

Differenzierung von Kammuscheln durch DNA-Analyse

Differentiation of Scallops (Family Pectinidae) by DNA-Analysis

Gabriele Näumann^{a)}, Barbara Stumme^{a)}, Hartmut Rehbein^{b)},

^{a)} Institut für Hygiene und Umwelt, Marckmannstrasse 129a/b, 20539 Hamburg,
Gabriele.Naeumann@hu.hamburg.de

^{b)} Max Rubner – Institut (MRI), Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch, Palmaille 9, 22767 Hamburg

Abstract

In the last years scallops have reached a considerable popularity and the import of scallops into the EU has increased about 20 % over the last five years from some 50.000 t to nearly 63.000 t in the year 2010. Scallops are fished or farmed, and traded as fresh or deep frozen product. Recently investigation of scallop products of various origins by determining the species using molecular biological techniques showed that the species had been mislabelled in a considerable proportion of samples.

Determination of the species was performed by PCR-based DNA-analysis of mitochondrial DNA followed by (i) sequencing the PCR product and (ii) comparison of the DNA sequence with entries in GenBank using BLAST. The deduced sequences of the analysed samples were considerably different from each other allowing the unambiguous assignment of samples to a certain species.

Kurzfassung

Die Nachfrage von Kammuscheln in der EU hat in den letzten fünf Jahren erheblich zugenommen. Der Import stieg von knapp 53.000 t im Jahr 2005 um 20% auf annähernd 63.000 t im Jahr 2010. Gehandelt werden Kammuscheln sowohl als frische als auch als Tiefkühlware aus Wildfängen und Aquakultur. Untersuchungen von Kammuschel-Proben aus verschiedenen Ursprungsländern und Bestimmung der Spezies auf molekularbiologischer Basis zeigten, dass ein erheblicher Anteil der Proben falsch deklariert war.

Die Bestimmung der Spezies erfolgte durch Vervielfältigung eines Abschnitts des 16S rRNA Gens durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR), anschließender Sequenzanalyse der PCR-Produkte und Vergleich der DNA Sequenzen untereinander und mit Dateneintragen in GenBank. Die DNA-Sequenzen der ermittelten Abschnitte der 16S rRNA der Proben unterschieden sich erheblich voneinander und erlaubten eine eindeutige Zuordnung zu jeweils einer Spezies.

Einleitung

Die kosmopolitische Familie der Kammuscheln (*Pectinidae*) gehört zu den marinen bivalven Mollusken und besteht aus mehr als 50 Gattungen mit annähernd 300 verschiedenen Spezies. Kammuscheln sind in praktisch allen Weltmeeren beheimatet und besiedeln unterschiedlichste Lebensräume sowohl in flachen als auch tieferen Gewässern. Viele Spezies sind zu einer aktiven Fortbewegung fähig, während andere sessil sind. Das charakteristische Merkmal von Vertretern dieser Familie ist ihr Gehäuse mit zwei häufig asymmetrischen Schalenhälften, die flügelartige Fortsätze neben dem Wirbel am Schloss besitzen. Die Schalenhälften werden durch einen einzigen zylindrischen Muskel,

den Adduktormuskel, geschlossen (Abbildung 1). Die Gattung *Pecten* ist mit ihrer charakteristischen kamm- bzw. fächerförmigen Schale Namensgeber und Typ-Gattung der Kammuscheln (lat. *Pecten* für Kamm). Im Mittelalter diente die Muschel den Pilgern auf dem Jakobsweg als Erkennungszeichen, woher auch der Name Jakobsmuschel oder Pilgermuschel stammt.

Die Gattungen und Spezies dieser Familie unterscheiden sich morphologisch durch ihre Gestalt, Färbung und die Größe ihrer Schalen. Einige Kammuschel-Arten besitzen als Delikatesse große wirtschaftliche Bedeutung und werden gefischt oder in Aquakultur



Abbildung 1: Charakteristische Jacobsmuschel-Schale und Muschel mit Adduktormuskel und Corail
 Figure 1: Characteristic scallop shell and shell with adductor muscle and corail

gehältert. Verwendet werden nur der zylinderförmige, weiße Muskelstrang zwischen den beiden Klappen und der orangerote Rogen (*Corail*). Der Import in die EU ist seit dem Jahr 2005 um 20% auf insgesamt 62.800 t im Jahr 2010 gestiegen. Dabei entfielen alleine auf Frankreich 28.000 t, aber auch in Deutschland stieg der Import von 1000 t auf 1400 t im Jahr 2010 (Globefish, Highlights 2011).

