

STUDY ON POPULATION, NATURAL HYBRIDS  
AND INDUCED HYBRIDISATION OF MUD CRAB  
(*Scylla* spp.) IN MALAYSIA

MOHD FAZHAN BIN MOHD HANAFIAH

DOCTOR OF PHILOSOPHY  
UNIVERSITI MALAYSIA TERENGGANU

2016

**STUDY ON POPULATION NATURAL HYBRIDS AND INDUCED  
HYBRIDISATION OF MUD CRAB (*Scylla* spp.) IN MALAYSIA**

**MOHD FAZHAN BIN MOHD HANAFIAH**

Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirement for the  
Degree of Doctor of Philosophy in the Institute of Tropical Aquaculture  
Universiti Malaysia Terengganu

AUGUST 2016

Abstract of the thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the degree of Doctor of Philosophy

**STUDY ON POPULATION, NATURAL HYBRIDS AND INDUCED HYBRIDISATION OF MUD CRAB (*Scylla* spp.) IN MALAYSIA**

**MOHD FAZHAN BIN MOHD HANAFIAH**

**AUGUST 2016**

**Main Supervisor : Professor Mhd. Ikhwanuddin Bin Abdullah, Ph.D.**  
**Co-Supervisor : Wong Li Lian, Ph.D.**  
**: Associate Professor Safiah Binti Jasmani, Ph.D.**  
**Institute : Institute of Tropical Aquaculture**

There are four species of mud crab under genus *Scylla*, namely *Scylla serrata*, *Scylla tranquebarica*, *Scylla paramamosain* and *Scylla olivacea*, with one report of natural hybrid (between *S. serrata* male and *S. olivacea* female) in Japan. Previous studies on mud crab reported that only three species are found in Malaysian waters, excluding *S. serrata*. However, research on mud crab in Malaysia are confined to reports from Sarawak and Terengganu. Thus, the main focus of this study was to determine the species composition and to explore the possibility of inter-species hybridisation of mud crab genus *Scylla* from four distinct geographical locations representing Malaysian waters. Subsequently, three objectives were generated, (i) to determine the species composition, sex ratio and size distribution of mud crab genus *Scylla* and the occurrence of natural hybrids in Malaysian waters, (ii) to characterise the morphological, morphometric and molecular differences of *S. paramamosain* variants

and natural hybrids from the genus *Scylla* found in Malaysia, and (iii) to explore the feasibility of induced hybridisation among mud crab genus *Scylla* in captivity.

The species composition of *Scylla* in Malaysia was determined. The *S. olivacea* is the most prevalent species in Malaysia, except in Sabah, which is dominated by *S. paramamosain*. The body size of *S. tranquebarica* ( $F = 7.27, P = 0.001$ ) was the largest among the three mud crab species. Surprisingly, *S. serrata* ( $n = 3$ ), four types of presumed hybrids – presumed hybrid 1 ( $n = 28$ ), presumed hybrid 2 ( $n = 18$ ), presumed hybrid 3 ( $n = 3$ ) and presumed hybrid 4 ( $n = 5$ ) were also found.

Additional screening of mud crabs for possible occurrence of hybrids throughout Malaysia revealed additional hybrid types. Morphological, morphometric and molecular analyses were used in combination to determine their species identity and parentage (for hybrids and variants). Results showed that presumed hybrids described in objective 1 were not all hybrids, with presumed hybrid 2 to 4 were *S. paramamosain* variants. In addition to the first hybrid type (Hybrid 1, previously known as presumed hybrid 1), three more confirmed hybrid types (Hybrid 2, Hybrid 3 and Hybrid 4) were found. Hybrid 1 was the offspring of male *S. olivacea* and female *S. paramamosain*, Hybrid 2 was the offspring of male *S. tranquebarica* and female *S. paramamosain*, Hybrid 3 was the offspring of male *S. tranquebarica* and female *S. olivacea*, and Hybrid 4 was the offspring of male *S. serrata* and female *S. paramamosain*. All hybrids showed intermediate morphological characters of their parents whereas the variants of *S. paramamosain* showed the exact morphological features of *S. paramamosain*, except the presence of ICS in either one or both of their chelipeds. The best five ratios from each morphometric characters (a total of 120 ratios) to classify *Scylla* species, including hybrids, with a discrimination success rate of 100%

(if used together) were determined. Furthermore, five ratios, FMSH/ICW, FMSH/FW, FMSH/SW, FMSH/3PCL and FMSH/PL were selected for male *Scylla* (97.1% discriminant), whereas, IPS/ICW, FMSH/FW, 3PCL/AW, FMSH/5PW and IPS/OPS were selected for female *Scylla* (93.2% discriminant).

