

## 臺灣馬祖產之新紀錄種-熊本牡蠣

莊世昌<sup>1</sup>·蕭聖代<sup>1,2\*</sup>·黃閔裕<sup>1</sup>·吳繼倫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>行政院農業委員會水產試驗所海洋漁業組

<sup>2</sup>國立臺灣海洋大學環境生物與漁業科學研究所

### 摘要

本研究於馬祖的北竿與南竿之海岸邊共採集 39 顆牡蠣樣本，利用粒線體 COI 部份片段序列為分子標誌進行種類鑑定，結果發現其中有 4 顆為熊本牡蠣 *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928)。本研究首次報導了熊本牡蠣在臺灣馬祖之新紀錄，使本種的地理分布南界再往下延伸，並比較與日本九州產熊本牡蠣之差異，提供標本照與檢索表等以利後續研究。

關鍵詞：熊本牡蠣、粒線體 COI、馬祖、臺灣、新紀錄種

### 前言

熊本牡蠣 *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928) 最早發現於日本九州的有明海 (Ariake Sea) 與八代灣 (Yatsushiro Sea) 沿岸，Amemiya (1928) 將其視為太平洋牡蠣 *C. gigas* 的變種，之後又被 Ahmed (1975) 提昇到種的階層，關於兩者之間的分類關係也有許多討論 (Robinson, 1992; Banks *et al.*, 1993; Hedgecock *et al.*, 1993)。以形態分類來說，*C. sikamea* 與 *C. gigas* 的主要差異可由以下特徵區別：*C. sikamea* 的生長較慢、體型較小、左殼凹陷呈深杯狀、殼表有明顯的粗肋紋。然而牡蠣的形態變化很大，殼型發育易受環境影響，使其外部形態特徵在種類辨識的價值很低 (Lam and Morton, 2003)。本種與較小個體的 *C. gigas* 非常相像，尤其在野外很難憑藉形態將之辨識出來 (Hedgecock *et al.*, 1999; Camara *et al.*, 2008)。經由生殖生物學的研究發現，在自然環境下，*C. sikamea* 的成熟卵出現於晚冬，而 *C. gigas* 則出現在晚春與早夏 (Robinson, 1992)；而後的雜交實驗也支持 *C. sikamea* 與 *C. gigas* 為不同的種，兩

者之間出現單向性配子不合障礙 (one-way gametic incompatibility)，即在實驗室環境下僅 *C. sikamea* 的卵與 *C. gigas* 的精子能完成受精 (Banks *et al.*, 1994; Camara *et al.*, 2008)。

隨著生物化學與分子生物學的進展，將之應用在牡蠣的分類鑑定帶來重大的幫助。近年用於牡蠣鑑定的分子標誌主要有粒線體 16S rDNA (Banks *et al.*, 1993)、粒線體 COI (Wang and Guo, 2008) 與核染色體的 ITS-1 (Cordes *et al.*, 2005)，其皆證明 *C. sikamea* 為獨立的種，經由親緣演化分析的結果，也證明 *C. sikamea* 與 *C. gigas* 的關係很接近 (Reece *et al.*, 2008)。過去有段時間的田野調查，*C. sikamea* 常被誤鑑為其他種類而被認為很稀少，其原生棲地的區位 (niche) 被 *C. gigas* 與 *C. ariakensis* 取代，甚至宣告本種在野外已滅絕 (Banks *et al.*, 1994)。後來 Hedgecock *et al.* (1999) 於有明海進行更詳細的採樣，針對體型較小、呈深杯狀的牡蠣，以粒線體 16S rDNA 與核染色體 ITS-1 檢驗，在 256 個樣本中找到 181 個 *C. sikamea*，推翻前人結論。此也說明分子生物鑑定在牡蠣的野外調查工作上極具價值。

馬祖位於臺灣的西北方約 114 哩處，由東引、亮島、北竿、南竿、莒光與其他較小的島嶼組成列島，面臨中國的閩江口和連江口，與中國隔海對望。在五十萬年前有幾次較冷的冰河期，海平

