



Fragmety tkanki przygotowane do barkodowania

### Kiedy projekt powstał, jakie są jego cele i źródła finansowania?

Powstał w ubiegłym roku, pierwsze działania podjęliśmy późną wiosną. Projekt zakłada pozyskanie i przechowywanie fragmentów tkanek m.in. mszaków i paprotników oraz nasion najcenniejszych gatunków puszczańskich roślin, a finansowany jest w całości z funduszu leśnego.

### W jaki sposób typowano stanowiska, z których zbierano nasiona oraz części niektórych roślin?

Przy typowaniu stanowisk oraz gatunków posilkowaliśmy się głównie wiedzą i doświadczeniem fitosocjologów, którzy zajmowali się tym już wcześniej lub byli w trakcie dwuletniego (lato 2016 i wiosna-lato 2017 r.) inwentaryzacji realizowanej na terenie Puszczy Białowieskiej przez Lasy Państwowe. Brałiśmy także pod uwagę gatunki puszczańskie opisane w podręczniku z 1995 r. autorstwa prof. Aleksandra Sokolowskiego. Kozystaliśmy także m.in. z „Polskiej czerwonej listy paprotników i roślin kwiatowych”.

### Jakie grupy roślin były brane pod uwagę?

Do projektu DGLP w porozumieniu z nami wytypowała 72 gatunki roślin naczyniowych, a także 13 gatunków mszaków, cztery gatunki paprotników i tyle samo widłaków. Na liście znalazło się m.in. pięć gatunków krytycznie zagrożonych (CR), sześć zagrożonych wyginięciem (EN), 14 narażonych na wyginięcie (VU) i 16 bliskich zagrożeniu (NT). Bardzo zależy nam na zachowaniu puli genowej tych gatunków w postaci kolekcji nasion lub przynajmniej próbki DNA.

### Czy planowane jest pozyskanie materiału genetycznego ze wszystkich gatunków objętych projektem?

Tak, zamierzamy wyizolować DNA z tych wszystkich gatunków, a w przypadku braku okazu na stanowisku będziemy się posilkować okazami zielnikowymi. Jeśli chodzi o nasiona, planujemy ich pozyskanie z 23 gatunków.

### Czy dzięki rozpoznawaniu gatunków na podstawie kodu genetycznego udało się odkryć jakiś nowy gatunek lub jego odmianę?

Nie było to naszym celem. Bardziej skupiamy się na zdobyciu informacji, czy dany gatunek, opisywany jako występujący

w Puszczy Białowieskiej, rzeczywiście tam występuje, czy już wyginął. Próbując go znaleźć, poszukujemy albo całego okazu, albo jego śladu biologicznego. W przypadku roślin śladem biologicznym może być np. fragment kody, liścia, nasiona lub płatek kwiatu. Do identyfikacji należąca wykorzystujemy tzw. barkody – kody pasłowe DNA, czyli krótkie odcinki genu pozwalające na identyfikację gatunkową. Można posłużyć się tu porównaniem do sklepu, w którym każdy produkt ma unikalny kod kreskowy. Podobnie barkod umożliwi potwierdzenie, czy badany okaz rośliny, zwierzęcia czy grzyba jest reprezentantem danego gatunku. Szczególnie przydatne jest to wówczas, gdy mamy do czynienia z tzw. gatunkami kryptycznymi, czyli bliźniaczymi, spokrewnionymi na tyle blisko, że trudno je różnicować na podstawie morfologii. Nawet wyspecjalizowany botanik ma trudności z ich identyfikacją. Nie krzyżują się one ze sobą, zatem na pewno są to dwa różne gatunki. Gatunków kryptycznych na naszej liście jest kilkanaście.

W naszych zbiorach zamierzamy gromadzić także okazy zielnikowe. Niektóre gatunki mają imponujące rozmiary, np. turzycy brzegowa, której liście mogą osiągać długość nawet 2,5 m. Jest to więc duża roślina, w przeciwieństwie do np. do małego, kilkumilimetrowego bełzisty zwyczajnego oraz okrytego – dwóch gatunków mszaków, które też przechowujemy.

### Z ilu osobników jednego gatunku zostały pobrane próbki? Czy taka liczba gwarantuje zachowanie różnorodności biologicznej?

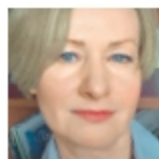
Bierzemy pod uwagę fakt, że mamy do czynienia z bardzo rzadkimi gatunkami. Wiele z nich to w Polsce rośliny ściśle chronione, wobec których istnieją obstrzeżenia prawne. Na przykład niedozwolony jest zbiór więcej niż 20 proc. puli nasion wszystkich osobników danego gatunku na stanowisku, dlatego pozyskujemy tylko ich niewielką część. Podobnie jest z okazami zielnikowymi – z wielu okazów wybieramy do zielnika tylko jeden lub maksymalnie trzy okazy. W przypadku fragmentów tkanek do analiz genetycznych wystarczający jest fragment kilkocentymetrowy.

