

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ВОЗРАСТА И ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ СТАДИЙ ИСКОПАЕМЫХ ТЕТРАПОД ПАЛЕОГИСТОЛОГИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

© 2024 г. П. П. Скучас*, В. В. Колчанов**

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб.,
д. 7/9, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: skutchas@mail.ru, p.skutchas@spbu.ru

**e-mail: veniamin.kolchanov@mail.ru

Поступила в редакцию 16.03.2024 г.

После доработки 21.05.2024 г.

Принята к публикации 24.07.2024 г.

Определение индивидуального возраста и онтогенетической стадии (ювенильная, субadultная, взрослая) ископаемых позвоночных важно для первичного определения таксономической принадлежности, а также для дальнейших эволюционных, палеобиологических и палеоэкологических интерпретаций. Определение индивидуального возраста и онтогенетической стадии (= относительного возраста) осуществляется разными методами, в том числе и при помощи палеогистологического анализа. Изучение тонких срезов костей тетрапод позволяет предположить, сколько лет прожило животное (скелетохронологический метод) и определить онтогенетическую стадию. Для этого используют совокупность возрастных гистологических маркеров: изменение типа костного матрикса и васкуляризации, изменение расстояния между ростовыми метками, наличие внешней фундаментальной системы (EFS; external fundamental system), наличие внутреннего (эндостелиального) и внешнего (периостелиального) круговых слоев (OCL, outer circumferential layer; ICL, inner circumferential layer), проявления вторичного ремоделинга (secondary remodeling) – Гаверсово замещение и формирование трабекул. В зависимости от филогенетического положения и биологических особенностей изучаемой группы тетрапод набор возрастных «гистологических маркеров» может быть различным.

Ключевые слова: тетраподы, костная ткань, палеогистология, скелетохронология, онтогенетические маркеры

DOI: 10.31857/S0044513424060014, **EDN:** ujhedt

Определение индивидуального возраста и онтогенетической стадии (ювенильная, субadultная, взрослая) ископаемых тетрапод важно для первичного определения таксономической принадлежности, а также для дальнейших эволюционных и палеобиологических интерпретаций (Griffin et al., 2021).

Индивидуальный возраст тетрапод определяется при помощи скелетохронологии (Клевезаль, Смирин, 2016). Скелетохронология – определение индивидуального возраста прямым подсчетом присутствующих в костной ткани годовых ростовых меток. Скелетохронологический анализ используется для определения возраста как современных, так и ископаемых позвоночных. Скелетохронологический анализ не только позволяет определить продолжительность жизни, но и является основой

для последующих популяционных исследований (Castanet et al., 1993; Woodward et al., 2013; Клевезаль, Смирин, 2016; de Buffrénil et al., 2021).

Основными подходами к определению онтогенетической стадии (= относительного возраста) ископаемых тетрапод являются морфологический и гистологический методы. Морфологический метод предусматривает анализ анатомических особенностей строения скелета (например, для черепа – степень слияния швов, степень оксификации, наличие и степень развития скульптуры, наличие и выраженность выступов/рогов, размеры и пропорции орбит, удлинение морды (черепажные пропорции); для посткраниального скелета – степень слияния костей, слияние невральных дуг и тел позвонков, наличие и выраженность скульптуры,

пропорции, степень оссификации, степень пневматизации (Griffin et al., 2021).

При гистологическом методе по тонким срезам элементов скелета анализируется внутреннее строение костной ткани — регистрирующей структуры¹, которая хорошо сохраняется в палеонтологической летописи. Обычно для гистологических исследований используются кости конечностей (чаще всего бедренные кости), реже остеодермы, позвонки, ребра, покровные кости черепа. Определить индивидуальный возраст животного позволяет скелетохронология. Для определения онтогенетической стадии используются различные гистологические возрастные «маркеры»: изменения типа костного матрикса, васкуляризации и расстояния между ростовыми метками в первичном периостелиальном кортексе; формирование внешней фундаментальной системы (EFS; external fundamental system); формирование внешнего (периостелиального) и внутреннего (эндостелиального) круговых слоев (OCL, outer circumferential layer; ICL, inner circumferential layer); проявления вторичного ремоделинга (secondary remodeling) — Гаверсово замещение в кортексе и формирование вторичных трабекул в губчатом слое. В нашем обзоре мы кратко обсудим применение скелетохронологии и гистологических возрастных «маркеров» для определения индивидуального возраста и онтогенетических стадий ископаемых тетрапод.

СКЕЛЕТОХРОНОЛОГИЯ

В скелетохронологическом анализе подсчитывается количество циклических годовых ростовых меток в первичном периостелиальном кортексе костей. К годичным ростовым меткам (growth marks) относятся линии остановки роста (lines of arrested growth, LAGs)² и линии замедления роста (annuli). Линии остановки роста (LAGs) образуются при полной остановке остеогенеза и на тонких срезах выглядят как четкие непрерывные линии. Линии замедления роста (annuli) образуются при сильном замедлении остеогенеза и на срезах выглядят как полосы плотной костной ткани (заметно более широкие, чем LAGs). Пространство между ростовыми

метками называется ростовой зоной (Francillon-Vieillot et al., 1990a; Castanet et al., 1993; Woodward et al., 2013; de Buffrénil et al., 2021).

Годичные циклические ростовые метки (LAGs, annuli) в норме формируются ежегодно, а период их образования соответствует циклическим неблагоприятным сезонным условиям. Годовая природа ростовых меток была продемонстрирована в экспериментах на современных тетраподах, например на амфибиях и рептилиях (Castanet, Naulleau, 1974; Francillon, 1979; Francillon, Castanet, 1985; Frazier, 1985, 1985a; Castanet et al., 1993; Smirina, Tsellarius, 1998; de Buffrénil, Castanet, 2000; Snover et al., 2011). Кроме этого, было показано, что LAGs образуются ежегодно даже в постоянных и стабильных условиях и их формирование — древний эндогенный процесс (Marangoni et al., 2009).

Несмотря на кажущуюся простоту и универсальность скелетохронологии, есть целый ряд процессов/особенностей, которые усложняют прямой подсчет ростовых меток и, соответственно, точное определение индивидуального возраста (Castanet, Smirina, 1990; Francillon-Vieillot et al., 1990a; Castanet et al., 1993; Клевезаль, Смирин, 2016). Например, часто присутствуют отклонения от базового «годового паттерна», при котором количество ростовых меток полностью совпадает с количеством лет. На современных амфибиях показано, что часто количество хорошо выраженных LAGs меньше, чем количество лет, прожитых животным (занижение возраста) (Castanet et al., 1993; Eden et al., 2007; Wagner et al., 2011).

Это несоответствие, возможно, является следствием того, что LAGs могут формироваться не ежегодно — такое явление было отмечено для бесхвостых амфибий (Khonsue, Matsui, 2001). Другой и основной причиной меньшего количества LAGs по сравнению с реальным возрастом могут являться особенности формирования ростовых меток в периферической части кортекса: на поздних стадиях онтогенеза LAGs очень тонкие, а расстояния (зоны) между LAGs настолько малы, что видимые линии могут просто «сливаться» одна с другой и в этом случае реконструированный возраст животных оказывается также заниженным (Castanet, Smirina, 1990; Castanet et al., 1993). На современных амфибиях было показано, что на более ранних этапах онтогенеза (до восьми лет) LAGs формировались ежегодно (и они хорошо различимы на срезах), а после восьми лет они перестают быть хорошо различимы и их прямой подсчет дает заниженную оценку индивидуального возраста (см. Eden et al., 2007; Sinsch, 2015 и ссылки в этой работе). Соответственно, скелетохронологический анализ дает наиболее правильные результаты для молодых особей и для тетрапод с небольшой

¹ Регистрирующие структуры (согласно данным: Мина, Клевезаль, 1970 и Клевезаль, Смирин, 2016) — анатомические структуры организма, которые в процессе своего роста фиксируют изменения физиологического состояния особи, меняя морфологию формирующихся частей, и длительное время сохраняют эти изменения.

² В русскоязычной литературе вместо термина «линии остановки роста» (lines of arrested growth, LAGs) обычно использовался термин «линии склеивания» или «линии покоя» (Клевезаль, Клейненберг, 1967; Клевезаль, Смирин, 2016). Термины «линии остановки роста», «линии склеивания», «линии покоя» являются синонимами.

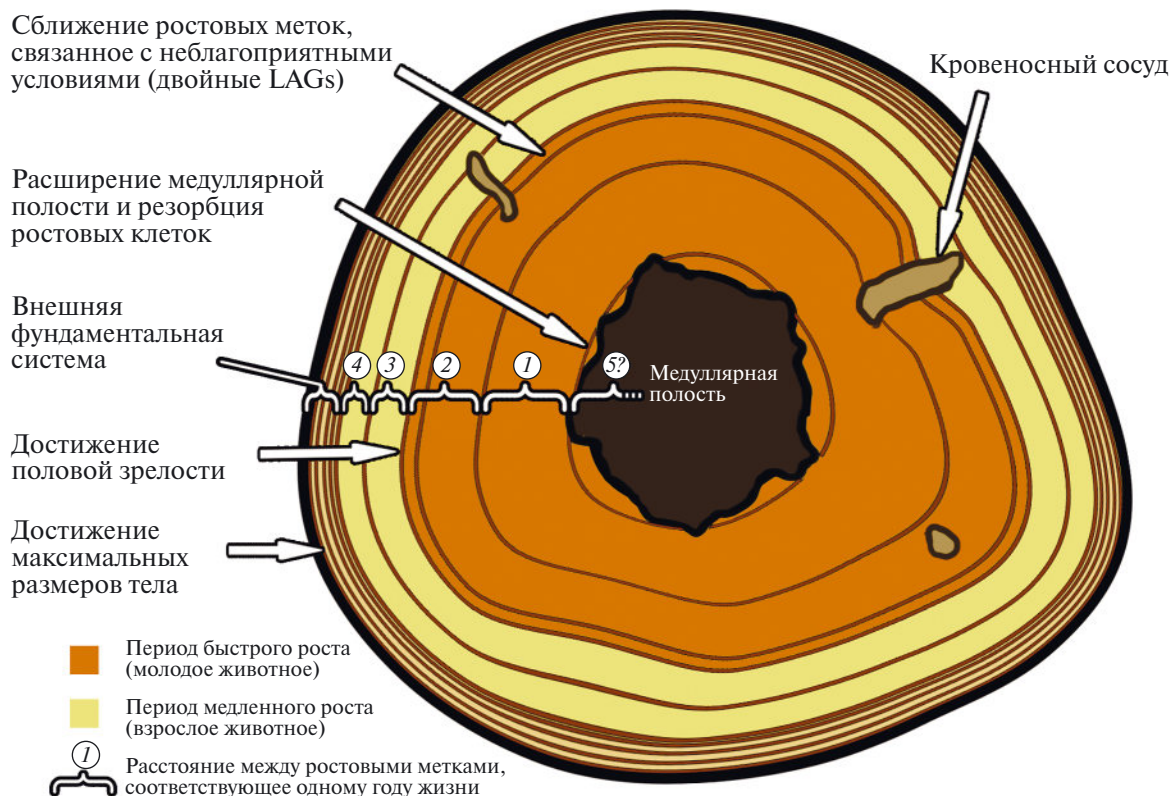


Рис. 1. Схема поперечного среза конечности кости тетрапода, показывающая ростовые метки (включая двойные LAGs), гистологические маркеры (внешняя фундаментальная система, сокращение расстояния между ростовыми метками) и соответствующие им события в онтогенезе.

