DOI: 10.30764/1819-2785-2018-13-1-88-94

Сканирующая электронная микроскопия как эффективный метод судебно-биологической экспертизы (на примере волос вымерших и рецентных видов млекопитающих)

О.Ф. Чернова^{1,2}, Т.В. Перфилова¹

¹ Федеральное бюджетное учреждение Российский федеральный центр судебной экспертизы при Министерстве юстиции Российской Федерации, Москва 109028, Российская Федерация ² ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва 119071, Российская Федерация

Аннотация. Показаны возможности использования в судебно-биологических экспертизах метода сканирующей электронной микроскопии для видовой диагностики и идентификации млекопитающих. Приведены примеры исследования шерсти животных, живших в ледниковый период (шерстистого мамонта, шерстистого носорога, пещерного льва, древнего бизона, лошадей), остатков шерсти из могильников и захоронений голоцена, шерсти рецентных млекопитающих, находящихся под угрозой исчезновения (шимпанзе, орангутана, дальневосточного леопарда, тигра), а также волос человека.

Ключевые слова: сканирующая электронная микроскопия, волосы, вымершие и редкие млекопитающие, биологическая экспертиза

Для цитирования: Чернова О.Ф., Перфилова Т.В. Сканирующая электронная микроскопия как эффективный метод судебно-биологической экспертизы (на примере волос вымерших и рецентных видов млекопитающих) // Теория и практика судебной экспертизы. 2018. Том 13. № 1. С. 88–94. DOI: 10.30764/1819-2785-2018-13-1-88-94.

Effective Application of Scanning Electron Microscopy in Forensic Biology for the Analysis of Hairs from Extinct and Extant Mammalian Species

Ol'ga F. Chernova^{1,2}, Tat'yana V. Perfilova¹

- ¹ The Russian Federal Centre of Forensic Science of the Ministry of Justice of the Russian Federation, Moscow 109028, Russian Federation
- ² Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow 119071, Russian Federation

Abstract. The possibilities of scanning electron microscopy (SEM) for effective species diagnosis and identification of mammals are demonstrated using specific examples of microscopic analysis of mammalian fur, including the fur of extinct species of the Ice Age (woolly mammoth, woolly rhinoceros, cave lion, ancient bison and horses), fur remains from Holocene burials and graves, and fur samples from extant threatened species (chimpanzee, orangutan, Amur leopard, and tiger).

Keywords: scanning electron microscopy, hairs, extinct and rare mammals, forensic biology

For citation: Chernova O.F., Perfilova T.V. Effective Application of Scanning Electron Microscopy in Forensic Biology for the Analysis of Hairs from Extinct and Extant Mammalian Species. *Theory and Practice of Forensic Science.* 2018. Vol. 13. No 1. P. 88–94. DOI: 10.30764/1819-2785-2018-13-1-88-94.

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), несмотря на дороговизну оборудования и его содержания, вполне оправдывает затраты. Именно этот метод во многих случаях помогает проводить эффективную диагностику и идентификацию объектов судеб-

но-биологической экспертизы, в том числе редких видов флоры и фауны, по которым растет количество назначаемых экспертиз [1, 2]. Она может служить не только дополнением к традиционным методам судебнобиологической экспертизы, но в некоторых

случаях полученные с ее помощью данные являются основными в доказательной базе. СЭМ особенно необходима при исследовании фрагментарных остатков плохой сохранности, в том числе палеонтологических образцов и археологических артефактов. Одной из важнейших задач методического обеспечения биологической экспертизы является создание баз данных, которые позволяют уверенно определять объекты исследования, включая виды флоры и фауны. Сотрудники ФБУ РФЦСЭ при Минюсте России ведут сбор сведений о микроструктуре дериватов кожных покровов: эти данные постоянно пополняются и осмысливаются [3–10].

Цель настоящей работы – на конкретных примерах диагностики волос млекопитающих показать эффективность СЭМ при проведении экспертиз шерсти вымерших и рецентных видов млекопитающих, представляющих интерес не только для криминалистики, но и для палеонтологии, антропологии и зоологии; большинство из них строго охраняются законом как редкие или даже исчезающие виды.

