

УДК 599.32, 574.24

СТРЕСС У КРАПЧАТЫХ СУСЛИКОВ (*SPERMOPHILUS SUSLICUS* GÜLD. 1770) ПРИ ПЕРЕСЕЛЕНИИ ИЗ ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ В УСЛОВИЯ ПОЛУВОЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ

© 2024 г. О. Н. Шекарова^a, Л. Е. Савинецкая^a, О. А. Бурканова^b,
Е. Н. Суркова^a, А. В. Чабовский^a, К. А. Роговин^{a*}

^a Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, Москва, 119071 Россия

^b ФГБУ “Государственный природный заповедник “Воронинский”, Тамбовская область, 393310 Россия

* e-mail: krogovin@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.09.2024

После доработки 17.09.2024

Принята к публикации 25.09.2024

Используя неинвазивный подход, мы оценивали изменения в уровне стрессированности у крапчатых сусликов при переселении их на новое место в условия полувольного содержания. Вольера площадью 0.16 га обеспечивала сусликам естественные условия и ресурсы, а также была защищена от хищников. Сначала, используя физиологическую валидацию (введение адрено-кортикотропного гормона), мы подтвердили пригодность коммерческого набора для иммуноферментного анализа на кортизол (ООО “ХЕМА”) для оценки глюокортикоидного ответа в фекалиях как показателя уровня стрессированности. Исходя из этого, индивидуальный уровень стрессированности оценивали по содержанию иммунореактивных метаболитов глюокортикоидов в фекалиях сразу после отлова в природе (фоновый уровень в донорской популяции), после транспортировки до выпуска в специально подготовленную уличную вольеру, через трое суток после выпуска и через месяц перед залеганием в спячку. Уже через трое суток после переселения уровень стрессированности у сусликов оказался ниже этого показателя на этапе транспортировки, но и не отличался значимо от фонового уровня в донорской популяции. Подтверждением успешной адаптации служит отсутствие падения массы тела у молодых зверьков в первые дни после переселения и их успешная нажировка перед залеганием в спячку. Учет сусликов после пробуждения весной 2024 г. показал, что 72.5% из них успешно перезимовали. Это превышает известные показатели в природе.

Ключевые слова: редкий вид, грызун, неинвазивные методы, метаболиты глюокортикоидов в фекалиях

DOI: 10.31857/S0044513424120046, **EDN:** tgrtby

Численность крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Güldenstädt 1770, Sciuridae, Rodentia) неуклонно сокращается. Этот процесс, начавшийся во второй половине XX века, и сегодня продолжается на большей части ареала вида (Сапельников, Сапельникова, 2021) как на территории России (Титов, 2001; Шилова и др., 2010; Шекарова, Савинецкая, 2019; Брандлер, 2021 и др.), так и за ее пределами (Загороднюк и др., 2005; Gondek, 2004; Русин, 2013; Ziόłek et al., 2017; Шокало, 2019; Abramchuk et al., 2021 и др.). Среди причин вымирания крапчатого суслика назывались: повсеместная распашка лугов, закраин полей, переход к стойловому содержанию крупного рогатого скота на фермах, отказ от содержания коров в домашних хозяйствах, зарастание покосов, палы сухой

травы на неиспользуемых землях (Лобков, 2006; Шокало, 2019; Сапельников, Сапельникова, 2021). Все это ведет к изменению качества свойственных виду местообитаний (Шилова и др., 2010). Немалое негативное значение могло сыграть использование ядохимикатов, поскольку десятилетиями вид считался вредителем сельского хозяйства (Шокало, 2019). Ныне крапчатый суслик занесен в Красный список МСОП (IUCN Red List (NT), Appendix II and Resolution No. 6 of the Bern Convention), в Красные книги государств и государственных административных областей.

В нашей стране меры охраны, принимаемые в традиционном формате, по-видимому, не способны остановить катастрофическое падение численности вида. Помимо разведения крапчатого суслика



Рис. 1. Вольера в заповеднике “Воронинский” (фото С.В. Павловой).

в питомниках и зоопарках, эффективной мерой для России может стать создание искусственных популяций сусликов в непосредственной близости от населенных пунктов, вблизи людей и под их защитой, в местах с низким прессом хищников (Сапельников, Сапельникова, 2021) с последующим расселением в естественные биотопы. Основанием для такого пути сохранения вида может быть предполагаемая способность крапчатого суслика легко преодолевать стрессовые ситуации, быстро адаптироваться к новым условиям, в том числе к соседству с человеком. Крапчатый суслик легко приручается (Сапельников, Сапельникова, 2021). В недавно проведенном болгарскими коллегами исследовании было показано, что уровень стрессированности переселенных на новое место близких к крапчатому европейским сусликам (*S. citellus*) начал неуклонно снижаться сразу после выпуска и в течение первого месяца стал ниже, чем у сусликов в донорской популяции (Kachamakova et al., 2021).

Переселение представителей угрожаемых видов на новое место для восстановления популяций – общепринятая в мире природоохранная практика – неизменно связана со стрессом. Манипуляции, связанные с отловом и переселением, в том числе транспортировка, как правило, вызывают острый стресс,

тогда как незнакомая среда и социальное окружение на новом месте, разрыв родственных и социальных связей потенциально могут вызвать хронический стресс, определяя в конечном итоге успех или неуспех переселения (Letty et al., 2007; Dickens et al., 2010). Поэтому при планировании и проведении переселения животных на новое место необходимо, по возможности, оценивать уровень их стрессированности (Kachamakova et al., 2021).

В статье описан проведенный нами эксперимент по переселению крапчатых сусликов из природной популяции в условия полувольного содержания в специально построенной в природной обстановке вольере, защищающей зверьков от наземных и пернатых хищников в организуемом на базе ФГБУ “Государственный природный заповедник “Воронинский” Центре сохранения и реинтродукции крапчатого суслика (Бурканова и др., 2024). Переселение в вольеру нацелено на создание устойчивой полувольной популяции для дальнейшего выпуска сусликов в природу. Для этого необходимо оценить способность вида адаптироваться к новым условиям – задача, решению которой посвящена статья. В частности, мы попытались оценить, насколько легко крапчатый суслик способен преодолеть стресс, связанный с переселением в ограниченную

Таблица 1. Половозрастной состав сусликов, переселенных из донорской популяции в вольеру на территории Государственного природного заповедника “Воронинский”

Половозрастная категория	Отловлено				Дополнительно	
	Всего для переселения в 2023 г.	Первый отлов		Взято для валидации		
		Выпущено в вольеру сразу				
Самцы взрослые	6	5		0	1	
Самки взрослые	13	5		0	8	
Самцы молодые	10	7		3	0	
Самки молодые	11	3		2	6	
Итого	40	20		5	15	

по площади вольеру. Эта задача решалась нами путем сравнения состояния животных сразу после отлова в природе, после транспортировки и передержки в индивидуальных отсадниках до выпуска в вольеру (первые сутки), через трое суток после выпуска и через месяц перед залеганием в спячку. В качестве характеристик состояния животных использовали массу тела и показатель стрессированности зверька – уровень иммунореактивных к антителам на кортизол метаболитов глюкокортикоидов (ИМГ) в фекалиях сусликов, собранных на каждом из означенных выше этапов исследования. Помимо этого, мы оценили успешность зимовки крапчатых сусликов в новых условиях.

Кортизол – глюкокортикоидный гормон стресса, вырабатываемый корой надпочечников. Из двух глюкокортикоидных гормонов (кортизол и кортикостерон) именно он доминирует у наземных белых роды *Spermophilus* (Boswell et al., 1994; Mateo, Cavigelli, 2005; Mateo, 2008; Delehanty, Boonstra, 2012 и др.), включая и близкого к крапчатому европейского суслика (Aschauer et al., 2006; Brenner et al., 2017; Kachamakova et al., 2021). Для оценки уровня стрессированности сусликов мы использовали не сыворотку крови, в которой присутствует нативный кортизол, а фекалии, где глюкокортикоид представлен в основном продуктами его метаболизма (Möstl, Palme, 2002; Palme et al., 2005). Поэтому сопутствующей задачей исследования была валидация применимости иммуноферментного анализа с использованием антител, специфичных к кортизолу, в коммерчески доступной тест-системе. Необходимость валидации методики обусловлена в том числе и видовыми различиями в выделении глюкокортикоидов в ответ на одни и те же стрессоры. Различия наблюдаются даже у близкородственных видов (Navarro-Castilla et al., 2021).

