O	0,6	-	-

Tabela 3. Skład mieszaniny reakcyjnej (Multipleks2).

	Ilość w μ l	Stężenie wyjściowe	Stężenie w reakcji
MMM	5	2x	1x
BSA	0,5	10 mg/ml	0,5 mg/ml
bcLK 229	0,25	5 mM	125 nM
bcLK 228	0,25	5 mM	125 nM
bcLK 263	0,3	5 mM	150 nM
LD 101	0,3	5 mM	150 nM
LD 42	0,25	5 mM	125 nM
DNA	1	10 ng/ μ l	10 ng/ μ l
H ₂ O	0,8	-	-

W celu identyfikacji przynależności podgatunkowej modrzewia europejskiego występującego na terenie Tatrzańskiego Parku Narodowego dokonano porównania z 1071 genotypów referencyjnych z pracy Wagner i in. (2015) oraz drzew z TPN zidentyfikowanych jako modrzew europejski. Do analiz porównawczych wybrano 9 loci (Ld101, Ld31, Ld42, Ld45, Ld50, Ld56, bcLK189, bcLK211, bcLK263). Dokonano rekaliibracji nazw alleli badanych osobników z TPN, tak, by symbole odpowiednich alleli odpowiadały symbolom alleli danych z pracy Wagner i in. (2015).

Analizy przeprowadzono za pomocą programu STRUCTURE (v.2.3.4) (Pritchard i in. 2000). Analizy obejmowały 100 000 wstępnych iteracji oraz 500 000 głównych iteracji, w oparciu o model admiksji. Identyfikację przynależności podgatunkowej modrzewia europejskiego wykonano w dwóch wariantach.

W pierwszym wariacie założono istnienie struktury 2 głównych subpopulacji ($K=2$), tzn. grupy alpejskiej oraz grupy środkowoeuropejskiej. Przypisanie do danego klastra uznawano za jednoznaczne, jeśli prawdopodobieństwo przypisania wynosiło $>0,750$; jako prawdopodobne, gdy prawdopodobieństwo przypisania wynosiło $0,600-0,750$; oraz jako niejednoznaczne, gdy zawierało się w zakresie $0,400-0,600$.

W drugim wariacie założono istnienie 7 subpopulacji. Dzięki informacji o przyporządkowaniu poszczególnych osobników z pracy Wagner i in. (2015) do jednego z siedmiu klastrów (1-4 populacje alpejskie; 5-7 populacje środkowoeuropejskie), możliwe było zidentyfikowanie każdego z 7 klastów wygenerowanych za pomocą programu STRUCTURE. W tym przypadku przypisanie do danego klastra uznawano za jednoznaczne, jeśli prawdopodobieństwo przypisania do danego klastra było większe o $0,100$ niż przypisanie do kolejnego klastra. W przeciwnym wypadku uznawano przypisanie, jako niejednoznaczne.

4. Wyniki

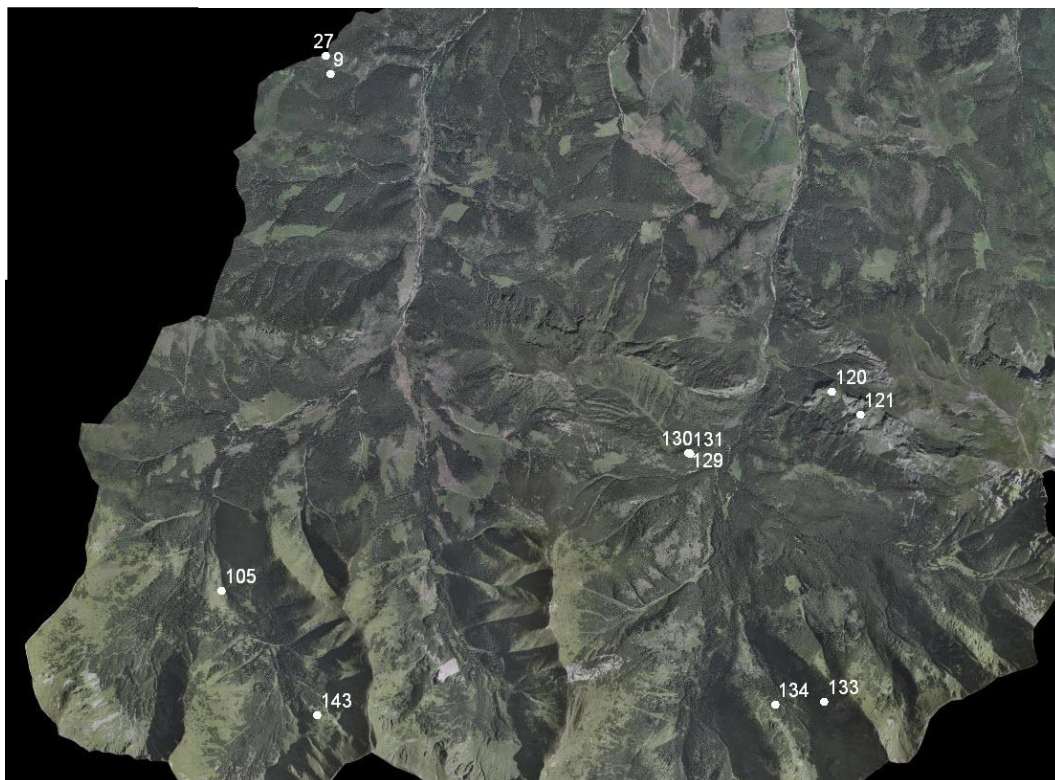
4.1. Identyfikacja genetyczna gatunków obcych dla flory Tatrzańskiego Parku Narodowego

Identyfikacja gatunkowa z wykorzystaniem polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych markera II-TaqI chloroplastowego DNA wykazała, że łącznie dla 148 próbek zebranych na terenie TPN, 105 to modrzewie europejskie, 38 modrzewie japońskie, a 5 - modrzewie eurojapońskie. Szczegółowe wyniki przedstawia tabela 4.

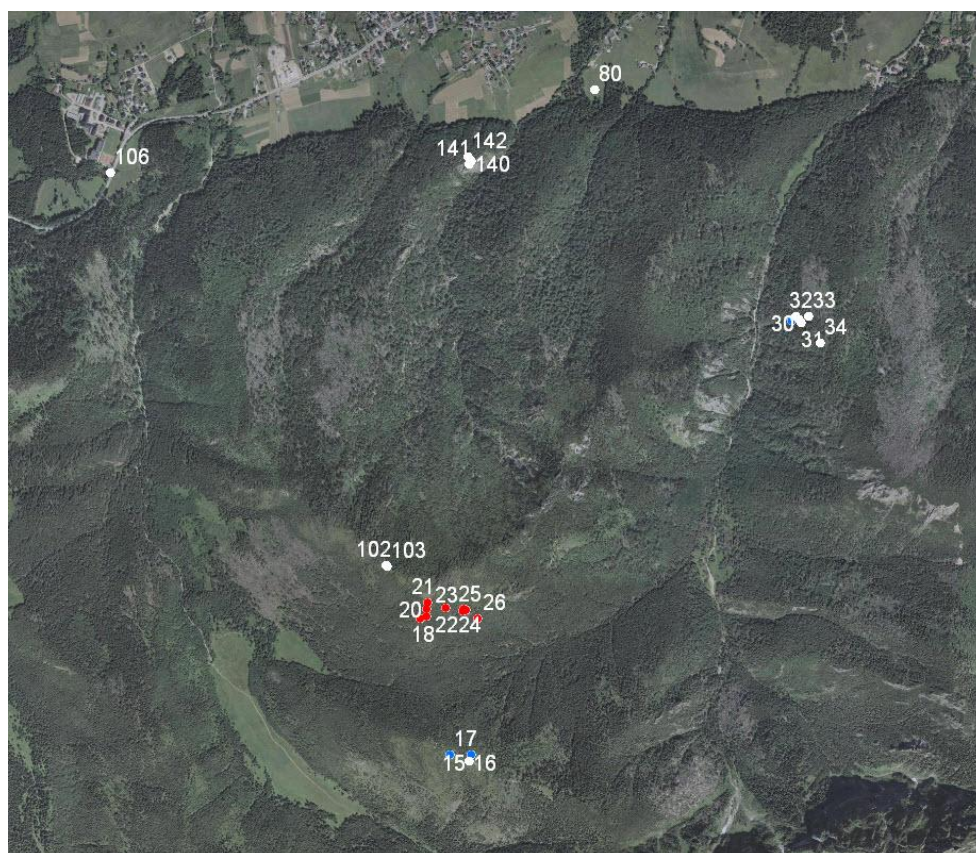
W grupie 48 modrzewi, typowanych przy pobieraniu prób, jako naturalne, analiza wykazała obecność zaledwie jednego modrzewia japońskiego, zlokalizowanego przy Morskim Oku (próbka nr 123). Badania potwierdziły wcześniejsze doniesienia literaturowe, co do obecności taksonów obcych dla flory Tatr w regionie Doliny Strążyskiej, Doliny Jaworzynki, Uplazu Kalackiego i Kopiańca. W grupie 100 modrzewi, co do których istnieje duże prawdopodobieństwo, że pochodzą z nasadzeń sztucznych, stwierdzono obecność 58 modrzewi europejskich, 37 m. japońskich i 5 m. eurojapońskich. Osobniki stanowiące mieszańce (*Larix x eurolepis*) występowały w rejonie Doliny Strążyskiej (próbki nr 15, 17 i 28) oraz Doliny Jaworzynki (próbki nr 62 i 63). Najwięcej, bo aż 13 modrzewi japońskich zweryfikowano w regionie Kopiańca (próbki nr 8, 81-83, 85, 93, 94, 97, 100, 101, 109, 111 oraz 124). W Dolinie Strążyskiej i okolicznych reglach odnotowano 9 osobników tego gatunku (próbki nr 18-26 i 108). Pozostałe osobniki tego gatunku znajdowały się w regionie Dolinki Jaworzynki – 7 sztuk (próbki nr 2, 67, 71, 73, 74, 76 i 79); Nosala i Kuźnic 5 sztuk (próbki nr 112-114 oraz 116), Uplazu Kalackiego – 2 sztuki (próbki nr 48 i 51) oraz w rejonie Tatr Wysokich (próbka nr 14). Geograficzną lokalizację poszczególnych drzew wyróżnionych taksonów przedstawiają ryciny 4 – 10.

