

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GEOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOCIÊNCIAS

RENAN ALFREDO MACHADO BANTIM

REVELANDO A CONFORMAÇÃO MICROESTRUTURAL DE OSSOS DE
PTERODACTYLOIDES (ARCHOSAURIA, REPTILIA) DO CRETÁCIO INFERIOR DO
BRASIL E DA CHINA COMO PROXY PARA O ENTENDIMENTO DO
DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE PTEROSSAUROS

RECIFE

2017

RENAN ALFREDO MACHADO BANTIM

REVELANDO A CONFORMAÇÃO MICROESTRUTURAL DE OSSOS DE
PTERODACTYLOIDES (ARCHOSAURIA, REPTILIA) DO CRETÁCEO INFERIOR DO
BRASIL E DA CHINA COMO PROXY PARA O ENTENDIMENTO DO
DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE PTEROSSAUROS

Tese submetida ao curso de Pós-Graduação em Geociências da
Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos
requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em
Geociências.

Área de concentração: Geologia Sedimentar e Ambiental
Linha de pesquisa: Paleozoologia

Orientador (a): Dra. Juliana Manso Sayão
Coorientador (a): Dr. Alexander Wilhelm Armin Kellner

RECIFE

2017

Catálogo na fonte
Bibliotecária Valdicêa Alves, CRB-4 / 1260

B212r	Bantim, Renan Alfredo Machado.
proxy	Revelando a conformação microestrutural de ossos de pterodactyloides (Archosauria, Reptilia) do Cretáceo inferior do Brasil e da China como para o entendimento do desenvolvimento somático de pterossauros./ Renan Alfredo Machado Bantim - 2017. 264folhas, Il.; Tabs.; Abr. e Sigl. Orientada: Profª Dra. Dra. Juliana Manso Sayão. Coorientador: Prof. Dr. Alexander Wilhelm Armin Kellner. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação Geociências, 2017. Inclui Referências, e Apêndices. 1. Geociências. 2. Pterosauria. 3. Hamipterus. 4. Anhangueridae. 5. Paleohistologia. 6. Ontogenia. I. Sayão, Juliana Manso (Orientadora). II. Kellner, Alexander Wilhelm Armin (Coorientador). UFPE 551 CDD (22. ed.) BCTG/2017-328

RENAN ALFREDO MACHADO BANTIM

REVELANDO A CONFORMAÇÃO MICROESTRUTURAL DE OSSOS DE
PTERODACTYLOIDES (ARCHOSAURIA, REPTILIA) DO CRETÁCEO INFERIOR DO
BRASIL E DA CHINA COMO PROXY PARA O ENTENDIMENTO DO
DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DE PTEROSSAUROS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Geociências da Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Geociências.

Aprovado em: 31/03/2017

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Juliana Manso Sayão (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Gustavo Ribeiro de Oliveira (Examinador Interno)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Antônio Álamo Feitosa Saraiva (Examinador Externo)
Universidade Regional do Cariri

Prof. Dr. Bruno Cavalcanti Vila Nova de Albuquerque (Examinador Externo)
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Fabiana Costa Rodrigues (Examinadora Externa)
Universidade Federal do ABC

Dedico este trabalho à minha família, pelo suporte, amor e carinho ao longo de uma trajetória de dez anos de educação, a qual seria inviável sem o seu apoio. Em especial a minha avó, Dinóra Ferreira Machado, pelo exemplo de ser humano que é.

AGRADECIMENTOS

Para desenvolver e finalizar esta tese tive o apoio de muitas pessoas que me incentivaram e que tornaram possível continuar em frente até chegar a este ponto final.

- A minha esposa Flaviana Jorge de Lima, pelo apoio durante toda esta etapa, noites de trabalho e pesquisa e pelos momentos confortantes que amenizaram este período.

- Aos meus pais Maria Stela Machado Bantim e Janedson Oliveira Bantim, pela educação primordial que nunca me faltou, assim como outros bens necessários, mesmo nos momentos de maior dificuldade, nada me deixaram faltar.

- A minha orientadora Juliana Manso Sayão, por me ajudar constantemente, desde meados da minha graduação, mestrado e doutorado.

- Ao meu co-orientador Alexander Kellner, pelos ensinamentos no meio acadêmico, sempre me instigando a buscar repostas para meus questionamentos e por importantes comentários nas versões finais dos manuscritos resultantes desta tese.

- Aos professores do PPGEOC Gorki Mariano, Virgínio Neumann, Lucia Valença, Valdir Manso e Sônia Agostinho, por passarem todos os conhecimentos possíveis sobre Geologia e por sempre me apoiarem e estarem dispostos a me ajudar durante os seis anos de pós-graduação, no PPGEOC.

- Ao amigo Rafael Andrade, pelas conversas e debates sobre a paleohistologia durante todo meu doutorado, além dos incentivos de sempre seguir em frente e não parar.

- Aos amigos Bruno Vila Nova e Rodrigo Giesta, por sempre estarem dispostos a tirar dúvidas e me passarem bibliografia sobre arcossauros fósseis, além de comentários valiosos em versões iniciais dos manuscritos desta tese.

- A Sarah Werning, por me auxiliar durante todo o tramite de seleção do doutorado sanduíche para a Des Moines University (Iowa, EUA), mesmo que este não tenha sido realizado; obrigado também pelas dezenas de *papers* sobre paleohistologia disponibilizados.

- Aos amigos que conheci durante a pós-graduação: Alex Sousa Maraes, Thaís Guimarães, Edjane Santos, Fernando Barbosa, Paulo Victor Oliveira, Rony Barroso, Gina Cardoso,

Robbyson Melo, Leomir Santos e Lucia Eleutério, que de uma maneira ou de outra me ajudaram durante o doutorado. Meus sinceros agradecimentos.

- Aos amigos do Laboratório de Paleontologia da URCA – LPU: Edilson dos Santos, Jennyfer Ferreira, Thatyane Batista, Lúcio Silva, Artur Fernandes, Islândia Santos (Bia) e Alita Silva, por sempre me receberem de braços abertos, durante minhas viagens ao Crato, meu sinceros agradecimentos.