В последние десятилетия анализ содержания метаболитов глюкокортикоидов в фекалиях млекопитающих получил широкое распространение, поскольку сбор образцов для анализа исключает травмирование животного при отлове и манипуляциях с ним (Герлинская и др., 1993; Möstl, Palme, 2002; Touma, Palme, 2005; Palme, 2019 и др.).

Другое преимущество неинвазивного подхода обусловлено тем, что в фекалиях представлен сглаженный уровень метаболизированных глюкокортикоидов, который меньше зависит от краткосрочных стрессирующих воздействий, что предпочтительно при исследовании долгосрочных процессов (Touma, Palme, 2005; Колосова и др., 2008).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Донорская популяция. Источником для переселения послужила изолированная (далее донорская)

популяция крапчатого суслика на окраине города Липецка (52.6074° с.ш., 39.4408° в.д.), обитающая на площади около 60 га. Хотя мы не располагаем количественными оценками плотности донорской популяции, ее безусловно можно оценить как высокую. В поле зрения единовременно можно было наблюдать до 5–7 сусликов. Достаточно сказать, что при первом отлове в донорском поселении было выставлено 50 ловушек на площади около 15 га, и всего за 7 часов было поймано 45 сусликов. Вторая особенность донорской популяции – высокая рекреационная нагрузка: традиционно эту территорию регулярно посещает большое количество людей (Пиванова, Шубина, 2011).

Отлов и перевозка. Сусликов в донорском поселении (затем и в вольере) отлавливали цилиндрическими “Донскими” ловушками из металлической сетки (Лобков, 1999; Павлова, 1951), которые устанавливали в нору после ухода в нее суслика, а также сетчатыми ловушками конструкции Щипанова (1987) около нор на тропах с приманкой из семян подсолнечника. Пойманного суслика в течение 15 мин пересаживали в клетку для сбора фекалий (см. ниже). Суслики на территории отловов не боятся людей. Поэтому постоянные проверки ловушек не влияли отрицательно на активность зверьков. После сбора образцов фекалий сусликов помещали в индивидуальные 10-литровые отсадники из пластика с опилками и кормом, закрытые крышками из металлической сетки. В этих отсадниках животных перевозили и содержали до выпуска в вольеру. Отлов проводили дважды с 9 ч до 16 ч. Первый раз 04.07.2023 было отловлено 25 сусликов. Дополнительно 06 и 07.07.2023 для переселения были отловлены еще 15 сусликов (табл. 1). Время переселения (начало июля) выбрано с учетом особенностей годового цикла крапчатых сусликов: в это время большинство молодых зверьков, вышедших на поверхность в мае-июне, уже самостоятельны и расселяются или уже расселились (Titov, 2003). Среди молодых зверьков выбирали особей массой тела не менее 140 г, что исключало из выборки детенышей, недавно вышедших на поверхность. Учитывая, что залегание в спячку происходит в августе (Пиванова, Шубина, 2011), у переселенных зверьков оставалось 1.5–2 месяца для того, чтобы освоиться на новом месте и подготовиться к спячке. Кроме того, поскольку для крапчатого суслика характерна полигиния (Смирин, 2008), соотношение полов (самки: самцы) среди зверьков, выбранных для переселения, было сдвинуто в сторону самок (24: 16, табл. 1). Все отловленные суслики были перевезены в ФГБУ “Государственный заповедник “Воронинский” (Тамбовская обл., РФ, 52.3675° с.ш., 42.6052° в.д.). Транспортировка зверьков проводилась в прохладное время суток 04.07.2023 с 18 до 24 часов и 08.07.2023 с 4 до 9 часов.

Индивидуальное мечение. Сусликов при отлове метили магнитными чипами с индивидуальным номером: Animal ID Стандарт ISO: 11784/11785 1.25 × 7 мм (молодые суслики), 1.4 × 8 мм (взрослые суслики). Чипы вводили подкожно в область холки, место прокола заклеивали медицинским kleem БФ-6. Для визуального распознавания сусликов метили красителем для шерсти — урзолом черным.

Условия жизни переселенных сусликов. На территории заповедника на участке суходольного луга, где еще в конце XX века по свидетельствам местных жителей обитали крапчатые суслики, была подготовлена вольера размером 40 × 40 м, огороженная металлической сеткой с ячейй 2.5 × 2.5 см. Высота сетки над землей 2 м; сетка была закопана в землю на глубину 1.5 м. Сверху вольера по всей площади была накрыта нейлоновой сетью для защиты от пернатых хищников. Площадь вольеры была размечена на 64 квадрата (5 × 5 м) для удобства наблюдения (рис. 1). В центре каждого квадрата предварительно под углом 30°–45° к поверхности были пробурены норы диаметром 6 см и глубиной 80–90 см. Для европейского суслика было показано, что наклонные искусственные норы — важный фактор успеха переселения (Gedeon et al., 2012). Перед выпускком сусликов трава в вольере была скосена на высоту 3–4 см. В дальнейшем до залегания сусликов в спячку покос проводили 3 раза при достижении высоты травостоя 15–20 см ручной газонокосилкой на высоту 5 см. Как было показано, поддержание низкого травостоя при помощи кошения или выпаса скота способствовало успешному закреплению европейских сусликов в местах переселения (Matějů et al., 2012; Koshev et al., 2019). С момента заселения и до залегания в спячку сусликам давали дополнительную подкормку (яблоки, морковь, семечки подсолнечника, сухари), регулярно удаляя недоеденное.

На следующее утро после транспортировки (05.07.2024 с 11 до 12 ч) 20 сусликов из первой серии отлова (12 самцов и 8 самок) были выпущены в вольеру. Утренние часы, до пика дневной активности — наиболее подходящее время для выпуска, как было показано для европейского суслика (Gedeon et al., 2011). Пять сусликов (3 самца и 2 самки) были оставлены в индивидуальных клетках из металлической сетки для валидации методики оценки ИМГ в фекалиях. Эти суслики были выпущены в вольеру утром 09.07.23, то есть на пятые сутки после перевозки и завершения проведения с ними необходимых манипуляций (см. ниже). Восьмого июля утром в вольеру выпущены 15 дополнительно отловленных сусликов. Всего в июле 2023 г. в вольеру было переселено 40 сусликов (табл. 1). Плотность популяции в вольере, таким образом, составила 250 особей на 1 га. Это высокая плотность,

однако для крапчатого суслика, как в южных, так и в северных частях его ареала, показано, что местами плотность достигала в прошлом 200–300 и даже более особей на 1 гектар (Лобков, 1999; Чавовский и др., 2005; Бабицкий и др., 2006).

Сбор и хранение образцов фекалий. Образцы фекалий от каждого суслика после отлова в донорском поселении и вольере собирали, пересадив суслика максимально быстро в клетку (10 × 10 × 33 см) с сетчатым полом, под который подкладывали чистый лист флизелина для предупреждения намокания фекалий при попадании на них мочи. Сбор образцов продолжался в течение двух часов после попадания в ловушку. Двухчасовой лимит при сборе образцов должен был исключить эффект кратковременного стресса, вызванного манипуляциями с животным. Этот отрезок времени в 4 раза короче времени до статистически значимого превышения концентрации ИМГ в фекалиях после стрессового воздействия у рыжей полевки (Роговин, Найденко, 2010), в 7 раз короче такового у большой песчанки (Колосова и др., 2008). Двухчасовой период, в течение которого мы собирали образцы, также существенно короче времени прохождения пищи через желудочно-кишечный тракт у таких филогенетически удаленных, полностью или частично растительноядных видов, как кролик (3.8 ч), морская свинка (4.2 ч), серая крыса (7.2 ч), золотистый хомячок (3.3 ч) (Sakaguchi et al., 1987).

Для оценки динамики концентрации ИМГ образцы фекалий собирали четыре раза и только у сусликов из первой серии отлова: 1 — после отлова в донорской популяции, для характеристики фонового уровня стрессированности (04.07.23); 2 — после перевозки непосредственно перед выпуском (05.07.23); 3 — после отлова в вольере через трое суток после выпуска в нее и до выпуска второй партии сусликов (08.07.23); 4 — после отлова в вольере через месяц после выпуска, перед залеганием в спячку. На первых двух этапах пробы собирали у всех 25 сусликов, отловленных 04.07.23 (табл. 1). Сюда вошли и 5 молодых сусликов, которых использовали для валидации методики оценки уровня ИМГ (см. ниже). Эти 5 молодых отсутствовали среди отловленных через 3 суток после выпуска, поскольку были выпущены только 09.07. К сожалению, нам не удалось отлавливать всех сусликов на каждом из двух этапов после выпуска 04.07.23. Через трое суток было отловлено 17 сусликов, через месяц перед спячкой — 10 сусликов. На этом последнем этапе большинство взрослых уже залегли в спячку (отловлен только один взрослый самец).