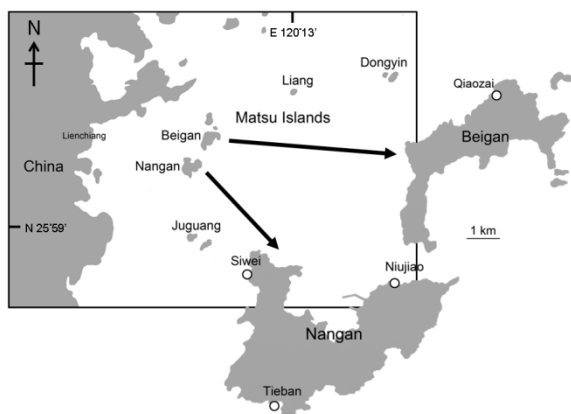
\*通訊作者 / 基隆市和一路 199 號; Tel: (02) 2462-2101 #2419; Fax: (02) 2463-3110; E-mail: sthsiao@mail.tfrin.gov.tw

面比現今約低了 100 m (Siddall *et al.*, 2003)，在一萬年前最後一次冰河期之後，海平面逐漸上升，形成現今大小不等的馬祖列島。為探究臺灣離島的牡蠣多樣性，本研究在 2009 年 6 月至馬祖南竿與北竿進行野外採樣，並使用粒線體 COI 部份序列為分子標誌進行種類鑑定，結果在馬祖發現了新紀錄種 – 熊本牡蠣 *C. sikamea*。

## 材料與方法

### 一、標本採集

本研究於 2009 年 6 月前往馬祖的南竿與北竿進行野外採樣，採樣地點如 Fig. 1，所有的牡蠣標本皆完整取下左右兩殼，殼內的蚶肉浸泡在 90% 的酒精固定保存。標本典藏於水產試驗所海洋漁業組分子系統分類實驗室。



**Fig. 1** Map of collection sites in Beigan and Nangan, Matsu, Taiwan.

### 二、分子鑑定

自閉殼肌取下肌肉組織，使用 DNA Isolation Kit (Gentra, Minneapolis, MN, USA) 依循 Kit 手冊步驟萃取 total DNA。選用粒線體 COI 的部份片段序列為分子標誌，增幅所用的引子修改自 Folmer *et al.* (1994) 所發表的 LCO/HCO (forward primer: 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'; reverse primer: 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')，該段序列已被證實可運用在牡蠣科 *Crassostrea* 屬的種類鑑定 (Hong *et al.*, 2012)。

所得序列以 Clustal X (Larkin *et al.*, 2007) 進行排序，並以演化分析軟體 MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011) 將研究所得序列與臺灣產的葡萄牙牡蠣 *Crassostrea angulata*、自 DNA 資料庫 (DDBJ/EMBL/GenBank) 取得的序列，包括：太平洋牡蠣 *C. gigas* (accession number AF177226)、熊本牡蠣 *C. sikamea* (AB675955)，並以日本牡蠣 *Crassostrea nippona* (AF300616) 為外群；利用 Neighbor-joining method，選擇 Kimura-2-parameter model，建構親緣關係樹，並執行 1000 次 Bootstrap test 檢測穩固度。

