

Рис. 2. Предполагаемая схема формирования субтипов вируса клещевого энцефалита при адаптации к новому переносчику.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ecker M., Allison S.T., Meixner T., Heinz F.X. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia // J. Gen. Virol. 1999. V. 80 (Pt 1). P. 179–185.
- Woolhouse M.E., Haydon D.T., Antia R. Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps // Trends Ecol. Evol. 2005. V. 20. № 5. P. 238–244.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНАЛИЗА КОНЕЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В КОМПЛЕКСЕ С МЕТОДОМ ГЕОМЕТРИЧЕСКОЙ МОРФОМЕТРИИ ДЛЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО АНАЛИЗА ОСОБЕННОСТЕЙ ЧЕРЕПА ПЕСЦОВ (*VULPES LAGOPUS* L., 1758) КОМАНДОРСКИХ ОСТРОВОВ

О.Г. НАНОВА\*, М. ПРОА\*\*, А.А. ЕВТЕЕВ\*

\*Московский госуниверситет им. М.В. Ломоносова

\*\*Hull York Medical School, York, UK

*Ключевые слова:* анализ конечных элементов, островные популяции.

Песцы Командорских островов (подвиды *Vulpes lagopus sementovi* Ognev, 1931 на острове Медный и *V. l. beringensis* Merriam, 1902 на острове Беринга) изолированы от материковых популяций (*V. l.*

*lagopus* L., 1758) незамерзающей акваторией Берингова моря на краю ареала в необычных для песцов условиях в течение эволюционно значимого времени (Goltsman et al., 2005; Dzhikiya et al., 2007). Показано, что песцы Командорских островов генетически значительно отличаются (как по ядерной, так и по митохондриальной ДНК) от материковых песцов (Geffen et al., 2007). Оценочное время изоляции составляет около 10 тыс. лет (Dzhikiya et al., 2007). Материковые песцы, по-видимому, представляют собой единую популяцию со слабо выраженной генетической (Dalén et al., 2005) и морфологической (Нанова, 2010) структурами на всем циркумполярном ареале благодаря склонности этих животных к дальним миграциям.

На Командорских островах песцы изолированы в необычных для них условиях, в частности здесь сильно отличается кормовая база: в материковой тундре в летнее время основным кормовым ресурсом являются грызуны (лемминги родов *Lemmus* и *Dicrostonyx* и полевки родов *Microtus* и *Clethrionomys*) (Гептнер, Наумов, 1967), а на островах — морские птицы, в основном глущыш *Fulmarus glacialis*, составляющий около 90% в рационе песца (Загребельный, 2000; Гольцман и др., 2010). На о. Медный грызуны отсутствуют, на о. Беринга в конце XIX в. была завезена красная полевка *Clethrionomys rutilus* Pal., 1779 (Ильина, 1950; Загребельный, 2000), но она здесь является для песца только дополнительным кормом, тогда как основным пищевым объектом остается глущыш. На о. Медный в историческое время (до 70-х годов прошлого века) значительную роль в рационе песца играли северные морские котики *Callorhinus ursinus* L., 1758; песцы добывали их новорожденных детенышей, собирали падаль и плаценты на лежбище (Челноков, 1970). На о. Беринга и в настоящее время иногда можно наблюдать такое фуражировочное поведение песцов на лежбищах северных морских котиков.

В зимнее время материковые песцы также питаются грызунами, добывая их из-под снега. Некоторые особи могут следовать за белыми медведями *Ursus maritimus* Phipps, 1774, питаясь остатками их добычи. Зимним кормом островным песцам служат в основном погибшие и умирающие на берегу каланы *Enhydra lutris* L., 1758, чья смертность в зимний период велика. Следует отметить, что на Командорских островах отсутствуют крупные хищники, которые могли бы разделять туши крупных морских млекопитающих (ластоногих, выброшенных на берег китообразных), как это происходит в материковой части ареала песца.

Многочисленные исследования показали, что песцы Командорских островов сильно отличаются морфологически от материковых (Цалкин, 1944; Пузаченко, Загребельный, 2008; Нанова, 2008, 2010): они крупнее материковых и отличаются от них формой черепа. Череп островных песцов относительно шире в ростральной части, особенно

в области хищнических зубов. Скуловые дуги черепа островных песцов шире расставлены и имеют более высокое основание.

