

На правах рукописи

ОЛЕЙНИКОВ ЕВГЕНИЙ ПЕТРОВИЧ

ИССЛЕДОВАНИЕ КРАНИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИИ ТЮЛЕНЯ (*PUSA CASPICA GMELIN, 1788*) В КАСПИЙСКОМ МОРЕ

25.00.28 – Океанология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Мурманск – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте аридных зон Южного научного центра Российской академии наук, Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Южном научном центре Российской академии наук (ИАЗ ЮНЦ РАН)

Научный руководитель

Кондаков Андрей Анатольевич
кандидат биологических наук,
с.н.с. группы морских млекопитающих
Института аридных зон ЮНЦ РАН

Официальные оппоненты:

Медведев Николай Владимирович
доктор биологических наук,
профессор кафедры зоологии и
экологии Петрозаводского
государственного университета

Светочев Владислав Николаевич
кандидат биологических наук,
с.н.с. лаборатории морских
млекопитающих Мурманского
морского биологического института
КНЦ РАН

Ведущая организация:

Прикаспийский институт
биологических ресурсов Дагестанского
научного центра РАН (ПИБР ДНЦ
РАН)

Защита состоится «28» декабря 2015 г. в 10.30 на заседании диссертационного совета Д 002.140.01 при Мурманском морском биологическом институте Кольского научного центра Российской академии наук, по адресу: 183010, г. Мурманск, ул. Владимирская, 17.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Мурманского морского биологического института Кольского научного центра РАН

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат географических наук



Е.Э. Кириллова

I. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Уникальный водоем нашей планеты – Каспийское море – расположен на стыке Европы и Азии и простирается на 1200 км на юго-восток, условно делится на северную, среднюю и южную части, которые находятся в разных климатических зонах с различными океанографическими характеристиками. Вода в Каспии солёная: от 0.05 ‰ вблизи дельты реки Волги и до 13 ‰ на юго-востоке. Морская береговая линия более изрезана на севере. Наибольший размах сезонных колебаний абиотических факторов, а также разнообразие показателей биоты: планктона, рыб, моллюсков, ракообразных – характерен для северной части Каспия. Температура воздуха на севере моря зимой снижается до -20° , а летом достигает до $+30$ градусов. Наибольшая амплитуда сезонных изменений температуры воды (25–26 градусов) также характерна для мелководной (менее 25 м) части Северного Каспия.

На всем пространстве Каспийского моря встречается один вид настоящих тюленей, ареал которых ограничен исключительно этим морем. Эти ластоногие распространены по всей акватории: от прибрежных районов Астраханской области и Казахстана до берегов Ирана. Их можно, наблюдать, как в очень мелководных районах северной части, так и в зоне больших глубин южной части, в районах с холодным климатом, так и на островах южной части моря с жарким климатом. При этом каспийского тюленя относят к пагофильной (льдолюбивой) группе тюленей, так как на севере моря его обитание связано со льдами (Смирнов, 1907; Бадамшин, 1966 и др.), где он размножается и выкармливает детенышей, а также проводит большую часть периода линьки. С другой стороны, в течение годового цикла каспийский тюлень для своей жизнедеятельности использует кроме льда и многочисленные косы, островки, шалыги и отмели. Он образует лежбища на различных каменистых грядах, на песчаных островах южной части моря, где размножается.

Если в начале XX века популяция каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) была многочисленной – около 1 миллиона особей, то в последующие годы наблюдалось быстрое снижение ее численности. Зимние авианаблюдения за данным видом, проведенные в 2005–2006 гг. в северной части Каспия международной группой исследователей, дали оценку общего объема популяции в 110 тысяч особей (Харконен и др., 2012). Однако последние оценки численности каспийского тюленя остаются не полными или спорными. Полученные как отечественными, так и иностранными коллективами результаты свидетельствуют о заметном сокращении популяции. Ряд авторов объясняют это воздействием разнообразнейших факторов, степень влияния которых на ластоногих может меняться в зависимости от года, а также от фазы годового цикла животных и географии местообитания (Яблоков, 1986). Однако единой точки зрения на данную проблему нет, как и на разнообразие тюленей Каспия, поэтому перспективы популяции не ясны.

Степень разработанности проблемы. В настоящее время, наименее изученным остается разнообразие популяции каспийского тюленя. Лишь в отдельных работах встречаются упоминания о некоторых различиях тюленей, но, к

сожалению, они отрывочны и не систематизированы. Не имеется также единого подхода к изучению разнообразия тюленей, обитающих в изменчивой среде, обусловленной значительной протяженностью Каспия и наличием дельт рек Волги и Урала. В этой ситуации нет ясности в отличиях тюленей, обитающих в южной и в северной части, или в различиях тюленей, обитающих в наиболее изменчивом (по климатическим и иным характеристикам) северном регионе Каспийского моря. Без оценки разнообразия тюленя, трудно представить нынешнее состояние его популяции и прогнозировать ее развитие.

Классические научные исследования биологии каспийского тюленя начал проводить основоположник отечественной морской териологии Н.А. Смирнов. А далее последователи школы К.К. Чапского продолжили эти работы. В их работах можно найти данные об особенностях морфологии, возрастно-половой структуре популяции, размножении, питании, распределении и реге – поведении тюленей. В научной литературе преобладает мнение о популяции этих ластоногих как о едином целом. Внутривидовой изменчивости посвящены лишь единичные исследования, в частности, изучения черепа.

Исследования последовательности ДНК каспийского тюленя инициированы международной группой ученых в 1992 г. (Arnason *et al.*, 1995). Работы по генетике данного вида выполнены для осуществления филогенетического анализа рода *Pusa* или времени проникновения каспийского ластоного в современный район обитания (Arnason *et al.*, 1995; Palo, 2003; Sasaki *et al.*, 2003; Palo 2006; Fulton, Strobeck, 2010). Поэтому в настоящее время имеются немногочисленные литературные данные о популяционно-генетическом разнообразии *Pusa caspica*. К сожалению, в международной базе данных GenBank депонировано всего 3 нуклеотидные последовательности представителей этого вида, что дает отрывочные сведения о генетическом разнообразии каспийского тюленя.

Четкое представление о популяционной структуре вида необходимо для правильного учета численности и эксплуатации, а также эффективной охраны вида

Цель и задачи работы. Цель исследования – оценить внутривидовое разнообразие каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) на акватории Каспийского моря по краниологическим параметрам и по молекулярно-генетическим маркерам.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- Определить степень морфометрических различий краниологических характеристик, а также выявления генетических детерминантов популяционного разнообразия тюленей Каспийского моря.
- Установить часть моря, с наибольшим разнообразием краниологических характеристик тюленя.
- Выявить молекулярно-генетические показатели полиморфизма в популяции тюленя.
- Установить главенствующие из антропогенных факторов, наиболее негативно воздействующих на современное состояние популяции тюленя Каспийского моря.

Объект исследования: популяция каспийского тюленя – *Pusa caspica* Gmelin, 1788.

Предмет исследования: внутривидовое разнообразие.

Научная новизна работы. Разработана методика оценивания морфометрических различий краниологических признаков с выявлением генетических маркеров популяционного разнообразия тюленей Каспийского моря. Впервые, посредством сравнительного анализа морфометрических различий тюленей северной и южной части Каспия, продемонстрировано наибольшее разнообразие краниологических характеристик тюленей из северной акватории моря. Впервые показан и детализирован внутривидовой полиморфизм гена цитохром *b* каспийских ластоногих, отражающий генетическое разнообразие популяции тюленей Северного Каспия. Обобщение известных и вновь полученных сведений позволило систематизировать и упорядочить факторы, оказывающие влияние на состояние популяции каспийского тюленя.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты расширяют теоретические представления о биологии вида – внутривидовом полиморфизме и уточняют данные популяционной паспортизации вида (с географической привязкой к ареалу), что важно для оценки генетического разнообразия (степени генетического истощения) популяции каспийского тюленя. Результаты диссертационной работы могут быть включены в лекционные курсы по зоологии и экологии морских млекопитающих рыбохозяйственных ВУЗов и биологических факультетов университетов, их эксплуатации и охраны, а также учтены в регламентирующих документах. Полученные сведения размещены в международной базе данных GenBank, с включением в депозитарий проб биологического материала каспийского тюленя. Внесены предложения в регламент особо охраняемых природных территорий (ООПТ) в российском секторе Каспийского моря.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности. Работа соответствует формуле паспорта специальности 25.00.28 – «Океанология» по пункту 6 – Биологические процессы в океане, их связь с абиотическими факторами среды и хозяйственной деятельностью человека, биопродуктивность районов Мирового океана.

