

Посвящается Галине Александровне Клевезаль

СКЕЛЕТОХРОНОЛОГИЯ АМФИБИЙ И РЕПТИЛИЙ: ОСНОВЫ МЕТОДОЛОГИИ, РАЗНООБРАЗИЕ ЗАДАЧ И ПЕРСПЕКТИВЫ

© 2024 г. С. М. Ляпков*

Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова,
Москва, 119234 Россия

*e-mail: lyapkov@mail.ru

Поступила в редакцию 06.07.2024 г.

После доработки 17.07.2024 г.

Принята к публикации 20.07.2024 г.

Скелетохронология, метод определения индивидуального возраста у позвоночных животных с годовым циклическим ростом, получил широкое распространение благодаря своей надежности, возможности определять возраст животных прижизненно, а также возможности ретроспективно оценивать размеры тела по размерам ежегодных ростовых меток. Цель обзора – дать представление об особенностях практического применения скелетохронологии и о разнообразных прикладных и общетеоретических задачах, возникающих на основе полученных данных по возрасту. Рассмотрены формирование регистрирующих структур (ростовых слоев и линий остановки роста) в трубчатых костях, другие регистрирующие структуры, основные задачи, решаемые на основе результатов применения метода, основные преимущества и ограничения методики.

Ключевые слова: трубчатые кости, методики изготовления срезов, определение возраста, линии остановки роста, темпы индивидуального роста

DOI: 10.31857/S0044513424060028, **EDN:** ujdolo

Скелетохронология – это «определение индивидуального возраста амфибий и рептилий по ростовым слоям на срезах костей конечностей, и особенно прижизненное, по слоям на срезах фаланг пальцев...» (Клевезаль, Смирин, 2016). «В скелетохронологическом анализе подсчитывается количество циклических годовых ростовых меток в первичном периостелиальном кортексе костей» (Скучас, Колчанов, 2024). Этот метод определения индивидуального возраста у пойкилотермных животных с годовым циклическим ростом получил широкое распространение благодаря своей надежности, возможности определять возраст животных прижизненно, а также возможности ретроспективно оценивать размеры тела по размерам ежегодных ростовых меток. Цель моего обзора – рассмотреть применение скелетохронологии для определения индивидуального возраста и для решения разнообразных прикладных и общетеоретических задач, возникающих на основе полученных данных по возрасту. Моей целью также было описание возможностей и ограничений метода для широкого круга зоологов и специалистов близких специальностей, не имеющих опыта его применения.

ФОРМИРОВАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГИСТРИРУЮЩИХ СТРУКТУР¹ В ТРУБЧАТЫХ КОСТЯХ

В трубчатых костях амфибий и рептилий ростовые слои, включающие в себя линии остановки роста (lines of arrested growth, далее для краткости – LAGs), формируются в периостальной части (Румянцев, 1958; Клейненберг, Смирин, 1969; Смирин, 1972). Ростовые слои могут формироваться также в эндостальной части трубчатых костей, но они мало пригодны для скелетохронологического исследования, поскольку выражены менее четко, а кроме того, при увеличении объема костномозговой полости эндостальная кость резорбируется обычно

¹ Первоначально «регистрирующими структурами» называли те части организмов, в которых в процессе роста формируются элементы (слои, зоны и т.п.), сохраняющиеся на протяжении длительного периода (Мина, Клевезаль, 1970). Примерами могут служить раковины моллюсков, чешуя и отоциты рыб, периостальная кость и дентин зубов млекопитающих. Однако позднее этот термин стали использовать для обозначения отдельных элементов, обычно ростовых слоев, и именно в этом значении термин используется в настоящей статье.

в значительной степени или полностью. В редких случаях, у взрослых ящериц, площадь эндостальной кости на поперечном срезе бедра может быть больше площади костномозговой полости, но при этом хорошо различимые ростовые слои и LAGs отсутствуют (Кидов и др., 2023а, рис. 2). Важно также учитывать, что наибольшее число ростовых слоев формируется вблизи середины диафиза кости, и по мере продвижения от середины диафиза к эпифизам вероятность увидеть на поперечных срезах полный набор ростовых слоев и LAGs снижается (Rozenblut, Ogielska, 2005, Fig. 11 и 12).

Следует также отметить, что у амфибий и рептилий LAGs формируются, как правило, во всех случаях, в отличие от современных птиц и крупных млекопитающих, а также некоторых групп ископаемых тетрапод (обзор см. Скучас, Колчанов, 2024).

У амфибий и рептилий умеренной зоны в течение активного периода в годовом цикле обычно формируется один ростовой слой, ограниченный одной LAG. Эта закономерность была доказана с помощью введения животным тетрациклиновой метки, которая локализуется в узкой зоне трубчатой кости в период, соответствующий остановке роста (Смирин, 1972). Такая остановка роста происходит либо во время зимовки, либо во время летней спячки. Существует довольно много исключений из этой закономерности, наиболее важные будут рассмотрены в дальнейшем.

Оценка темпов резорбции и количества резорбированных LAGs

По мере роста животного и увеличения размеров костномозговой полости может увеличиваться и число внутренних LAGs, подвергшихся полной резорбции. Очевидно, общей закономерностью является более высокая вероятность резорбции большего числа внутренних LAGs у наиболее старых особей в выборке. Для количественной оценки размеров потенциально резорбированных LAGs необходимо дополнительно к взрослым особям иметь группу годовиков, а лучше — еще и двухлетних особей той же популяции, для сравнения наружного диаметра их кости с величиной костномозговой полости взрослых особей. В идеале, для каждой популяции даже одного вида (особенно широкоареального) следует иметь свою «корректирующую» группу неполовозрелых особей (Э.М. Смирин, личное сообщение). Более подробное описание процедуры оценки количества резорбированных внутренних LAGs — см. Nemelaar, 1985; Клевезаль, Смирин, 2016. В обзоре (Клевезаль, Смирин, 2016) так же подробно рассмотрены другие сложные случаи отсутствия соответствия количества видимых ростовых слоев и LAGs возрасту особи, такие как сдвоенные LAGs и невозможность различения крайних внешних LAGs вследствие крайне медленного роста у наиболее старых особей.

«Голень vs бедро vs фаланга пальца»

При возможности выбора между фалангами пальцев и более крупными костями конечностей обычно отдают предпочтение крупным костям, особенно в тех случаях, когда заранее известно, что в исследуемой выборке много старых особей. У таких животных расстояние между наружными LAGs может быть настолько малым, что на срезах фаланг эти LAGs будут сливаться, но могут быть идентифицированы на срезах больших костей. У большинства бесхвостых амфибий в качестве наиболее крупной и удобной кости выбирают бедренную кость. Однако наше исследование небольших выборок травяных и остромордых лягушек позволило сделать заключение, что в кости голени костномозговая полость меньше, и поэтому в них выше вероятность неполной резорбции LAGs, соответствующих 1-й и 2-й зимовкам. Э.М. Смирин, посмотрев срезы бедренных костей и костей голени лягушек из этих выборок, согласилась с моим заключением (Ляпков, неопубликованные данные; Смирин, личное сообщение).

При сравнении количества и качества LAGs в фалангах и больших трубчатых костях были получены разнообразные результаты. Так, не было выявлено различий между числом LAGs в плечевой кости и фаланге пальцев у 10 особей обыкновенного тритона (Marnell, 1997). У 14 взрослых ящериц *Psammotromus algirus* были изготовлены поперечные срезы фаланг, бедренной и плечевой костей, и у всех особей различий по числу LAGs не выявлено (Comas et al., 2016). Темп резорбции в фалангах может быть выше, чем в бедре и голени (у крабоядной лягушки (*Fejervarya cancrivora*) — Rajmira, 2022), или, наоборот, — ниже (у агамы *Laudakia stoliczkana* — Smirina, Ananjeva, 2007). Вполне вероятно, у каждого вида существует свое соотношение, и поэтому необходимо исследовать каждый из видов в поисках трубчатой кости с минимальным темпом резорбции костномозговой полости (Sahoo, Kara, 2017).

Недостатки и преимущества использования фаланг пальцев

К недостаткам, как уже отмечалось, относятся сравнительно мелкие размеры кости, что существенно уменьшает расстояние между линиями склеивания, соответствующими последним зимовкам, и повышает вероятность их полного слияния. Кроме того, у долгоживущих видов число слоев и LAGs в фалангах может быть всегда меньше реального возраста особи (Plytycz, Bigaj, 1993; Eden et al., 2007; Wagner et al., 2011; Sinsch, 2015). Также было сделано предположение, что рост фаланг пальцев в толщину с возрастом прекращается,

в то время как более крупные трубчатые кости продолжают расти (Smirina, Ananjeva, 2007).