Пробы фекалий помещали в индивидуальные бумажные пакетики и клади в проветриваемое сухое, защищенное от солнца место (дневные температуры в этот период составляли 27–30°C, аочные

до 15–22°C). Сразу после возвращения в лабораторию пробы досушивали в течение 12–16 часов при температуре +60°C в термостате. Пробы хранили при –20°C до дальнейшего анализа.

Сусликов взвешивали три раза с точностью до 1 г: 1 – при отлове в донорской популяции, 2 – через трое суток после выпуска в вольеру, 3 – через месяц после выпуска перед залеганием в спячку. На следующий день после отлова и переезда взвешивание не проводили, чтобы дополнительно не травмировать животных.

Валидация методики оценки уровня стрессированности сусликов по содержанию ИМГ в фекалиях. Наиболее точным и часто используемым методом проверки применимости коммерческих тест-систем для иммуноферментного анализа (ИФА), созданных для оценки содержания нативных глюкокортикоидов (кортизола или кортикостерона), является введение тестируемым животным адренокортикотропного гормона (АКТГ; Goymann et al., 1999; Touma, Palme, 2005; Sheriff et al., 2010; Роговин, Найденко, 2010; Palme, 2019). АКТГ вырабатывается передней долей гипофиза (в ответ на продукцию под влиянием стрессоров кортиколиберина в мозге) и по кровяному руслу направляется в кору надпочечников, где стимулирует выработку глюкокортикоидов. Если после инъекции АКТГ в образцах фекалий повысится уровень ИМГ, детектируемый тест-системой ИФА, то мы вправе считать, что тест-система ИФА пригодна для измерения уровня ИМГ и может быть использована для индикации уровня стрессированности у данного вида.

Пять молодых сусликов-сеголетков (2 самки и 3 самца) были отобраны для физиологической валидации метода. Этих зверьков после отлова в донорской популяции и перевозки не выпустили в общую вольеру 05.07.2023, а продолжали содержать в индивидуальных клетках из сетки. Образцы фекалий у каждого из пяти сусликов собирали при отлове 04.07.23 в донорской популяции (описано выше), после перевозки в заповедник 05.07.2023 (11:00–12:00), а также 06.07.2023 в 08:00, 12:00, 16:00 и 20:00. В 8 часов утра 07.07.2023 каждому животному сделали инъекцию синактена – синтетического АКТГ (Synacthen, Alphasigma, Nederland) внутримышечно в дозировке 40 мкг на 100 г веса (средняя дозировка для АКТГ-теста, Palme, 2019). Продолжали собирать фекалии еще двое суток в 8, 12, 16 и 20 часов, последний сбор 09.07.2023 в 8 часов утра. В дальнейшем пробы досушивали в течение 12–16 часов в термостате при температуре +60°C и хранили при –20°C.

Экстракция ИМГ. Экстракцию иммунореактивных глюкокортикоидов из фекалий проводили по стандартной процедуре (Павлова, Найденко, 2008) с небольшими изменениями: замороженные

фекалии измельчали в фарфоровой ступке пестиком, отмеряли аликвоты измельченных фекалий массой 0.1 г с точностью до 0.001 г на весах Ohaus (ScoutSPX 123) и переносили в микроцентрифужную пробирку 1.5 мл для дальнейшей экстракции. Далее в каждую пробирку добавляли 0.9 мл 80% метанола (наиболее пригодная концентрация для экстракции метаболитов ГК у млекопитающих, Palme et al., 2013) и экстрагировали 30 мин в ротационном шейкере (BioSanBio RS-24). Затем экстракты центрифугировали 10 мин при 1500 г (Eppendorf, Centrifuge 5424) и 400 мкл полученного супернатанта переносили в чистые пробирки. Поскольку метанол при проведении ИФА может влиять на аффинность антител и снижать чувствительность анализа, для снижения конечной концентрации метанола в пробе к полученному экстракту добавляли 400 мкл дистilledированной воды (Павлова, Найденко, 2008; Pribbenow et al., 2014). Экстракты хранили при –20°C до проведения ИФА.

Иммуноферментный анализ. Концентрацию ИМГ в фекалиях оценивали при помощи метода твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA). Мы использовали готовые коммерческие наборы фирмы ХЕМА (г. Москва) для определения кортизола в сыворотке крови в соответствии с инструкцией, за одним исключением. Поскольку мы работали не с сывороткой крови, а с экстрактами фекалий в метаноле, максимальный стандарт, поставляющийся с набором реагентов (2000 нмоль/л), пересчитывали в нг/г и разбавляли 40% метанолом так, чтобы первый стандарт соответствовал 400 нг/г, следующие стандарты получали разбавлением (40% метанолом) в 2 раза, а последний стандарт содержал только спирт (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0 нг/г). Конечная концентрации метанола в ячейке планшета (8%) не оказывала влияния на результат определения концентрации ИМГ. Каждое измерение в каждой пробе проводили дважды для определения коэффициента вариации, а для дальнейшей обработки принимали среднее значение. При величине коэффициента вариации более 5% для данного образца проводили повторные измерения. Коэффициент вариации составил в среднем 2.2.

Статистический анализ. Анализ результатов проведен с использованием пакета статистических программ Statistica 12.0. (Stat. Soft. Inc.).

Статистические оценки при валидации методики неинвазивной оценки уровня стрессированности по концентрации ИМГ в фекалиях сусликов проведены с помощью дисперсионного анализа для связанных измерений (Repeated Measures ANOVA). Использовали логарифмированные показатели ИМГ; в этом случае распределения не отличались от нормальных.

Поскольку значимые различия между полами в уровне ИМГ среди взрослых и среди молодых отсутствовали на каждом из этапов исследования (тест Манна-Уитни, $p > 0.05$) и выборки были ограниченного размера, анализ динамики уровня ИМГ был проведен без разделения по полу сначала для всей выборки (взрослые и молодые) и затем отдельно для сравнительно многочисленной выборки молодых особей.

В анализ динамики ИМГ вошли не все собранные у сусликов пробы фекалий. Пробы с недостаточным количеством субстрата (< 0.1 г) были исключены. Недостаточные для ИФА пробы были характерны для конца сезона, когда суслики уже мало потребляли корма: 6 проб из 12 были отбракованы по этой причине на последнем этапе, и лишь одна пробы – на всех предшествующих этапах. Кроме того, для семи проб анализ не получился по неясным причинам. Таким образом, в целом в статистический анализ вошло 65 проб. Размеры выборок для каждого из этапов указаны на рисунках.

Для анализа динамики массы тела и уровня ИМГ в пробах фекалий мы использовали смешанную линейную модель (Mixed General Linear Model, MGLM) с номером особи в качестве случайного фактора и фиксированного фактора “Этап” в качестве категориальной независимой переменной. В том случае, когда зависимой переменной был уровень ИМГ, переменная “Этап” включала четыре градации состояния животных: 1 – отловленных в донорской популяции перед транспортировкой (базовая характеристика); 2 – после транспортировки, непосредственно перед выпуском в вольеру; 3 – через трое суток после выпуска в вольеру и 4 – через месяц, перед залеганием в спячку. В случае, когда зависимой переменной была масса тела, модель включала три градации фиксированного фактора “Этап”, поскольку мы не взвешивали сусликов сразу после транспортировки перед выпуском. Данные по массе тела и концентрациям ИМК в фекалиях предварительно логарифмировали. Поскольку распределения логарифмов массы тела и показателя стрессированности не отличались визуально или статистически (критерий Шапиро-Уилка, Shapiro-Wilk Test) от нормальных, использование смешанной линейной модели мы сочли оправданным. Модель позволила учсть влияние повторно отлавливаемых сусликов и отдельно фиксированного фактора “Этап”. Post hoc сравнения проведены с помощью теста Тьюки (Tukey HSD Test).