Апробация результатов исследования. Диссертационные материалы были доложены на XXVI конференции молодых ученых Мурманского морского биологического института (Мурманск, 2008); V международной конференции «Морские млекопитающие Голарктики» (Украина, Одесса, 2008); Международной конференции с элементами научной школы для молодежи «Проблемы изучения и состояния биосистем, методы биоэкологических исследований» (Махачкала, 2009); Молодёжной экологической конференции-2009» (Ростов-на-Дону, 2009); Международном семинаре «Угроза вымирания каспийского тюленя. Существующие знания, требуемые исследования и меры по снижению последствий» (Казахстан, Атырау, 2009); III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (Ростов-на-Дону, 2009); VI международной конференции «Морские млекопитающие Голарктики» (Калининград, 2010); съезде Териологического

общества при РАН «Териофауна России и сопредельных территорий» (Москва, 2011); международной научной конференции «Изучение и освоение морских и наземных экосистем в условиях арктического и аридного климата» (Ростов-на-Дону, 2011); VII ежегодной научной конференции студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН с получением почетной грамоты первой степени за доклад (Ростов-на-Дону, 2011), научной конференции «Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии» (Ростов-на-Дону, 2013), VIII международной конференции «Морские млекопитающие Голарктики» (Санкт-Петербург, 2014), международном семинаре «Каспийский тюлень: современное состояние и проблемы сохранения» (Москва, 2015).

Личное участие автора. Автор проводил сбор и обработку материала, как в ходе экспедиционных исследований, так и в лабораторных условиях. Он участвовал в береговых экспедициях в 2007, 2009 году, в морской экспедиции в 2008 году, а также в авианаблюдениях 2011 и 2012 года. Им лично выполнены обработка и анализ краниоматериала, обработка и анализ генетических последовательностей гена цитохром *b*.

Исследования по тематике диссертационной работы велись в рамках базовых тем научно-исследовательских работ (НИР) ЮНЦ РАН и ИАЗ ЮНЦ РАН: «Изучение физиологических и поведенческих механизмов адаптации морских млекопитающих и человека к факторам внешней среды в цикле бодрствование-сон» Ростов-на-Дону» (№ г.р. 01200850111); «Исследование в цикле сон-бодрствование экофизиологических механизмов адаптивного и поведения организма животных и человека в аридной зоне» (№ г.р. 01201153347); «Изучение механизмов адаптации млекопитающих и человека к факторам среды в цикле сон-бодрствование» (№ г.р. 01201363190). А так же при поддержке грантов РФФИ: 07-04-01553-а «Исследование физиологических и поведенческих адаптаций морских и полуводных млекопитающих прибрежных зон южного федерального округа России», 2007-2009; 08-04-10145-к «Организация и проведение морской экспедиции для исследований нейро-, морфофизиологических и поведенческих адаптаций реликтового вида морских млекопитающих – каспийского тюленя», 2008; 09-04-10152-к «Организация и проведение полевых исследований каспийского тюленя (*Pusa caspica*) на островной залежке», 2009. В данных проектах автор выступал как исполнитель, участвуя как в полевых исследованиях, так и в обработке материала и подготовке отчетов.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 2 статьи в журналах, внесенных в список изданий, рекомендованных ВАК РФ. Еще одна работа находится в печати.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы, содержащего 166 наименований, 51 – на иностранных языках в том числе. Работа изложена на 121 странице, включает 15 рисунков и 3 таблицы.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю к.б.н. А.А. Кондакову за всестороннюю помощь и руководство.

Автор благодарен директору Института аридных зон ЮНЦ РАН, д.г.н. чл-корр. РАН Д.Г. Матишову за предоставленные возможность и условия проводить исследования, особенно при выполнении генетических работ.

Автор считает своим долгом поблагодарить зав. отделом физиологии, профессора, д.б.н. Е.В. Вербицкого, д.б.н. В.Б. Войнова, к.б.н. Ю.Ю. Арапову, к.б.н. В.В. Стахеева, к.б.н. А.И. Ермолаева, PhD Л.С. Дмитриеву, к.б.н. П.Е. Гольдина за ценные советы, рекомендации и помощь на всех этапах работы.

Автор выражает искреннюю благодарность к.б.н. Водолажскому и к.б.н. Н.Н. Тимошкиной за обработку генетического материала.

II. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Каспийские тюлени из южной и северной частей моря различаются как по пропорциям черепа, так и по репродуктивному ареалу. Это свидетельствует о неоднородности популяции тюленя Каспийского моря, что обусловлено различиями океанологических условий обитания животных.
2. Сравнительный анализ разнообразия популяции тюленя и детализация внутривидового полиморфизма гена цитохрома *b* позволяет выдвинуть гипотезу о существовании нескольких филетических линий тюленей северной части Каспийского моря.
3. В современных условиях ограничения или отсутствия промысла тюленей, максимально негативное воздействие на популяцию оказывает процесс нелегального промысла осетровых.

III. СТРУКТУРА И КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. УСЛОВИЯ МЕСТООБИТАНИЯ ПОПУЛЯЦИИ И БИОЛОГИЯ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ

1.1. Краткая океанологическая характеристика области обитания популяции

В разделе приводится общее физико-географическое описание Каспийского моря. Наличие большого объема аналитических работ, охватывающих значительный временной период (например, Книпович, 1923; Атлас..., 2014 и др.), позволяют выделить те абиотические факторы, которые являются наиболее важными для обитания тюленей в той или иной фазе их годового цикла, а именно: температурный режим водной среды и атмосферы, батиметрия моря, особенности ледового покрова, изменения уровня моря. Особо подчеркиваются океанологические и климатические различия между северной и южной частями Каспия.

1.2. Биология вида

В подразделе приводятся результаты анализа литературных данных по морфологии каспийских тюленей, размножению, особенностям раннего онтогенеза, питанию, миграционным возможностям (Варпаховский, 1891; Роганов, 1932; Огнев, 1935; Дорофеев, 1939; Бадамшин, 1949; Бадамшин, 1960; Крылов, 1982; Хураськин, 1989 и др.). Особое внимание привлекают немногочисленные работы, освещающие исследования репродуктивного периода тюленей на островах Южного Каспия (Крылов, 1983, 1986; Бычков и др., 1985; Лисицына, 2010; Ерохин, 2012 и др.).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал был собран в береговых (2007/2009 гг.) и морской (2008 г.) экспедициях, а также при авианаблюдениях (2011/2012 гг.) в северной и центральной частях Каспийского моря.

Также для краниометрии использовали коллекционный материал (11 черепов), из коллекции Зоологического музея Московского государственного университета (МГУ) им. М.В. Ломоносова, который собран В.И. Крыловым и Т.Ю. Лисицыной в 1984 году на о-вах Огурчинский и Михайлова (Южный Каспий). Во время сбора материала на побережье Дагестана и береговой части Калмыкии в 2009 г. проведен специальный опрос рыбаков.

Для демонстрации внутривидовых отличий у ластоногих (Pinnipedia) традиционно используются особенности строения черепов (Гептнер, 1976; Аристов и Барышников, 2001). Как индивидуальные, так и популяционные различия размеров черепа очень велики (Клевезаль, 2007), но с возрастом индивидуальные различия краниометрии каспийского тюленя становятся малоинформативными (Гаджиев, Эйбатов, 1995). О половой зрелости тюленей судили, исходя из кондилобазальной длины черепа, которая составляет у половозрелых особей от 10 лет и старше 170–190 мм (Огнев, 1935; Гептнер, 1976). Были произведены промеры черепов крупных взрослых животных, возрастом не менее 10 лет. В исследовании использованы черепа из двух географически различных районов Каспия. Существование различных морф характерно при многообразии условий местообитания вследствие действия векторов контрбаланса движущего отбора на уровне микроэволюции (Северцов, 2008).

