

**INSTRUKCJA ZABEZPIECZANIA, POBIERANIA ORAZ PRZECHOWYWANIA
DREWNA I INNYCH ŚLADÓW Z DRZEW LEŚNYCH
NA POTRZEBY ANALIZ DNA**

Spis treści:

I. Wstęp.....	2
II. Instrukcja zabezpieczenia próbek materiału do analiz DNA.....	3
1. Materiał do analiz	4
2. Pobieranie prób z pni, gałęzi, liści, fragmentów drewna	4
3. Liczba prób do analiz	6
4. Zlecenie do wykonania analizy DNA	6

I. Wstęp

1. Niniejsza instrukcja powstała na podstawie wyników uzyskanych w ramach projektu rozwojowego finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju: pt. „Wykorzystanie sekwencji mikrosatelitarnych w jądrowym DNA drzew leśnych do udowodnienia pochodzenia materiału dowodowego w postępowaniu sądowym”, (grant nr N R12 0049 06, okres realizacji 2009-2012).
2. Projekt rozwojowy dotyczył siedmiu podstawowych gatunków lasotwórczych w Polsce:
 - 1) Sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L.
 - 2) Świerka pospolitego *Picea abies* (L.) Karst.
 - 3) Jodły pospolitej *Abies alba* Mill.
 - 4) Modrzewia europejskiego *Larix decidua* Mill.
 - 5) Dębu szypułkowego *Quercus robur* L.
 - 6) Dębu bezszypułkowego *Quercus petraea* (Matt.) Loeb.
 - 7) Buki zwyczajnej *Fagus sylvatica* L.
3. Projekt realizowany był we współpracy pomiędzy trzema jednostkami:
 - 1) Katedrą Genetyki Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy
 - 2) Leśnym Bankiem Genów Kostrzyca
 - 3) Instytutem Genetyki Sądowej w Bydgoszczy.
4. Potencjalnymi odbiorcami ekspertyz DNA drzew leśnych są:
 - 1) Sądy
 - 2) Policja
 - 3) Prokuratura
 - 4) Jednostki organizacyjne Lasów Państwowych
 - 5) Straż Leśna
 - 6) Prywatni właściciele lasów
 - 7) Firmy likwidujące szkody budowlane i komunikacyjne.
5. Nomenklatura:
 - 1) Materiał porównawczy – drzewa, które zostały uszkodzone lub skradzione właścicielowi (kradzież z pnia) lub drewno ze stosu (kradzież z zapasu). Poszkodowanym może być Skarb Państwa reprezentowany przez Państwowe Gospodarstwo Leśne Lasy Państwowe lub prywatny właściciel lasu. Materiałem porównawczym jest najczęściej pień pozostający w ziemi po wycięciu drzewa (tzw. pień pokradzieżowy), uszkodzone drzewo lub stos drewna, z którego dokonano kradzieży.

- 2) Materiał dowodowy – materiał zabezpieczony u podejrzanego. Jego profil genetyczny będzie porównywany z profilem genetycznym materiału porównawczego.
6. Ogólna strategia śledztwa w kontekście potencjalnych analiz DNA:
- 1) Próba udowodnienia kradzieży konkretnych drzew – poprzez porównanie profilu genetycznego pni pokradzieżowych z profilem genetycznym materiału dowodowego zabezpieczonego u podejrzanego. W przypadku stwierdzenia tożsamości genetycznej, możliwe jest udowodnienie kradzieży. Ewentualna niezgodność wyklucza sprawstwo podejrzanego /oskarżonego.
 - 2) Weryfikacja wersji podejrzanego – podejrzany/oskarżony często prezentuje wersję zdarzeń dla siebie najkorzystniejszą, wskazując miejsce, gdzie znalazł np. wiatrolomy, drzewo powalone przez bobry, posusz lub drzewo wycięte przez kogoś innego. W ten sposób liczy na łagodniejszą kwalifikację prawną (przywłaszczenie a nie kradzież). Inną formą obrony jest wskazanie, jako źródła zakwestionowanego drewna, drzew prywatnych lub innych, do których pozyskania miał upoważnienie. W takich sytuacjach możliwe jest udowodnienie, że drewno zabezpieczone u podejrzanego nie pochodzi ze źródeł przez niego wskazanych. Ewentualna zgodność potwierdza wersję podejrzanego /oskarżonego.
 - 3) Udowodnienie udziału podejrzanego w kradzieży – jeśli nie odnaleziono drewna ze skradzionych drzew, można udowodnić, że:
 - a) Piła podejrzanego była wykorzystana do cięcia skradzionego drewna (np. zabezpieczone wióry z piły),
 - b) Posesja podejrzanego była wykorzystana, jako miejsce przeładunku, piłowania lub magazynowania skradzionego drewna (np. igły liście, wióry, trociny, gałęzie),
 - c) Samochód, przyczepa była wykorzystana do transportu skradzionego drewna (np. igły liście, gałęzie).