Отдельной группой стоят вопросы научной этики и охраны редких и исчезающих видов, поскольку в большинстве случаев остается неясным, насколько сильно процедура отрезания фаланг пальцев снижает выживаемость (Ginnan et al., 2014; Zamora-Camacho et al., 2023).

К преимуществам использования фаланг относятся уже упоминавшиеся сравнительно низкие темпы резорбции костномозговой полости и, следовательно, меньшая вероятность полной резорбции первой LAG (Smirina, Ananjeva, 2007; Quiroga et al., 2015). Интересно отметить, что у круглгоголовок *Phrynocephalus vlangalii* лучшие срезы получают из проксимальной половины фаланг, благодаря ненаправленному удлинению этой части кости (Ma et al., 2022). Хорошие результаты получаются также при использовании для изготовления срезов фаланг *Salamandrina perspicillata* (Bovero et al., 2006). У южноамериканских субтропических видов бесхвостых амфибий наблюдались более стабильное формирование LAGs и их лучшая выраженность в фалангах пальцев, по сравнению с бедренной и плечевой костями (Brum et al., 2019). При этом, также согласно утверждению авторов, LAGs были видны лучше на срезах фаланги 4-го пальца задней конечности, в сравнении с 3-м пальцем. Такая однотипность результата не вполне понятна, поскольку было исследовано 11 видов, относящихся к 8 разным семействам: Alsodidae, Centronelidae, Bufonidae, Hylidae, Leptodactylidae, Microhylidae, Odontophrynidae, Phyllomedusidae.

Оптимизация процесса изготовления и окрашивания срезов

Обычно срезы кости изготавливают на замораживающем микротоме, что, в отличие от заключения в парафин, позволяет существенно ускорить процесс. Окрашенные срезы помещают затем на предметное стекло в 100%-й глицерин и, расправив, накрывают покровным стеклом, т.е. изготавливают временные препараты. Существует еще несколько способов сэкономить время изготовления срезов. Вместо замораживания кости в воде, можно использовать более удобную среду, например, реагент для криоблоков Tissue-Tek (Sinsch et al., 2010). Другой удобный вариант — заключение кости в гисторезин (Sinsch et al., 2002), позволяющий получать срезы без замораживания. В двух последних случаях, вместо санного, можно использовать ротационный микротом.

Существуют также коммерческие фирмы (в т.ч. Matson lab (<https://matsonslab.com/>), которые в середине 2000-х гг. изготавливали окрашенные срезы из фаланг пальцев лягушек.

Большие сложности (и соответственно — потери времени) возникают в процессе подготовки мелких фаланг пальцев и при работе с ними на микротоме. Обычно такие фаланги заключают в парафиновые блоки. В качестве альтернативы было предложено проводить предварительное тотальное окрашивание всей фаланги (Hasumi, Watanabe, 2007), которое делает ее более заметной и упрощает подготовку к работе на замораживающем микротоме.

Изучение окрашенных срезов, работа одновременно с несколькими операторами и отбраковка сомнительных случаев

Для исследования сложных случаев, т.е. когда ростовые слои и LAGs четко не различаются и плохо идентифицируются, была предложена стратегия совместной работы нескольких операторов (Смирина и др., 1994). Таким способом можно было отделить по крайней мере более надежно идентифицируемые срезы от самых сомнительных случаев. Скромный опыт автора позволяет предложить иную модификацию этой стратегии: совместное рассмотрение всеми операторами каждого из несовпадающих случаев, что позволяет выявить явно ошибочные определения числа LAGs любым из операторов. В результате остаются лишь те случаи, которые каждый из операторов считает действительно сомнительными. И лучшее решение для таких общепризнанных сомнительных случаев — исключить их из выборки. С такой отбражкой сомнительных случаев вполне согласна Э.М. Смирина (Смирина, личное сообщение).

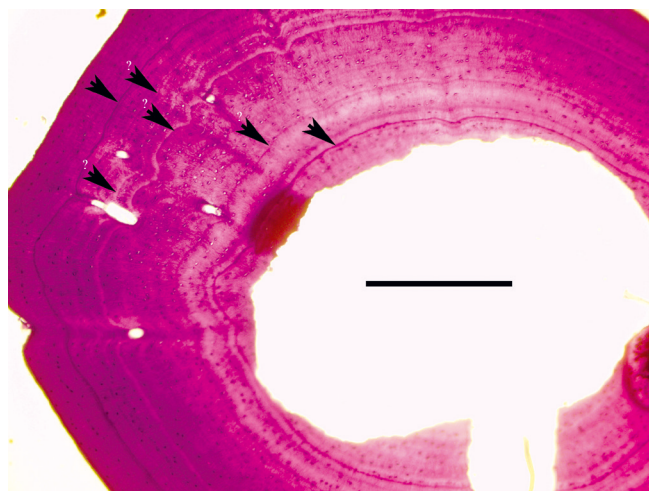


Рис. 1. Пример дополнительных LAGs на срезе кости голени (4 такие линии отмечены стрелками со знаком вопроса), которые могут быть неотличимы от LAGs, соответствующих зимовкам (отмечены стрелками): двухгодовалая озерная лягушка из камчатской популяции с длительным периодом активности в течение годового цикла. Длина отрезка 1 мм.

Отметим также, что такие сомнительные случаи встречаются довольно редко — рис. 1 (см. также Lyapkov et al., 2021).

Другие методы визуализации LAGs

Вместо изготовления окрашенных поперечных срезов была предпринята попытка использования продольных шлифов трубчатых костей. Полученные препараты рассматривали в поляризационном свете, что давало возможность не только увидеть все LAGs, но и проследить их изменения от середины диафиза к эпифизам (Корнилова и др., 1996). Однако этот метод не получил широкого распространения, поскольку приготовление шлифов занимало приблизительно столько же времени, сколько изготовление срезов, а качество полученных неокрашенных шлифов было существенно ниже.

Недавно были опубликованы результаты применения петрографических шлифов трубчатых костей нескольких видов амфибий и рептилий, в сравнении с результатами применения окрашенных срезов тех же костей (Schucht et al., 2021). В большинстве случаев количество LAGs на гистологических срезах превышало таковое на шлифах, обратное соотношение наблюдалось реже. При этом количество LAGs не всегда совпадало с реальным (известным заранее) возрастом животного. Авторы не приводят объяснений таким различиям, но поскольку каждый вид был представлен всего лишь одним экземпляром (даже хуже, чем в коллекции Ноя), причем долгое время содержавшимся в неволе, следует считать результаты этого исследования не более чем предварительными.

ОСНОВНЫЕ РЕШАЕМЫЕ ЗАДАЧИ

Оценка индивидуального возраста, возраста достижения половой зрелости и других демографических характеристик

При применении метода скелетохронологии обычной задачей является оценка возрастного распределения исследуемой популяции или ее половозрелой части, а также возраста достижения половой зрелости (первого размножения) и максимального возраста.

Кроме того, на основании данных возрастного распределения часто определяют выживаемость и ожидаемую продолжительность жизни, по формулам Робсона и Чапмана (Robson, Charman, 1961, цит. по: Mиаud et al., 1999). При этом далеко не во всех исследованиях проводится проверка на постоянство возрастного распределения, что является необходимым условием получения оценок по этим формулам. Поэтому для оценок погодовой выживаемости также используют построение

таблиц выживания (life tables), причем необходимые для выделения генераций данные по возрастам в исследуемой выборке часто получают с помощью скелетохронологии.

Принято считать, что рост амфибий по завершении метаморфоза и рост молодых рептилий происходит первоначально максимально быстро. Последующее замедление роста связано с достижением половой зрелости, поскольку происходит перераспределение ресурсов, большая часть которых в дальнейшем расходуется на формирование гонад. На основании такого допущения замедление роста, проявляющееся как значительное снижение расстояния между последующими LAGs, интерпретируется как достижение половой зрелости. Поэтому LAG, предшествующую такому замедлению роста, и считают соответствующей возрасту наступления половой зрелости.