Die im Nordatlantik vor den Küsten der USA und Kanada vorkommende Atlantische Kammmuschel *Placopecten magellanicus* steht weltweit im Handel von Wildfängen mit über 250.000 t im Jahr 2009 an erster Stelle (FAO, 2009). Die Produktion von ca. 750.000 t von *Mizuhopecten yessoensis* im Jahr 2008 - einer Kammmuschelart mit natürlichen Verbreitungsgebieten sowohl in Asien, vor Japan und China, als auch vor den Küsten Nordeuropas, Nord- und Südamerikas im Pazifik und Atlantik - stammte zum überwiegenden Anteil aus Aquakulturen aus Japan und China. Weitere 400.000 t *Chlamys farreri* und 385.000 t *Argopecten irradians* wurden von China in Aquakultur produziert, womit China mit über 80 % der weltweiten Aquakultur-Produktion an erster Stelle liegt.

In Europa werden die Mittelmeer-Pilgermuschel (*Pecten jacobaeus*) und die Große Pilgermuschel (*Pecten maximus*) befishet. Das Verbreitungsgebiet der Großen Pilgermuschel reicht von nördlich der Britischen Inseln entlang der atlantischen Küste bis nach Südportugal. Die Hauptfanggebiete liegen nördlich der Britischen Inseln und vor Frankreich, mit europaweit über 50.000 t Ertrag im Jahr 2008. Die beiden Pecten-Arten gehören mit bis zu 140 mm Durchmesser zu den größten und schmackhaftesten essbaren Muscheln. Nur diese beiden Kammmuschelarten dürfen sich nach deutschem Lebensmittelrecht (Fischetikettierungsverordnung 2011) Jakobsmuschel (oder auch Jacobsmuschel) nennen.

Die Untersuchung zunächst einzelner Stichproben zeigte, dass schon die deutsche Bezeichnung der Ware teil-

weise nicht mit der nach Fischetikettierungsverordnung geforderten Angabe der lateinischen Spezies übereinstimmte, oder die Speziesangabe ganz fehlte. So waren einige als Jakobsmuscheln bezeichnete Proben mit der lateinischen Bezeichnung *Placopecten magellanicus* versehen.

Weitere Untersuchungen von Kammmuschel-Proben aus dem Groß- und Einzelhandel und von Importeuren in Hamburg zielten daher darauf ab, die Spezies der Proben zu analysieren und die deklarierte Spezies für die Ware zu überprüfen. Daher wurde im Labor ein molekularbiologisches Nachweissystem auf PCR Basis etabliert, das folgende Bedingungen erfüllt:

- Der zu analysierende DNA-Abschnitt ergibt bei möglichst allen im Handel befindlichen Kammmuschel-Arten ein PCR-Produkt
- Die Nukleotidsequenzen des DNA Abschnitts von verschiedenen Kammmuschel-Arten differiert so stark, dass eine zweifelsfreie Unterscheidung von Arten möglich ist
- Für den Nukleotidabschnitt sind von möglichst vielen Kammmuschel-Arten Daten in GenBank vorhanden, sodass über die analysierten DNA-Sequenzen die Probe einer Spezies zugeordnet werden kann

Im Labor wurden verschiedene PCR Nachweissysteme getestet. Die Analyseergebnisse eines Abschnitts der 16S rRNA von Proben verschiedener Spezies werden im Folgenden dargestellt.

Material und Methoden

Art und Herkunft der Handelsproben

Bei den untersuchten Proben der Kammmuscheln handelte es sich um amtliche Untersuchungsproben, die sowohl aus dem Hamburger Einzelhandel und Großhandel stammten als auch um Importproben vom Veterinäramt Grenzdienst aus dem Hamburger Hafen. Deklariert waren die Proben als *Pecten maximus*,

Tabelle 1: Angaben und Ergebnisse der untersuchten Handels- und Importproben.

