



Analizy DNA jako nowoczesna metoda w walce z nielegalnym obrotem drewna

# Gen zdradzi złodzieja

Wykorzystanie analizy DNA to metoda często wykorzystywana w sądownictwie i kryminalistyce. Dzięki opracowaniu metodyki takich badań dla sześciu rodzajów drzew leśnych, kwestia identyfikacji skradzionego drewna staje się coraz prostsza.

**S**zacuje się, że w naszym kraju kradzieże drewna powodują corocznie największe straty, wśród tych, jakie Lasy Państwowe ponoszą z powodu innych form szkodnictwa leśnego, np. kłusownictwa, wandalizmu czy pożarów spowodowanych bezmyślnym zachowaniem. Jak podaje Tadeusz Pasternak, główny inspektor Straży Leśnej, straty powstałe na skutek kradzieży drewna w LP to ok. 2–3 mln zł rocznie. W minionym roku zarejestrowano 7411 przypadków kradzieży, w wyniku których Państwowe Gospodarstwo Leśne LP straciło 20,1 tys. m<sup>3</sup> drewna o wartości 3,2 mln zł. Poza stratami materialnymi, nielegalne pozyskiwanie drewna często niesie ze sobą zniszczenie i naruszenie równowagi gatunkowej ekosystemu leśnego.

Niejednokrotnie sprawcy tych szkód pozostają bezkarni, gdyż są coraz lepiej zorganizowani, wyposażeni w profesjonalny sprzęt, a sposoby, jakimi zabezpieczają ślady przestępstwa, uniemożliwiają udowodnienie im winy w sądzie.

## Z policyjnych doświadczeń

Analiza materiału organicznego na podstawie struktury DNA jest metodą szeroko stosowaną w kryminalistyce i medycynie sądowej. W tych dziedzinach dostarcza dowodów rozstrzygających wątpliwości w identyfikacji i pochodzeniu danej próbki, często pobranej w wielkości śladowej. Jak dotąd identyfikacja kradzionego drewna przez Straż Leśną i policję opierała się przede wszystkim na badaniach mechanosko-

powych, w tym na tradycyjnym porównaniu grubości pniaka i kory a szacowanie strat wynikających z kradzieży – na określeniu pierśnicy i miąższości drzewa na podstawie grubości bez kory podstawy i wysokości pniaka dla np. sosny, świerka, jodły, dębu, buka i olszy.

Dotychczasową metodykę można z powodzeniem uzupełnić o identyfikację opartą na analizie DNA jądrowego i organellowego, które umożliwiają określenie genotypu konkretnego drzewa z pewnością porównywalną do odcisku palca. Metodyka identyfikacji drzew na podstawie analiz DNA już istnieje: w 2010 r. opracował ją na zlecenie Dyrekcji Generalnej Lasów Państwowych zespół badaczy w Instytucie Badawczym Leśnictwa. Leśnicy zyskali narzędzie, dzięki któremu można identyfikować podstawowe gatunki: sosnę zwyczajną, świerk pospolity, buk zwyczajny, dęby – szypułkowy i bezszypułkowy, brzozę brodawkowatą i olszę czarną.

Atutem badania DNA jest szybkość wykonania analiz oraz fakt, że budowa cząstek DNA nie zależy od wieku i cech morfologicznych drzewa. W badaniach kryterium oceny stanowią profile genetyczne, tworzące niejako „odcisk palca” dla każdego drzewa. Profile wykorzystuje się do analizy porównawczej materiału dowodowego (np. kawałki drewna zabezpieczone u podejrzanego lub próbki drewna stosowego z lasu) z materiałem porównawczym (najczęściej pniak w lesie).

Porównanie profili DNA drewna z DNA pniaka nie wymaga nawet informacji o wieku drzewa, jego

## Mini słowniczek

**DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy, nośnik informacji genetycznej w komórce

**Elektroforeza chipowa** – to szybki rozdział cząstek DNA na poszczególne odcinki w chipie, pod napięciem prądu elektrycznego

**Materiał dowodowy** – materiał, który stanowi dowód kradzieży, zabezpieczony u sprawcy

**Materiał porównawczy** – pniaki w terenie, z których dokonano kradzieży

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

**Profil genetyczny** – specyficzny obraz fragmentów DNA dla danego osobnika

pierśnicy, wysokości i miąższości, choć oczywiście mogą być one dodatkowym atutem w identyfikacji.