В работе использованы промеры 27 черепов половозрелых тюленей, как из коллекции Южного научного центра РАН (ЮНЦ РАН), так и из коллекции Зоологического музея. Промеры выполнены цифровым штангенциркулем «Энкор» в трехкратной повторности, согласно общепринятым методикам (Гептнер, 1976; Аристов и Барышников, 2001). В ходе проведения исследования для каждого черепа выполнены 30 стандартных промеров (Огнев, 1935; Гептнер, 1976; Аристов и Барышников, 2001)

Проанализированы как непосредственно сами промеры, так и их соотношения. Относительные единицы использовали при сравнении различных групп тюленей. Также нами рассмотрены неметрические особенности черепов (характеристики формы различных костей).

Для проведения генетических исследований было проведено секвенирование фрагмента гена цитохрома *b* мтДНК рассматриваемого вида из образцов кожных покровов, отобранных в экспедиционных исследованиях ЮНЦ РАН на дагестанской (северной) части побережья Каспийского моря в 2007 и 2009 годах. Исследование этого фрагмента цепи ДНК представляет наибольшую ценность из-за его эволюционной пластичности (Palo, 2006). Обработка генетического материала выполнена в отделе молекулярной биологии ИАЗ ЮНЦ РАН. Среди рассмотренных образцов биопсии, необходимое качество материала позволило использовать только десяти проб, собранных нами. Для анализа молекулярной генетики привлечены еще три последовательности из GenBank. ДНК

экстрагировалась из тканей с использованием стандартной процедуры лизиса гомогенатов тканей в 50 мМ растворе Трис-НСl буфера, рН=8.0, содержащем 10 мМ EDTA, 100 мМ NaCl, 1 % SDS, 50 мМ дитиотрейтол и протеиназу К (0.5 мкг/мл) в течение 2–4 часов при 370°C. ДНК экстрагировали стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Затем образцы ДНК преципитировали в этаноле на холоде (Корниенко и др., 2001). Генотипирование образцов проводили с использованием стандартного набора праймеров L14841 (5'-AAA AAG CTT CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA - 3') и H15149 (5'-AAA CTG CAG CCC CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC A-3') к генетическому локусу цитохрома *b* мтДНК (Kocher et al., 1989). Амплификацию ДНК-локусов осуществляли на термоциклере Bio-Rad C1000 Touch (38 циклов). Первичный анализ и элайнмент нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit Sequence Alignment Editor версии 7.0.5.3 (Hall, 1999). Выраженность отличий первичных нуклеотидных последовательностей исследованного генетического локуса определялись с использованием параметрической модели Kimura-2 (Kimura, 1980) и графически представлялись в виде ML-кладограммы с использованием программы Mega 5.0. Полученные данные сравнивались с имеющимися в GenBank.

Всего было проанализировано 138 проб ДНК от разнополых и разновозрастных животных (*Pusa caspica*). Краниологический материал (25 черепов) отобран и обработан на северо-западном побережье Каспийского моря (Республика Калмыкия, Республика Дагестан) в 2007 (длина маршрута – 25.3 км) и 2009 гг. (длина маршрута 57 км). Для оценки уровня влияния активности рыбаков на численность каспийского тюленя нами был использован опросный метод, который обычно применяется для подобных исследований (Lopez et al., 2003; Karamanlidis et al., 2008; Verevkin et al., 2008; Moore et al., 2010). В экспедиции 2009 г. были проведены опросы рыбаков, местных жителей, представителей Федерального агентства по рыболовству, представителей пограничной службы и государственной инспекции по маломерным судам российской береговой линии Каспийского моря, в Калмыкии и в республике Дагестан.

Статистический анализ данных выполнен общепринятыми методами (Лакин, 1990) с использованием программ Microsoft® Office Excel 2003 (Microsoft Corporation, 2003) и Statistica® 10 (Statsoft, 2011). Оценка достоверности краниологических различий выполнена на основе метода Манна-Уитни (Mann, Whitney, 1947; Гланц, 1998). Статистические гипотезы отклоняли, если Р-уровень значимости был менее 0.05.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Особенности краниологии каспийского тюленя

Краниологические характеристики *Pusa caspica* из различных частей Каспийского моря. Анализ краниологических промеров позволил выделить ряд особенностей морфологии черепа. Для каждого черепа выполнено 30 промеров, из которых только 17, вследствие особенностей сохранности материала из коллекции

зоологического музея Московского Государственного Университета (МГУ), демонстрируют особенности морфологии.

Проведенный анализ показал, что ширина затылочной кости у основания мастоидных отростков, слухового барабана, глазницы и ее длина больше у особей каспийского тюленя из южной части моря по сравнению с северной (M-W: $z = -3.6$, $P = 0.0004$; $z = -3.1$, $P = 0.0020$; $z = -3.5$, $P = 0.0005$ и $z = -4.0$, $P = 0.0001$, соответственно), тогда как длина мозговой части до срединной линии крючков крыловидной кости значимо меньше у тюленей из южной части, чем в северной (M-W: $z = 4.0$, $P = 0.0001$).

В результате было установлено, что у каспийских тюленей из южной части моря длина лицевого отдела черепа больше относительно его кондилобазальной длины, по сравнению с северной (M-W: $z = 3.71$, $p = 0.0002$), составляя в среднем 0.53 ± 0.01 ($n = 7$, $\text{lim } 0.52\text{--}0.55$) и 0.51 ± 0.01 ($n = 16$, $\text{lim } 0.49\text{--}0.52$), соответственно.

Относительная длина мозговой части черепа больше у тюленей из северной части Каспия, чем из южной (M-W: $z = -3.71$, $p = 0.0002$; рис. 1) и в среднем она составила 0.49 ± 0.01 ($n = 16$, $\text{lim } 0.47\text{--}0.52$) и 0.41 ± 0.01 ($n = 7$, $\text{lim } 0.40\text{--}0.42$), соответственно.

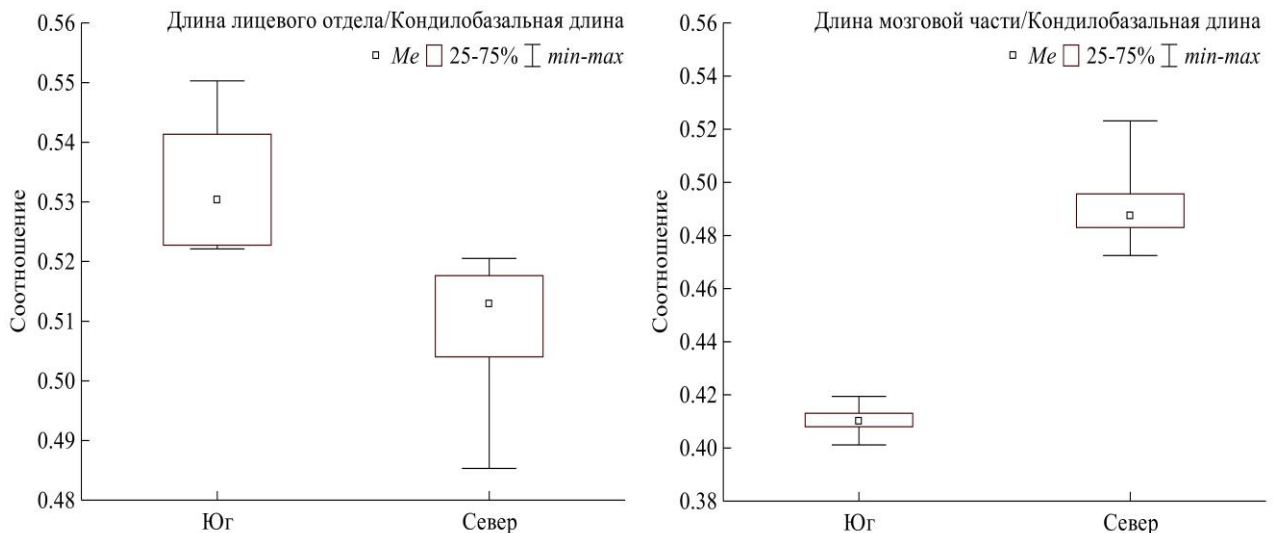


Рисунок 1 – Отношения длины лицевого отдела и мозговой части черепа к его кондилобазальной длине

Отношение ширины роострума у последнего зуба, как и отношение ширины черепа по мастоидным отросткам к мозговой части больше у тюленей Южного Каспия по сравнению с Северным (M-W: $z = 4.05$ $p = 0,00005$ и $= 3.81$ $p = 0,0001$; рис. 2), составляя в среднем 0.55 ± 0.02 ($n = 9$, $\text{lim } 0.51\text{--}0.58$), 1.22 ± 0.10 ($n = 9$, $\text{lim } 0.98\text{--}1.31$) и 0.46 ± 0.02 ($n = 16$, $\text{lim } 0.43\text{--}0.50$), 0.96 ± 0.03 ($n = 15$, $\text{lim } 0.91\text{--}1.02$), соответственно. Таким образом, мозговая часть черепа длиннее у особей из северной части Каспийского моря, а шире – из южной.

