

УДК 575.16 : 575.21

СРАВНЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И НЕМЕТРИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СКЕЛЕТА ЛИНЕЙНЫХ МЫШЕЙ К СРЕДОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ В ПРЕНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

ВАСИЛЬЕВА И. А., ВАСИЛЬЕВ А. Г., ЛЮБАШЕВСКИЙ Н. М.,
СТАРИЧЕНКО В. И.

У мышей линии BALB/cJLacSto методами многомерного морфометрического анализа изучено влияние ряда средовых факторов в пренатальном развитии на размеры и форму нижней челюсти. В качестве факторов применены: включение в диету матери метилтиоурацила, инъекции андренокортикотропного и паратиреоидного гормонов, два режима охлаждения беременных самок. Установлено, что изменения формы мандибулы, вызванные изменением условий пренатального развития, не достигают уровня межлинейных различий и идентификация линий возможна при различных условиях содержания животных. Сравнение полученных данных с ранее изученным влиянием тех же факторов на неметрические характеристики скелета в этой же линии показало относительно большую устойчивость последних. Это дает основание считать метод оценки фенетических дистанций между естественными группировками животных по комплексу неметрических пороговых признаков скелета более чувствительным по сравнению с «мандибулярным тестом» Фестинга и более пригодным для выявления генетической дифференциации природных популяций.

В последние годы после исследований Фестинга [1—3] на линейных животных возникла возможность использования предложенного им «мандибулярного теста» не только для целей генетического мониторинга и идентификации линий мышей и крыс, но и для оценки генетической дифференциации природных популяций [4]. В основе этого метода лежит многомерный статистический анализ формы нижней челюсти по комплексу линейных промеров, снятых при строго определенной ориентации челюсти относительно жестко фиксированных осей координат. Структура изменчивости размеров и формы мандибулы животных разных линий резко различается, поэтому в пространстве канонических переменных каждая линия занимает вполне определенную область, что и позволило Фестингу успешно идентифицировать особей разных линий. Аналогичным образом показана возможность разграничения в пространстве канонических осей выборок из природных популяций *Mus musculus*, различающихся числом хромосом в результате робертсоновских перестроек [4]. Возможность генетической интерпретации различий, выявляемых с помощью морфометрического анализа формы мандибулы, продемонстрирована недавно в серии фенотипических и морфогенетических исследований [5—7]. Все эти данные открывают перспективу более широкого применения «мандибулярного теста» для оценки генетической дифференциации популяций у других видов грызунов, как это имеет место для неметрических вариаций в строении скелета [8—13]. Однако

