На правах рукописи

ПАВЛОВА Екатерина Владимировна

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА У ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ЛЕСНОГО КОТА (*Prionailurus bengalensis euptilura*)

Специальность 03.00.08 – зоология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва-2010

Работа выполнена в Институте проблем экологии и эволюции А.Н. Северцова РАН

Научный руководитель: кандидат биологических наук
доцент по специальности зоология
Сергей Валериевич Найденко

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Андрей Всеволодович Чабовский
доктор биологических наук
Михаил Павлович Мошкин

Ведущая организация: **Институт систематики и экологии животных СО РАН**

Защита состоится **23 марта 2010 года в 14.00 часов** на заседании Совета Д 002.213.01 по защите докторских и кандидатских диссертаций при Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, тел/факс: (495) 952-35-84, e-mail: admin@sevin.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33.

Автореферат разослан **19 февраля 2010 г.**

Ученый секретарь совета по защите
докторских и кандидатских диссертаций
кандидат биологических наук Е.А. Кацман

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В настоящее время одним из наиболее актуальных направлений исследований является изучение адаптивных стратегий животных и выявление физиологических и поведенческих путей их реализации. Комплексный анализ репродуктивной физиологии, активности системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники (ГГНС) и социальных взаимодействий является основным подходом в решении этого вопроса (Blanchard et al., 1998; Creel, 2001; Keverne et al., 2003; Мошкин и др., 2003). Определение уровня стрессированности животных всегда представляло интерес для исследований поведения животных, как для успешного содержания и разведения их в неволе, так и для оценки процессов, происходящих в природных популяциях. В связи с трудностью проведения прямых измерений одним из подходов в решении этой задачи является использование поведенческих индикаторов стресса (Carey, Farnsworth, 1983; Carlstead, Seidensticker, 1991), не всегда подтвержденных для конкретного вида. В последнее время в связи с развитием неинвазивных методов измерения глюкокортикоидов и увеличением интереса к исследованиям биологии диких животных, большое значение приобретает разработка и валидация неинвазивных методов измерения стресса (адренокортикоидной активности) у позоночных (Miller et al., 1991; Герлинская и др., 1993; Palme, 2005). У животных, ведущих социальный образ жизни, все большее внимание отводят роли социальных взаимодействий как фактора, влияющего на активность ГГНС (Creel et al., 1992, 1997; DeVries et al., 1996; Martinez et al.,1998; Goymann et al., 2001; Stavisky et al., 2001). Однако, даже у малосоциальных видов социальные взаимодействия крайне важны, и в отдельных случаях могут приводить у них даже к полному подавлению размножения (Wielebnowski et al., 2002). В целом, у животных, ведущих одиночный образ жизни, связь активности ГГНС с особенностями социального поведения изучена мало (Мошкин и др., 2001). Выявление таких закономерностей играет важную роль в изучении и

сохранении редких и исчезающих видов, которые широко представлены в семействе кошачьих (Brown, 2006). Дальневосточный лесной кот - редкий и практически неизученный представитель семейства кошачьих. Согласно крайне отрывочным данным для этого вида типична пространственная и социальная структура одиночного хищника (Юдина, Юдин, 1993). Контакты между особями редки и не всегда предсказуемы, в отдельных случаях сопровождаются жесткими агрессивными взаимодействиями, что может служить причиной активации ГГНС животных.

Цель работы: выявить взаимосвязь социального поведения и гормонального статуса животных у дальневосточного лесного кота

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Валидировать методы неинвазивного мониторинга гормонального статуса у дальневосточного кота
2. Выявить динамику репродуктивной активности животных в течение года
3. Описать сезонную динамику характера социальных взаимодействий животных
4. Оценить связь между характером социальных контактов и активностью ГГНС животных

Научная новизна и теоретическая значимость выполненных исследований

Впервые проведено комплексное исследование особенностей поведения и физиологии редкого представителя семейства кошачьих - дальневосточного лесного кота, с использованием целого ряда методов: этологических, физиологических и биохимических. На основе динамики иммунореактивных веществ в экскрементах животных показана сезонность в размножении дальневосточного кота, сочетаемая с отсутствием сезонных изменений в параметрах качества спермы у самцов данного вида. Показано влияние пола особи, пола партнера и сезона года на характер социальных контактов у дальневосточного кота, а также впервые на представителях семейства кошачьих выявлено комплексное влияние этих факторов на активность ГГНС.

Кроме этого, выделены некоторые особенности в поведении животных (связанные с социальным статусом особи и/или индивидуальной разнокачественностью особей), которые могут быть индикатором активации ГГНС у данного вида.

Научное и практическое значение работы

Результаты, полученные в ходе данного исследования, позволяют значительно расширить представления об особенностях социальных взаимодействий у представителей семейства кошачьих, репродуктивной активности животных (сезонной динамике, особенностях размножения, репродуктивном потенциале особи) дальневосточного лесного кота. Данные о социальном поведении животных и активности ГГНС, в частности их изменения в зависимости от различных факторов: сезона, пола особи, статуса животного, индивидуальных особенностей организма, пола партнера, наличия агонистического поведения в социальных контактах, позволяют расширить знания о конкурентоспособности и адаптивном потенциале особи, его роли в формировании структуры социальных взаимоотношений у одиночных хищников.

Результаты работы могут быть использованы для разработки рекомендаций по исследованию различных аспектов биологии млекопитающих неинвазивными методами, а также при разведении в неволе редких видов хищных млекопитающих. Кроме того, полученные результаты используются при чтении курса по экологической физиологии на кафедре зоологии позвоночных Московского государственного университета, а также при чтении лекций студентам различных ВУЗов в УНЦ «Черноголовка» ИПЭЭ РАН.