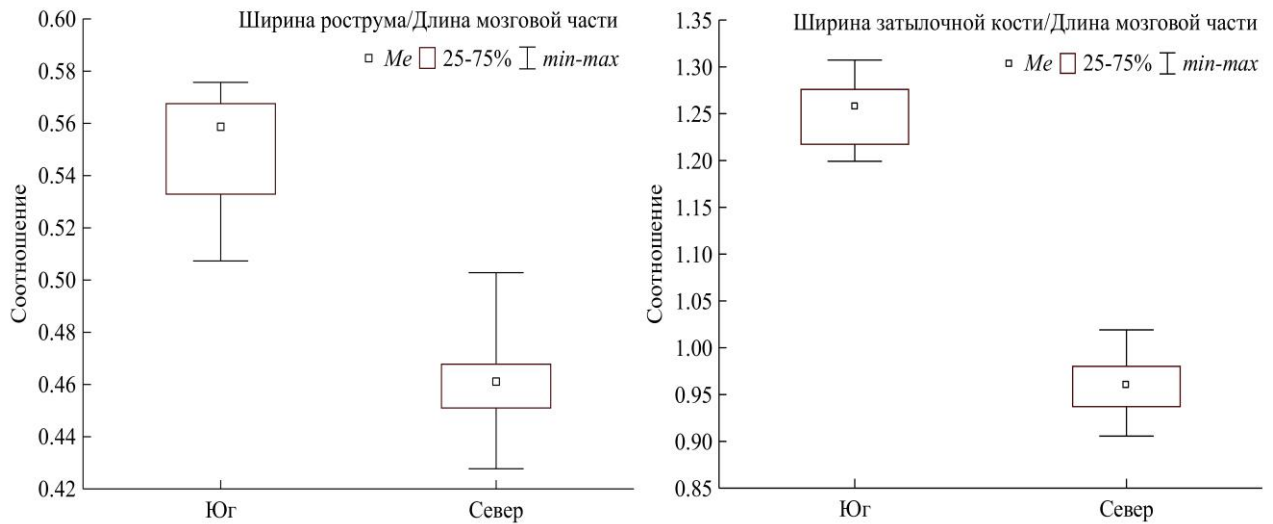


Рисунок 2 – Отношения ширины роострума у последнего зуба и затылочной кости у основания мастоидных отростков к длине мозговой части черепа

Отношение длины мозговой части к длине лицевой части черепа, разграниченных по срединной линии крючков крыловидной кости, было меньше у тюленей Южного Каспия (0.83 ± 0.08 ($n = 8$, $\text{lim } 0.74\text{--}0.96$)), чем у Северного (0.96 ± 0.04 ($n = 15$, $\text{lim } 0.93\text{--}1.08$)), что также указывает на большую относительную длину лицевой части черепа каспийского тюленя из южной части моря ($M\text{-}W: z = -3.24$ $p = 0.0012$). Также соотношение длин костного неба и мозговой части черепа демонстрирует меньшую относительную длину данного показателя у тюленей южной части Каспия по сравнению с северной ($M\text{-}W: z = 3,71$ $p = 0.0002$; рис. 3), и в среднем она составила 1.04 ± 0.05 ($n = 7$, $\text{lim } 1.00\text{--}1.13$) и 0.89 ± 0.03 ($n = 16$, $\text{lim } 0.83\text{--}0.95$), соответственно.

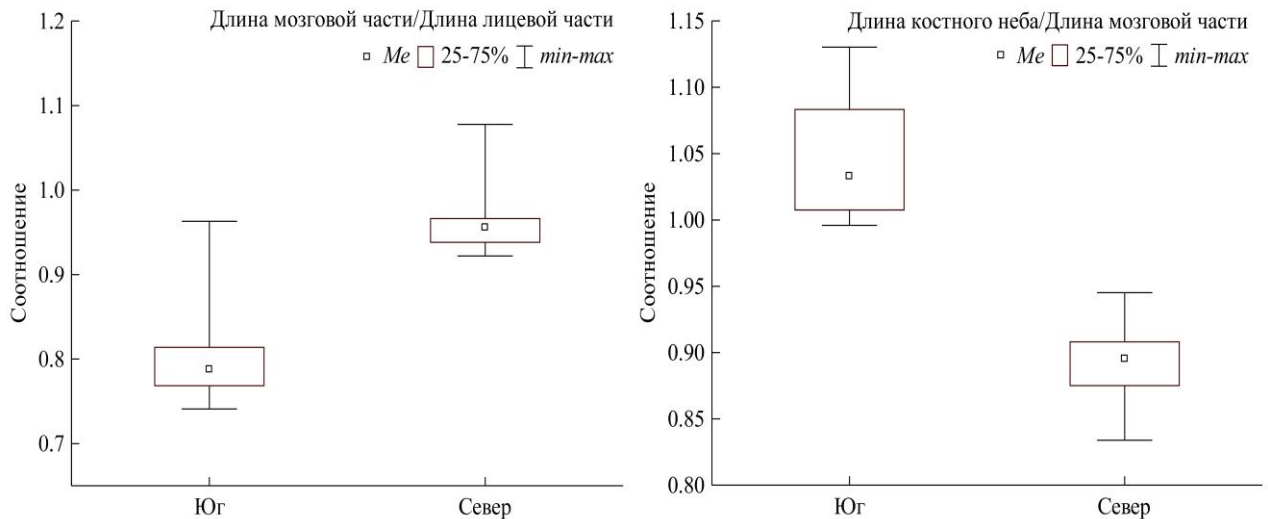


Рисунок 3 – Отношения длины мозговой части черепа и костного неба к мозговой длине черепа

Ширина в скулах ($M\text{-}W: z = 3.42$ $p = 0.0006$) и по мышелкам ($M\text{-}W: z = 3.89$ $p = 0.0001$) относительно длины мозговой части больше у тюленей из южной части

Каспийского моря (1.19 ± 0.05 ($n = 6$, $\text{lim } 1.13\text{--}1.27$) и 0.69 ± 0.04 ($n = 8$, $\text{lim } 0.65\text{--}0.75$)), чем из северной (1.00 ± 0.04 ($n = 16$, $\text{lim } 0.93\text{--}1.05$) и 0.58 ± 0.02 ($n = 16$, $\text{lim } 0.53\text{--}0.61$) (Рис. 4).

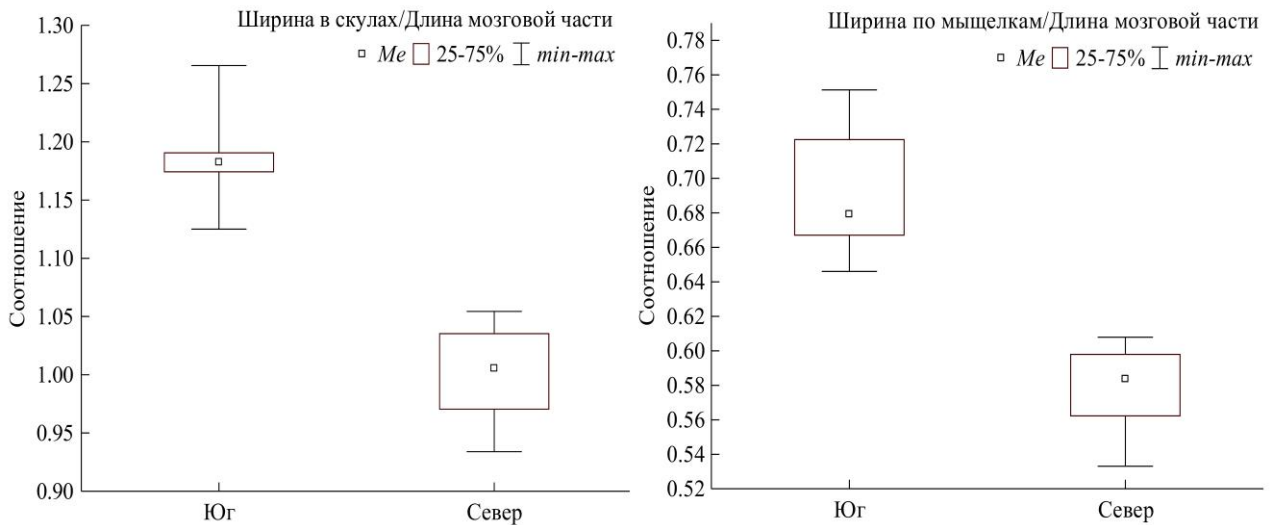


Рисунок 4 – Отношения ширины в скулах и ширины по мыщелкам к длине мозговой части черепа

Завершая этот раздел, следует отметить, что оценивание отношений промеров позволило установить, что тюлени северной и южной частей обладают значимыми различиями в форме черепов. Так, тюленям южной части моря характерна более короткая и широкая мозговая часть, при удлиненной лицевой части черепа. А животным северной части – более удлиненная и узкая мозговая часть, при более короткой лицевой части черепа. Методика оценки разнообразия по морфометрическим параметрам черепа для *Pusa caspica* применена впервые.