- Aos secretários da Pós-Graduação em Geociências Krishnamurti e Igor Bandim, que por diversas vezes me tiraram de vários problemas e sempre estiveram prontos para me ajudar.

- Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq) pela bolsa de Doutorado, sem a qual eu não teria conseguido concluir o projeto.

- A PROPESQ/UFPE, pelos diversos auxílios financeiros concedidos durante o doutorado para participação em eventos científicos.

- E por último, a cada um que, em maior ou menor grau, voluntariamente ou inconscientemente, me ajudou e estimulou a ir além, e completar objetivos cada vez maiores. A todos, eu serei eternamente grato.

"O pessimista olha para baixo e bate a cabeça. O otimista olha para cima e perde o pé. O realista olha para a frente e ajusta seu caminho de acordo."

Robert Kirkman

RESUMO

Estudos paleohistológicos em vertebrados fósseis constituem uma importante ferramenta para elucidação de uma série de problemas relacionados à biologia de animais extintos, podendo ser inferidas a maturidade do esqueleto, taxas de crescimento, fisiologia, e tratar de uma série de considerações ecológicas. Visando aprimorar o conhecimento acerca da paleohistologia dos pterossauros Pterodactilóides, analisamos aqui amostras fossilíferas de dois clados de pterossauros distintos e de distintas localidades fossilíferas Eocretáceas. Para o Aptiano da Bacia do Araripe foram selecionados espécimes fósseis referidos a pterossauros do clado Anhangueridae, e para o Cenomaniano do Grupo Tugulu, foram analisadas amostras fósseis do pterossauro do gênero *Hamipterus* da Bacia Turpan-Hami. Alguns espécimes foram identificados como neonatos, juvenis, sub-adultos e adultos. Quanto às análises dos pterossauros anhanguerídeos ficou claro que as amostras analisadas, em sua grande maioria, pertenciam a animais sub-adultos e adultos. Ao comparar os resultados de ambas amostras, observa-se que *Hamipterus* apresenta uma fisiologia diferenciada quanto ao crescimento ósseo, sendo o crescimento assintótico desta espécie atingido rapidamente. Os anhanguerídeos, por sua vez, apresentam uma menor variação histológica, atingindo grandes proporções corporais e não apresentando lamelas circunferenciais, o que demonstra que, ainda não haviam atingido o crescimento assintótico completo.

Palavras-chave: Pterosauria. *Hamipterus*. Anhangueridae. Paleohistologia. Ontogenia.

ABSTRACT

Paleohistological studies on fossil vertebrates are an important tool, to help to elucidate a number of problems related to the biology of extinct animals, such as, skeletal maturity, growth rates, physiology, and a series of ecological considerations. In order to improve the knowledge about the paleohistology of the Pterodactyloid pterosaurs, we have analyzed samples from two distinct pterosaur clades and from different fossiliferous localities. For the Albian of Araripe Basin, specimens of Anhangueridae pterosaur were selected, and for the Cenomanian of the Tugulu Group samples of the *Hamipterus* genus from Turpan-Hami Basin were analyzed. Some specimens were identified as neonates, juveniles, sub-adults and adults. Regarding the analysis of anhanguerid pterosaurs, it was clear that most of the samples analyzed, belonged to sub-adult and adult animals. When comparing the results of both samples it was observed that *Hamipterus* presents a particular physiology regarding the bone growth, being the asymptotic growth of this species reached quickly, whereas Anhangueridae pterosaurs present less histological variation, reaching great corporal proportions and not presenting circumferential lamella, wich shows that, they had not yet reached full asymptotic growth.

Keywords: Pterosauria. *Hamipterus*. Anhangueridae. Paleohistology. Ontogeny.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Pneumatização em ossos de pterossauros.	16
Figura 2 - Dois grandes grupos de pterossauros.....	18
Figura 3 - Desenho esquemático mostrando algumas estruturas encontradas em um osso longo	22
Figura 4 - Corte transversal de um úmero ilustrando a região do osso compacto (córtex) e a região do osso esponjoso.....	2323
Figura 5 - Desenho esquemático mostrando as estruturas presentes em um ósteon. Os canalículos fazem as ligações entre as células ósseas (osteócitos).	25
Figura 6 - Representação esquemática mostrando como ocorre o crescimento longitudinal e o crescimento transversal nos ossos.....	27
Figura 7 - A, B - Seção transversal da extremidade distal de um osso de pterossauro mostrando a posição periosteal do tecido primário fibrolamelar.....	30
Figura 8 - A, B - Corte transversal de uma ulna de pterossauro.....	31
Figura 9 - Mapa mostrando a localidade e posição tectônica da Bacia Turpan-Hami.	41
Figura 10 - Mapa mostrando a maioria das unidades tectônicas e poços de exploração na Bacia Turpan-Hami.	42
Figura 11 - Seção estratigráfica geral do Grupo Tugulu.....	44
Figura 12 - A – Localização da Bacia do Araripe na América do Sul.....	4646
Figura 13 - Afloramento de parte do Grupo Santana, em uma mineradora desativada de extração de gipsita, no município de Araripina (PE), porção sudoeste da Bacia do Araripe.	488
Figura 14 - Área de prospecção para coleta dos fósseis de <i>Hamipterus tianshanensis</i>	51
Figura 15 - Localidades onde foram realizadas escavações controladas para a coleta de fósseis da Formação Romualdo	51
Figura 16 - Etapas da preparação mecânica desde a coleta até a finalização.....	53
Figura 17 - Etapas da preparação de uma lâmina paleohistológica.....	55
Figura 18 - A - Localização da Bacia do Araripe na América do Sul.	59
Figura 19 - Elementos apendiculares de MPSC R 1395.....	62
Figura 20 - Seção histológica transversal do úmero e da ulna de MPSC R 1395 vistas em um microscópio de luz transmitida.....	66