Ввиду малого размера выборок, для сравнения несвязанных данных мы использовали непараметрический тест Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test), а для сравнения связанных измерений – парный тест Вилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Суточный ритм. Контроль уровня ИМГ у трех самцов и двух самок, содержавшихся в индивидуальных клетках 05–07.07.2023 до инъекции АКТГ, показал отсутствие у этих особей сколько-нибудь выраженной суточной вариации уровня ИМГ (рис. 2A, 2B). Единственное аномально низкое значение концентрации ИМГ у самца 39m в 16 ч 06.07.2023 едва ли можно интерпретировать как свидетельство проявления у него циркадного ритма адренокортичальной активности.

Валидация методики оценки стрессированности. Проверка пригодности тест-системы ИФА для оценки стрессированности крапчатых сусликов по пробам фекалий показала выраженные индивидуальные особенности ответа на АКТГ у каждой из пяти особей. Тем не менее все пять сусликов продемонстрировали отсроченный подъем концентрации ИМГ в фекалиях, пик которого наблюдался через 8–12 ч после инъекции АКТГ (рис. 2A, 2B), в среднем через 12 ч, рис. 3), а возвращение

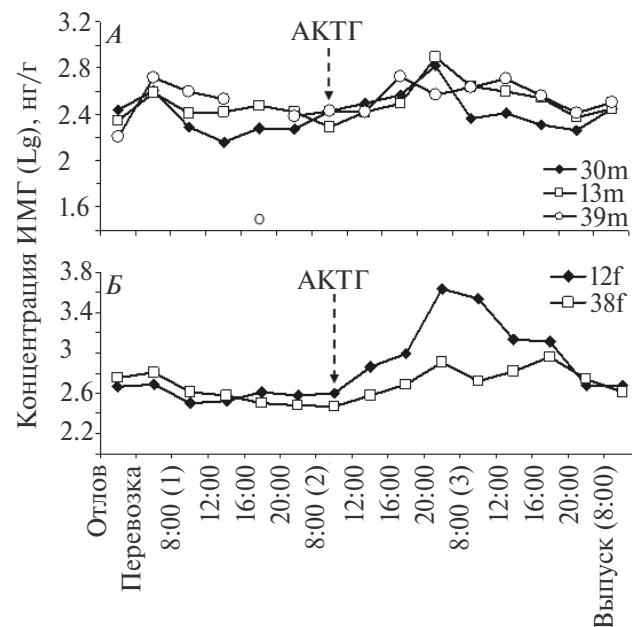


Рис. 2. Динамика уровня ИМГ у пяти крапчатых сусликов, использованных для валидации методики определения уровня ИМГ в фекалиях. Временной интервал включал отлов в донорской популяции (фоновый уровень стрессированности), транспортировку, передержку в клетках в течение последующих трех суток (с 07.07.2023 по 09.07.2023) и выпуск в вольеру утром на четвертые сутки. В скобках указан порядковый номер суток. *A* – самцы, *B* – самки. Аномально низкое значение ИМГ в пробе от самца 39m, взятой 07.07.2023 в 16 ч, показано отдельным кружком и не было включено в последующий анализ.

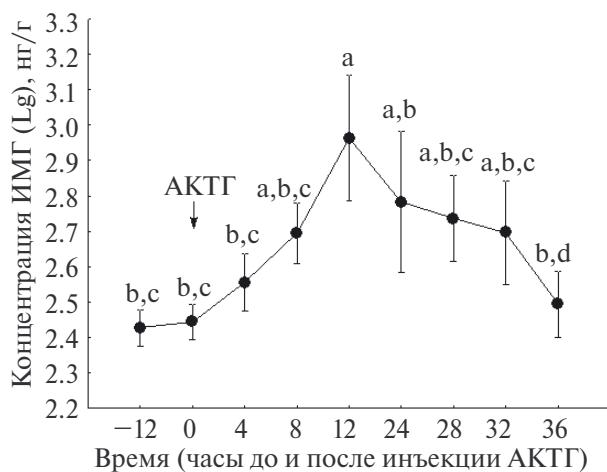


Рис. 3. Валидация методики неинвазивной оценки уровня ИМГ в фекалиях пяти крапчатых сусликов через оценку физиологического ответа на инъекцию адренокортикотропного гормона. Инъекция АКТГ каждому зверьку была сделана через сутки после перевозки сусликов к месту выпуска в 8 утра 07.07.2023 г. Приведены средние концентрации ИМГ и их ошибки. Однаковые латинские буквы показывают отсутствие значимых различий ($p > 0.05$, тест Тьюки).

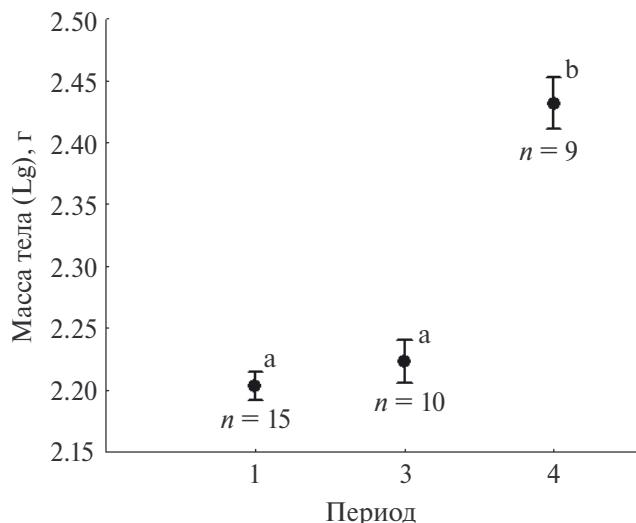


Рис. 4. Масса тела сеголетков крапчатых сусликов (среднее ± ошибка), отловленных в донорской популяции (1), через трое суток после перевозки и выпуска (3) и перед залеганием в спячку (4). Результат использования смешанной линейной модели (Mixed General Linear Model) с номером особи в качестве случайного фактора (random effect) и этапа в качестве категориального фиксированного фактора (fixed effect). Однаковые латинские буквы показывают отсутствие значимых различий ($p > 0.05$, тест Тьюки); n – размер выборки.

до уровня, предшествовавшего инъекции, или близкого к нему уровню наблюдалось у одного самца через сутки после инъекции, у остальных – к концу вторых суток (рис. 2A, 2B); в среднем – через 36 ч после инъекции (рис. 3). Дисперсионный анализ для повторяющихся измерений (Repeated Measure ANOVA) продемонстрировал наличие статистически значимого эффекта ($F_{8,32} = 6.3$, $p < 0.001$). Значимые отличия от пикового уровня ИМГ получены для уровня ИМГ за 12 ч до инъекции АКТГ, для уровня ИМГ непосредственно перед инъекцией и для уровня через 4 ч после инъекции АКТГ. Значимое падение уровня ИМГ зарегистрировано через 36 ч после пика (тест Тьюки: $p < 0.05$), когда уровень ИМГ опустился почти до базового уровня, предшествовавшего инъекции АКТГ и значимо от него не отличался (рис. 3). Отметим также, что на протяжении суток до инъекции АКТГ значимые изменения в уровне ИМГ отсутствовали ($F_{4,16} = 0.7$, $p = 0.61$). Подъем уровня ИМГ произошел именно в ответ на АКТГ и не был связан с вероятным суточным ритмом, поскольку в те же часы накануне инъекции повышения уровня ИМГ не было.

В свою очередь, транспортировка сказалась на уровне адренокортикальной активности. У каждого из трех самцов подъем уровня ИМГ был выше, чем у каждой из двух самок. У всех пяти сусликов

наблюдалось значимое повышение уровня ИМГ после перевозки по сравнению с показателем фонового уровня ИМГ непосредственно после отлова (тест Вилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test): $Z = 2.0$, $N_1 = N_2 = 5$, $p = 0.04$), а также при сравнении уровня ИМГ после перевозки с уровнем ИМГ утром следующего дня (через сутки), через 28 и 32 часа (тест Вилкоксона: $Z = 2.0$, $N_1 = N_2 = 5$, $p = 0.04$ во всех случаях). Повышение уровня ИМГ в результате перевозки может рассматриваться как биологический тест, также подтверждающий валидность использованной нами методики оценки стрессированности крапчатых сусликов по пробам фекалий (Palme et al., 2005; Touma, Palme, 2005).