Функциональные аспекты морфологических особенностей черепа песцов Командорских островов не исследовались. Целью нашей работы было сравнение биомеханических особенностей черепов разных популяций песцов.

Мы попытались ответить на следующий вопрос: являются ли наблюдаемые отличия формы черепа песцов Командорских островов от материковых песцов функционально значимыми либо произошедшие изменения в форме черепа случайны (т.е. возникли вследствие дрейфа генов и эффекта основателя) и не несут никакой биомеханической выгоды?

Наша нулевая гипотеза заключается в том, что морфологическая эволюция островных песцов носила адаптивный характер к сильно отличающейся кормовой базе острова, а именно к необходимости питаться в среднем более крупными объектами (глупыш) и разделять более жесткие объекты (шкура морских млекопитающих). Если мы покажем, что черепа песцов Командорских островов имеют биомеханические преимущества по сравнению с черепами материковых, мы можем обсуждать сценарий, предлагаемый нулевой гипотезой. Альтернативная гипотеза заключается в том, что изменения размеров и формы черепа на островах носили чисто случайный ненаправленный характер. Это утверждение будет верно, если будет показано, что черепа командорских песцов не отличаются по своим биомеханическим свойствам от черепов материковых, либо имеют менее выгодные биомеханические свойства.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Мы решали поставленную задачу с использованием комбинации метода компьютерного моделирования (анализа конечных элементов) и методов геометрической морфометрии (Cox et al., 2011; O’Higgins et al., 2011).

Анализ конечных элементов (*finite element analysis, FEA*) — это метод биомеханики, который позволяет оценивать нагрузки и деформации на компьютерной модели объекта, возникающие в результате воздействия на него внешних сил. Этот метод состоит в разбиении объекта на большое число конечных элементов (*finite elements*), образующих сеть (*mesh*); смещение узлов (*nodes*) этих элементов и их растяжение, возникающие в результате воздействия заданных в модели сил, оценивается в анализе.

Анализ конечных элементов — это инженерный метод, кроме того, он широко используется в ортопедии. В последние годы делаются попытки применять его в зоологии и антропологии (Panagiotopoulou, 2009), например, для реконструкции диеты ископаемых гоминид

(O'Higgins et al., 2011) или сопоставления эффективности жевательного аппарата у грызунов (Cox et al., 2011), имеющих разные типы жевательной мускулатуры. При использовании этого метода делается предположение, что чем меньше деформации испытывает анализируемая модель, тем более приспособленной к заданным в модели условиям является исследуемая конструкция.

Поскольку этот метод все еще остается очень времязатратным, работая с ним, приходится иметь дело с единичными объектами, а не с выборками, поэтому сначала мы выбрали по наиболее среднему экземпляру одного пола и возраста из каждой популяции, основываясь на линейных промерах черепа (были взяты взрослые самцы). Изображения были получены с помощью рентгеновской компьютерной томографии. Толщина среза составляет 0.67 мм, общее число срезов на томограмму — от 431 до 463. Затем мы произвели сегментацию этих трехмерных изображений, т.е. выделение нужных нам тканей на изображении, отделение их от «шума» (например, подставки, на которой находится объект) и перевод их в векторный формат. Программа Amiga позволяет полуавтоматически, используя цветовые характеристики, выделять нужные ткани.

Все следующие за сегментацией операции с моделями были произведены с использованием программного обеспечения VoxFE.

Мы выполнили меширование, т.е. разбиение наших компьютерных моделей черепа на воксели — объемные пиксели кубической формы. Длина стороны вокселя в нашем случае составляет 0.4 мм, каждая модель включала от 520 859 до 620 627 вокселей.

