


Konservierungstechniken von Gewebe im Feld für die spätere DNA-Isolation

Tierisches Gewebe 	
Ethanol (gute Konservierung, gängigste Methode)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden (Verhältnis Ethanol/Probe ca. 5:1) -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden (z. B. Ratte/Schwanz; Fisch/Flosse, Schnecke/Fußmuskel)
Durchführung	-Proben werden in 96%igem, unvergällten Ethanol in fest verschließbaren Gefäßen (verdunstungssicher) gesammelt -Sammlungsdaten/Nr. auf dem Gefäß notieren (wasser- und ethanolunlöslicher Stift) oder, sicherer, auf Etikett notieren und zufügen -mit Ausnahme von der Einlagerung sehr kleiner Gewebeteile oder Organismen ist der Ethanol kurzfristig (innerhalb einiger Stunden) durch frischen auszutauschen, um DNA-Degradation durch Ethanolverdünnung zu vermeiden -von größeren Arthropoden mit gepanzertem Exoskelett sind nur einzelne Gliedmaßen (Beine) zu konservieren ("schockartiger" Verschuß aller Körperöffnungen beim Einbringen in 96%igen Ethanol führt zu Autolyse und Degradierung der DNA) -Um filigrane Organismen nicht mechanisch zu zerstören, Gefäß randvoll mit Ethanol füllen
Anmerkungen	-von Ethanol >96% ist abzusehen; enthält Spuren von Trocknungsmitteln, die die DNA-Konservierung beeinträchtigen
Anwendbarkeit	-Feld
Lagerung	-Kurzfristige Lagerung bei Umgebungstemperatur (dunkel), Langzeitlagerung bei -20°C oder besser bei -80°C
Vorteile	-einfache Handhabung -bei gleichbleibender Alkoholkonzentration und Vermeidung von Zusatzstoffen im Alkohol gute Konservierung
Nachteile	-teuer -reglementierende Transportbestimmungen (Gefahrstoff) und Zollbestimmungen sind zu beachten -Vor der DNA-Extraktion ist das Entfernen des Ethanols aus dem Gewebe erforderlich (Evaporation oder Flüssigkeitsaustausch z.B. in PBS- oder TE-Puffer)
Einfrieren in flüssigem Stickstoff (bei Anspruch auf beste Konservierung, wird aber nur in Spezialfällen angewendet)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden
Durchführung	-Proben werden in vakuumisolierten Metalltanks in Cryogefäßen (Sammlungsdaten/Nr. aufnotieren) gesammelt
Anwendbarkeit	-im Feld nur bedingt durchführbar, Cryoshipper erforderlich
Lagerung	-Langzeitlagerung von DNA und RNA
Vorteile	-optimale Konservierung
Nachteile	-teuer -Stickstoffquelle erforderlich -aufwendiger Transport (wenn größere Behälter erforderlich sind) -Kühlkette darf nicht unterbrochen werden (benötigte Mindeststickstoffmenge und Haltbarkeit im Cryoshipper kalkulieren)
Einfrieren bei -80° Celsius (gute Konservierung, aber nur in Spezialfällen praktikierbar)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden
Durchführung	-Proben werden in Cryogefäßen (Sammlungsdaten/Nr. aufnotieren) in mit Trockeneis (gefrorenem CO2) gefüllten, isolierten Boxen gesammelt -Langzeitlagerung in Tiefkühlschränken mit N2- oder CO2-Backups
Anwendbarkeit	-im Feld nur schwer durchführbar, sperriges Equipment
Lagerung	-Langzeitlagerung
Vorteile	-gute Konservierung
Nachteile	-teuer -aufwendiger Transport -Trockeneisquelle erforderlich -Kühlkette darf nicht unterbrochen werden