Материалы и методы

Объектами наших исследований служили представители млекопитающих, в том числе вымершие и «краснокнижные» виды.

Подготовка дериватов наружных покровов для СЭМ достаточно проста [3]. Для изучения волос их необходимо в первую очередь тщательно очистить, отмыть, высушить и обезводить. Затем готовят продольные и поперечные срезы волос (мы их делаем по разработанной нами методике [3]). Образцы (фрагменты стержня по всей его длине, его поперечные и продольные срезы) наклеивают на специальный столик, напыляют золотом и изучают под сканирующим электронным микроскопом (СЭмикроскопом). Мы работали на микроскопе Jeol 840 A (Япония).

Силаева О.Л., Чернова О.Ф, Вараксин А.Н. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд Гусеобразные (Anseriformes). Компакт-диск. М.: КМК. 2015.

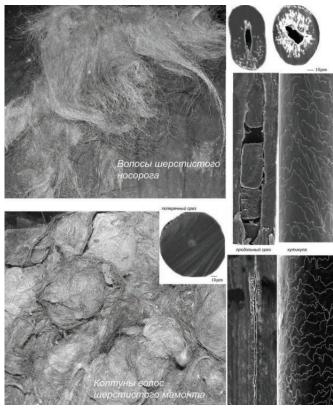


Рис. 1. Внешний вид и микроструктура волос шерстистого носорога и шерстистого мамонта

Fig. 1. General view and microstructure of hairs of the woolly rhinoceros and the woolly mammoth

Результаты и обсуждение

Вымершие виды млекопитающих. Вымершие млекопитающие, такие как шерстистый мамонт, шерстистый носорог, пещерный лев, древний бизон, древние лошади (юкагирская, ленская), и различные их дериваты и части тела зачастую становятся объектами незаконной продажи и вывоза из страны, поэтому вопрос об идентификации их остатков крайне актуален. В связи с этим перед нами была поставлена задача изучения волос этих видов с целью видовой диагностики по мельчайшим фрагментам. С помощью СЭМ нам удалось найти видоспецифические особенности микроструктуры волос, позволяющие идентифицировать волосы даже по их фрагментам. Например, на уровне световой микроскопии волосы шерстистого мамонта и шерстистого носорога практически неразличимы, но при использовании оригинальной методики получения продольных срезов различия все же нами найдены (рис. 1). Впервые изучена ювенильная шерсть детеныша-сосунка шерстистого носорога. По сравнению с шерстью взрослых носорогов (изучена нами

¹ Силаева О.Л., Ильичёв В.Д., Чернова О.Ф., Фадеева Е.О. Мультимедийный определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряд воробьинообразные (Passeriformes). Семейство врановые (Corvidae). Компакт-диск. М.: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. 2010.

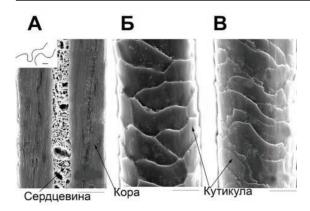


Рис. 2. Микроструктура волос пещерного льва. А – продольный срез остевого волоса (вклейка – конфигурация стержня). Б – кутикула основания волоса. В – то же середины волоса. Масштаб: 10 мкм, врезка – 5 мкм

Fig. 2. Microstructure of cave lion hair. A – longitudinal section of a guard hair (box – hair shaft configuration). E – cuticle in the basal region of the hair. E – same in the mid-shaft region. Scale bar is 10 μ m; box – 5 μ m

ранее [11]) у детеныша шерсть была короче, светлее (от светло-пепельной до цвета блонд), топографически однороднее и менее дифференцирована.