для такого оптимистического вывода, на наш взгляд, принципиальное значение имеет решение вопроса о степени устойчивости формы мандибулы к разнообразным средовым факторам в процессе развития. Аналогичная задача недавно ставилась нами в отношении неметрических признаков: показана относительно высокая устойчивость проявления целого ряда неметрических признаков к факторам среды в пренатальном развитии [14]. В этой работе выбор экспериментальных воздействий был обусловлен, с одной стороны, их заведомым влиянием на процессы роста, минерального обмена и остеогенеза плода. С этой целью применяли химическую блокаду цитовидной железы путем включения в диету матери ингибитора цитовидной железы — метилтиоурацила, а также инъекции беременным самкам паратиреоидного гормона, участвующего в кальциевом обмене. С другой стороны, в эксперимент были включены факторы, изменяющие общий нейроэндокринный статус материнского организма: инъекции адренокортикотропного гормона и содержание при пониженных температурах, что обычно отражается на морфофизиологических характеристиках потомства. Имеющийся в нашем распоряжении экспериментальный материал позволяет также выявить, какова устойчивость формы мандибулы к тем же самым средовым воздействиям, а следовательно, оценить надежность применения «мандибулярного теста» Фестинга для идентификации линейных животных, эмбриональное развитие которых проходило в разных условиях. Другая цель работы состоит в сопоставлении чувствительности указанных двух методов для косвенного выявления генетической дифференциации природных популяций грызунов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Подробные сведения об источниках материала, его объеме и условиях проведения экспериментов приведены в предшествующей публикации [14]. Напомним поэтому лишь общую схему организации материала. Сравнивали животных трех инбредных линий: BALB/cJLacSto, C57BL/6JSto, CBA/CaLacRap и колонию лабораторных мышей стадного разведения — «нелинейных» из питомника лабораторных животных АМН СССР «Рапшолово». Животных забивали в 6-недельном возрасте в августе — сентябре 1983 г. На мышках линии BALB/c¹ в марте — апреле того же года были поставлены эксперименты. После 7-дневного периода спаривания при соотношении полов 3:1 взрослые, ранее не рожавшие самки были разделены на шесть групп (по 20 животных в группе) соответственно применяемому воздействию: контроль, включение в диету метилтиоурацила (МТУ), инъекции паратиреоидина (ПТГ), инъекции адренокортикотропного гормона (АКТГ), два режима охлаждения: холод I и холод II. Потомство самок, подвергшихся экспериментальным воздействиям, в мае — июне забивали в том же возрасте и сравнивали с контрольной группой и с выборкой той же линии, взятой в другой сезон (осенью), а также с представителями других линий и группой нелинейных животных, о которых говорилось выше.

Промеры нижней челюсти, кроме одного, соответствуют предложенным Фестингом [1]. Исключение касается наибольшей высоты дорсально-орального края резцовой части мандибулы — признак 3 (рис. 1), который у Фестинга представляет собой наибольшую высоту реза. После удаления мягких тканей в ходе препарирования мандибулы у сравнительно молодых 1,5-месячных животных резец часто искусственно смещается вдоль резового канала, что может привести к артефактам измерений. По этой причине произвели замену промера. Способ измерений также модифицировали. Ветвь мандибулы помещали буккальной стороной к источнику света в проекционном аппарате. Увеличенное в 6,5 раза изображение челюсти проектировали на миллиметровую бумагу и ориентировали стандартным образом относительно вычерченных на бумаге осей координат. Ориентацию изображения производили так, чтобы ось абсцисс проходила через две наиболее выдающиеся в вентральном направлении точки: соответствующие части «симфизального» (под-

¹ В последующем тексте сублинейная символика опущена.

бородочного) бугра и углового отростка, а ось «ординат» (по указанной выше причине) через точку, соответствующую признаку z (см. рис. 1).

Для многомерной статистической обработки использован дискриминантный анализ, основанный на максимизации отношения межгрупповой дисперсии к внутригрупповой [15, 16], с вычислением канонических переменных и обобщенных расстояний Махаланобиса. Расчет проведен на ЭВМ БЭСМ-6 на основе пакета прикладных программ, разработанного Ефимовым [17].

Об относительной устойчивости формы мандибулы судили по соотношению внутри- и межлинейных различий, количественно выраженных расстояниями Махаланобиса, которые в свою очередь сравнивали с соответствующими фенетическими дистанциями по комплексу неметрических пороговых признаков скелета, вычисленными ранее [14].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку на три первые канонические переменные приходится более 90% всей дисперсии: λ_1 65,0%, λ_2 19,7%, λ_3 7,5%, можно считать, что уже две первые переменные содержат основную информацию о своеобразии формы мандибулы в сравниваемых выборках мышей. Как и следовало ожидать, опираясь на работы Фестинга, все три изученные линии мышей резко различаются по изменчивости размеров и формы нижней челюсти. В плоскости первых двух канонических переменных диаграммы рассеивания объектов, принадлежащих разным линиям, четко локализованы в определенных областях и не перекрываются (рис. 2). «Нелинейные» животные занимают промежуточное положение, а полигон разброса этой группы частично накладывается на зоны варьирования сравниваемых линий. Примечательно, что по форме мандибулы мыши из осенней выборки BALB/c ближе к развивающимся в сходных условиях одного сезона и синхронно с ней взятым животным других линий, чем мыши весенне-летней контрольной группы этой же линии, выращенные в другой сезон. Ранее мы отмечали, что весенне-летние животные линии BALB/c больше по размерам и массе тела, чем осенние [14]. Развитие одной и той же линии в условиях разных сезонов сопровождается изменением не только общих размеров, но и формы мандибулы.