### 三、形態鑑定

形態測量特徵依循 Batista *et al.* (2008) 的建議，測量項目與標準如下 (Fig. 2)：

牡蠣為雙殼貝類，左殼為稍隆起，通常附著在堅硬的基質上，右殼則較為平坦。

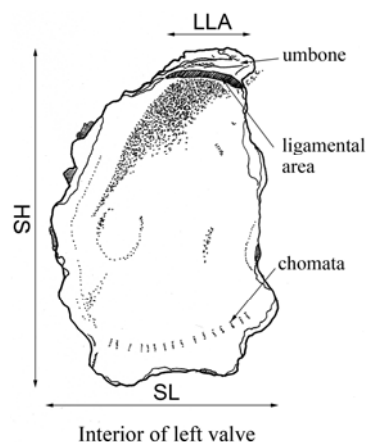
殼高 (SH, shell high)：測量右殼的殼頂至邊緣最遠處。

殼寬 (SL, shell length)：以殼高為軸線，測量右殼左右最寬處。

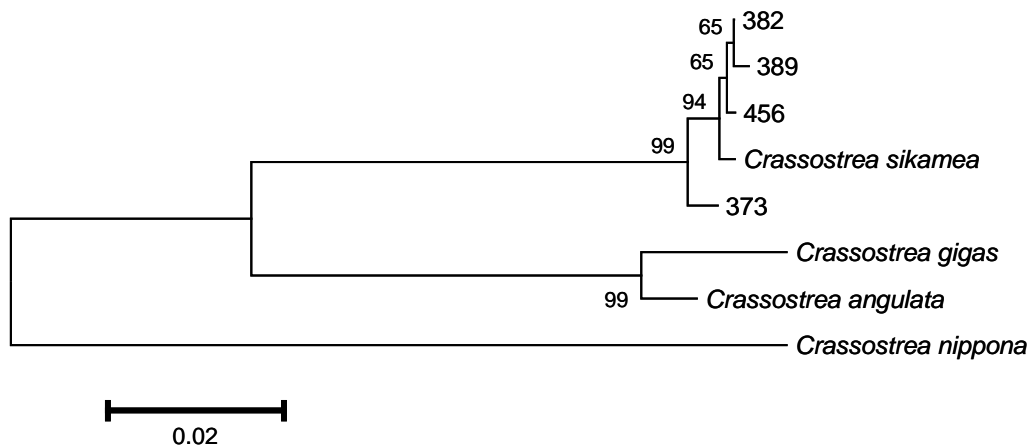
殼深 (SD, shell depth)：將左右殼併攏後，測量殼的垂直最深處。

韌帶長 (LLA, length of ligamental area)：韌帶區為連接左右兩殼的絞齒處，測量右殼殼頂的韌帶區長度。

本研究並取得日本九州產之 *C. sikamea* 標本，藉以比較兩者之外部形態是否有差異。



**Fig. 2** Shell characteristics of oyster (Modified from FAO Species Identification Guide for Fishery Purpose, Vol.1 220 p. Fig. 6).



**Fig. 3** Phylogenetic tree of mtDNA COI partial sequence constructed by the neighbor-joining method for *Crassostrea* oysters collected from Matsu. *C. nippona* was used as an outgroup. Bootstrap values (%) were based on 1000 replicates and values >50% are indicated at nodes.

## 結 果

### 一、分子鑑定

以 Clustal X 完成所有的序列比對，得到馬祖的 *C. sikamea* 之粒線體 COI 部份片段序列長度為 579 鹼基對 (base pair; bp)，共 4 組 (標本編號 456, 382, 389, 373)。其中有 115 個變異位置，約佔序列的 19.9%，單一突變位置 (singleton) 則有 60 個，約佔序列的 10.3%，另外 55 個變異位置 (9.5%) 為有效的簡約訊息位點 (parsimony informative sites)。平均鹼基頻率為：T 佔 38.7%、C 佔 18.0%、A 佔 22.7%、G 佔 20.6%，以 A/T 所佔比例較高。經由建構的近鄰加入法 (neighbor-joining tree) (如 Fig. 3) 可發現馬祖的牡蠣與日本的 *C. sikamea* 的 DNA 序列歸類在同一群，群內的遺傳差距很小 (0.002 ~ 0.010)，Bootstrap 值達 99，可以支持此樹型。由上述結果可確定該 4 顆牡蠣皆為 *C. sikamea*。根據 Kimura (1980) 法所計算之遺傳距離矩陣列顯示 *C. sikamea* 的遺傳距離和 *C. angulata* 最近，為 0.104，而 *C. gigas* 次之，為 0.116。

### 二、分類描述

#### 熊本牡蠣

*Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928)

(Fig. 4)

*Ostrea gigas* var. *sikamea* – Amemiya, 1928: 375 (Tokyo Imperial University).

*Crassostrea sikamea* – Ahmed, 1975: 333; Huber, 2010: 901 (CDROM).

