

Einsatz von DNA-Analysen zur Artidentifizierung bei Vogelschlagschäden

Utilising DNA analyses for identification of species
after bird strike

von DR. J. BEIKERT u. DR. M. ULBRICH, Bielefeld

Zusammenfassung: Die an Vogelschlagschäden beteiligten Vögel können im Luftverkehr häufig nur unzureichend identifiziert und aufgrund fehlender morphologischer Merkmale nicht in die Systematik der Vögel eingeordnet werden. Die Grundinformationen zur Ausprägung der morphologischen Merkmale sind aber im Erbgut (Genom) jedes einzelnen Tieres gespeichert. Verschlüsselt in der Abfolge der verschiedenen DNA-Bausteine kann diese so genannte DNA-Sequenz als diagnostisches Merkmal zur Identifizierung der Art eingesetzt werden.

In der praktischen Anwendung bedeutet dies, dass z. B. Gewebereste, wie sie nach einem Vogelschlag an den betroffenen Flugzeugteilen vorzufinden sind, sichergestellt werden. In einem spezialisierten Labor kann dann aus diesen Geweberesten per DNA-Sequenzanalyse die schadensverursachende Vogelart ermittelt werden.

Summary: Birds involved in bird strike can often be identified only insufficiently in air traffic, and due to the absence of morphological features they cannot be adequately classified according to bird taxonomy. The basic information for the development of morphological features, however, is recorded in the genetic make-up ("genome") of every individual animal. Encoded in the succession of the different DNA-components, this so-called DNA-sequence can be employed as a diagnostic feature for identifying the species.

In terms of practical application, this means that e.g. tissue residues that can be found on the respective airplane parts after bird strike will be secured. In a specialised laboratory, the bird species causing the damage can then be ascertained from these tissue residues using DNA sequence analysis.

1. Vögel und Luftverkehr

Die Aufklärungsrate der an Vogelschlägen im Luftverkehr beteiligten Vögel liegt aktuell bei ca. 35% bis 45% (BREUER 2005). Zur Identifizierung werden

hauptsächlich die Überreste der Tiere - wie Federn oder Knochenteile - untersucht und nach anatomischen Merkmalen grob einer Vogelfamilie zugeordnet. Genaue Angaben über das Gewicht oder die Größe des Vogels sind mit dieser Methode allerdings nur eingeschränkt möglich, da die Anzahl der Arten innerhalb einer Vogelfamilie beträchtlich variieren kann. Zu nennen ist hier z. B. die Ordnung der Sperlingsvögel (Passeriformes), die aus mehr als 70 Familien mit über 5000 Arten besteht.

Weiterhin tragen bisher auch Beobachtungen der Cockpit-Crew oder des Bodenpersonals bzw. das Auffinden von Vogelkadavern auf dem Flugplatzgelände zur Artidentifizierung bei. Die Fehlerquote ist hier aber mitunter relativ groß und somit nur eingeschränkt zur Ermittlung der Vogelart geeignet.

Mit diesen zurzeit verwendeten Methoden scheint weder eine Steigerung der Aufklärungsrate noch eine zuverlässigere Artidentifizierung möglich zu sein. Im Rahmen von gutachterlichen Fragestellungen betreffend die Flugsicherheit ist es daher dringend erforderlich, neue innovative Analysemethoden zu etablieren. Gleiches gilt für die Schadensregulierung von getroffenen und beschädigten Luftfahrtteilen. Hier nehmen z. B. die Düsentriebwerke (Verursacher der höchsten Reparaturkosten) mit ca. 50 Prozent eine Spitzenposition ein. Für die Weiterentwicklung von Qualitätsstandards bei der Reparaturdurchführung ist die Artidentifizierung ebenfalls von zentraler Bedeutung, da die Ursachendokumentation einen elementaren Bestandteil der Arbeit bildet.