Расстояние Махаланобиса между осенней и летней выборками BALB/c довольно велико и достигает более половины средней величины межлинейных дистанций, приближаясь к уровню различий между инбредными и нелинейными животными (см. таблицу). Для групп мышей BALB/c, подвергшихся экспериментальным воздействиям, также характерно некоторое смещение центров тяжести выборок в плоскости первых двух канонических осей по сравнению с контрольной группой. Однако по размаху изменчивости они не вышли за пределы области, характерной для линии: по крайней мере эти сдвиги не превышают межсезонных различий в данной линии. Инъекции ПТГ, АКТГ и включение в диету матери МГУ неспецифически повлияли в направлении, совпадающем с изменением действия сезонных факторов от лета к осени. Напротив, содержание беременных самок при низкой температуре, несмотря на аналогичное неспецифическое уменьшение размеров потомства, имеет несколько отличный морфогенетический эффект (см. рис. 2).

Таким образом, форма нижней челюсти у мышей линии BALB/c оказалась устойчивой к влиянию примененных средовых факторов в пренатальном развитии. Это, по-видимому, указывает на принципиальную возможность использования мандибулярного теста для идентификации и генетического мониторинга линий при различных условиях содержания животных, а также для изучения генетической дифференциации природ-

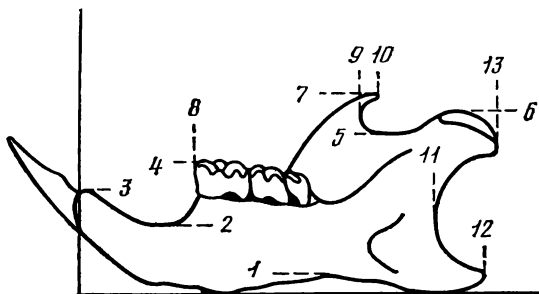


Рис. 1. Схема промеров, использованных для морфометрического анализа формы нижней челюсти мышей: 1-13 — номера признаков

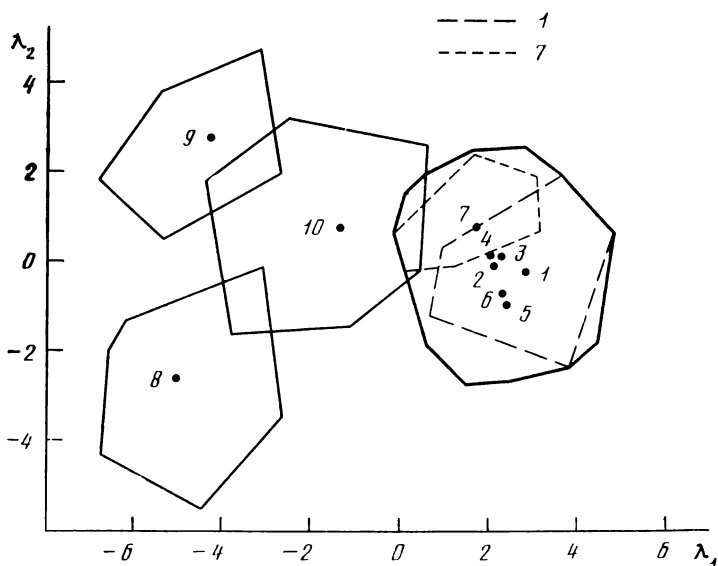


Рис. 2. Размещение выборок мышей в плоскости первой (λ_1) и второй (λ_2) канонических переменных. Цифрами указаны центры тяжести выборок. Экспериментальные группы BALB/c: 1 — контроль, 2 — МТУ, 3 — АКГГ, 4 — ПТГ, 5 — холод I, 6 — холод II, 7 — BALB/c (осень); линии: 8 — C57BL/6J, 9 — СВА и 10 — «нелинейные». Жирной линией ограничена диаграмма рассеивания объектов (особей), принадлежащих различным выборкам (1-7) линии BALB/c, соответствующим пунктиром — группы весенних (1) и осенних (7) контрольных животных BALB/c