Затем мы задали свойства тканей, взятые из литературы (<http://www.biomech.org/materials>). В нашей работе использованы монолитные модели, т.е. для всего черепа в целом, включая зубы, задавались одинаковые свойства тканей — свойства плоской кости. Это было сделано с учетом методической работы, проведенной в лаборатории сравнительной анатомии профессора О'Хиггинса (Йорк, Великобритания), в которой было показано, что при любой дробности модели направление и сила различий между ними сохраняются. Тем не менее при таком подходе мы можем анализировать распределение нагрузок на костях черепа, но не зубах. Мы задали следующие свойства ткани: Модуль Янга (*Young's modulus*) — эластичность (устойчивость эластичного материала к деформациям) — 17 GPa; соотношение Пуассона (*Poisson's ratio*) — изменение ширины материала при заданном изменении длины — 0.3.

Далее в программе VoxFE мы моделировали действие двух главных аддукторов нижней челюсти — жевательной *m. temporalis* и височной *m. masseter* мышц, не рассматривая их деление на доли, а учитывая общую результирующую действия для каждой мышцы. Места крепления этих мышц были взяты из литературы, а также оценены по точкам крепления, заметным на костях черепа и нижней

челюсти. Максимальная сила сокращения каждой мышцы была оценена через произведение максимальной площади поперечного сечения мышцы (*cross-sectional area*) и внутренней силы (*intrinsic force*) волокон мышцы (Christiansen, Adolfssen, 2005). Оценка максимальной поперечной площади сечения мышцы производилась на костном материале (Christiansen, Adolfssen, 2005).

Мы анализировали два режима: захват добычи — билатеральный укус премолярами и резцами и разделка добычи — унилатеральный укус одной (левой) стороной, хищническим зубом. Соответственно мы указали точки укуса и рассчитали силу укуса в заданных точках. В результате были получены карты распределения деформаций на черепе для каждой модели. Все карты были шкалированы на 400 N (средняя оценочная сила укуса песка) для того, чтобы модели черепов, различающиеся по размеру, были сопоставимы друг с другом. Карты распределения деформаций анализировали визуально.

Для количественной оценки степени деформаций черепа и мест локализации этих деформаций мы использовали методы геометрической морфометрии (O’Higgins et al., 2011). Точки (*landmarks*) представляли на моделях в исходном состоянии (всего использовали 50 точек, из них 6 несимметричных), затем запускали модель, которая в результате укуса деформировалась, и экспортировали в отдельный файл новые координаты уже деформированной модели. Таким образом мы получали координаты исходного и деформированного черепа и, используя методы геометрической морфометрии, могли анализировать изменчивость форм.

Деформации черепа, которые происходят при жевании, как правило, намного меньше различий между популяциями, поэтому это сложно отразить на графике. Чтобы получить распределения со всеми формами, мы рассчитали среднюю форму для недеформированных черепов (*mean unloaded shape*), а затем разницу для каждой популяции между недеформированной (*unloaded shape*) и деформированной формами (*loaded shape*) и прибавили эту разницу (*residuals*) к значению, соответствующему средней форме. Затем для трех таким образом скорректированных значений и усредненной формы провели прокрустов анализ и анализ главных компонент. Эти операции были выполнены в программе Morphologika.

Мы рассчитали в программе VoxFE силу укуса для каждой анализируемой модели, суммируя значения всех нагрузок в фиксированной точке (точке укуса).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Направление и сила деформации черепов песцов с о. Медный и о. Беринга более сходны между собой, чем с материка (рисунок).

На рисунке представлены результаты анализа в режиме разделки добычи (унилатеральный укус), для билатерального укуса