Различия в форме черепов особей из различных частей моря могут демонстрировать различия экологических условий местообитаний на севере и юге Каспийского моря. Более короткая лицевая часть черепа представляется более удобной при добывании пищи в условиях мелководного Северного Каспия, особенно при добыче ракообразных и моллюсков. А удлиненная лицевая и более широкая мозговая часть черепа более подходит для обитания и добывания корма в глубоководных районах фотического слоя (до 80 м) с преобладанием пелагических видов рыб в условиях глубоководного Южного Каспия. Следует также обратить особое внимание на значительную дисперсию краниологических характеристик тюленей из северной части по сравнению с черепами тюленей из южного региона Каспийского моря.

3.2. Качественные особенности строения черепов каспийского тюленя

Неслучайно еще в работе В.А. Земского и В.И. Крылова (1982) были выделены модификации затылочной кости черепа, заднего края костного неба и формы продольных гребней черепа. Материал, используемый в их исследовании, представлен только тюленями Северного Каспия, но из его различных географических районов. Нами проведен сравнительный анализ полученных данных согласно предложенной этими авторами схеме.

В ходе сравнительного анализа полученных данных особого внимания заслуживает разнообразие модификаций формы затылочной кости черепа в области заднего рваного отверстия (*for. lacerum posterius*) и вариациям формы продольных гребней (*crista longitudinalis*) в области лобно-теменных костей. Описываемые изменения форм этих костей представляются наиболее интересными вследствие своей функциональной нагрузки. Выраженность формы продольных гребней отражает загруженность мышц *m. temporalis*, которые прикрепляются здесь. Что может объясняться использованием различных кормовых объектов. Для питания более жесткими ракообразными и моллюсками требуется более развитая система мышц, в первую очередь – височная мышца (*m. temporalis*). Такие условия имеются в Северном Каспии.

Костные гребни служат местом прикрепления мышц черепа и нижней челюсти, а также шеи и подключного сочленения. Сами гребни имеют различную высоту (Табл. 1) и протяженность, вследствие прикрепления различного количества мышечной массы. Причем, более высокие гребни соответствуют третьему варианту *crista longitudinalis*, а вариации протяженности связаны с кондилобазальной длиной черепа.

Таблица 1 – Средние значения высоты различных вариантов продольных гребней (*crista longitudinalis*) в области лобно-теменных костей

1 вариант	2 вариант	3 вариант
2.33 ± 0.11	2.29 ± 0.14	2.76 ± 0.15

Выявлены три варианта форм продольных гребней в области лобно-теменных костей. Преобладали первый и третий вариант. Если первый - имеет вид относительно прямой линии без каких-либо углов. То второй - имеет углы, хорошо выраженные с двух сторон низких гребней, которые расположены симметрично. Далее от углов к носовым костям продольные гребни тянутся прямо или под углом. А третий вариант имеет выраженные по обеим сторонам высоких и длинных гребней углы, но они расположены несимметрично (Рис. 5).



Рисунок 5 – Варианты формы продольных гребней в области лобно-теменных костей

Модификации формы затылочной кости показывают, что исследованный нами материал относится к двум вариантам из трех, предложенных В.А. Земским и В.И. Крыловым. Третья модификация отличается от второй тем, что *for. lacerum posterius* заметно врезается в затылочную кость, во второй модификации *for. lacerum posterius* врезается в затылочную кость незначительно (Рис. 6).

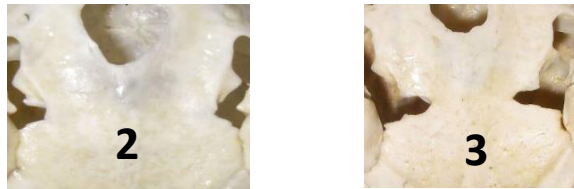


Рисунок 6 – Модификации формы затылочной кости

В результате установлено, что вторая модификация затылочной кости совпадает с третьим вариантом продольных гребней в 7 из 16 случаев. Третья модификация затылочной кости совпадает с первым вариантом продольных гребней в 7 из 16 случаев и по одному случаю – с первым и со вторым вариантами продольных гребней (Рис. 6).

Исследование, выполненное нами, демонстрирует, что наш материал сходен по совпадению указанных признаков с ранее исследованными ластоногими группировки авандельты р. Урал и отличается от группировки тюленей авандельты р. Волги, выявленных В.А. Земским и В.И. Крыловым (1982).

Кроме того, у тюленей из северной части Каспия выявлены значительные вариации формы центрального отверстия основной затылочной кости черепа.

Тем самым, обнаружены особенности строения основания черепа, затылочной кости и центрального отверстия затылочной кости. Кроме того, выявлены также, отличительные особенности высоты и формы продольных гребней, а также углов симметрии лобно-теменных костей черепа тюленей. Высокие и протяженные гребни являются необходимой опорой для прикрепления больших по размеру мышц и связок.

Разнообразие географических и океанологических характеристик северной части Каспийского моря формирует выраженную мозаичность местообитания каспийского тюленя. Разнообразие качественных особенностей строения черепа ластоногих этой части моря может свидетельствовать о популяционном разнообразии *P. caspica* в связи с условиями местообитания.

3.3. Исследование внутривидового полиморфизма каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) на основании изменчивости первичной последовательности фрагмента гена цитохром *b*

Морфологически каспийская и байкальская нерпы рассматриваются как близкие к арктической кольчатой нерпе виды, они во многом сходны с большинством видов настоящих тюленей. С биогеографической точки зрения имеется несколько гипотез, объясняющих происхождение каспийского тюленя, кольчатой и байкальской нерп. Большинство из этих гипотез склоняются к монофилетическому происхождению этих трех видов настоящих тюленей, принадлежащих роду *Pusa* (Чапский, 1955; Davies, 1958; McLaren, 1960; Reppenning *et al.*, 1979; Arnason *et al.*, 1995; Koretsky, 2001).

подавляющее большинство исследователей сходятся во мнении, что каспийский тюлень – мономорфный вид, не подразделяющийся на подвиды. Рассмотрение морфометрических параметров черепов животных С.И. Огневым (1935), В.Г. Гептнером (1976), А.А. Аристовым и Г.Ф. Барышниковым (2001)

достаточных предпосылок для выделения внутри вида субпопуляционных структур не дали. Однако В.А. Земский и В.И. Крылов (1982) предполагают наличие двух субпопуляций *P. caspica* только в северной части Каспийского моря, которые они описали для дельт р. Волга и р. Урал.