Table 1: Examples of commercial and import samples analyzed

Kennzeichnung	Analyseergebnis	Probenahme	Herkunft	Fanggebiet	Qualität
Pecten spp.	Mizuhopecten yessoensis	FM	Japan	Aquakultur	TK
Jacobsmuscheln	Pecten spp.	FM	Deutschland	NO Atlantik	frisch
Jacobsmuscheln	Pecten spp.	FM	Norwegen	Aquakultur	frisch
Kammuscheln, Chlamys opercularis, Zygochlamys patagonica, Chlamys nobilis	Aequipecten opercularis	EH	Frankreich	NO Atlantik, SW Atlantik, Pazifischer Ozean	TK
Placopecten magellanicus	Mizuhopecten yessoensis	FM	USA	NW Atlantik	frisch
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	FM	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Pecten spp.	EH	Deutschland	NO Atlantik	frisch
Jacobsmuschel	Mizuhopecten yessoensis	GH	Japan	Aquakultur	frisch
Pecten maximus	Pecten spp.	FM	Norwegen	NO Atlantik	frisch
Pecten maximus	Pecten spp.	FM	Norwegen	NO Atlantik	frisch
Jacobsschelpen	Zygochlamys patagonica	GH	Deutschland	o.A.	TK
Chlamys opercularis	Zygochlamys patagonica	GH	Frankreich	o.A.	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	GH	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Placopecten magellanicus	GH	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Placopecten magellanicus	EH	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Argopecten purpuratus	Importeur	Peru	o.A.	TK
Placopecten magellanicus	Mizuhopecten yessoensis	Importeur	Belgien	Atlantik NW	TK
Placopecten magellanicus, Jacobsmuscheln	Placopecten magellanicus	Importeur	Großbritannien	NW Atlantik	TK
Pecten maximus	Pecten spp.	Importeur	Großbritannien	NO Atlantik	TK
Placopecten magellanicus	Argopecten irradians	Importeur	USA	NW Atlantik	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	Importeur	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Mizuhopecten yessoensis	EH	Deutschland		TK
Pecten spp.	Pecten spp.	Importeur	Belgien	NO Atlantik	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	Importeur	USA	NW Atlantik	TK
Pecten yessoensis	Mizuhopecten yessoensis	EH	USA	NW Pazifik	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	Importeur	USA	NW Atlantik	TK
Pecten spp.	Argopecten spp.	EH	Peru	Aquakultur	TK
St. Jacob Muschelfleisch	Placopecten magellanicus	EH	Deutschland	NW Atlantik	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	VGH	USA	NO Atlantik	TK
Patinopecten yessoensis	Mizuhopecten yessoensis	EH	USA	NW Pazifik	TK
Jakobsmuscheln	Pecten spp.	EH	Deutschland	k.A.	TK
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	GH	USA	k.A.	frisch
Placopecten magellanicus	Placopecten magellanicus	GH	USA	k.A.	frisch

15 von 33 Proben korrekt gekennzeichnet.,
3 Proben mit widersprüchlicher Kennzeichnung
15 Proben mit nicht korrekter Angabe der Spezies

Placopecten magellanicus, *Patinopecten* oder auch *Pecten yessoensis*, *Pecten spp.*, *Chlamys opercularis*, Jacobsmuschel, Jacobsschelpen oder auch nur als Muschelfleisch.

Bei der Mehrzahl der Proben handelte es sich um Tiefkühlware aus dem Atlantik, aber auch Proben aus Aquakultur aus Japan und Peru wurden untersucht. Für eine Probe war als Herkunft der Nordwestliche Pazifik vor Asien angegeben. Angaben zu den Untersuchungsproben und Ergebnisse der Analysen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Analysenmethoden

Für die DNA Isolierung wurden ca. 0,2 mg Probenmaterial mit dem DNA Isolierungskit E.Z.N.A.® Plant DNA Kit der Firma Bio-Tek Inc. nach dem Protokoll des Herstellers isoliert und ca. 10 ng DNA für die PCR Reaktionen eingesetzt.