#### 【標本檢視】

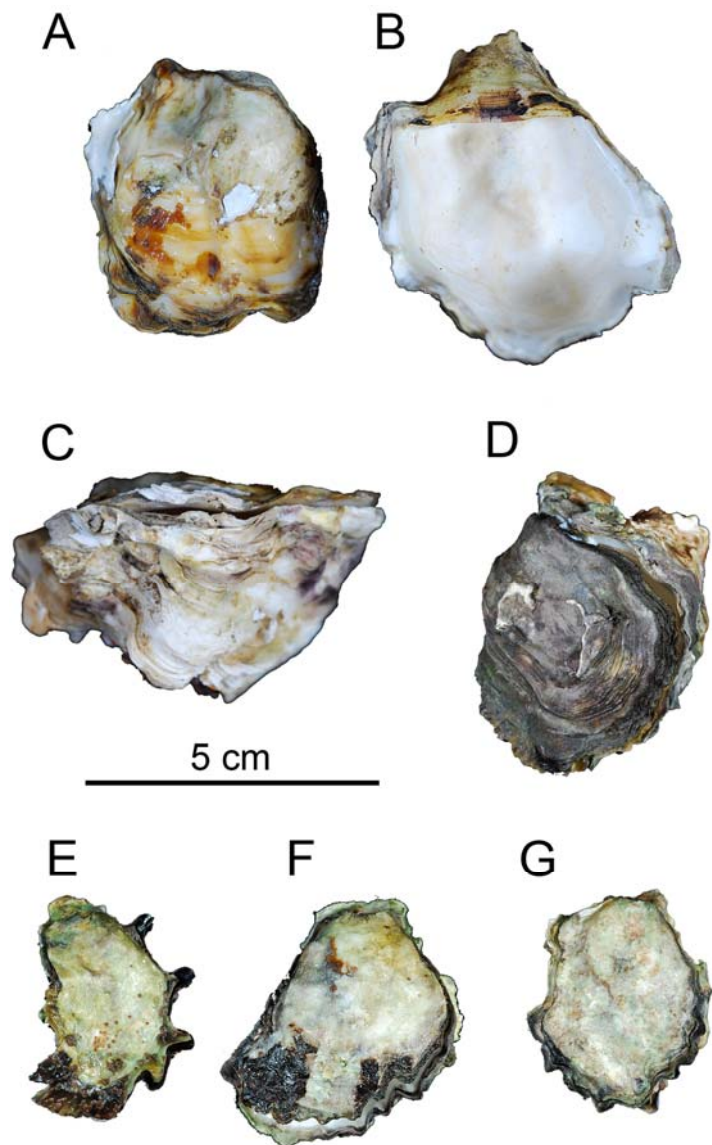
馬祖北竿 – 橋仔村，30 Jun. 2009 (FRIM10002D-456, SH 34.09 mm).

馬祖南竿 – 四維村，30 Jun. 2009 (FRIM10002D-382, SH 36.80 mm); 鐵板，30 Jun. 2009 (FRIM10002D-389, SH 33.82 mm); 牛角，30 Jun. 2009 (FRIM10002D-373, SH 37.08 mm).

日本九州 – Midori river, Kumamoto, Kyushu, 16 Feb. 2006 (18, SH 29.85 mm; 23, SH 52.46 mm; 22, SH 42.01 mm; 27, SH 48.31 mm; 29, SH 44.41 mm; 19, SH 45.50 mm).

#### 【形態描述】

本種的雙殼厚實，體型較小型，殼高約 3.4 ~ 3.7 cm (Table 1)；殼略呈近圓形，SL/SH 值約 0.8 ~ 1.0，殼緣呈弧狀，接合處略呈波浪狀 (Fig. 4)；右殼較扁平，殼表生長鱗 (growth scales) 突出呈指甲狀；殼內緣呈乳白色，韌帶區長而明顯，絞齒處呈褐黑色；左殼內側的閉殼肌痕呈近圓形，約位於殼偏右下處，呈深紫色；左右殼的喙部腔 (umbones) 凹陷，左殼體凹陷成杯狀，容積深，SD/SH 值約為 0.3 ~ 0.8，殼緣內側不具有短脊 (chomata)。殼



**Fig. 4** The specimen photos of *C. sikamea* found in Matsu, Taiwan. A. External view of the right valve; B. Internal view of the left valve; C. Lateral view (FRIM10002D-382); D. FRIM10002D-382; E. FRIM10002D-389; F. FRIM10002D-373; G. FRIM10002D-M456.