Апробация работы

Основные результаты исследования были представлены в виде устных и стендовых докладов на конференциях «Поведение и поведенческая экология млекопитающих» (Черноголовка, 2005, 2009); «Популяционная экология животных» (Томск, 2006); на Международных школах-конференциях молодых

ученых «Биология – Наука XXI века» (Пущино, 2005, 2006, 2007); конференциях молодых сотрудников и аспирантов «Актуальные проблемы экологии и эволюции» (Москва, 2006, 2008, 2009); Всероссийской конференции по поведению животных (Москва, 2007); пятом Европейском териологическом конгрессе (Сиена, 2007); на Международном совещании «Териофауна России и сопредельных территорий» (Москва, 2007); на тридцать первой международной этологической конференции (Ренн, 2009), на шестой и седьмой международных конференции по поведению, физиологии и генетике диких животных (Берлин, 2007, 2009) и на межлабораторных коллоквиумах ИПЭЭ РАН в 2007–2009 гг.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, 4 глав (обзора литературы, характеристики материала и методов исследования, описания результатов, полученных в ходе работы, и их обсуждения), выводов по итогам исследования и списка литературы. Материал изложен на 163 страницах. Работа содержит 34 рисунка и 2 таблицы. Список цитируемой литературы включает 187 наименование, из них 156 на английском языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении приведена общая характеристика темы, поставлены цели и задачи исследования.

ГЛАВА 1. Обзор литературы

В обзоре литературы описаны различные подходы к регистрации «стресса» у животных, в первую очередь посредством измерения концентрации глюкокортикоидов инвазивными и неинвазивными методами. Рассмотрены преимущества и недостатки этих методов. Использование неинвазивных методов позволяет оценивать кумулятивный эффект воздействия, не требует непосредственного контакта с животными и их дополнительного стрессирования, позволяет осуществлять регулярный сбор образцов (Герлинская, 1993; Miller et al., 1991 Palme, 2005). Подробно описаны

факторы (пол особи, сезон, статус особи, индивидуальная разнокачественность особей и др.) прямо или опосредовано, влияющие на активность надпочечников у различных видов животных (McCann et al., 2000; Мошкин и др., 2001; Creel et al., 2002; Wielebnowski et al., 2002; Touma et al., 2005; Wingfield, 2005). Рассмотрена роль активности надпочечниковой системы в формировании структуры взаимоотношений между животными у ряда видов млекопитающих (Creel et al., 1992, 1997; DeVries et al., 1996; Martinez et al.,1998; Sapolosky et al., 2000; Goymann et al., 2001). Описана структура пространственной и социальной организации у представителей семейства кошачьих, ее зависимость от ряда факторов (Breitenmoser et al., 1993; Пикунов, Коркишко, 1992; Найденко, Хупе, 1998; Say et al., 1999). Наряду с этим, рассмотрены некоторые особенности физиологии (репродуктивная активность, качество спермы, активность ГГНС,) характерные для представителей семейства кошачьих (Brown, 2006; Wielebnowski et al., 2002; Terio et al., 2004; Wildt et al., 1983, 1986).

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

Работу проводили в 2003-2009 гг на научно-экспериментальной базе «Черноголовка» ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, расположенной в 60 км северо-восточнее г. Москвы. Всего в экспериментах использовали семнадцать половозрелых особей (7 самок и 10 самцов) дальневосточного лесного кота 1-3 поколений в неволе. Животных содержали поодиночке в вольерах площадью 4, 8 и 16 м^2. Наблюдения за социальным поведением животных проводили в вольерах 16 м^2.

Валидирование методов неинвазивного мониторинга гормонального статуса у дальневосточного кота

Физиологическое подтверждение. Для физиологического подтверждения адекватности метода неинвазивного мониторинга глюкокортикоидов в экскрементах животных оценивали изменения концентрации иммунореактивных веществ, связывающихся с антителами к кортизолу (далее ИРВ-кортизол), в экскрементах в ответ на инъекцию адренокортикотропного

гормона (АКТГ). В эксперименте использовали 7 половозрелых особей дальневосточного кота. АКТГ вводили внутримышечно в утренние часы (8.30-12.00; 0.25 мл/10 кг массы тела, что соответствовало 25 ИЕ) зимой и летом. Летом у всех животных перед инъекцией АКТГ и через час после нее были собраны образцы крови для последующего определения в них уровня кортизола. Экскременты собирали в течение трех суток до и после инъекции. Собранные экскременты замораживали при температуре -18ºС и хранили до проведения экстракции гормонов.

Биологическое подтверждение. Для биологического подтверждения адекватности метода неинвазивного мониторинга глюкокортикоидов, оценивали изменения концентрации ИРВ-кортизол в экскрементах в ответ на проведение заведомо «стрессорных» процедур (взятие крови и процедура электроэякуляции). В эксперименте использовали 5 половозрелых особей. Экскременты также собирали в течение трех суток до и после «стрессорной» процедуры и сразу замораживали при температуре -18ºС до проведения экстракции гормонов.

Мониторинг репродуктивной активности животных

Для мониторинга репродуктивной активности в течение года у 10 половозрелых самцов проводили сбор образцов крови с периодичностью 1 раз в месяц в период с 2006-2009 год. Забор крови проводили в утренние часы (9.00-12.00) из бедренной вены. Сразу после сбора образцов (121 образец), центрифугированием отделяли плазму крови, замораживали при температуре –18°С и хранили до проведения измерений (Павлова, Найденко, 2009).

У 11 особей (5 самок и 6 самцов) собирали экскременты в период с 2007 по 2009 для неивазивной оценки гормонального статуса животных. Для каждого зверя образцы собирали от 2 до 5 раз в месяц, а в марте каждые 3-4 дня. После сбора образцы замораживали до момента экстракции (686 образцов). Экстракцию образцов проводили по описанной ранее методике

(Jewgenow et al., 2006). Полученные экстракты хранили при температуре -18°С до проведения измерений.

Для мониторинга сезонной изменчивости активности репродуктивной системы у 10 самцов дальневосточного кота в 2007-2009 гг проводили регулярные сборы образцов спермы (один раз в месяц). Сперму получали с помощью электроэякуляции (Wildt et al., 1983; Pukazhenthi et al., 2006). Для характеристики активности репродуктивноой системы самцов использовали следующие параметры: объем семенников, объем эякулята, общая концентрация и число сперматозоидов в эякуляте, концентрация, число и доля подвижных сперматозоидов, доля морфологически нормальных сперматозоидов (Brown et al., 1989; Сагалов, 2002; Pukazhenthi et al., 2006).

Определение концентрации гормонов

Концентрацию гормонов в плазме крови и экскрементах животных определяли методом гетерогенного иммуноферментного анализа с помощью планшетного спектрофотометра Multiscan EX (ThermoElectron Corporation). Для определение уровня тестостерона, кортизола и прогестерона использовали стандартные наборы компании «Иммунотех» (Москва, Россия). Для определения уровня эстрадиола использовали наборы компании Хема-Мед (Москва, Россия).