Figura 21 - Seções histológicas transversais da F1d4, F2d4 e F4d4 de MPSC R 1395 vista com microscópio de luz transmitida.....	68
Figura 22 - Diferentes métodos utilizados para determinação da idade/ontogenia de espécimes de pterossauros.....	80
Figura 23 - Espécime MN 7060-V	83
Figura 24 - Espécime MN 6594-V	85
Figura 25 - Espécime MN 4809-V	88
Figura 26 - Espécime MPSC R 2090.....	90
Figura 27 - Espécime MPSC R 1395.....	94
Figura 28 - Espécime MPSC R 982.....	96
Figura 29 - Mapa mostrando a localidade e posição tectônica da Bacia Turpan-Hami.	114
Figura 30 - A. Corte transversal do úmero adulto (CAV ht 001) sob luz polarizada plana...	121
Figura 31 - A. Corte transversal do McIV (CAV ht 004) sob luz polarizada plana.....	124
Figura 32 - A. Corte transversal da Ulna (CAV ht 008) sob luz polarizada plana.....	12828
Figura 33 - Espécime MPSC R 341cp (diáfises da primeira e segunda falanges alares), na qual observa-se a pneumaticidade óssea, septos e trabéculas em ossos de pterossauros	139
Figura 34 - A – Tecido ósseo primário (fibrolamelar), em uma seção delgada de uma primeira falange do dígito alar de um Anhangueridae (espécime MPSC R 2090) escala 200 µm.	151

LISTA DE TABELAS

Artigo II

Tabela 1 - Comparação das características de identificação ontogenética de cada espécime de pterossauro utilizado neste trabalho.....	102
---	-----

Artigo III

Tabela 1 - Identificação da orientação vascular, tipo de tecido ósseo e estágio ontogenético de cada indivíduo amostrado.	116
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Siglas Institucionais

CAV	Centro Acadêmico de Vitória
LPU	Laboratório de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri
MN	Museu Nacional
MPSC	Museu de Paleontologia de Santana do Cariri
NSM	Division of Vertebrate Paleontology, National Science Museum
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
URCA	Universidade Regional do Cariri

Abreviaturas Anatômicas

dpc	crista deltopeitoral do úmero (<i>deltopectoral crest of the humerus</i>)
epi	epífise (<i>epiphysis</i>)
etp	processo extensor do tendão (<i>extensor tendon process</i>)
F1d4	primeira falange do quarto dígito alar
F2d4	segunda falange do quarto dígito alar
F3d4	terceira falange do quarto dígito alar
F4d4	quarta falange do quarto dígito alar
fo	forame (<i>foramen</i>)
McIV	metacarpo alar
mus	cicatriz muscular (<i>muscle scars</i>)
sul	sulco (<i>sulcus</i>)

Abreviaturas Histológicas

EFS	sistema fundamental externo (<i>external fundamental system</i>)
el	lamela endosteal (<i>endosteal lamella</i>)
er	cavidades de erosão (<i>erosion rooms</i>)
LAG	linha de pausa de crescimento (<i>line of arrested growth</i>)
po	ósteons primários (<i>primary osteons</i>)
ppb	osso periosteal primário (<i>periosteal primary bone</i>)
so	ósteon secundário (<i>secondary osteon</i>)
t	trabécula (<i>trabecullum</i>)
vc	canais vasculares (<i>vascular canals</i>)
z	zona (<i>zone</i>)

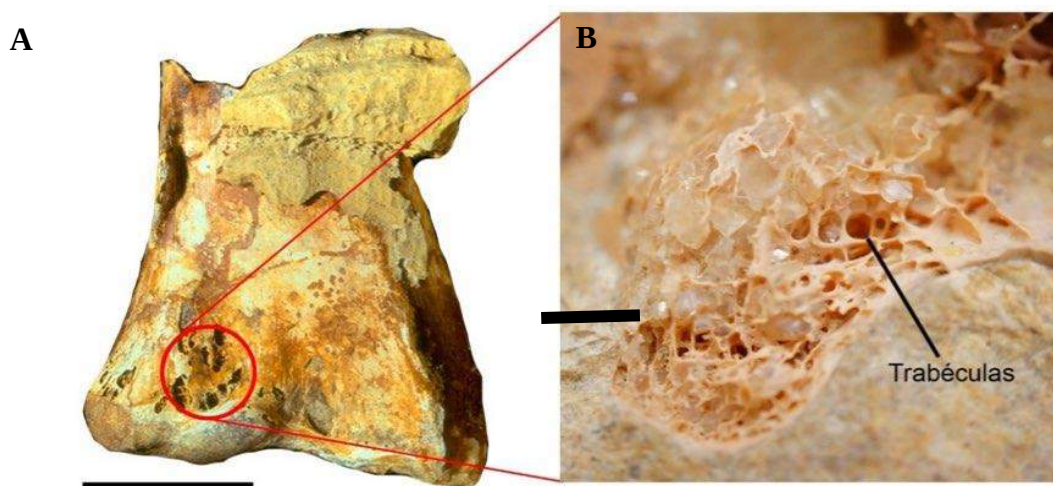
SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
1.1.	PALEOHISTOLOGIA	19
1.2.	CARACTERIZAÇÃO GERAL DO TECIDO ÓSSEO	21
1.3.	DESENVOLVIMENTO DO TECIDO ÓSSEO	27
1.4.	CARACTERIZAÇÃO GERAL DA HISTOLOGIA DOS OSSOS DE PTEROSSAUROS.....	29
1.4.1.	Tecido ósseo primário.....	29
1.4.2.	Tecido ósseo secundário	29
1.5.	HISTÓRICO DOS ESTUDOS HISTOLÓGICOS EM ARCOSSAUROS	31
1.6.	OBJETIVOS	39
1.6.1.	Geral.....	39
1.6.2.	Específicos.....	39
2.	ESTRUTURA DA TESE	40
3.	GEOLOGIA REGIONAL.....	41
3.1.	BACIA TURPAN-HAMI	41
3.2.	BACIA DO ARARIPE	45
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
4.1.	ORIGEM DAS AMOSTRAS	50
4.2.	PREPARAÇÃO MECÂNICA	52
4.3.	PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS	54
5.	ARTIGO I.....	56
6.	ARTIGO II	77
7.	ARTIGO III.....	112
8.	ARTIGO IV	137
9.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	163
	REFERÊNCIAS	166
	APÊNDICE - ARTIGOS SUBMETIDOS	181

