

1(94)/2012(XX)
ISSN 1509-7447

Notatnik Naukowy

Instytutu Badawczego Leśnictwa

Przeczytaj, wykorzystaj, zachowaj

Identyfikacja DNA w walce z nielegalnym handlem drewna

dr hab. Justyna A. Nowakowska, mgr Aneta Michalska,
dr Marcin Klisz, inż. Andrzej Górniak

Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych
Instytut Badawczy Leśnictwa
Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn

Drewno jest niezastąpionym materiałem w budownictwie, ciepłownictwie i innych dziedzinach życia. Nielegalny obrót drewna najbardziej dotyka kraje szybko rozwijające się Ameryki Południowej i Azji, o dużym potencjale sektora leśnego. Jednak co roku, również w polskich lasach, ma miejsce kradzież drewna, a powstałe straty są szacowane w Lasach Państwowych na 2-3 mln zł rocznie. Szacuje się, że corocznie kradzież drewna obok innych form szkodnictwa leśnego, takich jak kłusownictwo, pożary oraz niszczenie mienia nadleśnictw, generuje największe straty ponoszone przez Lasy Państwowe.



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

Analiza materiału organicznego na podstawie struktury DNA jest metodą szeroko stosowaną w kryminalistyce i medycynie sądowej, gdzie dostarcza dowodów rozstrzygających wątpliwości w identyfikacji i pochodzeniu danej próbki, często pobranej w wielkości śladowej. Jak dotąd, identyfikacja kradzionego drewna w Straży Leśnej i Policji opierała się przede wszystkim na badaniach mechanicznych, w tym porównaniu grubości pniaka i kory, a szacowanie strat wynikających z kradzieży – na określeniu pierśnicy i miąższości drzewa na podstawie średnicy pniaka dla sosny, świerka, jodły, dębu, buka i olszy.

Stosowaną dotychczas metodykę można z powodzeniem uzupełnić o identyfikację opartą na analizie polimorfizmu DNA jądrowego i organellowego, które umożliwiają określenie genotypu osobnika z dokładnością „odcisku palca”. Charakterystyka genotypu, określonego przede wszystkim na podstawie wybranych sekwencji DNA, stwarza narzędzie w postaci wzorca identyfikującego pojedyncze drzewa. Atutem analiz DNA jest szybkość ich wykonania oraz fakt, że markery DNA nie zależą od wieku i cech morfologicznych drzew. Porównanie profili DNA drewna z pniakiem nie wymaga zebrania danych takich, jak wiek drzewa, pierśnica, wysokość i miąższość, choć informacje te mogą być dodatkowym atutem w identyfikacji. Jedynym kryterium porównania prób są profile genetyczne, wykorzystywane do analizy porównawczej materiału dowodowego (kawałków drewna zabezpieczonych u podejrzanego) z materiałem porównawczym (np. pniakiem w lesie, ryc. 1).

Stosowana metodyka identyfikacji drewna

Markery DNA są obecnie najprecyzyjniejszym narzędziem identyfikacji osobniczej i gatunkowej drzew leśnych i są stosowane do analiz porównawczych materiału roślinnego. 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 chłupowej oraz w automatycznym sekwencjatorze. Analiza DNA jest potężnym narzędziem w rękach biegłego, którym należy posługiwać się bardzo rozważnie. Każda nadinterpretacja wyniku może mieć poważne skutki prawne i może przyczynić się do skazania niewinnego człowieka, lub uniewinnienia rzeczywistego sprawcy. Bardzo ważnym elementem w analizach sądowych próbek DNA jest obliczanie prawdopodobieństwa przypadkowej identyczności prób zabezpieczonych w postępowaniu dowodowym. Prawidłowo wykonany test DNA daje pewność identyfikacji próbek zbliżoną nawet do 99,999% (ryc. 3).



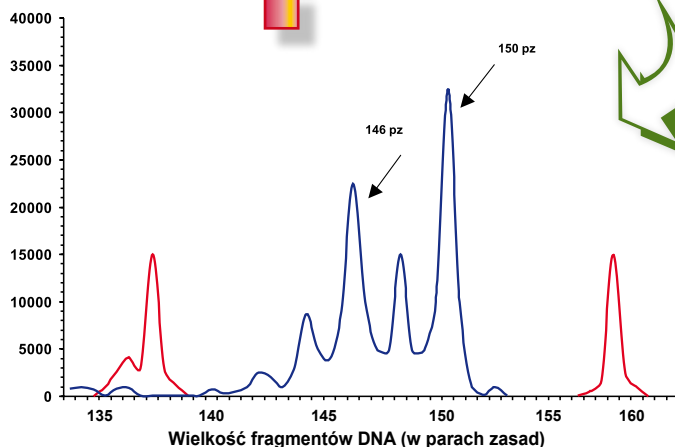
Ryc. 2. Przygotowanie próbek DNA drewna do analiz w laboratorium



Materiał dowodowy (deski z tartaku)



Materiał porównawczy (pniak w lesie)



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

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, dłutko, torby papierowe, taśma miernicza trzy-metrowa, latarka elektryczna, aparat fotograficzny, lupa, plastikowe pojemniki na trociny, dwie sztuki wodoodpornych markerów do pisania, wodoodporna taśma klejąca, rękawiczki gumowe, skalówka, numerki plastikowe,



Ryc. 4. Próbkę drewna pobrane z tartaku



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



opakowania z folii na metryczki, lak, sznurek pakowy, nóż, świder Preslera o średnicy 5-10 mm oraz komplet druków procesowych.

W trakcie zbierania materiału należy zachować podstawowe zasady BHP przy odcinaniu próbek drewna przy pomocy piłarki 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 (odpowiada wielkości 2 cm igły sosnowej lub kawałkowi drewna – wywierci o średnicy 5 mm).
- Próbkę 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 dołączona powinna zostać dokumentacja fotograficzna z opisem wykonanych na policyjnych metryczkach (na podstawie Art. 207 § 1 i Art. 143 § 1, pkt 3 kodeksu postępowania karnego, tekst jednolity: Dz. U. 2011 r. Nr 12 poz. 59).
- Wiek pobranego materiału w terenie:
 - do 4 lat dla drewna suchego,
 - do paru miesięcy dla materiału porównawczego (pniaki w terenie).
- Czas przechowywania w niskich temperaturach: do 3 lat.
- Czas wykonania ekspertyzy 3-5 dni, dla dużej ilości przysłanych próbek – do kilku tygodni.

Materiał roślinny (próbki drewna sosny, świerka, modrzewia, buka, dębu, brzozy i olchy) prosimy przesać w zaadresowanej przesyłce za pomocą poczty kurierskiej na adres:

Jolanta Bieniek, starszy technolog
Laboratorium Genetyki Molekularnej
Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych
Instytut Badawczy Leśnictwa w Sękocinie Starym
ul. Braci Leśnej 3, 05-090 Raszyn
tel. 22 7150 467, 22 7150 461

Mini słowniczek

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy, nośnik informacji genetycznej w komórce

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

Jądro DNA mikrosatelitarne – znajduje się w jądrze komórkowym

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 – specyficzny układ sekwencji DNA dla danego drzewa



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