Для выявления разнообразия вида *Pusa caspica* стало необходимо изучение его наиболее точным и достоверным методом – секвенирование ДНК. В целом молекулярно-генетические исследования настоящих тюленей демонстрируют низкую вариабельность изученных локусов митохондриальной ДНК (мтДНК). Низкий уровень генетического разнообразия может указывать на малую популяционную изменчивость, которая является следствием относительно недавней дивергенции от общего предка или прохождения популяцией «бутылочного горлышка». С другой стороны, существует очевидная проблема подбора гипервариабельных локусов мтДНК для последующей оценки генетического разнообразия *P. caspica*. Существует ряд генетических маркеров обычно применимых для исследования генетического разнообразия – цитохром *b* (*cytb*) мтДНК, цитохромоксидаза I и цитохромоксидаза II мтДНК, D-петля мтДНК и Y-хромосома. Такие общепринятые генетические локусы, как цитохромоксидаза I и цитохромоксидаза II митохондриальной ДНК (мтДНК), использованные в подобных исследованиях, по литературным данным, не выявили четкой внутривидовой дифференцировки у представителей рода *Pusa* (Sasaki et al., 2003; Palo, 2003; Palo, Vainola, 2006). Более результативным могло стать исследование вариабельности нуклеотидных последовательностей D-петли каспийского тюленя, как показателя генетической неоднородности популяции, так как D-петля обладает низким уровнем консервативности, и вероятность выявления генетического разнообразия популяции может оказаться выше. Поэтому был осуществлен подбор праймеров для D-петли мтДНК и Y-хромосомы, а также секвенирование этих участков. Анализ вариабельности выбранных маркеров показал, что D-петля мтДНК и Y-хромосома не обладают выраженным разнообразием (Водолажский и др., 2009), поэтому проведено исследование первичной последовательности гена цитохромма *b*, так как при обязательной консервативности генов, он обладает достаточной изменчивостью (Palo, 2006; Fulton, Strobeck, 2010).

Нами изучен фрагмент гена *cytb* каспийского тюленя длиной 596 п.н. В рамках изученной выборки он имел 18 полиморфных локусов, из которых 12 приходятся на транзиции, а 6 на трансверсии. Несмотря на то, что выборка была ограничена по размеру и территории, гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие показало высокие значения, характерные для популяций, обладающих большим ареалом и достаточной численностью (Табл. 2).

Таблица 2 – Список использованных в филогенетическом анализе последовательностей от представителей р. *Pusa*

Таксон	Номера последовательностей в Генбанке
<i>Pusa caspica</i>	KP764804–KP764808, AM181033, AY424648, GU167295, AY140978
<i>Pusa sibirica</i>	AM181034, AM181035, NC008432, AY140977
<i>Pusa hispida</i>	AY140976, X82304, NC008433, AM181036

В международной базе данных GenBank на 2015 год находилась информация по 3 нуклеотидным последовательностям генетического локуса цитохрома *b* мтДНК *Pusa caspica*, что говорит о недостаточном внимании к изучению внутривидового полиморфизма с использованием молекулярно-генетических маркеров. Проведение внутривидового сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей генетического локуса цитохрома *b* мтДНК может восполнить пробел в оценке степени полиморфизма каспийского тюленя.

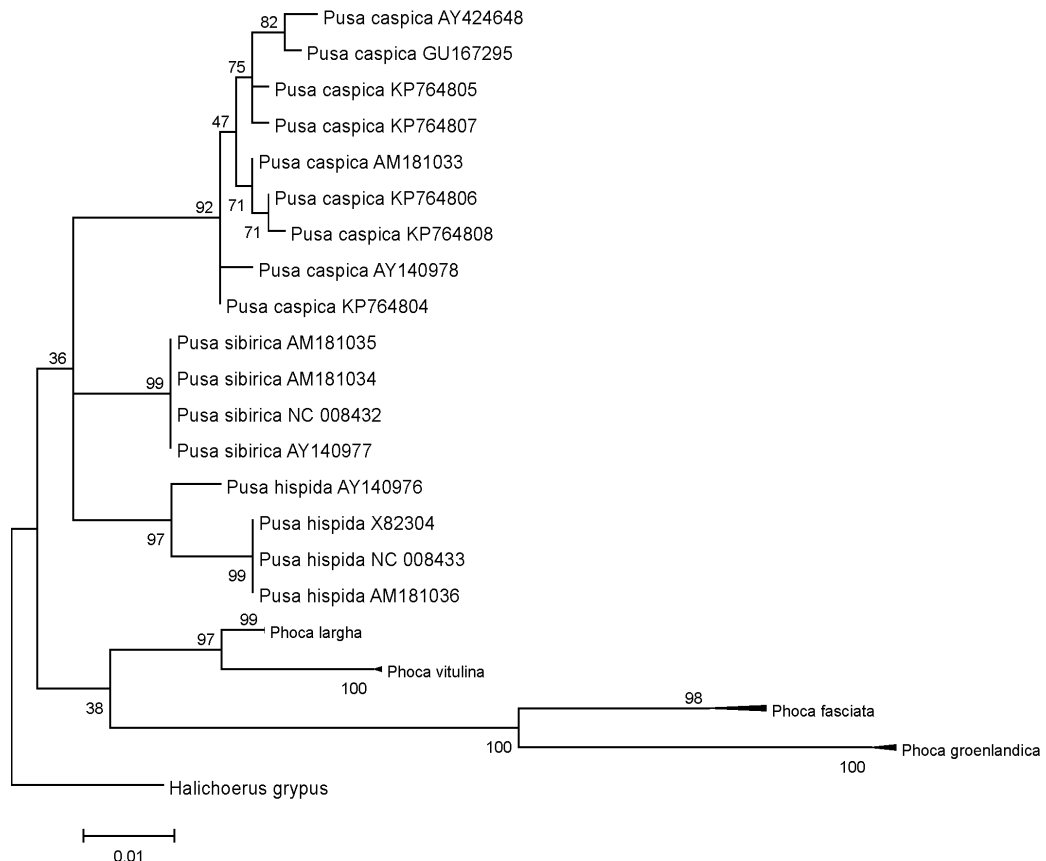


Рисунок 7 – ML-филогенетическое древо родственных отношений трибы Phocini

Наши данные дополняют филогенетические реконструкции, полученные ранее по данным митохондриальных локусов (Palo 2006; Fulton, Strobeck, 2010), значительно не изменяя топологию ветвей, полученных этими исследователями. При этом реконструкции, полученные нами с использованием различных алгоритмов, имеют схожую картину и подтверждают монофилетичность рода *Pusa*, объединяющего три вида – кольчатую нерпу *P. hispida*, байкальскую нерпу *P. sibirica* и каспийского тюленя *P. caspica*. Причем первые два вида имеют большее сходство, а каспийский тюлень занимает дистальные ветви на древе *Phocidae* (Рис. 7). Анализ филогенетического древа трибы *Phocini*, так же подтверждает генетическую неоднородность ластоного Каспия, опираясь на высокие значения бутстреп-индексов в узлах кладограммы (92) с выделением нескольких ветвей.

При этом обращает на себя внимание тот факт, что, несмотря на островной характер обитания, каспийский тюлень имеет довольно сложную внутривидовую

филогенетическую структуру. Такая ситуация может говорить о дифференцировке популяции *P. caspica* на отдельные географически удаленные группировки. В пользу этого, в частности, свидетельствуют результаты краниологических исследований каспийских тюленей северной части Каспийского моря, выполненные В.А. Земским и В.И. Крыловым (1982), которые на основании редких типов качественных признаков в строении черепа ластоногих предполагают существование отдельных группировок, соответствующих дельтам рек Урал и Волга, на уровне субпопуляций.

Изученный фрагмент гена *cytb* каспийского тюленя длиной 567 п.н. был достаточно изменчив. В рамках изученной выборки он имел 13 полиморфных локусов, из которых 11 приходится на транзиции, а 2 на трансверсии. Обращают на себя внимание и довольно высокие показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия, характерные для популяций, обладающих большим ареалом и достаточной численностью, а также выраженным генетическим и биологическим разнообразием (Табл. 3).