продолжительностью жизни. В нашей практике мы также отмечали, что скелетохронологический анализ лучше работает для определения возраста молодых особей тетрапод.

Другая ситуация, при которой количество видимых ростовых меток меньше, чем прожитых лет, складывается при значительном расширении медуллярной (мозговой) полости (когда кость растет в ширину) и сопутствующей резорбции наиболее глубоких слоев кортекса вместе с первыми ростовыми метками (рис. 1). В этом случае применяется «ретрокалькуляция» — примерная оценка количества резорбированных ростовых меток с последующей реконструкцией возраста (Castanet, Smirina, 1990; Castanet et al., 1993; Snover et al., 2007; Woodward et al., 2013; de Buffrénil et al., 2021).

Еще одним частым отклонением от «годового паттерна» является формирование двойных или даже тройных LAGs (Castanet, Smirina, 1990; Castanet et al., 1993; Клевезаль, Смирин, 2016; Cullen et al., 2021). Было показано, что двойные LAGs могут формироваться при наличии второго неблагоприятного периода в течение года, например засушливого летнего сезона (вдобавок

к холодному зимнему). При этом животное в течение года впадает в спячку дважды: зимнюю (гибернацию) и летнюю (эстивацию) (Castanet, Smirina, 1990; Smirina, Tsellarius, 1996; Клевезаль, Смирин, 2016). Множественные LAGs могут формироваться при наличии нескольких неблагоприятных периодов в течение года (Castanet, Smirina, 1990). При скелетохронологическом анализе двойные и тройные LAGs считаются за одну годовую метку, в противном случае индивидуальный возраст будет завышен (Клевезаль, Клейненберг, 1967).

У некоторых современных и ископаемых тетрапод LAGs не формируются, и скелетохронологический анализ провести невозможно. Примером являются многие ныне живущие крупные млекопитающие и большинство птиц. Среди ископаемых тетрапод LAGs не формировались у продвинутого завропода и утконосных динозавров — гадрозаврид (Cerdá et al., 2017; Słowiak et al., 2020). Для таких тетрапод невозможно определить индивидуальный возраст (сколько лет прожило животное), но возможно определить онтогенетическую стадию по гистологическим возрастным «маркерам» (например, по степени вторичного ремоделинга,

наличию внутреннего (эндостелиального) и внешнего (периостелиального) круговых слоев, см. соответствующие разделы ниже).

Для многих современных и ископаемых тетрапод было отмечено, что количество ростовых меток в разных костных элементах одного скелета может быть различным (Woodward et al., 2014 и ссылки в этой работе). Так, согласно данным, полученным при изучении этой внутрискелетной изменчивости у современного миссисипского аллигатора (*Alligator mississippiensis*), разное количество ростовых линий в разных костных элементах скелета одного животного является следствием различных темпов расширения мозговой полости и вторичного ремоделинга — процессов, при которых происходит резорбция костной ткани и уничтожение части ростовых меток, а не результатом того, что ростовые метки формируются непоследовательно из года в год (Woodward et al., 2014).

Недавнее исследование надежности данных скелетохронологии (Schucht et al., 2021) показало, что на срезах одних и тех же скелетных элементов современных тетрапод, подготовленных разными методами (петрографические шлифы и окрашенные гистологические срезы, изготовленные при помощи микротомы), количество видимых ростовых меток различно и не соответствует реальному возрасту животных. Авторы исследования пришли к выводу, что требуется дальнейшее изучение фундаментальных методологических аспектов скелетохронологии, особенно в отношении природы и микроскопического распознавания ростовых меток (Schucht et al., 2021). Соответственно, пока четко не определены границы применимости метода, мы рекомендуем с большой осторожностью относиться к результатам скелетохронологического анализа, полученным при изучении ископаемых позвоночных, а именно к абсолютным числовым показателям (количество ростовых меток), по которым проводится реконструкция индивидуального возраста. Тем не менее данные по количеству и расположению ростовых меток могут быть использованы при определении онтогенетической стадии (см. разделы ниже) и при обсуждении темпов и характера роста (Schucht et al., 2021).

Несмотря на перечисленные выше сложности/ограничения скелетохронологический анализ активно применяется в палеобиологических исследованиях. Именно скелетохронологические данные позволили предположить индивидуальный возраст, время достижения взрослой стадии и продолжительность жизни многих ископаемых тетрапод. Например, изучение срезов тонких костей тираннозавра (*Tyrannosaurus rex*) показало, что максимальный возраст этого крупного (12–13 м) динозавра составлял 28 лет, причем взрослые особи

достигали больших размеров менее чем за 20 лет (Erickson, 2005). Для совсем мелких динозавров длиной около метра реконструированная по скелетохронологии продолжительность жизни составляла 3–4 года, для мелких и среднеразмерных динозавров (длиной 2–6 м) — 7–15 лет, а для гигантских завропод (20 м и более) — до 50 лет (Erickson, 2005; Erickson et al., 2001). Полученные ранее данные об индивидуальном возрасте ископаемых тетрапод будут проверены и скорректированы в будущем после проведения исследований по современным позвоночным, которые прояснят фундаментальные биологические и методологические аспекты скелетохронологии (Schucht et al., 2021).

Следует отметить, что просто прямой подсчет ростовых меток дает нам гипотезу об индивидуальном возрасте (сколько лет жило животное), но для определения онтогенетической стадии (молодой, субadultный, взрослый) мы используем другие гистологические маркеры — изменения расстояния между ростовыми метками, изменения типа костного матрикса и васкуляризации, формирование внешней фундаментальной системы (см. соответствующие разделы ниже, а также рис. 1–3 в качестве схем и рис. 4–5 как примеры).

ИЗМЕНЕНИЯ РАССТОЯНИЯ МЕЖДУ РОСТОВЫМИ МЕТКАМИ

Когда изначальный быстрый ювенильный рост прекращается, это находит отражение в резком уменьшении расстояния между годовыми ростовыми метками. Считается, что это происходит при достижении половозрелости (Клейненберг, Смирин, 1969; Sander, 2000; Erickson, 2005; рис. 1). Соответственно, сокращение расстояния между ростовыми метками является хорошим гистологическим маркером завершения ювенильной стадии. После достижения половозрелости (и уменьшения расстояния между ростовыми метками) рост животного не останавливается, и максимальные размеры достигаются на более поздней стадии (Sander, 2000; Erickson, 2005).

При проведении гистологического анализа необходимо установить по срезу, что сокращение расстояния между ростовыми метками не носит временный характер и ближе к внешней поверхности расстояние снова не увеличивается. Важно, чтобы сокращение расстояния между ростовыми метками не носило временный характер и не являлось временным замедлением ювенильного роста, вызванным неблагоприятными факторами. Так же важно учитывать отмеченные единичные случаи ускорения роста животного после достижения половой зрелости — такое явление не отмечалось для тетрапод, но указывалось для костистых рыб.

В забайкальских популяциях арктического гольца (*Salvelinus alpinus*) по достижении половой зрелости темпы роста становятся низкими, но затем могут снова увеличиваться, так что из медленно-растущей мелкой формы позднее формируется более крупная. Данное явление связывают с расширением кормовой базы (Alekseyev et al., 2013, 2024).

По изменению расстояния между ростовыми метками было определено время окончания ювенильного роста и достижения половозрелости многих ископаемых тетрапод, в том числе динозавров. Так, для гигантского динозавра-завропода *Janenschia* из поздней юры Танзании было показано, что изученная бедренная кость принадлежала индивидууму, который достиг половозрелости в возрасте около 11 лет, максимальных размеров около 26 лет и прожил около 38 лет (Sander, 2000). Как было указано в предыдущем разделе «Скелетохронология», абсолютные числовые показатели (количество ростовых меток), полученные для ископаемых тетрапод и интерпретируемые как индивидуальный возраст, должны рассматриваться как гипотеза и проверяться в будущих исследованиях. Тем не менее изменение расстояния между ростовыми метками является хорошим маркером онтогенетической стадии (относительного возраста).

ИЗМЕНЕНИЯ ТИПА КОСТНОГО МАТРИКСА И ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ

В зависимости от скорости роста кости формируется разный тип костного матрикса. Этот принцип известен как правило Амприно (Amprino, 1947; Margerie et al., 2002; de Buffrénil et al., 2021a). При быстром росте формирующаяся костная ткань в значительно степени васкуляризирована, и между каналами кровеносных сосудов откладывается рыхлый костный матрикс (woven bone) (de Buffrénil, Quilhac, 2021). В дальнейшем просветы васкулярных каналов сужаются за счет отложения по их стенкам плотной ламеллярной кости (lamellar bone) с формированием первичных остеонов (primary osteon). Быстро растущая сильно васкуляризированная композитная костная ткань, характеризующаяся наличием большого числа первичных васкулярных каналов/первичных остеонов и рыхлого костного матрикса, называется фиброламеллярной костью, или фиброламеллярным комплексом (fibrolamellar bone; fibrolamellar complex; см. Stein, Prondvai, 2014), а также рыхло-параллельным комплексом (woven-parallel complex) (de Buffrénil, Quilhac, 2021) (см. рис. 2, и 4B). Фиброламеллярная кость типична для современных эндотермных тетрапод (млекопитающих и птиц) и ископаемых групп, для которых реконструируется эндотермия, а именно нептичьих динозавров (de Buffrénil, Quilhac, 2021).

