

mountain lake Toporovani in Georgia was done. Then the hybrids were further cross bred by back crossing (grading) with the cultivated carp in the conditions of strong selection.

15. Heterozys can also be used for certain interspecific crosses in the restrictions of *Cyprinidae*, *Salmonidae* and some other families of commercial fish (for example *Cyprinus* and *Carassius*).

16. Hybridization in the bounds of one genera (*Cyprinus*) which we have started, will help us to solve one of the most undeveloped problems in modern ichthyology i. e. the origin of races in fish and their genetic nature.

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК СССР 1938

BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE L'URSS

Classe des sciences
mathématiques et naturelles

Отделение математических
и естественных наук

Г. В. САМОХВАЛОВА

ГИБРИДИЗАЦИЯ МЕЧЕНОСЦА (*XIPHOPHORUS HELLERI*) С ПЛЯТИПЕЦИЛИЕЙ (*PLATYPOECILUS MACULATUS*) МЕТОДОМ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ

Автором разработана методика искусственного осеменения живородящих рыб (*Cyprinodontidae viviparae*), с помощью которой получено большое количество декоративных гибридов между двумя видами живородок меченосцем и плятипецилией. На основании полученных данных автор приходит к выводу, что пониженная плодовитость при скрещивании этих двух видов в естественных условиях объясняется скорее всего причинами рефлексологического порядка, а метод искусственного осеменения значительно облегчает проведение гибридизации между указанными видами.

1. Введение

Приступая к работе по гибридизации живородящих рыб, нами, по совету А. С. Серебровского, была разработана методика искусственного осеменения для этого объекта. Как известно, применение искусственного осеменения оправдало себя на целом ряде животных и дало положительные результаты при гибридизации птиц. Метод искусственного осеменения значительно облегчает гибридизацию, так как устраняет препятствия к гетерогенному осеменению, связанные с инстинктами размножения и морфологическим строением полового аппарата и, таким образом, позволяет вовлечь в гибридизацию новые виды, а также облегчить размножение, т. е. значительно увеличить численность потомства там, где при естественном скрещивании число потомков весьма ограничено.

В то время как для икротетных рыб, как и для большинства животных с внешним оплодотворением, искусственное осеменение не представляет затруднений и широко используется в рыбоводческой практике, для группы живородящих рыб, обладающих внутренним оплодотворением и малыми размерами, этот метод до сего времени не применялся и не был разработан.

2. Методика

Работа по разработке методики искусственного осеменения живородок распадалась на 3 части: получение живой спермы и подыскание соответствующего разбавителя для ее сохранения, подготовка самки к искусственному осеменению и осеменение, т. е. метод введения спермы в половые пути самки.

Взрослые самцы живородящих рыб имеют размеры тела в среднем от 2 до 10 см и размеры половой железы в среднем от 2 до 10 мм. В первых опытах мы получали сперму, убивая рыбу, вскрывая брюшко и вынимая половую железу, которая имеет округлую или удлиненную форму и молочно-белую окраску. Железа помещалась на предметное стекло в каплю физиологического раствора и разрывалась на кусочки препаровальными иглами.

В дальнейших опытах мы попытались получить сперму от живого самца путем легкого надавливания в области брюшка. Выступающая при этом беловатая капля семенной жидкости состоит из взвеси сперматофор со зрелыми спермиями. Семенная жидкость с помощью пипетки, в которой предварительно было взято немного разбавителя, переносилась в каплю физиологического раствора на предметное стекло. Подвижность спермы, а также целостность сперматофор контролировались под микроскопом. Интересно отметить, что сперма молодого половозрелого самца в физиологическом растворе только несколько мгновений остается неподвижной и сперматофоры сохраняют свою округлую форму, а затем в течение нескольких секунд сперма приходит в активнейшее движение, сперматофоры разрушаются на глазах наблюдателя и сперматозоиды по радиусам разбегаются в разные стороны.

Пущенный в воду самец после взятия спермы начинает оживленно плавать и через полчаса совершенно оправляется. От одного самца можно брать сперму через 3—4 дня без существенного для него ущерба.

Указанным выше способом нами бралась сперма у самцов пяти видов живородок: *Lebistes reticulatus*, *Gambusia holbrooki*, *Xiphophorus helleri*, *Platyopocilus maculatus* и *Phallocerus caudomaculatus*.

Ввиду того, что сперма живородок способна длительное время сохраняться в половых путях самки, не теряя своей оплодотворяющей способности, на подбор самок для опытов по искусственному осеменению необходимо было обратить особое внимание. Во всех опытах нами употреблялись виргинные самки, для получения которых мы отбирали и отсаживали отдельно определяющихся самцов в самом раннем возрасте. Самки брались в опыт после появления у них пятна зрелости (*puberta spot*) в области анального плавника, т. е. по наступлении половой зрелости.