Динамика массы тела и уровня стрессированности у переселенных сусликов. Масса тела взрослых сусликов при отлове составляла 295 ± 15 г (среднее и ошибка), а после переселения через трое суток после выпуска уменьшилась до 272 ± 13 г (тест Вилкоксона: $Z = 2.0$; $N_1 = N_2 = 7$; $p = 0.04$). У молодых сусликов изменения массы тела не произошло (167 ± 6 г при отлове и 168 ± 7 г через трое суток после выпуска (тест Вилкоксона: $Z = 0.4$; $N_1 = N_2 = 10$; $p = 0.7$). Анализ динамики массы тела молодых сусликов-сеголетков с помощью смешанной линейной модели с номером особи в качестве случайного фактора и этапа исследования в качестве

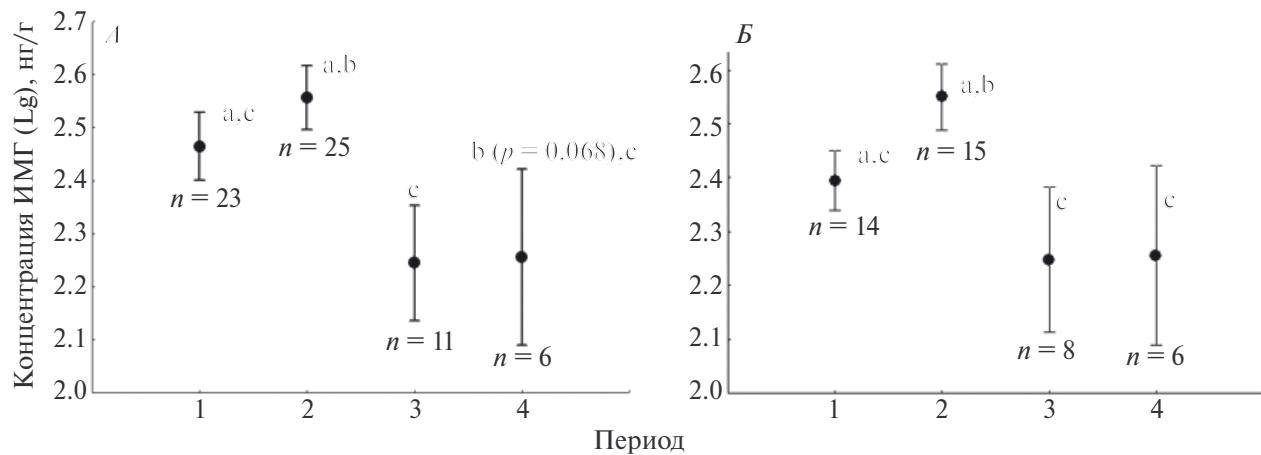


Рис 5. Уровень ИМГ (среднее ± ошибка) на разных этапах эксперимента у крапчатых сусликов, изъятых из донорской популяции: *A* – все особи ($F_{3,32} = 4.1, p = 0.014$), *B* – сеголетки ($F_{3,21} = 6.3, p = 0.003$). 1 – сразу после отлова (фоновый уровень стрессированности), 2 – после перевозки, 3 – через трое суток после выпуска в вольеру, 4 – перед залеганием в спячку. Приведен результат использования смешанной линейной модели (Mixed General Linear Model) с номером особи в качестве случайного фактора (random factor) и этапа в качестве категориального фиксированного фактора (fixed effect). Однократные латинские буквы показывают отсутствие значимых различий ($p > 0.05$, тест Тьюки); *n* – размер выборки.

Таблица 2. Сравнение уровней ИМГ (нг/г) в фекалиях взрослых и молодых крапчатых сусликов на разных этапах

Возраст, показатель	Отлов								
	Фоновый уровень			После перевозки			Через трое суток после выпуска		
	Среднее ± E	N	Медиана (мин. – макс.)	Среднее ± SE	N	Медиана (мин. – макс.)	Среднее ± SE	N	Медиана (мин. – макс.)
Взрослые	497.5±100.3	9	534 (65–1001)	520.4±141.0	9	285 (99–1133)	210.6±77.1	3	239 (65–328)
Молодые	277.3±37.8	14	214 (145–560)	407.6±52.3	16	373 (138–822)	222.2±42.1	8	214 (24–406)
Статистика: M-W-U test	$Z = 1.76; p = 0.077$			$Z = 0.339; p = 0.734$			$Z = -0.204; p = 0.838$		

N – размер выборки.

фиксированной (категориальной зависимой) переменной показал наличие статистически значимого эффекта как номера особи ($F_{20,11} = 5.1, p < 0.01$), так и этапа исследования ($F_{2,11} = 69.66, p < 0.001$). Средняя масса тела сеголетков перед залеганием в спячку составила 274 ± 16 г ($N = 9$) и была существенно более высокой по сравнению с этим показателем при первом отлове в донорской популяции и при отлове в вольере спустя трое суток после выпуска (тест Тьюки: $p < 0.001$) (рис. 4). Единственный взрослый самец, не залегший через месяц после выпуска в спячку, весил 390 г.

В донорской популяции на этапе отлова животных уровень стрессированности (ИМГ в фекалиях) был значимо выше у взрослых особей по сравнению с молодыми, однако после перевозки перед выпуском в вольеру, а также через трое суток после

выпуска различий между взрослыми и молодыми не было (табл. 2). Анализ динамики уровня ИМГ в фекалиях у переселенных сусликов с помощью смешанной линейной модели с номером особи в качестве случайного фактора и этапа исследования в качестве фиксированной переменной показал наличие статистически значимого эффекта как номера особи ($F_{32,29} = 2.2, p = 0.015$), так и этапа ($F_{3,32} = 4.1, p = 0.014$). Парные post hoc сравнения (тест Тьюки) показали наличие значимо меньшего уровня стрессированности уже через трое суток после перевозки и выпуска ($p = 0.011$) и тенденции к меньшей стрессированности перед залеганием в спячку по сравнению с этапом перевозки ($p = 0.069$) (рис. 5*A*). Результат такого же анализа только для молодых особей оказался сходным, но с более высокой статистической поддержкой,

и показал наличие статистически значимого эффекта как номера особи ($F_{21,19} = 3.04, p = 0.007$), так и номера этапа ($F_{3, 21} = 6.3, p = 0.003$). Парные post hoc сравнения продемонстрировали наличие значительно меньшего уровня стрессированности молодых сусликов как через трое суток после перевозки и выпуска ($p = 0.013$), так и перед залеганием сусликов в спячку ($p = 0.032$) по сравнению с этапом перевозки (рис. 5Б). Наиболее важно, однако, то, что уже через трое суток после перевозки и выпуска уровень стрессированности сусликов значительно отличался от уровня в донорской популяции. Значимые различия отсутствовали и при сравнении уровня ИМГ у сусликов в донорской популяции и перед залеганием в спячку (рис. 5А, 5Б).

Зимовка переселенных сусликов. В июле 2023 г. в вольеру Воронинского заповедника было выпущено 40 сусликов. К середине августа 2023 г. все суслики залегли в спячку. Первая открывшаяся нора-веснянка обнаружена 26 марта 2024 г., а 31 марта в вольере было уже 20 открытых нор. С 11 по 14 апреля нами было отловлено в вольере и помечено урзолом для визуального опознавания 25 сусликов, что составляет 62.5% от выпущенных в вольеру. Среди них было 8 самцов (50% от числа переселенных) и 17 самок (68%). В результате визуального учета сусликов в период их максимальной активности 14 апреля с 16:10 до 16:25 на поверхности был зарегистрирован 21 суслик. Из них помеченных красителем – 18 особей (72%). Расчетное число успешно перезимовавших сусликов составило 29 особей из 40 выпущенных в вольеру в 2023 г. (72.5%).

ОБСУЖДЕНИЕ

Общепринятой практикой при решении задач восстановления популяций угрожаемых видов является переселение животных. Это неизбежно сопряжено со стрессом, не только острым, связанным непосредственно с перевозкой и сопутствующими манипуляциями, но и с хроническим, который часто имеет кумулятивную природу и может быть вызван разрывом родственных, социальных связей, новой экологической и социальной средой (Letty et al., 2007; Dickens et al., 2010). Хронический стресс влияет на репродуктивные, иммунные функции, когнитивные способности перемещенных животных, тормозит или делает невозможной адаптацию в новых условиях (Teixeira et al., 2007). Оценивать, насколько легко животные преодолевают стресс, связанный с переселением на новое место, – важная и даже необходимая задача при переселении редких видов с целью создания новых популяций. Однако мало кто из исследователей эту задачу намечает (Teixeira et al., 2007; Kachamakova et al., 2021).