Наблюдения за социальным поведением животных

Эксперименты по изучению социального поведения животных проводили в период с 2007 по 2009 год. Всего в экспериментах использовали 15 половозрелых особей дальневосточного кота (7 самок и 8 самцов). Изучение особенностей социального поведения животных проводили методом парных ссаживаний. Всего было проведено 140 ссаживаний (560 часов) в вечернее время суток (с 18.00-19.00 – до 23.00-24.00). Для того чтобы проследить предполагаемые сезонные изменения в социальном поведении дальневосточного кота, ссаживания проводили в два периода: *период покоя репродуктивной системы* (с сентября по ноябрь) и в *период гона* (с конца

января по апрель). Ссаживания проводили между самцами (48 ссаживаний), между самками (36 ссаживаний) и между самцами и самками (56 ссаживаний) в вольере одного из партнеров. При наблюдении за поведением животных фиксировали все ранее описанные формы индивидуального поведения партнеров, а также все взаимодействия животных (Stehlik, 1984; West, 1974; Salden, 1983; Найденко, 1997; Антоневич, 2008).

Сбор образцов экскрементов при ссаживании животных

Образцы экскрементов собирали в течение 3-х суток до ссаживания партнеров (контроль). После ссаживания с партнером экскременты, также в течение 3-х суток собирали только у резидента. Затем экскременты замораживали (при T=-18°C) для последующей экстракции и анализа уровня ИРВ-кортизол. Всего было проанализировано – 865 образцов.

Статистический анализ

Для проведения статистического анализа использовали программы Microsoft Excel и Statistica 6.0. Применяли непараметрические критерии для выборок с ненормальным распределением. Использовали критерий Манна Уитни (Mann-Whitney U test), критерий Вилкоксона для сопряженных пар (Wilcoxon matched pairs test), критерий Краскела-Уоллеса (Kruskal-Wallis ANOVA), а также критерий Фридмана (Friedman ANOVA) и коэффициент ранговой корреляции Спирмена (Spearman Rank Order Correlations).

ГЛАВА 3. Результаты исследования

Валидирование методов неинвазивного мониторинга гормонального статуса у дальневосточного лесного кота

Физиологическое подтверждение. Инъекция АКТГ приводила к увеличению концентрации ИРВ-кортизол в экскрементах животных и зимой, и летом. Летом у животных достоверно (с 344±78 нг/мл до 1085±282 нг/мл; в 3,5 раза) возрастала концентрация кортизола в плазме крови через час после инъекции АКТГ ($n=7$; $Z=2.37$; $p<0.05$) **(Рис.1(а)).** Пиковые значения концентрации ИРВ-кортизол в летний период отмечены через 10-47 ч после инъекции (в среднем через 23±5 ч ($n=7$)) **(Рис. 1(б)).**

Пиковые концентрации ИРВ-кортизол после инъекции были достоверно выше базального уровня (n=7; Z=2,37; p<0,05). В летний и зимний периоды выявлены индивидуальные различия (более чем на порядок) как в базальных концентрациях в экскрементах ИРВ-кортизол, так и между пиковыми значениями концентрации гормона. При этом зимой значения ГКИ были несколько ниже, чем летом (n=7; Z=1,86; p=0,06), тогда как базальные уровни достоверно не различались (N=7; p>0,05).

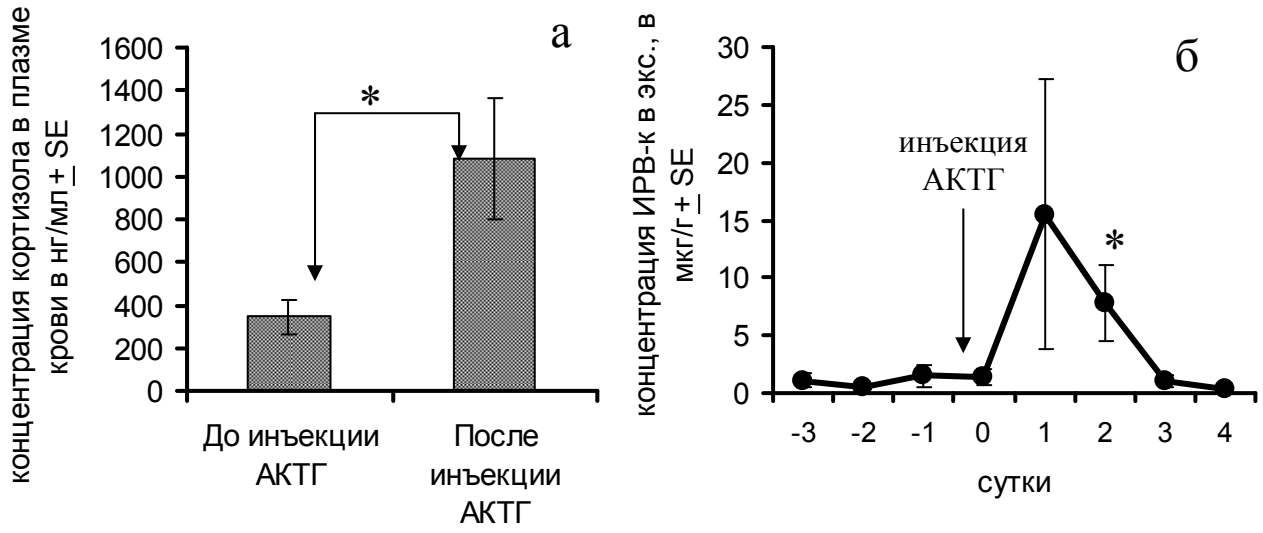

Рис. 1. Концентрация кортизола в плазме крови (а) и ИРВ-кортизол в экскрементах (б) дальневосточного кота (n=7) до и после инъекции АКТГ. *Wilcoxon Matched Pairs Test: (*)-p<0,05; на рисунке приведены средние значения ± SE*

Биологическое подтверждение. Значения концентрации ИРВ-кортизол возрастали после проведения заведомо «стрессорных» для животных процедур. Однако, существовали индивидуальные различия как в максимальных значениях ИРВ-кортизол (lim 1418,34-5750,8 нг/г), реактивности ГГНС (ГКИ=2,5-12,2 раз), так и во времени их достижения у отдельных животных. В связи с этим не выявлено достоверных различий между средним базальным уровнем, и значениями ИРВ-кортизол на 1-4 сутки (Friedman ANOVA: n=5; df = 4; T=4,4; ns).

