

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Пензенский педагогический институт им. В.Г. Белинского

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Зоология и экология»

Направление подготовки
Магистерская программа

06.04.01 Биология
Молекулярная биология и
генетика

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему:

**«ГЕНЕТИКА ПОВЕДЕНИЯ И РОДСТВЕННЫЙ ОТБОР В
ГОРОДСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЗДОМНЫХ КОШЕК»**

Студент _____ Тархова Яна Андреевна
(подпись, дата)

Научный руководитель _____ Титов С.В.
(подпись, дата)

Нормоконтролёр _____ Быстракова Н.В.
(подпись, дата)

Рецензент доц. каф. БТБ ФГБОУ ВО «ПГТУ» _____ Кузьмин А.А.
(должность, место работы) (подпись, дата)

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от _____ № ____)

Заведующий кафедрой _____ Титов С.В.
(подпись)

Работа защищена с отметкой _____ (протокол заседания ГЭК от _____ № ____)

Секретарь ГЭК _____ Быстракова Н.В.
(подпись)

Пенза, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1. Домашняя кошка в городе	6
1.2. Геном млекопитающих	15
1.2.1. Ядерный геном	16
1.2.2. Митохондриальный геном	18
1.3. Изучение полиморфизма в популяции Домашней кошки	20
1.3.1. Полимеразная цепная реакция	21
1.3.2. Праймеры	23
1.3.3. Молекулярно-генетические маркеры и ПЦР-маркеры	24
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	30
ГЛАВА III. ЭКОЛОГИЯ И ПОВЕДЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ БЕЗДОМНЫХ КОШЕК Г. ПЕНЗА	38
3.1. Состав пространственных группировок кошек	38
3.2. Сезонная динамика пространственных группировок кошек	39
3.3. Экология и поведение номадных кошек	40
3.4. Половой, возрастной и породный состав популяций бездомных кошек г. Пенза	42
3.5. Репродуктивная экология и поведение	43
ГЛАВА IV. ГЕНЕТИКА ПОВЕДЕНИЯ И РОДСТВЕННЫЙ ОТБОР В ГОРОДСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЗДОМНЫХ КОШЕК Г. ПЕНЗА	47
ВЫВОДЫ	50
ЛИТЕРАТУРА	52
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Результаты учетов популяций бездомных кошек г. Пенза	59
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Распределение кошек на участках	61

ВВЕДЕНИЕ

В городских условиях, как особых искусственных биотопах, формируются особые условия для существования животных. От естественной среды, находящейся за границами города, отличается и микроклимат городской среды. Скопление высотных зданий препятствуют порывам ветра и создают искусственное постоянство температурного и влажностного режимов. К тому же сооружения и покрытые асфальтом дороги в светлое время суток усиленно поглощают солнечное тепло, а после захода солнца активно продуцируют его обратно, во внешнюю среду. Именно по этим причинам, микроклимат города с большим населением обычно теплее, чем климат за его пределами, где отсутствует селитебная застройка. Чем больше жителей населяет город, тем больше образуется мусора и отходов. Образующиеся в результате жизнедеятельности человека отходы продуктов питания являются порой основным источником пищи для огромного количества видов животных. Таким образом, городская среда формирует оптимальные условия обитания как для синантропных представителей фауны, которых человек вывел для эстетических и культурных целей и использования в хозяйстве и быту, так и для живущих на этой территории диких животных.

Один из самых многочисленных видов домашних животных является домашняя кошка *Felis catus* (Linnaeus, 1758). Ее можно увидеть как сидящую на окне многоэтажного дома, так и самостоятельно прогуливающуюся вдоль проезжей части. Наблюдающееся разнообразие эколого-социального статуса особей данного вида предопределяется, прежде всего, масштабным искусственным разведением и естественным воспроизводством популяции в городах, селах и других крупных населенных пунктах.

Вслед за численным ростом популяции домашней кошки в населенных пунктах, можно заметить и нарастающий морфологический полиморфизм особей, проявляющийся в различиях в окраске, пушистости и просто

экстерьерных особенностях. Быстрое увеличение количества кошек на городских улицах приводит к увеличению их разнообразия и появлению новых признаков, которые можно с успехом исследовать.

На современный момент генетический полиморфизм чаще всего изучается с помощью молекулярно-генетических методов, основанных на клонировании определенных участков ДНК в результате полимеразной цепной реакции (ПЦР, PCR). Анализируя изменчивость определенных участков молекулы ДНК, мы можем выявлять фило- и онтогенетические связи особей и изучать особенности внутривидовых форм (Мальцев и др., 2015).

Целью работы является изучение генетических и экологических особенностей популяции бездомных кошек в г. Пенза, а также попытка выявления родственных связей между образующими их особями.

Для достижения цели, заявленной в этой работе, были поставлены следующие задачи:

- 1) оценить размеры популяции *Felis catus* на 3 модельных площадках г. Пензы (многоэтажная застройка, застройка частного сектора и промышленная зона) и изучить особенности заселения кошками городских биотопов;
- 2) проследить динамику численности и состава локальных популяций вида и выявить влияющие на это факторы;
- 3) исследовать особенности репродукции и поведения кошек в пространственных группировках в условиях городской среды;
- 4) провести апробацию специфических для домашней кошки микросателлитных молекулярно-генетических маркеров;
- 5) исследовать полиморфизм особей в популяциях *Felis catus* г. Пензы.

Актуальность предлагаемой работы в первую очередь определяется широким диапазоном экологических проблем, возникающих из самого факта присутствия бездомных кошек в городской среде. Среди них следует выделить эпидемиологические и эпизоотологические (заражения бродячими животными инфекционными заболеваниями человека и домашних кошек) и психологические (чувство дискомфорта от вида брошенных животных и их постоянного присутствия, связанного с этим чувством случаи живодерства или, наоборот, жалости, которую часто проявляют люди, а также и все вытекающие последствия от этих соответствующих действий) проблемы. Другими, не маловажными, проблемами является и те факты, что кошка часто выступает источником дорожно-транспортных происшествий и является причиной ущерба, наносимого естественной фауне экосистемы города. Количество особей в популяции домашней кошки с каждым годом неуклонно растет, вследствие чего появляется множество сложностей, исследованию которых также посвящена эта работа.

Генетика поведения, и родственный отбор в локальных группах особей и полиморфизм особей *Felis catus* на сегодняшний день изучены еще недостаточно. Полученная на основе применения молекулярно-генетических методов информация фрагментарна и малочисленна. Поэтому изучение городских популяций бездомных кошек, изменчивости особей, их формирующих, и внутривидовых филогенетических взаимоотношений представляет особый научный интерес.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Домашняя кошка в городе

Кошачьи (*Felidae*) образуют семейство млекопитающих (*Mammalia*), относящееся к отряду хищных (*Carnivora*). В старой классификации оно включало в себя три подсемейства: большие кошки (*Pantherinae*), малые кошки (*Felinae*) и гепарды (*Acinonychinae*). По данным молекулярно-генетических исследований, в результате которых было обнаружено близкое родство гепардов с пумами, их отнесли к подсемейству малых кошек. Поэтому в настоящее время кошачьи делятся только на два подсемейства *Pantherinae* и *Felinae*.

Представители семейства Кошачьих являются настоящими хищниками, и поэтому они хорошо приспособлены к добыванию животной пищи почти всеми типичными способами – скрадыванием, подкарауливанием, а также преследованием своих жертв. Кошачьи, как наиболее специализированные охотники из всего отряда Хищных, могут убивать добычу, как своего размера, так и намного большего. Питание падалью для них не характерно, поэтому они поедают исключительно животных, убитыми ими самими. Кошки охотятся чаще всего в ночное время. От характерного для них плотоядного образа жизни сформировались и определенное строение тела, и развились специфические морфологические особенности (Мерзликин, 2003).

Ареал семейства Кошачьих очень обширен. Эти животные населяют все наземные среды обитания, кроме полярных льдов и безлесной тундры. Большинство видов кошек приурочено к тропическим и субтропическим поясам, значительно реже они привязаны к умеренным климатическим широтам. Эти животные встречаются на всех континентах. Домашние и бездомные кошки (*Felis catus*) распространены также повсеместно, как и их дикие сородичи. Дикие виды кошек отсутствуют в Австралии, Новой

Зеландии, Вест-Индии, Японии, на Мадагаскаре и ряде океанических островов.

Представители семейства Кошачьих имеет чрезвычайно сходное строение. В отличие от хищников семейства псовых (*Canidae*) у них ярко выражены короткая пасть и специфическая зубная система, приспособленная к увеличению силы укуса. Отмечается уменьшение числа или частичная потеря молярных (крупных жевательных) и премолярных (малых жевательных) зубов. Хищнический образ жизни способствовал появлению у них бугорчато-режущих зубов, предназначенных для срезания мяса (Кучерук, 2000). Для кошек характерны длинные и конические клыки, с помощью которых они прокалывают и разрывают мягкие ткани добычи, надежно удерживают ее, прикладывая при этом минимальные усилия. Молочные зубы прорезаются в возрасте 4–5 недель. Смена молочных зубов происходит с 5 до 9 месяцев (Тутт, 2015).

Следствием хищнического образа жизни также являются и острые когти. Несмотря на их наличие, кошки являются пальцеходящими млекопитающими, то есть при ходьбе они опираются только на пальцы лап. Когти способны втягиваться, в результате чего они не мешают им преследовать добычу в быстром темпе бегом. У большинства кошек на задних лапах имеется по 4 пальца, на передних – по 5, только четыре из которых имеют подушечки. Пятый палец несколько отстоит от линий лапы, по этой причине не касается земли и не имеет подушечки. Иногда у кошек встречается полидактилия, генетическая многопальцевая мутация. Таких особей называют «кошками Хемингуэя», потому что у этого американского писателя жила целая стая кошек с шестью пальцами.

Есть и ряд других морфологических приспособлений, позволяющих кошкам быть искусными охотниками. К ним относятся мощные конечности, которые позволяют захватывать и удерживать добычу, даже крупных размеров. Часто окраска шерсти у кошек имеет маскировочный характер,

благодаря которому они могут выслеживать жертву и незаметно нападать на нее. Помимо этого, у многих видов кошек отмечаются большие глаза и хорошее зрение, настроенное хорошо видеть в темноте. В этом значительно помогает тапетум, особый слой сосудистой оболочки глаза, который содержит светоотражающий пигмент. Именно из-за него глаза кошек зловеще светятся ночью. Следует также отметить крупные хорошо вращающиеся уши и шершавый, как наждачная бумага, язык, благодаря которому животные отделяются мясо добычи от костей.

Превалирующей репродуктивной стратегией у Кошачьих является полигиния, то есть самец за один сезон размножения может спариваться с несколькими самками (Магда, 1979). Альтернативной репродуктивной стратегией в этом семействе хищных млекопитающих является промискуитет. Длительность периода готовности самок к спариванию составляет 1–21 день. Эта готовность может повторяться несколько раз за короткий период, пока самка не окажется оплодотворенной. Готовность к размножению самки выражают с помощью пахучих маркировочных меток, вокализации и беспокойного поведения. Потенциальные партнеры замечают это, и начинается конкуренция между самцами. Происходит демонстрация силы, бои и непосредственный физический контакт с самкой, например, трение об нее (Меннинг, 1982; Фогл, 1999).

В городских условиях проявление полового поведения, а также течка кошек приносит дискомфорт хозяевам животных. Для подавления половой активности обычно используют хирургические методы (возможны к применению не всегда) и консервативные способы, связанные с применением гормональных контрацептивов (Брохин, 1997). Эта проблема исследовалась в г. Москве в 2014 году (Зейналов, Мукасеев, Пархоменко, 2014). В работе были изучены влияния гормональных препаратов на репродуктивную систему кошек и развеяны мифы и страхи, связанные с их применением, приведены веские аргументы в пользу использования гормональных

контрацептивов (например, препарата «Секс Барьер»), доказаны их безопасность и эффективность при соблюдении четко установленных правил.

У малых кошек может в течение года можно ожидать 1–3 помета. Интервал между пометами зависит от степени взросления котят, смертности детенышей (эструс, как правило, наступает через несколько недель после потери помета) и конкретных условий обитания, в том числе и от обеспеченности пищевых ресурсов. Обычно в помете насчитывается 2–4 котенка, реже размеры его могут достигать 8 котят. Беременность кошек в зависимости от видовой принадлежности длится около двух месяцев (Симпсон, 2005).

Успешность прохождения беременности у кошек изучали в Оренбургском государственном аграрном университете с использованием современных методов диагностики (Филиппова, Сорокин, 2008). Исследователи использовали ультразвуковую визуализацию половых органов как способ оценки протекания беременности. В работе было доказано, что ультрасонография помогает диагностировать не только заболевания животных (Барр, 2006), но и позволяет определить состояние эмбрионов. Такой способ слежения за периодом беременности представляет собой объективный метод для получения информации, необходимой для выбора тактики родоразрешения.

Котята рождаются беззащитными, слепыми и глухими. За ними выкармливает молоком, активно ухаживает, защищает и воспитывает самка. Выкармливание молоком длится, как правило, месяц, после чего пищевой рацион расширяется другими типами твердой пищи. Достижение половой зрелости у кошачьих зависит от сочетания различных факторов и наступает в период от 4 до 12 месяцев. Продолжительность жизни кошек варьирует от 10 до 20 лет.

По данным ученых, геном *Felis catus* образован 19587 генами, которые кодируют белки, и 9438 некодирующими участками ДНК. Последние отвечают за «неинформативные» типы РНК, такие как, транспортные, и рибосомные и разнообразные регуляторные РНК. Работа нуклеиновых кислот последнего типа РНК у кошек плохо изучена (Бородин, 2011).