Tabela 4. Identyfikacja taksonomiczna modrzewi z Tatrzańskiego Parku Narodowego

Nr próby	<i>L. decidua</i>	<i>L. kaempferi</i>	<i>L. x eurolepis</i>	Nr próby	<i>L. decidua</i>	<i>L. kaempferi</i>	<i>L. x eurolepis</i>	Nr próby	<i>L. decidua</i>	<i>L. kaempferi</i>	<i>L. x eurolepis</i>
1	+			64	+			128	+		
2		+		65	+			129	+		
3	+			66	+			130	+		
4	+			67		+		131	+		
5	+			68	+			132	+		
6	+			69	+			133	+		
7	+			70	+			134	+		
8		+		71		+		135	+		
9	+			72	+			136	+		
10	+			73		+		137	+		
11	+			74		+		138	+		
12	+			75	+			139	+		
13	+			76		+		140	+		
14		+		78	+			141	+		
15			+	79		+		142	+		
16	+			80	+			143	+		
17			+	81		+		144	+		
18		+		82		+		145	+		
19		+		83		+		147	+		
20		+		84	+			148	+		
21		+		85		+		149	+		
22		+		86	+			150	+		
23		+		87	+						
24		+		88	+						
25		+		89	+						
26		+		90	+						
27	+			91	+						
28			+	92	+						
29	+			93		+					
30	+			94		+					
31	+			95	+						
32	+			96	+						
33	+			97		+					
34	+			98	+						
35	+			99	+						
36	+			100		+					
37	+			101		+					
38	+			102	+						
39	+			103	+						
40	+			104	+						
41	+			105	+						
42	+			106	+						
43	+			107	+						
44	+			108		+					
45	+			109		+					
46	+			110	+						
47	+			111		+					
48		+		112		+					
49	+			113		+					
50	+			114		+					
51		+		115	+						
52	+			116		+					
53	+			117	+						
54	+			118	+						
55	+			119	+						
56	+			120	+						
57	+			121	+						
58	+			122	+						
59	+			123		+					
60	+			124		+					
61	+			125	+						
62			+	126	+						
63			+	127	+						

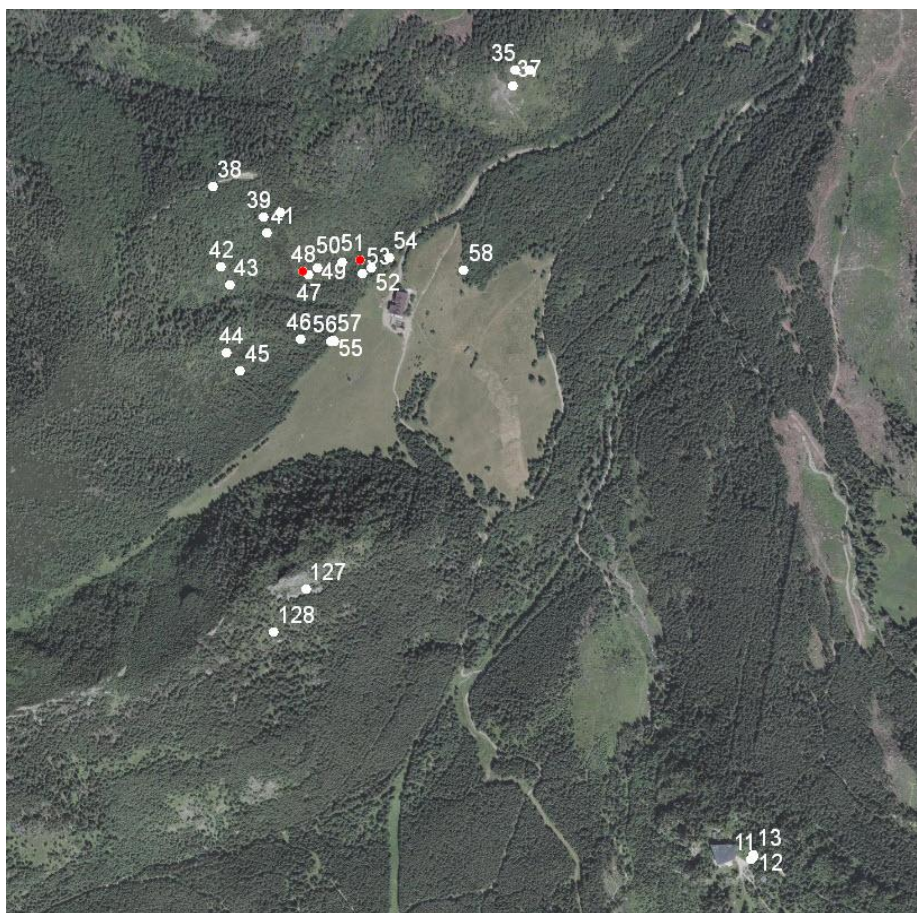


Rycina 4. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w zachodniej części Tatr Zachodnich.