Фиброламеллярная кость откладывается в первичном периостелиальном кортексе во время фазы быстрого изначального роста. При замедлении роста происходит смена типа костной ткани и васкуляризации: количество васкулярных каналов уменьшается, тип костного матрикса меняется с рыхло-волокнутого на более плотный параллельно-волокнутой (parallel-fibred bone) или ламеллярный (Huttenlocker et al., 2013; Jordana et al., 2016; Mascarenhas-Junior et al., 2021; рис. 2, 4Г). При остановке роста, в наиболее периферической части кортекса, формируется тонкий, но хорошо различимый аваскулярный слой ламеллярной/параллельно-волокнутой кости (которая имеет четкую границу с глужележащей фиброламеллярной костью) – внешний круговой слой (OCL, outer circumferential layer; отдельный гистологический маркер, см. далее раздел «Формирование внешнего (периостелиального) и внутреннего (эндостелиального) круговых слоев»). Если у животного в кости формируются ростовые метки (LAGs, annuli), то обычно описанное изменение типа костной ткани совпадает с уменьшением расстояния между ними (Cullen et al., 2021). Как и в случае с оценкой расстояния между ростовыми метками, следует убедиться, что изменения типа костной ткани и васкуляризации не носят временный характер, замедление роста имеет онтогенетическую природу и не является временным и не связано с воздействием неблагоприятных условий.

Таким образом, наблюдаемая замена быстро-растущей сильно васкуляризированной фиброламеллярной кости на слабо васкуляризованную/аваскулярную параллельно-волокнутой или ламеллярную кость является хорошим маркером замедления роста и, соответственно, наступления постювенильной стадии. Этот маркер используется для определения субadult/взрослой стадии у различных ископаемых тетрапод с выраженным быстрым изначальным ростом, например крупных темноспондил (Konietzko-Meier, Sander, 2013), парейазавров (Boitsova et al., 2019; рис. 4B-4Г), крокодиломорф (Fernandez Dumont et al., 2021), многих динозавров, включая птиц (Padian et al., 2004).

Интересное наблюдение, касающееся изменения степени васкуляризации в онтогенезе, было сделано для ископаемых и современных исполинских саламандр (криптобранхий). Для ископаемого позднемелового криптобранхида *Eoscapherpeton asiaticum* и современного *Cryptobranchus* отмечены увеличение степени васкуляризации и появление сети кровеносных сосудов в первичном кортексе не на ранних, а на поздних этапах онтогенеза, что, вероятно, связано с крупными размерами этих саламандр (Skutschas et al., 2019) (см. рис. 4Б). Таким образом, для исполинских саламандр

Внешний круговой слой
(внешняя фундаментальная
система) = достижение
максимальных размеров тела

Линия эрозии

Фиброламеллярная кость,
период быстрого роста

Параллельно-волокнистая
и/или ламеллярная кость,
период медленного роста

Замедление роста, связанное
с циклическими процессами, LAGs

Внутренний круговой слой =
прекращение роста кости в ширину

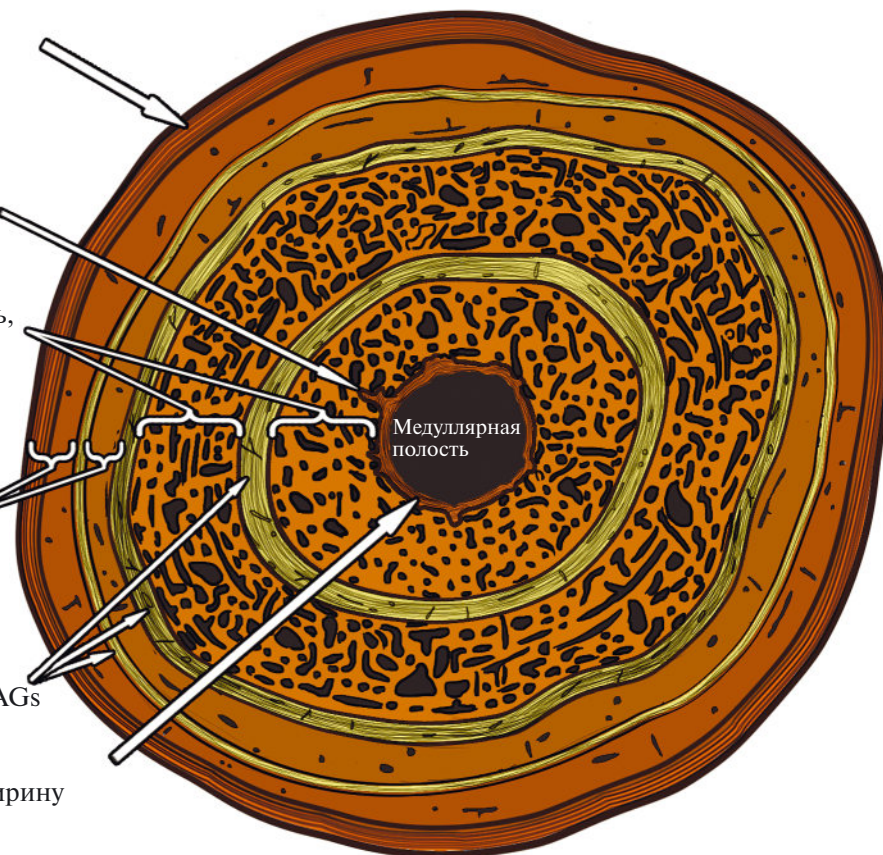


Рис. 2. Схема поперечного среза кости конечности тетрапода, показывающая ростовые метки, гистологические маркеры (внешняя фундаментальная система, изменение типа костного матрикса и васкуляризации, внешний и внутренний круговые слои) и соответствующие им события в онтогенезе.

формирование васкулярной сети является потенциальным маркером поздних стадий онтогенеза.

ФОРМИРОВАНИЕ ВНЕШНЕЙ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

На заключительных стадиях роста при достижении максимальных размеров и скелетной зрелости в периферической части первичного периостального кортекса формируется серия сильно сближенных ростовых меток, которая называется внешней фундаментальной системой (external fundamental system, EFS; рис. 1, 2, 4E). Внешняя фундаментальная система всегда расположена внутри слоя плотной аваскулярной параллельно-волокнистой или ламеллярной костной ткани. У птиц и млекопитающих этот слой четко обособлен от глубже лежащей сильно васкуляризированной костной ткани (фиброламеллярной кости) и называется внешним круговым слоем (OCL, outer circumferential layer; см. следующий раздел). Формирование внешней фундаментальной системы

соответствует окончанию роста в онтогенезе (при детерминированном росте) и прекращению остеогенеза или максимальному замедлению роста/остеогенеза на поздних стадиях (при «недетерминированном» росте). Внешняя фундаментальная система обнаружена у многих позвоночных, включая крокодиломорф, птерозавров, нептичьих динозавров, птиц и млекопитающих (Erickson, 2005; Woodward et al., 2011; Jordana et al., 2016). Гипотеза о наличии внешней фундаментальной системы у неамниотических тетрапод (темноспондилы, лиссамфибии, различные группы рептилиоморф) нуждается в проверке.

Основным вопросом касательно внешней фундаментальной системы является время (продолжительность) ее формирования — имеют ли отдельные ростовые метки (линии) внутри внешней фундаментальной системы годовую природу или формируются не ежегодно и следует ли учитывать все формирующие ее линии при скелетохронологическом анализе (Horner et al., 1999; Woodward et al., 2014). На современных млекопитающих было

показано, что линии внешней фундаментальной системы имеют годичную природу и ее формирование может происходить одновременно с прирастанием проксимальных эпифизов (Клевезаль, Клейненберг, 1967; Hayashi et al., 2023). Исследования соответствия количества ростовых меток внешней фундаментальной системы количеству прожитых лет у современных птиц дали неоднозначные результаты (Клевезаль и др., 1972; Nelson, Bookhout, 1980).

При изучении ископаемых тетрапод отдельные линии во внешней фундаментальной системе обычно считаются годовыми. Примером такой работы является исследование, посвященное биологическим особенностям гадрозавриды *Maiasaura peeblesorum* (динамика роста, выживаемость) и основанное на гистологическом анализе 50 больших берцовых костей (Woodward et al., 2015). В этом исследовании ростовые метки внешней фундаментальной системы считались годовыми и использовались для определения индивидуального возраста.

Есть некоторые сложности, связанные с внешней фундаментальной системой. Во-первых, не у всех групп тетрапод она обнаружена и, соответственно, потенциально не у всех она может формироваться. Долгое время считалось, что внешняя фундаментальная система формируется только у тетрапод с детерминированным ростом, таких как птицы и млекопитающие. Обнаружение внешней фундаментальной системы у современного аллигатора (Woodward et al., 2011) позволило поднять важные вопросы о внешней фундаментальной системе/характере роста у тетрапод, а именно: является ли наличие внешней фундаментальной системы у аллигатора свидетельством детерминированного роста у крокодилов и существует ли на самом деле недетерминированный рост у рептилий. Возможно, внешняя фундаментальная система будет обнаружена у современных амфибий, чешуйчатых рептилий и черепах и концепция «недетерминированного роста» у амфибий и рептилий будет пересмотрена. Ранее было высказано предположение, что относительная редкость обнаружения внешней фундаментальной системы у современных и ископаемых рептилий свидетельствует о высокой степени смертности до достижения абсолютной скелетной зрелости (то есть гибели до выхода на ростовое плато и формирования внешней фундаментальной системы), а не о недетерминированном росте (Woodward et al., 2011).