Кроме отмеченных выше генов, кодирующих белки, у кошек, как и у других эукариотических организмов, имеются псевдогены, то есть не несущие какой-либо функциональности сегменты ДНК. Выглядят они так же, как и функциональные, но не имеют интронов и промоторов, которые являются стартовой площадкой транскрипции. К такой «сломанной» мутациями группе относятся и следы деятельности ретровирусов, поражающих позвоночных. Ретровирусы, относящиеся к семейству РНК-содержащих вирусов. Ретроэлементы этих вирусов составляют около одной трети генома кошек. По сравнению с человеком это не так много, так как у человека ими занято до половины всего генома.

Гены отвечают за различные признаки: как внутренние, так и наружные; как за поведение, так и за внешний вид. Во внешнем виде, фенотипе, особенно выделяется особенности шерсти животного – ее выраженность, длина и окрас. Именно окрас и гены, отвечающие за него, активно изучаются учеными. Например, в 2011 году в г. Тара и с. Усть-Ишим Е.С. Березина изучала полиморфизм и генетику окрасов двух популяций беспородных представителей *Felis catus* (Березина, 2011). В результате исследования выяснилось, что среди домашних кошек преобладают особи с короткой шерстью и зелеными глазами. Преобладающими окрасами оказались пегий и дикий (агути). Выявленные частоты их аллелей показали, что генетически эти две популяции друг от друга не отличаются, что указывает на общность их происхождения.

Генетические портреты кошек представлены в исследовании, которое проводили Г.Р. Друзь и С.А. Зятьков в г. Гомеле в 2015 году (Друзь, 2015).

Они определяли уровень урбанизации кошек с использованием модели Дж. Кларка (Clark, 1975). Эта модель, разработанная и апробированная в г. Глазго (Великобритания), показывает, что особи, имеющие черную окраску, лучше приспособляются к городской среде. По данным авторов в индустриальных районах города кошек с таким окрасом значительно больше, чем в фешенебельных. Чуть меньше было выявлено кошек носителей аллели мраморной окраски, которая позволяет использовать эффект затемнения. Светлый же и рыжий оттенки шерсти демаскируют животных. В результате исследователи экспериментально подтвердили достоверность модели Дж. Кларка и выяснили условия ее применения при исследованиях популяций кошек (уровень индустриализации городов).

Генетическую структуру популяции кошек также изучали Н.М. Громыко и Н.А. Лебедев в 2018 году в г. Мозырь Республики Беларусь (Громыко, 2020). По результатам их исследований установлено, что в городских популяциях наиболее распространена рецессивная аллель черного окраса, а наименее – доминантная аллель белого окраски. Эта особенность обусловлена условиями среды, так как темный оттенок шерсти позволяет особи более успешно скрыться, а светлый, напротив, сильно демаскирует. К тому же кошки с белым окрасом часто страдают глухотой, что также снижает их выживаемость в условиях городской среды.

Следует сказать и о поведенческих особенностях. Что касается территориальности, то кошки обычно одиночные животными, однако иногда они могут объединяться в группы.

Особенности пространственной структуры кошек изучали в Барнауле в 2002–2009 гг. (Антоненко, 2011). Под наблюдением находились 366 породистых и беспородных кошек. По данным автора в популяции было отмечено как скученное, так и случайное распределение особей в пределах квартиры. Было выявлено деление пространства обитания на ярусы: верхний, средний и нижний. Нижний и средний ярусы (преимущественно на открытом

пространстве) занимали особи более высокого социального ранга. На верхнем и в укрытиях нижнего яруса обитали кошки с низким социальным статусом. Зависимость пространственного распределения кошек от породной принадлежности не была выявлена. Анализ сельской местности, участков пригородной зоны и территорий частного сектора показал, что, как и в квартире, распределение домашних кошек в их пространстве может быть и скученным, и случайным.

В следующей работе на эту тему Т.В. Антоненко оценивала территориальную активность кошек. Исследования проводили с мая 2004 г. по август 2008 г. в г. Барнаул (Антоненко, 2009). В результате исследований был выявлен температурный оптимум (19–25 °С), при котором кошки наиболее комфортно себя чувствуют в весенне-летний период. Также была доказана зависимость интенсивности активности кошек от конкретного времени суток. Наиболее активными на своих участках животные были в утренние (8:00–10:00) и вечерние (17:00–22:00) часы.

В группах кошек, как и в других случаях, стайных отношениях животных, отмечается выраженная иерархия особей. В таких группах легко выделяются доминантные и субдоминантные особи (Шовен, 1972; Соколов, 1989; Чадаева, 2004). Особенности иерархии и различные стороны поведения особей во внутривидовых группировках кошек изучали в недавнем времени в г. Барнауле (Антоненко, 2011). В работе была выявлена прямая зависимость типа агрессивных взаимодействий особей от иерархического ранга каждой из них. Доминантные особи, как правило, использовали «легкие» ритуализированные формы агрессии (например, прямой взгляд), субдоминантные в таких же ситуациях в большей степени были склонны к использованию «жестких» формы агрессивности (удары лапой).

Персонализированное пространство, территорию, кошки метят мочой и секретами лицевых желез. Кроме этого непосредственные границы своего участка они обозначают следами на стволах деревьев, воникающих при их

царапаний. Общение особей друг с другом у кошачьих происходит с помощью специфических движений и сигналов (Leyhausen, 1973; Зорина, 2002; Крученкова, 2011). Особенности внутривидовой коммуникации кошек были изучены в их популяциях в г. Омске (Березина, 2013). В исследованиях были описаны 57 доброжелательных сигналов, т.е. примирения, и 14 сигналов угрозы. К сигналам примирения автор отнес облизывание мочки носа или морды, зевание, пригибание головы, чесание, грумминг, аллогрумминг, мнимое выкусывание «блох», подергивание шкурой на спине, махи хвостом из стороны в сторону, обнюхивание, замедление темпа движения, движение по дуге (уход и приближение), демонстрация непосредственного подчинения и т.п. Сигналами угрозы, по данным наблюдений, являются напряжение всех мышц, вздыбливание шерсти по телу (на загривке, по хребту или хвосту), высоко поднятая голова, напряженный прямой взгляд, понижающееся рычание, обнажение передних зубов при шипении, прямое движение вперед и другие.

Обсуждая использование кошками хеометок и хеокоммуникации, следует упомянуть исследования Т.В. Маланьиной и В.В. Вознесенской о влиянии химических сигналов *Felis catus* на репродукцию серой крысы. В результате проведенных опытов было показано, что феромон L-фелинин, аминокислота, содержащаяся в моче кошек, подавляет размножение этих грызунов. При этом, авторы отмечают, что этот эффект был более выражен в осенне-зимний период по сравнению с весенне-летним (Вознесенская, 2000).

Особенности популяционной структуры населения *Felis catus* в городских условиях были подробно изучены в исследованиях, которые проводились в районе г. Москвы Северное Тушино (Рожнов, 2000). На модельной площадке было зарегистрировано обитающих там 67 особей. Из них 13 % оказались хозяйскими кошками, которых выпускают погулять, а 87 % – бездомными животными. Эти данные указывают на высокую вероятность регулярных активных контактов особей из обеих групп, которая

в последствие была подтверждена наблюдениями. Регулярные слежение за кошками на модельных площадках позволили проследить характер их перемещений. В результате было выяснено, что эти животные по большей части оседлы и прикреплены к определенной территории. Из 67 особей половая принадлежность была определена для 58 кошек (рис. 1). В территориальной группировке кошек было выявлено преобладание самцов. Эти данные могут свидетельствовать как о реальном соотношении полов в группировке, то есть указывать на высокую плотность самцов в популяции, так и указывать на преобладающую частоту встречаемости котов, что связано, вероятно, с особенностями их образа жизни (женские особи больше находятся в убежищах, особенно в момент выращивания потомства). По возрастному составу группировки было отмечено преобладание особей более старший поколений (97 %). Анализируя полученные автором данные можно прийти к выводу о том, что изученная популяция бездомных кошек обновляется очень медленно, именно об этом свидетельствует незначительное число обнаруженных котят (3 %), доживающих до половозрелости.

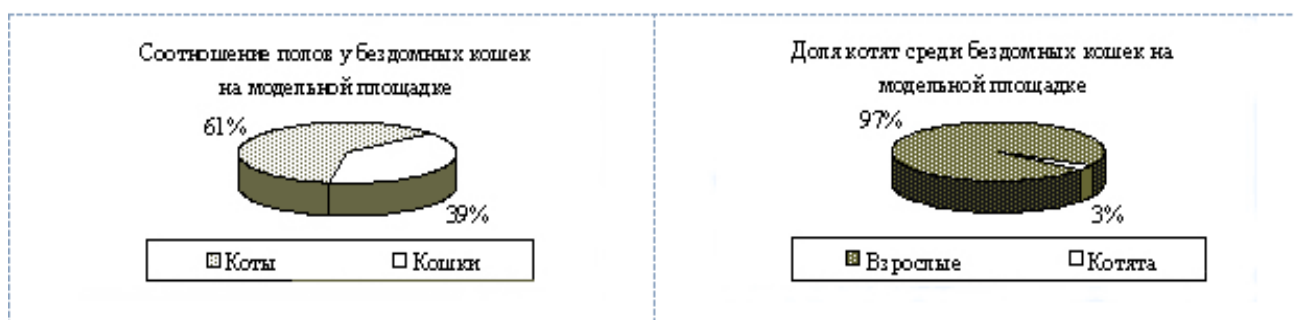


Рис. 1. Соотношение полов и возрастов в популяции бездомных кошек г. Москва (по Рожнову, 2000)

При описании особенностей биологии и экологии домашних кошек следует упомянуть и о высокой их приручаемости. Они легко привязываются к хозяину и постоянному месту жительства. У котят импринтинг происходит проще, с возрастом привыкание происходит сложнее. Для взрослых особей смена хозяина сказывается достаточно сильно. В начале процесса

привыкания к новому хозяину оно прячется и сторонится человека, но спустя некоторое время привыкает, а со временем рефлекс на нового хозяина закрепляется. У кошек отмечается довольно сильно выраженный хоминг, то есть способность после миграций возвращаться на свой участок обитания или дом. Попытки человека увезти животного на большие расстояния и бросить вдали от дома часто не венчаются успехом. Истории о возвращении кошек после перемещения их на большие расстояния правдивы и впечатляют.

Исходя из всего сказанного, можно заключить, что *Felis catus*, как биологический вид и яркий представитель отряда хищных млекопитающих, изучается уже давно, однако некоторые поведенческие и генетические особенности популяции кошек, существующих в городских условиях, остаются не изученными. Социальные проблемы, возникающие по причине существования домашней кошки в городских биотопах, начали рассматривать относительно недавно, что подтверждает актуальность данной работы.

1.2. Геном млекопитающих

Геном представляет собой совокупность наследственного материала, который содержится в гаплоидном наборе хромосом. Геном для каждого вида организмов индивидуален, то есть видоспецифичен. Он является набором генов, формирующих видовые признаки и свойства организмов в процессе онтогенеза, но возникших в ходе филогенеза. Ганс Винклер предложил термин "геном" в 1920 году, и в то время никто не знал, как наследуемые признаки попадают в следующее поколение.

Признаки проявляются благодаря хромосомам в половых клетках, которые представляют собой смесь хромосом, унаследованных нами от матери и отца. Но признаки, которые в конечном итоге появляются у потомства, не всегда могут быть одинаковыми для сочетания наборов

хромосом родителей, так как в процессе производства половых клеток могут происходить мутации в последовательностях родительских ДНК. Белки формируют структуру тела, органы и ткани, а также контролируют химические реакции и переносят сигналы между клетками. Если ДНК в клетке мутирует, это может привести к синтезу аномального белка, который может нарушить обычный ход процессов в организме и привести к заболеванию и даже к смерти.

Главная функция ДНК (ее содержание в клетке, как правило, увеличивается с увеличением сложности организма и возрастом генетической информации) является хранения и первоначальная реализация наследственной информации. Для реализации этой функции ДНК в клетке требуется присутствие множества других компонентов, таких как белки, ферменты и РНК. Они могут на стадии синтеза белка, например, «выключать» или «включать» унаследованные гены. Окружающая среда также оказывает ощутимое влияние на результат реализации наследственной информации.

Говоря о содержании ДНК в клетке, не нужно рассматривать ее как показатель функциональной и структурной сложности организма. Содержание ДНК в диплоидном организме по большей части не зависит от типа клетки и ткани, которую она составляет (Инге-Вечтомов, 1983). Таким образом, чем сложнее организм и его эволюционная организация, тем больше будет ДНК в клеточных ядрах, а также митохондриях данных организмов (Дубинин, 1986).

1.2.1. Ядерный геном

Ядро – органоид эукариотической клетки, имеющий две мембраны. В нем заключена генетическая информация клетки (большая ее часть). Гены, содержащиеся в хромосомах, составляют ядерный геном (Крюков, 2006).

Размер ядерного генома чаще всего измеряется как количество пар оснований (в двух нитях двойной спирали) ДНК, присутствующих в нереплицированном гаплоидном ядре в контексте генома или молекулярной биологии. Размер генома также может быть измерен как масса ДНК, присутствующей в ядре (как пикограммы, пг, 10^{-12} г, которые могут быть преобразованы в пары оснований путем деления на среднюю массу нуклеотида, поэтому 1 пг эквивалентен некоторым 985 миллион пар оснований, Мбп).

Ядерные геномы эукариот различны по размерам (Рубцов, 2014). Самый маленький геном эукариот обладает длиной менее десяти миллионов пар нуклеотидов, а самый большой геном – сто тысяч мегабаз. Одна мегабаза – один миллион нуклеотидных пар (Боголюбова, 2018).