Zur Speziesidentifizierung wurde ein ca. 600 bp großer Abschnitt des mitochondrialen Gens für die 16S rRNA vervielfältigt. Die PCR wurde mit den Primern 16SAR 5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT und 16SBR 5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT und folgendem Temperaturprofil (10 min bei 95 °C, dann 30 Cyclen mit 15 sec/95 °C, 30 sec/55 °C, 60 sec/72 °C, und 5 min bei 72 °C) durchgeführt (Fernandez et al. 2002); anschließend wurde die Nukleotidsequenz ermittelt. Die so erhaltenen Sequenzen wurden mittels BLAST (basic local assignment search tool) mit Sequenzen in GenBank und untereinander verglichen. Die Spezies der Probe galt als identifiziert, wenn die Übereinstimmung mit der in GenBank hinterlegten Sequenz 99 % oder 100 % betrug, und mit entsprechenden Sequenzen anderer Spezies deutlich kleiner war.

Ergebnisse und Diskussion

Analyse eines Abschnitts des 16S rRNA Gens

Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion wurde aus dem Gen für die 16S rRNA ein etwa 600 bp umfassendes Segment vervielfältigt. Das PCR Nachweissystem ergab Amplifikate für alle analysierten Proben. Die genaue Amplifikatlänge war je nach Spezies unterschiedlich groß und lag zwischen ca. 550 bp und 620 bp. Ein Vergleich der erhaltenen Sequenzen verschiedener Proben ergab, dass die Sequenzen untereinander erheblich differierten (Abbildung 2) und neben Nukleotidaustauschen auch Deletionen in dem analysierten Abschnitt vorhanden sind. Es konnte daher gefolgert werden, dass eine Zuordnung der analysierten

Sequenzen zu einer Spezies möglich sein sollte, wenn Vergleichsdaten für den analysierten Genabschnitt für die in Frage kommende Spezies in GenBank vorhanden sind.

Zuordnung der analysierten DNA Sequenzen zu einer Spezies durch GenBank

Es wurden insgesamt 34 Kammmuschel-Proben untersucht, bei denen es sich um die Arten *Pecten spp.*, *Pecten maximus*, Jacobsmuschel oder Jacobsschelpen, (18 Proben), *Placopecten magellanicus* (12 Proben), *Patinopecten yessoensis* oder *Pecten yessoensis* (2 Proben) und *Chlamys opercularis*, *Chlamys nobilis* oder *Zygochlamys patagonica* (2 Proben) handeln sollte. Teilweise fehlte die lateinische

P.maximus	1	-----GGGGTCGTGCCTTCCCGGTGAGCTTGGCGGCTTAAACGGACGCGGTAAGCGTGTCTAAGTAGCTAAATATATGGC	75
P.magellanicus	1	-----TAGGGAGTCGTGCCTCCAGTGGGCATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAGTCGTCTAAGTAGCTAAGTATATGGC	78
M.yessoensis	1	-----GGGGTCGTGCCTTCCCGGTGGGTATACGAGCCTAAACGGACGCGGTAAGTCGTCTAAGTAGCTAAATATATGGC	75
Ae.opercularis	1	-----TGAGATCTTAAACGGATCGCGTAAAGCGTGTCTAAGTAGCTAAATATATGGC	53
A.irradians	1	-----GGAGTCGTGCCTCCCGGTGAGTGT--AAACTTAAACGGATCGCGTAAAGCGTGTCTAAGTAGCTAAGTATATGGC	73
A.purpuratus	1	-----GGAGTCGTGCCTCCCGGTGAGTGT--AAACTTAAACGGATCGCGTAAAGCGTGTCTAAGTAGCTAAGTATATGGC	73
Z.patagonica	1	-----CATGGGAAGTCGTGCCTCCAGTGCATACGAGCTTAAACGGACGCGGTAAGTCGTCTAAGTAGCTAAATATATGGC	80

