

Identyfikacja DNA w walce z nielegalnym handlem drewna

dr hab. Justyna A. Nowakowska, dr inż. Anna Tereba,
mgr Małgorzata Borys, mgr inż. Agata Konecka,
Jolanta Bieniek

Laboratorium Biologii Molekularnej

Od pewnego czasu leśnicy poszukują nowoczesnych metod ochrony drewna przed kradzieżą. Szacuje się, że corocznie kradzież drewna obok innych form szkodnictwa leśnego takich jak kłusownictwo, pożary oraz niszczenie mienia, generuje największe straty ponoszone przez Lasy Państwowe. W profilaktyce oraz w walce z nielegalnym obrotem drewnem, coraz częściej wykorzystuje się nowoczesne techniki i wyniki nowatorskich badań naukowych.

Nowoczesne metody oparte na identyfikacji DNA są bardzo pomocne w rozstrzygnięciu wątpliwości Straży Leśnej i Policji dotyczących kradzieży drewna i coraz częściej stanowią dowód w postępowaniu procesowym. Analiza DNA materiału organicznego jest metodą powszechnie stosowaną w kryminalistyce i medycynie sądowej, ponieważ dostarcza dowodów rozstrzygających



Ryc. 1. Pobieranie materiału w terenie do badań DNA

Instytut Badawczy Leśnictwa

Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

e-mail: ibl@ibles.waw.pl; www.ibles.pl



Ryc. 2. Przygotowanie próbek DNA drewna do analiz w laboratorium

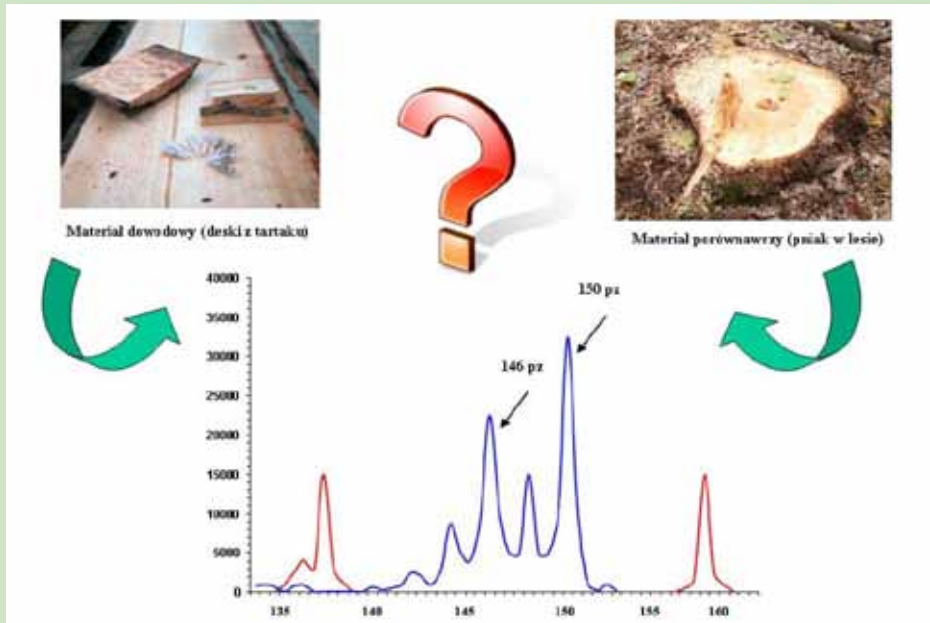
wątpliwości w identyfikacji badanych prób materiału dowodowego, pobrane w ilości śladowej.

Analiza porównawcza drewna jest możliwa, ponieważ genom DNA drzewa zawiera tak samo niepowtarzalne informacje, jak u człowieka odciski palców z indywidualizującymi liniami papilarnymi. Atutami analiz DNA są szybkość ich wykonania oraz to, że budowa sekwencji DNA

nie zależy od wieku i cech morfologicznych drzew. Jedynym kryterium porównania prób są profile genetyczne materiału dowodowego (kawałków drewna zabezpieczonych u podejrzanego) z materiałem porównawczym (np. pniakiem w lesie, Ryc. 1 i 3).

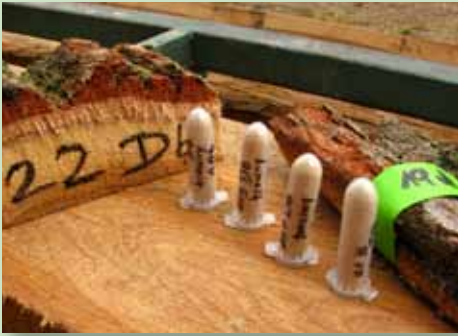
Stosowana metodyka identyfikacji drewna

Do oceny profili genetycznych próbek drewna stosuje się markery molekularne, najczęściej jądrowe DNA mikrosatelitarne. Po izolacji cząsteczek DNA z materiału roślinnego, przeprowadzana jest reakcja PCR (Ryc. 2), w której namnażane są wybrane odcinki DNA (markery), rozdzielane następnie za pomocą elektroforezy oraz w sekwenatorze kapilarnym. Analiza DNA jest potężnym