Наименее сложные организмы имеют гены, упакованные теснее. У таких организмов последовательности нуклеотидов, которые разделяют гены, меньше, чем сложных (Дубинин, 1986).

В ядерных генах содержатся повторяющиеся последовательности. Количество геномных повторов участвует в определении компактности генома и играет в этом основную роль (Георгиев, 2016).

Вариабельность генома выражается в разном количестве хромосом (Гаврилов, 2015).

Хромосомы – это структуры, находящиеся в ядре эукариотической клетки. В них содержится большая часть наследственной информации. Хромосомы предназначены для её хранения, реализации и передачи (Альбертс, 2012).

Каждый эукариотический вид имеет характерное число хромосом. У видов, размножающихся бесполом путем, число хромосом одинаково во всех клетках организма. Среди организмов, размножающихся половым путем, число хромосом в клетках тела (соматических) диплоидно ($2n$; пара каждой

хромосомы), вдвое больше гаплоидного ($1n$) числа, найденного в половых клетках. Гаплоидное число образуется в процессе мейоза. Во время оплодотворения две гаметы объединяются, чтобы произвести зиготу, единственную клетку с диплоидным набором хромосом.

Определяющей чертой любой хромосомы является ее компактность. Компактность хромосом играет важную роль в организации генетического материала во время деления клетки и позволяет ему вписываться в такую структуру, как ядро клетки. Так как хромосомы короче, чем ДНК, в них входящие, то нужна система упаковки, которая влияет на экспрессию отдельных генов и реализацию генетической информации.

Существуют две группы белков, участвующих в упаковке ДНК: гистоновые и негистоновые белки (Булатова, 2017). Их наибольшая часть – гистоны, то есть класс ядерных белков, осуществляющий две основные функции: регуляция ядерных процессов и участие в упаковке нитей молекулы ДНК. Известно пять основных типов гистонов: H1, H2A, H2B, H3 и H4. H2A, H2B, H3 и H4 содержатся в составе глобулы нуклеосомы. Нуклеосомные гистоны являются наиболее консервативными белками, чья последовательность аминокислот имеет почти стопроцентную гомологию у эукариот. H3 и H2A – наиболее изученные гистоны (Ченцов, 1995).

Негистоновые белки – все белки ядра, помимо гистонов. Участвуют в упаковке ДНК. К негистоновым белкам относят HMG-белки и архитектурные белки, принимающие участие в формировании неактивных хроматиновых структур (HP1, MENT, MeCP2) (Гаврилов, 2015).

1.2.2. Митохондриальный геном

Митохондриальная ДНК (мтДНК) представляет собой органелловую нуклеиновую кислоту, встречающуюся в митохондриях (Сукерник, 2002).

Митохондрии являются типичными органеллы эукариотической клетки. Они способны преобразовывать химическую энергию, полученную

из пищи, в аденозинтрифосфат (АТФ), то есть форму, которую клетки уже могут использовать (Булатова, 2010).

Митохондриальная ДНК содержит 37 генов, все из которых необходимы для нормальной функции самих митохондрий. Часть генов митохондрий дает информацию по созданию ферментов, участвующих в окислительном фосфорилировании. Окислительное фосфорилирование – это процесс, который использует кислород и простые сахара для создания аденозинтрифосфата (АТФ), основного источника энергии клетки. Остальные гены дают информацию для создания молекул, называемых транспортной РНК (тРНК) и рибосомной РНК (рРНК), которые являются химическими аналогами ДНК. Эти типы РНК помогают собирать белковые строительные блоки (аминокислоты) в функционирующие белки. К тому же в мтДНК есть регион, содержащий сайты репликации и инициации, а также участки некодирующие информацию – Д-петля (D-loop). Большая часть последовательностей мтДНК уникальна, то есть не повторяется (Freeland, 2005).

Митохондриальная ДНК животных изменяется намного быстрее, чем ядерная ДНК, поэтому является основой для филогенетики и эволюционной биологии. Это позволяет устанавливать историческую взаимосвязь между популяциями. Мутации, то есть нарушения, в митохондриальных генах часто являются причиной наследственных изменений (Wang, 2012).

Маркеры мтДНК широко используются в молекулярно-генетических исследованиях (Переверзева и др., 2013). На это есть ряд причин. Одна из них – это то, что с мтДНК просто работать. Небольшой размер с консервативно расположенными генами обозначает то, что универсальные праймеры будут клонировать участки митохондриального генома в широком диапазоне видов как позвоночных, так и беспозвоночных. Данные можно получить без особо сложных знаний о последовательности митохондриального генома вида (Hinten, 2003).

Во-вторых, у мтДНК очень высок мутационный уровень, хотя и сохраняется общее расположение генов в геноме. Большая частота мутаций в мтДНК объясняется побочными продуктами дыхания и отсутствием системы репарации. Несмотря на причины, высокие уровни мутаций означают, что мтДНК показывает высокий уровень полиморфизма и, следовательно, часто выявляется множество генетических линий, как внутри, так и между популяциями (Переверзева, 2009).

В-третьих, важным свойством мтДНК является отсутствие рекомбинаций, то есть потомство будет иметь такой же геном, как материнская особь (Альбертс, 2012). Поэтому гены мтДНК являются наиболее часто используемыми маркерами при изучении материнских линий. Митохондриальная ДНК передается от материнского организма потомству. Имеется в виду, что митохондриальные линии могут быть определены более простым способом, чем ядерные, которые при половом размножении наследуются от двух родителей и подвергаются рекомбинации. Митохондриальные линии легко отслеживаются в популяциях (Hinten, 2003).

Таким образом, уникальные свойства мтДНК – цитоплазматическое наследование, отсутствие рекомбинаций и высокая скорость мутирования, оказались полезными в молекулярно-генетических исследованиях (Алтухов, 2002).

1.3. Изучение полиморфизма в популяции домашней кошки

Полиморфизм – термин, обозначающий разнообразие в пределах вида, различие в окраске, размерах и поведении. Там, где мономорфизм означает наличие только одной формы, а диморфизм означает наличие двух форм, термин полиморфизм является очень специфическим термином в генетике и биологии. Термин относится к множественным формам гена, которые могут существовать.

Полиморфизм способствует увеличению разнообразия в популяции и сохраняется в течение многих поколений, потому что ни одна из полиморфных форм не имеет полного преимущества или недостатка перед другими с позиций естественного отбора.

Появление новых признаков у кошек, как и у других животных, может происходить естественным и искусственным путем. Домашним питомцам человек может подбирать партнера для спаривания, чтобы получить потомство с определенными характеристиками, например, котят с короткими ушами или лапами, то есть полиморфизм происходит искусственным путем. В популяциях бродячих животных популяционное разнообразие проявляется естественным образом при случайном скрещивании. Поэтому полиморфизм у особей, постоянно обитающих на улице, изучить сложнее. Для этого используются различные генетические исследования. Например, молекулярно-биологические методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР).

1.3.1. Полимеразная цепная реакция

Полимеразная цепная реакция (ПЦР, PCR) – это экспериментальный метод, применяемый в молекулярной биологии (Календарь, 1995). Данный метод является эффективным и экономичным молекулярным инструментом для копирования или амплификации небольших сегментов ДНК или РНК. ПЦР сочетает в себе принципы комплементарной гибридизации нуклеиновых кислот с принципами репликации нуклеиновых кислот, которые применяются многократно в процессе многочисленных циклов. Это приводит к экспоненциальному производству специфических целевых последовательностей ДНК/РНК в 10^7 раз за относительно короткий период.

Этот метод *in vitro* позволяет амплифицировать единственную копию мишени нуклеиновой кислоты с помощью двух синтетических олигонуклеотидных «праймеров», которые связываются с геномной последовательностью мишени и с них начинается цепь нуклеотидов,

синтезируемая Taq-полимеразой (термостабильной ДНК-полимеразой). Для амплификации целевой последовательности используется автоматизированный процесс повторных циклов (обычно от 25 до 40) денатурации матричных ДНК (при 94°C), отжига праймеров до их комплементарных последовательностей (50°C) и удлинения праймеров (70°C).

ПЦР был первоначально разработан в 1983 году американским биохимиком и нобелевским лауреатом Кэри Маллисом. Полимеразная цепная реакция строится на 20-40 повторных циклах, где температура меняется в каждом цикле. Цикл начинается с одного температурного шага (называемого удержанием) при высокой температуре (>90 градусов по Цельсию), а затем следует одно удержание в конце для расширения конечного продукта или для кратковременного хранения.

Компоненты полимеразной цепной реакции (ПЦР):

- ДНК-матрица (образец ДНК, содержащий целевую последовательность для амплификации);
- Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (ДНТФ);
- Буфер ПЦР;
- Праймеры (прямой и обратный);
- Taq-полимераза;
- Ионы Mg^{2+} (чтобы полимераза работала);
- Средовые реакционные агенты – BSA (бычий сывороточный альбумин).

Этапами ПЦР являются:

1. Денатурация (разделение цепей): разделение двух комплементарных цепей ДНК с водородной связью на пару одноцепочечных полинуклеотидных молекул путем нагрева (от 94°C до 96°C).

2. Отжиг праймеров: температура снижается (45–60 °C), поэтому праймеры могут прикрепляться к одноцепочечным нитям ДНК.
3. Элонгация (синтез новой ДНК): начинается с отожженного праймера и проходит вдоль нити ДНК (72°C).

После завершения первого цикла процесс повторяется циклическим возвратом к первой температуре реакции и начинается следующий цикл денатурации, отжига и расширения (*автоматический процесс в термоциклере*). Этот 3-ступенчатый температурный цикл повторяется примерно 30 раз, что приводит к экспоненциальной амплификации последовательности гена. Амплифицируемый участок может достичь до миллиардов копий, если реакция эффективна. Происходит это потому, что новая ДНК, получаемая в каждом цикле, может служить матрицей в следующем цикле. Существует много копий праймеров и много молекул ДНК-полимеразы, поэтому количество молекул ДНК может удваиваться в каждом цикле ПЦР (Ito, 2015).

ПЦР является надежным методом в молекулярной биологии. Способность амплифицировать определенные участки генома позволяет развиваться данной дисциплине (Erlich et al., 1991).

1.3.2. Праймеры

Рассмотрим подробнее праймеры. Это один из главных компонентов набора ПЦР. Праймеры – искусственно синтезированные олигонуклеотиды, которые обычно имеют размер от 15 до 30 нуклеотидов, идентичные соответствующим участкам ДНК-мишени. Праймеры представляют собой очень важный компонент ПЦР, так как специфичность амплификации зависит в первую очередь от них. Хотя на эффективность ПЦР влияет много факторов, праймеры вносят немалый вклад в этот процесс.

В репликации вместо ДНК-праймера участвуют короткие РНК-праймеры, в то время как в ПЦР мы используем ДНК-праймер. Существует

несколько предположений, которые благоприятствуют использованию ДНК-праймера в ПЦР:

1. ДНК-праймеры более устойчивы к температуре, чем РНК-праймеры.
2. Процесс полимеризации ДНК в ПЦР является однонаправленным, поэтому нет никаких шансов на удаление короткого РНК-праймера после завершения полимеризации.
3. Кроме того ДНК-полимераза I помогает удалить короткий праймер РНК при репликации *in vivo*, который отсутствует в ПЦР.

Полимераза, используемая в ПЦР, термостабильна и не обладает корректурной активностью.

Есть универсальные и видоспецифические праймеры. Более популярны первые, так как могут быть применены к разным видам организмов. Для исследования какого-то конкретного объекта используются видоспецифические праймеры. Их можно разработать только в том случае, если соответствующие последовательности были изучены ранее. Видоспецифические праймеры можно получить, используя универсальные для амплификации образца с последующим их совершенствованием. Сопоставляя необходимую последовательность с гомологичными последовательностями, полученными из доступных баз данных, можно идентифицировать области, которые являются уникальными для изучаемого вида.

1.3.3. Молекулярно-генетические маркеры и ПЦР-маркеры

Молекулярно-генетические маркеры (ДНК-маркеры) – полиморфный признак, выявляемый на уровне нуклеотидов ДНК методами молекулярной биологии для определенного гена или для любого другого участка хромосомы. Применяется при сравнении различных генотипов особей, пород либо сортов. ДНК-маркеры являются третьим поколением молекулярных

маркеров. Раньше применялись белковые и классические маркеры (Сулимова, 2004).

Молекулярные маркеры из геномов органелл, особенно мтДНК животных, весьма популярны в молекулярно-генетических исследованиях (Хлесткина, 2013).

Известно несколько десятков типов молекулярных маркеров. Чаще всего в исследованиях применяются три группы маркеров: маркеры блот-гибридизации, ПЦР и ДНК-чипов. Молекулярные маркеры бывают монолокусные и мультилокусные. Первые наследуются по кодоминантному (выявляются обе аллели) типу, а мультилокусные – по доминантному (выявляется одна аллель) типу (Булатова, 2013).

Рассмотрим молекулярно-генетические методы и молекулярные маркеры, наиболее часто используемые в исследованиях полиморфизма ДНК.

RAPD-метод был разработан в 1990 году. Он основан на ПЦР-анализе и не требует предварительного секвенирования ДНК. Эта процедура использует короткий произвольный праймер 8-12 пн, который случайным образом амплифицирует область ДНК. Служит как прямым, так и обратным праймером. Амплификация сегмента ДНК зависит от положений, комплиментарных последовательности праймеров (Потапов, 2007).

Фрагменты, полученные из RAPD, имеют размер от 0,2 до 5,0 кб и могут быть просмотрены с помощью электрофореза в агарозном геле, окрашенного бромистым этидием, или с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Если какая-либо мутация происходит в области связывания праймера, то никакой продукт ПЦР не будет произведен, давая отчетливую картину амплифицированных сегментов ДНК на геле.