Также бывает сложно отличить внешнюю фундаментальную систему от множественных ростовых меток, сформировавшихся задолго до достижения скелетной зрелости при временных неблагоприятных условиях. Например, у ископаемых крупных триасовых темноспондил рода

Metoposaurus структуры, похожие на внешнюю фундаментальную систему, были отмечены на границе ростовых зон в разных частях кортекса (в том числе и внутренних), и это предполагает, что формирование сближенных внешних ростовых меток означает не прекращение роста, а лишь колебания скорости роста в течение одного сезона (Konietzko-Meier, Sander, 2013). Кроме этого, важно отличать внешнюю фундаментальную систему от участка кости с небольшой дистанцией между ростовыми метками, то есть важно понять, имеет ли место медленный, но стабильно непрекращающийся рост, или полное прекращение роста. Однако если четкая внешняя фундаментальная система присутствует, то это, безусловно, является свидетельством того, что животное является взрослым и достигло скелетной зрелости.

Взрослая стадия по наличию внешней фундаментальной системы определяется для некоторых ископаемых архозавров-псевдозухий (например, *Postosuchus*, *Effigia*, см. Andrade et al., 2015; Klein et al., 2017), многих нептичьих динозавров (см., например, Erickson, 2005; Woodward et al., 2015; Skutschas et al., 2017), примитивных авиалий (*Confuciusornis*), нелетающих птиц (Padian, Woodward, 2021), млекопитающих (см. Martinez-Maza et al., 2014).

ФОРМИРОВАНИЕ ВНЕШНЕГО (ПЕРИОСТЕЛИАЛЬНОГО) И ВНУТРЕННЕГО (ЭНДОСТЕЛИАЛЬНОГО) КРУГОВЫХ СЛОЕВ

В трубчатых костях (в костях конечностей) в онтогенезе могут формироваться круговые слои плотной костной ткани: внешний (OCL, outer circumferential layer) и внутренний (ICL, inner circumferential layer) (рис. 2, 5Г). Они имеют различную природу и строение: внешний круговой слой формируется как слой плотной ламеллярной или параллельно-волокнутой костной ткани в периферической внешней части периостелиального кортекса, а внутренний круговой слой — как выстилка медуллярной полости ламеллярной костью эндостелиального происхождения. Таким образом, рост внешнего кругового слоя происходит центробежно, а внутреннего кругового слоя центростремительно.

Внешний круговой слой сложен плотным аваскулярным ламеллярным или параллельно-волокнутой костным матриксом, четко обособлен от глубже лежащей сильно васкуляризированной костной ткани (фиброламеллярной кости) и формируется при замедлении/прекращении роста на поздних стадиях онтогенеза (Ponton et al., 2004). По сути (формирование на поздних этапах онтогенеза при выходе на ростовое плато) этот слой сходен с внешней фундаментальной системой

(см. предыдущий раздел), и некоторые исследователи используют термин «внешний круговой слой» вместо «внешняя фундаментальная система» независимо от присутствия/отсутствия в этом слое сближенных ростовых меток (Kolb et al., 2015). В данном разделе мы рассматриваем внешний круговой слой как отдельный гистологический маркер онтогенетической стадии, поскольку он может не содержать в себе внешнюю фундаментальную систему (сближенные ростовые метки).

Внешний круговой слой типичен для тетрапод с быстрой и достаточно короткой фазой изначального ювенильного роста (птицы, млекопитающие) (Ponton et al., 2004). При этой изначальной фазе роста формируется быстрорастущая костная ткань (фибrolамеллярная кость). Быстрый изначальный рост резко прекращается, и при выходе на ростовое плато формируется внешний круговой слой. У птиц и млекопитающих внешний круговой слой может содержать внешнюю фундаментальную систему (Ponton et al., 2004). Среди ископаемых тетрапод внешний круговой слой характерен для птерозавров (de Ricqlès et al., 2000; Steel, 2008).

Наличие внешнего кругового слоя можно выявить и без изготовления тонких срезов. Если поверхность кости «шершавая» из-за большого количества каналов кровеносных сосудов, выходящих на поверхность, то внешний круговой слой еще не сформирован и кость принадлежала молодому растущему животному. Если поверхность кости гладкая, как бы «заполированная», то внешний круговой слой сформирован. Этот подход используется для определения относительного возраста современных птиц (Watanabe, Matsuoka, 2013; Picasso, Hospitaleche, 2024) и птерозавров (Bennett, 1993).

Наличие или отсутствие внешнего кругового слоя у ископаемых форм используется для определения постювенильной стадии (= стадии скелетной соматической зрелости) у птерозавров (Steel, 2008), нептичьих хищных динозавров (в том числе представителей *Paraves* — дромеозаврид и троодонтид, а также базальных авиалий) (Prondvai et al., 2018; Martin et al., 2023), немлекопитающих терапсид (Botha, Huttenlocker, 2021) и млекопитающих (Veitschegger et al., 2018).

Внутренний круговой слой представляет собой слой эндостелиальной ламеллярной кости, отложенный на внутреннюю (перимедуллярную) поверхность кортекса. Внутренняя поверхность кортекса перед формированием внутреннего кругового слоя резорбируется, на срезах граница между периостелиальным кортексом и эндостелиальной костью становится неровной и называется линией эрозии (Martin et al., 2023). Соответственно, формирование внутреннего кругового слоя является вариантом вторичного ремоделинга

(см. следующий раздел). Формирование внутреннего кругового слоя возможно, когда процесс расширения медуллярной полости путем резорбции прекращается — это соответствует общему прекращению роста кости (и всего животного). Наличие внутреннего кругового слоя считается достоверным маркером достижения взрослой стадии, которая сопровождается прекращением роста кости в толщину (= периостелиального роста) и сопутствующим прекращением расширения медуллярной полости (Martin et al., 2023). Тем не менее при исследовании онтогенетических изменений в гистологии костей конечностей динозавров орнитомимид нами было отмечено, что внутренний круговой слой формируется у особей, не достигших максимальных размеров (Skutschas et al., 2017), то есть у этих животных остановка расширения медуллярной полости и последующее отложение эндостелиальной кости носят временный характер. Соответственно, в дальнейшем резорбция стенок медуллярной полости и ее расширение продолжится и возможен следующий цикл «прекращение резорбции/расширения медуллярной полости — отложение эндостелиальной кости/формирование внутреннего кругового слоя». Кроме этого, для нептичьих хищных динозавров, в том числе базальных авиалий (Prondvai et al., 2018; Martin et al., 2023), было показано, что внутренний круговой слой формируется раньше, чем внешний круговой слой и/или внешняя фундаментальная система. Таким образом, мы считаем, что формирование на постювенильных стадиях онтогенеза внутреннего кругового слоя может носить периодический характер и само по себе его наличие не должно рассматриваться как маркер окончательного прекращения роста кости, достижения максимальных размеров и, соответственно, взрослой стадии. Отсутствие внутреннего кругового слоя у представителей групп, для которых отмечено его формирование в онтогенезе (птицы, некоторые динозавры, птерозавры), является свидетельством ювенильной стадии (см., например, Averianov et al., 2023).

У тетрапод с относительно тонкими стенками трубчатых костей (в том числе у летающих форм — птиц и птерозавров; рис. 5Г) внешний круговой и внутренний круговой слои формируются вместе. Такая трехслойная «сэндвичеподобная» структура кости, при которой более рыхлая и менее прочная костная ткань (фибrolамеллярный комплекс), сформированная при быстром изначальном росте, «зажата» между плотными круговыми слоями ламеллярной/параллельно-волокнистой кости, возможно, повышает механическую прочность тонкостенных элементов скелета.

ВТОРИЧНЫЙ РЕМОДЕЛИНГ: ГАВЕРСОВО ЗАМЕЩЕНИЕ И ФОРМИРОВАНИЕ ТРАБЕКУЛ

С возрастом у позвоночных обычно происходит замена первичной костной ткани на вторичную. Этот процесс преобразования костной ткани, называемый вторичным ремоделингом, подразумевает наличие двух этапов. Первый этап – резорбция первичной кости за счет активности остеокластов, а второй – формирование остеобластами новой вторичной кости на месте резорбированной. Ремоделинг играет важную роль в трех функциональных областях: (1) отвечает за приспособление внутренней архитектуры кости к местной механической нагрузке; (2) восстанавливает костную ткань, в которой накапливаются микроповреждения (из-за длительной нагрузки на кости), и таким образом способствует замедлению старения (износа) костей и (3) за счет высвобождения и рециркуляции минеральных солей, содержащихся в костном матриксе, он является ключевым фактором фосфокальциевого гомеостаза (de Buffrénil, Quilhas, 2021a).

Выделяют несколько основных форм вторичного ремоделинга, которые различаются, в том числе, местом проявления. В костном кортексе возникает «классическое» Гаверсово замещение – формирование Гаверсовых систем (вторичных остеонов, secondary osteons). Гаверсово замещение проходит следующим образом: сначала за счет активности

остеокластов формируются полости эрозии (= лакуны Хаушипа). Потом полости эрозии, при активной деятельности остеобластов, заполняются вторичной ламеллярной костью, и на их месте формируется Гаверсова система (= вторичный остеон). Конечным результатом Гаверсова замещения является полное замещение первичной кости на вторичную кость, целиком состоящую из вторичных остеонов (иногда нескольких генераций). Такая кость, целиком состоящая из вторичных остеонов, называется Гаверсовой костью. Процесс Гаверсова замещения в трубчатых костях происходит центробежно, то есть формирование полостей эрозии и вторичных остеонов начинается в глубоких слоях кортекса, близко к медуллярной полости, и потом распространяется к периферии. Соответственно, чем старше животное, тем дальше от медуллярной полости к поверхности кости проходит фронт вторичного ремоделинга. У самых старых животных он достигает внешней поверхности и вся кость становится вторичной Гаверсовой костью (то есть костью, целиком сформированной вторичными остеонами) (de Buffrénil, Quilhas, 2021a). Соответственно, по степени Гаверсова замещения (= степень продвижения фронта образования вторичной костной ткани от глубоких слоев кортекса к поверхности) можно понять, кому принадлежала кость, молодому или взрослому животному (рис. 3). У молодого животного первичная кость сохраняется, вторичной кости немного или она отсутствует. Чем старше становится животное, тем