Таблица 3 – Параметры генетического разнообразия, рассчитанные по нуклеотидной последовательности фрагмента гена *cytb* в пределах выборки *Pusa caspica*

Параметры генетического разнообразия общей выборки <i>Pusa caspica</i>	
Количество исследованных экземпляров (последовательностей)	9
Количество гаплотипов (отличающихся последовательностей)	9
Общее количество локусов (нуклеотидов) в последовательностях	567
Количество полиморфных локусов	13
Средняя ожидаемая гетерозиготность по полиморфным локусам \pm среднее квадратическое отклонение	0.32479 ± 0.12297
Средняя ожидаемая гетерозиготность по всем локусам \pm среднее квадратическое отклонение	0.00745 ± 0.05206
Генное разнообразие (гаплотипическое разнообразие, <i>gene diversity</i>), <i>H</i> \pm среднее квадратическое отклонение	1.0000 ± 0.0524
Среднее генное разнообразие по всем локусам (нуклеотидное разнообразие, <i>average gene diversity over loci</i>), <i>π</i> \pm среднее квадратическое отклонение	0.007447 ± 0.004585
Среднее число аллелей (замен) на локус \pm среднее квадратическое отклонение	1.023 ± 0.150

Ранее генетическое разнообразие каспийского тюленя оценивалось по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов мт-ДНК (RFLP-анализа) (Sasaki *et al.*, 2003). На основании этого материала авторами были получены данные, демонстрирующие нуклеотидное разнообразие на уровне 0.0011, а

гаплотипическое разнообразие 0.722. Отметим, что авторы анализировали довольно обширную выборку ($n = 94$) из удаленных частей Каспийского моря. На основании этого, Х. Сасаки с соавторами сделали вывод об отсутствии генетической неоднородности у каспийского тюленя, обосновывая это островным характером существования вида. Несомненно, практически семикратное различие в величине нуклеотидного разнообразия, полученного упомянутыми исследователями и представленными в нашем исследовании, требует объяснения. На наш взгляд, это может быть связано с выбором праймеров для RFLP-анализа, проведенного Х. Сасаки с соавторами. Полученные нами данные в большей степени отражают реальную картину генетической изменчивости *P. caspica*, т.к. анализ первичной изменчивости ДНК менее зависим от выбора праймеров, чем RFLP-анализ.

Каспийский тюлень, несмотря на «островной» характер обитания, обладает высоким уровнем генетического и краниологического разнообразия и имеет развитую внутривидовую филогенетическую структуру. В свете резкого сокращения численности популяции этого вида и придания ему природоохранного статуса перспективно продолжение исследований филогеографии и генетического разнообразия *P. caspica* на всей акватории Каспийского моря с использованием различных маркёров. Для получения точного популяционного статуса и более полной характеристики популяционной структуры тюленей Каспийского моря необходимо комплексное исследование этих ластоногих. Но уже сейчас ясно, что представление о единстве популяции каспийского тюленя не верно.

3.4. Результаты оценки факторов воздействия на популяцию с использованием опросного метода сбора данных

В пункте 4 третьей главы приводятся результаты анализа современных факторов воздействия на популяцию. Демонстрируется важность осуществления дифференциального подхода в изучении и проведении мер охраны для тюленей, обитающих в северной и южной частях Каспийского моря.

Каспийский тюлень подвергается влиянию обширного ряда факторов выраженного негативного воздействия на популяцию с традиционно выделяемой важнейшей ролью промысловой деятельности человека, развитием патологических состояний организма, как вследствие заболеваний, так и воздействия загрязняющих веществ, и, менее значимыми, воздействию со стороны вероятных хищников, судоходной деятельности в зимний период, а также случайному попаданию отдельных животных в сети. Проведение экспертной оценки современных факторов негативного воздействия дает следующие результаты.

На основании литературных и собственных данных проведено ранжирование факторов воздействия на тюленей, обитающих в северной и южной частях Каспийского моря.

Рядом специалистов выполнены мониторинговые исследования морфофункционального состояния особей каспийского тюленя северной и центральной части Каспийского моря. В результате выяснено, что ластоногие этих частей моря подвержены поражению некоторыми видами гельминтов, ткани отловленных животных содержат загрязняющие вещества, отмечено развитие

патологических состояний на фоне вирусных заболеваний (Хураськин, 1992, 1990; Захарова, 2001, 2003, 2006; Миязаки и др. 2002, Володина, 2013).

Направленный промышленный промысел ластоногих на Каспии сейчас не ведется. Экспертная комиссия государственной экологической экспертизы считает обоснованной величину общий допустимый улов (ОДУ) каспийского тюленя в 2014 г. в размере 6000 особей (Приказ № 607 Федерального агентства по рыболовству). В действующем приказе Федеральной службы по надзору в сфере природопользования, указано, что после 2008 года фактическое изъятие находится на минимальном уровне. В 2009-2011 годах промысловые суда по организационно-техническим причинам не выходили на добычу каспийского тюленя. На сегодняшний день эти суда типа «Тюлень» пришли в полную непригодность для работы во льдах Северного Каспия. В течение 2012 г. было добыто всего лишь 22 животных в научных целях. Таким образом, промысел сейчас не оказывает серьезного влияния на численность каспийского тюленя.

Другим негативным фактором является судоходная деятельность ледоколов в период деторождения тюленей на севере Каспия. Прохождение ледоколов в этот значимый период времени создает вероятность беспокойства самок, уход их в воду, случайное попадание в образующиеся полыньи бельков, еще неготовых к жизни в этих условиях, попадание бельков под носовую часть корабля (Harkonen *et al.*, 2008, Wilson *et al.*, 2008). С другой стороны, прохождение ледоколов через сплошные поля льда создает разводья и полыньи, удобные к использованию животными на ледовых залежках (Harkonen *et al.*, 2008), поэтому влияние судоходной деятельности в зимний период крайне неоднозначно.

Влияние неучтенного изъятия (незаконная добыча и запутывание тюленей в браконьерских сетях) на половозрелую часть популяции в российской части ареала оценивается ФГУП «КаспНИРХ» как незначительное, поскольку 90% изымаемых животных составляют молодые особи на первом году жизни (Приказ..., 2014).

После проведения опросов местного населения побережья Дагестана, причастного к лову осетровых, мы получили численную оценку ущерба, наносимого популяции каспийского тюленя при нелегальной добыче осетровых, лов которых возможен только в Северном Каспии. Оценки величины прилова, полученные в нашем исследовании, сравнимы с показателями, которые считаются критическими для существования других близких видов ластоногих или мелких китообразных (Ranta *et al.*, 1996; Rojas-Bracho *et al.*, 2006).

Из результатов анализа проведенных опросов следует, что минимальный документированный случайный лов тюленей в 2008–2009 гг. составил 1215 особей. Это составляет около 1.2 % от общей популяции каспийского тюленя, которая по некоторым оценкам на 2005 г. составляла приблизительно 110000 особей (Harkonen *et al.*, 2008; Harkonen *et al.*, 2012). Учитывая то, что определялся минимальный коэффициент прилова, полученный всего по 31 нелегальной байде (местный тип малого моторного судна), занятой ловом осетровых в 2008–2009 гг., истинное значение случайно попавших в нелегальные орудия лова тюленей на севере Каспийского моря будет в несколько раз выше этого минимального значения.

Поэтому была проведена оценка роли смертности, связанной с промыслом и приловом, с использованием индекса потенциального биологического изъятия (ПБИ) (Potential Biological Removal; (PBR)) (Wade, 1998). Неистощимый промысел

каспийского тюленя можно рассчитать на основе $PBR=N_{\min} \times 0.5R_{\max} \times RF$ (Wade, 1998), с использованием минимальной популяционной оценки за 2005 г. ($N_{\min}=104\ 000$, максимальный уровень чистой продуктивности (R_{\max}) равен 0.12 (типичное значение для мелких ластоногих, а коэффициент восстановления (RF) равен 0.5 (Wade, 1998)). Это дает оценку 3187 тюленей в год, что ниже текущей промысловой квоты (6000). Но, учитывая, что исследование охватило лишь малую часть общего промыслового усилия, общий ежегодный прилов может превышать эту величину в несколько раз.

Если исходить из оценки влияния факторов по силе действия, оказывается, что запутывание в сетях приводит ластоногих к гибели, так как они не имеют возможности дышать. Таким образом, несмотря на существующие отрицательные воздействия на каспийского тюленя наиболее серьезную угрозу на сегодня представляет случайный прилов животных рыболовными сетями для крупных видов рыб.

Действие указанных факторов на всей акватории моря неодинаково. Рыбопромысловые усилия сосредоточены в северной части Каспийского моря, здесь же был сосредоточен промысел тюленя. На севере водоема зимний период сопровождается отрицательными температурами и образованием льдов, а на юге этого нет. Не одинаково и количество островов на севере, центральной части и юге моря.

Оптимизация охранных мероприятия возможна при создании особых охраняемых природных территорий (ООПТ), с введением заповедного режима на благоприятных для использования тюленем территориях. Результаты морских наблюдений 2008 г., авианаблюдений 2011, 2012 г., проведенные в составе международной научно-исследовательской группы в зимний и весенний период, а также опросные данные, дают возможность предлагать в качестве таких мест в нашей стране о-ва Малый Жемчужный и Чечень. Остров Малый Жемчужный и сейчас является местом для залегания тюленей в безледовый период, остров Чечень ранее был таким, но возросший фактор беспокойства (по опросным сведениям), причиной которого является деятельность человека, сделал его непригодным для ластоногих.

