# Zalecenia dotyczące zabezpieczania, pobierania oraz przechowywania drewna i innych śladów z drzew leśnych na potrzeby analiz DNA

# – uwagi ogólne

1. Zalecenia powstały na podstawie wyników projektu rozwojowego, finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, pn. „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). Projekt realizowany był we współpracy Katedry Genetyki Uniwersytetu Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Leśnego Banku Genów Kostrzyca i Instytutu Genetyki Sądowej w Bydgoszczy.
2. LBG Kostrzyca przyjmuje do analiz genetycznych próby drewna następujących gatunków:
3. buk zwyczajny *Fagus sylvatica* L.;
4. dąb bezszypułkowy *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.;
5. dąb szypułkowy *Quercus robur* L.;
6. jodła pospolita *Abies alba* Mill.;
7. modrzew europejski *Larix decidua* Mill.;
8. sosna zwyczajna *Pinus sylvestris* L.;
9. świerk pospolity *Picea abies* (L.) Karst.

# Cena oraz czas wykonania analiz genetycznych są szacowane indywidualnie dla każdego zlecenia, o czym Zleceniodawca jest informowany przez LBG Kostrzyca przed przystąpieniem do analiz genetycznych.

# Po wykonaniu analiz genetycznych próby drewna mogą zostać odesłane do Zleceniodawcy na jego koszt lub pozostawione w archiwum LBG Kostrzyca – konieczna jest wcześniejsza informacja od Zleceniodawcy w pisemnym zleceniu wykonania analiz.

# 

# Zalecenia dotyczące zabezpieczania, pobierania oraz przechowywania drewna i innych śladów z drzew leśnych na potrzeby analiz DNA

**Materiał do analiz genetycznych**

1. Materiał porównawczy – pnie pokradzieżowe lub drewno ze stosu.
2. Materiał dowodowy – zabezpieczone: liście i igły, fragmenty drewna, gałęzie, wióry, trociny, deski itp.

**Uwaga**: Kora, jako źródło DNA, nie nadaje się do analiz genetycznych.

## 

## Pobieranie prób z pni, gałęzi, liści, fragmentów drewna itp. do analiz genetycznych

1. Próby zabezpiecza i pobiera strażnik leśny lub inna osoba do tego upoważniona.
2. Do pobrania próby niezbędne są m.in.:
3. siekiera lub piła do odcięcia kawałka drewna (z pniaka, gałęzi, deski itp.);
4. koperty papierowe (bez wyściółki foliowej), różnej wielkości – np.: C6 na liście, igły, wióry; C5 na fragmenty odcięte z gałęzi; C4 na fragmenty odcięte z pni pokradzieżowych;
5. metryczki do wpisania daty i miejsca pobrania próbki, gatunku drzewa, ewentualnych uwag;
6. aparat fotograficzny do ewentualnego wykonania zdjęć;
7. zszywacz, taśma klejąca itp. do zabezpieczenia kopert po ich zamknięciu;
8. długopis, marker lub pisak wodoodporny, którymi opisujemy każdą kopertę z próbą.
9. Próby 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.
10. Zabezpieczenie prób do analiz genetycznych przed szkodliwym działaniem czynników atmosferycznych (deszcz, śnieg, promienie UV, temperatura), jak i biologicznych (patogeny), zwiększa prawdopodobieństwo uzyskania jednoznacznych wyników analiz genetycznych wykonanych w późniejszym terminie. Zabezpieczony materiał należy przechować w odpowiednich warunkach (patrz punkt 10).
11. Zaleca się, aby zabezpieczone do analiz genetycznych próby drewna nie nosiły śladów porażenia grzybami, zgnilizny lub podobnych. Warstwy zmienionego drewna należy usunąć przed pobraniem próby do analiz genetycznych, np. poprzez odcięcie kolejnych warstw drewna aż do warstw „zdrowych”.
12. Próby drewna do analiz genetycznych powinny być tego samego gatunku (LBG Kostrzyca nie prowadzi dodatkowej identyfikacji gatunkowej w przypadku przesłania drewna z nieoznaczonym rodzajem/gatunkiem).
13. W celu pobrania próby należy odciąć krążek grubości 2-3 cm z korą. Do analiz genetycznych wystarczającą próbą jest wycięty z plastra klin z korą (jak kawałek tortu); szerokość klina ok. 10 cm, długość klina ok. 10-15 cm licząc od części zewnętrznej (od kory) w głąb klina.
14. Do próby przymocować należy (np. za pomocą zszywacza tapicerskiego) etykietę z opisem lub bezpośrednio opisać próbę/y długopisem lub markerem wodoodpornym.
15. 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 powinien schnąć swobodnie, zabronione jest suszenie go na kaloryferach lub grzejnikach albo suszenie suszarkami. Próby można też ułożyć na suchych gazetach.
16. Optymalne warunki do przechowywania prób drewna do analiz genetycznych przed ich transportem do LBG Kostrzyca:
17. w papierowych kopertach (bez wyściółki foliowej); opakowaniem zbiorczym dla prób może być jedynie przewiewna skrzynka (nie należy stosować zamkniętych papierowych kartonów, plastikowych toreb, plastikowych pudeł itp.);
18. w cieniu (brak bezpośredniego nasłonecznienia prób);
19. w temperaturze pokojowej (ok. 20°C);
20. w pomieszczeniu przewiewnym (np. biuro, suchy garaż).