2. Flugsicherheitsrelevanz von Vogelarten

Die Bewertung des Gefährdungspotenzials von einzelnen Vogelarten bzgl. der Flugsicherheit erfordert bis heute eine Experteneinschätzung (MORGENROTH 2003). Um eine solche Einstufung vornehmen zu können, wurden verschiedene Kriterien, die einen Einfluss auf die Flugsicherheitsrelevanz von Vogelarten haben, berücksichtigt. Hierzu zählen die Körpermasse, die Schwarmbildung, die Flughöhe und die Biotopbindung der einzelnen Vögel. Auch die Beteiligung an bisherigen Vogelschlägen floss in die Bewertung ein, obwohl die beteiligten Vogelarten nur bei weniger als der Hälfte der Geschehnisse bekannt sind. Hier ist die genaue Artidentifizierung zwingend erforderlich, um die oben genannten speziesrelevanten Einflussgrößen zu ermitteln und die entsprechenden Populationen auf dem Flughafen bzw. in den Anflug- und Abflugsektoren möglichst niedrig zu halten.

3. Das phylogenetische System der Vögel

Die Phylogenetik beschäftigt sich mit der Stammeskunde der Lebewesen auf genetischer Ebene bzw. beschreibt den Genfluss von Generation zu Generation und die genetische Entwicklung der einzelnen Arten im hierarchischen System der Vögel.

Das "phylogenetische System" der Vögel ist dementsprechend ein Einordnungsprinzip und gibt den Grad der Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den einzelnen Vogelarten wieder. Je nach äußerem Erscheinungsbild (morphologisch) und entwicklungsgeschichtlichen (phylogenetischen) Merkmalen, werden die ca. 9200 Vogelarten in ca. 2000 Gattungen eingruppiert. Diese sind wiederum in 173 Familien organisiert und in 27 Ordnungen zusammengefasst (HOWARD & MOORE 1991).

4. Die DNA-Analyse

Wie in vielen anderen Bereichen des täglichen Lebens, können zur Identifizierung der an einem Vogelschlag beteiligten Vögel die modernen Methoden der molekularen Biotechnologie angewendet werden. Besonders geeignet ist hierfür die DNA-Sequenzanalyse (DNA = *deoxyribonucleic acid*), die in der Molekularbiologie und Bioinformatik die automatisierte, computergestützte Identifizierung von charakteristischen DNA-Abschnitten umfasst.

In der DNA sind alle genetischen Informationen für die biologische Entwicklung eines Organismus bzw. für dessen Zellfunktionen abgespeichert. Bestehend aus einer Kette hintereinander angeordneter Bausteine (Nukleotide), enthält die DNA-Sequenz die eigentliche phylogenetische Information, da jeder einzelne Baustein als Informationseinheit dient. Der Vergleich unterschiedlicher DNA-Sequenzen kann deshalb Aufschluss über die verwandtschaftlichen Beziehungen der verschiedenen Arten geben.

Im Allgemeinen gilt:

Je näher das Verwandtschaftsverhältnis der verschiedenen Arten ist, desto höher ist die Sequenzhomologie der DNA-Bausteine!

Für die Ermittlung von verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Vogelarten eignet sich die DNA der Mitochondrien, da sie im Gegensatz zur DNA des Zellkerns viele Vorteile bietet. Die relativ kleine Molekülgröße gewährleistet eine bessere Handhabung und sie wird durch ihre Ringstruktur besser vor dem Abbau (Degradation) geschützt. Ein weiterer Vorteil ist die relativ hohe Zahl an

Mitochondrien in den einzelnen Zellen. Hierdurch erhöht sich die Menge an potentiellem Untersuchungsmaterial gegenüber der DNA des Zellkerns. Weiterhin können aufgrund der maternalen (mütterlichen) Vererbung der Mitochondrien und somit der mtDNA, die einzelnen Entwicklungslinien genauer nachvollzogen werden.