1. INTRODUÇÃO

Os pterossauros são um grupo extinto de répteis alados que surgiu há pelo menos 228 milhões de anos, sendo os primeiros vertebrados a alçar voo (WELLNHOFER, 1991). Seus primeiros registros datam do Triássico Superior, idade Carniano-Noriano (BONAPARTE; SCHULTZ; SOARES, 2010), mesma época em que muitos outros grupos de tetrápodes surgiram, tais como testudines, crocodilomorfos e dinossauros (BENTON, 1985). Após seu aparecimento no Triássico, este grupo apresenta-se amplamente distribuído ao longo dos períodos Jurássico e Cretáceo, diversificando-se até sua extinção no final deste período (WELLNHOFER, 1991). Os pterossauros são caracterizados por apresentarem um tecido membranoso sustentado pelo quarto dígito alongado (CUVIER, 1801; MARSH, 1876; ZITTEL, 1882), pela presença do osso pteróide e por seus ossos pneumáticos (Fig. 1), apresentando uma parede fina (WELLNHOFER, 1991; 2008). São geralmente retratados como animais quadrúpedes, com membros posteriores menos robustos, quando comparados com os anteriores (UNWIN, 2006; WITTON; HABIB, 2010; VILA NOVA; SAYÃO, 2012). No entanto, a condição dos membros posteriores é um tema controverso. Alguns autores sugerem que os pterossauros eram capazes de bipedalidade vertical (PADIAN, 1983), enquanto outros afirmam que a locomoção terrestre só foi possível através de quadrupedalismo, o que é apoiado por evidências icnológicas, além de ser a hipótese atualmente mais aceita (WILKINSON, 2008).

Figura 1 - Pneumatização em ossos de pterossauros. A – fragmento de úmero destacando a presença de osso pneumático, escala: 5 cm. B – detalhe da malha trabecular que compõe o tecido ósseo pneumático, escala: 1 cm.



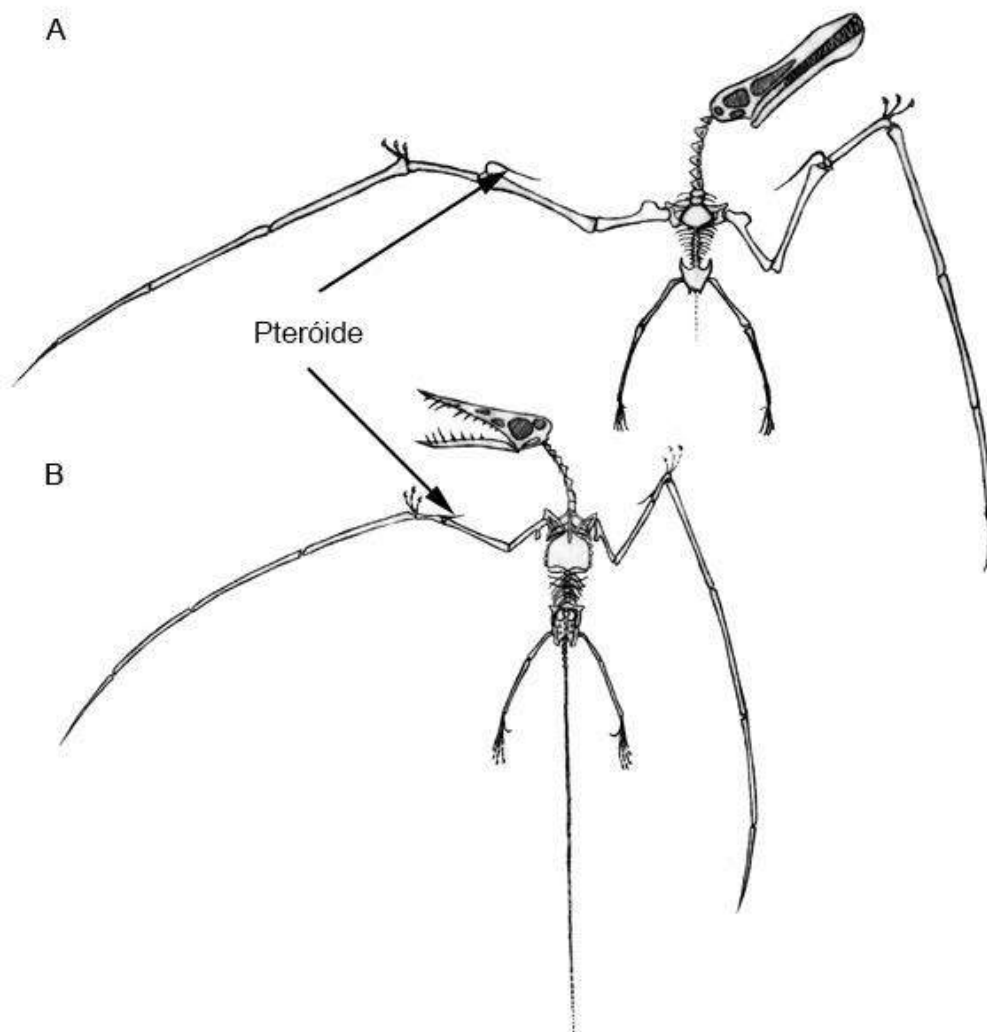
Fonte: A – Alexander Kellner. B – Liz Silverstone.

No que diz respeito à filogenia dos pterossauros, existem atualmente três propostas (KELLNER, 2003; UNWIN, 2003; ANDRES; JI, 2008; WANG et al., 2009; LÜ et al., 2010; WANG et al., 2012; ANDRES, 2012), que diferem no que se refere a nomenclatura empregada para os clados e topologia das árvores (SAYÃO; VILA NOVA; ROMANO, 2012). Apesar deste cenário, existe um consenso nas filogenias em dividir o clado Pterosauria em um clado e um grado (Fig. 2). O grado contendo as formas que viveram durante o Triássico e o Jurássico, tradicionalmente chamado de “Rhamphorhynchoidea”, segundo Wellnhofer (1991), posteriormente renomeado como pterossauros “não Pterodactyloides” (KELLNER, 2003). Tratando das formas mais derivadas, está o agrupamento monofilético Pterodactyloidea que de acordo com Kellner (2003), surgiu durante o período Jurássico, diversificando-se até o final do Cretáceo (ver SAYÃO; VILA NOVA; ROMANO, 2012 para uma revisão). Os Pterodactyloidea são sustentados por nove sinapomorfias (KELLNER, 2003; WANG et al., 2009) e divididos em dois grandes grupos: Archaeopterodactyloidea e Dsungaripteroidea (KELLNER, 2003).

