

DNA-Analysen von Vögeln: Nicht-invasive Probengewinnung durch Schleimhautabstriche („Tupfer-Methode“)

Michael Wink

Wink M 2015: DNA Analysis of birds: non-invasive sampling through mucosal swabs („swab method“).
Vogelwarte 53: 59-60.

Molecular genetic approaches today are widespread in studies of ecology, physiology, evolution, systematics and infection diseases. In most cases a blood sample is the optimal method. However, although harmless for the birds, blood sampling is classified as animal experiment and requires permits that in most cases make blood sampling impossible for amateur bird ringers. Mucosal or buccal swabs from the pharyngeal area of a bird are for many purposes valid alternatives to blood samples. They are taken with cotton swab rods and can be stored in EDTA buffer, in 70-80% ethanol or at -20 °C in a freezer. Proper labelling of the sampling tubes is obligatory.

✉ MW: Universität Heidelberg, Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie, INF 364, D-69120 Heidelberg.
E-Mail: wink@uni-heidelberg.de

Für viele Fragestellungen im Bereich der Ökologie, Physiologie, Evolution, Systematik und der Infektionskrankheiten werden heute vorzugsweise molekulargenetische und -biologische Untersuchungsmethoden eingesetzt. Voraussetzung für DNA-Analysen sind ausreichende Mengen intakter DNA. Sie lässt sich verlässlich aus Blut- und Gewebeprobe gewinnen, die entweder tiefgefroren, in Alkohol (Ethanol) oder in einem EDTA-Puffer aufbewahrt wurden, damit die DNA intakt geblieben ist.

DNA-Reste findet man auch in Federn (Spule), im Kot oder in den Eihäuten geschlüpfter Eier. Häufig ist diese DNA jedoch durch Umwelteinflüsse oder mikrobiellen Abbau stark degradiert und liefert keine verlässliche Ergebnisse.

Daher sind Blutproben aus der Sicht des Laborbiologen am besten für DNA-Analysen geeignet. Heparinhaltige Spritzen oder Puffer sollten jedoch vermieden werden, da Heparin die Untersuchungsmethoden stören kann. Die Entnahme von Blutproben aus Flügel- oder Fußvenen ist zwar problemlos und ohne Gefahr für einen Vogel, jedoch sind Blutentnahmen je nach Land bzw. Bundesland anzeigepflichtige oder sogar genehmigungspflichtige Tierversuche, für die geschultes Personal benötigt wird. Daher ist die Blutentnahme leider keine Methode der Wahl für die meisten Vogelbinger, die einen gefangenen Vogel beproben möchten.

Es gibt jedoch die nicht-invasive Tupfer-Methode, die weder anzeige- noch genehmigungspflichtig ist und von jedem Binger leicht durchgeführt werden kann: Abstriche der Schleimhaut in Mund und Rachen mittels

steriler Einmal-Wattetupfer (Arima & Ohnishi 2006; Brooks et al. 2003; Handel et al. 2006; Wellbrock et al. 2012). Die Entnahme von Tupferproben ist für ein Tier schmerzfrei und gefahrlos; sie gilt daher nicht als Tierversuch. Bei dieser Methode werden Schleimhautzellen, die sich leicht ablösen, gewonnen. Aus diesen kann man später verlässlich DNA gewinnen. Voraussetzung ist jedoch, dass die Tupferproben so aufbewahrt wurden, dass die DNA nicht abgebaut wird. Diese Methode wird manchmal auch als „Speichelprobe“ bezeichnet; wichtig ist jedoch nicht der Speichel sondern die Schleimhautzellen, die durch Abstrich gewonnen werden!

Vögel besitzen eine einheitliche Mund- und Schlundkopfhöhle (Oropharynx), die von Schleimhäuten umgeben ist. Wenn man mit einem sterilen Wattetupfer diese Schleimhäute mehrfach abreibt, werden ausreichend viele Schleimhautzellen freigesetzt. Dabei sollte mit dem Tupfer kräftig vier- bis fünfmal über die Wangenschleimhaut gestrichen werden.