Einfrieren bei -20° Celsius (gute Kurzzeitkonservierung, aber nur in Spezialfällen praktikierbar)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden
Durchführung	-Proben werden in Plastikbeuteln oder Cryogefäßen (Sammlungsdaten/Nr aufnotieren) direkt im Gefrierschrank eingefroren
Anwendbarkeit	-im Feld schwer praktikabel, Station mit Elektrizität und Gefrierschrank erforderlich
Lagerung	-Kurzfristige Lagerung
Vorteile	-einfache Handhabung -in Kombination mit konservierenden Additiven gute, stabilisierte Konservierung (z. B. Ethanol)
Nachteile	-Aufwendiger Transport (erfordert aufwendige Logistik) -Kühlkette darf nicht unterbrochen werden (besonders bei Proben ohne Additive)
Trocknung in Silicagel-Trockenperlen (Alternative zu Ethanol, Voraussetzung: Trockene Witterung)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden (Verhältnis Silicagelkugeln/Probe ca. 10:1) -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden
Durchführung	-Proben werden, eingetütet in Zellstoffteebeuteln in kleinen Gefäßen mit Silicagelkugeln gesammelt -Sammlungsdaten/Nr auf Zettel schreiben und Gefäß zufügen -Indikatorgele zeigen bei Entfärbung Feuchtigkeitssättigung an und müssen ausgetauscht werden -Kugeln sind nach Trocknung im Ofen wiederverwendbar
Anwendbarkeit	-Feld; bei hoher Luftfeuchtigkeit ungeeignet
Lagerung	-Langfristige Lagerung bei Umgebungstemperatur in trockener Umgebung
Vorteile	-einfache Handhabung -keine Transportbeschränkungen -ungiftig und unbrennbar -relativ preisgünstig -platzsparend
Nachteile	-nur für Sammlungen im trockener Witterung -regelmäßiger „Trocknungscheck“ notwendig
Konservierung von Blut (EDTA-Vollblutröhrchen)	
Präparation	-Abnahme venösen Blutes mittels steriler Kanüle, Abfüllung in EDTA-Vollblutmonovetten (Ausbildung zur Blutabnahme erforderlich)
Durchführung	-Nach Abfüllen des Blutes in EDTA-Vollblutröhrchen baldige Kühlung bei 4-8°C und späteres Einfrieren notwendig -Sammlungsdaten/Nr auf Röhrchen notieren, evtl. Fotobeleg des ganzen Tieres anfertigen
Anwendbarkeit	-im Feld anwendbar
Nachteile	-Kühlung erforderlich
Alternative	-FTA-Cards: Auftragen eines Blutstropfens (auch vom toten Tier oder kleine Gewebeproben) auf ein mit Additiven versehenes Trägermaterial (Isolierung und Konservierung) ; spätere Aufreinigung im Labor -Nachteil: Kontaminationsgefahr (z. B. Verpilzung), geringe Ausbeute
DMSO-Puffer (gute Konservierung auch bei RT, allerdings muß recherchiert werden, ob geeignete Puffervorpräparation bekannt)	
Präparation	-kleine Organismen (wie z. B. kleine Arthropoden) können komplett eingelagert werden (Verhältnis DMSO/Probe mindestens 5:1) -von größeren Tieren müssen Gewebeproben entnommen werden
Durchführung	-Proben werden in (anwendungsspezifisch) vorpräparierten DMSO/Salz-Puffern (s. Zoltan Tamas Nagy 2010) gesammelt
Anmerkungen	-Konservierungsmethode ist gut geeignet für diverse marine Organismen (z. B. marine Polychaeten und Gastropoden)
Anwendbarkeit	-Feld
Lagerung	-Kurzfristige Lagerung bei Umgebungstemperatur, Langzeitlagerung bei -20°C oder besser bei -80°C
Vorteile	-einfache Handhabung -Vorpräparierter DMSO-Puffer nicht brennbar
Nachteile	-relativ teuer und anwendungsspezifische Vorpräparation des Puffers notwendig



Gewebe höherer Pflanzen

Trocknung mit Silicagel-Trockenperlen (schnelles, einfaches Trockungsverfahren; Voraussetzung: Trockene Witterung)