P.maximus	76	CTA-TTAATGTAGGCTCTGTGAATGGTTGACGAGTTTCCAACCTGCTCTAGTTTTTTTGGTGAACCTGAATGGATGTGCAAAATGCTTCCATGGGTA	174
P.magellanicus	79	CTA-TTAATGTAGGCTCTGTGAATGGTTGACGAGCCTCAACCTGCTCTAGTTTTTTTGGTGAACCTGAATGGATGTGCAAAATGCTTCCATGGGTA	177
M.yessoensis	76	CCA-TTAATGTGGGCTCTGTGAATGGTTGACGAGTCTCTACTCTCAAGGTTGTTTTGGTGAACCTGAATGGATGTGCAAAATGCTTCCATAGAA	174
Ae.opercularis	54	CCT-CTAATTTGGGGCCCTGTGAATGGATTGACGAGCCTATAACTGTCTCTAGCTGAATATATGAAATTTAAAGTGCAAAATGCTTAAATATAG	152
A.irradians	74	CTAGTTAATGTAGGCCCTGTGAATGGTTGACGAGTTTTCTCTCTCTAGCTGTTTAAAGTGAACCTGAATGGATGTGCAAAATGCTTCCATGGTAA	173
A.purpuratus	74	CTAGTTAATGTAGGCCCTGTGAATGGTTGACGAGTTTTCTCTCTCTAGCTGTTTAAAGTGAACCTGAATGGATGTGCAAAATGCTTCCATGGTAA	173
Z.patagonica	81	CCA-TTAATGTGGTCTCTGTGAATGGTTGACGAGTCTCTCGAGATTACTTTGGTGAACCTGAATTTAAAGTGCAAAATGCTTCCATGGGTA	179

P.maximus	175	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAGAAATTAAGTTATTTGGG-----AAGTCCAAAGCTATTGTGGCCGAATCGTTGAGGAGCACTAGA-----	264
P.magellanicus	178	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAAATAATTTAGCG-----TATGGAGTGTATCCCTGTTGGTGAAGGCTAGAGGGTTAAGGGATTGG	267
M.yessoensis	175	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAGAAATTCCTATACAGCGTAAACCCACATTGACTGTGTGACCGTTAAAGAGCAGATAGGCGTTGGATCTTT	274
Ae.opercularis	153	TGATAGCAGAGAGACCCCGTGAAGTTGTTAACT-----AAGTGGCAGAGATATCT-----	204
A.irradians	174	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAGAAATTAATGT-----GCAGATAGTGGGAGCTACT-----	233
A.purpuratus	174	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAGAAATCTATGT-----CGTGGAGTAGAAGGTTACT-----	233
Z.patagonica	180	AGAAAGACGAGAGACCCCGTGAAGTTAGAAATTCCTGCT-----TACAACGTTAGCTTTGAGGATATGGCCGAGGGGGC-----	256

P.maximus	265	-----ACTTAGTGTTCAGAAAGGGTGAATAATAGCAGTTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGAGCAAAGCTAGACTCCTTTAGGGTG	343
P.magellanicus	268	TT-----GTTTCTAAGTGAAGGGGTGTAGT--GAATGTTTTGCTGGGGCAGCAAAGGGCAAATTTAGACCTTAATGTATT	345
M.yessoensis	275	TTTTGAAGGTCGCGGCTTTATGCTTTTGAAGCAGCGGAATGATGTTTGAAGAGTTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGAGCAAACCTAGACCTTTTAAAT-CA	373
Ae.opercularis	205	-----TACCACCTTT-----TGTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGAGCAAAGCTAGACTCCTTTCTTTTC-	261
A.irradians	234	-----TTTTCTGCCTTA-----TGTTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGGGCAAAGTAGACCTCCTTTAAAT-	293
A.purpuratus	234	-----TCCCTTAGCTTA-----TGTTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGGGCAAATTAGACCTCCTTTATCT-	293
Z.patagonica	257	-----AAGTGGGGGAATGTAAGTT-GATGATTTTTGGCTGGGGCAGCAAAGGCAAACCTAGACTCCTTTTCT-TA	326