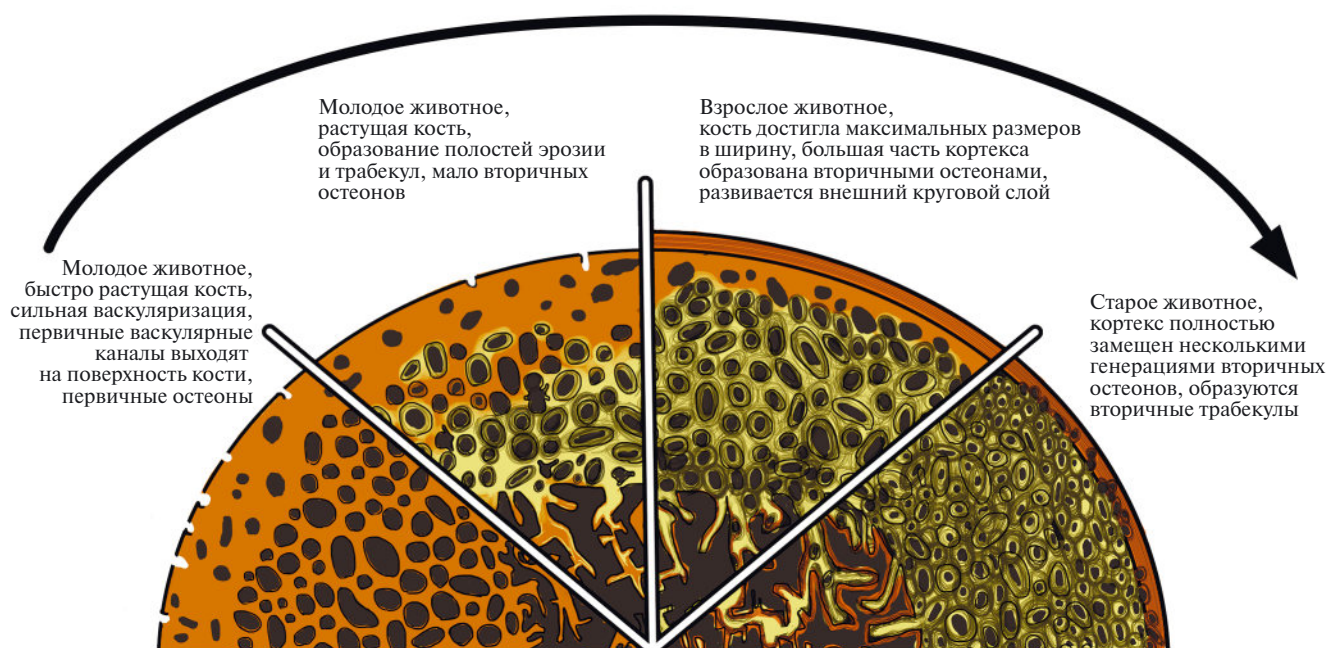


Рис. 3. Схема онтогенетических изменений в костях конечностей тетрапод, связанных со вторичным ремоделингом.

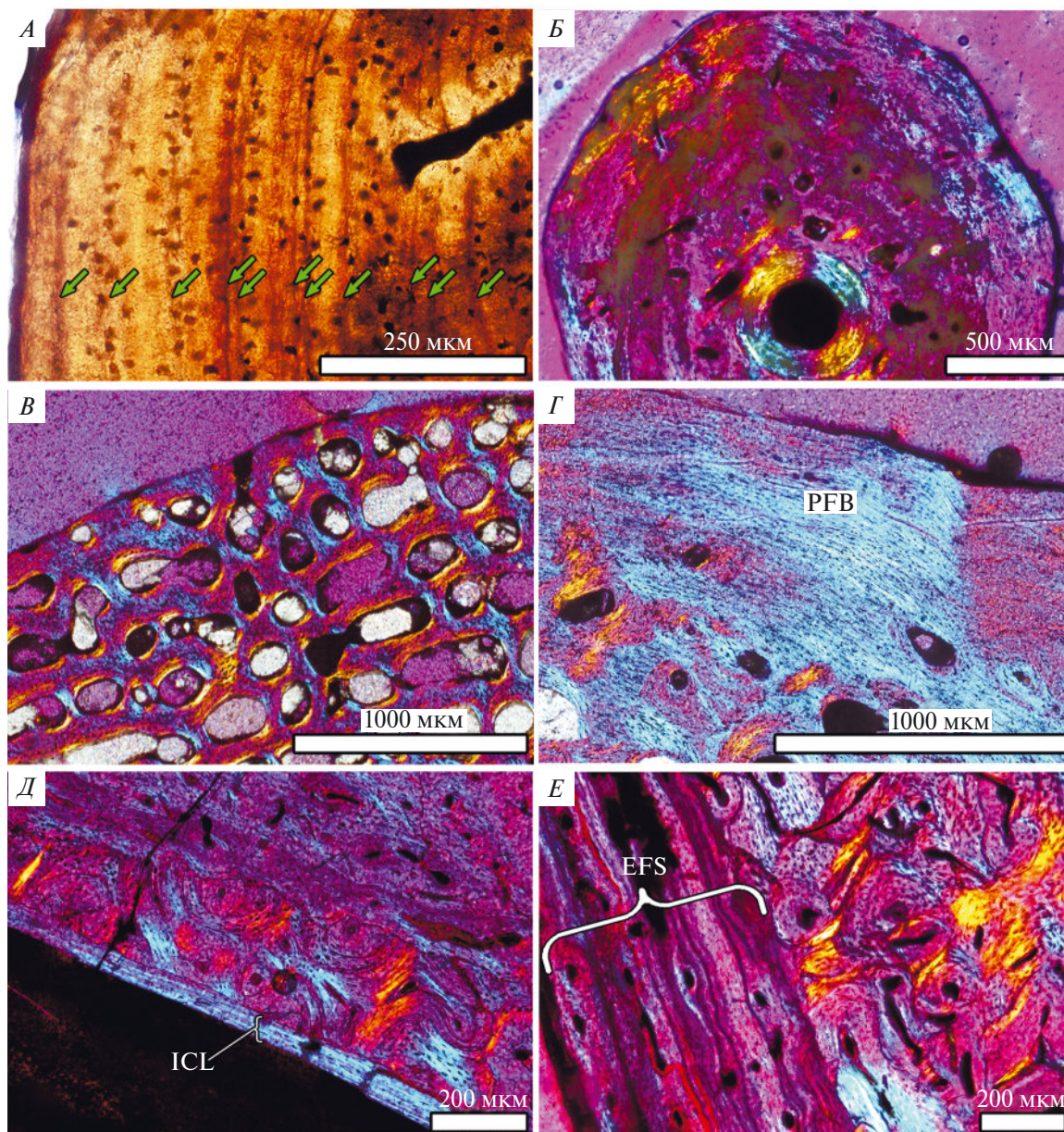


Рис. 4. Поперечные срезы костей конечностей ископаемых тетрапод в нормальном (А) и поляризованном свете с волновой пластинкой (Б–Е). А – примитивная раннемеловая стволовая саламандра *Kulgeriherpeton ultimium*, срез плечевой кости на уровне середины диафиза (см. Skutschas et al., 2024). Отсутствие сокращения дистанции между циклическими ростовыми метками свидетельствует о том, что эта плечевая кость принадлежала активно растущему животному, еще не достигшему максимального индивидуального возраста. Обратите также внимание на наличие двойных LAGs. Желтыми стрелками обозначены ростовые метки. Б – примитивная поздне меловая криптобранхидная саламандра *Eoscapherpeton asiaticum*, срез бедренной кости на уровне середины диафиза (см. Skutschas et al., 2019). Обратите внимание на сеть васкулярных каналов в первичном кортексе, которая появляется на поздних этапах онтогенеза. В – позднепермский парейазавр *Deltavjatia rossica*, срез большой берцовой кости особи, достигшей менее чем 25% от максимального размера (см. Voitsova et al., 2019). Присутствие только быстрорастущей костной ткани (фибrolамелярной кости) в кортексе свидетельствует о том, что эта кость принадлежала ювенильной особи на стадии изначального быстрого роста. Г – позднепермский парейазавр *Deltavjatia rossica*, срез бедренной кости особи, достигшей примерно 50% от максимального размера (см. Voitsova et al., 2019). Появление в кортексе параллельно-волокнистой кости свидетельствует о замедлении роста и окончании ювенильной стадии. Д – поздне меловой базальный орнитомимид, срез бедренной кости среднеразмерной особи (см. Skutschas et al., 2017). Обратите внимание на наличие внутреннего кругового слоя у особи, не достигшей максимальных размеров. Е – поздне меловой базальный орнитомимид, срез бедренной кости крупной особи (см. Skutschas et al., 2017). Наличие внешней фундаментальной системы свидетельствует о том, что животное является взрослым и достигшим скелетной зрелости. EFS – внешняя фундаментальная система, ICL – внутренний круговой слой, PFB – параллельно-волокнистая кость.

больше у него вторичной кости в кортексе. У самых старых особей происходит полное замещение первичной периостелиальной кости на вторичную кость с образованием плотной Гаверсовой кости.

Другой формой вторичного ремоделинга является формирование трабекул в губчатом слое (внутренней спонгиозе). Формирование трабекул происходит в несколько этапов. Первый этап — это резорбция костной ткани с образованием крупных полостей эрозии. Стенки этих полостей могут быть сформированы первичной костной тканью — тогда они называются первичными трабекулами, а губчатая ткань — первичной спонгиозой. На поверхности первичных трабекул может откладываться вторичная ламеллярная кость, и в этом случае трабекулы имеют сложную природу: их внутренняя часть образована остатками первичной костной ткани, а наружная — вторичной ламеллярной костью (de Buffrénil, Quilhac, 2021a). Далее происходят новые циклы резорбции и последующей откладки вторичной ламеллярной кости, в результате которых внутри трабекул не остается первичной костной ткани (рис. 3, 5Б). Такие трабекулы, целиком сформированные вторичной ламеллярной костью, можно называть вторичными. Формирование вторичных трабекул (и в целом вторичной спонгиозы) происходит с возрастом и, соответственно, наличие/отсутствие и количество вторичных трабекул может быть использовано в качестве онтогенетического маркера.