Apesar da distribuição global apresentada pelos pterossauros, seus registros estão concentrados principalmente em cinco depósitos sedimentares que concentram cerca de 90% de todos os fósseis encontrados. Estes *fossilagerstätten* correspondem a Bacia de Solnhofen, na Alemanha (Idade Titoniana, Jurássico Superior); ao Grupo Jehol, na China (Idade Aptiana, Cretáceo Inferior); Cambridge Greensand, na Inglaterra (Idade Cenomaniana, Cretáceo Superior); a Formação Niobrara, nos EUA (Idade Santoniana, Cretáceo Superior); e ao Grupo Santana, no Brasil (Idade Aptiana-Albiana, Cretáceo Inferior). As demais ocorrências são, na grande maioria, fragmentadas e incompletas (BARRETT et al., 2008; SAYÃO et al., 2012). Alguns destes depósitos são conhecidos há centenas de anos, enquanto outros apresentaram registros de pterossauros apenas recentemente (WELLNHOFER, 2008).

Os pterossauros correspondem a um dos grupos de répteis fósseis melhor representados no Brasil (KELLNER; CAMPOS, 2002). As formas brasileiras são referidas aos clados Anhangueria, Nyctosauridae (Pteranodontoidea) e Tapejaridae (Tapejaroidea) (PRICE, 1953; KELLNER; TOMIDA, 2000; KELLNER, 2003; ELIAS; BERTINI; MEDEIROS, 2007; WANG et al., 2008; SAYÃO; VILA NOVA; ROMANO, 2012; RODRIGUES; KELLNER, 2013). Os fósseis são encontrados, sobretudo em concreções calcárias da Formação Romualdo, segundo Neumann e Cabrera (1999), Bacia do Araripe. Desde a descrição da primeira espécie de pterossauro para esta Bacia (PRICE, 1971), centenas de espécimes foram coletados (e.g. KELLNER; TOMIDA, 2000; KELLNER, 2006).

Figura 2 - Dois grandes grupos de pterossauros. A – Anhanguera, um exemplo de pterossauro Pterodactyloide; B – Rhamphorhynchus, um exemplo de pterossauro não pterodactilóide.



Fonte: Retirado de Kellner (2006).

Um dos principais problemas sistemáticos da fauna de pterossauros do Grupo Santana consiste no consenso acerca dos clados presentes. Até agora, estes pterossauros têm sido atribuídos a Ornitocheiridae (DE BUISONJÉ, 1980), Anhangueridae (CAMPOS; KELLNER, 1985), Criorhynchidae (FASTNACHT, 2001), Tapejaridae (KELLNER, 1989) e Cearadactylidae (LEONARDI; BORGOMANERO, 1985). O clado Anhangueridae, embora não restrito ao Brasil, possui seus principais registros provenientes da Bacia do Araripe. Até o momento, dezenas de espécies foram descritas para as Formações Crato e Romualdo (Bacia do Araripe, Cretáceo Inferior), algumas análises filogenéticas foram propostas, padrões paleobiológicos foram traçados, mas, ainda assim, poucos trabalhos trataram de estudos voltados para a paleohistologia e variação ontogenética destes organismos.

Por se tratarem de animais voadores com esqueletos frágeis, as espécies de pterossauros mais conhecidas são representadas por apenas um ou dois espécimes na melhor das hipóteses, com poucas informações disponíveis sobre as suas populações (BELL; PADIAN, 1995; KELLNER et al., 2013; WANG et al., 2014). Raras são as localidades fossilíferas em que ocorrem fósseis de pterossauros em estágios ontogenéticos variados (WANG et al., 2014). Uma localidade que apresenta este registro é a do Grupo Tugulu (Bacia de Turpan-Hami, Cretáceo Inferior), representada por milhares de espécimes do pterossauro *Hamipterus tianshanensis* (WANG et al., 2014), um Pteranodontoidea. Nesta localidade também foram coletados dezenas de espécimes associados a ovos. No trabalho de descrição de *Hamipterus* os autores traçaram algumas hipóteses paleobiológicas para a espécie, chegando a diferenciar espécimes machos e fêmeas a partir de características morfológicas, embora a paleohistologia não tenha sido aplicada para corroborar estas hipóteses.

Diante deste cenário, a presente tese de doutorado apresenta um estudo detalhado da osteohistologia dos fósseis de pterossauros dos depósitos fossilíferos Eocretáceos da Formação Romualdo (Bacia do Araripe) e do Grupo Tugulu (Bacia de Turpan-Hami), além de utilizar a paleohistologia para traçar padrões de crescimento e ontogenia de seus pterossauros. Somada a estas análises, a descrição taxônômica de novos exemplares procedentes da Formação Romualdo e do Grupo Tugulu trazem novas informações sobre a problemática dos estágios ontogenéticos dos pterossauros Pterodactyloides. Além disso, a descrição paleohistológica de *Hamipterus tianshanensis* permitiu traçar padrões ontogenéticos e morfológicos para o estudo destas populações de arcossauros alados.

1.1. PALEOHISTOLOGIA

A paleohistologia é o estudo dos tecidos biomineralizados, preservados em organismos fósseis (SANDER, 2000; PADIAN; LAMM, 2013). Esta técnica é usualmente empregada no estudo de tecidos duros, como dentes e ossos, e auxilia na identificação da composição microestrutural destas estruturas através de secções delgadas (SAYÃO, 2003). Do ponto de vista histológico, os ossos são os melhores indicadores de uma história de vida, pois são pouco alterados durante os processos de fossilização (REID, 1997), possibilitando realizar inferências diretas sobre o seu modo de deposição por comparações com animais recentes (CHINSAMY et al., 2014). Estudos paleohistológicos em vertebrados fósseis constituem uma importante

ferramenta, podendo auxiliar a esclarecer uma série de problemas relacionados à biologia de animais extintos (SANDER, 2000; CHINSAMY, 2005; PADIAN; LAMM, 2013). A exemplo podem ser inferidas a maturidade do esqueleto, taxas de crescimento, fisiologia e tratar de uma série de considerações ecológicas (BENNETT, 1993; CHINSAMY, 1995; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; HORNER, DE RICQLÈS; PADIAN, 2000; STEEL, 2008), especialmente se realizados em conjunto com estudos experimentais em animais vivos. Esta linha de pesquisa assume a hipótese atualística de que tecidos e taxas de deposição são geralmente similares e, conseqüentemente, comparáveis em animais vivos e extintos (HORNER, DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; SANDER, 2000). A partir destas informações é possível inferir sobre diversos aspectos da fisiologia, ontogenia e filogenia que influenciam a história de vida dos indivíduos (ERICKSON; TUMANOVA, 2000; HORNER, DE RICQLÈS; PADIAN, 2000; CHINSAMY, 1997; 2005).