P.maximus	344	TAAACAGATGTTTACGACCCACAAC-ATTAAGS-TGTGATTATCAGAAGAAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTGCTCTTATAGTCTTTATAG	441
P.magellanicus	346	TAAACCGGTTGCGTTACGACCCATAATT-AAAAAGGTGTGATTAGCAGAAGGAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTGCTCTTATAGTCTTTATAG	443
M.yessoensis	374	CTAAACCGGATACGTTACGACCCACAACATGAAATCGTGATTAAACAGAAGGAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTGCTCTTATAGTCTTTATAG	473
Ae.opercularis	262	-----TTTGTGATAGACGACCCACTTAC-TTTTATTAGTGATTAAACAGAAGAAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTTCTTATAGTCTTTATAG	356
A.irradians	294	TAACTCTGGTGTGATTAATGACCCATAAGG-TTAAAGGATGATTAGTAGAAGAAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTCCGCTTACAGTCTTTATAG	392
A.purpuratus	294	AAGTCTGGTGTGATTAATGACCCATAAGT-TTAGAGGATGATTAGTAGAAGAAGTTACTCCGGGGATAACAGCGTAACTCCGCTTACAGTCTTTATAG	392
Z.patagonica	327	GGAGACGGGTTGCGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTAAGGCTGTGATGGCGGCTTTGAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	425

P.maximus	442	ATGGGCGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTAAGGCTGTGATGGCGGCTTTGAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	541
P.magellanicus	444	GTGGACGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTGGGCTTGCAGGCGGTTCCCAAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	543
M.yessoensis	474	ATGGGCGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTAAGGCTGTGATGGCGGCTTTGAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	573
Ae.opercularis	357	ATGAGAAAGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCCGGATATCCTGAGGCT-GTAGGCGGCTCAATGGTTGGTATGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	455
A.irradians	393	ATGGGCGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTAAGGCT-GTAGGCGGTTTCAAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	491
A.purpuratus	393	ATGGGCGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTAAGGCT-GTAGGCGGTTTCAAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	491
Z.patagonica	426	ATGGGCGGGTTTGGACCTCGATGTTGGCTCTGGATATCCTGAGGCTTGCAGCTGTTCTCAAGGGTTGGTTCGTTCCGCCATAAAATCTGACATGATCT	525

P.maximus	542	GAGTCAAGACCGGA-----	555
P.magellanicus	544	GAGTCAAGACCGGA-----	557
M.yessoensis	574	GAGTCAAGACCGGA-----	588
Ae.opercularis	456	GAGTCAAGACCGGA-----	470
A.irradians	492	GAGTCAAGACCGGA-----	505
A.purpuratus	492	GAGTCAAGACCGGA-----	506
Z.patagonica	526	GAGTCAAGACCGGAAAA-----	542

Abbildung 2. Vergleich der DNA-Sequenzen eines Abschnittes aus dem 16S rRNA – Gen verschiedener Kammmuschel-Proben, die den Spezies *Pecten maximus*, *Placopecten magellanicus*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Aequipecten opercularis*, *Argopecten irradians*, *Argopecten purpuratum* und *Zygochlamys patagonica* zugeordnet werden konnten. Übereinstimmungen zwischen allen Spezies sind mit einem Sternchen markiert.

Figure 2. Comparison of DNA sequences of a segment from the 16S rRNA – gene of various scallop samples, which could be assigned to the species *P. maximus*, *Placo-pecten magellanicus*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Aequipecten opercularis*, *Argopecten irradians*, *Argopecten prurpuatum* and *Zygochlamys patagonica*. Similarities are marked with an asterisk.

Tabelle 2: Ergebnis des Vergleichs (BLAST) von 16S rRNA – Gensequenzen ausgesuchter analysierter Proben mit GenBank-Einträgen. Es sind jeweils die Einträge für die beste und zweitbeste Übereinstimmung mit Einträgen für Spezies in GenBank aufgeführt. A: Max. score, B: Total score, C: Query coverage, D: E value, E: Maximal Identity.

Table 2. Results of applying BLAST to the 16S rRNA – gene sequence of analysed samples with data of GenBank. Only results for the first and second hit sequences of species are shown. A: Max. score, B: Total score, C: Query coverage, D: E value, E: Maximal Identity.