The mating behaviour of *Scylla* was described and the feasibility of inter-species hybridisation in *Scylla* species was confirmed. Four stages of mating were observed, i.e. precopulation, moulting, copulation and postcopulation. No significant difference among species (including inter-species hybridisation) was found in the duration of each mating stages, except precopulation. Average mating duration was  $85.1 \pm 16.4$  h. High success inter-species hybridisation rate (51.9% without choice of partner, 44.3% with choice of partner) was observed. Males of *S. olivacea* and *S. tranquebarica* were the most versatile in choosing mating partner of other species, with or without the choice of mating partners compared to *S. paramamosain*. The most chosen female in inter-species hybridisation was *S. olivacea*.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Doktor Falsafah

**KAJIAN KE ATAS POPULASI, HIBRID SEMULAJADI DAN INDUKSI  
HIBRID KETAM BAKAU (*Scylla* spp.) DI MALAYSIA**

**MOHD FAZHAN BIN MOHD HANAFIAH**

**OGOS 2016**

**Penyelia utama : Profesor Mhd. Ikhwanuddin Bin Abdullah, Ph.D.**  
**Penyelia Bersama : Wong Li Lian, Ph.D.**  
**: Profesor Madya Safiah Binti Jasmani, Ph.D.**  
**Institut : Institut Akuakultur Tropika**

Terdapat empat spesies ketam bakau di bawah genus *Scylla* iaitu *Scylla serrata*, *Scylla tranquebarica*, *Scylla paramamosain* dan *Scylla olivacea* serta satu spesies hibrid yang direkodkan di Jepun, iaitu hibrid di antara *S. serrata* jantan dan *S. olivacea* betina. Kajian terdahulu berkaitan ketam bakau di Malaysia melaporkan bahawa terdapat tiga spesies utama yang mendiami kawasan bakau kecuali *S. serrata*. Walaubagaimanapun, kajian-kajian tersebut hanya dijalankan di negeri Terengganu dan Sarawak sahaja. Oleh itu, tujuan utama kajian ini ialah untuk mengkaji taburan spesies ketam-ketam bakau serta mengkaji kebarangkalian kewujudan ketam bakau hibrid daripada hutan-hutan bakau di antara empat lokasi hutan bakau utama yang mewakili perairan Malaysia. Tiga objektif dirangka secara berturutan, (i) menentukan taburan spesies, nisbah jantan dan betina, dan taburan saiz ketam bakau daripada genus *Scylla*, serta menentukan kewujudan hibrid ketam bakau dalam perairan Malaysia, (ii) Mengkelaskan ketam-ketam bakau berdasarkan morfologi, morfometrik dan perbezaan molekular di antara ketam varian *S. paramamosain* dan ketam hibrid yang

dijumpai di perairan Malaysia dengan ketam-ketam bakau yang asli (iii) Mengkaji dan mendalami dengan lebih lanjut tentang kebolehan induksi hibridisasi ketam bakau genus *Scylla* semasa di dalam kurungan.

Taburan spesies ketam bakau genus *Scylla* telah direkodkan di perairan Malaysia. Spesies *S. olivacea* merupakan ketam bakau yang mendominasi perairan Malaysia kecuali di Sabah yang didominasi oleh *S. paramamosain*. Manakala untuk taburan saiz ketam bakau pula, *S. tranquebarica* merupakan spesies yang terbesar jika dibandingkan dengan spesies-spesies lain yang ada ( $F = 7.27$ ,  $P = 0.001$ ). Selain itu, terdapat penemuan yang mengejutkan iaitu *S. serrata* ( $n = 3$ ) dan ketam yang dianggap hibrid juga ditemukan (Calon hibrid 1,  $n = 28$ ; calon hibrid 2,  $n = 18$ ; calon hibrid 3,  $n = 3$ ; calon hibrid 4,  $n = 5$ ).