表體色呈灰色或灰黑色，殼緣生長鱗呈墨綠色。

#### 【附註】

本研究於馬祖共採得 39 個牡蠣樣本，經 DNA 分子生物鑑定後其中有 4 個為 *C. sikamea*，另外 21 個為 *C. angulata*、14 個為 *Saccostrea* sp. (岩蚶)。馬祖的 *C. sikamea* 主要採集於北竿的橋仔村與南竿的四維村、鐵板、牛角等地，棲息環境為海岸邊潮間帶的岩塊上 (Fig. 5A)，並與 *C. angulata* 和岩蚶等混生 (Fig. 5B)。在當地的主要優勢種為岩蚶，*C. angulata* 次之，而 *C. sikamea* 的數量相對較少，推測原因可能與馬祖缺少內陸淡水水系與河口環境有關，因此在純海水的岩岸環境會以岩蚶較佔優勢。牡蠣在馬祖為重要食用物種，在地

人的主要食用對象也是岩蚶，偶爾有 *C. sikamea* 等混入 (Fig. 5C)。在馬祖並無養殖牡蠣，主要來源為野外採集，採蚶人於退潮時開始挖蚶，直接將右殼 (上殼) 撬開，取走蚶肉，左殼 (下殼) 則仍留在石頭上。

馬祖所採的樣本與日本九州所產的 *C. sikamea* 標本的形態測量數值如 Table 1。結果發現，馬祖的 *C. sikamea* 體型均較小，SH 範圍約在 3.4 ~ 3.7 cm，而日本的標本則為 4.2 ~ 6.0 cm。另外，馬祖的樣本中，以四維村的 (382) 最為典型並符合文獻描述，具有深杯狀殼型 (SD/SH 為 0.8)，與日本的標本相仿 (SD/SH 約為 0.4 ~ 0.8)，但另外 3 個樣本 (456, 389, 373) 則偏扁 (SD/SH 約為 0.3)，推測可能因為該些樣本的生長環境較為

**Table 1** Summary of morphological measurements on *C. sikamea* from Matsu, Taiwan and Kyushu, Japan

Sample	SH	SL	SD	LLA	SL/SH	SD/SH	Unit: mm
							LLA/SH
<b>Matsu, Taiwan</b>							
382	36.80	36.92	28.9	11.19	1.00	0.79	0.30
389	33.82	27.15	8.88	7.53	0.80	0.26	0.22
373	37.08	35.19	9.95	11.13	0.95	0.27	0.30
456	34.09	28.04	11.51	9.71	0.82	0.34	0.28
<b>Kyushu, Japan</b>							
23	52.46	49.72	25.91	15.82	0.95	0.49	0.30
19	45.50	41.75	35.51	19.64	0.92	0.78	0.43
22	42.01	39.55	20.87	18.54	0.94	0.50	0.44
27	48.31	37.46	16.83	15.84	0.78	0.35	0.33
29	44.41	38.46	20.68	15.00	0.87	0.47	0.34
18	59.85	48.67	23.34	19.35	0.81	0.39	0.32



**Fig. 5** A. Habitats of *C. sikamea* in Matsu, Taiwan; B. *C. sikamea* lives with other oyster species in Matsu; C. *C. sikamea* is often collected as food with other oyster species.

平坦垂直，受風浪的影響較大等有關。

### 三、馬祖產牡蠣之分類檢索表

- 1a. 殼內緣具有明顯的短脊，沿殼緣呈放射狀排列  
.....*Saccostrea* 屬
- 1b. 殼內緣不具有短脊.....*Crassostrea* 屬
- 2a. 左殼內凹呈杯狀，容積深，左殼外側的放射肋粗壯，右殼殼緣的生長鱗密集.....  
.....熊本牡蠣 *C. sikamea*