RAPD применяется для картирования генома, анализа связей и индивидуального специфического генотипирования. Маркеры RAPD

являются доминирующими в природе, поэтому они имеют ограничения для целей картирования. Недостатком метода является плохая воспроизводимость, дает слабые продукты, возникают проблемы при подсчете полос.

RFLP-метод был одним из первых методов, используемых для анализа ДНК в различных областях, например, в криминалистике. Основан на гибридизации ДНК. Он был изобретен Алеком Джеффри в 1984 году во время его исследований в области генетических заболеваний.

RFLP-метод использует особые ферменты эндонуклеазы рестрикции, которые разрезают ДНК в определенных местах, получая набор фрагменты различной длины вместе с интересующим фрагментом. Длина отдельных фрагментов определяется с помощью блоттинга, теперь замененного секвенированием. Маркеры RFLP в значительной степени локуспецифичны и являются доминантными из-за природы, используемой эндонуклеазами рестрикции.

Шаги RFLP:

- извлечение ДНК производится из слюны, крови или других образцов и очищается;
- эндонуклеазы рестрикции переваривают очищенные фрагменты рестрикции ДНК;
- рестрикционные фрагменты исследуются с помощью геле-электрофореза;
- гель обрабатывают люминесцентными красителями для видимости полос ДНК.

RFLP был одним из первых методов, применяемых для генетического дактилоскопирования и профилирования. Он используется для идентификации наследственных заболеваний, носителей этих заболеваний, генетического картирования и гетерозиготного обнаружения. Молекулярная

основа RFLP заключается в том, что любые точечные мутации, такие как делеции, замены и вставки или дупликации, инверсии в геноме, могут устранить или сформировать новые сайты рестрикции. Эти изменения могут быть обнаружены путем анализа фрагментов переменной длины.

Недостатками метода является следующее: требуется относительно большой образец ДНК, трудоемкий и утомительный процесс, дополнительные меры предосторожности при загрязнении.

AFLP-метод был разработан в 1993 году. В основе лежит амплификация выделенных фрагментов с последующим рестрикционным преобразованием всей геномной ДНК конкретного организма (Mueller, 1999). Это метод ПЦР используется для снятия отпечатков пальцев.

Шаги AFLP-метода:

- Экстракция ДНК и ее рестрикционное расщепление с последующим лигированием короткими адаптерными последовательностями.
- Амплификация ограниченных фрагментов методом ПЦР.
- Анализ результатов в гель-электрофорезе или ПЕЙДЖ с последующей автордиографией.

AFLP-метод способен быстро генерировать маркерные фрагменты ДНК любого организма без предварительного секвенирования ДНК. Кроме того он нуждается только в небольших фрагментах исходной матричной ДНК относительно RAPD и ISSR и имеет гораздо более высокую воспроизводимость. Недостатки: AFLP требует больших образцов ДНК и очистки.

ISSR-метод (Inter simple sequence repeat), основан на проведении рутинной ПЦР с образцом анализируемой ДНК. ISSR-маркеры разрабатываются путем ПЦР-амплификации сегментов ДНК между 2 аналогичными областями повтора микросателлитов с использованием одного

праймера, состоящего из областей ядра микросателлита. Праймеры обычно могут быть длиной 16–25 бп.

Метод прост, быстр и экономичен, как и метод RAPD, но имеет более высокую воспроизводимость по сравнению с RAPD из-за большей длины праймера. ISSR-метод не требует предварительного знания генома для анализа и является высоко полиморфным маркером. Используются для идентификации генетического разнообразия, филогенетического анализа, выявления родства сортов. Благодаря простой настройке ISSR применим для изучения картирования генов, мечения генов, четкой идентификации штаммов и распознавания родственных связей.

Недостатками ISSR-метода является меньшая воспроизводимость и негомологичность фрагментов одинакового размера из-за мультилокусной особенности.

SSR-метод (микросателлиты или локусы с простым повторением последовательностей) – это метод проводимый по маркерам, полученным на основе ПЦР, которые требуют предварительного знания последовательности генов. Использует фланкирующие праймеры к короткому микросателлитному или минисателлитному повтору, а также позволяет выявить маркеры с кодоминантным наследованием. Микросателлитные повторы рассеяны по всему ядерному геному у эукариот и, в некоторой степени, у прокариот. Эта особенность маркера делает SSR-метод популярным. Микросателлитные маркеры представляют собой короткие tandemные повторы (STRs) или простые последовательные повторы (SSRs), имеющие 1-6 пар оснований длинных последовательностей, повторяющихся несколько раз. Обычно микросателлиты повторяются менее 100 раз.

Микросателлиты используются в качестве маркеров для изучения картирования генов, родства видов и популяционной генетики. Амплификация tandemных матриц с последующей визуализацией в геле

помогает обнаружить вариации длины ДНК. Микросателлитная ДНК состоит из совместного доминирования аллелей и требует небольшого количества матриц ДНК. Метод обладает высокой воспроизводимостью и экономичен по своей природе. Скрининг микроспутниковых вариаций может быть автоматизирован.

Недостатки SSR-метод:

- анализ является дорогостоящим, если отсутствуют достаточные последовательности праймеров для интересующего вида;
- ошибки в подсчете генотипов возникают, если изменения наблюдаются в местах отжига праймеров;
- шансы на гомоплазию (некоторые признаки присутствуют более чем у одного вида, но не присутствуют у их общего предка из-за конвергенции).

SSAP-метод, являющийся модификацией AFLP-метода, применяется для обнаружения полиморфизма по сайту рестрикции и по месту вставки в геномную ДНК ретротранспозона или транспозона. Основным отличием метода является двухступенчатая ПЦР. ДНК образцов расщепляется рестриктазами PstI и MseI, получая фрагменты с выступающими 3'-концами. Далее рестрицированная ДНК лигируется с PstI-а MseI-адапторами.

REMAP-метод, в ходе которого происходит ПЦР между праймерами комплементарными длинному концевому повтору ретротранспозона и праймерами комплементарными рядом находящемуся простому микросателлитному повтору (SSR-праймер). Позиция амплифицируемого фрагмента ретротранспозона укореняется использованием праймера к микросателлитному локусу. Достоинствами этого метода являются простота и потенциально большое количество комбинаций праймеров из ретротранспозонов и микросателлитов (Kalendar, 1999). В REMAP-методе используются праймеры, составленные по последовательностям длинных концевых повторов с три-штрих и пять-штрих концов.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для работы послужили данные учетов (около 72 часов) популяции домашней кошки г. Пенза, проводимых с августа 2019 по март 2021 года (приложение А). Бездомные животные наблюдались на 3 модельных площадках (участки «8 Марта», «Аустрина» и «Красноармейская») в течение четырех сезонов: лето (рис. 2), осень (рис. 3), зима (рис. 4), весна (рис. 5).



Рис. 2. Фотография с летнего маршрутного учета



Рис. 3. Фотография с осеннего маршрутного учета



Рис. 4. Фотография с зимнего маршрутного учета



Рис. 5. Фотография с весеннего маршрутного учета

В маршрутных учетах регистрировали две категории кошек, которые можно было различить по внешним признакам: бездомные и полувольные (домашние животные, выпускаемые на улицу). Чтобы проследить ротацию животных на исследуемых участках, учитывали постоянный контингент особей, т.е. часто встречающиеся животных на модельных площадках, и сменяемый контингент. В итоге за период исследований было пройдено 124,5 (44; 34,5 и 46) км. На территориях отмечено 75 кошек (приложение Б). Из

них самцами оказались 32 (42,7 %) особи, самками – 43 (57,3 %); котятами – 11 (14,7 %), половозрелыми особями – 64 (85,3 %).

Для облегчения проведения учетов на каждом участке вводили точную персонификацию особей, которых заносили в специальную картотеку. Места регистрации бездомных кошек отмечали на картах-схемах модельных площадок. Для облегчения опознания животных в картотеку заносили не только обозначения каждой особи, но и ее особенности внешнего вида, например, длина шерсти и наличие травм (купированный хвост, отсутствие глаза или конечности и т.д.), отмечали информацию о поле и предположительном возрасте. Особенное внимание было уделено окрасу кошек, так как, кроме облегчения опознания животного, этот отличительный признак помогает в процессе выявления родственных связей особей. В реестр заносили следующие основные типы окраса кошек:

- 1) сплошной или обычный (белый, черный, рыжий и т.п.);
- 2) европейский или дикий (буровато-желтовато-сероватый с полосами);
- 3) пятнистый (бело-рыжий, черно-белый и т.п.);
- 4) трехцветный, или черепаховый (рыже-черно-белый).

Наблюдения на участках проводили в наиболее благоприятное время – в отсутствие обильных осадков и с учетом локализации точек пребывания кошек из разных демографических групп населения на модельных площадках. На протяжении всего периода исследования основная масса кошек была зарегистрирована в весенне-летний период. Осенью (середина или конец сентября) отмечались в основном самки. До этого времени самки активно заботятся о котятах в подвалах, поэтому именно по окончании этого важного периода в жизни кошек они приобретают большую видимость и становятся заметными. В холодное время года, зимой значительную часть времени кошки проводят в подвалах или у подъездов, поэтому в этот сезон

они чаще всего были замечены именно возле технических отверстий, или продухов домов. Размещение оценивали по концентрации особей возле каких-либо социокультурных объектов или построек, а также по данным корреляционного анализа (Урбах, 1964; Животовский, 1991).

Для описания особенностей экологии и поведения кошек использовали распространенную терминологию (Тинберген, 1969, 1993; Судаков, 1971; Дьюсбери, 1981; Хайнд, 1982). Для этологических исследований использовали стандартные методики наблюдений (Попов, Ильченко, 1990; Титов, 2000). Чтобы проанализировать общую структуру активности поведения, использовали метод сплошного протоколирования (СП) и метод регистрации отдельных поведенческих проявлений (ОП). Отмечали стычки, если таковые происходили, и места мочевых меток. В реестр заносили указание на социальный статус особи: доминанты, субдоминанты и низкоранговые особи.

С помощью Microsoft Excel 2010 года и пакета программ STATISTICA for WINDOWS 7.0 осуществляли статистическую обработку данных. Степень репрезентативности полученных результатов оценивали по критерию Стьюдента (t-критерий) с пороговым уровнем значимости $p < 0.05$.

Для изучения генетики поведения и родственного отбора популяции домашней кошки мы собрали с некоторых особей биоматериал в виде образцов шерсти. Представители *Felis catus* отличались друг от друга как местом обитания (домашние и бездомные), так и внешним видом и этологической составляющей (агрессивное поведение, выражающееся отстраненностью от человека, и доверительное поведение). Дальнейшее исследование проходило в лаборатории путем методик выделения ДНК из тканей животных, в нашем случае – волосяных луковиц. Особей отметили в таблице (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика особей домашней кошки, использованных в генетическом анализе популяционного полиморфизма

№ образца	Описание особи (кличка, пол (м/ж), окрас, категория (дом/ул))	Ген №
1	Сиона, ж, полубританец, бело-серый, дом.	1F
2	Малява, ж, полусиамский, серо-черный, ул.	2F
3	Луи, м, метис, камышовый, дом.	3F
4	Черника, ж, обычн., черный, дом.	4F
5	Котя, м, обычн, черно-белый, ул.	5F
6	Лиза, ж, обычн., черно-белый, дом.	6F
7	Козочка, обычн., черно-белый, ул.	7F
8	Вася, м, обычн, черно-белый, ул.	8F
9	Озорник, м, британец, серо-голубой, ул.	9F
10	Мотя, м, европейская, рыжий, ул.	10F
11	Лин, м, метис, камышовый, ул.	11F

Для выявления степени полиморфизма популяции или гетерозиготности особей исследуются не только морфо-фенотипические признаки, так как не проявляющиеся во внешнем виде рецессивные аллели все равно включены в поток генов. Поэтому мы использовали анализ ДНК для более достоверной информации о генетической структуре популяции домашней кошки.

Изучение ДНК проводят различными молекулярно-генетическими методами, такими как амплификация (для изучения фрагментов), рестрикция (для выявления специфических нуклеотидных замен), секвенирование («прочтение» и исследование первичной последовательности нуклеотидов). Мы использовали фенол-хлороформный метод, необходимый для получения чистого образца ДНК, потом проводили полимеразную цепную реакцию или амплификацию, а затем электрофоретическое разделение продуктов ПЦР.

ДНК выделяли из волосяных луковиц. Образец промывали в 1,0 мл буфера STE и прокручивали на мультивортексе в течение трех минут, центрифугировали 6 минут при 13 тыс. оборотов, оставляя осадок для дальнейших процедур. Выделение ДНК из осадка проводили по стандартной методике, убирая всю лишнюю жидкость, добавляя 500 мкл STE, раствор SDS (0,1 от объема) и протеиназу К в объеме 20 мкл. Ставили на ночь на водяную баню при температуре 50°C. На следующий день добавляли 500 мкл сатурированного раствора фенола и перемешивали смесь на мультивортексе в течение 3 минут, а затем в течение 7 минут полученную смесь откручивали на центрифуге. Отобрав 400 мкл верхней фракции, добавляли к ней 400 мкл ХИС (смесь хлороформа и изоамилового спирта). После следующего перемешивания на мультивортексе (1 мин) и разделения на центрифуге (3 минуты) отбирали 300 мкл верхней фракции. Для осаждения ДНК к полученному раствору добавляли 30 мкл раствор ацетата натрия (0,1 V) и 600 мкл охлажденного абсолютного этилового спирта(2V). Полученные смеси откручивали в холодной центрифуге в течение 20 мин до полного осаждения образца ДНК. Супернатант сливали, а осадок промывали от солей в 1000 мкл 70% охлажденного спирта. После центрифугирования (15 мин) раствор спирта сливали, образец высушивали на воздухе, добавляли 40-100 мкл (в зависимости от количества осажденной ДНК) деионизированной воды.