Nas últimas décadas, diversos trabalhos foram realizados visando os aspectos biológicos dos organismos fósseis, especialmente sob a ótica da microestrutura óssea. Embora o fóssil fique sujeito aos vários processos tafonômicos por milhões de anos, a estrutura microscópica dos ossos permanece preservada (CHINSAMY, 2005). Um estudo ósteo-histológico completo envolve a descrição de múltiplos elementos de diferentes indivíduos para que seja possível determinar as variações no tecido ósseo que ocorrem devido à histovariabilidade (RAY; CHINSAMY, 2004; PRONDVAI et al., 2012). No entanto, como a análise histológica é um processo destrutivo, ou seja, o material utilizado precisa ser seccionado, geralmente esqueletos completos não estão disponíveis para este tipo de estudo. Quando possível, as descrições histológicas são realizadas preferencialmente na região da diáfise dos ossos longos, por ser considerada a região que apresenta menor remodelamento ósseo (CHINSAMY; DODSON, 1995; SANDER, 2000).

Apesar dos componentes orgânicos dos tecidos mineralizados geralmente serem decompostos após a morte, os componentes inorgânicos dos ossos preservam a orientação espacial dos componentes orgânicos, tais como as lacunas de osteócitos, canais vasculares, fibras colágenas e, conseqüentemente, a histologia do osso (STEEL, 2008). A histologia óssea pode fornecer informações importantes sobre a fisiologia do organismo; por exemplo, a organização da matriz de colágeno e o grau da vascularização do osso indicam as taxas relativas de deposição do osso (e.g., AMPRINO, 1947; CURREY, 1984), enquanto a presença de marcas de crescimento, tais como linhas de pausa do crescimento (LAGs) ou deposição do sistema fundamental externo, indicando a finalização do crescimento assintótico (PEABODY, 1961;

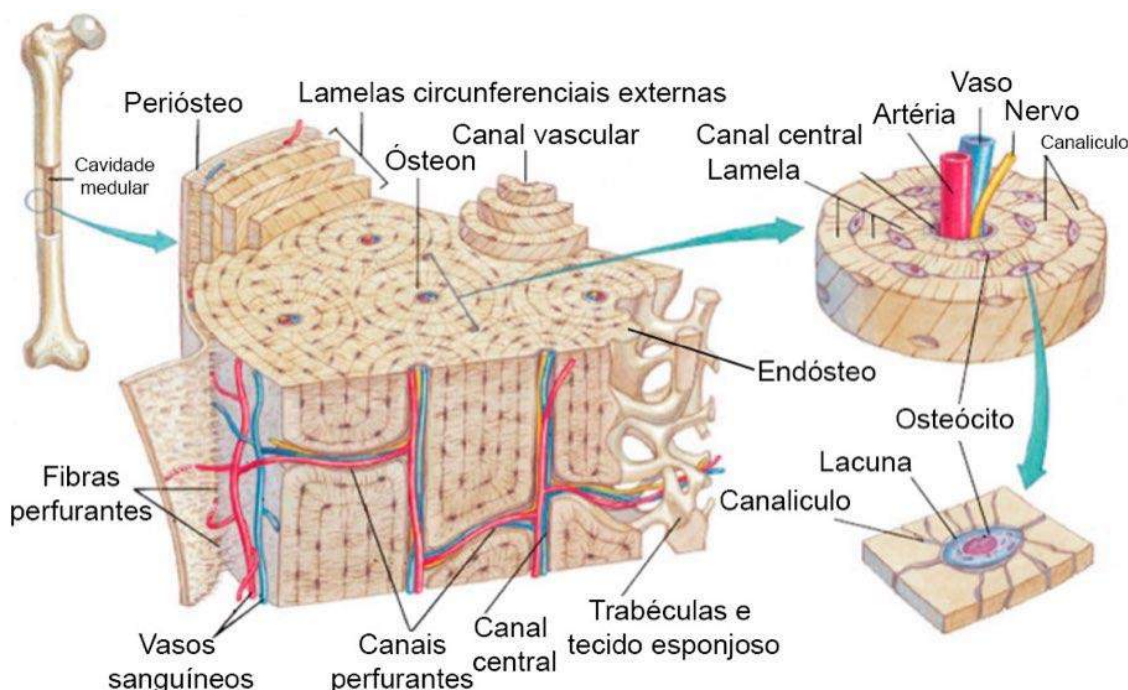
DE RICQLÈS, 1969; 1975; KLEVEZAL, 1996; CASTANET, 1985; 1987; MEUNIER et al., 1988; CHINSAMY, 1997). Aspectos funcionais da morfologia do osso podem ser inferidos a partir do aspecto macroscópico do osso, bem como da sua micro-arquitetura, e a distribuição de diferentes tipos de tecidos em todo o esqueleto ou dentro de um único osso podem refletir funções biomecânicas (CURREY, 1959; ELEUTÉRIO et al., 2015).

Existem numerosos trabalhos publicados abordando a histologia óssea em vertebrados fósseis. A maioria dos estudos realizados até então investiga principalmente o grupo dos arcossauros (Diapsida, Archosauria), grupo que inclui crocodilos, aves e seus “parentes” extintos, especialmente os dinossauros não avianos (e.g., DE RICQLÈS, 1983; DE RICQLÈS; PADIAN; HORNER, 2003; CHINSAMY, 1993a, 1993b, 1995; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 2000; 2001; PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 2001). Cada vez mais, autores estão tentando interpretar a palaeohistologia em termos da fisiologia, ontogenia, dinâmica de crescimento, biomecânica e ecologia do animal vivo, e, em certa medida, relacionar a palaeohistologia à sistemática de grupos vivos e fósseis (por exemplo, PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS, 2004).