Ryc. 3. Zestawienie profili genetycznych DNA z materiału dowodowego i porównawczego umożliwia ocenę identyczności z dokładnością nawet do 99,99%

- Materiał dowodowy (deski z tartaku)
- Materiał porównawczy (pniak w lesie)
- Wielkość fragmentów DNA (w parach zasad)



Ryc. 4. Próbkę drewna pobrane z tartaku



Ryc. 5. Przykłady materiału roślinnego, pobranego do analiz DNA

narzędziem w rękach biegłego, którym należy posługiwać się bardzo rozważnie. W zależności od analizowanego gatunku drzewa i rodzaju zastosowanego markera zmienności, przyjmuje się, że wiarygodny profil genetyczny otrzymujemy dla minimalnej liczby 4 markerów DNA jądrowego. Prawidłowo wykonany test DNA daje pewność identyfikacji próbek zbliżoną nawet do 99,99% (Ryc. 3).

Jak pobrać próbki do analiz DNA drewna?

W celu przeprowadzenia prawidłowej identyfikacji materiału dowodowego i porównawczego tkanek roślinnych (Ryc. 4 i 5), powinny być zachowane odpowiednie kroki zabezpieczenia materiału w terenie. Do zabezpieczenia drewna opracowano zestaw podręczny „IBL DNA-1” (Ryc. 6), na który składają się podstawowe narzędzia do zbierania materiału w lesie, takie jak: pilarka spalinowa, siekierka, dłuto, torby papierowe, taśma miernicza trzymetrowa, latarka elektryczna, aparat fotograficzny, lupa, plastikowe pojemniki na trociny, dwie sztuki wodoodpornych markerów do pisania, wodoodporna taśma klejąca, rękawiczki gumowe, skalówka, numerki plastikowe, opakowania z folii na metryczki, lak, sznurek pakowy, nóż, świder Presslera o średnicy 5-10 mm oraz komplet druków procesowych.

W trakcie zbierania materiału należy zachować podstawowe zasady BHP przy odcinaniu próbek drewna przy pomocy pilarki spalinowej, siekiery lub dłuta. Niezachowanie ostrożności i praca niezgodna z instrukcją obsługi oraz przepisami BHP może grozić uszczerbkiem na zdrowiu pobierającego materiał.

Podstawowe warunki prawidłowego przeprowadzenia identyfikacji materiału dowodowego i porównawczego są następujące:

- Minimalna ilość wymaganego materiału do analiz DNA to 100 mg, ale najlepiej przysyłać kawałki drewna o wymiarach ok. 5x5x5 cm.



Ryc. 6. Podręczny zestaw IBL-DNA-1 do zabezpieczania materiału dowodowego w terenie

- Próbki powinny być umieszczone w papierowych kopertach, opisanych wodoodpornym pisakiem.
- Przed wysyłką, pobrany materiał najlepiej przechowywać w niskiej temperaturze (w przenośnym termosie z suchym lodem), unikać wysokiej wilgotności i ekspozycji na słońcu.
- Do próbek dołączony powinien być wniosek o dopuszczenie opinii biegłego (na podstawie art.art. 193 § 1 k.p.k.), z jasno postawionym celem badań, np.: „Czy materiał porównawczy z pnia sosny oznaczony nr 1 przed rozdzieleniem z materiałem dowodowym w postaci próbki drewna sosnowego nr 2 stanowił jedną całość na podstawie analiz DNA?”.
- Wiek pobranego materiału w terenie:
 - do 3 lat dla drewna suchego,
 - do paru miesięcy dla materiału porównawczego (pniaki w terenie).
- Czas przechowywania w niskich temperaturach: do 3 lat.
- Czas wykonania ekspertyzy 4-5 dni, dla dużej ilości przysłanych próbek – do kilku tygodni.

Materiał roślinny (próbki drewna sosny, świerka, modrzewia europejskiego i japońskiego, jodły, buka, dębu szypułkowego i bezszypułkowego, jesionu, graba, klonu jawora, brzozy i olszy) prosimy przesłać w zaadresowanej przesyłce za pomocą poczty kurierskiej na adres:

Dr inż. Anna Tereba
Laboratorium Biologii Molekularnej
Instytut Badawczy Leśnictwa w Sękocinie Starym
ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn
e-mail: A.Tereba@ibles.waw.pl
tel. +48 22 7150 336, fax +48 22 715 03 38

Słowniczek

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy, nośnik informacji genetycznej w komórce

Elektroforeza – szybki rozdział cząsteczek DNA na poszczególne odcinki w polu elektrycznym

Jądrowe DNA mikrosatelitarne – znajduje się w jądrze komórkowym, posiada informację od obydwójga rodziców

Genotyp – charakterystyka organizmu na podstawie łańcuchów DNA

Materiał dowodowy – tkanki roślinne, które stanowią dowód kradzieży

Materiał porównawczy – pniaki w terenie, z których dokonano kradzieży

PCR – reakcja łańcuchowej polimerazy, w której powielane są fragmenty DNA

Profil genetyczny – układ sekwencji DNA,specyficzny dla danego osobnika

Instytut Badawczy Leśnictwa
 Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn
 Laboratorium Biologii Molekularnej
 e-mail: lbm@ibles.waw.pl, http://www.ibles.pl/web/bm