Pemeriksaan dan pensampelan lanjutan yang dijalankan mendapati terdapat penambahan rekod jenis hibrid. Morfologi, morfometrik dan analisis molekular digunakan untuk menentukan identiti dan ibu bapa semua spesies dalam genus *Scylla* termasuk yang asli, varian dan hibrid. Keputusan mendapati bahawa calon-calon hibrid daripada objektif satu bukan semuanya ketam hibrid. Terdapat tiga variasi ketam *S. paramamosain* iaitu calon hibrid 2, calon hibrid 3 dan calon hibrid 4. Hanya calon hibrid 1 merupakan hibrid yang sebenar yang dikenali sebagai Hibrid 1 dan ditambah lagi tiga hibrid yang dijumpai dan dikenali sebagai Hibrid 2, Hibrid 3 dan Hibrid 4. Hibrid 1 merupakan campuran di antara *S. olivacea* jantan dan *S. paramamosain* betina manakala Hibrid 2 merupakan campuran di antara *S. tranquebarica* jantan dan *S. paramamosain* betina. Untuk Hibrid 3 pula, kajian mendapati bahawa hibrid ini merupakan campuran di antara *S. tranquebarica* jantan dan *S. paramamosain* betina dan Hibrid 4 di antara *S. serrata* jantan dan *S. paramamosain* betina. Kesemua hibrid-hibrid mempunyai karakter morfologi yang

bercampuran di antara dua spesies manakala varian-varian hanya mempunyai karakter morfologi yang sama dengan *S. paramamosain* kecuali karakter morfologi dua duri ICS (Duri dalam karpus) di bahagian keliped (sepit) ketam yang ada atas kedua sepit, sepit kiri sahaja atau sepit kanan sahaja yang membezakan varian dan *S. paramamosain* yang asli.

Kajian ini juga menemukan lima nisbah terbaik daripada pengukuran setiap lima bahagian utama ketam (120 nisbah) yang boleh digunakan untuk membezakan di antara spesies-spesies asli ketam bakau dan juga hibrid. Selain itu, lima nisbah terbaik yang dipilih daripada 120 nisbah tersebut juga dicadangkan iaitu nisbah FMSH/ICW, FMSH/FW, FMSH/SW, FMSH/3PCL dan FMSH/PL untuk ketam bakau jantan (97.1% kebolehan membeza), manakala, IPS/ICW, FMSH/FW, 3PCL/AW, FMSH/5PW and IPS/OPS dipilih untuk ketam bakau betina (93.2% kebolehan membeza).

Tingkah laku proses mengawan untuk ketam bakau genus *Scylla* direkodkan dan ketam-ketam bakau berkebolehan untuk mengawan di antara berlainan spesies. Empat peringkat mengawan direkodkan, pra-mengawan, salin kulit, mengawan dan selepas mengawan. Tiada perbezaan di antara masa mengawan antara pasangan ketam-ketam yang sama spesies atau pasangan ketam yang berlainan spesies kecuali untuk masa pra-mengawan sahaja. Purata masa mengawan semua ketam-ketam samada di antara spesies yang sama atau spesies yang berlainan (hibridisasi) ialah  $85.1 \pm 16.4$  jam. Peratus kejayaan yang tinggi direkodkan dalam hibridisasi untuk ketam bakau yang berlainan spesies iaitu 51.9% untuk hibridisasi tanpa spesies pilihan dan 44.3% untuk hibridisasi dengan pilihan. Jantan *S. olivacea* dan *S. tranquebarica* merupakan jantan yang tidak memilih pasangan mengawan (jika dipasangkan dengan spesies pilihan atau tidak dengan spesies pilihan) jika dibandingkan dengan *S. paramamosain*. Dalam



kajian ini juga mendapati *S. olivacea* betina merupakan spesies yang paling banyak dipilih oleh pasangan yang berlainan spesies.