Осеменение живородок проводилось нами с помощью тонкой стеклянной палочки (А) и капиллярной пипетки (В) с оплавленными краями.

Рыба помещалась в вату, смоченную физиологическим раствором, с помощью палочки (А) находилось ее половое отверстие, которое расположено между анальным отверстием и анальным плавником, и пипеткой (В) вводилось небольшое количество спермы с предметного стекла.

В качестве разбавителя мы применяли раствор Ringer или раствор NaCl 0.6%.

Как правило, самки живородок изученных видов прекрасно выносят осеменение, не давая гибели.

Несколько более чувствительными по сравнению с другими видами являются самки плектроцилии (*P. maculatus*), так как в наших опытах, особенно в первых, наблюдался некоторый процент их гибели, который, очевидно, падает за счет их большей чувствительности к пребыванию на воздухе.

3. Фактические данные

Предпосылки о том, что искусственное осеменение может облегчить гибридизацию, устраняя прелатства, связанные с инстинктами размножения и строением полового аппарата, хорошо оправдали себя при применении этого метода для гибридной комбинации меченосца (*X. helleri*) с плектроцилией (*P. maculatus*).

В течение 1.5 лет от естественных скрещиваний между указанными видами, в которых участвовало 10 самцов и 15 самок, мы получили двадцать одного гибрида при условии, что самцы и самки обоих видов воспитывались с раннего возраста совместно в одних аквариумах, что должно было повысить шансы на скрещивание. Применяя же метод искусственного осеменения в течение нескольких месяцев, нам удалось получить около трехсот гибридов первого (F_1) и второго от обратного скрещивания (F_2) поколений (табл. 1).

Таблица 1

Поколение	№ протокола	Вид		Общее число ♀	Число давш. потомство после 1-го осеменения	Процент оплодотворения	Число давш. потомство после 2-го осеменения	Общий процент оплодотворения	Количество мальков		Примечание
		♀	♂						живых	мертвых	
F_1	66	$X \times P r$		7	4	57	2	86	108	8	X — сокращенное обозначение для вида <i>Xiphophorus helleri</i> , P — для вида <i>Platyopocilus maculatus</i> , r, g, n — красочные вариации P (<i>rubra, gold, nigra</i>)
	68	$P g \times X$		8	3	38	0	38	7	15	
	69	$X \times P g$		5	2	40	1	60	25	22	
	77	$X \times P r n$		10	8	80	—	—	62	31	
		Итого		30	17	57	3	67	202	76	
F_2	74	$X \times F_1$ № 5	гибрид	9	1	11	—	—	17	—	Осеменение проводилось один раз
	75	$X \times F_1$ № 7	гибрид	10	8	80	—	—	50	11	Осеменение проводилось один раз
		Итого		19	9	47	—	—	107	11	

На табл. 1 приводится количество мальков и средний процент оплодотворения по 4 протоколам при получении F_1 и по 2 при получении F_2 от гибридной комбинации меченосца на плектроцилию.

В протоколах 66, 68, 69 (табл. 1) самки, не давшие потомства после первого осеменения, по прошествии 2 мес. были осеменены вторично, после чего некоторые из них принесли мальков (правая часть табл. 1).

Продолжительность беременности при гибридизации колеблется от 30 до 63 дней и не отличается от той, которую мы наблюдаем при естественных скрещиваниях между чистыми видами.

На табл. 2 приводятся результаты опыта, поставленного с целью выяснения вопроса о повышении процента оплодотворения при повторном осеменении.

Таблица 2

№ протокола вид ♀ и ♂	№	Дата 1-й метки	Продолжи- тельность бе- ременности, в днях	Количество мальков	Фенотип мальков		Дата 2-й метки	Продолжи- тельность бе- ременности, в днях	Количество мальков	Фенотип мальков	
					желтые	черные				желтые	черные
17 ♀ X ♂ (<i>rubra</i> и <i>nigra</i>)	1	14/III	28	4	4		13/IV	30	28	18	10
	2	19/III	33	2	1						
	3	20/III	34	11	11		14/IV	26	27	15	12
	4	25/III	39	1	1						
	5	31/III	45	1	1		10/V	50	1	1	
	6	3/IV	48	2	2						
	7	4/IV	49	23	?(мерт.)						
	8	5/IV	50	16	9	7					
	Итого			60	28	9		Итого	56	34	22
								Всего	116	62	31

Примечание. Дата первого осеменения 14/III (♂ *Pl. rubra*). Дата второго осеменения 20/III (♂ *Pl. nigra*). В графу желтые входят мальки, определенные по цвету после рождения, в дальнейшем часть из них становится красными, часть светлокрасными и часть серыми.