Другими формами вторичного ремоделинга являются формирование внутреннего кругового слоя (см. предыдущий раздел) в перимедуллярной области и так называемый внешний ремоделинг, при котором происходит резорбция внешней поверхности костей и последующее отложение на ней вторичной костной ткани (de Buffrénil, Quilhac, 2021a). Результатом внешнего ремоделинга часто является формирование скульптуры на покровных костях черепа, нижней челюсти и плечевого пояса (ключица, межключица), а также остеодермах.

Для определения относительного возраста ископаемых тетрапод в первую очередь используется маркер Гаверсова замещения (степень развития вторичных остеонов). В разных группах тетрапод Гаверсово замещение выражено в различной степени: у крупных динозавров и млекопитающих оно максимально, а у лиссамфибий и чешуйчатых рептилий оно выражено слабо или отсутствует совсем (Skutschas, Stein, 2015; de Buffrénil, Quilhac, 2021b).

Определение взрослой стадии динозавров по наличию обширного Гаверсова замещения — один из наиболее часто используемых гистологических онтогенетических маркеров (см., например, Skutschas et al., 2017 и Varinaev et al., 2023; рис. 5А, 5В). Для наиболее хорошо (по сравнению с другими динозаврами) гистологически изученных

гигантских динозавров-завропод степень Гаверсова замещения используется не только для определения стадий онтогенеза (ювенильная, субadultная, взрослая) и выделения гистологических онтогенетических стадий (histological ontogenetic stages, HOS; Klein, Sander, 2008), но и для выявления относительного возраста уже взрослых особей по стадиям ремоделинга (remodeling stages). Было показано, что чем старше взрослое животное, тем больше генераций вторичных остеонов образуется в плотной Гаверсовой кости (Mitchell et al., 2017) и, соответственно, наличие нескольких генераций вторичных остеонов тоже является онтогенетическим маркером.

Особую роль оценка степени Гаверсова замещения сыграла при определении онтогенетического статуса мелких (карликовых) завропод Западной Европы: *Europasaurus holgeri* из верхнеюрских отложений Германии и *Magyarosaurus dacus* из верхнемеловых отложений Румынии (Sander et al., 2006; Stein et al., 2010). Обнаружение костей мелкоразмерных завропод породило две основные гипотезы: найденные остатки принадлежат карликовым формам и мелкие размеры являются результатом «островного эффекта» (в те времена современная территория значительной части Западной Европы представляла собой ряд островов) либо это остатки ювенильной формы какого-то крупного завропода. В результате гистологического анализа (в первую очередь, по наличию обширного Гаверсова замещения в кортексе) было выявлено, что экземпляры *Europasaurus* и *Magyarosaurus* имеют структуру костей, идентичную структуре костей полностью зрелых или старых особей других таксонов завропод. Таким образом, было подтверждено, что *Europasaurus* и *Magyarosaurus* являлись карликовыми островными формами (Sander et al., 2006, Stein et al., 2010).

Формирование вторичных трабекул в губчатом слое, как правило, идет одновременно с обширным Гаверсовым замещением, и оба онтогенетических маркера обычно отмечаются одновременно. Это прослеживается не только у динозавров (см. Skutschas et al., 2017), но и у других тетрапод с выраженным вторичным ремоделингом, например у парейазавров (Boitsova et al., 2019).

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопление знаний позволило реконструировать онтогенетические изменения в гистологическом строении костей разных ископаемых тетрапод. Для отдельных групп ископаемых тетрапод выявленные онтогенетические изменения позволили выделить гистологические онтогенетические стадии (histological ontogenetic stages, HOS) и соотнести их с основными стадиями онтогенеза

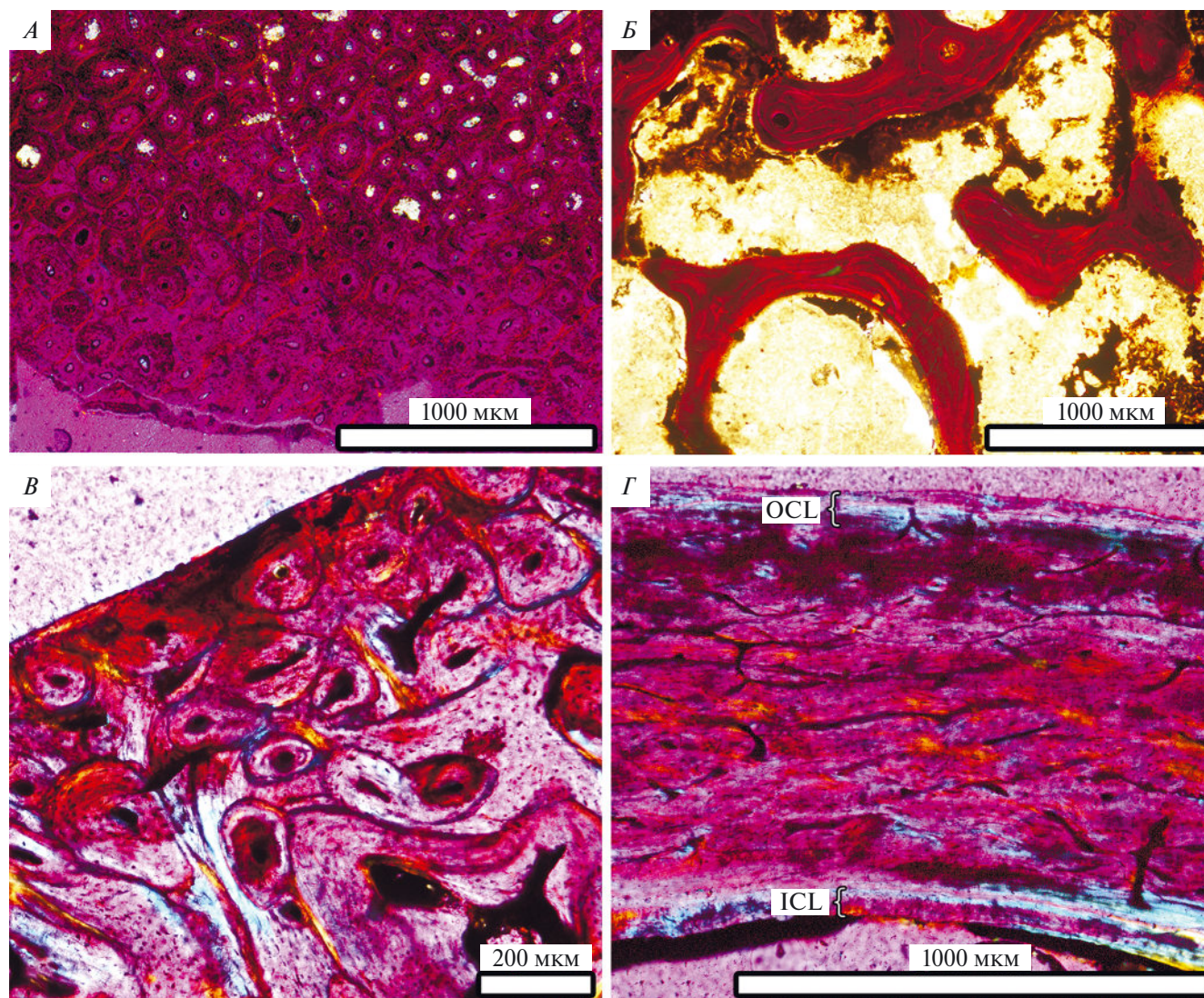


Рис. 5. Поперечные срезы костей конечностей и ребер ископаемых тетрапод в поляризованном свете с волновой пластинкой. *А* — поздне меловой утконосый динозавр, срез бедренной кости (см. Varinaev et al., 2023). Кортикс целиком сформирован вторичными остеонами — произошло полное замещение первичной периостелиальной кости на вторичную кость с образованием плотной Гаверсовой кости, следовательно, животное является взрослым. *Б* — позднеюрский стегозавр, срез ребра. Обратите внимание на вторичные трабекулы, сформированные ламеллярной костью. *В* — поздне меловой базальный орнитомимид, срез бедренной кости крупной особи (см. Skutschas et al., 2017). Кортикс целиком сформирован вторичными остеонами — произошло полное замещение первичной периостелиальной кости на вторичную кость с образованием плотной Гаверсовой кости, следовательно, животное является взрослым. *Г* — поздне меловой птерозавр *Azhdarcho lancicollis*, срез кости конечности. Наличие одновременно внешнего и внутреннего круговых слоев свидетельствует о том, что животное является взрослым. ICL — внутренний круговой слой, OCL — внешний круговой слой.

(Klein, Sander, 2008). Каждая онтогенетическая гистологическая стадия охарактеризована рядом гистологических маркеров. Постоянно происходят детализация онтогенетических гистологических стадий и дополнение их описаний новыми гистологическими маркерами. В перспективе гистологические онтогенетические стадии будут выделены для большинства групп ископаемых тетрапод

и определение относительного возраста по гистологическим срезам станет стандартизированной рутинной процедурой.

Каждый из гистологических маркеров имеет свои ограничения для применения в определении онтогенетической стадии. Лучшим выходом является комплексное применение нескольких гистологических маркеров сразу и, если возможно,

привлечение морфологических данных для определения возраста.