Мы попытались это сделать в рамках эксперимента по созданию полувольной популяции крапчатого суслика. Проведенная валидация методики определения концентрации иммунореактивных метаболитов глюкокортикоидов в фекалиях сусликов подтвердила возможность использования коммерчески доступного набора ИФА для анализа кортизола в сыворотке крови (ООО “Хема”) у крапчатых сусликов. Повышение уровня ИМГ после перевозки по сравнению с состоянием на этапе отлова (отражавшим предшествующий уровень ИМГ) мы отчетливо наблюдали на стандартизированной выборке из пяти молодых сусликов. Инъекция им же АКТГ провоцировала отсроченный статистически значимый подъем концентрации ИМГ. Это дало нам возможность оценивать у сусликов индивидуальный уровень стрессированности по пробам фекалий и позволяет другим исследователям неинвазивно оценивать уровень стрессированности в природных и искусственных популяциях этого краснокнижного вида с помощью ИФА, и при использовании коммерческих наборов компании Хема.

Важный результат нашего исследования состоит в том, что после перевозки и сопутствующих манипуляций, которые в совокупности должны вызывать острый стресс, (Letty et al., 2007), уже через трое суток уровень стрессированности у сусликов не только значительно снизился, но и перестал отличаться от фонового уровня в донорской популяции. Срок в трое суток после перевозки и выпуска мог оказаться недостаточным для оценки хронического уровня стрессированности возможного в новых условиях вольерного содержания. Высокий уровень стрессированности мог сохраняться в течение более длительного времени, мог снижаться медленно или даже возрасти. Известно, что острый стресс повышает толерантность к новым стрессорам, в частности таким, как новизна и сопутствующая ей непредсказуемость обстановки (Burgne et al., 2020). В свою очередь хронический стресс подавляет глюкокортикоидную реакцию на новые стрессоры (Rich, Romero, 2005). Однако именно то, что снижение уровня стрессированности до фонового уровня в донорской популяции произошло уже за трое суток, может свидетельствовать о быстром привыкании крапчатого суслика к новым условиям, которые сами по себе могут вызывать хронический стресс, негативно влияя на физическое состояние, здоровье, размножение и, в итоге, на успех переселения (Dickens et al., 2009, 2010).

В имеющихся на сегодня единичных работах по исследованию стресса в связи с переселением у мелких млекопитающих показано, что физиологическая адаптация к новым условиям происходит быстро. Так, у переселенных серых белок (*Sciurus carolinensis*) динамика концентрации ИМГ

в фекалиях не отличалась от динамики этого показателя у белок в донорской популяции (Bosson et al., 2013). У европейского суслика в Болгарии – филогенетически близкого крапчатому суслику вида – уровень стрессированности был высоким лишь в первые 10 дней после переселения и лишь у некоторых зверьков, и в течение месяца, неуклонно снижаясь, он стал ниже, чем у резидентов (Kachamakova et al., 2021). Снижение стрессированности до фонового уровня (как мы наблюдаем у крапчатого суслика) или даже ниже (как у европейского) указывает именно на адаптацию к новым условиям, а не просто на восстановление после острого стресса, вызванного переселением (Kachamakova et al., 2021). В противном случае восстановление было бы заторможенным или вообще не происходило бы.

Уровень стрессированности у остававшихся активными перед залеганием в спячку в августе молодых крапчатых сусликов также не отличался от фонового уровня в донорской популяции в начале июля. Интерпретировать этот результат в контексте адаптации сложно, поскольку у нас нет сравнительных данных об уровне стрессированности в донорской популяции перед залеганием в спячку. Повышение уровня глюкокортикоидов может быть сопряжено с интенсивным накоплением жировых запасов к концу сезона активности. Так, у золотистой земляной белки (*Spermophilus saturatus*) уровень кортизола постепенно снижался в течение первой половины активного сезона у представителей обоих полов, но позже увеличивался до сезонного максимума в конце сезона, совпадающего с пиком увеличения массы тела (Boswell et al., 1994). У свободноживущих сусликов Белдинга (*Spermophilus beldingi*) концентрация кортикостерона повышалась в течение активного сезона. Годовой пик концентрации кортизола в плазме крови наблюдался непосредственно перед увеличением массы тела, связанным с накоплением жира перед спячкой (Nunes et al., 2006). Повышенный уровень стрессированности скорее всего обусловлен перестройкой физиологии на интенсивную подготовку к гибернации и не обязательно должен совпадать по времени с залеганием в спячку (Sheriff et al., 2012). Именно с таким предгибернациональным состоянием сусликов мы скорее всего столкнулись, поскольку на последнем этапе отловов взрослые суслики уже залегли, а сеголетки уже накопили запас жира. Интересно, что у переселенных европейских сусликов уровень стрессированности в конце активного сезона заметно снизился в отличие от резидентов (Kachamakova et al., 2021). Тем не менее, с учетом высокой массы тела молодых сусликов, отсутствие у них отличия в уровне ИМГ от уровня в донорской популяции косвенно указывает на их хорошее состояние перед спячкой.

Побочный, но важный результат исследования динамики стрессированности крапчатых сусликов в процессе переселения – наличие устойчивых межиндивидуальных различий в уровне ИМГ. На это указывает значимый эффект номера особи (случайного фактора) в смешанных моделях, свидетельствующий о том, что межиндивидуальные различия в уровне ИМГ выражены сильнее, чем изменчивость повторных измерений ИМГ у одной и той же особи – признак персональности (Dingemanse, Dochtermann, 2013). Индивидуальность в паттерне динамики ИМГ хорошо видна на рис. 2. До сих пор устойчивые межиндивидуальные различия в стресс-реактивности были показаны в очень небольшом количестве исследований (Carere et al., 2003; Cockrem, 2013; Qu et al., 2018; Surkova et al., 2024).

Отсутствие падения массы тела у молодых зверьков после перевозки и их успешная наживка перед залеганием служат подтверждением успешной адаптации. Достигнутая сеголетками масса тела (274 г) в августе была даже выше, чем масса тела сусликов в донорской популяции в аналогичный период (Проявка и др., 2017). Не было обнаружено различий в динамике массы тела между переселенцами и резидентами и у европейского суслика (Kachamakova et al., 2021).

Очевидно, что низкий уровень стрессированности и нормальный набор массы после переселения говорят не только о присущей крапчатым сусликам, как и другим беличьим (Bosson et al., 2013; Kachamakova et al., 2021), способности быстро адаптироваться к новой незнакомой среде, но и об адекватности процедуры переселения и хороших условиях, созданных в вольере. Сочетание этого и другого обеспечило успешную перезимовку сусликов (72.5%). Хотя в публикациях отмечается, что смертность во время спячки у видов – гибернаторов, такие как сурки и суслики, ниже, чем в период активности (Калабухов, 1985; Neuhaus, Pelletier, 2001), опубликованные данные все же говорят о возможности высокой смертности в этот период. Документированная зимняя смертность крапчатого суслика в Польше достигала 63% (Surdasky, 1968 – цит. по: Лобков, 1999). Данные по европейскому суслику в Чешской Республике также подтверждают высокую смертность во время зимней спячки; так, смертность взрослых самцов зимой 2002–2003 и 2003–2004 гг. составляла 20 и 87.5% соответственно, взрослых самок – 25 и 80%, а смертность молодых сусликов в зимний период в эти годы была стабильно высокой 83.3–90.9% (Matějů, 2008). В одном из экспериментов по переселению европейских сусликов в Болгарию выживаемость составила всего 10%, и в результате новая колония быстро вымерла

(Koshev et al., 2019). В целом по всей Европе переселения европейских сусликов приводят к успеху лишь в 50% случаев (Matějů et al., 2012).