Полимеразную цепную реакцию (PCR) проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 50 mM трис-HCl (pH 8.9), 20 mM сульфат аммония, 20 мкМ ЭДТА, 150 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина, смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (200 мкМ каждого из четырех), 2 mM хлористый магний, 15 пмоль каждого из праймеров, 2 ед. активности Taq-полимеразы и 0.1-0.2 мкг ДНК с использованием разработанных для дактилоскопии особей и пород кошек специфических праймеров (Гончаренко, Зятьков, 2016; Зятьков, Гончаренко, 2017) (табл. 2).

Таблица 2. Праймеры, использованные для амплификации микросателлитных фрагментов ДНК домашней кошки

	Название	Последовательность (3'- 5')	bp	повтор	Размер фрагмента	Количество аллелей
1	FCA 733 F	GATCCATCAATAGGTAAATGGATAAAGAAGATG	33	GATA	128-226	16
	FCA 733 R	TGGCTGAGTAATATTCCACTGTCTCT	26			
2	FCA 740 F	CCAAGGAGCTCTGTGATGCAAA	22	GATA	308-340	7
	FCA 740 R	GTTCCACAGGTAAACATCAACCAA	25			
3	FCA 742 F	AAATTTCAATGTCTTGACAACGCATAAG	28	CTTT	122-175	15
	FCA 742 R	GCCAGGAACACCATGTTGGGCTA	23			
4	F124 F	TGTGCTGGGTATGAAGCCTACTG	23	GAAA	255-367	20
	F124 R	GTGTCTTCCATGCCATAAAGGCTCTGA	28			
5	F53 F	CCTATGTTGGGAGTAGAGATCACCT	25	GAAA	115-272	11
	F53 R	GTGTCTTGAGTGGCTGTGGCATTTC	26			
6	FCA 441 F	GTGTCTTGATCGGTAGGTAGGTAGATATAG	30	GATA	113-137	8
	FCA 441 R	ATATGGCATAAGCCTTGAAGCAAA	24			

Для последующего осуществления электрофоретического разделения продуктов ПЦР мы разделили образцы по системам микросателлитов, оставляя промежутки для молекулярно-генетических маркеров (рис.6).



Рис. 6. Система образцов

Полученные ПЦР-продукты были подвергнуты электрофоретическому исследованию в 6%-ном полиакриламидном геле (ПААГ) для качественного подтверждения прохождения реакции и дальнейшего анализа полиморфности фрагментов микросателлитной ДНК (рис.7).

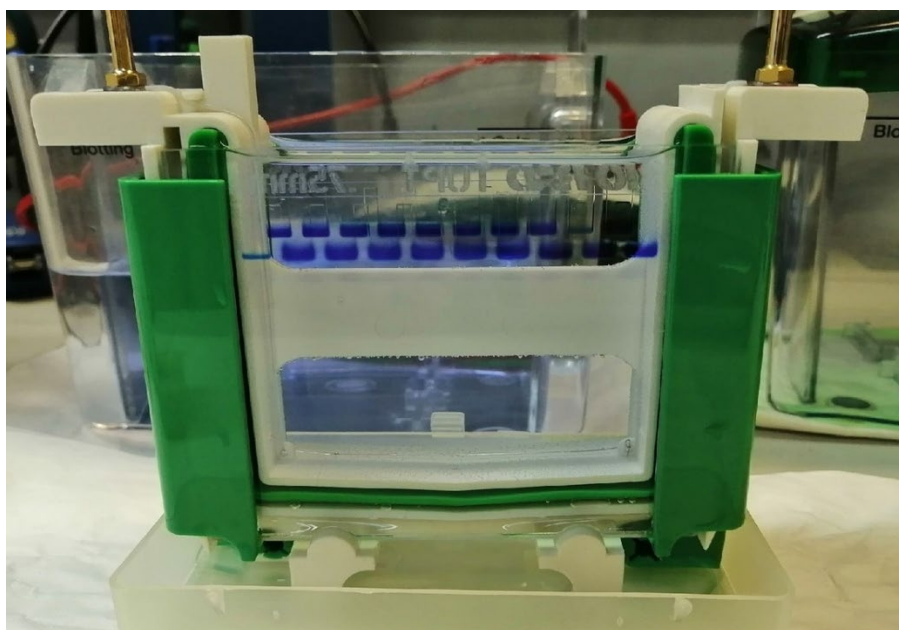


Рис. 7. Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР

ГЛАВА III. ЭКОЛОГИЯ И ПОВЕДЕНИЕ ПОПУЛЯЦИИ БЕЗДОМНЫХ КОШЕК г. ПЕНЗА

Даже находясь в столь необычных в эволюционном смысле городских условиях, домашняя кошка сохраняет специфику мелкого хищника. Эта тенденция особенно ярко проявляется в сохранении черт и особенностей поведения, унаследованных от своих диких сородичей. Однако приспособляясь к трансформированной человеком среде кошке приходится вносить определенные изменения в свой образ жизни.

3.1. Состав пространственных группировок кошек

Для каждой выделенной нами пространственной группировке кошек, обитающей на ограниченной дворовой территории, характерен определенный половой и возрастной состав. Таким же своеобразием характеризуется и породный состав группировок кошек. В целом динамика состава группировок незначительная и по большей части персональный состав групп постоянен.

Анализ пространственных группировок на трех модельных площадках – «8 Марта», «Красноармейская» и «Аустрина» проводили при следующих методических условиях: 1) в маршрутных учетах регистрировались все замеченные особи; 2) в анализе учитывали только те животные, которые постоянно обитали на участках и по этой причине часто встречались (больше 3 раз). Результаты этих учетов представлены в таблице 3.

Таким образом, по данным учетов в состав пространственных группировок на 3 модельных площадках входили от 7 до 9 особей. В целом отмечается преобладание самок (57 % от общего числа). Репродуктивная активность особей низкая, потомство было отмечено только у 2 самок.

Таблица 3. Пространственная группировка бездомных кошек на трех модельных площадках г. Пенза

Номер	Буквенная метка	Пол	Возраст	Порода (окрас)	Характер пребывания	Репродукция	Дом / бездомная
«8 Марта»							
1	A	М	Ad	Обычная (черная, выгоревшая)	Постоянно	-	Безд.
2	B	Д	Ad	Обычная (черная)	Постоянно	-	Безд.
3	H	Д	Ad	Русская голубая	Постоянно	-	Безд.
4	J-1	Д	Ad	Обычная (черная)	Часто	+	Безд.
5	j-1	М	Juv	Обычная (черная с коричневым)	Часто	-	Безд.
6	P	М	Ad	Европейская (коричневая в полоску)	Часто	-	Безд.
7	O	Д	Ad	Обычная (грязно-белая с пятнами)	Часто	-	Безд.
8	M	Д	Ad	Русская голубая (дымчатая)	Постоянно	-	Безд.
9	C-2	М	Ad	Сиамская	Постоянно	-	Дом.
«Красноармейская»							
10	A	М	Ad	Обычная (грязно-белая)	Часто	-	Безд.
11	C-4	Д	Ad	Обычная (грязно-черная)	Постоянно	-	Дом.
12	C-3	Д	Ad	Европейская (коричневая в полоску)	Постоянно	-	Дом.
13	L	М	Ad	Сиамская	Постоянно	-	Безд.
14	C-1	М	Ad	Европейская (коричневая в пятна)	Часто	-	Дом.
15	D	М	Ad	Обычная (серая)	Часто	-	Безд.
16	B	Д	Ad	Обычная (светло-серая)	Часто	-	Безд.
«Аустрина»							
17	F	М	Ad	Европейская (коричневая в полоску)	Постоянно	-	Безд.
18	j-1	Д	Juv	Обычная (черная)	Часто	-	Безд.
19	j-1 (2)	М	Juv	Обычная (черная)	Часто	-	Безд.
20	J-2	Д	Ad	Европейская (коричневая в пятна)	Часто	+	Безд.
21	C-2	Д	Ad	Обычная (белая)	Часто	-	Дом.
22	E	Д	Ad	Обычная (серо-белая)	Постоянно	-	Безд.
23	P	М	Ad	Обычная (рыжая)	Часто	-	Безд.

3.2. Сезонная динамика пространственных группировок кошек

На протяжении всего периода исследования основная масса кошек регистрировалась в весенне-летний период. Осенью (середина или конец сентября) на площадках отмечались преимущественно самки, редко встречающиеся в летний период по причине проявления в это время активной заботы о котятках в подвалах. Зимой, в холодное время года,

большую часть времени кошки проводят в местах, имеющих источники тепла – в подвалах или у подъездов. Поэтому в этот сезон года они чаще всего отмечались именно возле домов, технических отверстий, или продухов.

По результатам сезонных наблюдений за пространственными группировками кошек было выявлено постоянство их численного состава. Число взрослых особей в течение года учета практически не изменилось. В составе двух группировок было зарегистрированы выводки с котятами. Летом 2019 года в группировке кошек на модельном участке «8 Марта» были зарегистрированы 2 котенка. В дальнейшем на территории этой пространственной группировки регулярно отмечался только один из них. Осенью 2019 года на участке «Аустрина» была отмечена кошка с двумя котятами, присутствие которых впоследствии постоянно регистрировалось на этой модельной площадке.

На основе полученных данных о сезонной динамике группировок кошек на модельных площадках в г. Пензе можно сделать вывод, что в пространственных группировках кошек преобладает взрослое население и самки. Увеличение численного состава из-за включения в них молодых особей происходит редко и не имеет особого демографического значения.

3.3. Экология и поведение номадных кошек

Помимо особей, образующих пространственные группировки, на модельных участках часто встречались номадные кошки (постоянно кочующие и/или встречаемые на территориях одноразово или менее трех раз за период наблюдений). Обнаруженные в этой категории животные представлены в таблице 4.

Таким образом, на модельных участках, находящихся под наблюдением, были зарегистрированы 52 номадные кошки. Среди них отмечено преобладание самок (60 % от общего числа). Репродуктивная

активность таких особей низкая. Только у 3 самок было зарегистрировано наличие потомство.

Таблица 4. Номадные кошки трех модельных площадок г. Пенза

Номер	Буквенная метка	Пол	Возраст	Порода (окрас)	Репродукция	Дом / бездомная
«8 Марта»						
1	C-1	Д	Ad	Обычная (черно-белая)	-	Дом.
2	E	М	Ad	Европейская (серо-рыжий)	-	Безд.
3	D	М	Ad	Британская	-	Безд.
4	G	Д	Ad	Обычная (черная с белым пятном)	-	Безд.
5	I	М	Ad	Европейская (полосатая)	-	Безд.
6	j-1 (2)	Д	Juv	Обычная (черная)	-	Безд.
7	K	М	Ad	Европейская (серо-рыжий)	-	Безд.
8	L	Д	Ad	Обычная (черно-белая)	-	Безд.
9	J-2	Д	Ad	Обычная (черно-белая)	+	Безд.
10	j-2	Д	Juv	Обычная (белая с черной точкой на носу)	-	Безд.
11	N	Д	Ad	Европейская (коричневая в полоску)	-	Безд.
12	Q	Д	Ad	Обычная (грязно-белая)	-	Безд.
13	j-4	Д	Juv	Европейская (рыже-черная)	-	Безд.
14	R	Д	Ad	Обычная (черная с пятнами)	-	Безд.
15	S	Д	Ad	Обычная (черная)	-	Безд.
16	T	М	Ad	Обычная (черная, без глаза)	-	Безд.
17	U	М	Ad	Обычная (черная)	-	Безд.
18	V	Д	Ad	Обычная (черно-белая с белым носом)	-	Безд.
19	W	М	Ad	Обычная (белая с серыми пятнами)	-	Безд.
20	C-3	Д	Ad	Обычная (серо-белая)	-	Дом.
21	C-4	Д	Ad	Обычная (белая с рыжей головой)	-	Дом.
22	J-3	Д	Ad	Европейская (полосатая)	+	Безд.
23	j-3	М	Juv	Европейская (полосатая)	-	Безд.
24	j-3 (2)	М	Juv	Европейская (полосатая)	-	Безд.

25	X	Д	Ad	Обычная (грязно-белая с черным)	-	Безд.
26	C-5	М	Ad	Обычная (черно-белая с черным пятном на носу)	-	Дом.
27	Z	Д	Ad	Европейская (светло-коричневая)	-	Безд.
28	Y	М	Ad	Европейская (с фиолетовым глазом)	-	Безд.
29	ZA	М	Ad	Обычная (бело-черная)	-	Безд.
30	ZB	Д	Ad	Обычная (пепельно-серая)	-	Безд.
«Красноармейская»						
31	F	Д	Ad	Обычная (черная)	-	Безд.
32	C-2	Д	Ad	Обычная (черная с белым пятном)	-	Дом.
33	N	М	Ad	Обычная (грязно-черная)	-	Безд.
34	C-5	М	Ad	Британская	-	Дом.
35	C-6	Д	Ad	Европейская (бело-коричневая с пятнами)	-	Дом.
36	C-7	Д	Ad	Обычная (полосатая с черным)	-	Дом.
«Аустрина»						
37	A	Д	Ad	Европейская (коричневая)	-	Безд.
38	B	М	Ad	Обычная (черная)	-	Безд.
39	C-1	Д	Ad	Обычная (черная)	-	Дом.
40	D	М	Ad	Обычная (грязно-белая)	-	Безд.
41	G	Д	Ad	Сиамская	-	Безд.
42	j-2	Д	Juv	Европейская	-	Безд.
43	j-2 (2)	Д	Juv	Европейская	-	Безд.
44	K	М	Ad	Обычная (серая)	-	Безд.
45	L	Д	Ad	Европейская (коричнево-рыжая)	-	Безд.
46	M	Д	Ad	Обычная (черно-белая, пухлая)	-	Безд.
47	N	М	Ad	Обычная (рыжая)	-	Безд.
48	O	М	Ad	Обычная (черно-коричневая)	-	Безд.
49	J-3	Д	Ad	Обычная (черная с белым пятном на груди)	+	Безд.
50	j-3	Д	Juv	Обычная (черная)	-	Безд.
51	Q	М	Ad	Европейская (полосатая, косоглазие)	-	Безд.
52	C-3	М	Ad	Европейская (полосатая)	-	Дом.