ных популяций грызунов из экологически различающихся участков ареала.

Если сравнить данные по влиянию условий пренатального развития на форму нижней челюсти с результатами, полученными ранее на этом же материале, по влиянию тех же экспериментальных воздействий на неметрические характеристики скелета, то в общих чертах картины взаимоотношений между выборками, полученные двумя разными методами, хорошо согласуются друг с другом (см. таблицу). В обоих случаях внутривыборочные различия, вызванные влиянием внешних условий, не достигают уровня межвыборочных. В то же время соотношение масштабов

**Расстояния Махаланобиса и фенетические дистанции по комплексу
неметрических признаков между изученными группами мышей**

Группа, фенетические дистанции	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. Контроль	—	2,47	1,41	2,12	2,30	1,90	3,65	7,95	7,78	5,03
2. МТУ	-0019	—	1,78	1,70	2,13	1,85	2,34	7,41	7,09	4,25
3. АКТГ	0,024	0,016	—	1,43	1,96	1,74	2,92	7,39	6,97	4,32
4. ПТГ	0,007	0,023	0,016	—	2,29	1,85	2,34	7,32	6,90	4,20
5. Холод I	0,019	0,022	-0,012	-0,015	—	0,96	3,11	7,35	7,70	4,96
6. Холод II	0,004	0,015	0,016	0,028	-0,010	—	2,84	7,30	7,58	4,66
7. BALB/c (осень)	0,002	-0,016	0,035	0,038	0,031	0,035	—	7,51	6,70	4,81
8. C57BL/6J	1,055	0,848	0,982	1,103	0,930	0,941	0,912	—	5,90	5,72
9. CBA	0,674	0,719	0,630	0,666	0,559	0,617	0,674	0,832	—	4,81
10. Нелинейные	0,193	0,156	0,200	0,219	0,138	0,138	0,134	0,584	0,544	—

внутри- и межлинейных различий, выраженных расстояниями Махаланобиса для морфометрических признаков мандибулы и фенетическими дистанциями для неметрических характеристик скелета, свидетельствует в пользу большей устойчивости последних. Так, если по морфометрическим промерам мандибулы наименьшее межлинейное расстояние Махаланобиса всего лишь вдвое превышает наибольшее внутрилинейное, то по неметрическим признакам наименьшая межлинейная фенетическая дистанция в 20 раз превосходит внутрилинейные. Относительная устойчивость неметрических показателей к одним и тем же средовым воздействиям по крайней мере на порядок выше по сравнению с морфометрическими. Это дает основание считать их более пригодными для выявления генетической дифференциации природных популяций, а метод оценки фенетических дистанций между естественными группировками по комплексу неметрических пороговых признаков скелета более чувствительным по сравнению с «мандибулярным тестом» Фестинга.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Festing M. F. W.* Mouse strain identification // *Nature*. 1972. V. 238. P. 351.
2. *Festing M. F. W.* A multivariate analysis of subline divergence in the shape of the mandible in C57BL/Gr mice // *Genet. Res. Camb.* 1973. V. 21. P. 121.
3. *Lovell D. P., Festing M. F. W.* Relationships among colonies of laboratory rat // *J. Heredity*. 1982. V. 73. P. 81.
4. *Thorpe R. S., Corti M., Capanna E.* Morphometric divergence of Robertsonian populations/species of Mus; a multivariate analysis of size and shape // *Experientia*. 1982. V. 38. P. 920.
5. *Atchley W. R., Plummer A. A., Riska B.* Genetics of mandible form in the mouse // *Genetics*. 1985. V. 111. № 3. P. 555.
6. *Atchley W. R., Plummer A. A., Riska B.* Genetic analysis of size-scaling patterns in the mouse mandible // *Genetics*. 1985. V. 111. № 3. P. 579.
7. *Bailey D. W.* Genes that affect morphogenesis of the murine mandible: recombinant – inbred strain analysis // *J. Heredity*. 1986. V. 77. № 1. P. 17.
8. *Berry R. J.* Epigenetic polymorphism in wild population of *Mus musculus* // *Genet. Res. Camb.* 1963. V. 4. P. 193.
9. *Berry R. J.* The evolution of an island population of the house mouse // *Evolution*. 1964. V. 18. № 3. P. 468.
10. *Hartman S. E.* Geographic variation analysis of *Dipodomys ordii* using nonmetric cranial traits // *J. Mammalogy*. 1980. V. 61. № 3. P. 436.
11. *Sikorski M. D.* Non-metrical divergence of isolated populations of *Apodemus agrarius* in urban areas // *Acta theriologica*. 1982. № 13. P. 169.