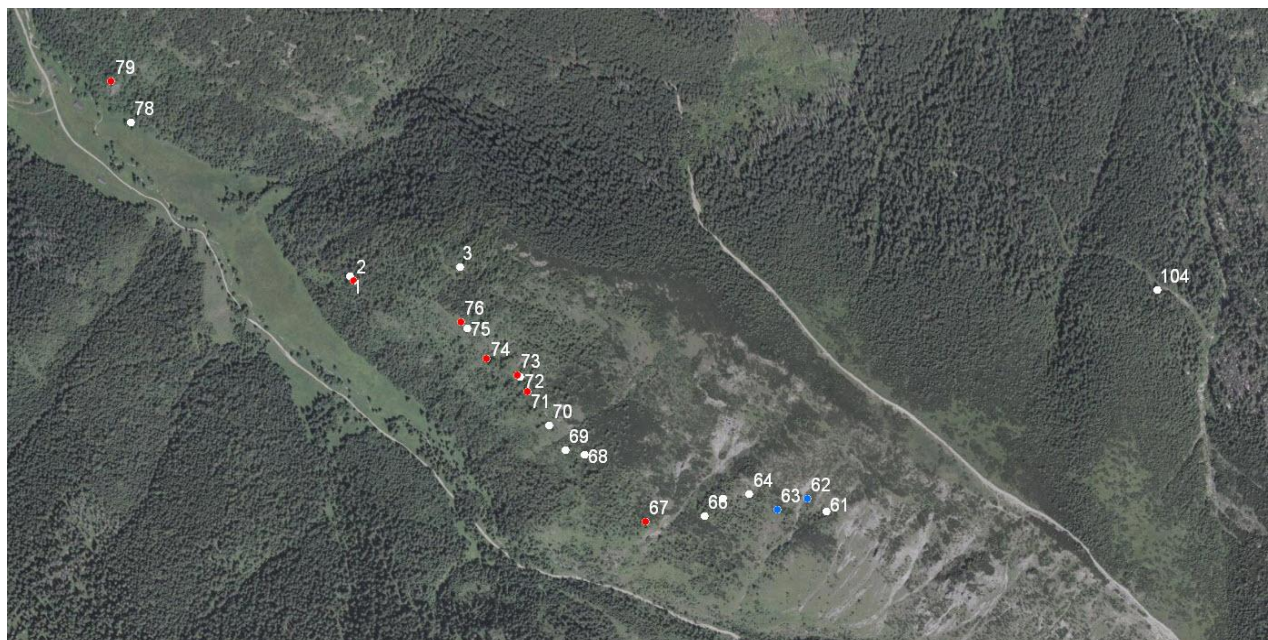


Rycina 5. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Doliny Strážyskiej i okolicznych regli.

○	<i>Larix decidua</i>
●	<i>Larix kaempferi</i>
●	<i>Larix eurolepis</i>

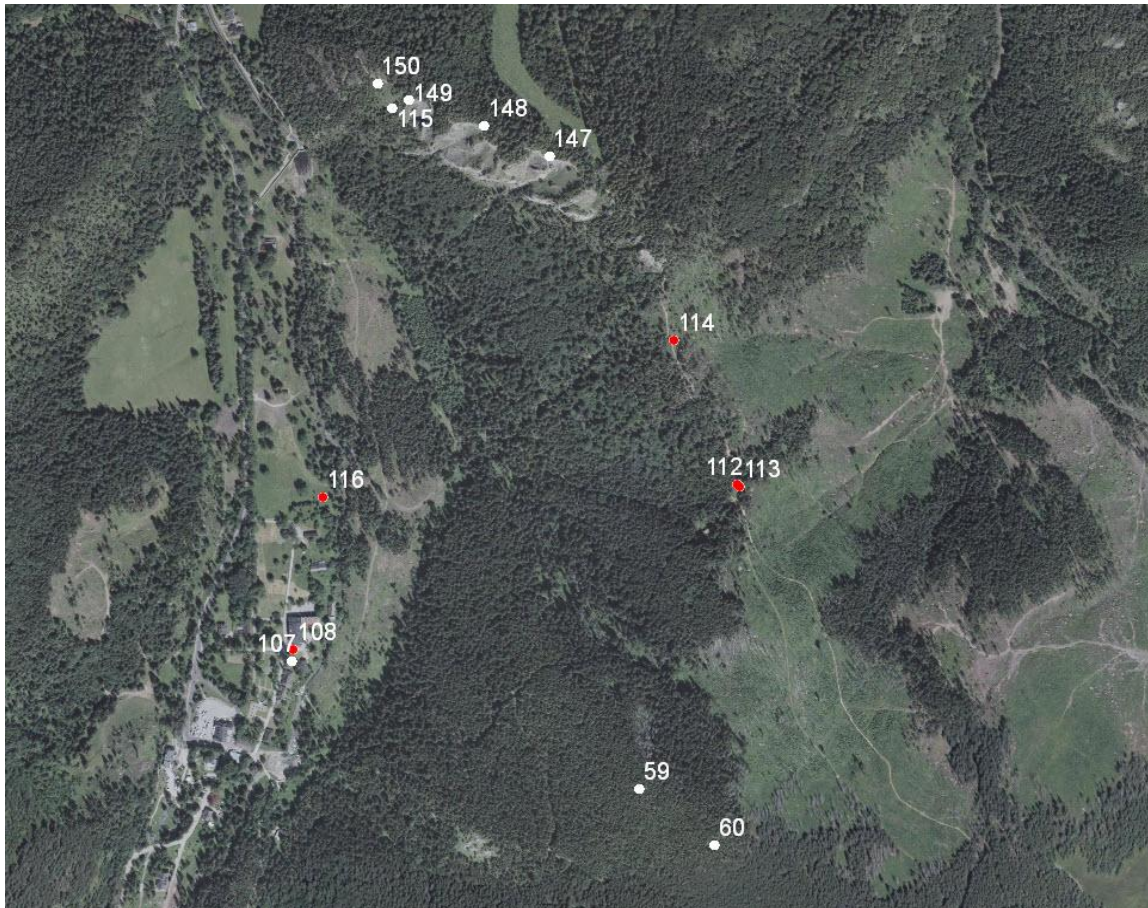


Rycina 6. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Uplazu Kalackiego.

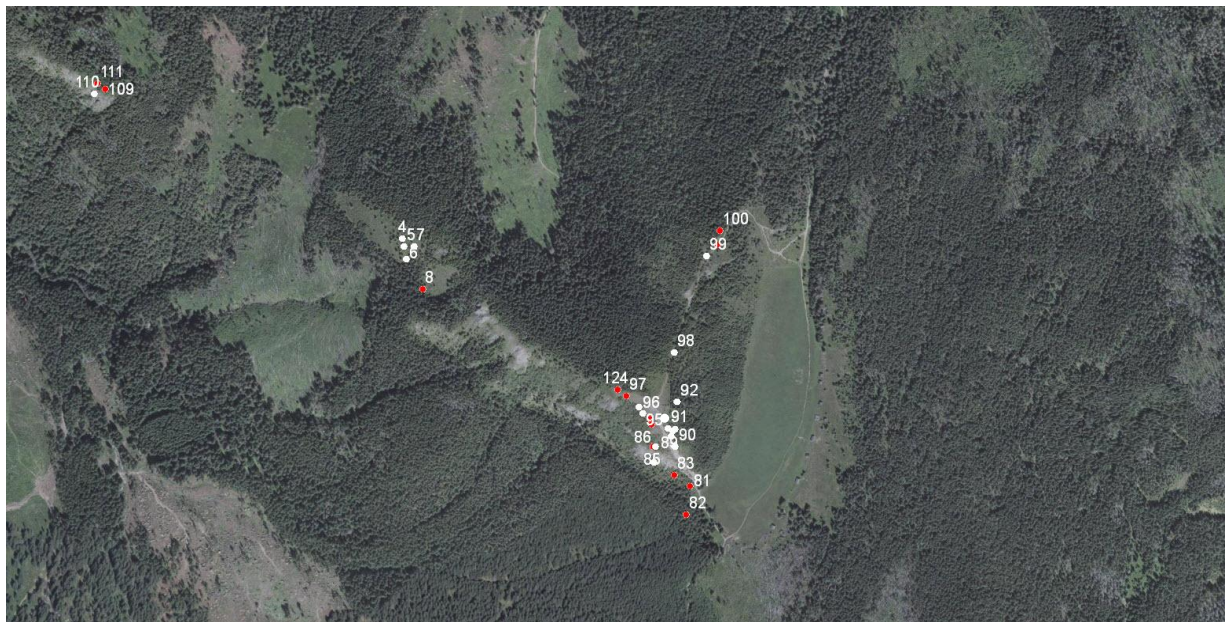


Rycina 7. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Doliny Jaworzynki.