- 2b. 左殼前緣延伸較多，殼內相對平緩，左殼外側的放射肋不明顯，右殼殼緣通常不具生長鱗  
.....葡萄牙牡蠣 *C. angulata*

## 討 論

牡蠣的形態變異很大，*C. sikamea* 與 *C. gigas* 又為近緣種，彼此間的形態特徵相似，在野外難以將之正確辨別。因此，過去的研究多認為 *C. sikamea* 僅分布在日本九州，相對於 *C. gigas* 在較冷的水域，*C. sikamea* 生長在較溫暖的環境 (Hedgecock *et al.*, 1999)。近年許多學者利用分子生物技術解決 *C. sikamea* 與 *C. gigas*, *C. ariakensis* 等牡蠣的分類爭議 (Reece *et al.*, 2008; Sekino, 2009; Liu *et al.*, 2011)，並將之運用在野外調查工作，結果發現 *C. sikamea* 的自然族群並非如過去所認知的瀕危 (Hedgecock *et al.*, 1999)，其地理分布也比已知的廣，除了日本九州，Aranishi and Iidzuka (2007) 利用 multiplex PCR-based 技術確認了 *C. sikamea* 在八代海已重建族群；過去的發現多位於九州西岸，現在於瀨戶內海 (Seto Inland Sea) 已確認其族群分布 (Hamaguchi *et al.*, 2013)；在中國浙江省沿海與韓國順天灣 (Suncheon Bay) 也都發現了本種 (Wang and Guo, 2008; Wu *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2011)。

綜合以上，*C. sikamea* 主要分布在東海 (East China Sea) 週邊沿岸，故此有一個假說是 *C.*

*sikamea* 的分布範圍受囿於東海曾覆蓋過的古陸地，因上一次冰河期使東海海平面降低，整個東海古陸棚形成一大片類似潮地 (tideland) 環境，利於 *C. sikamea* 由日本現今有明海的地方向其他地區拓展族群 (Sekino, 2009)。本研究首次報導了馬祖的南竿、北竿等地也有 *C. sikamea* 的分布，馬祖列島位於東海古陸棚的南緣，符合上述假說，因此其應為原生族群，而非人為移殖，本研究結果並將 *C. sikamea* 的地理分布南界再往下延伸。

牡蠣的外部形態常隨著生長基質、族群密度等因素影響，使得種內的變異很大，種間的形態辨識難度很高 (Lam and Morton, 2003)。比對 *C. sikamea* 與 *C. gigas* 在不同環境下生長的形態變化，發現在較寬闊泥濘的環境，*C. gigas* 的殼會長得較長、較平緩，*C. sikamea* 的殼則較短，並偏向杯狀，但在擁擠長滿附著生物的岩石上，兩者外形將趨於一致，皆呈短殼型的深杯狀 (Hong *et al.*, 2012)。另外，*C. sikamea* 在人工的硬底基質環境，如水泥碼頭或坡岸，常成為優勢種，部份長條狀、看來像 *C. gigas* 的牡蠣經分子鑑定後也都是 *C. sikamea* (Camara *et al.*, 2008)。馬祖的南竿與北竿全島皆由堅硬的花崗岩所構成，本研究的 *C. sikamea* 採集自北竿的橋仔村，南竿的四維村、鐵板與牛角，其皆位於島的西北方，面臨東海陸棚。另外，馬祖的 *C. sikamea* 與 *C. angulata* 共棲在同一環境，未形成單一優勢群落。

關於 *C. sikamea* 的雜交情形，已有研究證明在實驗室內的環境下，*C. sikamea* 的卵能與 *C. gigas* 的精子作單向雜交 (Banks *et al.*, 1994)。故而若要鑑定是否為純種的 *C. sikamea* 必須要同時做粒線體與核染色體的 DNA 分析。日本有明海的 *C. sikamea* 會與 *C. gigas* 形成共域種 (sympatric species) 而有雜交的可能 (Hedgecock *et al.*, 1999)，Camara *et al.* (2008) 利用粒線體的部份 COI 序列做鑑種，並以核染色體的 ITS-1 做 PCR-RFLP 分析兩種間是否有雜交，研究結果發現在野外環境並沒有找到自然雜交的個體，因此 *C. sikamea* 與 *C. gigas* 兩者在自然的情況下應該還存有其他生殖屏障。而馬祖的 *C. sikamea* 則與 *C. angulata* 共棲，兩種的生長時節相似，其間是否有雜交發生還有待進一步研究。