Deklaration	Acc. No.	Muschelspezies	A	B	C	D	E
<i>Placopecten magellanicus</i>	GU119977.1	<i>Mizuhopecten yessoensis</i> haplotype hap11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	1018	1018	100%	0.0	100%
	FJ2636.42	<i>Patinopecten caurinus</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	800	800	99%	0.0	91%
<i>Pecten maximus</i>	X92688.1	<i>P. maximus</i> mitochondrial 5.5kb fragment encoding genes flanking putative origin of replication	960	960	100%	0.0	99%
	FN667671.1	<i>Pecten jacobaeus</i> mitochondrial partial 16S rRNA gene, isolate Pja#6	955	955	100%	0.0	99%
	AJ586458.1	<i>Ensis siliqua</i> mitochondrial partial 16S rRNA gene, clone4, H	948	948	100%	0.0	99%
	EU379459.1	<i>Pecten novaezelandiae</i> isolate 3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	911	911	99%	0.0	98%
	DQ088274.1	<i>Placopecten magellanicus</i> mitochondrion, complete genome	960	960	99%	0.0	100%
<i>Placopecten magellanicus</i>	DQ280033.1	<i>Mimachlamys varia</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	751	751	99%	0.0	91%
	HQ677600.1	<i>Argopecten purpuratus</i> 16S ribosomal RNA gene, complete sequence; mitochondrial	870	870	100%	0.0	100%
<i>Pecten spp</i>	HM630408	<i>Argopecten ventricosus</i> isolate 1 16S ribosomal RNA gene,	767	767	100%	0.0	95%
	GU119970.1	<i>Argopecten irradians</i> haplotype hap27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	870	870	100%	0.0	100%
<i>Placopecten magellanicus</i>	EU379461.1	<i>Argopecten nucleus</i> isolate 2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	863	863	99%	0.0	99%
	AM494413.1	<i>Aequipecten opercularis</i> partial 16S rRNA gene from Ireland (6)	800	800	94%	0.0	99%
<i>Chlamys opercularis</i>	AJ243574.1	<i>Chlamys glabra</i> partial mitochondrial 16S rRNA gene	428	428	92%	1e-116	81%
	EU379466.1	<i>Zygochlamys patagonica</i> isolate 1 16S ribosomal	922		99%	0.0	99%
Jacobsschelpen	EU379456.1	<i>Laevichlamys multisquamata</i> 16S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	645	645	95%	0.0	89%

Deklaration jedoch oder sie stimmte nicht mit der laut Fischetikettierungsverordnung gültigen Angabe überein.

Die aus diesen Proben analysierten DNA-Sequenzen des 16S rRNA Abschnitts konnten zweifelsfrei den Spezies *Placopecten magellanicus*, *Mizuhopecten yessoensis*, *Aequipecten opercularis*, *Argopecten purpuratus*, *Zygochlamys patagonica* und *Pecten spp.* zugeordnet werden. Die Spezies *Pecten maximus* kann aufgrund der Sequenzdaten des 16S rRNA Abschnitts nicht von der Spezies *Pecten jacobaeus* unterschieden werden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass lediglich bei 15 Proben die Spezies korrekt deklariert war, bei 3 Proben fehlte die lateinische Bezeichnung oder stimmte nicht mit der deutschen überein und bei weiteren 15 Proben stimmte die deklarierte Spezies nicht mit der analysierten überein.

Im Falle der Analyse einer als *Placopecten magellanicus* deklarierten Probe konnte die Probe nur bis zu der

Gattung *Argopecten* bestimmt werden, da die Spezies von *Argopecten irradians* und *Argopecten nucleus* annähernd gleich gute Übereinstimmungen von 100 % und 99 % (siehe Tabelle 2) ergaben. Trotzdem konnte durch die Analysen eine Fehldeklaration aufgedeckt werden, da die Spezies *P. magellanicus* ausgeschlossen werden konnte.

Wenn die Sequenzierung des mitochondrialen 16S rRNA – Gens nicht zum Ziel führt, bietet sich zur Differenzierung der Pectiniden der Sequenzvergleich von Abschnitten aus den 18S bzw. 28S rRNA-Kerngenen an (Espineira et al., 2009; Salvi et al., 2010). Salvi et al. vervielfältigten ein etwa 550 Basenpaare umfassendes DNA-Segment aus der ITS2 – Region, die zwischen den Genen für die 5,8S rRNA und 28S rRNA lokalisiert ist; dieser DNA-Abschnitt war zur Untersuchung der Verwandtschaftsbeziehungen von Pectiniden besser geeignet als ein 16S rRNA-Abschnitt.