○	<i>Larix decidua</i>
●	<i>Larix kaempferi</i>
●	<i>Larix eurolepis</i>

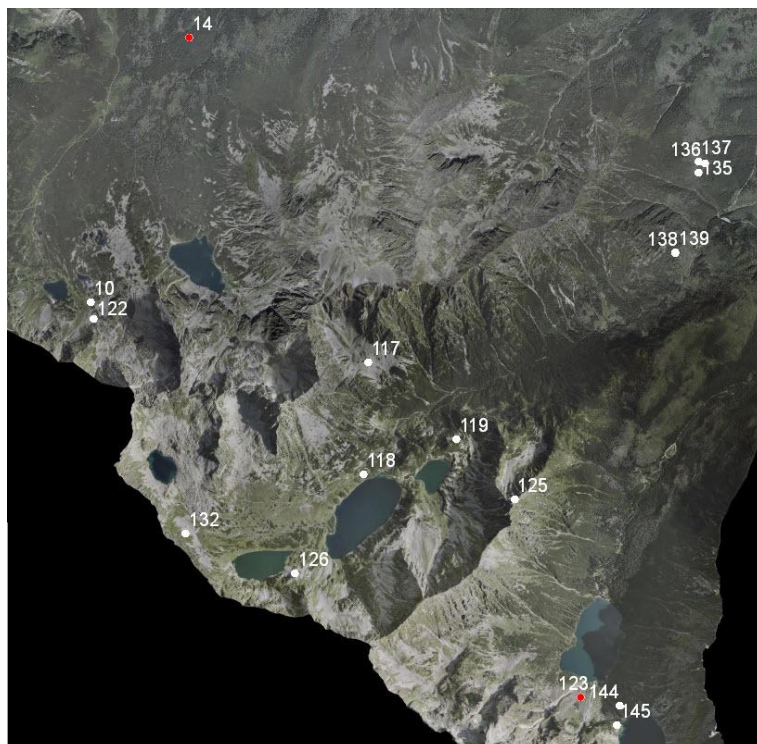


Rycina 8. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Nosala i Kuźnic.



Rycina 9. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Kopiańca.

○	<i>Larix decidua</i>
●	<i>Larix kaempferi</i>
●	<i>Larix eurolepis</i>



Rycina 10. Lokalizacja modrzewi objętych badaniami w rejonie Tatr Wysokich.

○	<i>Larix decidua</i>
●	<i>Larix kaempferi</i>
●	<i>Larix eurolepis</i>

4.1. Identyfikacja przynależności podgatunkowej modrzewia europejskiego

W celu identyfikacji przynależności podgatunkowej dokonano porównania 1071 genotypów z pracy Wagner i in. (2015) oraz 105 zidentyfikowanych osobników modrzewia europejskiego.

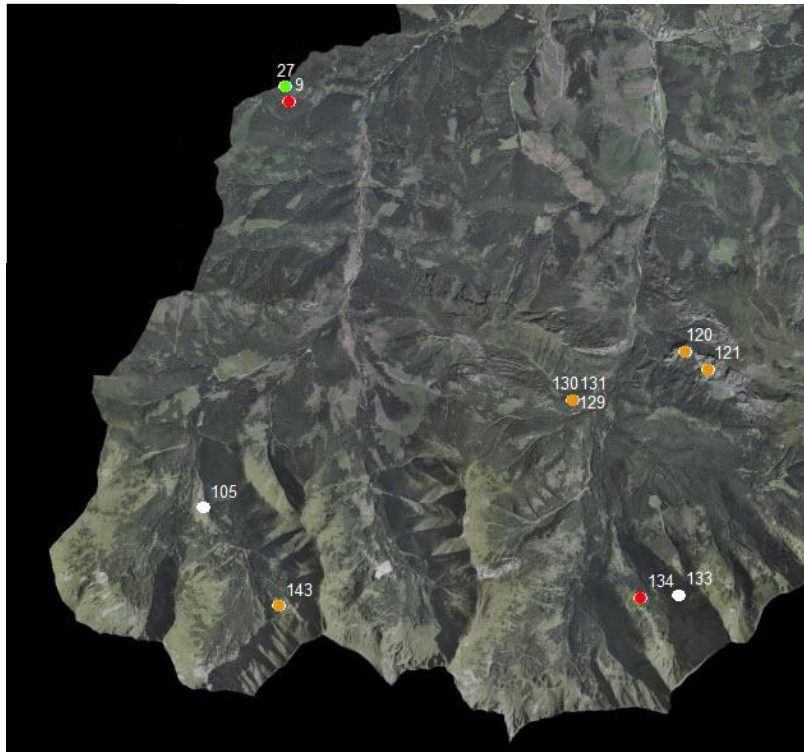
Spośród badanych drzew, 40 osobników przypisano do klastra K1 (pochodzenia alpejskie) ze średnią wartością prawdopodobieństwa przypisania 0,866, a 58 osobników przypisano do klastra K2 (pochodzenia środkowoeuropejskie) wartością prawdopodobieństwa przypisania 0,860.

Analiza przypisania poszczególnych osobników do jednego z siedmiu regionów wykazała, że spośród 105 analizowanych modrzewi 2 drzewa należą do klastra 1 (Alpy Zachodnie), 24 do klastra 2 (Alpy Środkowo-Zachodnie), 6 do klastra 3 (Alpy Środkowo-Wschodnie), 7 do klastra 4 (Alpy Wschodnie), 22 do klastra 5 (Sudety), 31 do klastra 6 (Karpaty Północne) oraz 5 osobników do klastra 7 (Karpaty Wschodnie). Średnia wartość prawdopodobieństwa przypisania wynosiła 0,631. Łącznie 39 osobników przypisano do klastrów k1-k4 (pochodzenia alpejskie), natomiast 58 osobników przypisano do klastrów k5-k7 (pochodzenia środkowoeuropejskie). Wartości te potwierdzają przypisanie do dużych grup (K1, K2).

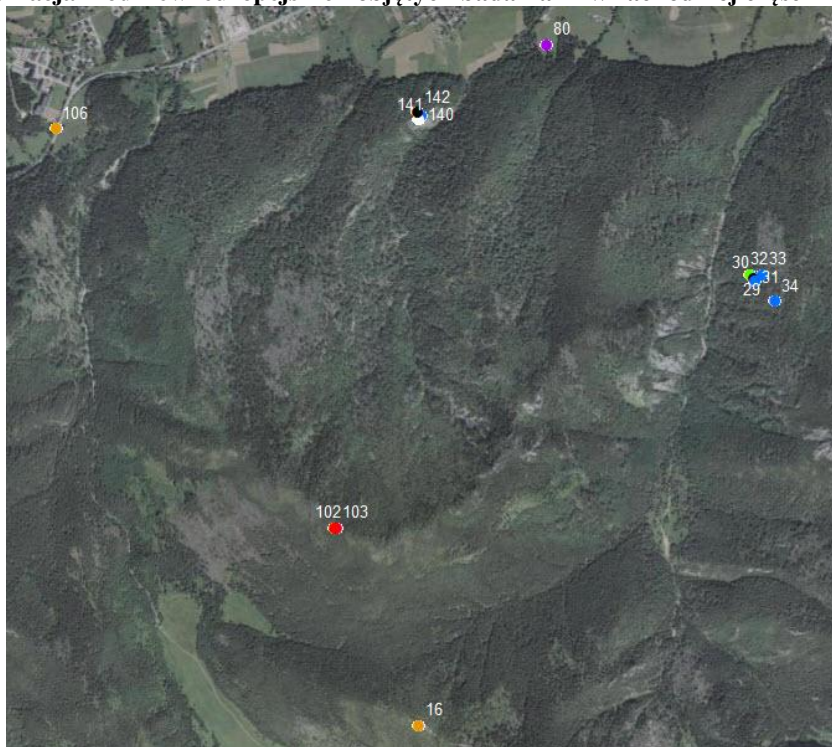
Wyniki przypisania poszczególnych osobników do jednego z siedmiu regionów pochodzenia przedstawiono w tabeli 5. Geograficzne rozmieszczenie drzew przypisanych do poszczególnych 7 klastrów w analizowanych regionach Tatrzańskiego Parku Narodowego przedstawiają ryciny 11-17. Dla 7 osobników (próbki o numerach 30, 49, 56, 69, 107, 142, 149) przypisanie było niejednoznaczne. To znaczy nie można było wskazać klastra; co może być wynikiem krzyżowania się między osobnikami z różnych klastrów. Drzewa te na mapie oznaczono symbolem czarnego punktu.