Особо следует отметить, что возраст первого размножения далеко не всегда может быть определен только на основании размеров и данных скелетохронологии. В простейшем случае необходима выборка половозрелых особей, собранных в период размножения. Кроме того, дополнительные данные для коррекции оценки этого возраста могут быть получены на основании повторных отловов ранее меченых особей. Например, у бурых лягушек — это вышедшие из одного водоема метаморфы известного года рождения. Это могут быть и немеченые особи, (ре)интродуцированные на ранних стадиях жизненного цикла (икра, головастики или метаморфы) в водоемы местности, где данный вид отсутствует полностью. Так, после реинтродукции кладок икры остромордой лягушки было установлено, что на юге Швеции после первой зимовки становятся половозрелыми и приходят в нерестовые водоемы только немногочисленные самцы (Lardner, Loman, 2009), в то время как самки созревают минимум на год позднее.

Оценка темпов роста

Как уже отмечалось выше, рост амфибий и рептилий характеризуется наиболее высокими темпами до полового созревания, а затем замедляется, более или менее сильно. Но необходимо иметь в виду, что возрастная динамика темпов роста может демонстрировать высокую изменчивость, даже в пределах одной популяции. Так, при исследовании двух популяций травяной лягушки в юго-западной части ареала вида (Augert, Joly, 1993) было выявлено несколько типов «скелетогрaмм», которые различались расстояниями между соседними LAGs (Fig. 3 и 4), а также временем начала замедления роста. Это замедление могло начинаться не только после 2-й и 3-й зимовок, но и в более позднем возрасте, после окончания

5-й зимовки. Поскольку половая зрелость у лягушек в равнинных популяциях востока Франции наступает обычно после 2-й, но не позднее чем после 3-й зимовки, выявленные высокие темпы роста после 4-й и 5-й зимовок не соответствуют ожидаемому замедлению роста, связанному с перераспределением ресурсов на размножение.

Встречаются (хотя и редко) исключения из обычной динамики темпов роста пойкилотермных позвоночных животных по мере взросления. Широко известен случай повторного ускорения роста после достижения половой зрелости в некоторых популяциях арктического гольца, который был описан как часто встречающийся вариант у половозрелых (иногда и у неполовозрелых) особей ручьевой мелкой формы после их переселения в сравнительно крупное озеро и перехода на питание рыбой (Alekseyev et al., 2009; Fig. 4 и 5). Аналогичное ускорение роста, но всегда после достижения половой зрелости (также как часто встречающийся вариант) было выявлено лишь в одной популяции травяной лягушки, населяющей ограниченную территорию дна старого глубокого карьера (Ляпков, 2021; рис. П.30 и П.31 и табл. П.19.). В этом случае ускорение темпов роста, вероятно, также связано с увеличением размеров особей и возможностью расширения размерного спектра объектов питания. Несколько менее выраженная картина ускорения темпов роста была выявлена у *Bufo sachalinensis* (Матушкина и др., 2024, рис. 4 В); в этом случае ускорение может быть связано с исходно очень мелкими размерами метаморфов этого вида и медленным достижением сравнительно крупных размеров, при которых наступает половая зрелость. Кроме отмеченных случаев у амфибий, известны похожие случаи и у рептилий. Так, у морских черепах *Caretta caretta* первые 4–5 LAGs расположены близко друг к другу, но в более позднем возрасте темпы роста заметно повышаются (Snover et al., 2010; Fig.1 и 2), вследствие перехода молоди от пелагического образа жизни в открытом океане к жизни в прибрежной зоне. Интересно, что при исследовании других, географически близких популяций того же вида (у побережья юго-восточных штатов США и Азорских островов) подобной динамики темпов роста не выявлено. Очевидно, что во всех описанных случаях повторное ускорение темпов роста связано с пространственным изменением среды обитания или происходит вследствие такого сильного увеличения размеров, при котором изменяются отношения данной особи со средой. Отметим также, что согласно простейшим геометрическим расчетам (Cullen et al., 2021; Fig. 1, model 1: constant Δ radius), при постоянном приросте радиусов LAGs (что соответствует «скелетограммам» 3, 6 и 9, согласно Augert, Joly, 1993) происходит ускорение темпов

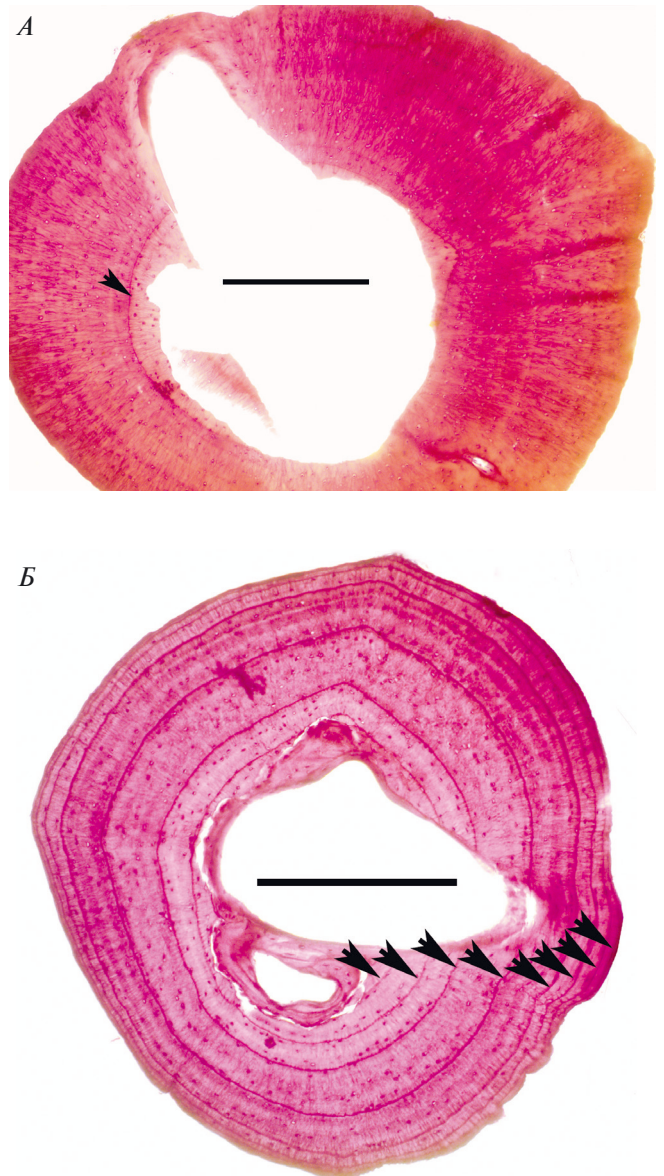


Рис. 2. Примеры быстрого (А) и медленного (Б) роста, оцениваемого по относительному расстоянию между LAGs. Приведены срезы голени остроордых лягушек из популяций: А – Брянского леса, половозрелый самец, длина тела 64 мм, 2 зимовки и Б – Югана, половозрелая самка, длина тела 58 мм, 9 зимовок. Описание популяций – см. Ляпков, 2021. Длина отрезка 1 мм.

увеличения как площади поперечного среза кости между двумя соседними LAGs, так и массы тела. Вместе с тем, такие скелетограммы в двух исследованных авторами популяциях травяной лягушки (Augert, Joly, 1993) встречаются наиболее редко.

Данные скелетохронологии используются также для изучения формирования половых различий по размерам в процессе постметаморфозного

роста у амфибий (обзор см. Ляпков, 2021; Sajade et al., 2013; Zhang, Lu, 2013) и постнатального роста рептилий (обзор см. Cox et al., 2007). Так, при исследовании нескольких популяций остромордой лягушки из различных регионов ее обширного ареала, было показано, что самцы крупнее самок, не только в пределах одного возраста (Ляпков, 2021), но и в пределах каждой из исследованных генераций каждого данного возраста (Ляпков и др., 2007). Поэтому причина более крупных размеров половозрелых самцов этого вида – в выявленных различиях между особями разного пола по темпам роста, но не в различиях в среднем возрасте. В обзоре по другим видам Anura (Zhang, Lu, 2013) было показано, что половые различия по темпам роста демонстрируют высокую степень межвидовой и межвозрастной изменчивости.

Географическая изменчивость темпов роста – еще одна актуальная тема современных исследований. У широкоареальных видов различия между популяциями из местообитаний с длительным и коротким периодом активности в годовом цикле могут обуславливать значительные различия в возрасте при сходных размерах. На рис. 2 показан срез кости голени 2-летнего самца остромордой лягушки из южной популяции, с длительностью сезона активности 7 мес. и срез кости голени 9-летней самки приблизительно такого же размера из северной популяции, с длительностью сезона активности около 3.5 мес. Судя по расположению LAGs, эта самка впервые размножалась в возрасте не менее 4 лет.