Aufbewahrung: Wichtig ist, dass die Tupfer nicht mit den Fingern berührt werden. Nach dem Abstrich werden die Wattetupferspitzen entweder in verschließbare Röhrchen mit 70-80 % Ethanol oder EDTA-Puffer überführt. Alternativ können die feuchten Wattetupfer auch auf FTA-Filterpapier ausgestrichen werden. Dieses spezielle Filterpapier (Whatman) bindet und konserviert DNA. FTA Karten sind dann angesagt, wenn der Transport von Puffer- oder Alkoholfläschchen zu kompliziert ist. Alternativ können Tupferproben auch bei -20 °C eingefroren aufbewahrt werden. Ohne Konservierungsmittel beginnen Tupfer zu schimmeln. Sie sind dann

für eine DNA-Analyse nicht länger brauchbar. Falls Proben für Virus-Untersuchungen gesammelt werden, wird meist eine spezielle Konservierungslösung eingesetzt, die es erlaubt, vorhandene Viren später zu kultivieren. Empfohlen wird die Entnahme von **zwei Tupferproben** pro Tier (getrennt aufbewahren!), um gegebenenfalls eine Überprüfung der Analyseergebnisse zu ermöglichen.

Wichtig ist die **eindeutige Beschriftung der Probe**: Laufende Nummer, Art, Ort und Datum. Die Beschriftung erfolgt am besten auf Papierstreifen, die mittels Tesafilm an den Röhrchen befestigt werden. Eine Beschriftung mit Filzstift ist ungeeignet, da sich die Schrift durch Alkohol oder nach Einfrieren/Auftauen leicht ablöst. In einem Protokoll sollen zusätzlich alle übrigen Informationen aufgezeichnet werden: Name des Probennehmers, Geschlecht und Alter des Vogels (wenn bekannt), genaue Lage des Fundortes (Koordinaten) und gegebenenfalls weitere Angaben. Wenn möglich sollten Digitalfotos des Vogels angefertigt werden (Vorder-, Seiten-, Rückenansicht) und dem Protokoll als Beleg beigelegt werden.

Vogelberinger halten häufig wertvolles und unwiederbringliches Probenmaterial in ihren Händen. Neben der Beringung und der Vermessung eines Vogels sollten

zumindest bei seltenen Arten, schlecht bestimmbar Vögeln oder potenziellen Hybriden routinemäßig DNA-Proben gewonnen und an einem Forschungsinstitut oder Museum archiviert werden. Die Tupfer-Methode bietet sich hier als Methode der Wahl an, da sie leicht durchzuführen und kostengünstig ist. Beringer, die Interesse haben, diese Methode einzusetzen, wenden sich bitte zunächst an ihre zuständige Beringungszentrale. Proben können am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie, das eine umfangreiche DNA-Sammlung besitzt, archiviert werden, sodass sie für Forschungszwecke genutzt werden können.

- Arima H & Ohnishi N 2006: Usefulness of avian buccal cells for molecular sexing. *Ornithol. Sci.* 5: 139–143.
- Brooks R, Williamson J, Hensley A, Butler E, Touchton G & Smith E 2003: Buccal cells as a source of DNA for comparative animal genomic analysis. *Biotechnol. Lett.* 25: 451–454.
- Handel CM, Pajot LM, Talbot SL & Sage GK 2006: Use of buccal swabs for sampling DNA from nestling and adult birds. *Wildl. Soc. Bull.* 34: 1094–1100.
- Wellbrock AHJ, Bauch C, Rozman & Witte K 2012: Buccal swabs as a reliable source of DNA for sexing young and adult Common Swifts (*Apus apus*). *J. Ornithol.* 153: 991–994.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Vogelwarte - Zeitschrift für Vogelkunde](#)

Jahr/Year: 2015

Band/Volume: [53_2015](#)

Autor(en)/Author(s): Wink Michael

Artikel/Article: [DNA-Analysen von Vögeln: Nicht-invasive Probengewinnung durch Schleimhautabstriche \("Tupfer-Methode"\) 59-60](#)