Таким образом, введение АКТГ приводило к увеличению концентрации кортизола в плазме крови у дальневосточного лесного кота и уровня ИРВ-кортизол в экскрементах животных. «Стрессорные» ситуации также приводили

к увеличению ИРВ-кортизол в экскрементах. Все это говорит о возможности использования антител к кортизолу для оценки активности надпочечников у дальневосточного лесного кота.

Характеристика активности репродуктивной системы у самцов и самок дальневосточного лесного кота

Анализ 120 образцов крови, собранных от 10 половозрелых самцов дальневосточного кота, показал достоверные различия в уровне тестостерона в плазме крови в течение года (Friedman ANOVA: n=10; df = 3; T=13,9; p<0,01). Максимальные концентрации были отмечены в феврале-апреле (7,7-14,6 нг/мл) **(Рис.2(а))**, затем концентрация тестостерона плавно снижалась до 2,8±1,2 нг/мл в мае. Незначительный пик тестостерона отмечен в августе, а затем концентрация падала до минимальных значений в декабре (1,8±0,7

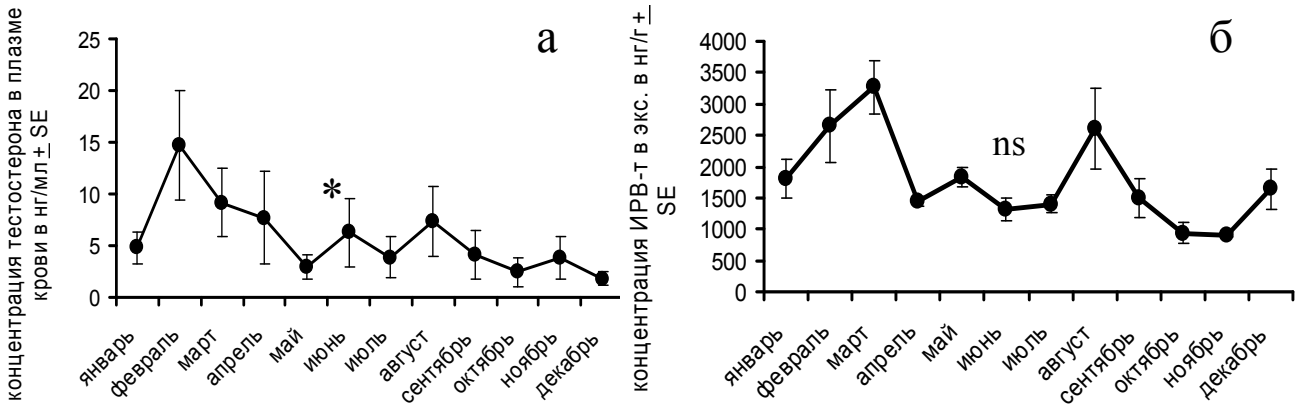

Рис.2. Изменение концентрации тестостерона в плазме крови (а) и ИРВ-тестостерон в экскрементах (б) у самцов в течение года (n=10). *Friedman ANOVA: p<0,05; на рисунке приведены средние значения ± SE*

Оценка активности половой системы самцов на основе анализа концентрации ИРВ, связывающихся с антителами к тестостерону в экскрементах животных (далее ИРВ-тестостерон), показала сходную динамику метаболитов половых гормонов с сезонными изменениями тестостерона в плазме крови **(Рис.2(б)).** Максимальные значения ИРВ-тестостерон отмечены в феврале-марте, минимальные в октябре-ноябре. Кроме этого, уровень ИРВ-тестостерон в экскрементах, также как и уровень тестостерона в плазме крови, несколько возрастали в августе месяце (Friedman ANOVA: n=5; df =3; T=5; ns).

Таким образом, характер изменения концентрации тестостерона в плазме крови в течение года в значительной степени прослеживался и в сезонной динамике ИРВ-тестостерона в экскрементах животных, что свидетельствует о возможности оценки активности репродуктивной системы у самцов дальневосточного лесного кота неинвазивными методами. Пик секреции тестостерона у самцов дальневосточного кота приходится на весенний период (февраль-апрель), а *период покоя репродуктивной системы* - на осенний (сентябрь-ноябрь).

Сезонность в секреции половых гормонов у самцов дальневосточного кота сопоставили с сезонными изменениями других параметров репродуктивной активности у самцов, а именно качестве спермы.

Анализ 101 эякулята от 10 самцов позволил описать показатели качества спермы дальневосточного лесного кота **(Табл.1).**

Табл.1. Основные показатели репродуктивной активности самцов дальневосточного лесного кота (среднее значение $\pm$ SE)

Объем эякулята (мкл)	41,3 $\pm$ 6,8
Общая концентрация сперматозоидов в эякуляте (млн/мл)	398 ± 106,8
Число подвижных сперматозоидов в эякуляте (млн)	4,2 ± 1,2
Подвижность сперматозоидов (%)	40 ± 3
Доля морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте (%)	35,4 ± 1,5
Объем семенников (см^3)	1,9 ± 0,05

В данном случае не отмечено различий между *периодом гона* (февраль-апрель) и *остальным периодом года* (май-январь) по таким параметрам как объем эякулята (Wilcoxon matched pairs test: n=10; Z=0,05; ns), доля подвижных сперматозоидов в эякуляте (n=10; Z=1,3; ns), доля морфологически нормальных сперматозоидов (n=10; Z=0,3; ns). В отличие от них значения общей концентрации сперматозоидов (n=6; Z=2,08; p<0,05) и числа подвижных

сперматозоидов в эякуляте (n=6; Z=2,08; p<0,05) были достоверно выше в *остальной период года.*

Объем семенников достоверно увеличивался к периоду гона (Friedman ANOVA: n=10; df = 3; T=15,6; p < 0,01). Были отмечены достоверные индивидуальные различия по всем параметрам качества спермы, кроме объема эякулята (Kruskal-Wallis test: подвижность сперматозоидов; число подвижных сперматозоидов в эякуляте; общая концентрация сперматозоидов).