Не менее интересно исследование механизмов формирования межпопуляционной изменчивости максимальной продолжительности жизни в пределах данного вида. Согласно литературному обзору скелетохронологических исследований по хвостатым и бесхвостым амфибиям, максимальная продолжительность жизни ряда видов выше в горных популяциях (чем в равнинных), но не в высоких широтах (Zhang, Lu, 2012).

Ретроспективная оценка длины тела

Ретроспективная оценка длины тела основана на предварительном выборе уравнения зависимости длины тела от размеров среза трубчатой кости, с максимальным вкладом в изменчивость модели (согласно выбранному уравнению, и соответственно – минимальной величиной остаточной изменчивости). Далее, используя параметры выбранного уравнения, можно рассчитать неизвестное значение длины тела в данном возрасте по величине LAG, соответствующей данному возрасту (подробнее – Смирин, 1983). Несколько иной подход применили Маруноучи и соавт. (Marunouchi et al., 2000): они сравнивали длину тела *Rana japonica*,

рассчитанную по различным формулам, с реальными данными, полученными при повторном отлове тех же самых особей известного возраста. Согласно их результатам, наиболее сходными с измененными значениями были значения длины тела, рассчитанные по формуле Даля-Леа (Ricker, 1992, цит. по: Marunouchi et al., 2000); формула представляет собой простую пропорцию (подробнее см. Смирин, Ройтберг, 2012). Удобство применения формулы пропорции состоит также в том, что при расчете длины тела никакие параметры уравнения не используются, как это делается при использовании большинства других формул. В свою очередь, эти параметры могут изменяться в зависимости от объема и состава выборки, по которой производится их оценка. Вместе с тем, согласно результатам повторных отловов морских черепах (Snover et al., 2007), аллометрическая модель соотношения между диаметром поперечных срезов плеча и длиной карапакса *Caretta caretta* подходит для ретроспективной оценки длины карапакса лучше, чем линейная.

При этом некоторые авторы считают использование вместо диаметра LAGs площади кольца, ограниченного двумя соседними LAGs, более точным способом ретроспективной оценки длины тела, причем не только у бесхвостых амфибий (Sinsch et al., 2010; Sinsch, 2015), но и у хвостатых (Homan et al., 2003). Однако эти авторы не приводят никаких сравнительных результатов применения двух обсуждаемых методов ретроспективной оценки длины тела, утверждая лишь, что площадь прироста на срезе кости точнее отражает величину прироста, чем диаметр LAGs. Учитывая различие в зависимости длины тела от линейных размеров LAGs и от площади части среза, ограниченной соседними LAGs (Cullen et al., 2021), это утверждение не является очевидным.

Полученные данные по длине тела групп одно-возрастных особей (полученным либо в результате группировки непосредственно измеренных особей известного возраста, либо в результате ретроспективной оценки длины тела) используют затем для оценки параметров уравнения роста, т.е. зависимости длины тела от возраста. Общепринятым считается использование линейной версии уравнения фон Бергаланффи, параметрами которого являются начальная и предельная величины длины тела и коэффициент роста (Мина, Клевезаль, 1976). S-образная кривая, соответствующая этому уравнению, характеризуется двумя перегибами, т.е. первоначальным ускорением роста и его последующим замедлением. Однако, как было показано выше, рост пойкилотермных позвоночных в ряде случаев может вторично ускоряться, что создает принципиально иную картину роста. В качестве

альтернативы, учитывающей такие сильные отклонения, было предложено производить простое сравнение одновозрастных групп особей по размерам (длине тела или весу), а также по приростам за известный интервал времени и скорости таких приростов (Ляпков, 2021).

Другие особенности роста, также создающие сложности при попытке его описания целиком, за весь жизненный цикл, были выявлены у рептилий со сравнительно мелкими размерами при вылуплении и крупными размерами взрослых особей. Так, у сравнительно мелких неполовозрелых *Caretta caretta* форма зависимости длины карапакса от диаметра поперечных срезов плеча отличалась от таковой у взрослых черепах (Snover et al., 2007). Поэтому было предложено проводить ретроспективную оценку длины карапакса отдельно у неполовозрелых и взрослых особей.

ОСНОВНЫЕ ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДИКИ СКЕЛЕТОХРОНОЛОГИИ

Несомненным достоинством методики скелетохронологии является сравнительно малое количество времени, затрачиваемое для получения результатов: любая особь несет в себе регистрирующие структуры истории своего роста, и задача исследователя лишь в том, чтобы сделать эти структуры читабельными. В этом состоит принципиальное отличие от использования методики мечения и повторных отловов; дополнительное преимущество скелетохронологии возникает в том случае, когда мечение само по себе нарушает дальнейший нормальный рост.

Методика позволяет оценивать возраст прижизненно, благодаря возможности изготавливать срезы из фаланг пальцев. Считается, что невозможно получить материал прижизненно только у змей и черепах. Поскольку у черепах невозможно взять прижизненно фаланги пальцев, обычно используют плечевую кость. У змей обычно используют позвонки или кости черепа (нижней челюсти). Исследование на веретенице (Кидов и др., 2023) показало возможность прижизненно использовать позвонки хвоста, в которых число LAGs такое же, как в нижней челюсти. Здесь же следует отметить, что у безногих амфибий для изготовления срезов использовали только туловищные позвонки, что исключало возможность прижизненного определения возраста (Measey et al., 1998).

В отличие от методики мечения и повторных отловов, можно использовать погибших особей и экземпляры из музейных коллекций; взятие коротких дистальных фаланг пальцев обеспечивает минимальное повреждение ценным экземплярам (Roček et al., 2016).

Кроме данных по индивидуальному возрасту, методика позволяет получить дополнительную разнообразную ценную информацию (подробнее – см. выше, раздел «Основные задачи»).

Благодаря наличию ростовых слоев и LAGs у тропических и субтропических видов (Kumbar, Pancharatna, 2001; Tessa et al., 2017 – Мадагаскар, 12 видов бесхвостых амфибий), методика может быть использована не только для видов умеренной зоны. В качестве главной причины формирования LAGs принято считать сезонность климата (Brum et al., 2019). Не исключены также внутренние, наследственные механизмы, поскольку ростовые слои могут формироваться и в стабильных условиях эксперимента (Marangoni et al., 2009).

У долгоживущих личинок хвостатых амфибий, проходящих несколько зимовок до метаморфоза, также формируются ростовые слои и LAGs (Смирин и др., 1994; Khonsue, Matsui, 2001).

Также особо следует отметить, что данные, полученные в результате ретроспективной оценки размеров, дают возможность увеличить объем выборки в каждом из выявленных возрастов. Другими словами, каждая особь в этом случае представлена не одной парой переменных (длина тела при поимке и возраст при поимке), а дополнительно данными по рассчитанной длине тела в каждом из возрастов. Кроме того, если особь поймана не непосредственно перед уходом в зимовку (или сразу после выхода с зимовки), то расчетное значение длины тела, соответствующее ее последней зимовке, является более точной оценкой, поскольку ее длина тела при поимке определяется также приростом за период от выхода с зимовки до момента поимки.

Особенно наглядно преимущества скелетохронологии проявляются при сравнении с другими методиками. Так, в исследованиях рептилий (Szekely et al., 2024, всего в обзоре проанализировано 387 публикаций) скелетохронология используется в 80% случаев, т.е. намного чаще других методик (97 публикаций, 20% случаев). Отдельно по группам преимущество скелетохронологии выглядит не столь очевидно. Так, при изучении ящериц этот метод использовали в 48% случаев, другие методы – в 52%; при изучении змей, соответственно, 100% и 0%; черепах 68% и 32%.