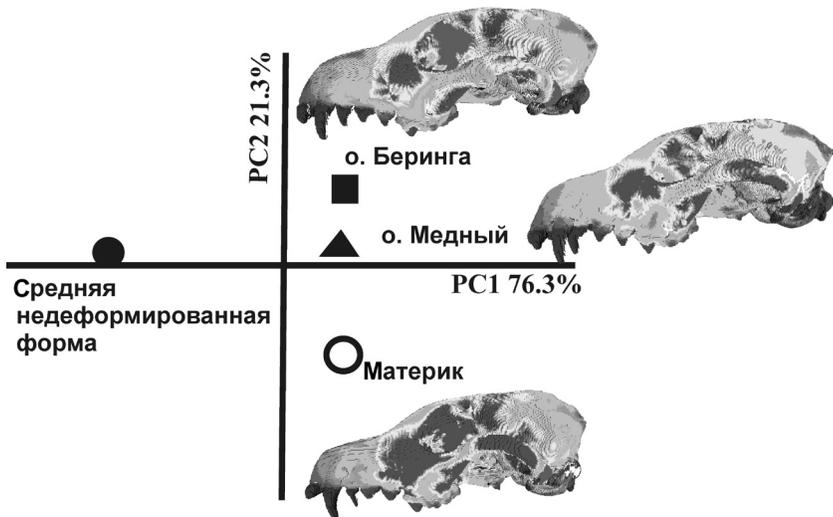


Рисунок. Распределение деформированных форм и усредненной недеформированной формы в пространстве первых двух главных компонент (PC) и соответствующие этим формам карты распределения нагрузок (VonMiseStrain) на черепах песцов разных популяций: более темным цветом обозначены более сильные нагрузки, более светлым цветом — более слабые (максимальное значение нагрузок  $0.0007 \text{ microstrain}$ , минимальное —  $0.0$ ).

результаты аналогичны. Как видно из карт распределения деформаций, модель для черепа материкового песка испытывает большие деформации по сравнению с островными популяциями. Основные различия между материковой и островными популяциями в распределении нагрузок на череп приходятся на скуловую дугу, ростральную часть и орбитальную область.

Максимальная сила укуса у командорских популяций больше ( $460 \text{ N}$  — для о. Беринга,  $442 \text{ N}$  — для о. Медный), чем у материковой ( $372 \text{ N}$ ). Анализ чувствительности (*sensitivity analysis*) показал, что сила укуса линейно изменяется в зависимости от вводимых в модель значений сил мышц, поэтому в этом случае разница в силе укуса нечувствительна к изменениям данного параметра.

Нами показано, что при работе в равных условиях (одинаковая ориентации мускулатуры, т.е. угол отвода нижней челюсти задан одним и тем же для всех моделей; пропорциональные мышечные нагрузки) модели черепов песцов Командорских островов испытывают меньшие деформации и способны развивать большую силу укуса по сравнению с моделью черепа материкового песка. На основании

этих результатов мы можем сделать вывод о том, что произошедшие в черепах песцов Командорских островов за время изоляции изменения делают их черепа биомеханически более прогрессивными по сравнению с черепами материковых песцов. Это проявляется как в увеличении размеров черепа, так и в изменении его пропорций. Мы предполагаем, что возникновение биомеханических преимуществ можно считать адаптацией островных популяций песцов к питанию более крупными по сравнению с грызунами жертвами, а также животными с прочными кожными покровами, в частности поедать турупы морских млекопитающих. Таким образом, наши предварительные результаты свидетельствуют в пользу предложенной нулевой гипотезы, предсказывающей, что морфологические изменения песцов на Командорских островах были адаптивны, а не носили лишь случайный характер.

Однако для подтверждения этих результатов, полученных с использованием методов компьютерного моделирования, необходимы дальнейшие исследования. С одной стороны, требуется усложнение моделей, что включает сегментацию разных типов тканей, включение других жевательных мышц в анализ, а также анализ моделей при разной ориентации мышц, т.е. при разных углах отвода нижней челюсти, с другой — для анализа внутривыборочной изменчивости и сопоставления ее с межвыборочной необходимо создание выборок простых моделей черепов разных популяций песцов.

## ВЫВОДЫ

1. Форма черепов песцов Командорских островов позволяет при захвате добычи и при ее разделке испытывать меньшие нагрузки и развивать большую силу укуса по сравнению с черепами песцов материковых популяций. Особенно это заметно в местах, которые наиболее отличают череп островных песцов от материковых: скуловые дуги, верхняя челюсть в области хищнических зубов.

2. Мы предполагаем, что наблюдаемые различия между популяциями в размерах и форме черепа могли сформироваться в результате адаптивной эволюции командорских песцов к необычной кормовой базе островов.