## Metodyka identyfikacji drewna

W identyfikacji organizmu na poziomie DNA stosuje się tzw. markery genetyczne, czyli unikalne fragmenty DNA o wielkości od kilkudziesięciu do kilkuset par zasad. Umożliwiają one precyzyjną i szybką charakterystykę pojedynczych organizmów lub całych populacji.

Najczęściej stosowane są markery DNA mikrosatelitarnego, które dotyczą wysoce polimorficznych (zróżnicowanych) regionów genomu (całego DNA). To one stanowią obecnie najprecyzyjniejsze narzędzie badawcze, stosowane w celu określenia struktury genetycznej badanych osobników i np. u sosny zwyczajnej stanowią aż 75% całego genomu w porównaniu do innych gatunków.

Sekwencje mikrosatelitarne zlokalizowane są w jądrze komórkowym oraz mitochondriach i chloroplastach. Inny typ markerów stanowią markery DNA organellowego, pochodzące wyłącznie z mitochondriów i chloroplastów. Mateczne dziedziczenie markerów organellowych umożliwia szybkie porównanie identyczności dłużycy i pniaka.

Dodatkowo, jak wykazały badania prowadzone w IBL, markery DNA organellowego umożliwiają identyfikację rzadkich haplotypów oraz porównanie filogenetycznych powiązań między populacjami drzew leśnych. Dzięki temu zbadano m.in. polodowcową migrację świerka z północnego (Bałtycko-Nordyckiego) i południowego (Hercyńsko-Karpackiego) zasięgu występowania w Polsce.

Ocena markerów DNA składa się z trzech podstawowych etapów: izolacji DNA, powielania fragmentów DNA metodą łańcuchowej polimerazy (ang. PCR) i ostatecznej analizy porównawczej otrzymanych profili genetycznych.

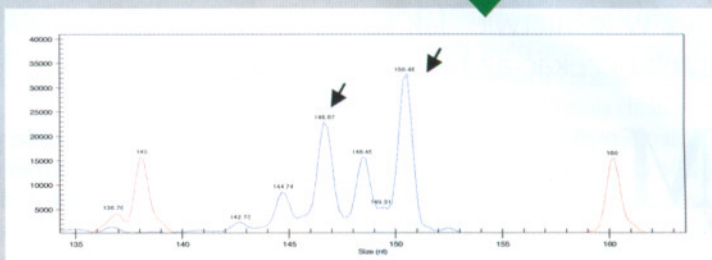
Jeden łańcuch DNA jest praktycznie niewidoczny dla oczu, dopiero jeśli go powielimy, szanse detekcji rosną. Dlatego DNA z materiału roślinnego jest poddawane wielokrotnemu namnażaniu w termocyklerach, gdzie zachodzi reakcja PCR. W efekcie otrzymujemy obraz





#### Przebieg analiz DNA w laboratorium:

- A. ucieranie próbek drewna w ciekłym azocie,
- B. reakcja PCR,
- C. analiza za pomocą elektroforezy chipowej i automatycznego sekwenatora,
- D. odczyt profilu genetycznego próbki (piki odpowiadają fragmentom DNA o znanej wielkości).



(profil) charakterystyczny dla każdej próbki. Wydajność i precyzja reakcji PCR jest niezwykle wysoka – teoretycznie pozwala na uzyskanie miliona kopii wyjściowej matrycy cząsteczki DNA pochodzącej z próbki.