Остается нерешенным целый ряд фундаментальных биологических вопросов, связанных, например, со скелетохронологией (формирование и природа ростовых меток, внешней фундаментальной системы) и характером роста у многих тетрапод. Данные вопросы должны быть решены при изучении современных форм.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаем благодарность Э.М. Смириной (Институт биологии развития Н.К. Кольцова РАН, Москва) за обсуждение гистологии конечностей современных амфибий и рептилий. Благодарим анонимного рецензента и А.В. Ульяхина (Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва) за ценные замечания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 23-24-00098; <https://rscf.ru/project/23-24-00098/>).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Клевезаль Г.А., Каллер Салас А.В., Кирпичев С.П., 1972. Об определении возраста птиц по слоям в периферической кости // Зоологический журнал. Т. 51. Вып. 11. С. 1726–1730.
- Клевезаль Г.А., Клейнберг С.Е., 1967. Определение возраста млекопитающих по слоистым структурам зубов и кости. Москва: Наука. 142 с.
- Клевезаль Г.А., Смирин Э.М., 2016. Регистрирующие структуры наземных позвоночных. Краткая история и современное состояние исследований // Зоологический журнал. Т. 95. Вып. 8. С. 872–896.
- Клейнберг С.Е., Смирин Э.М., 1969. К методике определения возраста амфибий // Зоологический журнал. Т. 48. № 7. С. 1090–1094.
- Мина М.В., Клевезаль Г.А., 1970. Принципы исследования регистрирующих структур // Успехи современной биологии. Т. 70. Вып. 3. С. 341–352.
- Alekseyev S.S., Gordeeva N.V., Samusenok V.P., Matveev A.N., Andreev R.S., Yur'ev A.L., Smirina E.M., 2013. Extant and extinct forms of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) complex from the Leprindo lake system (Transbaikalia): differentiation in life history, morphology, and genetics // Journal of Ichthyology. V. 53. P. 792–803.
- Alekseyev S.S., Samusenok V.P., Gordeeva, N.V., Yur'ev A.L., Korostelev N.B., Matveev A.N., 2024. The role of temporal reproductive isolation, trophic polymorphism and growth rate fluctuations in the diversification of Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) in Lake Kalarskii Davatchan, Transbaikalia, Russia // Hydrobiologia. P. 1–25.
- Amprino R., 1947. La structure du tissu osseux envisagée comme expression de différences dans la vitesse de l'accroissement // Arch. Biol. V. 58. P. 315–330.
- Andrade R.C., Bantim R.A., Lima F.J., Campos L.D., Eleutéri L.H., Sayão J.M., 2015. New data about the presence and absence of the external fundamental system in archosaurs // Cad. Cult. Ciência. V. 14. P. 200–211.
- Averianov A.O., Skutschas P.P., Lopatin A.V., 2023. Ontogeny and miniaturization of Alvarezsauridae (Dinosauria, Theropoda) // Bio. Comm. V. 68. № 2. P. 65–73. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2023.201>
- Bapinaev R.A., Golovneva L.B., Zolina A.A., Averianov A.O., Skutschas P.P., 2023. New data on high-latitude hadrosaurid dinosaurs from the Upper Cretaceous Kakanaut formation of Chukotka, Russia // Cret. Res. V. 149. 105552.
- Bennett S.C., 1993. The ontogeny of *Pteranodon* and other pterosaurs // Paleobiology. V. 19. P. 92–106.
- Boitsova E.A., Skutschas P.P., Sennikov A.G., Golubev V.K., Masuytin V.V., Masuytina O.A., 2019. Bone histology of two pareiasaurs from Russia (*Deltavjatia rossica* and *Scutosaurus karpinskii*) with implications for pareiasaurian palaeobiology // Biol. J. Linn. Soc. V. 128. № 2. P. 289–310. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blz094>
- Botha J., Huttenlocker A., 2021. Nonmammalian Synapsids // Vertebrate skeletal histology and paleohistology. de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 550–563.
- Castanet J., Francillon-Viellet H., Meunier E., De Ricqlès A., 1993. Bone and individual aging. // Bone, Hall B.K. (Ed). London, UK, CRC Press. P. 245–283.
- Castanet J., Naulleau G., 1974. Données expérimentales sur la valeur des marques squelettiques comme indicateur de l'âge chez *Vipera aspis* (L.) (Ophidia, Viperidae) // Zoologica Scripta. V. 3. P. 201–208.
- Castanet J., Smirina E.M., 1990. Introduction to the skeletochronological method in amphibians and reptiles // Annales des Sciences Naturelles, Zoologie 13e Series. V. 11. P. 191–196.
- Cerda I.A., Chinsamy A., Pol D., Apaldetti C., Otero A., Powell J.E., et al., 2017. Novel insight into the origin of the growth dynamics of sauropod dinosaurs // PLoS ONE. V. 12. № 6. e0179707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179707>

- Cullen T.M., Brown C.M., Chiba K., Brink K.S., Makovicky P.J., Evans D.C., 2021. Growth variability, dimensional scaling, and the interpretation of osteohistological growth data // *Biol. Lett.* V. 17. 20210383. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2021.0383>
- de Buffrénil V., Castanet J., 2000. Age estimation by skeletochronology in the Nile monitor (*Varanus niloticus*), a highly exploited species // *J. Herpetol.* V. 34. P. 414–424.
- de Buffrénil V., Quilhac A., 2021. Bone Tissue Types: A Brief Account of Currently Used Categories // *Vertebrate skeletal histology and paleohistology*. de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 148–182.
- de Buffrénil V., Quilhac A., 2021a. Bone Remodeling // *Vertebrate skeletal histology and paleohistology*. de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 229–246.
- de Buffrénil V., Quilhac A., Castanet J., 2021. Cyclical growth and skeletochronology // *Vertebrate skeletal histology and paleohistology*. de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 626–644.
- de Buffrénil V., Quilhac A., Cubo J., 2021a. Accretion Rate and Histological Features of Bone // *Vertebrate skeletal histology and paleohistology*. de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 221–228.
- de Ricqlès A., Padian K., Horner J.R., Francillon-Vieillot H., 2000. Paleohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny and biochemical implications // *Zool. J. Linn. Soc.* V. 129. P. 349–385.
- Eden C.S., Whiteman H.H., Duobinis-Gray L., Wissinger S.A., 2007. Accuracy assessment of skeletochronology in the Arizona tiger salamander (*Ambystoma tigrinum nebulosum*) // *Copeia*. № 2. P. 471–477.
- Erickson G.M., 2005. Assessing dinosaur growth patterns: a microscopic revolution // *Trends Ecol. Evol.* V. 20. 677e684. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.08.012>
- Erickson G.M., Rogers K.C., Yerby S.A., 2001. Dinosaur growth patterns and rapid avian growth rates // *Nature*. V. 412. P. 429–433.
- Fernández-Dumont M.L., Pereyra M.E., Bona P., Apes-teguía S., 2021. New data on the palaeosteohistology and growth dynamic of the notosuchian *Araripesuchus Price*, 1959 // *Lethaia*. <https://doi.org/10.1111/let.12423>
- Francillon H., 1979. Etude expérimentale des marques de croissance sur les humerus et les femurs des tritons cretes (*Triturus cristatus* Laurenti) en relation avec la détermination de l'âge individuel // *Acta Zoologica Stockholm*. V. 60. P. 223–232.
- Francillon H., Castanet J., 1985. Mise en évidence expérimentale du caractère annuel des lignes d'arrêt de croissance squelettique chez *Rana esculenta* (Amphibia, Anura) // *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Ser. 3*. V. 300. P. 327–332.
- Francillon-Vieillot H., de Buffrénil V., Castanet J., Géraudie J., Meunier F.J., Sire J.Y., Zylberberg L., de Ricqlès A., 1990. Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues // *Skeletal biomineralization: patterns, processes and evolutionary trends*. Carter J.G., (Ed.). New York (NY), Van Nostrand Reinhold. P. 471–548.
- Francillon-Vieillot H., Arntzen J.W., Geraudie J., 1990a. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *T. narinoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): a skeleto-chronological comparison // *J. Herpetol.* V. 24. P. 13–22.
- Frazier J., 1985. A review of in vivo labels for studies of age determination and growth in amphibians and reptiles // *Herpetologica*. V. 41. P. 222–227.
- Frazier J., 1985a. Tetracycline as in vivo label in bones of green turtles, *Chelonia mydas* (L.) // *Herpetologica*. V. 41. P. 228–234.
- Griffin T.C., Stocker R.M., Colleary C., Stefanic C.M., Lessner E.J., Riegler M., Formoso K., Koeller K., Nesbitt S.J., 2021. Assessing ontogenetic maturity in extinct saurian reptiles // *Biol. Rev.* V. 96. P. 470–525. 470 doi: 10.1111/brv.12666
- Hayashi S., Kubo M.O., Sánchez-Villagra M.R., Taruno H., Izawa M., Shiroma T., Nakano T., Fujita M., 2023. Variation and process of life history evolution in insular dwarfism as revealed by a natural experiment // *Front. Earth Sci.* V. 11. 1095903. doi: 10.3389/feart.2023.1095903
- Horner J., de Ricqlès A., Padian K., 1999. Variation in dinosaur skeletochronology indicators: Implications for age assessment and physiology // *Paleobiology*. V. 25. P. 295–304. 10.1017/S0094837300021308
- Huttenlocker A.K., Woodward H., Hall B.K., 2013. The biology of bone // *Bone Histology of Fossil Tetrapods: Advancing Methods, Analysis, and Interpretation*. Padian K., Lamm E-T., (Eds). Berkeley: University of California Press. P. 13–34.
- Jordana X., Marín-Moratalla N., Moncunill-Solà B., Nacarino-Meneses C., Köhler M., 2016. Ontogenetic changes in the histological features of zonal bone tissue of ruminants: A quantitative approach // *C.R. Palevol.* V. 15. P. 255–266.
- Khonsue W., Matsui M., 2001. Absence of Lines of Arrested Growth in Overwintered Tadpoles of the American Bullfrog, *Rana catesbeiana* (Amphibia, Anura). *Current Herpetology*. V. 20. № 1. P. 33–37.
- Klein N., Sander P.M., 2008. Ontogenetic stages in the long bone histology of sauropod dinosaurs // *Paleobiology*. V. 34. P. 248–264.
- Klein N., Foth C., Schoch R.R., 2017. Preliminary observations on the bone histology of the Middle Triassic pseudosuchian archosaur *Batrachotomus kupferzellensis*