РЕГИСТРИРУЮЩИЕ СТРУКТУРЫ, ОТЛИЧАЮЩИЕСЯ ОТ РОСТОВЫХ СЛОЕВ И LAGS КОСТЕЙ

Кроме ростовых слоев и LAGs костей, регистрирующими структурами обладают и многие другие ткани и органы. Наиболее известные из них и часто используемые – хорошо заметные

ростовые слои в роговых щитках панциря черепах. Но прежде следует отметить, что соответствие возрасту особей количества LAGs на срезах лопатки, подвздошной, плечевой и бедренной костей было доказано впервые сравнительно недавно, с помощью изучения индивидуально меченых *Gopherus agassizii* (Curtin et al., 2008). Для немногих видов черепах (*Caretta caretta*, *Lepidochelys kempii* и *Chelonia mydas*) было также исследовано отложение тетрациклиновой метки в плечевой кости (Snover et al., 2011), и было доказано, что каждый ростовой слой со своей LAG откладывается раз в год. У черепах дополнительные регистрирующие структуры изучены наиболее детально. Рассмотрим некоторые особенности использования этих структур.

1. Слои в роговых щитках панциря черепах можно использовать и для определения возраста, и для ретроспективной оценки размеров тела (обзор см. Wilson et al., 2003; Rodriguez-Caro et al., 2015).

2. Однако точно не установлено, в каких случаях можно использовать (вместо LAGs) результаты измерения границ годовых слоев в щитках, поскольку в одних исследованиях число таких слоев соответствовало возрасту (который определяли методом индивидуального мечения или фотографирования карапакса и повторных отловов), а в других случаях — не соответствовало. Так, с помощью мечения и повторных отловов в нескольких точках на юго-востоке Испании было установлено, что у 57% особей *Testudo graeca* число ростовых слоев на щитках карапакса соответствует числу лет. У остальных 43% особей чаще встречались случаи заниженной оценки возраста по числу ростовых слоев (Rodriguez-Caro et al., 2015). В других исследованиях, в случае выявленного несоответствия, оценка возраста по слоям в роговых щитках чаще была завышенной, по причине остановки роста, не связанного с зимовкой, и появления дополнительных ростовых слоев. Вместе с тем, у достигших половой зрелости и сравнительно старых особей могут сливаться и становиться неразличимыми как LAGs в костях, так и крайние ростовые слои в щитках. Кроме того, края щитков могут становиться истертыми, и все это ведет к занижению оценки возраста по щиткам (Bertolero et al., 2005; Attum et al., 2011). Это еще одна причина предпочтительного применения ретроспективной оценки размеров отдельно к выборкам сравнительно молодых особей. Так, у пятнистой черепахи (*Clemmys guttata*) не выявлена корреляция между числом ростовых слоев в щитках пластрона и промежутком времени между двумя отловами (Howell, Seigel, 2018). Согласно результатам литературного обзора (Wilson et al., 2003), авторы всего 8 исследований (из 49) сделали вывод о невозможности использования подсчета годовых слоев в щитках для определения возраста.

3. При изучении черепах иногда использовали только скелетохронологию, т.е. изготовление срезов трубчатых костей (плеча или фаланг пальцев) и измерение LAGs (Yamoudi et al., 2019). Однако, публикаций, в которых сравнивали количество ростовых слоев в щитках и количество LAGs в трубчатых костях, крайне мало, а их результаты неоднозначны. Так, у молодых особей и самок китайской коробчатой черепахи (*Cuora flavomarginata*) количество LAGs на срезах плеча (с поправкой на резорбцию внутренних LAGs, близких к костномозговой полости) всегда меньше количества ростовых слоев в щитках, в то время как у взрослых самцов это различие недостоверно (Sun, Wu, 2020). У черепахи *Gopherus polyphemus* корреляция числа LAGs с числом ростовых слоев в щитках, а также с длиной карапакса и пластрона была сильной положительной (Ehret, 2007). При этом лучшая сохранность большинства LAGs наблюдалась в плечевой и бедренных костях, а наибольшему вторичному ремоделингу, сопровождающемуся утратой многих LAGs, были подвержены позвонки. Исследование *Testudo graeca* на юго-востоке Румынии (Vlad et al., 2024), также выявило положительную корреляцию числа LAGs с числом ростовых слоев в щитках. Однако у наиболее старых особей заниженными были оценки возраста и по числу ростовых слоев в больших трубчатых костях (максимум 28 лет), и по слоям в роговых щитках (30 лет), в отличие от результатов мечения и повторных отловов (40 лет).

Гораздо реже чем роговые панцири для определения возраста использовали склеральные косточки. У морских черепах *Dermochelys coriacea* число годовых слоев в этих косточках совпадает с числом LAGs в фалангах пальцев (Avens et al., 2009).

Ещё один «неклассический» подход — это зигапофизная скелетохронология, т.е. подсчёт годичных ростовых меток, формирующихся на поверхности сочленовных отростков позвонков. Подробное описание этого метода дано на примере определения возраста по позвонкам базального мозазаврида (Григорьев и др., 2002). Несмотря на преимущественное использование этого метода для оценки возраста и скорости роста вымерших форм (Григорьев и др., 2002; Skutschas et al., 2020), есть примеры его использования и для современных видов. Вероятно, впервые метод был применен для изучения пригодности оценок возраста у 6 видов современных змей (Petermann, Gauthier, 2018), причем, кроме дополнительных данных по известному возрасту животного, использовали также оценки возраста на основе окрашенных срезов ребер и тел позвонков. Было также показано, что у сибирского углозуба количество линий на поверхности зигапофизов совпадает с числом соответствующих линий на срезах зигапофизов

(Skutschas et al., 2020). Кроме того, годовые годовые метки есть на сочленовных поверхностях зигапофизов жаб, амбистом, варанов, питонов и крокодилов (Skutschas et al., 2020). Очевидно, этот метод имеет хорошие перспективы и применительно к современным животным.

Существуют и другие, сравнительно редко используемые регистрирующие структуры. Так, по характеру окраски брюха и форме гребня можно различить неполовозрелых и половозрелых самцов гребенчатых тритонов (*Triturus cristatus*), дискретно не различающихся по длине тела (Hinneberg et al., 2020).

В акродонтных зубах (молярах и премолярах) агамы *Laudakia stoliczka* были выявлены годовые слои и LAGs (Smirina, Ananjeva, 2007), число которых было таким же, как в LAGs в трубчатых костях (с поправкой на резорбцию двух внутренних LAGs). Однако, по мнению авторов, LAGs в зубах были существенно менее четкие и поэтому они не годятся для определения возраста.

Наружная роговая часть когтя нескольких видов скальных ящериц рода *Darevskia* характеризуется слоистой структурой (Galoyan et al., 2024), причем количество слоев совпадает с количеством LAGs в фалангах пальцев, которые несут эти когти.

«СКЕЛЕТОХРОНОЛОГИЯ VS МЕЧЕНИЕ И ПОВТОРНЫЕ ОТЛОВЫ»

В некоторых работах и обзорах приведены результаты сравнения двух основных подходов к оценкам возраста у особей одних и тех же популяций и указано, насколько часто эти оценки не совпадают. В некоторых случаях такие несовпадения имели вполне очевидные причины. Так, при повторных отловах впервые пришедших в нерестовый водоем 3-летних камышовых жаб одной популяции, ранее меченных по завершении метаморфоза, были обнаружены всего две особи с одной или двумя дополнительными LAGs (Tejedo et al., 1997). Сильное несовпадение реального и определенного с помощью скелетохронологии возраста, выявленное при исследовании популяции *Ambystoma tigrinum nebulosum* (Eden et al., 2007), очевидно, следует рассматривать как редкий и наиболее сильно уклоняющийся случай. По мнению авторов, такое сильное несовпадение вызвано высоким темпом резорбции костномозговой полости и частыми перестройками структуры кости фаланг. Известно также, что в пиренейских популяциях *Salamandra salamandra* могут резорбироваться LAGs, соответствующие не только 1-й и 2-й, но и 3-й зимовке (Alcobendas, Castanet, 2000). Обзор сравнительных данных по безлегочным саламандрам (Staub, 2016) показал, что для каждого из рассмотренных видов, оценки максимального возраста методом

скелетохронологии (максимум 15 лет у *Desmognathus quadramaculatus*) и с помощью мечения и повторных отловов не сильно различались, хотя значения первых были всегда несколько ниже. Вместе с тем прямые наблюдения и измерения особей, содержащихся в неволе, дают более высокие оценки максимального возраста, что, очевидно, связано со сравнительно благоприятными условиями и отсутствием многих причин гибели в естественных условиях. Максимальное различие выявлено для *Phaeognathus hubrichti*: 11 и 36 лет соответственно. Для сравнения: у остальных хвостатых амфибий (не плетодонтид) максимальный возраст, выявленный скелетохронологией, составил 32 года (у *Ambystoma maculatum* — Flageole, Leclair, 1992). При этом у некоторых безлегочных саламандр, например у *Gyrinophilus porphyriticus* (Bruce, Castanet, 2006), LAGs плохо различимы, что, по мнению авторов, происходит прежде всего из-за отсутствия выраженной сезонности в местообитаниях этого вида, населяющего подземные пустоты по берегам ручьев и небольших рек.