3.4. Половой, возрастной и породный состав популяций бездомных кошек г. Пенза

Всего за весь период наблюдений на трех модельных площадках было обнаружено 75 кошек. Из них самцами были – 32 (42,7 %), самками – 43

(57,3 %); котятами – 11 (14,7 %), а половозрелых особей было обнаружено 64 (85,3 %).

Породный состав выявленных пространственных группировок оказался довольно разнообразным (рис. 8). Чаще на улицах города встречались домашние кошки обычной породы (61,3 %). Из них многие имели черный окрас (26,7 % от общего числа учтенных особей), в меньшей степени черно-белый (8 % от общего числа).

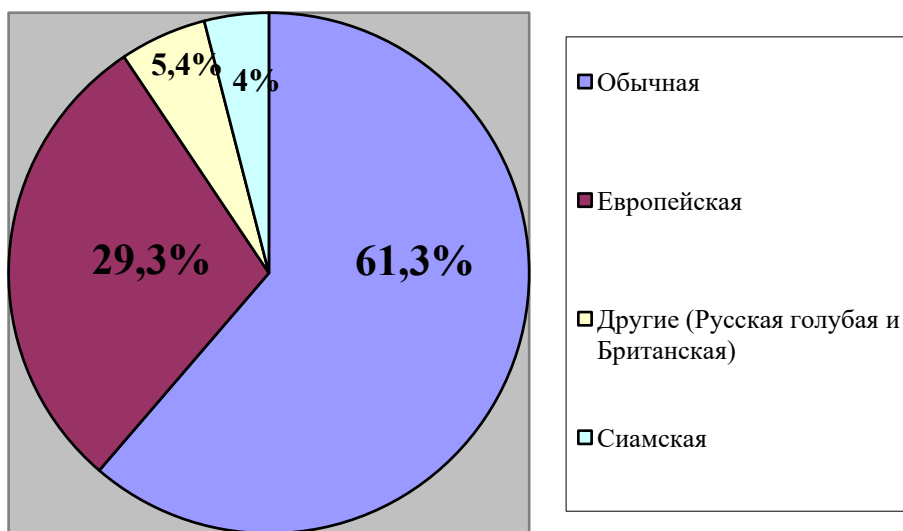


Рис. 8. Породный состав популяции кошек г. Пенза

Следовательно, судя по полученным данным, в популяциях кошек г. Пензы преобладают взрослые животные (85,3 %), а среди них – самки (57,3 %). Большую часть группировок составляют особи обычной породы (61,3 %).

3.5. Репродуктивная экология и поведение

Репродукция домашней кошки в городских биотопах зависит от физиологического цикла, а также от социально-демографических условий, разворачивающихся в пространственных группировках. Все это указывает на существование социальной стимуляции размножения домашней кошки в условиях городской среды. Однако нередко отмечаются случаи появления потомства и у номадных особей.

На модельной площадке «8 Марта» было зарегистрировано 33 половозрелые особи – 13 самцов и 20 самок. За период наблюдений потомство было зарегистрировано только у двух самок. Одна из них входила в постоянный состав пространственной группировки, другая вела кочевой образ жизни. Выводок каждой из них состоял из двух котят. Также один раз была отмечена кошка с котенком и одинокий котенок без матери, труп которого был найден во время следующего учета. Следовательно, на территории этой пространственной группировки бездомных кошек в совокупности было отмечено 6 молодых особей.

На территории модельного участка «Красноармейская» популяция бездомных кошек молодыми особями не пополнялась. Было отмечено 13 половозрелых особей – 6 самцов и 7 самок.

На модельной площадке «Аустрина» было зарегистрировано 18 половозрелых особей. Из них 9 оказались самцами и 9 – самками. За период наблюдений была отмечена только одна самка, состоящая в пространственной группировке, имеющая потомство (2 котенка), которых в последующих учетах встречено не было. Один раз была отмечена кочевая кошка с котенком. Регулярно, в течение всего периода наблюдений, на участке регистрировали две молодые особи домашней кошки. Таким образом, в этой группировке в общей сумме было отмечено 5 котят.

Обобщая полученные данные по репродуктивной экологии бездомных кошек в г. Пензе, можно констатировать, что изученные популяции *Felis catus* характеризуются низким уровнем воспроизводства. Доля молодых особей в них не превышает 14,7 % (11 котят). Такая низкая репродуктивная успешность населения диких кошек в г. Пензе объясняется рядом объективных факторов. Прежде всего, это низкая жизнеспособность молодых особей в агрессивных условиях городской среды – болезни, нехватка пищевых и защитных ресурсов, техногенный фактор, а также регуляции численности на ранних этапах развития со стороны человека (частный

сектор). Второй важный фактор – это физиологическое состояние репродуцирующей части популяции бездомных кошек. Больные и физически слабые особи не способны принести потомство.

Сильных различий от типичной для всех кошачьих в характере поведенческой активности в популяции домашней кошки не обнаружено. Коты оставляли свои территориальные метки в течение всего периода наблюдения ($n=6$). Во время гона территория метилась максимально активно. Мечение происходило не только в местах пребывания самок, но и в точках пересечения зон активности самцов. Наблюдалась «перемаркировка» чужих меток ($n=2$). Отмечались агрессивные стычки ($n=3$) между самцами в местах встречи и маркировки, либо возле готовой к спариванию самки. Во время взаимодействия коты сильно мяукали, кричали, медленно проходили перед соперником, осуществляя агрессивные выпады. Иногда контакт перетекал в драку клубком ($n=2$), которая заканчивалась непродолжительными погонями. В целом, репродуктивное поведение самцов складывается из двух основных поведенческих составляющих – территориальной, которая связана с персонализацией участка и обеспечением себя как сексуальным, так и пищевыми ресурсами; и половой, связанной с поиском готового к спариванию полового партнера.

Самки в обычные периоды чаще всего были пассивными и контактировали с ограниченным числом других особей. При вхождении в эструс и готовности к спариванию в поведении происходили заметные изменения. Самки мяукали, кричали, активно подзывая к себе самцов. Если же самка была не готова к спариванию при излишней настойчивости самца, между особями происходили агрессивные стычки ($n=1$). В целом, репродуктивное поведение кошек не обусловлено территориальной составляющей и зависит только от физиологического состояния – вхождение в эструс.

Исходя из всего сказанного, можно сделать вывод, что репродуктивная активность в популяциях бездомных кошек г. Пенза низкая. Количество котят, регистрируемых в группировках бездомных кошек, обычно не превышает 1/6 от общей численности популяций (14,7 %). Такие низкие показатели объясняются большим количеством лимитирующих факторов (болезни, нехватка пищевых и защитных ресурсов, техногенный фактор и вмешательство человека).

ГЛАВА IV. ГЕНЕТИКА ПОВЕДЕНИЯ И РОДСТВЕННЫЙ ОТБОР В ГОРОДСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЗДОМНЫХ КОШЕК г. ПЕНЗА

Основной задачей генетических исследований в рамках данной работы было выявление уровня генетического полиморфизма населения популяций бездомных кошек, а также сопоставление его с популяционным статусом конкретных особей. С этой целью был проведен микросателлитный анализ аналитической выборки ($n = 11$), состоящей как из особей с чисто домашним содержанием (36%, $n = 4$), так и бездомных животных (64%, $n = 7$).

По результат амплифицирования образцов с использованием 6 микросателлитных систем (FCA 441, FCA 733, FCA 740, FCA 742, F124 и F 53) были получены фореграммы, по которым и был проведен анализ (рис. 9).

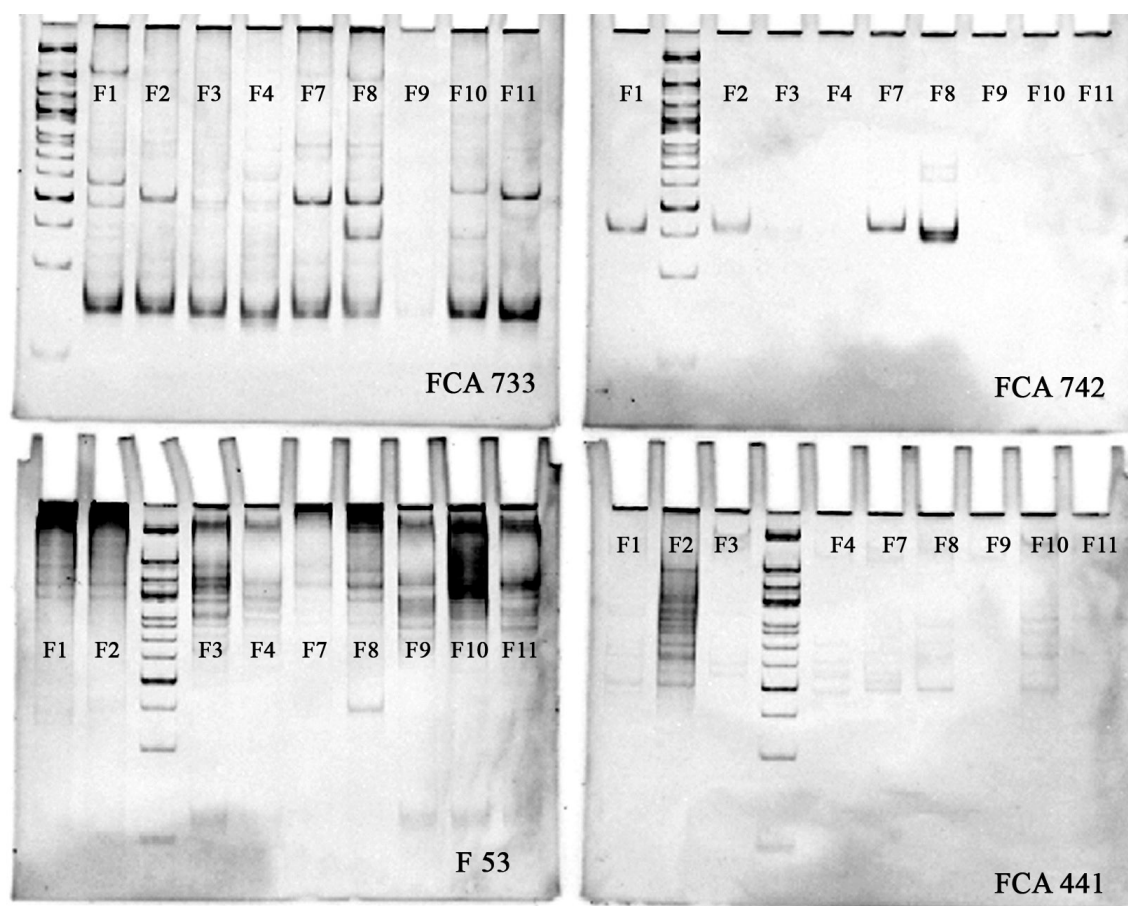


Рис. 9. Результаты микросателлитного анализа домашних кошек. F1–F11 – номера проб, внизу листа фореграммы указан микросателлитный маркер.

Из 6 апробированных микросателлитных маркеров только 4 дали в разной степени полные результаты по аллельным спектрам образцов выборки (n = 9) – FCA 441, FCA 733, FCA 742 и F 53. При этом не все пробы и не во всех системах сработали, дали хороший продукт амплификации (табл. 5).

Таблица 5. Результаты микросателлитного анализа аналитической выборки домашних кошек (n = 9). Жирным шрифтом выделены гетерозиготы.

№ образца	Описание особи (кличка, пол (м/ж), окрас, категория (дом/ул))	Ген №	Аллельные повторы (нижняя/верхняя)			
			FCA 441 (GATA)	FCA 733 (GATA)	FCA 742 (CTTT)	F 53 (GAAA)
1	Сиона, ж, полубританец, бело-серый, дом.	1F	25/25	15/15	10/10	–
2	Малява, ж, полусиамский, серо-черный, ул.	2F	–	18/18	10/10	–
3	Луи, м, метис, камышовый, дом.	3F	29/34	13/16	–	–
4	Черника, ж, обычн., черный, дом.	4F	20/20	–	–	–
7	Козочка, обычн., черно-белый, ул.	7F	21/21	18/18	10/10	–
8	Вася, м, обычн, черно-белый, ул.	8F	22/22	18/18	6/9	9/9
9	Озорник, м, британец, серо-голубой, ул.	9F	22/22	–	–	–
10	Мотя, м, европейская, рыжий, ул.	10F	–	21/21	–	–
11	Лин, м, метис, камышовый, ул.	11F	–	18/18	–	–

Результаты клонирования маркерных фрагментов микросателлитной ДНК показательны. Они позволяют высказать несколько методических замечаний:

1) Выделение ДНК из проб шерсти является недостаточно эффективным, поскольку некоторые из полученных образцов не прореагировали со специфическими праймерами. По всей видимости, в образцах отсутствует кошачья ДНК или они сильно загрязнены чужеродными нуклеиновыми кислотами.

2) Плохая работоспособность апробируемых микросателлитных систем может свидетельствовать о неспецифичности места посадки праймеров, что может быть результатом значительных генетических различий домашних кошек, обитающих на территории РФ, от зарубежных *Felis catus*, для которых и были разработан набор микросателлитных маркеров.