4.1. Identifizierung der beteiligten Vogelarten mittels der vergleichenden DNA-Sequenzanalyse

Wird die DNA-Sequenz zweier Vögel derselben Art miteinander verglichen, so ist diese in vielen Bereichen quasi deckungsgleich. Wird dagegen die Nukleotid-Sequenz von Vögeln verglichen, die stammesgeschichtlich betrachtet vor langer Zeit eine eigenständige Entwicklung genommen haben, so sind in dieser Zeitspanne mehrere Veränderungen (Mutationen) im Erbgut beider Arten aufgetreten. Die DNA-Sequenzen sind in diesem Fall weit weniger deckungsgleich, bzw. weichen in Abhängigkeit vom Verwandtschaftsgrad zum Teil erheblich voneinander ab.

Zum Ablauf der vergleichenden Sequenzanalyse:

Im ersten Schritt wird aus den Überresten der unbekanntem Vogelschlagprobe die DNA extrahiert und ein oder mehrere genau definierte DNA-Sequenzabschnitte mittels der PCR-Technologie (Polymerase Chain Reaction) vervielfältigt (siehe Methoden-Box). Anschließend wird die Abfolge der DNA-Bausteine exakt bestimmt (Abb.: 1).

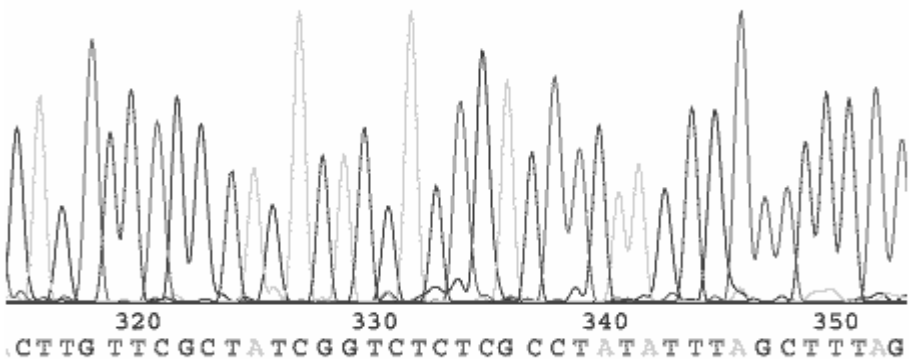
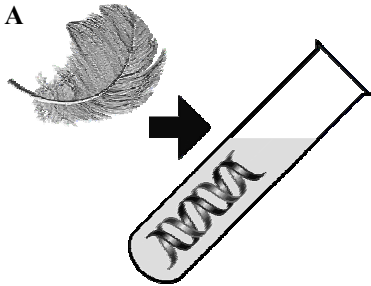


Abb. 1: Chromatogramm

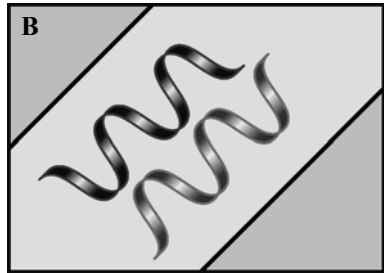
Ergebnis der DNA-Sequenzierung, Abfolge der einzelnen DNA-Bausteine (Nukleotide)

Methodenbox 1

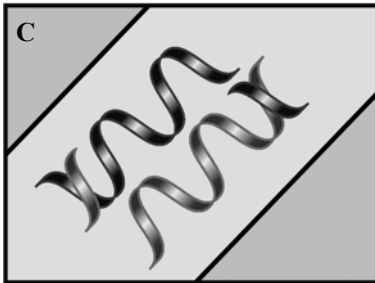
Die PCR-Technologie: ein molekularer DNA-Kopierer



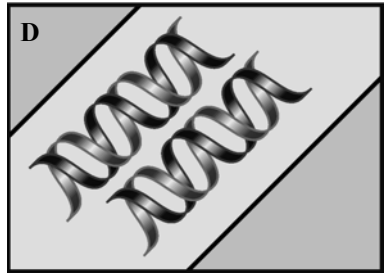
Aus Geweberesten wird die DNA (Erbinformation) isoliert.