- reveal fast growth with laminar fibrolamellar bone tissue // *J. Vertebr. Paleontol.*
DOI: 10.1080/02724634.2017.1333121
- Kolb C., Scheyer T.M., Veitschegger K., Forasiepi A.M., Amson E., Van der Geer A.A.E., Van den Hoek Ostende L.W., Hayashi S., Sánchez-Villagra M.R., 2015. Mammalian bone palaeohistology: A survey and new data with emphasis on island forms // *Peer J.V.* 3. e1358.
- Konietzko-Meier D., Sander P.M., 2013. Long bone histology of *Metoposaurus diagnosticus* (Temnospondyli) from the Late Triassic of Krasiejów (Poland) and its paleobiological implications // *J. Vertebr. Paleontol.* V. 33. № 5. P. 1003–1018.
- Marangoni F., Schaefer E.F., Cajade R., Tejedo M., 2009. Growth marks formation and chronology of two neotropical anuran species // *J. Herpetol.* V. 43. P. 446–450.
- Margerie E. de, Cubo J., Castaney J., 2002. Bone typology and growth rate: testing and quantifying “Amprino’s rule” in the mallard (*Anas platyrhynchos*) // *C.R. Acad. Sci. Paris (Sci. Vie).* V. 325. P. 221–230.
- Martin D., Currie P., Kundrát M., 2023. Variability of bone microstructure and growth lines in the evolution of troodontids and dromaeosaurids // *Acta Zoologica.* V. 105. № 5. P. 135–175. 10.1111/azo.12467.
- Martinez-Maza C., Alberdi M.T., Nieto-Diaz M., Prado J.L., 2014. Life history traits of the Miocene *Hipparion concudense* (Spain) inferred from bone histological structure // *PLoS ONE.* V. 9. e1358.
doi: 10.1371/journal.pone.0103708
- Mascarenhas-Junior P.B., Bochetti-Bassetti L.A., Sayao J.M., 2021. Bone histology of Broad-snouted Caiman *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) as tool for morphophysiological inferences in Crocodylia // *Acta Herpetol.* V. 16. P. 109–121.
- Mitchell J., Sander P.M., Stein K., 2017. Can secondary osteons be used as ontogenetic indicators in sauropods? Extending the histological ontogenetic stages into senescence // *Paleobiology.* V. 43. P. 321–342.
- Nelson R.C., Bookhout T.A., 1980. Counts of Periosteal Layers Invalid for Aging Canada Geese // *J. Wildl. Manag.* V. 44. № 2. P. 518–521.
- Padian K., Horner J.R., Ricqlès A., 2004. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies // *J. Vert. Paleontol.* V. 24. № 3. P. 555–571.
- Padian K., Woodward H.N., 2021. Archosauromorpha: Avemetatarsalia – dinosaurs and their relatives // *Vertebrate skeletal histology and paleohistology.* de Buffrénil V., de Ricqlès A.J., Zylberberg L., Padian K. (Eds). Boca Raton, CRC Press. P. 511–549.
- Picasso M.B.J., Hospitaleche C.A., 2024. Hindlimb bones texture through postnatal ages of *Rhea americana* (Aves: Palaeognathae) // *Anat. Histol. Embryol.* V. 53. e13004.
<https://doi.org/10.1111/ahe.13004>
- Ponton F., Elzanowski A., Castanet J., Chinsamy A., Margerie E. de, Ricqlès A. de, Cubo J., 2004. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds // *Acta Ornithol.* V. 39. P. 21–24.
DOI: 10.3161/068.039.0210
- Prondvai E., Godefroit P., Adriaens D., Hu D.-Yu., 2018. Intraskkeletal histovariability, allometric growth patterns, and their functional implications in bird-like dinosaurs // *Sci Rep.* V. 8. № 258.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-18218-9>
- Sander P.M., 2000. Long bone histology of the Tendaguru sauropods: implications for growth and biology // *Paleobiology.* V. 26. № 3. P. 466–488.
- Sander P.M., Mateus O., Laven T., Knötschke N., 2006. Bone histology indicates insular dwarfism in a new Late Jurassic sauropod dinosaur // *Nature.* V. 441. P. 739–741.
- Schucht P.J., Klein N., Lambertz M., 2021. What’s my age again? On the ambiguity of histology based skeletochronology // *Proc. R. Soc. B.* V. 288. 20211166.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1166>
- Sinsch U., 2015. Review: Skeletochronological assessment of demographic life-history traits in amphibians // *Herpetological Journal.* V. 25. P. 5–13.
- Skutschas P.P., Boitsova E.A., Averianov A.O., Sues H-D., 2017. Ontogenetic changes in long-bone histology of an ornithomimid theropod dinosaur from the Upper Cretaceous Bissekty Formation of Uzbekistan // *Historical Biology.* V. 29. № 6. P. 715–729,
DOI: 10.1080/08912963.2016.1233180
- Skutschas P.P., Stein K., 2015. Long bone histology of the stem salamander *Kokartus honorarius* (Amphibia: Caudata) from the Middle Jurassic of Kyrgyzstan // *J. Anat.* V. 226. P. 334–347.
- Skutschas P.P., Saburov P.G., Boitsova E.A., Kolchanov V.V., 2019. Ontogenetic changes in long-bone histology of the cryptobranchid *Eoscapherpeton asiaticum* (Amphibia: Caudata) from the Late Cretaceous of Uzbekistan // *Comptes Rendus Palevol.* V. 18. № 3. P. 306–316.
- Skutschas P.P., Saburov P.G., Uliakhin A.V., Kolchanov V.V., 2024. Long bone morphology and histology of the stem salamander *Kulgeriherpeton ultimum* (Caudata, Karauridae) from the Lower Cretaceous of Yakutia // *Paleontological Journal.* V. 58. P. 101–111.
- Słowiak J., Szczygielski T., Ginter M., Fostowicz-Freluk Ł., 2020. Uninterrupted growth in a non-polar hadrosaur explains the gigantism among duck-billed dinosaurs // *Palaeontology.* V. 63. № 4. P. 579–599.
<https://doi.org/10.1111/pala.12473>
- Smirina E.M., Tselarius A. Yu., 1996. Aging, longevity, and growth of the desert monitor (*Varanus griseus* Daud.) // *Russian Journal of Herpetology.* V. 3. P. 130–142.
- Smirina E.M., Tselarius A. Yu., 1998. Vital bone marking of desert monitor (*Varanus griseus* DAUD.) in

- nature // Russian Journal of Herpetology. V. 5. P. 157–160.
- Snover M.L., Avens L., Hohn A.A., 2007. Back-calculating length from skeletal growth marks in loggerhead sea turtles *Caretta caretta* // Endangered Species Research. V. 3. P. 95–104.
- Snover M.L., Hohn A.A., Goshe L.R., Balazs G.H., 2011. Validation of annual skeletal marks in green sea turtles *Chelonia mydas* using tetracycline labeling // Aquat. Biol. V. 12. P. 197–204.
- Steel L., 2008. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview // Flugsaurier: pterosaur papers in honour of Peter Wellnhofer. Zitteliana, Series B, V. 28. Special volume, Buffetaut E., Hone D.W.E., (Eds). P. 109–125.
- Stein K., Csiki Z., Rogers K.C., Weishampel D.B., Redelstorff R., Carbadillo J.L., Sander P.M., 2010. Small body size and extreme cortical bone remodeling indicate phyletic dwarfism in *Magyarosaurus dacus* (Sauropoda: Titanosauria) // Proc. Nat. Acad. Sci. V. 107. № 20. P. 9258–9263.
- Stein K., Prondvai E., 2014. Rethinking the nature of fibrolamellar bone: an integrative biological revision of sauropod plexiform bone formation // Biol. Rev. V. 89. P. 24–47.
- Veitschegger K., Kolb C., Amson E., Scheyer T.M., Sánchez-Villagra M.R., 2018. Palaeohistology and life history evolution in cave bears, *Ursus spelaeus sensu lato* // PLoS ONE. V. 13. № 11. e0206791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206791>
- Wagner A., Schabensberger R., Sztatecsny M., Kaiser R., 2011. Skeletochronology of phalanges underestimates the true age of long-lived Alpine newts (*Ichthyosaura alpestris*) // Herpetological Journal. V. 21. P. 145–148.
- Watanabe J., Matsuoka H., 2013. Ontogenetic change of morphology and surface texture of long bones in the gray heron (*Ardea cinerea*, Ardeidae) // Paleornithological Research. V. 2013. P. 279–306.
- Woodward H.N., Horner J.R., Farlow J.O., 2011. Osteohistological evidence for determinate growth in the American Alligator // J. Herpetol. V. 45. P. 339–342. <https://doi.org/10.1670/10-274.1>.
- Woodward H.N., Horner J.R., Farlow J.O., 2014. Quantification of intraskeletal histovariability in *Alligator mississippiensis* and implications for vertebrate osteohistology // Peer J. V. 2. e422. <https://doi.org/10.7717/peerj.422>
- Woodward H.N., Padian K., Lee A.H., 2013. Skeletochronology // Bone histology of fossil tetrapods – advancing methods, analysis and interpretation. Padian K., Lamm E.-T. (Eds). Berkeley. University of California Press. P. 195–215.
- Woodward B.H., Freedman F.L., Farlow J., Horner J., 2015. *Maiaasaura*, a model organism for extinct vertebrate population biology: A large sample statistical assessment of growth dynamics and survivorship // Paleobiology. V. 41. P. 1–25. [10.1017/pab.2015.19](https://doi.org/10.1017/pab.2015.19).

DETERMINATION OF INDIVIDUAL AGE AND ONTOGENETIC STAGES OF FOSSIL TETRAPODS USING PALEOHISTOLOGICAL METHODS

P. P. Skutschas*, V. V. Kolchanov**

Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: skutchas@mail.ru, p.skutschas@spbu.ru

**e-mail: veniamin.kolchanov@mail.ru

The determination of individual age and ontogenetic stage (juvenile, subadult, adult) of fossil vertebrates is important for the initial determination of taxonomic affiliation, as well as for further evolutionary and paleobiological interpretations. Determination of individual age and ontogenetic stage (= relative age) is carried out by various methods, including paleohistological analysis. The study of thin sections of tetrapod bones allows us to assume how many years the animal lived (skeletochronological method) and to determine the ontogenetic stage according to a set of age-related histological markers: change in the type of bone matrix and vascularization, change in the distance between growth marks, formation of the external fundamental system (EFS), formation of the inner (endosteal) and outer (periosteal) circumferential layers (OCL, ICL), occurrences of secondary remodeling – Haversian substitution and formation of trabeculae. Depending on the phylogenetic position and biological peculiarities of the study group of tetrapods, the set of age “histologic markers” may be different.

Keywords: tetrapods, bone tissue, skeletochronology, ontogenetic markers