Таким образом, согласно полученным нами результатам, формирование благополучной полувольной популяции крапчатого суслика в условиях ограниченного пространства и высокой плотности возможно. У нас есть веские основания считать, что, первый эксперимент по созданию такой полувольной популяции на его первом этапе прошел успешно, а разработанная методология переселения может быть использована для создания новых полувольных популяций этого краснокнижного вида. Полученные данные о снижении уровня ИМГ в фекалиях, успешной нажировке и перезимовке сусликов подтверждают возможность их быстрой адаптации к новым условиям жизни.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают глубокую благодарность Сергею Федоровичу Сапельникову и Инне Игоревне Сапельниковой за помощь в организации работы по переселению сусликов и при отлове зверьков, сотрудникам Воронинского заповедника и особенно Сергею Валентиновичу Скобееву, без технической и моральной поддержки которых эта работа была бы невозможной, Аркадию Борисовичу Савинецкому за многократную и разностороннюю помощь в процессе подготовки и организации работы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственной программы исследований Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова “Наземные экосистемы – структура и функционирование”, FFEP-2024-0018.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Работы одобрены комиссией по биоэтике ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, протоколы № 73 от 03.07.2023 и № 73а от 01.04.2024. Отлов крапчатых сусликов в донорском поселении (г. Липецк) проведен в соответствии с разрешением Росприроднадзора № 053 от 21.04.2023.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Бабицкий А.Ф., Чабовский А.В., Савинецкая Л.Е., 2006. Плата за размножение у самок крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Giild., 1770) // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Т. 111. № 5. С. 80–84.*

*Брандлер О.В., 2021. Крапчатый суслик *Spermophilus suslicus* Guldenstadt, 1770 // Красная книга Российской Федерации. С. 968–970.*

*Бурканова О.А., Чабовский А.В., Сапельников С.Ф., Сапельникова И.И., Батова О.Н., Скобеев С.В., Савинецкая Л.Е., Шекарова О.Н., 2024. Крапчатый суслик (*Spermophilus suslicus* Güld., 1770) возвращается в Тамбовскую область (организация Центра сохранения и реинтродукции крапчатого суслика в Воронинском заповеднике) // Материалы XIII Всероссийского популяционного семинара с международным участием памяти Н.В. Глотова (к 85-летию со дня рождения) «Проблемы популяционной биологии» (Нижний Тагил, 9–11 апреля 2024 года). В печати.*

Герлинская Л.А., Мошкин М.П., Евсиков В.И., 1993. Методические подходы к оценке стрессированности диких млекопитающих // Экология. № 6. С. 97–100.

*Загороднюк И., Дикий И., Сребродольская Е., 2005. Современное распространение и ретроспективный анализ ареала крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus*) на западе Украины // Суслики Евразии (Роды *Spermophilus*, *Spermophilopsis*). М.: Товарищество научных изданий КМК. С. 37–39.*

Калабухов Н.И., 1985. Спячка млекопитающих. М.: Наука. С. 1–258.

*Колосова И.Е., Роговин К.А., Мошкин М.П., 2008. Возможности и ограничения неинвазивной оценки уровня стресса на основе определения глюкокортикоидов в фекалиях большой песчанки (*Rhomomys opimus*) // Зоологический журнал. Т. 87. № 1. С. 104–113.*

Лобков В.А., 1999. Крапчатый суслик Северо-Западного Причерноморья: биология, функционирование популяций. Одесса: Астропринт. 272 с.

*Лобков В.А., 2006. Экологические причины изменений численности и распространения крапчатого суслика *Spermophilus suslicus* (Güldenstaedt, 1770) // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Т. 111. № 5. С. 59–64.*

Павлова Е.А., 1951. Суслик. Библиотека промысл. охотника. М.: Заготиздат. 80 с.

*Павлова Е.В., Найденко С.В., 2008. Неинвазивный мониторинг глюкокортикоидов в экскрементах дальневосточного лесного кота (*Prionailurus bengalensis euptilurus*) // Зоологический журнал. Т. 87. № 11. С. 1375–1381.*

*Пиванова С.В., Шубина Ю.Э., 2011. Экологические особенности локальной популяции крапчатого суслика *Spermophilus suslicus* (Güldenstaedt 1770), населяющей городское кладбище // Региональные геосистемы. Т. 14. С. 134–140.*

*Проявка С.В., Шубина Ю.Э., Савинецкая Л.Е., Шекарова О.Н., 2017. Морфологическая характеристика крапчатого суслика *Spermophilus suslicus* Центральной части европейской России // Известия*

- высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. Т. 2. С. 3–10.
- Роговин К.А., Найденко С.В.*, 2010. Неинфекционная оценка стрессированности рыжих полевок (*Myodes glareolus*, Rodentia, Cricetidae) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) // Зоологический журнал. Т. 89. № 11. С. 1380–1386.
- Русин М.Ю.*, 2013. Редкие и исчезающие виды грызунов степной зоны Восточной Украины. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Киев. 22 с.
- Сапельников С.Ф., Сапельникова И.И.*, 2021. Ретроспективный анализ состояния популяций крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Güldenstädt, 1770) в Центральном Черноземье с сопредельными территориями и возможные пути сохранения вида // Полевой журнал биолога. Т. 3. № 2. С. 167–212.
- Смирин В.М.*, 2008. Портреты степных зверей Европы и Северной Азии (Сост. А.И. Олекsenko, А.В. Зименко, П.П. Дмитриев, Е.В. Зубчанинова). М.: Изд-во Центра охраны дикой природы. 92 с.
- Титов С.В.*, 2001. Современное распространение и изменение численности крапчатого суслика в восточной части ареала // Зоологический журнал. Т. 80. № 2. С. 230–235.
- Чабовский А.В., Бабицкий А.Ф., Савинецкая Л.Е.*, 2005. Регуляция годового цикла и смертности в популяции крапчатого суслика на севере ареала в зависимости от плотности // Доклады Академии наук. Т. 405. № 4. С. 571–573.
- Шекарова О.Н., Савинецкая Л.Е.*, 2019. Крапчатый суслик в Московской области (ретроспективный анализ) // В кн.: Млекопитающие России: фаунистика и вопросы териогеографии. Материалы конференции (Ростов-на-Дону, 17–19 апреля 2019 г.) М.: Товарищество научных изданий КМК. С. 321–324.
- Шилова С.А., Неронов В.В., Шекарова О.Н., Савинецкая Л.Е.*, 2010. Динамика поселений крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Guld., 1770) на северной границе ареала // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. № 5. С. 619–624.
- Шокало С.И.*, 2019. О состоянии крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus*) в Центральной Беларуси. С. 208–215. / Проблемы зоокультуры и экологии. Вып. 3. Ред. Остапенко В.А. // Сборник научных трудов. М.: ГАУ «Московский зоопарк»; ЕАРАЗА; СОЗАР: Изд. «ЗооВетКнига». 264 с.
- Щипанов Н.А.*, 1987. Универсальная живоловка для мелких млекопитающих // Зоологический журнал. Т. 66. № 5. С. 759–761.
- Abramchuk A., Shokalo S., Yamkevich Y.*, 2021. The speckled ground squirrel (*Spermophilus suslicus*) in Belarus: new localities, old threats, and prospects of conservation // Theriologia Ukrainica. V. 21. P. 84–90.
- Aschauer A., Hoffmann I.E., Millesi E.*, 2006. Endocrine profiles and reproductive output in European ground squirrels after unilateral ovariectomy // Animal Reproduction Science. V. 92. № 3–4. P. 392–400.
- Byrne K.A., Peters C., Willis H.C., Phan D., Cornwall A., Worthy D.A.*, 2020. Acute stress enhances tolerance of uncertainty during decision-making // Cognition. V. 205. P. 104448.
- Bosson C.O., Palme R., Boonstra R.*, 2013. Assessing the impact of live-capture, confinement, and translocation on stress and fate in eastern gray squirrels // Journal of Mammalogy. V. 94. № 6. P. 1401–1411.
- Boswell T., Woods S.C., Kenagy G.J.*, 1994. Seasonal changes in body mass, insulin, and glucocorticoids of free-living golden-mantled ground squirrels // General and Comparative Endocrinology. V. 96. P. 339–346.
- Brenner M., Turrini T., Millesi E.*, 2017. Stress load in European ground squirrels living in habitats with high and low human impact: Stress load in European ground squirrels living in habitats with high and low human impact // Journal of Wildlife and Biodiversity. V. 1. № 2. P. 94–109.
- Carere C., Groothuis T.G.G., Möstl E., Daan S., Koolhaas J.M.*, 2003. Fecal corticosteroids in a territorial bird selected for different personalities: daily rhythm and the response to social stress // Hormones and Behaviour. V. 43. P. 540–548.
- Cockrem J.F.*, 2013. Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals // General and Comparative Endocrinology. V. 181. P. 45–58.
- Delehanty B., Boonstra R.*, 2012. The benefits of baseline glucocorticoid measurements: maximal cortisol production under baseline conditions revealed in male Richardson's ground squirrels (*Urocitellus richardsonii*) // General and Comparative Endocrinology. V. 178. № 3. P. 470–476.
- Dickens M.J., Delehanty D.J., Romero L.M.*, 2009. Stress and translocation: alterations in the stress physiology of translocated birds // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. V. 276. № 1664. P. 2051–2056.
- Dickens M.J., Delehanty D.J., Romero L.M.*, 2010. Stress: an inevitable component of animal translocation // Biological Conservation. V. 143. № 6. P. 1329–1341.
- Dingemanse N.J., Dochtermann N.A.*, 2013. Quantifying individual variation in behaviour: mixed-effect modelling approaches // Journal of Animal Ecology. V. 82. P. 39–54.
- Gedeon C.I., Boross G., Németh A., Altbäcker V.*, 2012. Release site manipulation to favour European ground squirrel *Spermophilus citellus* translocations: translocation and habitat manipulation // Wildlife Biology. V. 18. № 1. P. 97–104.
- Gedeon C.I., Vácz O., Koósz B., Altbäcker V.*, 2011. Morning release into artificial burrows with retention caps facilitates success of European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) translocations // European Journal of Wildlife Research. V. 57. P. 1101–1105.