Tabela 5. Numery osobników przypisanych do poszczególnych regionów pochodzenia modrzewia europejskiego

Numery klastrow						
Pochodzenia alpejskie				Pochodzenia środkowoeuropejskie		
k_1	k_2	k_3	k_4	k_5	k_6	k_7
92	33	27	57	40	43	129
139	31	4	1	135	45	68
	5	88	141	55	137	138
	32	65	105	89	50	119
	150	29	133	106	44	80
	36	115	104	41	122	
	66		61	120	118	
	126			35	136	
	98			46	84	
	13			54	70	
	12			11	134	
	10			121	9	
	140			90	42	
	60			144	78	
	6			52	37	
	75			143	127	
	91			130	39	
	34			47	102	
	59			3	125	
	147			16	53	
	148			64	96	
	132			131	145	
	87				117	
	72				38	
					95	
					99	
					110	
					58	
					128	
					86	
					103	
Średnie prawdopodobieństwo przypisania						
0,552	0,769	0,567	0,624	0,638	0,683	0,586

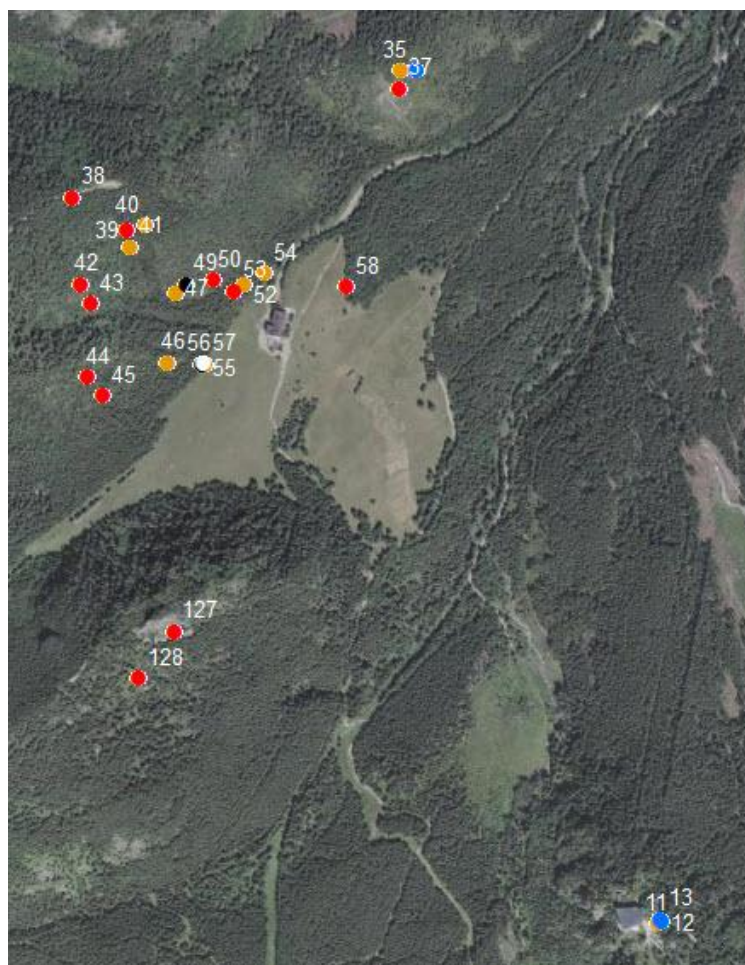


Rycina 11. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w zachodniej części Tatr Zachodnich.

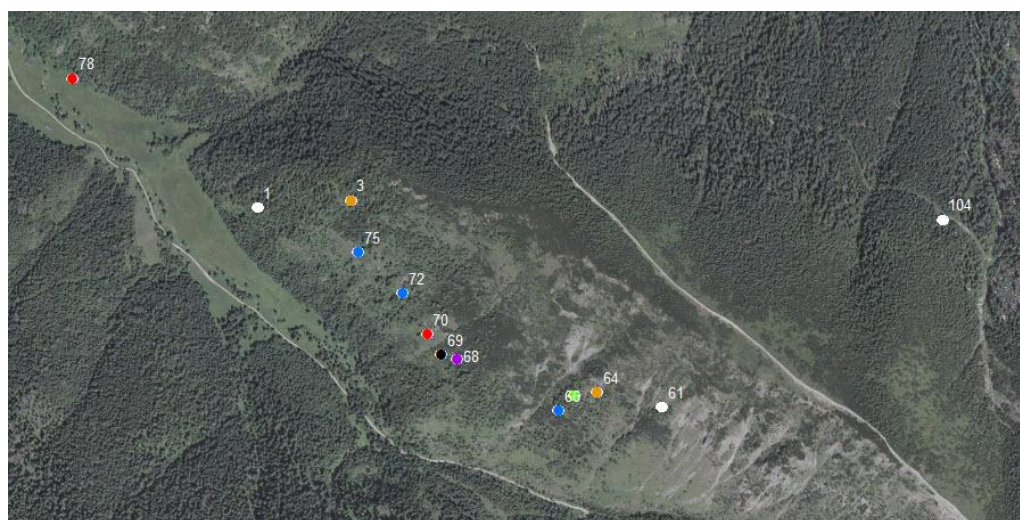


Rycina 12. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Doliny Strážyskiej i okolicznych regli.

Symbol	Klaster	Region
● (cyan)	1	Alpy Zachodnie
● (blue)	2	Alpy Środkowo-Zachodnie
● (green)	3	Alpy Środkowo-Wschodnie
○ (white)	4	Alpy Wschodnie
● (orange)	5	Sudety
● (red)	6	Karpaty Północne
● (purple)	7	Karpaty Wschodnie

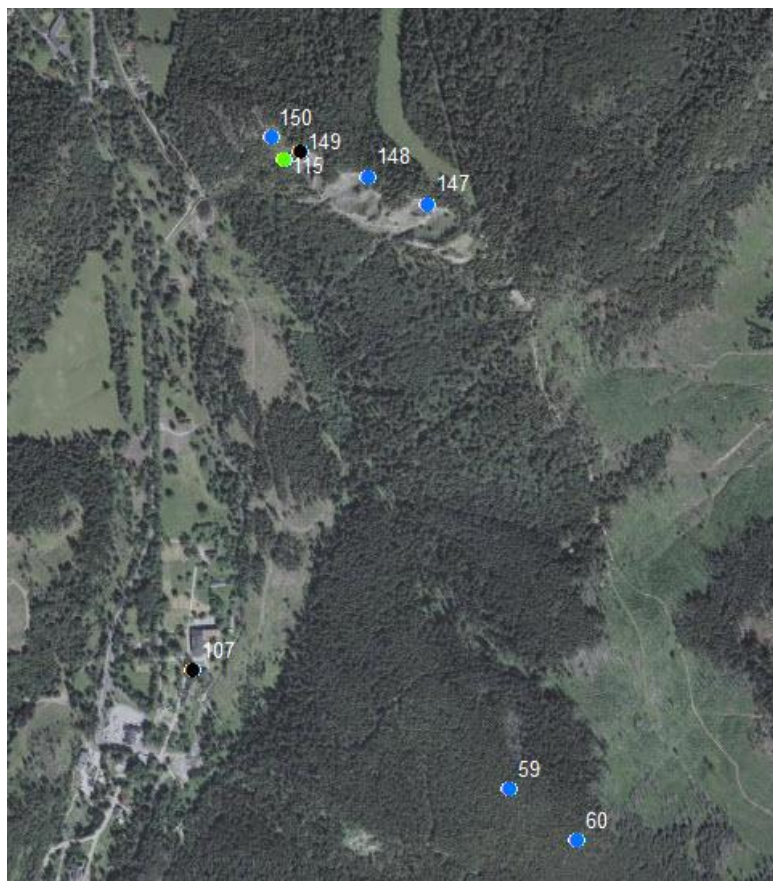


Rycina 13. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Uplazu Kalackiego.

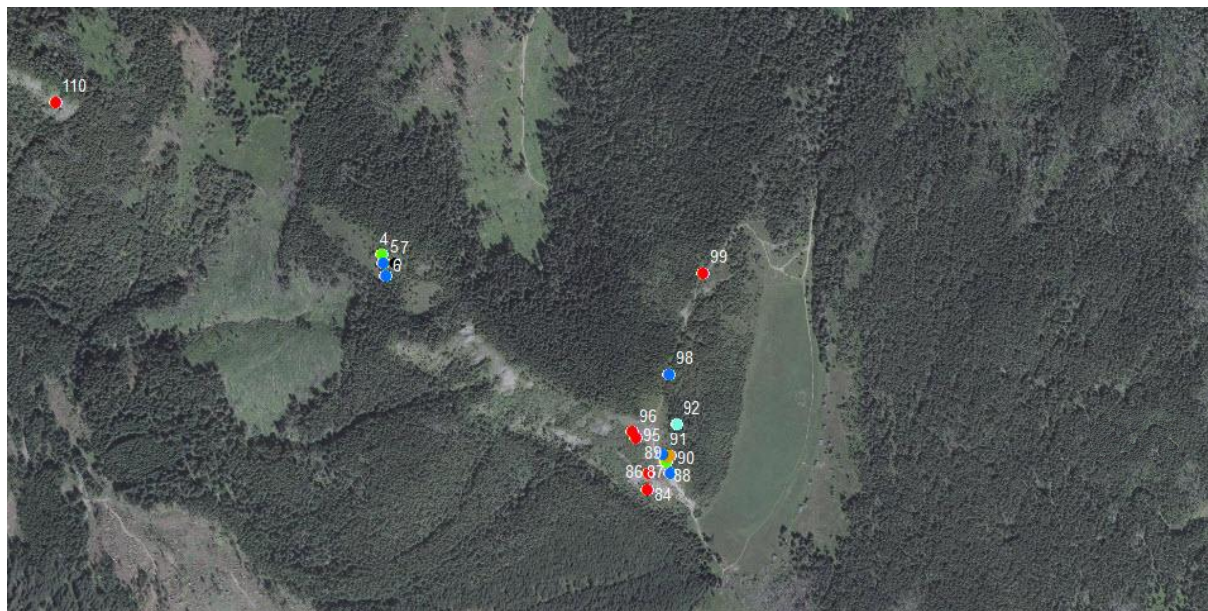


Rycina 14. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Doliny Jaworzynki.