Согласно обзору Ульриха Зинша (Sinsch, 2015), доля особей с правильно определенным возрастом составила 86% (от 29 до 100%), но только при условии, что известный заранее возраст у бесхвостых и хвостатых амфибий был не более 7 лет. При увеличении известного возраста до 13 лет доля таких особей снижается вплоть до нуля.

Начиная с публикаций Зинша (Sinsch, 2015), а также Клевезаль и Смириной (2016) за последние годы появилось еще несколько обзоров по методикам и результатам определения возраста у амфибий и рептилий. Согласно данным, приводимым авторами этих обзоров, степень изученности различных групп остается низкой: 3.3% видов у амфибий (Peng et al., 2022) и всего около 2% видов у рептилий (Szekely et al., 2024). Вместе с тем, такой, на первый взгляд несколько формализованный подход к оценке степени охвата методикой скелетохронологии, в целом полезен, поскольку дает представление об уровне изученности различных семейств, континентов или стран. Особую ценность представляют собой опубликованные (в качестве приложений) базы первичных данных, использованных в этих работах (Peng et al., 2022; Zhang et al., 2024; Szekely et al., 2024). К сожалению, в таких базах данных отсутствуют многие русскоязычные публикации. В целом, от более ранних к более поздним обзорам наблюдается тенденция появления все большего числа доводов в пользу оптимальности метода скелетохронологии, в сравнении с другими методиками определения индивидуального возраста.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение следует рассмотреть основные проблемы, которые все еще не решены в рамках использования методики и ее теоретической основы. Несмотря на наличие LAGs у зимующих личинок хвостатых амфибий, не обнаружено таковых у личинок бесхвостых. Такое отсутствие LAGs известно у зимующих головастиков двух видов: *Lithobates catesbeianus* (Khonsue, Matsui, 2001) и *Grandirana rugosa* (Khonsue et al., 2001). В редких случаях LAGs могут отсутствовать и у взрослых особей (хотя бы у части) видов из местообитаний с жарким климатом, например у *Rana saharica* (Esteban et al., 1999): LAGs не были найдены ни у сеголеток, ни у взрослых особей, и такие случаи пока не объяснимы.

Неясным остается также то, насколько сильно различаются относительные размеры LAGs, соответствующих одним и тем же зимовкам, в различных трубчатых костях одних и тех же особей. И соответственно — насколько будут различаться результаты ретроспективных оценок длины тела при использовании промеров LAGs различных костей одной и той же особи.

Некоторые более общие проблемы, связанные с формированием ростовых слоев и LAGs, рассмотрены в статье Скучаса и Колчанова (2024).

Перспективные направления дальнейших исследований. Согласно нашим представлениям, это, во-первых, микрокомпьютерная томография с помощью синхротрона (phase contrast X-ray synchrotron microtomography, PPC-SR μ CT). Ранее было показано, что число и форма LAGs на срезах плечевой кости *Desmognathus* точно соответствует картине, полученной с помощью микрокомпьютерной томографии той же кости (Sanchez et al., 2012, Fig. 3). Однако, насколько можно судить по литературе, кроме данных авторов по этому одному виду, микрокомпьютерную томографию не применяли для визуализации LAGs и исследования других видов современных амфибий и рептилий (обзор см. Matthews, Plessis, 2016).

Во-вторых, очевидна необходимость одновременного исследования вместе с ростом (т.е. с изучением LAGs) и других характеристик (аспектов) жизненного цикла, прежде всего — репродуктивных характеристик (обзор см. Ляпков, 2021), а также выживаемости на различных стадиях постметаморфозного периода.

В итоге, скелетохронологию, несмотря на все недостатки, следует считать наиболее эффективной методикой, позволяющей не только определять индивидуальный возраст амфибий и рептилий, но и производить ретроспективную оценку размеров животных и особенностей их роста, а также получать необходимые данные для многих других аспектов демографии и популяционной экологии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Особая благодарность Э.М. Смириной, которая 46 лет назад помогла мне освоить основы метода скелетохронологии и любезно консультировала меня все эти годы. Я благодарен Е.С. Ройтбергу и Д.А. Шабанову за содержательное обсуждение с ними разнообразных аспектов применения методики скелетохронологии. Благодарю также анонимного рецензента и П.П. Скучаса (Санкт-Петербургский государственный университет) за ценные замечания.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках госзадания 04-1-21 № 121031600198-2.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных, соответствующих критериям Директивы 2010/63/EU.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Григорьев Д.В., Архангельский М.С., Колчанов В.В., Буланов В.В., Сенников А.Г., Голубев В.К., Скучас П.П., 2002. Применение зигапофизной скелетохронологии для определения индивидуального возраста базального мозазаврида (Squamata, Mosasauridae) из кампана Саратовской области // Палеонтологический журнал. № 4. С. 87–94.
- Кидов А.А., Иванов А.А., Иволга Р.А., Кондратова Т.Э., Кидова Е.А., 2023. Возрастная структура популяции восточной веретеницы — *Anguis colchica orientalis* (Reptilia, Anguinae) в Талышских горах // Поволжский экологический журнал. № 3. С. 374–382.
- Кидов А.А., Кондратова Т.Э., Иволга Р.А., Ляпков С.М., 2023а. Возрастная структура, рост и размножение полосатого гологлаза (*Ablepharus bivittatus*, Reptilia, Scincidae) в Талышских горах (провинция Ардебиль, Иран) // Зоологический журнал. Т. 102. Вып. 6. С. 681–687.
- 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. Вып. 7. С. 1090–1094.
- Корнилова М.Б., Савельев С.В., Северцов А.С., 1996. Ускоренный метод определения возраста