Präparation	-vorzugsweise von einem Individuum frisches, grünes Blattmaterial ohne Läsionen auswählen -Insgesamt ca. 30 cm ² (oder bei weniger Blattmaterial soviel wie möglich) mit gereinigter Klinge abschneiden -Material in kleinere Stücke (ca 4 cm ²) zerschneiden
Durchführung	-das Material wird in Zellstoffteebeutel gefüllt und diese dann in Plastikbeutel (Zip-Lock) oder verschließbare Gefäße mit Silicagel-Kugeln gegeben (Verhältnis Probe/Silicagel 1:10), eindeutige Zuordnung gewährleisten (Sammlungsdaten/Nr. Zettel und Umverpackung notieren, Zettel in der Tüte beilegen) -Indikatorgele zeigen bei Entfärbung Feuchtigkeitssättigung an und müssen ausgetauscht werden (regelmäßige Kontrolle erforderlich) -Kugeln sind nach Trocknung im Ofen wiederverwendbar
Anmerkungen	-je dünner und kleinflächiger das Material, umso schneller die Trocknung und umso besser die Konservierung (möglichst innerhalb 24 h)
Anwendbarkeit	-Feld, nur trockene Witterung
Lagerung	-Langzeitlagerung bei Raumtemperatur in trockener Umgebung
Vorteile	-einfache Handhabung und platzsparend -ungiftig und unbrennbar -keine Transportbeschränkungen -relativ preisgünstig
Nachteile	-nur für Sammlungen bei trockener Witterung -regelmäßiger „Trocknungsscheck“ notwendig

CTAB-Puffer/Rezept für Sukkulenten bzw. wasserreiche, weiche Blattgewebe (gut geeignet für Sammlungsgebiete mit feuchter Witterung)

Präparation	-vorzugsweise von einem Individuum frisches, grünes Blattmaterial ohne Läsionen auswählen -Insgesamt ca. 30 cm ² (oder bei weniger Blattmaterial soviel wie möglich) mit gereinigter Klinge abschneiden -Material in schmale Streifen bzw. kleine Stücke zerschneiden
Durchführung	-Proben in mit CTAB-Puffer gefüllte 15ml-Röhrchen füllen, so daß sie komplett mit Puffer überdeckt sind, Sammlungsdaten/Nr. auf Röhrchen notieren
Anmerkungen	-je dünner und kleinflächiger das Material, umso schneller die Durchdringung mit CTAB-Puffer und umso besser die Konservierung -Umgang mit diesem CTAB-Puffer erfordert Sorgfalt (zähflüssig); Bei der Reisevorbereitung zu beachten: Die Herstellungszeit des Puffers beträgt 2 Tage, Rezept erhältlich auf Anfrage
Anwendbarkeit	-Feld
Lagerung	-Kurzfristige Lagerung bei Umgebungstemperatur, Langzeitlagerung bei 4°C
Vorteile	-Auch bei feuchter Witterung gut anwendbar
Nachteile	-Gefahrstoff, Beachtung von Transportauflagen

Tieffrieren (vorzugsweise in flüssigem Stickstoff oder bei -80°C, -20°C)

Präparation	-vorzugsweise von einem Individuum frisches, grünes Blattmaterial auswählen -Insgesamt ca. 30 cm ² (oder bei weniger Blattmaterial soviel wie möglich) mit gereinigter Klinge abschneiden -Material in kleinere Stücke (ca 4 cm ²) zerschneiden
Durchführung	-das Material wird in Plastikbeutel (Zip-Lock) gefüllt und direkt eingefroren, einen Zettel mit Sammlungsdaten/Nr. beilegen sowie auf Beutel notieren
Anmerkungen	-je dünner und kleinflächiger das Material, umso schneller der Gefrierprozess und umso besser die Konservierung
Anwendbarkeit	-im Feld nur mit viel Equipment möglich (s. Tierische Gewebe)
Lagerung	-Langzeitlagerung in Stickstoff oder -80 °C oder Kurzzeitlagerung bei -20°C
Vorteile	-optimale Langzeitlagerung in flüssigem Stickstoff -gute Kurzzeitlagerung bei -20°C, gute Langzeitlagerung bei -80°C
Nachteile	-Unterbrechungen der Kühlkette führen zu hohem Degradierungsgrad der DNA -viel Equipment erforderlich -aufwendiger Transport -Stickstoffquelle, Trockeneis oder Kühlschranks/Elektrizität erforderlich