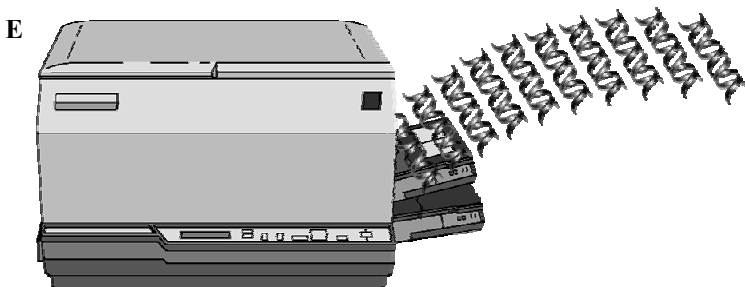
Die als Doppelstrang vorliegende DNA wird unter großer Hitze voneinander getrennt.



So genannte Primer (Startermoleküle) lagern sich hochspezifisch an die Einzelstränge an.



Ein Enzym (Polymerase) verlängert an den Enden der Startermoleküle den DNA-Einzelstrang, bis wieder ein Doppelstrang vorliegt.



Durch die ständige Wiederholung (Kettenreaktion) der Schritte b) bis d) können binnen weniger Stunden viele Millionen von Kopien eines einzelnen DNA-Abschnittes erzeugt und geringste DNA-Spuren nachgewiesen werden.

Mit den so erhaltenen DNA-Sequenzen wird dann im zweiten Schritt eine vergleichende DNA-Sequenzanalyse bzw. ein sogenanntes Sequenzalignment (Abb.: 2) durchgeführt, bei dem die unbekante Sequenz mit der DNA bekannter Vogelarten (Referenzdaten) auf Ähnlichkeiten abgeglichen wird. In diesem computergestützten Teil werden spezielle Algorithmen verwendet, die Sequenzhomologien in Form von sogenannten Identity-Werten für die einzelnen Ebenen der Taxonomie in absteigender prozentualer Übereinstimmung errechnen. Empirisch ermittelte Grenzwerte ermöglichen anschließend die Zuordnung der unbekanten DNA-Sequenz zu den Vogelgruppen der verschiedenen Ebenen der Taxonomie wie Ordnung → Familie → Gattung → Art.

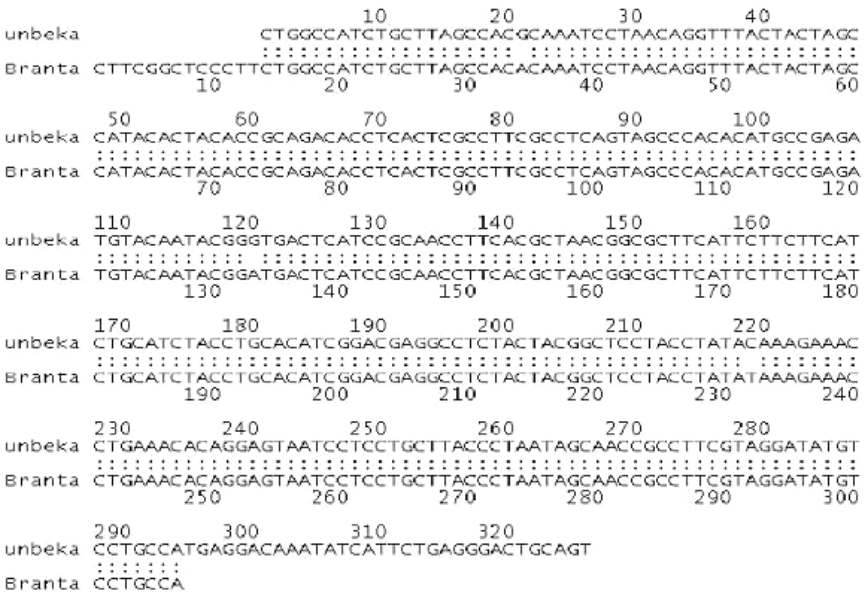


Abb. 2: Vergleichende Sequenzanalyse

DNA-Sequenzalignment zweier Vögel verschiedener Art, aber gleicher Gattung. *Branta canadensis* (bekannte Probe) und *Branta* sp. (unbekannte Probe).; Sequenzhomologie: Identity: 98,98%.