*C. sikamea* 早在 1940 年代便從日本九州被移

殖到美國太平洋岸 (Woelke, 1955)，成為僅次於 *C. gigas* 的重要養殖牡蠣，至 1990 年仍持續自日本九州的有明海與八代海引入新的 *C. sikamea* 的牡蠣種苗 (Nakano, 2007)。日本熊本縣近年已成功發展 *C. sikamea* 的人工種苗繁殖技術，將牡蠣商業化生產 (Sou, 2008)。另外，養殖業者的經驗發現 *C. gigas* 生長美國北方西部較寒冷的水域中，最甜美的時節為冬季與早春，*C. sikamea* 則在南方較溫暖的水域中繁殖，主要產季在夏季，可填補彼此的銷售空窗 (Nakano, 2007)；坊間美食指南對於 *C. sikamea* 的評價是其個頭雖小，但生食口感較為爽滑甘甜，也較 *C. gigas* 更適合作為生蠔。因此，*C. sikamea* 在馬祖的發現可帶來養殖的利益與可能性，並可效仿日本熊本縣建立具有地方特色的陸上商業養殖環境 (trails aquaculture)。

## 謝 辭

本研究感謝日本島根大學汽水域研究中心的飯塚祐輔博士，惠寄日本九州產之 *C. sikamea* 貝殼標本共 6 件予以比對；感謝同事梁宏彥先生、馬祖高中的蔡璧如小姐等人協助在地的野外採集工作。

## 參考文獻

- Ahmed, M. (1975) Speciation in living oyster. *Adv. Mar. Biol.*, 13: 375-397.
- Amemiya, I. (1928) Ecological studies of Japanese oysters, with special reference to salinity of their habits. *J. Coll. Agr. Univ. Tokyo*, 9: 333-382.
- Aranishi, F. and Y. Iidzuka (2007) Multiplex PCR diagnosis for *Crassostrea* oyster discrimination of *C. sikamea* and *C. gigas*. *J. Fish. Aqu. Sci.*, 2: 173-177.
- Banks, M. A., C. Waters and D. Hedgecock (1993) Discrimination between closely related Pacific oysters (*Crassostrea*) via mitochondrial DNA sequences coding for large subunit rRNA. *Mol. Mar. Bio. Biot.*, 2: 129-136.
- Banks, M. A., D. J. McGoldrick, W. Borgeson and W. Hedgecock (1994) Gametic incompatibility and genetic divergence of Pacific and Kumamoto oysters, *Crassostrea gigas* and *C. sikamea*. *Mar. Biol.*, 121: 127-135.