## Liczba i minimalna masa prób do analiz genetycznych:

1. za jedną (odrębną) próbę uważa się liść, igłę, fragment drewna, wiór; każdą próbę należy spakować w osobną papierową kopertę, którą należy zamknąć, zabezpieczyć i opisać markerem wodoodpornym lub długopisem; jeśli do analiz genetycznych wysyłane są: 1 próba z pnia pokradzieżowego oraz 3 fragmenty drewna do weryfikacji, to łączna liczba prób do analiz genetycznych wynosi w tym przypadku 4;
2. minimalna masa materiału niezbędnego do przeprowadzenia prawidłowej analizy DNA dla jednej próby wynosi ok. 100 mg (np. pojedyncza igła świerka lub wiór).

## Zlecenie do wykonania analiz genetycznych

1. Próbę/y należy przesłać do LBG Kostrzyca razem ze zleceniem (załącznik nr 1).
2. Przed przesłaniem próby/ prób należy:
3. każdą próbę włożyć do papierowej koperty (bez wyściółki foliowej), kopertę opisać długopisem lub markerem wodoodpornym, zamknąć i zabezpieczyć;
4. załączyć przygotowaną wcześniej metryczkę opisującą miejsce i datę pobrania próby, ewentualne dodatkowe uwagi i zdjęcia;
5. konkretnie określić zakres zlecenia tj. co ma być przedmiotem analiz genetycznych, np.:
6. udzielenie informacji, który z zabezpieczonych fragmentów drewna rodzaju/gatunku …, oznaczonych numerami 2, 3, 4, pochodzi z nielegalnie wyciętego drzewa rosnącego na terenie Nadleśnictwa … (próba nr 1 pochodząca z pnia pokradzieżowego tego drzewa). Proszę podać, jakie jest prawdopodobieństwo, że badane próby są tożsame genetycznie?
7. udzielenie informacji, czy próba nr 1 jest tożsama genetycznie z próbą nr 2? Proszę podać, jakie jest prawdopodobieństwo, że badane próby są tożsame genetycznie?
8. udzielenie informacji, z którego z uszkodzonych drzew rodzaju/gatunku … oznaczonych numerami 1, 2, 3 i reprezentowanych próbami nr 1a, 2a, 3a, pochodzą próby drewna oznaczone numerami: 4, 5, 6, zabezpieczone u osoby podejrzanej o nielegalne wycięcie drzew? Proszę podać, jakie jest prawdopodobieńśtwo, że badane próby są tożsame genetycznie?

czy zabezpieczone w miejscowości … u podejrzanego próbki drewna z rodzaju/gatunku …, oznaczone jako dowód nr …, opisane w protokole oględzin rzeczy z dnia …, są tożsame genetycznie z próbami oznaczonymi jako próba nr …, próba nr …, pochodzącymi z drzew rosnących w oddz. … leśnictwa …, Nadleśnictwa …, opisanymi w protokole pobrania materiału porównawczego z miejsca popełnienia przestępstwa wyrębu i zaboru drzew z lasu z dnia …, oznaczone w terenie czerwoną farbą numerem … oraz cechówką defraudacyjną …, oraz czy to oznacza pochodzenie fragmentów drewna gatunku/rodzaju … oznaczonych jako dowód nr … z drzew reprezentowanych przez próby oznaczone numerami próba nr … i jakie jest prawdopodobieństwo, że badane próby są tożsame genetycznie?

1. Próby wraz ze zleceniem należy wysłać pocztą kurierską na adres:

## Leśny Bank Genów Kostrzyca

## Pracownia Analizy DNA

**Miłków 300, 58-535 Miłków**

**z dopiskiem: *Do analiz genetycznych drewna***

1. Kontakt w sprawie analiz genetycznych drewna

Zespół Pracowni Badawczo-Wdrożeniowych

Małgorzata Pałucka – kierownik zespołu, tel.: 503 357 503

Pracownia Analizy DNA, tel.: 75 7131048 wew. 122

* Magdalena Chudzińska – specjalista ds. analiz molekularnych
* Ewa Kaczmarek – starszy specjalista ds. biobankowania i analiz molekularnych
* dr Monika Litkowiec – starszy specjalista ds. analiz molekularnych
* Anna Pasławska – starszy specjalista ds. analiz molekularnych

Załącznik nr 1

Zlecenie do wykonania analiz genetycznych – przykładowe pismo.