Естественное разнообразие частей Каспийского моря выступает основным фактором формирования внутрипопуляционных морф. Наибольшее разнообразие каспийского тюленя, судя по морфологическим и генетическим характеристикам, выражено в северной части моря, гетерогенной по океанологическим, географическим и климатическим показателям, что существенно отличает ее от других акваторий. Основные результаты и их обсуждение свидетельствуют в пользу ранее высказанной гипотезе (Земский, Крылов, 1982) о возможности существования северного и южного морфотипов, в силу различий океанологии и экологии местообитаний. Следует также отметить, что полученные данные и их обсуждение указывают на необходимость учета не только численности популяции каспийского тюленя, но и оценивания ее морфо-генетического разнообразия. Это необходимо для гарантированного решения задач по эффективному воспроизводству каспийского тюленя с сохранением генетического разнообразия его популяции для чего требуется использовать все пути, включая принятие решений по организации особо охраняемых территорий и по созданию заповедных зон в Северном Каспии.

ВЫВОДЫ

1. Модифицирована и использована методика оценки показателей популяционного разнообразия тюленей Каспийского моря, в основу которой положен контроль краниологических характеристик животных, а также устойчивых генетических маркеров (цитохром *b*).
2. Выявлены морфологические различия краниометрических характеристик тюленей из северного и южного районов Каспия. Наибольшее популяционное разнообразие свойственно тюленям северной части Каспийского моря, которая отличается широким спектром абиотических факторов среды, оказывающих значительное влияние на биоту региона.
3. В ходе молекулярно-генетического анализа было установлено, что тюленям из северного Каспия свойственен полиморфизм гена цитохрома *b*, который проявляется в дифференциации двух основных филетических линий, а также во множестве дополнительных линий, характеризующих разнообразие генотипа популяции данного вида ластоногих. Совокупность обнаруженных признаков служит генетическим подтверждением наличия разнообразия популяции каспийского тюленя на севере Каспийского моря.
4. Использование морфо-генетической методики контроля разнообразия популяции тюленей позволяет выйти на современный уровень учета и паспортизации каспийского тюленя как вида. Учет численности и оценка многообразия вида необходимы для уточнения негативного давления случайного прилова и сокращения кормовой базы на популяцию.
5. Прилов половозрелых тюленей при проведении незаконного лова осетровых в Каспийском море является основным регулярным фактором негативного антропогенного воздействия на популяцию. Показана необходимость создания особо охраняемых природных территорий с введением заповедного режима на островах Малый Жемчужный и Чечень.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Олейников Е.П. О половых различиях основных краниометрических характеристик каспийского тюленя (*Pusa caspica*) // Материалы XXVI конференции молодых ученых Мурманского морского биологического института (май 2008 г, Мурманск). – 2008. – С. 112–114.
2. Олейников Е.П., Кондаков А.А. Краниологические особенности каспийского тюленя (*Pusa caspica*) по выбросам на дагестанском побережье // Морские млекопитающие Голарктики/ Сб. научных трудов по материалам 5-ой Международной конференции (14-18 октября 2008, Одесса). – Одесса: Астропринт, 2008. – С. 271–275.
3. Кондаков А.А., Олейников Е.П. Поведенческие и морфофизиологические адаптации ластоногих к условиям обитания в южных морях // Годовой отчет о НИР «Исследование физиологических и поведенческих механизмов адаптаций морских млекопитающих и человека к факторам внешней среды в цикле бодрствование-сон» (№ госрегистрации 01200850111) Разд.1.4. 2008. – С. 97–109.
4. Водолажский Д.И., Кондаков А.А., Олейников Е.П. Перспективы изучения популяции каспийского тюленя молекулярно-генетическими методами // Материалы «Молодёжной экологической конференции-2009». (21-23 апреля 2009 г., Ростов-на-Дону). – 2009. – С. 25–26.
5. Олейников Е.П., Кондаков А.А. Современное состояние изученности и угрозы популяции каспийского тюленя (*Pusa caspica*) // Материалы Международной конференции «Проблемы изучения и состояния биосистем, методы биоэкологических исследований» (26-30 октября 2009 г., Махачкала). – М.: Изд-во Алеф, 2009. – С. 166–167.
6. Водолажский Д.И., Тимошкина Н.Н., Олейников Е.П., Кондаков А.А. Изучение полиморфизма популяции каспийского тюленя *Pusa caspica* с использованием молекулярно-генетических маркеров мт ДНК // Материалы III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины» (1-4 октября 2009 г., Ростов-на-Дону). – С. 38–39.
7. Олейников Е.П. Краниометрические и популяционные особенности каспийского тюленя // Морские млекопитающие Голарктики: Сборник научных трудов по материалам 6-й Международной конференции (11-15 октября 2010 г., Калининград). – Калининград: Капрос, 2010. – С. 461–464.
8. Олейников Е.П., Кондаков А.А. Краниометрия и неметрические особенности черепов каспийского тюленя (*Pusa caspica*) // Материалы международного совещания «Териофауна России и сопредельных территорий». – М: КМК Scientific Press, 2011. – С. 343.
9. Олейников Е.П., Кондаков А.А., Тимошкина Н.Н., Водолажский Д.И. Исследование внутривидового полиморфизма каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) на основании краниометрии и последовательности гена цитохрома b // Материалы международной научной конференции «Изучение и

- освоение морских и наземных экосистем в условиях арктического и аридного климата» (6-11 июня 2011 г., Ростов-на-Дону). – Издательство ЮНЦ РАН. 2011. – С. 305–307.
10. Олейников Е.П. О возможности выделения субпопуляций каспийского тюленя // VII ежегодная конференция студентов и аспирантов базовых кафедр Южного Научного Центра РАН (11-25 апреля 2011 г., Ростов-на-Дону). 2011. – С. 37–38.
 11. **Олейников Е.П. Современные особенности краниометрических показателей каспийских тюленей (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) из различных частей ареала / Е.П. Олейников // Вестник Южного научного центра РАН. – 2011. – Т. 7. – №4. – С. 74–78.**
 12. Кондаков А.А. Олейников Е.П. Краниометрические проявления адаптации вида – каспийский тюлень (*Pusa caspica*) к условиям обитания // Отчет о научно-исследовательской работе «Исследование в цикле сон-бодрствование экофизиологических механизмов адаптивного и поведения организма животных и человека в аридной зоне» (№ государственной регистрации 01201153347) Ростов-на-Дону, 2011. – С. 124–130.
 13. Кондаков А.А. Олейников Е.П. Выяснение полиморфизма популяции каспийского тюленя по морфологическим и другим признакам // Отчет о научно-исследовательской работе «Исследование в цикле сон-бодрствование экофизиологических механизмов адаптивного и поведения организма животных и человека в аридной зоне» (№ государственной регистрации 01201153347) Ростов-на-Дону, 2012. – С. 67–76.
 14. Олейников Е.П., Водолажский Д.И., А.А. Кондаков К вопросу о полиморфизме каспийского тюленя (*Pusa caspica*) // Молекулярно-генетические подходы в таксономии и экологии (Ростов-на-Дону, 25-29 марта 2013 г.) Ростов-на-Дону. Изд-во ЮНЦ РАН, 2013. – С. 69.
 15. **Dmitrieva L., Kondakov A., Oleinikov E., Kydmanov A., Karamendin K., Kasimbekov Y., Baimukanov M., Wilson S., Goodman S. J. By-catch in illegal fisheries is a major source of mortality for Caspian seals // Plos one, - 2013. (<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0067074>)**
 16. Олейников Е.П., Водолажский Д.И., Кондаков А.А. Исследование полиморфизма каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) на основании последовательности гена цитохрома *b* // Морские млекопитающие Голарктики: Сборник научных трудов по материалам 8-й международной конференции (22-27 сентября 2014 г., Санкт-Петербург). – Калининград: Капрос, 2014. – С. 461–464.
 17. Матишов Г.Г., **Олейников Е.П.**, Кондаков А.А., Стахеев В.В. О генетическом полиморфизме каспийского тюленя (*Pusa caspica* Gmelin, 1788) по данным изменчивости фрагмента гена цитохрома *b* // Доклады российской академии наук (в печати).