Впервые изучена шерсть пещерного льва. Ее окрас отличается от окраса шерсти рецентного льва, хотя незначительное сходство и присутствует. Шерсть у пещерного льва хорошо дифференцирована, что вполне сходно с шерстью современного льва (но грива у первого отсутствовала), однако у пещерного льва имеется очень толстый и густой подшерсток, образованный сильно сжатыми извитыми и пружинистыми волнистыми пуховыми волосами и слабо извитыми тонкими остевыми волосами с толстой воздухоносной сердцевиной (рис. 2). Эти особенности свидетельствуют об адаптации животного к суровым условиям обитания.

Древние млекопитающие. Археологические артефакты также часто являются предметами незаконных торговых сделок, и их идентификация важна как для археологии, так и для судебной экспертизы. За последние 30 лет Тувинская археологическая экспедиция собрала коллекцию фрагментов меховых изделий из курганов скифского времени (VIII–V вв. до н. э.). С помощью СЭМ нам удалось в этих образцах диагностировать шерсть зайца (рис. 3), лошади и тушканчика.

Смогли мы диагностировать и утеплитель ценного археологического артефакта – монгольской шапочки XIV в., несмотря на ее крайне плохую сохранность. Шапочка сшита из ткани с вытканным металлической нитью узором и утеплена шерстью домашней овцы полутонкорунной породы, сходной с шерстью таких древних пород, как, например, китайская порода хан (длиннохвостой и короткохвостой), которая произошла от северомонгольских овец.

Сравнительное исследование архитектоники волос рецентных пород и метисов ездовых собак и ископаемых собак из древних поселений Чукотки показало, что последние использовались в качестве ездовых собак длительное время, были адаптированы к суровым условиям обитания, у них происходило межпородное скрещивание и они, вероятно, гибридизировали с волком.

Редкие виды млекопитающих. Впервые с помощью СЭМ показано, что структура сердцевины волос человека вполне



Рис. 3. Микроструктура фрагментов волос древнего зайца (из археологической находки) (А, В) и маньчжурского зайца (Б, Г). А, Б – поперечные срезы стержня. В, Г – кутикула в области продольной борозды на стержне. 1 – кора; 2 – сердцевина; 3 – кутикула. Масштаб 10 мкм

Fig. 3. Microstructure of hair fragments of the Ancient hare (from an archaeological find) (A, B) and from the Manchurian hare (\mathcal{B} , \mathcal{F}). A, \mathcal{B} – cross sections of the hair shaft. B, \mathcal{F} – cuticle in the region of the longitudinal groove of the shaft. 1 – cortex; 2 – medulla; 3 – cuticle. Scale bar is 10 μ m

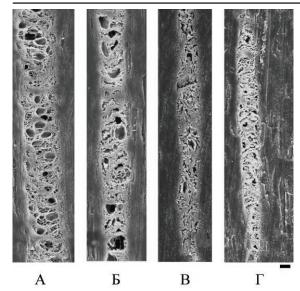


Рис. 4. Архитектоника сердцевины на продольных срезах волос приматов: A – орангутан, B – шимпанзе; волосы мужчины славянина: B – со спины, Γ – с головы. Масштаб 10 мкм

Fig. 4. Fine structure of the medulla in longitudinal sections of primate hairs: A – orangutan, B – chimpanzee; Slavic male human: B – back hair; Γ – scalp hair. Scale bar is 10 μ m

сопоставима с таковой волос шимпанзе (рис. 4), и это неудивительно, поскольку их родство доказано многими методами. Однако она отлична от структуры сердцевины волос орангутана, древние предки которого отделились от ветви предков шимпанзе-человек раньше, чем произошла дивергенция предков последних. Нами показано, что экспертизы волос человека наиболее эффективно проводить по продольным срезам на СЭ-микроскопе.

На основании репрезентативных морфометрических данных, полученных с помощью СЭМ, мы провели дискриминантный анализ с целью разграничения подвидов леопарда (рис. 5). Из трех изученных подвидов дальневосточный леопард ближе к южнокитайскому, чем к переднеазиатскому. Гибридные формы леопарда стоят особняком и значительно отличаются от подвидовродителей.