12. Васильев А. Г. Опыт эколого-фенетического анализа уровня дифференциации популяционных группировок с разной степенью пространственной изоляции // Генетика популяций. М.: Наука, 1982. С. 15.
13. Васильев А. Г. Определение фенетических дистанций между популяционными группировками рыжей и красной полевки (*Clethrionomys*) // Популяционная экология и морфология млекопитающих. Свердловск: УНЦ АН СССР. 1984. С. 3.
14. Васильев А. Г., Васильева И. А., Любашевский Н. М. и др. Экспериментальное изучение устойчивости проявления неметрических пороговых признаков скелета у линейных мышей // Генетика. 1986. Т. 22. № 7. С. 1191.
15. Кульбак С. Теория информации и статистика. М.: Наука, 1967. 408 с.
16. Blackith R. E., Reyment R. A. Multivariate morphometrics. L.; N. Y.: Acad. press, 1971. 390 p.
17. Ефимов В. М. О структуре пакета прикладных программ для обработки биологических данных // Науч.-техн. бюл. ВАСХНИЛ. Сиб. отд. 1983. Вып. 18. С. 34.

Институт экологии растений
и животных УНЦ АН СССР,
Свердловск

Поступила в редакцию
8.XII.1986
Окончательный вариант получен
28.II.1987

**A COMPARISON OF STABILITY OF MORPHOMETRIC AND NON-METRIC
SCELETAL CHARACTERS OF INBRED MICE WITH REGARD TO THE INFLUENCE
OF ENVIRONMENTAL FACTORS DURING PRENATAL DEVELOPMENT**

VASILYEVA I. A., VASILYEV A. G., LYUBASHEVSKY N. M., STARICHENKO V. I.

*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Scientific Center,
Academy of Sciences of the USSR, Sverdlovsk*

S u m m a r y

The influence of some environmental factors on size and shape of mandible in BALB/cJLacSto inbred mice was studied during prenatal development by multivariate morphometric methods. The factors under study were: introduction of methyl thiouracil into the diet of pregnant females; injections of pregnant females with adrenocorticotropic or parathyroid hormones; keeping the females at low temperatures (two regimes). It was established that the changes of mandible shape caused by the changes of conditions of prenatal development did not achieve the level of differences between strains, and mouse strain identification was possible under various conditions of animal's keeping. It had been shown by comparison of these results with preceding data that the non-metric skeletal traits were more stable to the influence of the same factors than morphometric ones. This gives us the foundations to consider the method of evaluation of phenetical distances between natural groups of animals for the set of non-metric threshold skeletal traits more suitable for detection of genetical differentiation of wild populations.