- бесхвостых амфибий по шлифам фаланг // Зоологический журнал. Т. 75. Вып. 10. С. 1581–1585.
- Ляпков С. М., 2021. Популяционная экология остромордой и травяной лягушек. Географическая изменчивость возрастного состава, постметаморфозного роста, размеров и репродуктивных характеристик. Москва: Товарищество научных изданий КМК. 224 с. ISBN 978-5-907533-10-3.
- Ляпков С. М., Черданцев В. Г., Черданцева Е. М., 2007. Половые различия темпов роста и выживаемости у остромордой лягушки (*Rana arvalis*) после завершения метаморфоза // Зоологический журнал. Т. 86. Вып. 4. С. 475–491.
- Матушкина К. А., Степанкова И. В., Африн К. А., 2024. Возрастная структура и половой диморфизм дальневосточной жабы, *Bufo sachalinensis* Nikolsky, 1905 на территории Уссурийского заповедника // Амурский зоологический журнал. Т. 16. № 1. С. 69–83.
- Мина М. В., Клевезаль Г. А., 1970. Принципы исследования регистрирующих структур // Успехи современной биологии. Т. 70. № 3. С. 341–352.
- Мина М. В., Клевезаль Г. А., 1976. Рост животных. Москва: Наука. 291 с.
- Румянцев А. В., 1958. Опыт исследования эволюции хрящевой и костной тканей. Москва: Изд-во АН СССР. 375 с.
- Скучас П. П., Колчанов В. В., 2024. Определение индивидуального возраста и онтогенетических стадий ископаемых тетрапод палеогистологическими методами // Зоологический журнал. Т. 103. Вып. 6. С. 15–30.
- Смирина Э. М., 1972. Годовые слои в костях травяной лягушки (*Rana temporaria*) // Зоологический журнал. Т. 51. Вып. 10. С. 1529–1534.
- Смирина Э. М., 1983. Прижизненное определение возраста и ретроспективная оценка размеров тела серой жабы (*Bufo bufo*) // Зоологический журнал. Т. 62. Вып. 3. С. 437–444.
- Смирина Э. М., Ройтберг Е. С., 2012. Развитие исследований роста рептилий в направлениях, определенных А. М. Сергеевым // Зоологический журнал. Т. 91. Вып. 11. С. 1291–1291.
- Смирина Э. М., Сербинова И. А., Макаров А. Н., 1994. Сложные случаи определения возраста амфибий по годовым слоям в кости (на примере уссурийского безлегочного тритона *Onychodactylus fischeri* (Amphibia, Hynobiidae)) // Зоологический журнал. Т. 73. Вып. 10. С. 72–81.
- Alcobendas M., Castanet J., 2000. Bone growth plasticity among populations of *Salamandra salamandra*: interactions between internal and external factors // Herpetologica. V. 56. № 1. P. 14–26.
- Alekseyev S. S., Mina M. V., Smirina E. M., Sokolov A. A., 2009. Late ontogeny growth acceleration and size form transformations in Transbaikalian Arctic charr, *Salvelinus alpinus* complex: evidence from fin ray cross section growth layers // Environmental Biology of Fishes. V. 86. P. 487–505.
- Attum O., Rabea B., Duffy K., El Din B. M., 2011. Testing the reliability of ring counts for age determination in the Egyptian tortoise (*Testudo kleinmanni*) // Herpetological Journal. V. 21. № 3. P. 209–211.
- Augert D., Joly P., 1993. Plasticity of age at maturity between two neighbouring populations of the common frog (*Rana temporaria* L.) // Canadian Journal of Zoology. T. 71. № 1. C. 26–33.
- Avens L., Taylor J. C., Goshe L. R., Jones T. T., Hastings M., 2009. Use of skeletochronological analysis to estimate the age of leatherback sea turtles *Dermochelys coriacea* in the western North Atlantic // Endangered Species Research. V. 8. P. 165–177.
- Bertolero A., Carretero M., Llorente G., 2005. An assessment of the reliability of growth rings counts for age determination in the Hermann's Tortoise *Testudo hermanni* // Amphibia-Reptilia. V. 26. № 1. P. 17–23.
- Bruce R. C., Castanet J., 2006. Application of skeletochronology in aging larvae of the salamanders *Gyrinophilus porphyriticus* and *Pseudotriton ruber* // Journal of Herpetology. V. 40. № 1. C. 85–90.
- Brum A. J., Loebens L., Santos M. B., Cechin S. Z., 2019. First record of growth rings for 11 native subtropical anuran species of South America // Anais da Academia Brasileira de Ciencias. V. 91. № 4. P. e20190154.
- Bovero S., Utzeri C., Angelini C., 2006. Aging *Salamandrina perspicillata* (Savi, 1821) by skeletochronology // Acta Herpetologica. V. 1. № 2. P. 153–158.
- Cajade R., Marangoni F., Gangenova E., 2013. Age, body size and growth pattern of *Argenteohyla siemersi pedersenii* (Anura: Hylidae) in northeastern Argentina // Journal of Natural History. V. 47. № 3–4. P. 237–251.
- Comas M., Reguera S., Zamora-Camacho F. J., Salvado H., Moreno-Rueda G., 2016. Comparison of the effectiveness of phalanges vs. humeri and femurs to estimate lizard age with skeletochronology // Animal Biodiversity and Conservation. V. 39. № 2. P. 237–240.
- Cox R. M., Butler M. A., John-Alder H. B., Fairbairn D. J., 2007. The evolution of sexual size dimorphism in reptiles // Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism. V. 5. P. 38–49.
- 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 // Biology Letters. V. 17. № 11. P. 20210383.
- Curtin A. J., Zug G. R., Medica P. A., Spotila J. R., 2008. Assessing age in the desert tortoise *Gopherus agassizii*: testing skeletochronology with individuals of known age // Endangered Species Research. V. 5. № 1. P. 21–27.

- Eden C.S., Whiteman H.H., Duobinis-Gray L., Wissing-er S.A., 2007. Accuracy assessment of skeletochronology in the Arizona tiger salamander (*Ambystoma tigrinum nebulosum*) // *Copeia*. № 2. P. 471–477.
- Ehret D.J., 2007. Skeletochronology: a method for determining the individual age and growth of modern and fossil tortoises (Reptilia: Testudines) // *Bull. Florida Museum Nat. Hist.* V. 47. № 2. P. 49–72.
- Esteban M., García-París M., Buckley D., Castanet J., 1999. Bone growth and age in *Rana saharica*, a water frog living in a desert environment // *Ann. Zool. Fennici*. V. 36. P. 53–62.
- Flageole S., Leclair R., Jr., 1992. Etude démographique d'une population de salamandres (*Ambystoma maculatum*) al'aide de la methode squeletochronologique // *Can. J. Zool.* V. 70. P. 740–749.
- Galoyan E., Sopilko N., Kovalyeva A., Chamkina A., 2024. Double-check in lizard age estimation: Use of phalanx bone and keratin claw sheath lamellas // *Asian Herpetol. Res.* V. 15. № 1. 22
DOI: 10.3724/ahr.2095-0357.2023.0027
- Ginnan N.A., Lawrence J.R., Russell M.E., Eggett D.L., Hatch K.A., 2014. Toe clipping does not affect the survival of leopard frogs (*Rana pipiens*) // *Copeia*. V. 2014. № 4. P. 650–653.
- Hasumi M., Watanabe Y.G., 2007. An efficient method for skeletochronology // *Herpetological Review*. V. 38. № 4. P. 404.
- Hemelaar A.S.M., 1985. An improved method to estimate the number of year rings resorbed in phalanges of *Bufo bufo* (L.) and its application to populations from different latitudes and altitudes // *Amphibia-Reptilia*. V. 6. P. 323–341.
- Hinneberg H., Riedel E., Foerster K., Kupfer A., 2020. Interrelation of colouration and morphological traits in Northern Crested Newts (*Triturus cristatus*): towards a non-invasive tool for age determination // *Salamandra*. V. 56. № 1. P. 57–65.
- Homan R.N., Reed J.M., Windmiller B.S., 2003. Analysis of spotted salamander (*Ambystoma maculatum*) growth rates based on long-bone growth rings // *Journal of Herpetology*. V. 37. № 3. P. 617–621.
- Howell H.J., Seigel R.A., 2018. An examination of the accuracy of using plastral scute rings to age Spotted Turtles (*Clemmys guttata*) // *Chelonian Conservation and Biology*. T. 17. № 1. P. 104–108.
- 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.
- Khonsue W., Matsui M., Misawa Y., 2001. Age determination of wrinkled frog, *Rana rugosa* with special reference to high variation in postmetamorphic body size (Amphibia: Ranidae) // *Zoological Science*. V. 18. P. 605–612.
- Kumbar S.M., Pancharatna K., 2001. Determination of age, longevity and age at reproduction of the frog *Microhyala ornata* by skeletochronology // *Journal of bio-sciences*. V. 26. № 2. P. 265–270.
- Lardner B., Loman J., 2009. Does landscape and habitat limit the frogs *Rana arvalis* and *Rana temporaria* in agricultural landscapes? A field experiment // *Applied Herpetology*. V. 6. № 3. P. 227–236.
- Lyapkov S.M., Kondratova T.E., Ivolska R.A., Kidova E.A., Kidov A.A., 2021. Growth layers and its complex structure in a common species under uncommon conditions: *Pelophylax ridibundus* in the Talysh Mountains // *Russian Journal of Herpetology*. V. 28. № 5. P. 242–248.
- Ma M., Luo S., Tang X., Chen Q., 2022. Age structure and growth pattern of a high-altitude lizard population based on age determination by skeletochronology // *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*. V. 337. № 5. P. 491–500.
- Marangoni F., Schaefer E., Cajade R., Tejedo M., 2009. Growth-mark formation and chronology of two neotropical anuran species // *Journal of Herpetology*. 43(3). P. 546–550.
- Marnell F., 1997. The use of phalanges for age determination in the smooth newt, *Triturus vulgaris* L. // *Herpetological Journal*. V. 7. № 1. P. 28–30.
- Marunouchi J., Kusano T., Ueda H., 2000. Validity of back-calculation methods of body size from phalangeal bones: an assessment using data for *Rana japonica* // *Current Herpetology*. V. 19. P. 81–89.
- Matthews T., Plessis A., 2016. Using X-ray computed tomography analysis tools to compare the skeletal element morphology of fossil and modern frog (Anura) species // *Palaeontologia Electronica*. 19.1.1T P. 1–46.
- Measey G.J., Wilkinson M., 1998. Lines of arrested growth in the caecilian, *Typhlonectes natans* (Amphibia: Gymnophiona) // *Amphibia-Reptilia*. V. 19. № 1. C. 91–95.
- Miaud C., Guyétant R., Elmerberg J., 1999. Variations in life history traits in the common frog *Rana temporaria* (Amphibia: Anura): a literature review and new data from the French Alps // *Journal of Zoology*. V. 249. P. 61–73.
- Peng Z., Zhang L., Lu X., 2022. Global gaps in age data based on skeletochronology for amphibians // *Integrative Zoology*. V. 17. № 5. P. 752–763.
- Petermann H., Gauthier J.A., 2018. Fingerprinting snakes: paleontological and paleoecological implications of zygantral growth rings in Serpentes // *Peer J*. V. 6. P. e4819.
DOI 10.7717/peerj.4819
- Plytycz B., Bigaj J., 1993. Studies on the growth and longevity of the yellow-bellied toad, *Bombina variegata*, in natural environments // *Amphibia-Reptilia*. V. 14. P. 35–44.