1.2. CARACTERIZAÇÃO GERAL DO TECIDO ÓSSEO

Os ossos de todos os vertebrados consistem de uma parte inorgânica, formada por microcristais de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (REID, 1997). A hidroxiapatita envolve uma parte orgânica, que é constituída principalmente por fibras de colágeno, além de células (osteoblastos, osteoclastos e osteócitos) e vasos sanguíneos e linfáticos que ocupam pequenos canais existentes no osso (Fig. 3) (CHINSAMY; DODSON, 1995). Quando o indivíduo morre, os componentes orgânicos se decompõem, enquanto os componentes inorgânicos mantêm a microestrutura geral do osso (RAY; BOTHA; CHINSAMY, 2009).

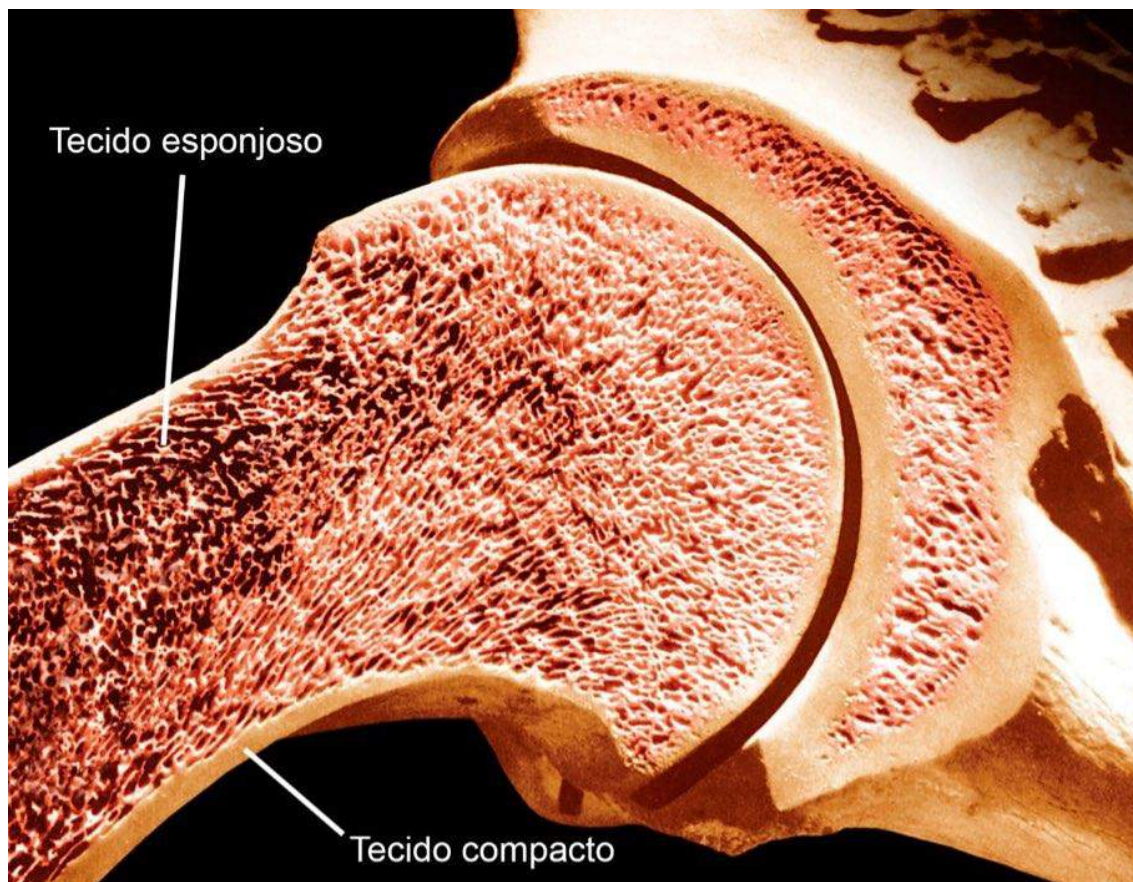
Figura 3 - Desenho esquemático mostrando algumas estruturas encontradas em um osso longo. A superfície endosteal fica localizada no interior da cavidade medular, enquanto que a superfície periosteal fica na camada mais externa do osso.



Fonte: Modificado de Junqueira e Carneiro (2005).

O osso pode ser dividido morfológicamente em dois tipos: osso esponjoso (trabecular) ou denso (compacto) (PADIAN; LAMM, 2013) (Fig. 4). O osso esponjoso fica localizado nas epífises de ossos longos, sendo sempre recoberto por osso compacto, possui grandes espaços que se anastomosam (cavidades medulares), sendo as placas ósseas denominadas trabéculas. As trabéculas são constituídas de muitas camadas ou lamelas. Durante o desenvolvimento do osso, grandes quantidades de osso esponjoso vão sendo transformadas em osso compacto. O osso compacto é mais externo, além de ser mais denso que o osso esponjoso, apresentando uma proporção maior de matriz óssea do que os espaços de tecido friável, além de uma organização lamelar mais precisa e desenvolvida (CHINSAMY, 2005; PADIAN; LAMM, 2013). Da parte mais externa para a interna o osso pode ser basicamente dividido, de acordo com suas estruturas em: periosteio (camada mais externa), córtex (contendo lacunas de osteócitos, canais vasculares e fibras colágenas) e endosteio (reveste as superfícies internas de todas as cavidades dos ossos).

Figura 4 - Corte transversal de um úmero ilustrando a região do osso compacto (córtex) e a região do osso esponjoso.



Fonte: Dr. Don Fawcett - Visuals Unlimited/Getty Images (Britannica Escola Online).