Symbol	Klaster	Region
●	1	Alpy Zachodnie
●	2	Alpy Środkowo-Zachodnie
●	3	Alpy Środkowo-Wschodnie
○	4	Alpy Wschodnie
●	5	Sudety
●	6	Karpaty Północne
●	7	Karpaty Wschodnie

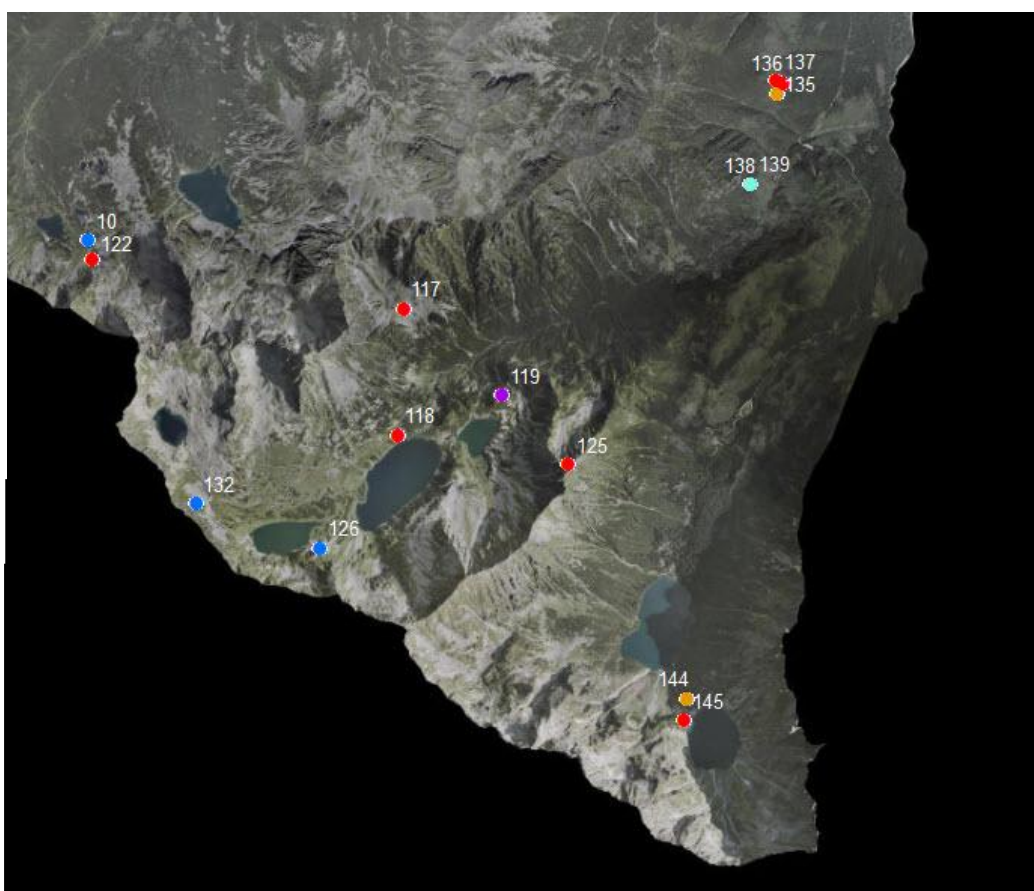


Rycina 15. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Nosala i Kuźnic.



Rycina 16. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Kopiańca.

Symbol	Klaster	Region
● (cyan)	1	Alpy Zachodnie
● (blue)	2	Alpy Środkowo-Zachodnie
● (green)	3	Alpy Środkowo-Wschodnie
○ (white)	4	Alpy Wschodnie
● (orange)	5	Sudety
● (red)	6	Karpaty Północne
● (purple)	7	Karpaty Wschodnie



Rycina 17. Lokalizacja modrzewi europejskich objętych badaniami w rejonie Tatr Wysokich.

Symbol	Klaster	Region
●	1	Alpy Zachodnie
●	2	Alpy Środkowo-Zachodnie
●	3	Alpy Środkowo-Wschodnie
○	4	Alpy Wschodnie
●	5	Sudety
●	6	Karpaty Północne
●	7	Karpaty Wschodnie

5. Podsumowanie i wnioski końcowe

Przeprowadzone badania posłużyły genetycznej weryfikacji taksonów modrzewia występującego w drzewostanach Tatrzańskiego Parku Narodowego.

Użycie chloroplastowego markera DNA *trnT-trnL* I pozwoliło nakreślić skalę problemu zanieczyszczenia rodzimej puli genowej modrzewia europejskiego w próbie drzew objętej badaniami. W analizowanej grupie modrzewi stwierdzono obecności obcych dla flory Tatr gatunków, takich jak: modrzew japoński (*Larix kaempferi* (Lambert) Carricre) i modrzew eurojapoński (*Larix x eurolepis* Henry). Otrzymane wyniki stanowią potwierdzenie wcześniejszych doniesień o możliwości wprowadzenia na teren Tatrzańskiego Parku Narodowego obcych taksonów, na skutek prowadzenia sztucznych nasadzeń w połowie XX wieku m.in. w rejonie Dol. Strążyskiej, Dol. Jaworzynki, Uplazu Kalackiego oraz Kopieńca. Praktycznym aspektem przeprowadzonych badań powinno być podjęcie aktywnych działań mających na celu eliminację osobników obcych taksonów, zagrażających czystości rodzimych zasobów genowych modrzewia w Tatrach.

Wykorzystując markery mikrosatelitarnego DNA, w wyróżnionej w pierwszym etapie analiz grupie modrzewi europejskich, przeprowadzono weryfikację przynależności podgatunkowej. Badania wykazały, że na terenie objętym badaniami najliczniejszą grupą są osobniki z Karpat Północnych. Uwagę zwraca fakt licznej grupy drzew z Sudetów, jak również z Alp Środkowo-Zachodnich, co może być wynikiem ich sztucznego pochodzenia.

Należy podkreślić, że otrzymane wyniki identyfikacji przynależności podgatunkowej oparte są na analizach porównawczych efektu pracy dwóch różnych laboratoriów. Pomimo działań zmierzających do unifikacji wyników na drodze rekalkibracji, nie mogą one stanowić podstawy identyfikacji osobniczej w konkretnych klastrach i służyć na przykład podejmowaniu decyzji o eliminacji niektórych osobników. Wykazane proporcje udziałów drzew w poszczególnych klastrach są jednak wiarygodne i mogą stać się podstawą do poszukiwania pewnych reguł i historycznych prawidłowości rozprzestrzeniania się modrzewia europejskiego na terenie Tatrzańskiego Parku Narodowego.

Dla uzyskania pełniejszego obrazu translokacji modrzewia w zasięgu karpackim konieczne wydaje się rozszerzenie obszaru badań i włączenie subpopulacji występujących po słowackiej stronie Tatr.