Lebensmittelrechtliche Beurteilung

Um eine Mindestinformation der Verbraucher über die Hauptmerkmale der Erzeugnisse sicherzustellen, ist in der Verordnung (EWG) Nr. 104/2000 über die gemeinsame Marktorganisation für Erzeugnisse der Fischerei und der Aquakultur vom 17. Dezember 1999 festgelegt, dass unter anderem die Handelsbezeichnung der Art über eine angemessene Kennzeichnung oder Etikettierung angegeben werden muss. Hierzu werden von den Mitgliedstaaten Listen der in ihrem Hoheitsgebiet zugelassenen Handelsbezeichnungen erstellt und veröffentlicht.

In der Bundesrepublik Deutschland wird diese EU Verordnung durch das Fischetikettierungsgesetz und die Fischetikettierungsverordnung in nationales Recht umgesetzt. Ein Verzeichnis, in dem allen dort mit wissenschaftlichem lateinischen Artnamen gelisteten Fischen, Krebsen und Weichtieren verbindliche Handelsbezeichnungen zugeordnet werden, wird von der Bundesanstalt für Ernährung und Landwirtschaft (BLE) geführt und aktualisiert. Die aktuelle Form dieses Verzeichnisses und eine Liste von vorläufigen Handelsbezeichnungen für beantragte Erzeugnisse ist, nach Veröffentlichung im Bundesanzeiger, auf der Internetseite der BLE zugänglich.

Nur Vertreter der Gattung *Pecten* dürfen nach dieser Liste unter der Bezeichnung Jakobsmuschel, Jakobsmuschel oder Pilgermuschel gehandelt werden. Andere Kammuschelarten sind unter eigener Handelsbezeichnung in den Verkehr zu bringen.

Die Verwendung von anderen als den zugelassenen Handelsbezeichnungen stellt einen Verstoß gegen die Anforderungen der zuvor genannten Rechtsnormen dar. Daneben ist eine falsche Bezeichnung gegebenenfalls als irreführende Angabe im Sinne des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuchs (LFGB) §11, Abs. 1, Nr. 1 zu verstehen.

Literatur

Espineira, M.; Gonzalez-Lavin, N.; Vieites, J.M.; Santaclara, F.J.; 2009: Development of a method for the genetic identification of commercial bivalve species based on mitochondrial 18S rRNA sequences. J. Agricultural Food Chemistry 57, 495-502.

FAO, 2009: FAO Statistics. www.fao.org/fishery/statistics

Fernandez, A.; Garcia, T.; Gonzalez, I.; Asensio, L.; Rodriguez M. A.; Hernandez P. E.; Martin, R.; 2002: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis

of a 16S rRNA gene fragment for authentication of four clam species. *Journal of Food Protection* 65, 692-695.

Gesetz zur Durchführung der Rechtsakte der Europäischen Gemeinschaft über die Etikettierung von Fischen und Fischereierzeugnissen, BGBl. I vom 1.8.2002, S.2980.

Globefish, *Highlights* 2/2011, S.49.

Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch vom 22. August 2011 (BGBl. I S. 1770)

Palumbi, S.; Martin, A.; Romano, S.; McMillan, W. O.; Stice, L.; Grabowski, G.; 2002: The simple fool's guide to PCR. Department of Zoology and Kewalo Laboratory, University of Hawaii, Honolulu.

Salvi, D.; Bellavia, G.; Cervelli, M.; Mariottini, P.; 2010: The analysis of rRNA sequence-structure in phylogenetics: An

application to the family Pectinidae (Mollusca: Bivalvia). *Molecular Phylogenetics Evolution* 56, 1059-1067.

VO (EWG) Nr. 104/2000 des Rates vom 17. Dezember 1999 über die gemeinsame Marktorganisation für Erzeugnisse der Fischerei und der Aquakultur, ABl. L 17, vom 21.1.2000, S. 22-52.

VO (EG) Nr. 2065/2001 der Kommission vom 22. Oktober 2001 mit Durchführungsbestimmungen zur VO (EG) Nr. 104/2000 des Rates vom 17. Dezember 1999 über die gemeinsame Marktorganisation für Erzeugnisse der Fischerei und der Aquakultur, ABl. L 278 vom 23.10.2001, S. 6-8.

Verordnung zur Durchführung des Fischetikettierungsgesetzes vom 15. August 2002 (BGBl. I S. 3363).