Im letzten Schritt werden die identifizierten Ausgangssequenzen mit speziesrelevanten Informationen, wie beispielsweise Größe und Gewicht, Vorkommen und Verhalten (Zugvogel, Schwarmvogel, etc.) bzw. mit den vorhandenen Flugdaten wie z. B. der Flugroute abgeglichen und ergänzt.

5. Praktische Umsetzung

Zur praktischen Überprüfung der verwendeten Methoden wurden aus verschiedenen Triebwerksbereichen - wie Fan Exit Vanes, Nozzle Guide Vanes, Inlet Guide Vanes, Air cooled Oil Cooler und Bleed Ducts – Überreste von zehn Vogelschlagproben (Gewebereste, Knochenteile, Vogelfedern, Tupferproben) entnommen, bzw. waren diese schon im Zuge von Reparaturarbeiten gesichtet und sichergestellt worden.

Unabhängig vom Fundort innerhalb des Triebwerkes und von der anschließenden Aufbewahrungsart konnte aus allen Proben DNA extrahiert und mittels der PCR-Technologie spezifische Nukleotid-Abschnitte für die vergleichende Sequenzanalyse vervielfältigt werden.

In 75% der Fälle konnten die Vogelschlagproben sicher in die Systematik der Vögel eingeordnet werden.

Die Ergebnisquote ist in hohem Maße von den zur Verfügung stehenden Referenzsequenzen abhängig. Bisher konnte lediglich auf die DNA-Sequenzen von etwa 3000 Vogelarten zurückgegriffen werden, die in einer speziell entwickelten Datenbank zur Verfügung stehen. Dementsprechend ist der Ausbau dieser Datenbank zwingend erforderlich, um die Ergebnisquote auf letztendlich nahezu 100% steigern zu können.

Allgemein gilt:

- 1) Je mehr DNA-Sequenzen zur Verfügung stehen, umso aussagekräftiger sind die Sequenzanalysen, bzw. umso genauer kann die Probe in das phylogenetische System der Vögel eingeordnet werden.
- 2) Je genauer die Probe in das phylogenetische System eingeordnet werden kann, umso exakter sind die Angaben über das Gewicht bzw. die Größe des Vogels, der den Schaden verursacht hat.

Eine entsprechende Einarbeitung des Wartungspersonals in die Probenentnahme nach Vorschrift, kann aller Voraussicht nach die Zuverlässigkeit der Ergebnisse noch weiter erhöhen, da Verunreinigungen mögliche Fehlerquellen darstellen.

6. Fazit

Im Vergleich zu herkömmlichen Methoden kann mit der vergleichenden DNA-Sequenzanalyse die Aufklärungsrate der an Vogelschlagschäden beteiligten

Arten drastisch erhöht werden. Dementsprechend sind wesentlich präzisere Aussagen über das Gewicht und die Größe der involvierten Vogelarten möglich, um z. B. versicherungspflichtige Schäden geltend machen zu können.

7. Literatur

Breuer, M. (2005): Vogelschlagstatistik in der deutschen Zivilluftfahrt von 2003 bis 2004. In: Vogel und Luftverkehr, Heft 2/2005

Howard, R., Moore, A. (1991): A complete checklist of the birds of the world. 2nd ed. London

Morgenroth, C. (2003): Entwicklung eines Index zur Berechnung der Flugsicherheitsrelevanz von Vogelarten. In: Vogel und Luftverkehr, Heft 2/2003

Anschrift der Verfasser

Dr. Jana Beikert, Dr. Michael Ulbrich
Tauros-Diagnostik
Universität Bielefeld, Bio V
Universitätsstraße 25
33615 Bielefeld
jana.beikert@tauros-diagnostik.de
michael.ulbrich@tauros-diagnostik.de