Trocknung durch Pressen (die anderen genannten Methoden sind allerdings zu bevorzugen)	
Präparation	-vorzugsweise von einem Individuum frisches, grünes Blattmaterial ohne Läsionen auswählen -ca. 30 cm ² (oder bei weniger Blattmaterial soviel wie möglich) mit gereinigter Klinge abschneiden -Material in kleinere Stücke (ca 4 cm ²) zerschneiden; dicke Blätter können zusätzlich auf der Oberfläche angeritzt werden
Durchführung	-zwischen Papierbögen legen, Sammlungsdaten/Nr auf Zettel schreiben und beifügen, pressen -Papierbögen häufig wechseln und gute Luftzufuhr gewährleisten
Anmerkungen	-je kleiner das Material zerschnitten wird, umso schneller die Trocknung und umso besser die Konservierung
Anwendbarkeit	-Feld
Lagerung	-Langzeitlagerung bei Umgebungstemperatur in trockener Umgebung
Vorteile	-einfache Handhabung
Nachteile	-bei zu langer Trocknungszeit hoher Degradierungsgrad der DNA wahrscheinlich
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="width: 60%;">Pilze</div>  </div>	
Lufttrocknung von Flechten	
Präparation	-Flechten: Mehrere, möglichst große Individuen einer Art werden in ca. 50cm-Abständen gesammelt, in Zellstoff eingewickelt (bewährt hat sich Toilettenpapier), und werden dann in einer mit Sammlungsdaten/nr. beschrifteten Papiertüte gelagert und transportiert
Durchführung	- Flechten werden 2-3 Tage bei Raumtemperatur luftgetrocknet
Anmerkungen	- Alternativ bietet sich das Pressungs-Verfahren für höhere Pflanzen an. Dabei ist zu beachten, daß Papierbögen häufig gewechselt werden und gute Luftzufuhr gewährleistet ist
Anwendbarkeit	-Feld
Lagerung	- Kurzzeitlagerung bei Umgebungstemperatur, Langzeitlagerung bei -20°C
Vorteile	-einfache Handhabung
Nachteile	-Trocknen im Warmluftstrom erfordert Elektrogerät und Stromquelle
Trocknung mit Silicagel-Trockenperlen (sehr geeignet für frische Sammlungen; Voraussetzung: Trockene Witterung)	
Präparation	-von Großspitzen vorzugsweise mehrere cm ² Gewebematerial (ca. 1g) ohne Läsionen mit gereinigter Klinge abschneiden
Durchführung	-das Material wird kleingeschnitten, in Zellstoffbeutel gefüllt und dann in Plastikbeutel (Zip-Lock) oder verschließbare Gefäße mit Silicagel-Kugeln gegeben (Verhältnis Probe/Silicagel 1:10); Sammlungsdaten/Nr. auf Zettel und Umverpackung, Zettel in Beutel legen -Indikatorgele zeigen bei Entfärbung Feuchtigkeitssättigung an und müssen ausgetauscht werden (regelmäßige Kontrolle erforderlich) -Kugeln sind nach Trocknung im Ofen wiederverwendbar
Anmerkungen	-je dünner und kleinflächiger das Material, umso schneller die Trocknung und umso besser die Konservierung (möglichst innerhalb 24 h)
Anwendbarkeit	-Feld, nur trockene Witterung
Lagerung	-Langzeitlagerung bei Umgebungstemperatur in trockener Umgebung
Vorteile	-einfache Handhabung und platzsparend -ungiftig und unbrennbar -keine Transportbeschränkungen -relativ preisgünstig
Nachteile	-nur für Sammlungen bei trockener Witterung -regelmäßiger „Trocknungscheck“ notwendig