II. INSTRUKCJA ZABEZPIECZANIA, POBIERANIA ORAZ PRZECHOWYWANIA DREWNA I INNYCH ŚLADÓW Z DRZEW LEŚNYCH NA POTRZEBY ANALIZ DNA

1. Materiał do analiz

- Materiał porównawczy - pnie pokradzieżowe lub drewno ze stosu,
- Materiał dowodowy - zabezpieczone u podejrzanego: liście i igły (preferowane) lub fragmenty drewna (nawet wielkości zapalki), gałęzie, wióry, trociny. Kora nie nadaje się do analiz molekularnych, jako źródło DNA.

2. Pobieranie prób z pni, gałęzi, liści, fragmentów drewna

Próby zabezpiecza i pobiera strażnik leśny lub osoba do tego upoważniona.

- Do pobrania próby niezbędne będą:
 - Siekiera lub piła do odcięcia kawałka pniaka,
 - Koperty papierowe różnej wielkości, C6: liście, igły, wióry; C5: plastry odcięte z gałęzi; C4: plastry odcięte z pni pokradzieżowych,
 - Metryczki do wpisania daty i miejsca pobrania próbki; gatunku drzewa, z jakiego pochodzi próbka; ewentualnych uwag,
 - Aparat fotograficzny do wykonania zdjęć,
 - Zszywacz,
 - Ołówek, marker lub inny pisak wodoodporny, którym opisujemy każdą kopertę z próbką,
- Na miejscu zdarzenia należy wykonać zdjęcie poglądowe (ogólne oraz szczegółowe),
- Próbki materiału dowodowego i porównawczego należy pobrać jak najszybciej od momentu uzyskania informacji o kradzieży, wandalizmie itp. nawet, jeśli ewentualne ich wykorzystanie nastąpi w późniejszym terminie. Przeniesienie materiału roślinnego ze środowiska, gdzie działają czynniki degradujące DNA (deszcz, śnieg, promieniowanie słoneczne, wahania temperatury, ryzyko zakażenia grzybami itp.) znacznie podnosi prawdopodobieństwo sukcesu analiz DNA prowadzonych w późniejszym terminie. Zabezpieczony materiał należy przechować w odpowiednich warunkach (patrz niżej),
- Im materiał starszy (licząc od daty wycięcia drzewa) tym analizy są trudniejsze, **ALE MOŻLIWE!**
- Poszukiwać drewna u podejrzanych i natychmiast zabezpieczać na potrzeby analiz DNA w ten sam sposób, co próbkę w terenie,
- Zabezpieczone próby drewna nie mogą mieć śladów porażenia grzybami, szukamy „zdrowego” drewna (warstwy drewna porażonego usunąć odcinając plastry z pniaka aż do warstw „zdrowych”), bez sinizny,