Оценка активности репродуктивной системы самок, на основе анализа 320 образцов экскрементов, показала четкую сезонную динамику в концентрации иммунореактивных веществ, связывающихся с антителами к прогестерону и эстрадиолу (далее ИРВ-прогестерон и ИРВ-эстрадиол, соответственно). Так, значения концентрации ИРВ-прогестерон достоверно изменялись в течение года (Friedman ANOVA: n=5; df = 3; T=12,12; p < 0,01) **(Рис.3(а))**. Концентрация ИРВ-прогестерон возрастала в марте и апреле, затем ее значения сохранялись на достаточно высоком уровне до сентября с максимальным значением в июне. С октября по февраль значения ИРВ-прогестерон были минимальными.

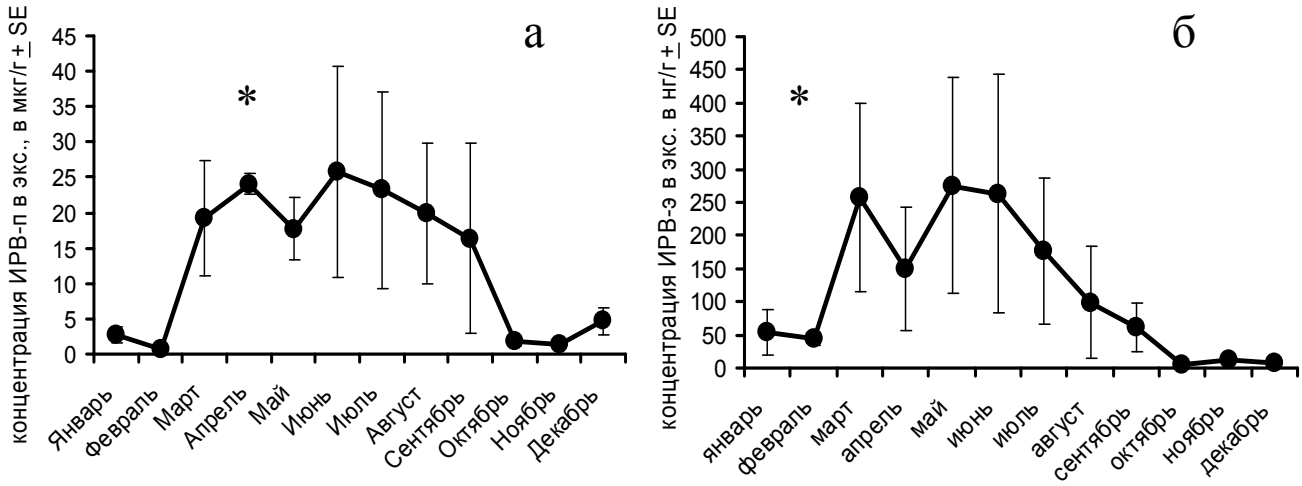

Рис.3. Изменение концентрации ИРВ-прогестерон (а) и ИРВ-эстрадиол (б) в экскрементах самок в течение года (n=5). *Friedman ANOVA: (*)-p<0,05;на рисунке приведены средние значения ± SE*

Концентрация ИРВ-эстрадиол также достоверно изменялась в течение года (n=5; df=3; T=9,72; p<0,01), однако, ее динамика несколько отличалась от

динамики ИРВ-прогестерон **(Рис.3(б)).** Выявлены два хорошо выраженных пика в марте и в мае–июне, а в апреле концентрация ИРВ-эстрадиол падала, в отличие от концентрации ИРВ-прогестерон. Заметное снижение концентрации ИРВ-эстрадиол наблюдалось уже в июле и, начиная с сентября, значения были значительно более низкими.

Таким образом, анализ концентрации ИРВ-прогестерон и ИРВ-эстрадиол в экскрементах животных и сопоставление их с физиологическим состоянием животных (беременность, эструс) позволяли проследить четкую сезонную динамику репродуктивной активности у самок дальневосточного лесного кота. Первый пик гормональной секреции мы отмечали в марте как для ИРВ-прогестерон (овуляция), так и для ИРВ-эстрадиол (эструс), в дальнейшем их динамика отличалась. Весна и лето являлись периодами активации половой системы самок, а осень и зима - периодом покоя.

Кроме этого, выявлено, что в период лактации у самок сохранялись высокие концентрации ИРВ-прогестерон в течение 3-х месяцев после родов,тогда как у нерожавших кошек (ложнобеременных) в этот период они резко снижались.

Таким образом, выделяя на основе активности репродуктивной системы у самцов и самок дальневосточного лесного кота периоды гона и покоя репродуктивной системы, мы проанализировали связь между активностью ГГНС и характером социальных взаимодействий животных в эти периоды.

Взаимосвязь социального поведения и гормонального статуса животных у дальневосточного лесного кота

Мы измеряли уровень ИРВ-кортизол, свидетельствующий о состоянии активности ГГНС особи, в экскрементах животных до и после взаимодействия с партнером, для того чтобы оценить насколько *контакты между разными особями могут быть стрессорными для животных.* Концентрация ИРВ-кортизол возрастала в экскрементах животных (резидентов) после взаимодействия с партнером (интрудером) (а на 2-ые сутки она отличается достоверно от базальной Wilcoxon Matched Pairs Test: $n=15$; $Z=2,1$; $p<0,05$),

свидетельствуя о стрессорном влиянии социальных контактов с особями своего вида **(Рис. 4).** Несмотря на общее повышение активности ГГНС после взаимодействия партнеров, мы отмечали значительный разброс в значениях концентрации ИРВ-кортизол между отдельными ссаживаниями. Это говорит о неоднозначности влияния социальных контактов на активность надпочечников.