Рис. 5. Орнамент кутикулы остевых волос дальневосточного леопарда по стержню от основания (верхний ряд) до гранны (нижний ряд). Масштаб 10 мкм

Fig. 5. Cuticular patterns along the shaft of the Amur leopard guard hair from the basal region (top row) to the shield region (bottom row). Scale bar is $10 \mu m$.

В собранной нами базе данных имеются изображения волос амурского и южнокитайского тигров, а также основных объектов питания амурского тигра (кабарги, пятнистого и благородного оленей, европейской и сибирской косуль, лося и кабана) - по остаткам волос, обнаруженным в его помете. Перечень видов животных, изображения волос которых получены с помощью СЭМ и включены в базу данных, приведен в таблице. Почти все они занесены в перечень Международного союза охраны природы и природных ресурсов и Красную книгу России, некоторых относят к вымирающим или находящимся на грани исчезновения видам. Добавлены и вымершие виды.

Собранная база данных позволяет промерять различные структуры волос по электронограммам, которые затем можно обрабатывать методами статистического анализа и находить видоспецифичные различия. Например, нами установлен видовой сос-тав зверей, утилизированных древними эскимосами Чукотки (IX–V в. до н. э. – XVI в. н. э.) (рис. 6) [12].

Заключение

Сканирующая электронная микроскопия – эффективный метод для проведения

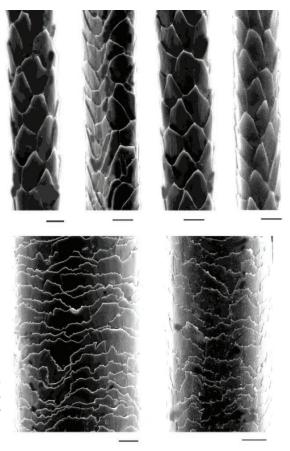


Таблица. Виды млекопитающих, СЭМ-изображения волос которых имеются в базе данных ФБУ РФЦСЭ при Минюсте России **Table**. List of mammalian species represented in the SEM hair image database of the RFCFS of the Russian Ministry of Justice

Кволл	Каспийский тюлень	Гривистый волк	Геренук
Большая сумчатая крыса	Шерстистый мамонт†	Белый медведь	Сайгак
Тасманийский дьявол	Африканский слон	Большая панда	Горал
Тасманийский бандикут	Ламантин	Малая панда	Кавказский тур
Кенгуру Матиши	Бородавочник	Европейская норка	Гривистый баран
Короткокоготный кенгуру	Ошейниковый пекари	Перевязка	Горный баран
Короткохвостый кенгуру	Бегемот	Выдра	Зубр
Коала	Кабарга	Серая выдра	Древний бизон†
Выхухоль	Индийский замбар	Большая цивета	Двугорбый верблюд
Кубинский щелезуб	Окапи	Крупнопятнистая цивета	Кулан
Пальмовый крылан	Жираф	Лев	Ленская лошадь†
Серый сурок	Малый куду	Пещерный лев†	Лошадь Пржевальского
Тарбаган	Дзерен	Леопард	Юкагирская лошадь†
Колючая мышь	Сомалийская газель	Ягуар	Шерстистый носорог†
Жирнохвостый тушканчик	Джейран	Тигр	Индийский носорог
Тушканчик Гептнера	Газель Томсона	Северный морской котик	Тапир

^{† –} вымерший вид

биологической экспертизы по диагностике и идентификации шерсти тестируемых об-

юсте России базу данных новыми объектами исследования.

разцов, особенно в случае плохой сохранности или крайней скудости материала, а также в случае неопределенности заключений на основании световой микроскопии и органолептического анализа. Она существенно дополняет традиционные морфологические методы, применяемые для решения -1 задач судебно-биологической экспертизы. Ак- -2 туальной задачей СЭМ остается создание базы данных электронограмм изображений различных структур волос, таких как ₋₅ орнамент кутикулы волоса, детали внутреннего строения (кора, сердцевина, пигментация, трещины и др.); особенно это важно для определения волос редких и исчезающих, а в некоторых случаях и вымерших видов. Мы продолжим пополнять созданную нами в ФБУ РФЦСЭ при Мин-