В данном опыте десять самок меченосца было последовательно осеменено спермой от самцов пятитипецилии двух разных генотипов, а именно: красной пятитипецилии (*P. mac. var. rubra*), несущей ген красной окраски тела (R), и черной пятитипецилии (*P. mac. var. nigra*), имеющей ген черной окраски тела (N). Оба гена являются доминантными и сцепленными с полом. В данном опыте первый самец был гомозиготным по гену (R), и мы вправе были ожидать от него потомство все красное по фенотипу. Как известно, у пятитипецилии самец является гомозиготным по половой хромосоме и имеет формулу ZZ₁, а самка гетерозиготна ZW.

Окраска потомства должна была дать ответ на поставленный вопрос об увеличении процента оплодотворения после повторного осеменения, а именно об этом бы говорило наличие черных мальков в потомстве осемененных самок.

По материалам табл. 2 видно, что из 8 самок, давших мальков, две принесли наряду с красными и черных мальков, одна самка одного черного и четыре только красных. Из трех самок, вторично метавших, две принесли смешанное потомство. Общее количество мальков 116. Фенотип 23 не был определен, так как они были мер-

творжденные. Из оставшихся мальков мы имеем 62 красных и 31 черных по фенотипу т. е. потомство на 1/3 было от второго самца.

Таким образом, совершенно бесспорно, что повторное осеменение вызывает повышение процента оплодотворения.

Кроме того, этот опыт показал, что при осеменении самок живорожок самцами разного генотипа сперма одного самца, видимо, не оказывает влияния на сперму другого и вследствие этого получается смешанное потомство.

По данным ряда авторов: Гершлера (1914 г.), Белями (1922 г.), Коссвиг (1927 г.) и Гордона (1929 г.) (Gerschler, Bellamy, Kosswig и Gordon), гибриды между *X. helleri* и *P. maculatus* в первом поколении проявляют усиление окраски и резко выраженное явление гетерозиса по размерам тела. Изучение роста гибридов на нашем материале подтвердило данные вышеупомянутых исследователей и показало, что искусственное осеменение не меняет установленной закономерности (фиг. 1, 2, 3).

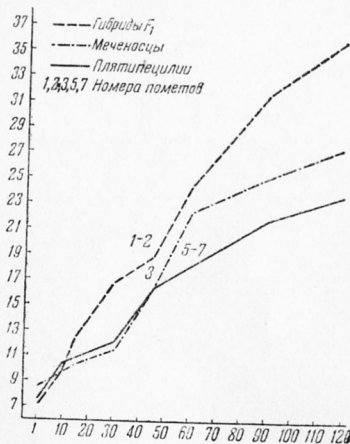
Сравнительное изучение роста исходных форм и гибридов приводится в виде кривых 1 и 2. Изучение роста проводилось до четырехмесячного возраста. На кривой 1 приводятся данные по длине, на кривой 2 по ширине тела исходных форм и гибридов.

Кривые роста говорят о значительном преобладании с коротости роста у гибридов по сравнению с исходными формами.

На фиг. 3 приводится фотография засушенных рыб. двух ♀ меченосца, ♂ красной пятитипецилии, гибрида F₁ и гибрида F₂ (методика сохранения рыб в засушенном виде разработана нами в истекшем году).

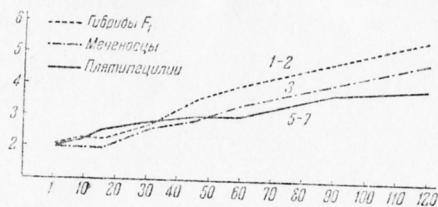
На фиг. 4 приведена фотография гибридов F₁, полученных при последовательном осеменении самки меченоски красным и черным самцом пятитипецилии.

Гибриды одного пола (самцы) одного помета воспитывались в одном аквариуме и засушены в возрасте 1 г 7 мес. Гибриды левого ряда имеют красную окраску тела, гибриды правого ряда черную. Здесь интересно отметить, что красные гибриды крупнее черных, несмотря на один возраст, и, следовательно, проявляют гетерозис по размерам значительно резче черных. Окраска черных

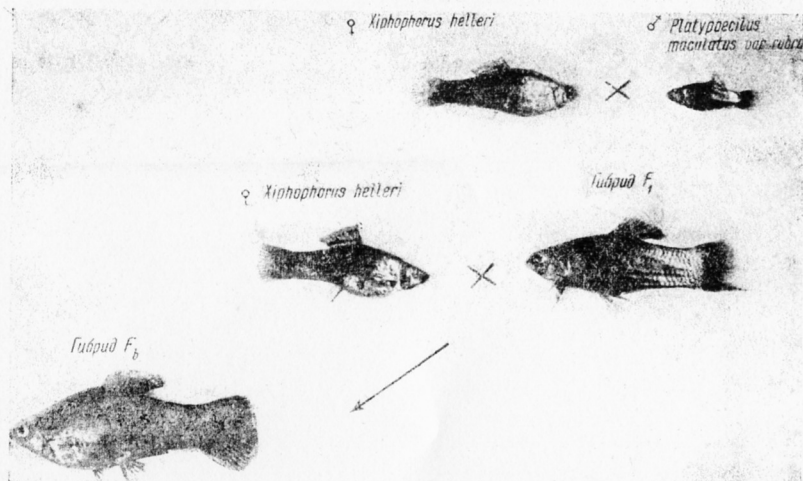


Фиг. 1. Кривые роста меченосца (*Xiphophorus helleri*), пятитипецилии (*Platyplecillus maculatus* var. *Ubra*) и гибридов между ними.