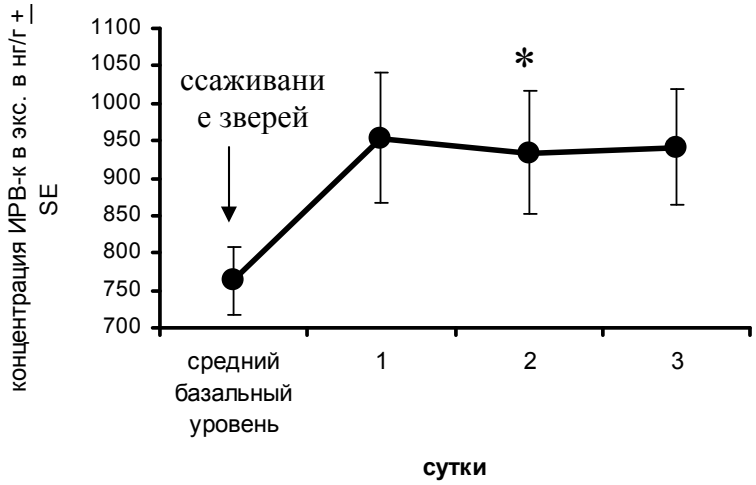

Рис. 4. Изменение концентрации ИРВ-кортизол в экскрементах животных после взаимодействия с партнером (n=15). *Wilcoxon Matched Pairs Test: (*)-p>0,05; на рисунке приведены средние значения ± SE.*

Характер социальных взаимодействий между партнерами может быть связан с активностью ГГНС животных, а частота и соотношение отдельных форм поведения как у интрудера, так и у резидента могут служить причиной и/или индикатором стрессированного состояния у хозяина территории.

Достоверных различий в активности ГГНС у самцов и самок дальневосточного кота не выявлено. Средние значения ИРВ-кортизол были сходными у особей разного пола до ссаживания животных, и после взаимодействия самок и самцов с партнером (базальная активность (Mann-Whitney Test: n_1=7, n_2=8; Z=1,5; ns); реактивность (n_1=7, n_2=8; Z=0,35; ns)). Вместе с тем, социальные взаимоотношения с сородичами своего пола значительно различались у самцов и самок.

Ссаживания самцов с самцами

Сезон года не оказывал заметного влияния на базальную активность и на реактивность ГГНС у самцов. Средние значения ИРВ-кортизол *в период гона* не отличались от значений ИРВ-кортизол *в период покоя репродуктивной системы* до ссаживания животных и после взаимодействия самцов с

партнером (базальная активность (Wilcoxon Matched Pairs Test: n=8; Z=0,14; ns); реактивность (n=8; Z=0,14; ns)). Не выявлено различий в базальной концентрации ИРВ-кортизол и концентрациями после взаимодействия с партнером у самцов (на 1-е, 2-е и 3-и сутки) ни *в период гона* (n=8; Z=0,56-0,42; ns), ни *в период покоя репродуктивной системы* (n=8; Z=1,12-0,28; ns). Взаимодействия самцов дальневосточного лесного кота носили агонистический характер и не зависели от сезона года. Основные сезонные изменения прослеживались в частоте маркировочной, и акустической (дружелюбная вокализация) активности животных. Повышение их в *период гона* было вероятно связано с уровнем активности половой системы животных, но не с активностью ГГНС. Следовательно, такая характеристика социальных взаимодействий как частота агрессивных контактов (даже крайне жестких) не являлась достаточной причиной для активации ГГНС у самцов дальневосточного кота. При этом сезон не оказывал модулирующего влияния на эту ситуацию. Социальный статус особи, приобретенный в ходе социальных контактов, оказывал влияние на реактивность ГГНС резидента. Уровень ИРВ-кортизол был достоверно возрастал на 2-е сутки после взаимодействия животных у резидента-доминанта (Wilcoxon Matched Pairs Test: n=8; Z=2,1; p<0,05), но не у резидента-подчиненного (n=8; Z=0,56-0,7; ns). Таким образом, влияние социальных контактов как стрессирующего фактора зависело от социального статуса особи в этих взаимодействиях. Взаимодействие с партнером оказывало стрессирующее влияние, главным образом, на высокоранговых животных, но не на низкоранговых. Активация надпочечников у резидента-доминанта была сопряжена с высоким уровнем агрессивного (Wilcoxon Matched Pairs Test: n=8; Z=2,12; p<0,05) и опознавательного поведения (n=8; Z=3,30; p<0,05) по сравнению с партнером. У резидента-подчиненного заметно снижалась частота индивидуального поведения (ориентировочно-исследовательского (n=8; Z=3,16; p<0,05) и маркировочного (n=8; Z=2,98; p<0,05)) в присутствии доминантного зверя, увеличивался уровень акустической активности (защитная вокализация (n=8;

Z=3,42; p<0,05)), способствующий предотвращению агрессивных взаимодействий.

Таким образом, социальный статус животного во многом определял не только активность надпочечников самцов, но и поведение животного при взаимодействии с партнером.

Ссаживания самок с партнером

Сезон года оказывал влияние на базальную активность ГГНС самок дальневосточного кота. Средние базальные значения ИРВ-кортизол в экскрементах самок были значительно ниже в *период гона*, чем *в период покоя репродуктивной системы*, но не различались после взаимодействия самок с партнером (базальная активность (Wilcoxon Matched Pairs Test: n=6; Z=2,8; p<0,05); реактивность (n=6; Z=0,64; ns)). Сезон года оказывал влияние на характер социальных контактов животных только при взаимодействии самок с самцами, но не при взаимодействии самок. Характер контактов между самками был дружелюбным или нейтральным с редкими нежесткими агрессивными столкновениями между животными и не зависел от сезона года. Характер взаимодействий между самцами и самками был агонистическим в *период покоя репродуктивной системы*. В *период гона* агрессия со стороны самок возрастала (n=5; Z=2,02; p<0,05) в ответ на активное половое поведение самцов, частота агрессивного поведения которых, напротив, снижалась.

Пол партнера оказывал влияние только на характер социальных контактов между партнерами, но не на активность ГГНС, как в период покоя репродуктивной системы, так и в период гона. Взаимодействия самок характеризовались небольшим количеством агрессивных контактов и высокой частотой игрового поведения; взаимодействия самок с самцами носили агонистический характер. Поведенческими индикаторами «стресса» у самок дальневосточного кота при социальных контактах с партнером в *период покоя репродуктивной системы* были высокая доля агрессивного поведения, отсутствие индивидуального и социального игрового поведения **(Рис.6)**, была сопряжена с ***индивидуальной разнокачественностью особей*** в значениях

глюкокортикоидного индекса **(Рис. 5).** В *период гона* все ссаживания были разделены на «стрессорные» (ГКИ > 2,5) и «нестрессорные» (ГКИ < 2,5), на основе значений глюкокортикоидного индекса. Подобное разделение было основано на данных о биологическом подтверждении неинвазивного метода измерения ИРВ-кортизол в экскрементах животных (см. выше)). Поведение интрудеров при этом не различалось между «стрессорными» и «нестрессорными» ссаживаниями.