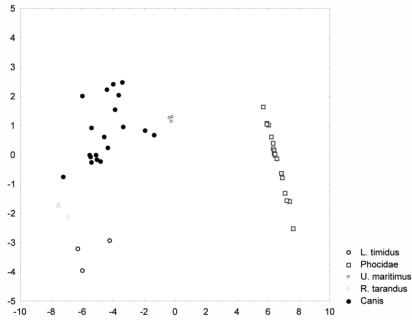


Рис. 6. Визуализация дискриминантного анализа видового разнообразия зверей, утилизированных эскимосами Чукотки (IX–V в. до н. э. – XVI в. н. э.), определенного по промерам структур волос на электронограммах СЭМ. *L. timidus* – заяц-беляк. *Phocidae* – настоящие тюлени. *U. maritimus* – белый медведь. *R. tarandus* – северный олень. *Canis* – волчьи

Fig. 6. Discriminant analysis plot showing the diversity of animal species utilized by Chukotka Inuits (between 9th–5th century BC and 16th century AD), as determined by hair structural metrics from scanning electron micrographs. L. timidus – snow hare. Phocidae – true seals. U. maritimus – polar bear. R. tarandus – reindeer. Canis – canines

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Перфилова Т.В., Чернова О.Ф. Анализ практики производства судебных экспертиз по специальности 12.2 «Исследование объектов животного происхождения» // Теория и практика судебной экспертизы. 2010. № 3 (19). С. 152–157.
- 2. Гулевская В.В. Научно-методическое обеспечение судебной экспертизы дикой флоры и фауны. Автореферат дис. ... к. ю. н. Москва, 2016. 26 с.
- 3. Чернова О.Ф. Архитектоника волос и ее диагностическое значение: теоретические основы современных методов экспертного исследования. М.: Наука, 2006. 80 с.
- Чернова О.Ф., Ильяшенко В.Ю., Перфилова Т.В. Архитектоника перьев и ее диагностическое значение: теоретические основы современных методов экспертного исследования. М.: Наука, 2006. 98 с.
- 5. Дгебуадзе Ю.Ю., Чернова О.Ф. Архитектоника чешуи костистых рыб и ее диагностическое значение: теоретические основы современных методов экспертного исследования. М.: Наука, 2008. 135 с.
- 6. Чернова О.Ф., Перфилова Т.В., Фадеева Е.О., Целикова Т.Н. Атлас микроструктуры перьев птиц. М.: РФЦСЭ, 2009. 150 с.
- 7. Рожнов В.В., Чернова О.Ф., Перфилова Т.В. Видовая диагностика оленей пищевых объектов амурского тигра (по микроструктуре волос из помета хищника). М: КМК, 2011. 47 с.
- Чернова О.Ф., Перфилова Т.В., Жукова Ф.А, Киладзе А.Б., Новикова В.М., Маракова Т.И Атлас микроструктуры волос млекопитающих – объектов судебной экспертизы. М.: РФЦСЭ, 2011. 286 с.
- 9. Силаева О.Л., Чернова О.Ф., Вараксин А.Н. Определитель птиц по перу и его фрагментам. Отряды Курообразных (Galliformes) и Голубеобразных (Columbiformes). М.: КМК, 2013. 128 с.
- 10. Чернова О.Ф., Силаева О.Л., Перфилова Т.В. Диагностические признаки пера курообразных птиц // Теория и практика судебной экспертизы. 2014. № 1 (33). С. 69–75.
- 11. Чернова О.Ф., Протопопов А.В., Перфилова Т.В., Кириллова И.В., Боескоров Г.Г. Микроструктура волос впервые найденного детеныша шерстистого носорога *Coelodonta antiquitatis* // Доклады Академии наук. 2016. Т. 471. № 5. С. 613–617. DOI: 10.7868/S0869565216350279.
- 12. Чернова О.Ф., Васюков Д.Д., Савинецкий А.Б. Архитектоника волос ездовых собак Чукотки // Доклады Академии наук. 2016. Т. 467. № 3. С. 365–371. DOI: 10.7868/ \$0869565216090279.