Sposób zbioru zależy zatem od wielkości całej rośliny, a także liczby osobników na danym stanowisku. Jeżeli np. zbieracz (a mamy świętych fachowców) stwierdzał, że pobranie próbki byłoby dużym uszczerbkiem dla danego gatun-

ku, to odstępowaliśmy od zbioru. Jeżeli na danym stanowisku zauważyliśmy jedynie kilka osobników, to staraliśmy się pozyskać fragment tylko z jednego, w jak najmniejszym stopniu naruszając jego strukturę i zachowując pozostałe.

### Czy rozpoznawanie gatunków puszczańskich na podstawie DNA jest w LP metodą pionierską, czy istnieje np. zbiór porównawczy?

Sama metoda nie jest pionierska, ponieważ barkodowanie zostało rozpowszechnione jako metoda identyfikacji gatunków w 2003 r. przez Kanadyjczyka Paula Heberta. Wiele zespołów naukowców z różnych stron świata zajmuje się barkodowaniem roślin, zwierząt i grzybów. Leśny Bank Genów Kostrzyca od ponad 10 lat identyfikuje gatunki, populacje



## Dzięki barkodowi można potwierdzić, czy badany okaz jest reprezentantem danego gatunku

i genotypy na podstawie możliwości, jakie stwarza biologia molekularna. Natomiast rzeczywiście samo barkodowanie – czyli pozyskiwanie i analiza tych fragmentów informacji genetycznej świadczących o przynależności do konkretnego gatunku – jest w LP nowością.

Podczas naszych prac zamierzamy posilkować się międzynarodowymi bazami danych (np. Barcode of Life Data Systems), w których barkody już się znajdują. Jeśli więc jakiś zespół naukowców przeanalizował barkod dla gatunku, który znajduje się także na naszej liście projektu, będziemy mogli porównać te dane.

### Jak długo próbki mogą być przechowywane?

Próbki w postaci wyizolowanego DNA wychłodzonego do -80 st. C można bezpiecznie przechowywać przez wiele dziesięcioleci. W temperaturze kriogenicznej, czyli od -150 do -196 st. C, czas przechowywania nasion bez uszczerbku dla ich DNA może wynieść nawet 3400 lat. Nasiona, w zależności od fizjologii danego gatunku, kielkują nawet po kilkudziesięciu latach przechowywania. Najpierw jednak opracowujemy (o ile niektórzy nie zrobili

tego wcześniej) odpowiednią dla danych nasion metodykę przechowywania. Korzystamy przy tym zarówno z polskich doświadczeń (istnieje już u nas kilka banków nasion), jak i m.in. z doskonałej bazy danych o fizjologii nasion, którą dysponują Królewskie Ogrody Botaniczne w Wielkiej Brytanii.

### Jakie będą realne korzyści z projektu?

Dzięki przechowywaniu DNA specjalści będą mogli np. porównać, czy zajmują się danym zagrożonym gatunkiem, czy może jakimś jego hybrydą. Metodą barkodowania będziemy mogli wykorzystać do innych inwentaryzacji przyrodniczych, nie tylko na terenie Puszczy Białowieskiej. Przechowywanie nasion jest zresztą już sukcesem samym w sobie, ponieważ za kilka lat może się okazać, że kolekcje niektórych

gatunków zdeponowane w LBG są jedynym źródłem pozwalającym na ich odtworzenie – czy to w Puszczy Białowieskiej, czy na innych odpowiadających im stanowiskach. Zgromadzone w banku informacje zamierzamy przekazywać jak najszerszemu gronu zainteresowanych – pracownikom Lasów Państwowych, placówkom naukowym, uczelniom itp.

### Do kiedy projekt będzie realizowany?

Planujemy, że do końca 2020 r. Czas ten pozwoli przede wszystkim na uzupełnienie zbiorów, ponieważ z różnych powodów nie udało nam się zebrać całego planowanego materiału. Na przykład na danym stanowisku, gdzie spodziewaliśmy się kwitnienia roślin, nie doszło do niego. Zdarmo się też, że stanowisko, o nim to wspominałem w literaturze, po prostu przestało istnieć. Będziemy więc podjąć próbki, starając się dobrać wszystko to, co zgodne z założeniami jest możliwe do zebrania. Na stronie internetowej LBG powstanie zakładka dotycząca projektu i wszelkie dane będą się tam pojawiać na bieżąco.

# Z puszczy na arkę

Leśny Bank Genów Kostrzyca realizuje ostatnio innowacyjny projekt dotyczący identyfikacji i przechowywania nasion oraz DNA najcenniejszych roślin z Puszczy Białowieskiej. Rozmawiamy z jego koordynatorem w LBG Matgorzată Patucką, kierowniczką Zespołu Pracowni Badawczo-Wdrożeniowych.