- Quiroga L.B., Sanabria E.A., Marangoni F.*, 2015. Sexual size dimorphism and age in *Odontophrynus cf. barrioi* (Anura: Odontophrynidae) from the Monte Desert, Argentina // *Journal of Herpetology*. V. 49. P. 627–632.
- Rajmira H.*, 2022. Efektivitas tulang falang, femur, dan tibia kodok sawah *Fejervarya cancrivora* Gravenhorst, 1829 untuk skeletokronologi: PHD. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. 62 p.
- Roček Z., Baleeva N., Vazeille A., Bravin A., van Dijk E., Nemoz C., Prikryl T., Smirina E.M., Boistel R., Claesens L.*, 2016. Contribution to the head anatomy of the basal frog *Barbourula busuangensis* and the evolution of the Anura // *Russian Journal of Herpetology*. V. 23. № 3. P. 163–194.
- Rodriguez-Caro R., Gracia E., Dos Santos R.M., Anderson J.D., Gimenez A.*, 2015. One scute ring per year in *Testudo graeca*? A novel method to identify ring deposition patterns in tortoises // *Acta Herpetologica*. V. 10. № 2. P. 77–84.
- Rozenblut B., Ogielska M.*, 2005. Development and growth of long bones in European water frogs (Anura: Ranidae), with remarks on age determination // *Journal of Morphology*. V. 265. P. 304–317.
- Sahoo D.D., Kara T.C.*, 2017. Determination Of Age, Longevity And Age At Sexual Maturity In Common Asian Toad, (*Duttaphrynus melanostictus*) By Skeletochronology // *Octa Journal of Biosciences*. V. 5. № 1. P. 5–8.
- Sanchez S., Ahlberg P.E., Trinajstić K.M., Mirone A., Taf-foreau P.*, 2012. Three-dimensional synchrotron virtual paleohistology: a new insight into the world of fossil bone microstructures // *Microscopy and Microanalysis*. V. 18. № 5. P. 1095–1105.
- Schucht P.J., Klein N., Lambertz M.*, 2021. What's my age again? On the ambiguity of histology-based skeletochronology // *Proceedings of the Royal Society B.V.* 288. № 1955. P. 20211166.
- Sinsch U.*, 2015. Skeletochronological assessment of demographic life-history traits in amphibians // *The Herpetological Journal*. V. 25. № 1. P. 5–13.
- Sinsch U., Martino A., di Tada I.*, 2002. Longevity and sexual size dimorphism of the Pampa de Achala copper lizard *Pristidactylus achalensis* (Gallardo, 1964) // *Amphibia-Reptilia*. V. 23. № 2. P. 177–190.
- Sinsch U., Marangoni F., Oromi N., Leskovar C., Sanuy D., Tejedo M.*, 2010. Proximate mechanisms determining size variability in natterjack toads // *Journal of Zoology*. V. 281. № 4. P. 272–281.
- Skutschas P.P., Kolchanov V.V., Bulanov V.V., Sennikov A.G., Boitsova E.A., Golubev V.K., Syromyatnikova E.V.*, 2020. Reconstruction of the life history traits in the giant salamander *Aviturus exsecratus* (Caudata, Cryptobranchidae) from the Paleocene of Mongolia using zygopophyseal skeletochronology // *Historical Biology*. V. 32. № 5. P. 645–648.
- Smirina E.M., Ananjeva N.B.*, 2007. Growth layers in the bones and acrodont teeth of the agamid lizard *Laudakia stoliczkana* (Blanford, 1875) (Agamidae, Sauria) // *Amphibia-Reptilia*. V. 28. P. 193–204.
- 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. № 1. P. 95–104.
- Snover M.L., Hohn A.A., Crowder L.B., Macko S.A.*, 2010. Combining stable isotopes and skeletal growth marks to detect habitat shifts in juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta* // *Endangered Species Research*. V. 13. № 1. P. 25–31.
- 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 // *Aquatic Biology*. V. 12. P. 197–204.
- Staub N.L.*, 2016. The age of plethodontid salamanders: a short review on longevity // *Copeia*. V. 104. № 1. P. 118–123.
- Sun Y.Y., Wu S.H.*, 2020. Age estimates of the yellow-margined box turtles (*Cuora flavomarginata*) based on post-mortem examination of confiscated individuals // *台灣生物多樣性研究*. V. 22. № 3. P. 177–196.
- Szekely D., Stanescu F., Szekely P., Telea A.E., Cogalniceanu D.*, 2024. A review of age estimation methods in non-avian reptiles by growth marks in hard tissues // *Integrative Zoology*. First published: 22 January 2024 <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12808>
- Tejedo M., Reques R., Esteban M.*, 1997. Actual and osteochronological estimated age of natterjack toads (*Bufo calamita*) // *Herpetological Journal*. V. 7. № 2. P. 81–82.
- Tessa G., Crottini A., Giacoma C., Guarino F.M., Randriani-rina J.E.*, 2017. Comparative longevity and age at sexual maturity in twelve rainforest frogs of the genera *Boophis*, *Gephyromantis*, and *Mantidactylus* (Anura: Mantellidae) from Madagascar // *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*. V. 16. № 1. P. 13–21.
- 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.
- Wilson D.S., Tracy C.R., Tracy C.R.*, 2003. Estimating age of turtles from growth rings: a critical evaluation of the technique // *Herpetologica*. V. 59. № 2. P. 178–194.
- Yamoudi S., Kami H.G., Mohhamadi Z.*, 2019. A skeletochronological study of age in the Persian pond turtle (*Emys orbicularis persica*) from the north of Iran // *Journal of Wildlife and Biodiversity*. V. 3. № 4. P. 36–44.
- Vlad S.E., Stanescu F., Cogalniceanu D.*, 2024. Age estimation in tortoises: an evaluation of methods for the spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) // *Amphibia-Reptilia*. V. 45. № 3. P. 265–277. DOI: <https://doi.org/10.1163/15685381-bja10182>
- Zamora-Camacho F.J., Comas M., Pascual G., Moreno-Rueda G.*, 2023. The Effect of Toe-Clipping on

- Locomotor Performance and Return Rates in a Frog // *South American Journal of Herpetology*. V. 28. № 1. P. 38–46.
- Zhang Y., Bi J., Ning Y., Feng J., 2024. Methodology Advances in Vertebrate Age Estimation // *Animals*. V. 14. № 2. P. 343.
- Zhang L., Lu X., 2012. Amphibians live longer at higher altitudes but not at higher latitudes // *Biological Journal of the Linnean Society*. V. 106. P. 623–632.
- Zhang L., Lu X., 2013. Sexual size dimorphism in anurans: ontogenetic determination revealed by an across-species comparison // *Evolutionary Biology*. V. 40. P. 84–91.

SKELETOCHRONOLOGY OF AMPHIBIANS AND REPTILES: FUNDAMENTALS OF METHODOLOGY, VARIETY OF PROBLEMS AND PROSPECTS

S. M. Lyapkov*

Biological Faculty, Moscow Lomonosov State University, Moscow, 119234 Russia

**e-mail: lyapkov@mail.ru*

Skeletochronology, a method for determining individual age in poikilothermic animals with annual cyclic growth, has become widespread due to its reliability, the ability to determine the age of living animals, and the ability to retrospectively estimate body size from the size of annual growth marks. The purpose of the review is to give an idea of the practical features of the use of skeletochronology and of the various applied and general theoretical problems that arise on the basis of the age data obtained. The formation of recording structures (growth layers and lines of arrested growth) in long bones, other recording structures, the main problems solved based on the results of applying the method, the main advantages and limitations of the technique are considered.

Keywords: tubular bones, methods of section cut, age determination, lines of arrested growth, rate of individual growth