- Batista, F. M., B. H. Radhouan, G. F. Vera, T. Nicolas, T. Francisco, A. R. H. Maria and B. Pierre (2008) Comparative study of shell shape and muscle scar pigmentation in the closely related cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids. *Aquat. Living Resour.*, 21: 31-38.
- Camara, M. D., J. P. Davis, M. Sekino, D. Hedgecock, G. Li, C.J. Langdon and S. Evans (2008) The Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* is neither rare nor threatened by hybridization in the Northern Ariake sea, Japan. *J. Shell. Res.*, 27(2): 313-322.
- Cordes, J. F., B. Stubbs and K. S. Reece (2005) Phylogenetics and species identification of *Crassostrea* oysters based on sequences and PCR-RFLP analyses of ITS-1 and COI markers. *J. Shellfish. Res.*, 24: 647.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Bio. Biotech.*, 3: 294-299.
- Hamaguchi, M., H. Shimabukuro, M. Kawane and T. Hamaguchi (2013) A new record of the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* in the Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biodiv. Rec.*, 6: 1-6.
- Hedgecock, D., M. A. Banks and D. J. McGoldrick (1993) The status of the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928) in US commercial brood stocks. *J. Shell. Res.*, 12: 215-221.
- Hegecock, D., G. Li, M. A. Banks and Z. Kain (1999) Occurrence of the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* in the Ariake sea, Japan. *Mar. Biol.*, 133: 65-68.
- Hong, J. S., M. Sekino and S. Sato (2012) Molecular species diagnosis confirmed the occurrence of Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* in Korean waters. *Fish. Sci.*, 78:259-267.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16:111-120.
- Lam, K. and B. Morton (2003) Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia, Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hong Kong, China. *Aquaculture*, 228: 1-13.
- Larkin, M. A., G. Blackshields, N. P. Brown, R. Chenna, P. A. McGettigan, H. McWilliam, F. Valentin, I. M. Wallace, A. Wilm, R. Lopez, J. D. Thompson, T. J. Gibson and D. G. Higgins (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinfo.*, 23: 2947-2948.
- Liu, J., Q. Li, L. Kong, H. Yu and X. Zheng (2011) Identifying the true oysters (Bivalvia: Ostreidae) with mitochondrial phylogeny and distance-based DNA barcoding. *Mol. Ecol. Res.*, 11: 820-830.
- Nakano, H. (2007) クマモトオイスターのお話. 熊本県水産研究センターニュース, 15: 9.
- Reece, K. S., J. F. Cordes, J. B. Stubbs, K. I. Hudson and F. A. Francis (2008) Molecular phylogenies help resolve taxonomic confusion with Asian *Crassostrea* oyster species. *Mar. Bio.*, 153: 709-721.
- Robinson, A. (1992) Gonadal cycle of *Crassostrea gigas sikamea* (Thunberg) in Yaquina Bay, Oregon and optimum conditions for broodstock oysters and larval culture. *Aquaculture*, 106: 89-97.
- Sekino, M. (2009) In search of the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928) based on molecular markers: is the natural resource at stake? *Fish. Sci.*, 75: 819-831.
- Siddall, M., E. J. Rohling, A. Almogi-Labin, C. Hemleben, D. Meischner, I. Schmelzer and D. A. Smeed (2003) Sea-level fluctuations during the last glacial cycle. *Nature*, 423: 853-858.
- Sou, T. (2008) シカメガキ養殖への取り組み. 熊本県水産研究センターニュース, 16: 3.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony method. *Mol. Biol. Evol.*, 28: 2731-2739.
- Wang, H. and X. Guo (2008) Identification of *Crassostrea ariakensis* and related oysters by multiple species-specific PCR. *J. Shellfish. Res.*, 27: 481-487.
- Woelke, C. E. (1955) Introduction of the Kumamoto oyster *Ostrea (Crassostrea) gigas* to the Pacific coast. *Fish. Res. Pap. St. Wash.*, 1(3): 41-50.
- Wu, X. Y., X. D. Xu, Z. N. Yu, Z. P. Wei and J. J. Xia (2010) Comparison of seven *Crassostrea* mitogenomes and phylogenetic analyses. *Mol. Phyl. Evol.*, 57: 228-254.

## New Record of Kumamoto Oyster *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928) in Matsu, Taiwan

Shih-Chang Chuang<sup>1</sup>, Sheng-Tai Hsiao<sup>1,2\*</sup>, Min-Yu Huang<sup>1</sup> and Chi-Lun Wu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Marine Fisheries Division, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Institute of Environment Biology and Fisheries Science, National Taiwan Ocean University

### ABSTRACT

A collection of 35 oyster samples from Nangan and Beigan intertidal coasts of Matsu, Taiwan was conducted in June 2009. Sequencing of the partial cytochrome oxidase *c* subunit I gene (COI) revealed that 4 of 35 specimens were Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* (Amemiya, 1928). This study provides the first evidence of *C. sikamea* in Matsu, Taiwan, as a new record that expanded southernmost geographical distribution of the present species. We compared the difference between *C. sikamea* from Matsu and Kyushu, Japan, and provided specimen photos and an identification key for further research.

**Key words:** Kumamoto oyster, *Crassostrea sikamea*, mitochondrial COI sequence, Matsu, Taiwan, new record

---

\*Correspondence: Marine Fisheries Division, Fisheries Research Institute, 199 Hou-lh Road, Keelung 20246, Taiwan.  
TEL: (02) 2462-2101; Fax: (02) 2463-3110; E-mail: sthsiao@mail.tfrin.gov.tw