REFERENCES

- Perfilova T.V., Chernova O.F. Analysis of expert practice of forensic examinations on specialty 12.2 «Examination of objects of animal origin». Theory and Practice of Forensic Science. 2010. № 3 (19). P. 152–157. (In Russ.).
- Gulevskaya V.V. Scientific and methodical maintenance of wildlife forensics: Abstract of candidate thesis (Law). Moscow, 2016. 26 p. (In Russ).
- 3. Chernova O.F. Architectonics of hair and its diagnostic value: theoretical bases of modern methods of expert research. Moscow: Nauka, 2006. 80 p. (In Russ.).
- Chernova O.F., Il'yashenko V.Yu., Perfilova T.V. Architectonics of feathers and its diagnostic value: theoretical bases of modern methods of expert research. Moscow: Nauka, 2006. 98 p. (In Russ.).
- Dgebuadze Yu.Yu., Chernova O.F. Architectonics of scales of bony fish and their diagnostic value: theoretical bases of modern methods of expert research. Moscow: Nauka, 2008. 135 p. (In Russ.).
- Chernova O.F., Perfilova T.V., Fadeeva E.O., Tselikova T.N. Atlas of microstructure of birds' feathers. Moscow: RFCFS, 2009. 150 p. (In Russ.).
- 7. Rozhnov V.V., Chernova O.F., Perfilova T.V. Specific diagnostics of deer food objects of the Amur tiger (on a microstructure of hair from predator's excrements). Moscow: KMK, 2011. 47 p. (In Russ.).
- 8. Chernova O.F., Perfilova T.V., Zhukova F.A, Kiladze A.B., Novikova V.M., Marakova T.I. *Atlas of a microstructure of hair of mammals objects of forensics* Moscow: RFCFS, 2011. 286 p. (In Russ.).
- Silaeva O.L., Chernova O.F., Varaksin A.N. Determinant of birds on a feather and its fragments. Groups of Galliformes and Columbiformes. Moscow: KMK, 2013. 128 p. (In Russ.).
- 10. Chernova O., Silaeva O., Perfilova T. The Feather's Diagnostic Features of Galliformes. *Theory and Practice of Forensic Science*. 2014. № 1(33). P. 69–75. (In Russ.).
- Chernova O.F., Protopopov A.V., Perfilova T.V., Kirillova I.V., Boeskorov G.G. Hair microstructure of the first calf of Woolly Rhinoceros Coelodonta antiquitatis. Dokl Biol Sci. 2016. Vol. 471. Issue 1. P. 291–295. DOI:10.1134/ S0012496616060090.
- Chernova O.F., Vasyukov D.D., Savinetsky A.B. Architectonics of the hair of sled dogs of Chukotka *Dokl Biol Sci.* 2016. Vol. 467. Issue 1. P. 75–81. DOI:10.1134/ S0012496616020071.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Чернова Ольга Федоровна – заведующая лабораторией морфологических адаптаций Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, ведущий научный сотрудник отдела инноваций в судебно-экспертной деятельности ФБУ РФЦСЭ при Минюсте России; e-mail: chernova@sevin.ru.

Перфилова Татьяна Владимировна – ведущий государственный судебный эксперт лаборатории судебно-почвоведческих и биологических экспертиз ФБУ РФЦСЭ при Минюсте России; e-mail: tvpexpert@mail.ru.

ABOUT THE AUTHORS

Chernova Ol'ga Fedorovna – Head of the Laboratory of Morphological Adaptations, Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Science, Leading Researcher of the Department of Innovations in the Practice of Forensic Science of the RFCFS of the Russian Ministry of Justice; e-mail: chernova@sevin.ru.

Perfilova Tat'yana Vladimirovna – Lead State Forensic Examiner at the Laboratory of Forensic Biology and Soil Analysis, the Russian Federal Centre of Forensic Science of the Russian Ministry of Justice; e-mail: typexpert@mail.ru.