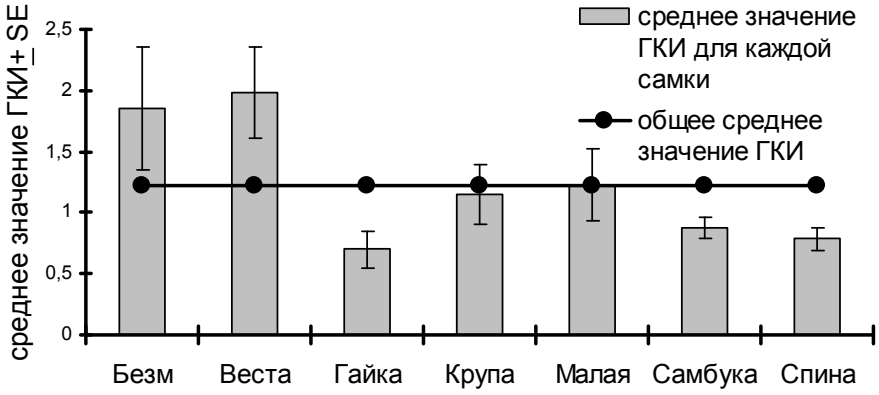

Рис. 5. Значение ГКИ самок (n=7) после взаимодействия с партнером *в период покоя репродуктивной системы. Kruskal-Wallis test:(*)-p<0,05 – различия в ГКИ между отдельными самками; на рисунке приведены средние значения ± SE.*

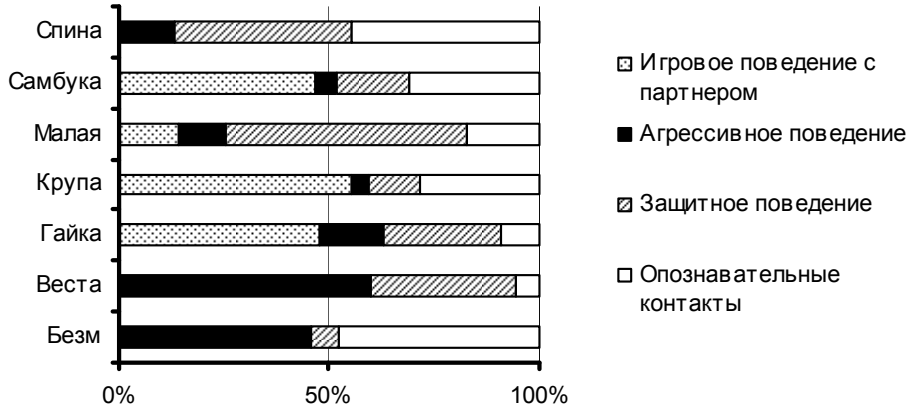

Рис.6. Доля отдельных социального поведения у самок (n=7) во время взаимодействий с партнером в *период покоя репродуктивной системы.*

У резидентов же, у которых впоследствии было выявлено значительное увеличение ГКИ (более чем в 2,5 раза), отмечали достоверно более высокую частоту проявления маркировочного поведения (ссаживания между самками

(Mann-Whitney test: n_1=5, n_2=16; Z=2,08; p<0,05); ссаживания между самцами и самками (n_1=6, n_2=22; Z=1,96; p<0,05)) и опознавательного поведения (при взаимодействии самок с самцами n_1=6, n_2=22; Z=2,33; p<0,05).

Таким образом, в *период гона* активация надпочечников самок была сопряжена с высокой частотой маркировочного и опознавательного поведения в ходе ссаживания с партнером.

ГЛАВА 4. Обсуждение результатов исследования

В обсуждении приведено сравнение полученных результатов с результатами исследований других видов млекопитающих, в первую очередь кошачьих. Считалось, что определение концентрации кортизола (или близких к нему по структуре метаболитов) в экскрементах, а соответственно и использование антител к кортизолу, малоприемлемо для оценки неинвазивными методами активности ГГНС у кошачьих (Wildt et al., 1988; Graham, Brown, 1996; Brown, 2006). Нами показана возможность использования антител к кортизолу для неинвазивной оценки активности ГГНС у дальневосточного лесного кота, что согласуется с результатами, полученными на трех других видах кошачьих (Young et al., 2004). Сезонность в размножении дальневосточного кота, показанная на основе динамики иммунореактивных веществ в экскрементах животных, отличает этот подвид от близкородственной формы - бенгальской кошки (Howard and Wildt, 1990), и сближает с другими сезонно размножающимися представителями семейства (Schmidt et al., 1988; Moreira et al., 2001; Jewgenow et al., 2006). При этом, у последних высокие концентрации тестостерона в период гона были сопряжены с максимальными значениями в показателях качества спермы (Jewgenow et al., 2006), что не было отмечено нами у дальневосточного кота. Кроме этого, полученные нами данные позволяют оценить влияние пола особи, пола партнера и сезона на характер социальных контактов, показать отсутствие прямого воздействия этих факторов на активность ГГНС, выделить некоторые особенности в поведении животных (связанные с социальным статусом особи и/или индивидуальной разнокачественностью особей), которые могут быть

индикатором активации ГГНС. Эти результаты с одной стороны дополняют закономерности описанные ранее на других видах млекопитающих (Мошкин и др., 2001; Romero, 2002; Abott et al., 2003) и практически не изученные на других видах кошачьих (Wildt D.E. et al., 1988; Carlstead, 1993; Найденко, 2007), с другой - выявляют характерные особенности поведения и физиологии у дальневосточного лесного кота.