- Zebrać materiał jedynie tego samego gatunku - konieczność identyfikacji gatunkowej drewna już na miejscu zdarzenia (Uwaga: UKW/LBG nie prowadzi identyfikacji gatunkowej dostarczonego materiału do badań- wyjątek dąb szypułkowy lub bezszypułkowy),
- Należy pobrać, jeśli to możliwe, próby dopasowane w parach np. odziomek i pień pokradzieżowy (konieczne dopasowanie w parze/grupie). Każda próba zapakowana osobno, ale w opisie informacja, że te pary(grupy) prób należy porównać genetycznie,
- **Odciąć plaster grubości 2-3 cm z korą, a następnie wyciąć z niego klin (jak kawałek tortu) o szerokości ok. 10 cm (od strony kory). Odciąć fragmenty drewna z korą (najlepszym źródłem DNA są warstwy drewna z części zewnętrznej pnia),**
- Do prób przyklepić za pomocą zszywacza tapicerskiego etykietę z opisem lub próby opisać bezpośrednio ołówkiem,
- Jeśli po zbiorze materiał dowodowy lub porównawczy jest mokry, po przeniesieniu do biura lub innego suchego pomieszczenia należy go osuszyć za pomocą papierowych ręczników,
- Materiał dowodowy należy pozostawić do swobodnego schnięcia, zabronione jest suszenie prób na kaloryferach lub grzejnikach oraz suszenie suszarkami, próby ułożyć na rozłożonych gazetach w celu podsuszenia,
- Próby można przechowywać w papierowych kopertach, w cieniu, w temperaturze pokojowej, w pomieszczeniu przewiewnym (biurze, suchym garażu),
- W pomieszczeniu, w którym będą przechowywane próby należy zapewnić temperaturę ok. 20°C, przewiewność, brak bezpośredniego nasłonecznienia prób (np. pomieszczenie biurowe Straży Leśnej). Jeśli w trakcie toczzonego postępowania zabezpieczono duże ilości drewna, które składowane są w pomieszczeniach, niespełniających wymogów dla przechowywania prób na potrzeby analiz DNA, należy pobrać z nich próby do analiz DNA i przechowywać niezależnie, w odpowiednim miejscu (opis powyżej),
- W magazynie próby przechowywać w otwartych kopertach lub bez kopert (swobodniejsze schnięcie). Opakowaniem zbiorczym dla zabezpieczonego materiału może być jedynie przewiewna skrzynka. Zabronione jest stosowanie zamkniętych papierowych katonów, plastikowych toreb itp.



Fot. 1 Przykłady materiału do badań genetycznych (Fot. A.Dzialuk).

3. Liczba prób do analiz

- Za jedną (odrębną) próbę uważa się każdy liść, igłę, fragment drewna, wiór. Każdą próbę należy spakować w osobną papierową kopertę. Kopertę zamknąć (zszyć zszywką), opisać dokładnie markerem wodoodpornym lub ołówkiem (Fot. 1),
- Minimalna waga materiału niezbędnego do przeprowadzenia prawidłowej analizy DNA dla jednej próbki to ok. 100 mg np. pojedyncza igła świerka lub wiór,
- Uwaga na liczbę zebranych próbek: np. 1 pień pokradzieżowy i 3 zakwestionowane fragmenty drewna = 4 próby.

4. Zlecenie do wykonania analizy DNA

Przesyłając próbę/y do analizy, należy:

- Każdą próbę włożyć do papierowej koperty, opisać kopertę markerem wodoodpornym, każdą kopertę starannie zamknąć (zszyć zszywaczem),
- Załączyć przygotowaną wcześniej metryczkę opisującą miejsce i datę pobrania próby, ewentualne dodatkowe uwagi,
- Określić konkretnie, co ma być przedmiotem analiz tj. np.

„czy zabezpieczone u podejrzanego trzy fragmenty drewna dębu (oznaczone numerami 2, 3, 4) pochodzą ze wskazanego drzewa rosnącego na terenie Nadleśnictwa X (próba nr 1 pochodząca z pnia pokradzieżowego)”

lub

„czy próba nr 1 jest tożsama genetycznie z próbą nr 2 i czy próba 1 pochodzi z drzewa rosnącego na terenie Nadleśnictwa Y reprezentowanego przez próbę nr 2?”

- Próby wysłać pocztą kurierską na adres:

- **Leśny Bank Genów Kostrzyca**

Miłków 300, 58-535 Miłków.