- Gondek A., 2004. Sytuacja susla perelkowanego w Polsce – zagrożenia i program ochrony // Biuletyn Monitoringu Przyrody. № 1/2004. P. 21–27.
- Goymann W., Mostl E., Van't Hof T., East M.L., Hofer H., 1999. Noninvasive fecal monitoring of glucocorticoids in spotted hyenas, *Crocuta crocuta* // General and Comparative Endocrinology. V. 114. № 3. P. 340–348.
- Kachamakova M., Koshev Y., Millesi E., 2021. Resident European ground squirrels exhibit higher stress levels than translocated individuals after conservation reinforcement // Mammalian Biology. V. 101. P. 127–136.
- Koshev Y., Kachamakova M., Arangelov S., Ragyov D., 2019. Translocations of European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) along altitudinal gradient in Bulgaria—an overview // Nature Conservation. V. 35. P. 63–95.
- Letty J., Marchandea S., Aubineau J., 2007. Problems encountered by individuals in animal translocations: lessons from field studies // Ecoscience. V. 14. P. 259–271.
- Mateo J.M., 2008. Inverted-U shape relationship between cortisol and learning in ground squirrels // Neurobiology of Learning and Memory. V. 89. № 4. P. 582–590.
- Mateo J.M., Cavigelli S.A., 2005. A validation of extraction methods for noninvasive sampling of glucocorticoids in free-living ground squirrels // Physiological and Biochemical Zoology. V. 78. № 6. P. 1069–1084.
- Matějů J., 2008. Ecology and space use in a relict population of the European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) at the north-western edge of its distribution range // Lynx. V. 39. № 2. P. 263–276.
- Matějů J., Říčanová Š., Poláková S., Ambros M., Kala B., Matějů K., Kratochvíl L., 2012. Method of releasing and number of animals are determinants for the success of European ground squirrel (*Spermophilus citellus*) reintroductions // European Journal of Wildlife Research. V. 58. P. 473–482.
- Möstl E., Palme R., 2002. Hormones as indicators of stress // Domestic animals endocrinology. V. 23. № 1. P. 67–74.
- Navarro-Castilla Á., Garrido M., Hawlena H., Barja I., 2021. Non-invasive monitoring of adrenocortical activity in three sympatric desert gerbil species // Animals. V. 11. № 1. P. 75.
- Neuhaus P., Pelletier N., 2001. Mortality in relation to season, age, sex, and reproduction in Columbian ground squirrels (*Spermophilus columbianus*) // Canadian Journal of Zoology. V. 79. P. 465–470.
- Nunes S., Pelz K.M., Muecke E.M., Holekamp K.E., Zucker I., 2006. Plasma glucocorticoid concentrations and body mass in ground squirrels: seasonal variation and circannual organization // General and Comparative Endocrinology. V. 146. № 2. P. 136–143.
- Palme R., Rettenbacher S., Touma C., El-Bahr S.M., Mostl E., 2005. Stress hormones in mammals and birds. Comparative aspect regarding metabolism, excretion, and non-invasive measurement in fecal samples // Annals of the New York Academy of Sciences journal. V. 1040. № 1. P. 162–171.
- Palme R., Touma C., Arias N., Dominchin M.F., Lepschy M., 2013. Steroid extraction: get the best out of faecal samples // Wiener Tierarztliche Monatsschrift. № 100. P. 238–246.
- Palme R., 2019. Non-invasive measurement of glucocorticoids: Advances and problems // Physiology and Behavior. № 199. P. 229–243.
- Pribbenow S., Jewgenow K., Vargas A., Serra R., Naidenko S., Dehnhard M., 2014. Validation of an enzyme immunoassay for the measurement of faecal glucocorticoid metabolites in Eurasian (*Lynx lynx*) and Iberian lynx (*Lynx pardinus*) // General and Comparative Endocrinology. V. 206. P. 166–177.
- Qu J., Fletcher Q.E., Réale D., Li W., Zhang Y., 2018. Independence between coping style and stress reactivity in plateau pika // Physiology and Behavior. V. 197. P. 1–8.
- Rich E.L., Romero L.M., 2005. Exposure to chronic stress downregulates corticosterone responses to acute stressors // American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. V. 288. № 6. P. R1628–R1636.
- Sakaguchi E.I., Itoh H., Uchida S., Horigome T., 1987. Comparison of fibre digestion and digesta retention time between rabbits, guinea-pigs, rats and hamsters // British Journal of Nutrition. V. 58. № 1. P. 149–158.
- Sheriff M.J., Krebs C.J., Boonstra R., 2010. Assessing stress in animal populations: do fecal and plasma glucocorticoids tell the same story? // General and comparative endocrinology. V. 166. № 3. P. 614–619.
- Sheriff M.J., Wheeler H., Donker S.A., Krebs C.J., Palme R., Hik D.S., Boonstra R., 2012. Mountain-top and valley-bottom experiences: the stress axis as an integrator of environmental variability in arctic ground squirrel populations // Journal of Zoology. V. 287. № 1. P. 65–75.
- Surkova E.N., Savinetskaya L.E., Khropov I.S., Tchabovsky A.V., 2024. Flexible males, reactive females: faecal glucocorticoid metabolites indicate increased stress in the colonist population, damping with time in males but not in females // Journal of Comparative Physiology B.P. 1–10.
- Teixeira C.P., De Azevedo C.S., Mendl M., Cipreste C.F., Young R.J., 2007. Revisiting translocation and reintroduction programmes: the importance of considering stress // Animal behaviour. V. 73. № 1. P. 1–13.
- Titov S.V., 2003. Juvenile dispersal in the colonies of *Spermophilus major* and *S. suslicus* ground squirrels // Russian Journal of Ecology. V. 34. P. 255–260.
- Touma C., Palme R., 2005. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation // Annals of the New York Academy of Sciences. V. 1046. № 1. P. 54–74.
- Ziółek M., Kozieł M., Czubla P., 2017. Zmiany liczebności populacji susła perełkowanego *Spermophilus suslicus* w Polsce wschodniej // Polish Journal of Natural Science. V. 32. № 1. P. 91–104.

STRESS IN SPECKLED GROUND SQUIRRELS (*Spermophilus suslicus* GÜLD. 1770) RELOCATED FROM A NATURAL POPULATION TO A SEMI-FREE OUTDOOR ENCLOSURE

O. N. Shekarova¹, L. E. Savinetskaya¹, O. A. Burkanova², E. N. Surkova¹,
A. V. Tchabovsky¹, K. A. Rogovin^{1,*}

¹*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

²*FSBO "State Nature Reserve "Voroninsky", Tambov Region, 393310 Russia*

* e-mail: krogovin@yandex.ru

Using a non-invasive approach, changes in the level of physiological stress in speckled ground squirrels (*Spermophilus suslicus*) relocated from a natural population to an outdoor enclosure were assessed. The enclosure of 0.16 ha in area provided ground squirrels with natural conditions and resources and was protected against predators. First, using the physiological test with ACTH injection, we validated a commercial ELISA kit for cortisol in blood serum ("OOO XEMA", RF) for measuring a glucocorticoid response in fecal samples as an indicator of individual stress level. We collected faeces from ground squirrels immediately after capture in nature (to characterize a basal level of stress in the donor population), after transportation before release to the outdoor enclosure, three days after release, and after one month, before hibernation. Three days after relocation, the stress level in speckled ground squirrels was significantly lower than after transportation and did not differ significantly from the initial level in the donor population. The absence of a body mass loss in young animals after the relocation, the successful accumulation of fat before hibernation, and the high overwinter survival rate (72.5%) indicate the successful adaptation of speckled ground squirrels to a novel environment.

Keywords: endangered species, rodent, noninvasive assessment, fecal glucocorticoid metabolites