Полученные аллельные спектры образцов ДНК домашних кошек представлены практически исключительно гомозиготными наборами. Гетерозиготность проанализированной выборки низкая, и только по одному маркеру (FCA 441) отличается от 0 – 0,167 (17%). Полученные данные указывают на то, что в популяциях домашней кошки в г. Пензе, вне зависимости от того к какой социо-экологической группе принадлежит кошка, выявлено низкое генетическое разнообразие. Его можно связать с низкими темпами репродукции в популяциях бездомных животных, которая часто происходит случайно, без какого-либо действия отбора, и однонаправленной селекционной работой при разведении *Felis catus* в культуре.

Таким образом, проведенные пробные исследования возможности использования стандартной линей микросателлитных праймерных систем, используемых широко за рубежом для идентификации домашних кошек, показали, что их применение в популяционных исследованиях вполне оправдано, но требует дополнительных манипуляций по получению хороших образцов ДНК и дополнительного уточнения условий ПЦР-реакций.

ВЫВОДЫ

1. Оценка размеров популяции *Felis catus* на 3 модельных площадках показала, что максимальное количество особей отмечается в тех районах г. Пензы, где находятся здания жилого фонда с многочисленными укрытиями (подъезды, подвалы) и постоянным прикормом от населения. Популяции домашней кошки г. Пензы характеризуются численным преобладанием бездомных животных (87 %), самок (57,3 %) и низкой долей прибылых особей (14,7 %). Породный состав популяции разнообразен, чаще на улицах города встречается обычная порода домашней кошки (61,3 %).

2. Пространственные группировки по результатам исследований на трех модельных площадках образованы 7–9 особями с преобладанием в них самок (57 % от общего числа). На численность бездомных кошек влияют как естественные экологические факторы (недостаток кормовых ресурсов, отсутствие укрытий, болезни), так и факторы антропогенной природы (аварии, проведение городскими службами мероприятий по сокращению численности животных, ограничение доступа кошкам к подвалам многоэтажных домов).

3. Репродуктивная активность в пространственных группировках кошек низкая, поэтому увеличение их численного состава за счет прибылых особей происходит редко, а в них преобладает взрослое население. Значимых различий от типичной для всех кошачьих в характере поведенческой активности в популяции домашней кошки не было обнаружено.

4. Выделение ДНК из проб шерсти является недостаточно эффективным вследствие частого отсутствия в образцах кошачьей ДНК и сильного их загрязнения чужеродными нуклеиновыми кислотами. Плохую работоспособность апробируемых микросателлитных систем мы связываем с низкой специфичностью праймерных систем для ДНК отечественных домашних кошек, вследствие их генетических различий с зарубежными *Felis catus*, для которых был разработан набор микросателлитных маркеров.

5. Полученные генетические данные указывают на то, что в популяциях домашней кошки в г. Пензе, вне зависимости от того к какой социоэкологической группе принадлежит кошка, выявлено низкое генетическое разнообразие, которое можно связать с низкими темпами репродукции в популяциях бродячих животных и масштабным отбором при разведении *Felis catus* в культуре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алтухов Ю.П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. // Генетика, 2002. Т.38. С. 1173–1195.
2. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки. Том 1 / Б. Альбертс., А. Джонсон., Д. Льюис., М. Рэфф., К. Робертс., П. Уолтер. М. Ижевск.: НИЦ, 2012. 796 с.
3. Антоненко Т.В. Методика оценки территориальной активности *Feliscatus* в антропогенных условиях обитания // Вестник Алтайского государственного аграрного университета, 2009. № 10 (60). С. 87–91.
4. Антоненко Т.В. Особенности пространственной структуры в группах *Feliscatus*// Известия Алтайского государственного университета, 2011. № 3–1 (71). С. 7–10.
5. Антоненко Т.В. Эколого-физиологические аспекты поведения внутривидовых группировок *Feliscatus* в разных условиях обитания: диссертация на соиск. ученой степени канд. б. наук: 03.02.08 — Экология (по отраслям). Барнаул, 2011. 154 с.
6. Барр Ф. Ультразвуковая диагностика заболеваний собак и кошек / Пер. с англ. Зарифова З. М.: Аквариум-Принт, 2006. 208 с.
7. Березина Е. С. Морфологические особенности и генетика окрасов кошки домашней в популяции лесной зоны Среднего Прииртышья // Журнал «Вестник» Красноярского государственного аграрного университета, 2011. Выпуск 9. С. 174-179.
8. Березина Е.С. Коммуникативные сигналы кошек // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные, 2013. № 4. С. 22–28.
9. Боголюбова И.О. Структурно-функциональная организация ядра в период активации эмбрионального генома мышцы: дисс. на соиск. учен. степ. докт. биолог. наук / И.О Боголюбова. Санкт-Петербург, 2018. 256 с.

- 10.Бородин П.М. Кошки и гены. Изд. 3-е. М.: Книжный дом «Либроком», 2011. 136 с.
- 11.Брохин В.М. К вопросу о возможности рациональной гормональной супрессии половой функции кошек / Брохин В.М. // Ветеринарная практика, 1997. № 2. С. 35–38.
- 12.Булатова Н.Ш. Цитогенетическое изучение парapatрической зоны контакта двух 46-хромосомных форм обыкновенной полевки в Европейской России / Н.Ш Булатова, Ф.Н Голенищев, Ю.М Ковальская // Генетика, 2010. Т.46, № 4. С. 502–508.
- 13.Булатова Н.Ш. Молекулярно-цитогенетические маркеры криптических видов и гибридов надвидового комплекса обыкновенных полевок *Microtus arvalis*. 1 / Н.Ш Булатова., С.В Павлова., С.А Романенко // Цитология, 2013. Т. 55, № 4. С. 268–270.
- 14.Булатова Н.Ш. Ядрышкообразующие районы (ЯОР) хромосом обыкновенных полевок как ядерные маркеры геномной дифференциации по данным из гибридной зоны двух кариоформ, *arvalis* и *obscurus* / Н.Ш Булатова., С.В Павлова., С.Г Потапов., А.Р Громов // Генетика, 2017. Т.53, № 6. С. 761–764.
- 15.Вознесенская В.В., Найдено С.В., Феоктистова Н.Ю., Кудякова Т.И., Кривомазов Г.Д. Роль хемосигналов хищника в репродукции грызунов // Животные в городе. Материалы Первой научно-практической конференции. М.: ИПЭЭ РАН, 2000. 260 с.
- 16.Гаврилов А.А. Компартиментализация клеточного ядра и пространственная организация генома / А.А Гаврилов., С.В Разин // Молекулярная биология, 2015. Т.49. С. 26–45.
- 17.Георгиев Г.П. Открытие ядерной ДНК – подобной РНК (дРНК, гяРНК) и рибонуклеопроteidных частиц, содержащих гяРНК / Г.П Георгиев // История науки, 2016. Т. 8, № 1 (28). С. 6–13.

18. Громыко Н.М., Лебедев Н.А. Генетическая структура популяции *Feliscatus* г. Мозыря. «Мозырский государственный педагогический университет им. И. П. Шамякина». Номер: 1 (55), 2020. С. 24-29.
19. Гончаренко Г.Г., Зятьков С.А., 2016. Микросателлитные ДНК-маркеры в генетической дактилоскопии особей *Felis catus* и родственных видов семейства Кошачьи // Известия Гомельского государственного университета имени Ф. Скорины, № 3 (96). С. 21–25.
20. Друзь Г.Р., Зятьков С.А. Генетические закономерности популяций *Feliscatus* г. Гомеля. Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины, «Научные стремления». Выпуск 3, 2015. С. 4-7.
21. Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: Наука, 1986. 572с.
22. Дьюсбери Д. Поведение животных. М.: Мир, 1981. 378 с.
23. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 270 с.
24. Зейналов О.А., Мукасеев С.В., Пархоменко С.А. «Секс Барьер» современный безопасный биогормональный препарат для регуляции половой охоты у кошек и собак // VetPharma, 2014. № 1 (17). С. 26–29.
25. Зорина З.А., Полетаева И.И., Резникова Ж.И. Основы этологии и генетики поведения. М., 2002. 383 с.
26. Зятьков С.А., Гончаренко Г.Г., 2016. Микросателлитные локусы в генетической дактилоскопии особей и пород домашней кошки *Felis catus* L. // ВЕСНІК МДПУ імя І. П. ШАМЯКІНА. №2(50) 30. С. 25–30.
27. Инге-Вечтомов С.Г. Введение в молекулярную генетику. Учеб. для биологич. спец. унив. М.: Высшая школа, 1983. 343 с.
28. Календарь Р.Н. Полимеразная цепная реакция с произвольными праймерами / Р.Н Календарь., Ю.М Сиволап // Биополимеры и клетка, 1995. Т.11, № 3-4. С. 55–65.
29. Крученкова Е. П. Современные тенденции в изучении поведения млекопитающих // Териофауна России и сопредельных территорий // Матер. междунар. совещания. М.: ИПЭЭ РАН, 2011. 259с.

- 30.Крюков В.И. Генетика. Часть 1. Введение в генетику. Молекулярные основы наследственности. Учебное пособие для вузов. Орел: Изд-во ОрелГАУ, 2006. 176 с.
- 31.Кучерук В.В. Синантропия — некоторые понятия // Животные в городе: Материалы научно-практической конференции. М.: ИПЭЭ РАН, 2000. С. 112–115.
- 32.Магда И.И. Оперативная хирургия с основами топографической анатомии домашних животных / Магда И.И., Иткин Б.З., Воронин И.И. М.: Колос, 1979. 360с.
- 33.Меннинг О. Поведение животных. Вводный курс: Пер. с англ. / Перевод Зориной З. А., Полетаевой И. И.; Под ред. и с предисл. Крушинского Л. В.М.: Мир, 1982. 360 с.
- 34.Мерзликин И.Р. Домашняя кошка как хищник в условиях среднего города // Животные в городе: Материалы научно-практической конференции. М.: ИПЭЭ РАН, 2003. С. 131–133.
- 35.Переверзева В.В. Полиморфизм гена цитохромаbмтДНК красной полевки популяции поймы реки Буюнда / Переверзева В.В., Лазуткин А.Н. // Вестн. СВНЦ ДВО РАН, 2009. №2. С. 84–89.
- 36.Переверзева В.В. Генетическая структура популяций красной полевки *Myodes (Clethrionomys) RutilusPallas*, 1779 Северного Приохотья по данным об изменчивости нуклеопотеидных последовательностей гена цитохромаbмитохондриальной ДНК / Переверзева В.В., Примаков А.А., Дубинин Е.А. // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. Т.17, № 3. С. 435–443.
- 37.Попов С.В. Методические рекомендации по этологическим наблюдениям за млекопитающими в неволе / Попов С. В., Ильченко О. Г.; Совет по координации деятельности зоопарков СССР при Упр. музеев М-ва культуры СССР, Моск. зоол. парк. М.: Б. и., 1990. 76 с.

- 38.Рожнов В.В. Бездомные кошки в Москве: подходы к изучению и разработке методов учета // Животные в городе. Материалы Первой научно-практической конференции. М.: ИПЭЭ РАН, 2000. 260 с.
- 39.Симпсон Д., Ингланд Г., Харви М. Руководство по репродукции и неонатологии собак и кошек; пер. с англ. М.: Софион, 2005. 280 с.
- 40.Соколов В.Е. Жизнь животных. Т.7. / под ред. Соколова В.Е. М.: Просвещение, 1989. 559 с.
- 41.Судаков К.В. Мотивы поведения животных. М.: Знание, 1971. 56 с.
- 42.Сукерник Р.И. Митохондриальный геном и митохондриальные болезни человека / Р.И Сукерник., О.А Дербенева., Е.Б Стариковская., Н.В Володько., И.Е Михайловская., И.Ю Бычков., М.Т Лотт., М.Д Браун // Генетика. 2002. Т. 38, № 2. С. 1–10.
- 43.Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г.Е Сулимова // Успехи современной биологии, 2004. Т.45. С. 725–728.
- 44.Тинберген Н. Поведение животных. М.: Мир, 1969. 320 с.
- 45.Тинберген Н. Социальное поведение животных. М.: Мир, 1993. 152 с.
- 46.Титов С. В. Наблюдения за поведением животных: Методические рекомендации / Авт.-сост. Титов С. В. (Пенз. гос. пед. ун-т им. В.Г. Белинского). Пенза, 2000. 73 с.
- 47.Тутт С., Дипроуз Д., Кросли Д. Стоматология собак и кошек. Издательство: Аквариум-Принт, 2015. 224с.
- 48.Урбах В.Ю. Биометрические методы. М.: Наука, 1964. С. 345–350.
- 49.Филиппова О.В., Сорокин В.И. Ультразвуковая визуализация половых органов как метод оценки состояния беременности у кошек и сук // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2008. № 1 (17). С. 114–117.
- 50.Фогл Б. Поведение кошки. М.: Центрполиграф, 1999. 342 с.
- 51.Хайнд Р. Поведение животных. М.: Мир, 1975. 856 с.