Ponieważ każde drzewo ma inny, prawie niepowtarzalny wzorec markerów DNA, w badaniach porównawczych naukowcy koncentrują się na tych fragmentach genomu, które różnicują poszczególne drzewa między sobą z największym prawdopodobieństwem. W przypadku, gdy oba profile genetyczne są identyczne, metody oparte na analizach DNA umożliwiają dopasowanie do siebie badanych próbek materiału dowodowego i porównawczego z prawie 99,99% pewnością. Przy największej wartości podobieństwa genetycznego istnieje bardzo nisko – 0,0001%, tzw. przypadkowe – prawdopodobieństwo wystąpie-



Przykładowe próbki materiału dowodowego i porównawczego

nia identycznego profilu genetycznego w innym pniu w lesie. Wynika to z przepływu genów pomiędzy drzewami, selekcji adaptacyjnej gatunków oraz wielu innych czynników wpływających na strukturę genetyczną drzew leśnych.

Dla przykładu podajmy, że w populacji ludzkiej, gdy tego rodzaju prawdopodobieństwo sięga 94,91% jest ono już użyteczne w identyfikacji

osobniczej dla potrzeb kryminalistyki sądowej oraz wyjaśnienia spornego ojcostwa.

### Jak pobrać próbki do analiz DNA drewna?

Z badań wynika, że aby stwierdzić lub wykluczyć pochodzenie np. wałka drewna stosowego czy dłużycy wystarczy pobrać próbki z kilku (6–10 szt.) pniaków wskazanych przez Straż Leśną w miejscu kradzieży. W trakcie ich pobierania powinny być zachowane następujące zasady:

- Minimalna ilość materiału wymaganego do analiz DNA to 100 mg – tyle ważą np. dwie dwucentymetrowe igły świerka lub niewielka drzazga.
- Próbki powinny być umieszczone w papierowych kopertach opisanych wodoodpornym pisakiem.
- Przed wysyłką pobrany materiał najlepiej przechowywać w niskiej temperaturze (np. w przenośnym termosie z suchym lodem), unikać wysokiej wilgotności i ekspozycji na słońcu.

W przypadku drewna suchego materiał do analiz nie powinien być starszy niż 4 lata. Pniaki w terenie (czyli materiał porównawczy) powinny mieć do kilku miesięcy. Ale już odpowiednio przechowywane w niskich temperaturach próbki zachowują przydatność do badań do 3 lat.

Czas wykonania ekspertyzy, jakiego IBL potrzebuje dla pojedynczej próbki to 3–5 dni, dla dużej liczby przysłanych próbek wydłuża się do 2 tygodni.

Dla potrzeb procesowych Straży Leśnej opracowano podręczny zestaw „IBL DNA-1”, służący do prawidłowego zabezpieczenia materiału dowodowego i porównawczego w terenie. Składają się nań podstawowe narzędzia do zbierania materiału w lesie: siekierka, dłutko, torby papierowe, taśma miernicza, latarka elektryczna, aparat fotograficzny, lupa, dwie sztuki wodoodpornych markerów do pisania, wodoodporna taśma klejąca, rękawiczki gumowe, skalówka,

numerki plastikowe, opakowania z folii na metryczki, lak, sznurek pakowy, nóż oraz komplet druków procesowych.

Materiał roślinny (próbki drewna sosny, świerka, buka, dębu, brzozy i olszy), opatrzone metryczkami z opisem, prosimy przesłać pocztą kurierską na adres: Laboratorium Genetyki Molekularnej, Jolanta Bieniek, Zakład Hodowli Lasu i Genetyki



Podręczny zestaw „IBL DNA-1” do pobierania próbek drewna w terenie

Drzew Leśnych, Instytut Badawczy Leśnictwa w Sękocinie Starym, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn. Kontakt telefoniczny: 22 7150461, 7150467.

Do przesyłki prosimy dołączyć druki o powołaniu Instytutu Badawczego Leśnictwa na biegłego z opisem celu i zakresu badań.

#### dr hab. Justyna A. Nowakowska

Prace badawcze dotyczące metod identyfikacji drewna zostały zrealizowane w ramach grantu BLP-333 „Metody identyfikacji drewna na podstawie analizy DNA dla potrzeb procesowych Straży Leśnej” zleconego przez DGLP. Autorka chciałaby szczególnie podziękować panom – nadleśniczemu Tomaszowi Sot i Andrzejowi Górniakowi oraz innym pracownikom Nadleśnictwa Kozielnice oraz Komendzie Wojewódzkiej Policji w Radomiu za dużą pomoc w realizacji badań.