Авторы выражают благодарность проф. П. О'Хиггинсу и док. Л. Фиттон (HYMS, York, UK). Работа выполнена при поддержке грантов Президента РФ (МК-1681.2012.4), Королевского общества (The Royal Society UK) Великобритании (JP 100455) и РФФИ (№ 12-04-31013).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гептнер В.Г., Наумов Н.П. Млекопитающие СССР. М.: Высшая школа, 1967. Т. 2., ч. 1. 1003 с.
- Гольцман М.Е.: Нанова О.Г., Сергеев С.Н., Шиенок А.Н. Использование кормовых ресурсов репродуктивными семьями песцов (*Alopec lagopus semenovi*)

- Ognev 1931; MAMMALIA: Canidae) на о-ве Медный (Командорские о-ва) // Зоол. журн. 2010. Т. 89, № 10. С. 1246–1263.
- Загребельный С.В. Экология питания двух подвидов песцов Командорских островов: о. Беринга (*Alopex lagopus beringensis* Merriam 1902) и о. Медного (*A.l. semenovi* Ognev 1931; *Carnivora, Canidae*) // Зоол. журн. 2000. Т. 79, № 5. С. 595–697.
- Ильина Е.Д. Островное звероводство. М.: Международная книга, 1950. 302 с.
- Нанова О.Г. Анализ изменчивости щечных зубов трех видов псовых (MAMMALIA: Canidae) методами стандартной и геометрической морфометрии // Сборник трудов Зоологического музея МГУ, 2008. Т. 49. С. 413–427.
- Нанова О.Г. Возрастная изменчивость морфометрических признаков черепа материкового песца (*Alopex lagopus lagopus*) и песца командорских островов (*A. l. beringensis*, *A. l. semenovi*; MAMMALIA: Canidae) // Зоол. журн. 2010. Т. 89, № 7. С. 871–881.
- Пузаченко А.Ю., Загребельный С.В. Изменчивость черепа песцов (*Alopex lagopus*, CARNIVORA, Canidae) Евразии // Зоол. журн. 2008. Т. 87, № 9. С. 1106–1123.
- Цалкин В.И. Географическая изменчивость в строении черепа песцов Евразии // Зоол. журн. 1944. Т. 23, № 4. С. 156–169.
- Челюков Ф.Г. О взаимоотношениях песцов и детенышей котиков // Вопросы географии Камчатки. 1970. №6. С. 151–158.
- Cox P.G., Fagan M.J., Rayfield E.J., Jeffery N. Finite element modelling of squirrel, guinea pig and rat skulls: using geometric morphometrics to assess sensitivity // J. Anatomy. 2011. V. 219. P. 696–709.
- Christiansen P., Adolphsen J.S. Bite forces, canine strength and skull allometry in carnivores (Mammalia, Carnivora) // J. Zool. Lond. 2005. V. 266. P. 133–151.
- Dalén L., Fuglei E., Hersteinsson P. et al. Population history and genetic structure of a circumpolar species: the arctic fox // Bio. J. Linnean Soc. 2005. V. 84. P. 79–89.
- Dzhikiya E.L., Kolesnikov A.A., Chudakova D.A. et al. Genetic Polymorphism of Commander Islands Polar Foxes *Alopex lagopus semenovi* Ognev, 1931 and *Alopex lagopus beringensis* Merriam, 1902 // Rus. J. of Genetics. 2007. V. 43, № 9. P. 1032–1037.
- Geffen E., Waidyaratne S., Dalén L. et al. Sea ice occurrence predicts genetic isolation in the Arctic fox // Molecular Ecology. 2007. V. 16. P. 4241–4255.
- Goltsman M.E., Kruchenkova E.P., Sergeev S.N. et al. «Island syndrom» in a population of Arctic fox (*Alopex lagopus*) from Mednyi Island // J. Zool. Lond. 2005. V. 267. P. 405–418.
- <http://www.biomesh.org/materials/FEA> in Biology, Materials page.
- O'Higgins P., Cobb S.N., Fitton L.C. et al. Combining geometric morphometrics and functional simulation: an emerging toolkit for virtual functional analyses // J. Anatomy. 2011. V. 218. P. 3–15.
- Panagiotopoulou O. Finite element analysis (FEA): Applying an engineering method to functional morphology in anthropology and human biology // Ann. of Human Biology. 2009. V. 36, № 5. P. 609–623.