- 52.Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е.К Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. Т.17, № 4/2. С. 1044–1054.
- 53.Чадаева И.В. Социальные контакты в группах домашних кошек / Чадаева И.В., Журавлева Т.В.; под ред. Михайлова Н.Н. // Материалы XXXI научной конференции студентов, аспирантов и учащихся лицейных классов. Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2004. 268 с.
- 54.Ченцов Ю. С. Общая цитология / Ю.С Ченцов. М.: 3-е изд. МГУ, 1995. 384с.
- 55.Шовен Р. Поведение животных / Р. Шовен. М.: Мир, 1972. 251 с.
- 56.Clark, J.M. The effects of selection and human preference on coat color gene frequencies in urban cats / J.M. Clark // Heredity, 1975. Vol. 35.
- 57.Erlich H.A. Recent advances in the polymerase chain reaction / H.A Erlich., D. Gelfand., J.J Sninsky // Science, 1991. Vol.(252). P. 1643–1651.
- 58.Freeland J.R. Molecular Ecology / J.R Freeland. M.: John Wiley&Sons, Ltd, 2005. 402 с.
- 59.Hinten G. Genetic variation and island biogeography: Microsatellite and mitochondrial DNA variation in island populations of the Australian bush rat, *Rattus fuscipes greyii* / G. Hinten., F. Harriss., M. Rossetto., P.R Braverstock // Conserv. Genet., 2003. V.4. P. 759–778.
- 60.Ito H. Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Method for cps Typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Serovars 1, 2, 5, 7, and 15 / H. Ito., M. Sueyoshi // JARQ, 2015. V.49 (3). P. 277–280.
- 61.Kalendar R. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques / R. Kalendar., T. Grob., M. Regina., A. Suoniemi., A.H Schulman // Theoretical and Applied Genetics, 1999. V. 98. P. 704–711.
- 62.Leyhausen Paul. Verhaltensstudien an Katzen / von. Berlin, Hamburg, 1973. 232 с.
- 63.Mueller U. G. AFLP Genotyping and Fingerprinting / U.G Mueller., L.L Wolfenbarger // Trends in Ecology & Evolution, 1999. V. 14. P. 389–394.

64. Wang X. Integrate the Mitochondrial Genome into the Nuclear Genome / X. Wang // Bioenergetics: Open Access, 2012. Vol. (1), Is 2. P. 1–3.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Результаты учетов популяций бездомных кошек г. Пенза

Номер учета	Дата	Время	Количество			Площадь (га)	Плотность		
			Общее	Домашние	Бродячие		Общая	Домашние	Бродячие
1	12.09.2019	18:00	1	0	1	6,56	0,15	0,00	0,15
2	13.10.2019	16:30	2	0	2	6,56	0,30	0,00	0,30
3	04.12.2019	15:20	3	1	2	6,56	0,46	0,15	0,30
4	10.01.2020	17:15	1	0	1	6,56	0,15	0,00	0,15
5	29.04.2020	18:00	5	0	5	6,56	0,76	0,00	0,76
6	03.05.2020	15:15	5	1	4	6,56	0,76	0,15	0,61
7	15.05.2020	17:40	7	0	7	6,56	1,07	0,00	1,07
8	06.06.2020	15:00	7	0	7	6,56	1,07	0,00	1,07
9	12.07.2020	13:30	7	2	5	6,56	1,07	0,30	0,76
10	23.07.2020	16:30	8	0	8	6,56	1,22	0,00	1,22
11	09.08.2020	15:00	6	1	5	6,56	0,91	0,15	0,76
12	14.09.2020	16:15	5	0	5	6,56	0,76	0,00	0,76
13	29.09.2020	17:00	1	0	1	6,56	0,15	0,00	0,15
14	04.10.2020	13:50	3	1	2	6,56	0,46	0,15	0,30
15	09.11.2020	17:30	2	0	2	6,56	0,30	0,00	0,30
16	11.11.2020	17:00	1	1	0	6,56	0,15	0,15	0,00
17	27.12.2020	15:00	3	1	2	6,56	0,46	0,15	0,30
18	14.01.2021	16:14	2	0	2	6,56	0,30	0,00	0,30
19	08.02.2021	10:10	3	0	3	6,56	0,46	0,00	0,46
20	21.03.2021	22:05	6	1	5	6,56	0,91	0,15	0,76
21	26.03.2021	17:40	7	2	5	6,56	1,07	0,30	0,76
22	28.03.2021	14:20	8	1	7	6,56	1,22	0,15	1,07
			4,227	0,545	3,682		0,644	0,083	0,561

Рисунок А. 1. Учет на участке «8 Марта»

Номер учета	Дата	Время	Количество			Площадь (га)	Плотность		
			Общее	Домашние	Бродячие		Общая	Домашние	Бродячие
1	13.09.2019	18:00	4	1	3	8,07	0,50	0,12	0,37
2	14.09.2019	13:20	3	1	2	8,07	0,37	0,12	0,25
3	01.10.2019	16:10	2	0	2	8,07	0,25	0,00	0,25
4	02.11.2019	14:00	0	0	0	8,07	0,00	0,00	0,00
5	22.12.2019	18:30	2	0	2	8,07	0,25	0,00	0,25
6	07.01.2020	18:30	0	0	0	8,07	0,00	0,00	0,00
7	23.02.2020	17:00	2	2	0	8,07	0,25	0,25	0,00
8	24.03.2020	17:20	2	1	1	8,07	0,25	0,12	0,12
9	25.04.2020	13:15	4	2	2	8,07	0,50	0,25	0,25
10	26.04.2020	18:00	3	2	1	8,07	0,37	0,25	0,12
11	10.05.2020	16:00	4	2	2	8,07	0,50	0,25	0,25
12	13.05.2020	17:10	2	1	1	8,07	0,25	0,12	0,12
13	29.06.2020	17:30	3	2	1	8,07	0,37	0,25	0,12
14	04.07.2020	14:20	2	1	1	8,07	0,25	0,12	0,12
15	07.07.2020	18:00	2	2	0	8,07	0,25	0,25	0,00
16	11.08.2020	16:40	3	1	2	8,07	0,37	0,12	0,25
17	14.09.2020	18:00	2	2	0	8,07	0,25	0,25	0,00
18	18.10.2020	18:40	1	1	0	8,07	0,12	0,12	0,00
19	16.11.2020	14:10	1	1	0	8,07	0,12	0,12	0,00
20	22.01.2021	16:30	0	0	0	8,07	0,00	0,00	0,00
21	25.03.2021	15:00	2	0	2	8,07	0,25	0,00	0,25
22	28.03.2021	17:55	4	1	3	8,07	0,50	0,12	0,37
			2,182	1,045	1,136		0,270	0,130	0,141

Рисунок А. 2. Учет на участке «Красноармейская»

Номер учета	Дата	Время	Количество			Площадь (га)	Плотность		
			Общее	Домашние	Бродячие		Общая	Домашние	Бродячие
1	14.09.2019	14:00	2	1	1	18,76	0,11	0,05	0,05
2	15.10.2019	16:00	2	0	2	18,76	0,11	0,00	0,11
3	02.11.2019	12:20	1	0	1	18,76	0,05	0,00	0,05
4	23.01.2020	13:30	2	1	1	18,76	0,11	0,05	0,05
5	04.03.2020	16:30	4	0	4	18,76	0,21	0,00	0,21
6	06.04.2020	13:30	3	1	2	18,76	0,16	0,05	0,11
7	21.05.2020	14:00	3	1	2	18,76	0,16	0,05	0,11
8	13.06.2020	14:20	3	1	2	18,76	0,16	0,05	0,11
9	24.07.2020	15:30	3	0	3	18,76	0,16	0,00	0,16
10	26.07.2020	13:20	4	0	4	18,76	0,21	0,00	0,21
11	09.08.2020	13:20	4	0	4	18,76	0,21	0,00	0,21
12	11.09.2020	15:30	2	1	1	18,76	0,11	0,05	0,05
13	25.09.2020	15:30	3	1	2	18,76	0,16	0,05	0,11
14	03.10.2020	14:15	2	0	2	18,76	0,11	0,00	0,11
15	09.11.2020	16:20	2	0	2	18,76	0,11	0,00	0,11
16	11.11.2020	14:00	0	0	0	18,76	0,00	0,00	0,00
17	12.12.2020	18:20	2	0	2	18,76	0,11	0,00	0,11
18	14.12.2020	16:30	1	0	1	18,76	0,05	0,00	0,05
19	18.01.2021	17:10	2	1	1	18,76	0,11	0,05	0,05
20	27.02.2021	13:40	1	0	1	18,76	0,05	0,00	0,05
21	10.03.2021	16:15	0	0	0	18,76	0,00	0,00	0,00
22	13.03.2021	15:00	3	0	3	18,76	0,16	0,00	0,16
23	28.03.2021	10:20	4	1	3	18,76	0,21	0,05	0,16
			2,304	0,391	1,913		0,123	0,021	0,102

Рисунок А. 3. Учет на участке «Аустрина»

Распределение кошек на участках

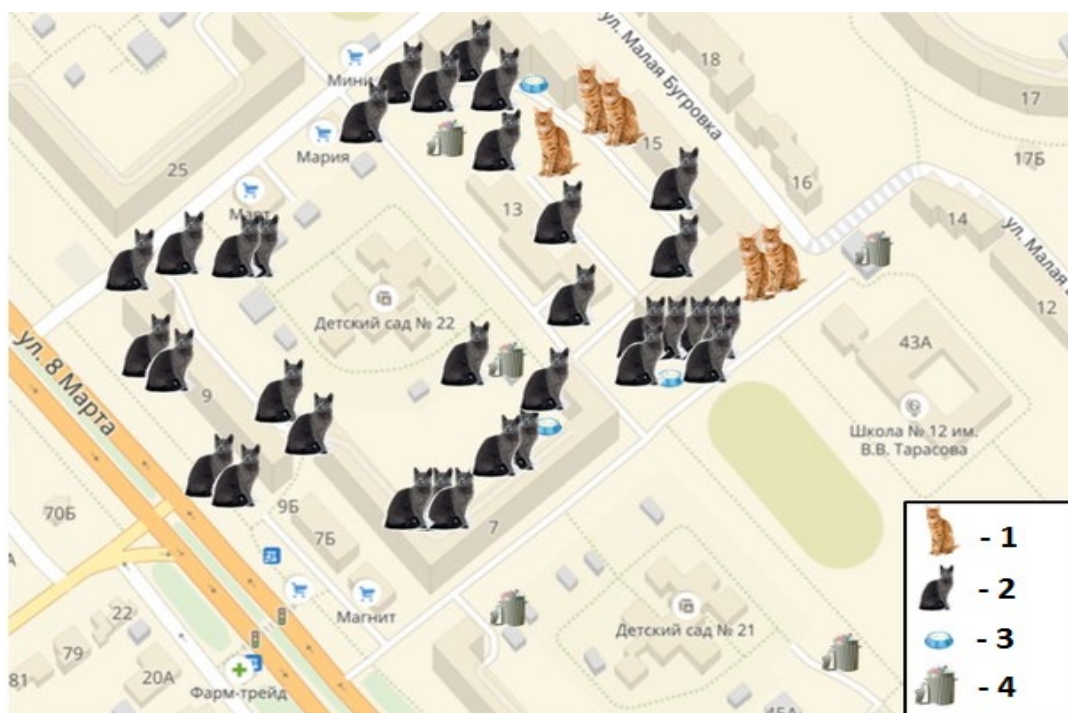


Рисунок Б. 1. Распределение кошек на участке «8 Марта»: 1 — домашняя кошка, 2 — бездомная кошка, 3 — место прикорма, 4 — мусорный бак

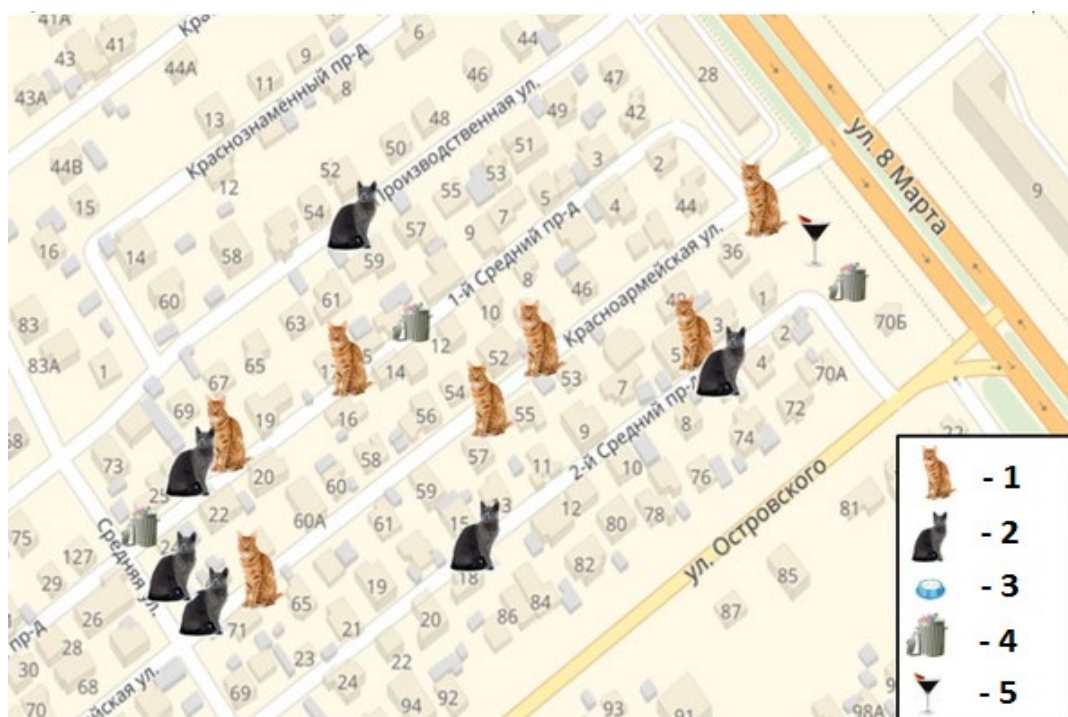


Рисунок Б. 2. Распределение кошек на участке «Красноармейская»: 1 — домашняя кошка, 2 — бездомная кошка, 3 — место прикорма, 4 — мусорный бак, 5 — ресторан