Данные кривые получены на основании изучения длины тела рыб и говорят о значительном гетерозисе по размерам тела у гибридов по сравнению с исходными формами.



Фиг. 2. Кривые роста меченосца, пятитипецилии и гибридов между ними, полученные на основании измерения ширины тела изучаемых рыб.



Фиг. 3. Явления гетерозиса при гибридизации меченосца с плятипецилией. Фотография сделана с коллекции рыб в засушенном состоянии

гибридов усилена по сравнению с исходным черным самцом плятипецилии var *nigra*. Как известно, у плятипецилии var *nigra* бока окрашены в черный цвет а брюшко и спина светлые. Гибриды F_1 при скрещивании этой плятипецилии с меченосцем имеют равномерную интенсивно черную окраску по всему телу

4. Выводы

1 Искусственное осеменение резко повышает плодовитость при гибридизации *X. helleri* с *P. maculatus*.

2. Опыты по искусственному осеменению показали, что *X. helleri* и *P. maculatus* являются двумя видами, которые при скрещивании между собой не меняют своих производительных способностей, а пониженная плодовитость при скрещивании этих двух видов в естественных условиях объясняется скорее всего причинами рефлексологического порядка.

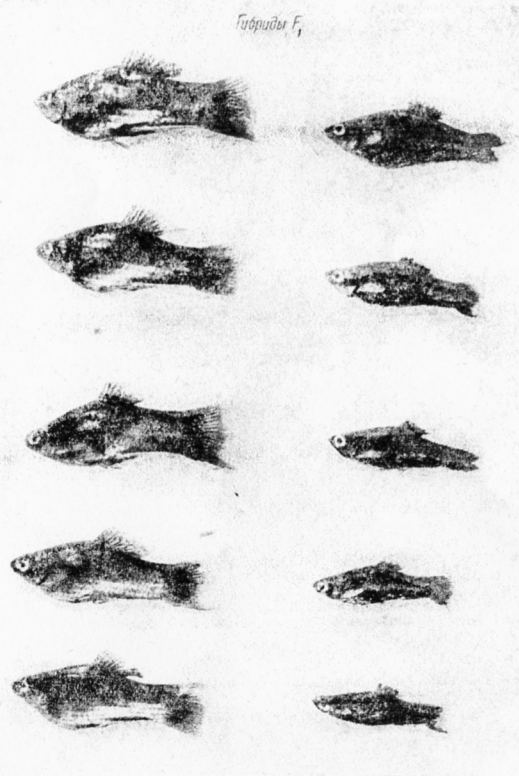
Мы считаем, что метод искусственного осеменения, открывая широкие перспективы для научно-исследовательской работы по гибридизации живородок, может быть уже успешно использован и для практических целей (для получения на примере гибридной комбинации *X. helleri* × *P. maculatus* большого количества декоративных гибридов).

Лаборатория генетики.
Московский государственный
университет.

G. V. SAMOKHYALOVA. HYBRIDIZATION BETWEEN *XIPHOPHORUS HELLERI* AND *PLATYPOECILUS MACULATUS* BY MEANS OF ARTIFICIAL INSEMINATION

SUMMARY

1. Artificial insemination markedly increases fertility in hybridization between *Xiphophorus helleri* and *Platypoecilus maculatus*.



Фиг. 4. Помет гибридов, полученный в результате искусственного осеменения самки меченосца спермой от двух самцов плятипецилий: красного и черного. Гибриды левого ряда, имеющие доминантный ген красной окраски — R, проявляют гетерозис по размерам тела значительно реже черных, имеющих доминантный ген черной окраски тела — N.

2. Artificial insemination experiments have shown that *X. helleri* and *P. maculatus* are two species which, when crossed, do not lose their reproductive ability. Reduced fertility resulting from natural hybridization between the two species may be attributed most probably to causes of a reflex nature.

3. We believe that the method of artificial insemination, which creates extensive possibilities for scientific research work on the hybridization of viviparous fish, may also be successfully employed for practical purposes, e. g., to obtain, in a similar way to our hybrid combination (*X. helleri* × *P. maculatus*), a large number of ornamental hybrids.