ВЫВОДЫ

1. Использование антител к кортизолу позволяло производить оценку неинвазивными методами активности ГГНС у дальневосточного лесного кота.
2. Пик гормональной активности репродуктивной системы животных в феврале-марте у дальневосточного кота был связан с периодом гона, тогда как четких сезонных изменений в экзокринной функции семенников у самцов не прослеживалось.
3. Взаимодействия между самцами у дальневосточного лесного кота носили агонистический характер; между самками нейтральный (с низкой частотой контактов), реже дружелюбный с преобладанием игрового поведения между партнерами. Значительных сезонных различий в характере социальных контактов особей одного пола выявлено не было.
4. Значительные сезонные различия в характере социальных контактов существовали между особями разного пола. Взаимодействия между самцами и самками были агонистическими в *период покоя репродуктивной системы*. В *период гона* агрессия со стороны самок возрастала в ответ на активное половое поведение самцов, частота агрессивного поведения которых, напротив, значительно снижалась.
5. Изменения в характере социальных контактов, обусловленные комплексным влиянием сезона, пола особи и пола партнера, не были сопряжены напрямую с активностью надпочечников.
6. Особенности взаимодействий животных, в том числе наличие агрессивных взаимодействий между партнерами, не являлись достаточной причиной для

активации ГГНС у животных. При этом доминирование в парных ссаживаниях, связанное с проявлением определенных форм поведения (маркировочного, ориентировочно-исследовательского, агрессивного, опознавательного) сопровождалось активацией ГГНС у дальневосточного лесного кота.

Благодарности

Автор искренне благодарен научному руководителю к.б.н. С. В. Найденко за научное руководство, понимание, поддержку и неоценимую помощь на всех этапах работы; М.Н. Ерофеевой за помощь в сборе материала, организации и проведении работы, своевременные советы и поддержку на протяжении всей работы; Н.А. Васильевой за консультации в статистической обработке материала, искреннее участие и дружескую поддержку; А.Л. Антоневич за помощь в обсуждении работы, а также за предоставление фотоматериалов; Д.В. Глухову, А.В. Берлизову и Е.А. Иванову за помощь в создании комплекса вольер для наблюдения за поведением животных, а также за помощь в проведении работы; А.А.Чагаевой за участие в обсуждении работы; М.Д. Чистополовой за ценные советы и моральную поддержку на протяжении всей работы. Автор искренне благодарен всему коллективу НЭБ «Черноголовка» за создание плодотворной рабочей обстановки. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 03-04-48763 и 07-04-00899, грантов программы «Биоресурсы» IV.7 (2006-2008) и III.8 (2009)» и стипендий им. Л. Эйлера, предоставленных фондом DAAD (Германия).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК

1) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2008. Неинвазивный мониторинг глюкокортикоидов в экскрементах дальневосточного лесного кота (Prionailurus bengalensis euptilura) // Зоологический журнал, т. 87, 11: 1375-1381.

Тезисы и материалы конференций

2) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2005. Сезонные изменения социального поведения дальневосточных котов. // В сб.: «Биология – наука XXI века». 9-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 18-22 апреля 2005 г: с. 292-293.

3) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2005. Особенности социального поведения дальневосточных лесных котов. В сб.: «Поведение и поведенческая экология млекопитающих». Ред. В.В. Рожнов и др., М., КМК: 159-160.

4) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2006. Индивидуальные особенности в поведении самок дальневосточного лесного кота. В сб.: Популяционная экология животных (Ред. Москвитина Н.С. и др.). Томск: Томский государственный университет: 243-244.

5) Антоневич А.Л., Ерофеева М.Н., Павлова Е.В., Найденко С.В., 2006. Внутривыводковая асимметрия в социальном поведении евразийской рыси. // В сб.: «Биология – наука XXI века». 10-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 2006 г: с. 251.

6) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2006. Особенности социального поведения дальневосточных лесных котов при однополых ссаживаниях. // В сб.: «Биология – наука XXI века». 10-я международная Пущинская школа-конференция молодых ученых. 2006 г: с. 301.

7) Павлова Е.В., Евгенов К., Найденко С.В., 2006. Уровень кортизола в экскрементах как индекс физиологического состояния дальневосточного лесного кота. // Актуальные проблемы экологии и эволюции. Отв. Ред. Рожнов В.В. М, КМК: 209-212.

8) Павлова Е.В., Рожнов В.В., Чернова И.Е., Найденко С.В., 2007. Разработка неинвазивного метода диагностики беременности у соболей (Martes zibellina). Биология – наука XXI века. XII-я молодежная школа-конференция. Пущино, 29октября-1 ноября 2007 г.

9) Павлова Е.В., 2007. Неинвазивный мониторинг глюкокортикоидов в экскремнтах дальневосточного лесного кота. В сб.: «Териофауна России и

сопредельных территорий»(Отв. ред. Рожнов В.В.), Москва, КМК: 366.

10) Pavlova E., Naidenko S., 2007. An effect of social contacts on the hormonal status of individuals in males of far-east wildcats (Prionailurus bengalensis euptilura). Hystrix It. J. Mammal., Suppl.: 338.

11) Pavlova E. V., Naidenko S.V., 2007. Non-invasive fecal monitoring of glucocoticoids in Far-East wildcat. In: 6th International Zoo and Wildlife research Conference on Behaviour, Physiology and genetics. 7th-10th October, Berlin, Germany: 155.

12) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2007. Особенности социальных отношений и их связь с гормональными статусом особей у дальневосточного лесного кота в период предгона. В сб.: «IV Всероссийская конференция по поведению животных». Москва, КМК: 402-403.

13) Павлова Е.В., 2008. Роль индивидуальной разнокачественности особей во взаимодействиях дальневосточного лесного кота *(prionailurus bengalensis euptilura)* // Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Отв. Ред. Рожнов В.В. М, КМК: 283-285.

14) Pavlova E. V., Naidenko S.V., 2009. Interection among life history stage, social behavior and HPA activity in female far-east wildcats. In: 31th International Ethological Conference. 19th-24th August, Rennes, France: 361.

15) Pavlova E. V., Naidenko S.V., 2009. Behavioral and hormonal analysis of males relationships in far-east wildcat : winners to pay. In: 7th International Conference on behavior, physiology and genetics of wildlife. 21th-24th September, Berlin, Germany: 147.

16) Павлова Е.В., Найденко С.В., 2009. Взаимосвязь между эндокринной активностью и поведением у самок дальневосточного лесного кота // Поведение и поведенческая экология млекопитающих. Материалы 2-й научной конференции. М.: Тов-во научных изданий КМК: 132.