6. Literatura

- Acheré V, Rampant PF, Paques LE, Prat D (2004) Chloroplast and mitochondrial molecular tests identify European x Japanese larch hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 108, 1643-1649.
- Isoda K., Watanabe A. (2006) Isolation and characterization of microsatellite loci from *Larix kaempferi*. *Molecular Ecology*, 6, 664–666.
- Jagielska A. (2008) Zastosowanie markerów genetycznych w identyfikacji gatunkowej modrzewia europejskiego (*Larix decidua* Mill.) i japońskiego (*Larix kaempferi* Sarg.) oraz ich mieszańców. *Leśne Prace Badawcze* 69, 21-25.
- Madeyski C. (1974). Modrzew *Larix decidua* Mill., Stud.Ośr. Dok. Fizjogr. III, s. 71-85.
- Petit R.J., Demesure B., Dumolin S. (1998) cpDNA and mtDNA primers in plants. In: Karp A, Isaac PG, Ingram D (eds) *Molecular tools for screening biodiversity*.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959. PMID: 10835412
- Wagner S, Liepelt S, Gerber S, Petit RJ (2015) Data from: Within-range translocations and their consequences in European larch. PLOS ONE <https://doi.org/10.5061/dryad.h25hj>
- Wagner S. (2013). History of the European larch (*Larix decidua* Mill.). Doctoral Thesis. (<http://hss.ulb.uni-bonn.de/2013/2948/2948.pdf>)
- Wagner S., Gerber S., Petit R.J. (2012). Two highly informative dinucleotide SSR multiplexes for the conifer *Larix decidua* (European larch). *Molecular Ecology Resources*. 12(4):717–725

7. Aneks

Tabela A1. Charakterystyka drzew, z których pobrano próbki do badań DNA.

Numer próby	Lokalizacja	Szerokość geogr.	Długość geograf.	Wys. n. p. m. [m]	Dbh [cm]	H [m]	Wiek [szacowany]	Zbiorowisko
1	Dol. Jaworzynki 1	49,26169	19,98775	1183	40	18	ok. 50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
2	Dol. Jaworzynki 2	49,26163	19,98782	1179	19	6	ok. 50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
3	Dol. Jaworzynki 3	49,26178	19,98977	1226	30	14	ok. 50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
4	Kopieńce, Jałowce 1	49,27413	20,01075	1188	15	7	30	nasadzenia na upłazie z jałowcami
5	Kopieńce, Jałowce 2	49,27402	20,01079	1189	15	7	30	nasadzenia na upłazie z jałowcami
6	Kopieńce, Jałowce 3	49,27383	20,01084	1189	15	7	30	nasadzenia na upłazie z jałowcami
7	Kopieńce, Jałowce 4	49,27401	20,01101	1198	10	6	30	nasadzenia na upłazie z jałowcami
8	Kopieńce, Jałowce 5	49,27339	20,01119	1206	25	10	30	w drągwinie ze świerkiem
9	Pod Tyrakówką	49,268819	19,80264	1120	40	20	60	domieszka w świerczynie
10	Czerwone Stawki	49,227516	20,003577	1670	5x3	3	30	na piargu
11	Myślenickie Turnie 1	49,251823	19,974374	1350	30	12	80	las modrzewiowo-świerkowy
12	Myślenickie Turnie 2	49,251851	19,974422	1350	40	12	80	las modrzewiowo-świerkowy
13	Myślenickie Turnie 3	49,251883	19,974403	1350	30	12	80	las modrzewiowo-świerkowy
14	Rąbaniska	49,25046	20,017161	1350	15	10	60	posadzony koło dawnego obozowiska PZA
15	Grzybowiec 1	49,256634	19,91746	1420	19,7	10	45	luźny, młody las - pochodzenie z nasadzeń
16	Grzybowiec 2	49,25643	19,91737	1418	13,7	7	40	luźny, młody las - pochodzenie z nasadzeń
17	Grzybowiec 3	49,25662	19,91638	1404	13,5	9	40	luźny, młody las - pochodzenie z nasadzeń
18	Łysanki 1	49,26121	19,91495	1392	22,3	13,5	50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
19	Łysanki 2	49,26128	19,91529	1401	29,9	16	50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
20	Łysanki 3	49,26153	19,91529	1408	22,3	15	50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
21	Łysanki 4	49,26175	19,91535	1420	22,5	16	50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
22	Łysanki 5	49,26154	19,91629	1388	31,8	16,5	50	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
23	Czarna Ściana 1	49,26142	19,91714	1346	1	1,3	10	murawy nawapienne / luźny d-stan

24	Czarna Ściana 2	49,26151	19,91721	1351	9,5	8,5	20	murawy nawapienne / luźny d-stan
25	Czarna Ściana 3	49,26148	19,91733	1353	20,7	11	30	murawy nawapienne / luźny d-stan
26	Czarna Ściana 4	49,26119	19,91792	1318	15,3	13	40	las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
27	Korycińska Czuba	49,27054	19,80203	1160	2	3	10	murawa nawapienna z okazami jałowca, nalotami i podrostami sosny zwyczajnej i modrzewia
28	Strążyska 1	49,27103	19,93411	1043	35,3	22	60	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
29	Strążyska 2	49,27114	19,93432	1046	32,5	20,5	60	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
30	Strążyska 3	49,27103	19,93451	1052	28,6	15,6	60	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
31	Strążyska 4	49,27093	19,93459	1051	29,9	16,5	60	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
32	Strążyska 5	49,27116	19,93498	1065	51,9	25,5	100	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
33	Strążyska 6	49,27116	19,93498	1065	30,6	14,2	70	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
34	Strążyska 7	49,27027	19,93559	1111	52,2	24,5	100	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia na siedliskach żywej buczyny
35	Uplaz Kalacki 1	49,26307	19,96943	1238	7,0	5,5	20	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
36	Uplaz Kalacki 2	49,26307	19,96974	1228	35,0	10,7	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
37	Uplaz Kalacki 3	49,26284	19,96937	1231	19,1	9,5	25	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
38	Uplaz Kalacki 4	49,26146	19,9628	1327	37,2	14,8	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
39	Uplaz Kalacki 5	49,26102	19,96389	1304	21,3	14,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
40	Uplaz Kalacki 6	49,26108	19,96427	1303	23,6	14,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
41	Uplaz Kalacki 7	49,2608	19,96396	1280	24,5	16	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
42	Uplaz Kalacki 8	49,26032	19,96295	1275	33,1	16,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
43	Uplaz Kalacki 9	49,26006	19,96314	1262	25,5	16,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
44	Uplaz Kalacki 10	49,2591	19,96306	1275	23,6	14,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
45	Uplaz Kalacki 11	49,25885	19,96335	1248	22,6	15,5	40	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
46	Uplaz Kalacki 12	49,25928	19,96468	1232	16,2	13,5	40	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
47	Uplaz Kalacki 13	49,26019	19,96486	1240	41,1	8	25	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
48	Uplaz Kalacki 14	49,26024	19,96475	1242	1	1,6	15	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego

								pochodzenia
49	Uplaz Kalacki 15	49,2603	19,96507	1242	16,9	13	40	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
50	Uplaz Kalacki 16	49,26036	19,9656	1230	19,7	14,5	35	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
51	Uplaz Kalacki 17	49,2604	19,966	1209	32,5	17,5	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
52	Uplaz Kalacki 18	49,26028	19,96623	1201	15,3	15,5	30	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
53	Uplaz Kalacki 19	49,2602	19,96603	1206	16,2	17,5	40	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
54	Uplaz Kalacki 20	49,26043	19,96663	1194	17,2	17	40	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
55	Uplaz Kalacki 21	49,25924	19,9654	1201	31,8	24	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
56	Uplaz Kalacki 22	49,25925	19,96534	1203	26,1	21	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
57	Uplaz Kalacki 23	49,25926	19,96538	1201	24,2	21	45	las modrzewiowo-świerkowy sztucznego pochodzenia
58	Kalatówki 24	49,26024	19,96826	1186	12,1	10	25	skraj polany
59	Jaworzynka 4	49,26882	19,98927	1205	56,7	21,5	70	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
60	Jaworzynka 5	49,26801	19,99087	1223	42,0	23	70	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
61	Jaworzynka 6	49,25881	19,99641	1305	22,0	12,5	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
62	Jaworzynka 7	49,25897	19,99606	1307	19,7	13,5	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
63	Jaworzynka 8	49,25884	19,99551	1286	19,7	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
64	Jaworzynka 9	49,25903	19,99501	1281	3	2,5	15	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
65	Jaworzynka 10	49,25898	19,99452	1258	9,9	11	25	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
66	Jaworzynka 11	49,25878	19,99418	1238	15,9	12	25	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
67	Jaworzynka 12	49,25872	19,9931	1206	16,2	13	25	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
68	Jaworzynka 13	49,25953	19,992	1207	24,5	17,5	30	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
69	Jaworzynka 14	49,25959	19,99166	1198	27,4	17	35	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
70	Jaworzynka 15	49,25988	19,99136	1195	10,5	7	15	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
71	Jaworzynka 16	49,26029	19,99097	1193	12,4	13,5	30	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
72	Jaworzynka 17	49,26046	19,99085	1195	27,4	16	35	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia

73	Jaworzynka 18	49,26049	19,99079	1197	18,5	15	35	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
74	Jaworzynka 19	49,26069	19,99024	1188	3	2	15	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
75	Jaworzynka 20	49,26105	19,98989	1193	28,6	17	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
76	Jaworzynka 21	49,26112	19,98977	1188	-	0,6	9	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
78	Jaworzynka 23	49,26355	19,98378	1094	31,8	27	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
79	Jaworzynka 24	49,26404	19,98344	1099	36,0	24	55	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
80	Regle 1	49,27882	19,9242	885			120	żyzna buczyna karpacka (<i>Dentario glandulosae-Fagetum</i>)
81	Kopieniec 1	49,270486	20,017105	1225	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
82	Kopieniec 2	49,270069	20,017	1232	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
83	Kopieniec 3	49,27065	20,01675	1237	8	13	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
84	Kopieniec 4	49,27084	20,0163	1246	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
85	Kopieniec 5	49,27106	20,01629	1264	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
86	Kopieniec 6	49,27106	20,01633	1268	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
87	Kopieniec 7	49,27106	20,01678	1271	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
88	Kopieniec 8	49,27121	20,0167	1280	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
89	Kopieniec 9	49,27129	20,01673	1283	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
90	Kopieniec 10	49,27131	20,01679	1284	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
91	Kopieniec 11	49,27132	20,01662	1288	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
92	Kopieniec 12	49,27139	20,01650	1291	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
93	Kopieniec 13	49,27139	20,01626	1297	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
94	Kopieniec 14	49,27147	20,01623	1301	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
95	Kopieniec 15	49,27155	20,01606	1299	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
96	Kopieniec 16	49,27164	20,01599	1302	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
97	Kopieniec 17	49,2718	20,0157	1299	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego pochodzenia
98	Kopieniec 19	49,27243	20,01679	1295	15	12	40	luźny las modrzewiowy sztucznego

								pochożenia
99	Kopieniec 20	49,27382	20,01754	1272	20	15	50	luźny las modrzewiowy sztucznego pochożenia
100	Kopieniec 21	49,274183	20,017842	1270	20	15	50	luźny las modrzewiowy sztucznego pochożenia
101	Kopieniec 22	49,27398	20,01778	1269	20	15	50	luźny las modrzewiowy sztucznego pochożenia
102	Lysanki 6	49,26298	19,91326	1399	32,8	9,5	50	las
103	Lysanki 7	49,26297	19,91333	1392	20,7	6,5	50	las
104	Skupniów Uplaz 1	49,2614	20,00251	1250	32,5	18	60	las / skraj nartostrady
105	Szlak papieski	49,22084	19,786428	1250	10	5		nasadzenia
106	Spyrlówka	49,276243	19,899425	950	20	15		nasadzenia
107	Kuźnice 1	49,27071	19,98187	1006			150	aleja modrzewiowa przy dyrekcji TPN
108	Kuźnice 2	49,27087	19,98191	1005			150	aleja modrzewiowa przy dyrekcji TPN
109	Mały Kopieniec 1	49,276355	20,004167	1150	25	15		nasadzenia
110	Mały Kopieniec 2	49,276297	20,003912	1140	15	10		nasadzenia
111	Mały Kopieniec 3	49,276446	20,003989	1145	10	7		nasadzenia
112	Nosal 1	49,27314	19,99145	1100	4,5	2	20	skraj lasu
113	Nosal 2	49,27311	19,9915	1104	6,7	5	20	skraj lasu
114	Nosal 3	49,27522	19,99014	1157	10,2	6	25	halizna
115	Nosal 9	49,27858	19,98418	1031	22,0	15	40	las świerkowo-modrzewiowy
116	Spichlerz	49,273041	19,982579	980	25	10	40	nasadzenia pod spichlerzem
117	Dol. Pięciu Stawów - Wielki Staw	49,22189	20,0405	1667	22,6	9	ok. 100	kosodrzewina
118	Dol. Pięciu Stawów	49,21214	20,03964	1700	3,5	3,5	ok. 40	kosodrzewina/borówczysko z wrzosem
119	Litworowy Żleb	49,2151	20,05203	1638	4	4	ok. 40	ściany skalne (granit)/kosodrzewina
120	Saturn	49,238688	19,873537	1360	-	1	30	upłaz/skały
121	Upłazkowa Turnia	49,236533	19,877566	1440	20	10	100	upłaz/skały
122	Pod Świnicą	49,22606	20,00399	1760	10	8	100	piargi
123	Morskie Oko	49,192351	20,068108	1450	10	6	30	na piargu pod Mięgoszowieckimi Szczytami
124	Kopieniec 18	49,2719	20,01552	1296	2	2	10	luźny las modrzewiowy sztucznego pochożenia
125	Opalony W	49,20973	20,059648	2050	-	0,2	20	murawy krystaliczne

126	Kostury	49,20357	20,03035	1796	4	3	50	murawy krystaliczne
127	Kalacka Turnia 1	49,25574	19,964722	1350	8	6	40	murawy
128	Kalacka Turnia 1	49,255137	19,964012	1350	25	15	80	murawy
129	Smytniańskie Panienki 1	49,233151	19,85305	1280	20	4	150	na czubku
130	Smytniańskie Panienki 2	49,233152	19,853193	1280	20	10	150	na ścianie
131	Smytniańskie Panienki 3	49,233121	19,853207	1280	0	0,3	10	na grani, odnowienie naturalne
132	Gładki W.	49,207123	20,015799	1910	-	0,6	50	piargi, murawy
133	Dolinka 1	49,2099	19,87195	1614	15,9	6,5	100	zarośla kosodrzewiny
134	Dolinka 2	49,20967	19,86491	1496	58,9	15,5	370	biogrupa drzew w kosodrzewiny tuż powyżej górnej granicy lasu
135	Wołoszyn 1	49,23806	20,08479	1337	45	20	300	górnoregłowy bór z świerkiem i limbą
136	Wołoszyn 2	49,23887	20,08566	1299	35	15	300	górnoregłowy bór z świerkiem i limbą
137	Wołoszyn 3	49,23907	20,08474	1403	20	10	150	górnoregłowy bór z świerkiem i limbą
138	Roztoka 1	49,23108	20,08158	1279	52,2	22,5	270	las urwiskowy: górnoregłowy bór świerkowy / reliktowy bór limbowy
139	Roztoka 2	49,23115	20,08151	1290	-	0,4	7	las urwiskowy: górnoregłowy bór świerkowy / reliktowy bór limbowy
140	Jasiowe Turnie 1	49,2765	19,91788	989	14,0	6	50	skraj lasu / nawapienne murawy naskalne
141	Jasiowe Turnie 2	49,27639	19,91773	985	0,5	1,8	10	nawapienne murawy naskalne
142	Jasiowe Turnie 3	49,27664	19,9177	987	52,2	15,2	90	skraj dolnoregłowej buczyny, na przejściu w zgrupowania sosen nawiązujące do reliktowych lasków sosnowych
143	Jarząbcza	49,209154	19,799866	1620	4	1,5	bd	na skale
144	Morskie Oko 2	49,19157	20,07323	1523	21,6	14,1	90	reliktowy bór limbowy / zarośla kosodrzewiny
145	Czarny Staw 1	49,18988	20,07284	1612	8,3	6	70	zarośla kosodrzewiny
147	Nosal 5	49,27786	19,98753	bd	34,4	20	80	las świerkowo-modrzewiowy
148	Nosal 6	49,2783	19,98615	bd	50,3	23	80	las świerkowo-modrzewiowy
149	Nosal 7	49,27869	19,98455	bd	24,5	10	80	las świerkowo-modrzewiowy
150	Nosal 8	49,27892	19,98387	1041	-	0,8	10	zarastające jałowczysko / murawy nawapienne