Em animais vivos, os pequenos canais existentes na matriz óssea são ocupados por células chamadas de osteócitos. Cada osteócito comunica-se com as células vizinhas através de prolongamentos do citoplasma, que ficam alojados em finas extensões das lacunas, denominadas canalículos. Os osteócitos são responsáveis pela manutenção da matriz óssea, permitindo a troca de nutrientes entre as células, os vasos sanguíneos e a matriz óssea (CURREY, 2002; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005). A quantidade de canalículos, o grau de ramificação, assim como o tamanho e o formato dos osteócitos é variável, e depende da taxa na qual o osso é formado e no tipo de vascularização presente.

O perióstio é constituído por uma membrana que recobre a superfície da matriz calcificada e que está dividido em duas camadas: uma fibrosa externa, contendo fibras colágenas e fibroblastos; e uma camada osteogênica interna, contendo células osteoprogenitoras e osteoblastos, ancorando-se ao osso através de fibras de Sharpey (GARTNER; HIATT, 2002). Raramente a camada fibrosa externa do perióstio é preservada

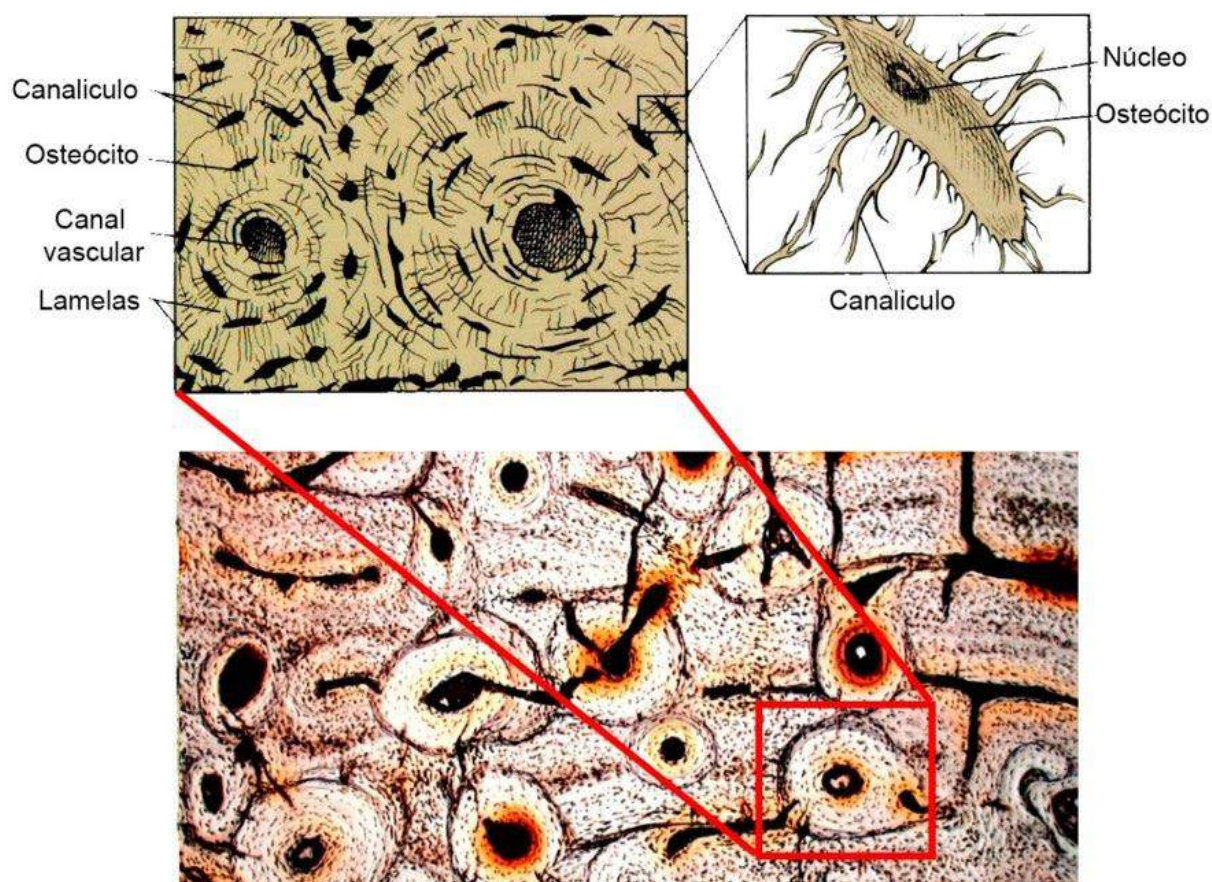
em fósseis (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). O perióstio representa um constituinte típico do osso compacto, em adultos, com exceção de algumas formas marinhas como baleias e dos répteis marinhos extintos (REID, 1997). Além disso, é o responsável pelo crescimento do osso em espessura. Diferente do conceito tradicional de perióstio (*stricto sensu*) alguns autores assumem, por conveniência, como osso perióstico (*sensu lato*) aquele composto pelo perióstio (s.s.) e todos os tecidos formados, em parte, por processos osteogênicos que acarretam em espaços vasculares primários (ENLOW; BRONW, 1956; REID, 1984; 1997).

A matriz óssea é composta, basicamente, por colágeno do tipo I, com poucas quantidades de colágeno tipo V e pequenas quantidades de componente amorfo, contendo sulfato de condroitina e ácido hialurônico (CORMACK, 1991). Sua resistência deve-se ao abundante colágeno (cerca de 90% de seu conteúdo orgânico) e mineral ósseo (quase 70% de seu peso seco). A diminuição dos espaços do tecido friável dá-se pela transformação do osso esponjoso em osso compacto. Neste processo, as superfícies trabeculares retêm suas populações de células osteogênicas associadas. Como as camadas consecutivas de tecido ósseo formam-se pela aposição sobre estas superfícies, as trabéculas espessam-se e os espaços do tecido friável que elas envolvem tornam-se progressivamente mais estreitos. Assim, uma parte do osso esponjoso é então convertido em osso compacto com apenas pequenos espaços de tecido friável. Uma determinada quantidade de osso esponjoso, no entanto, se mantém retida nas partes centrais da maioria dos ossos.

O processo gradual que converte osso esponjoso em compacto cria vários canais estreitos revestidos por células osteogênicas. Estes canais envolvem os vasos que estavam anteriormente presentes nos espaços de tecido esponjoso. Cada arranjo composto por várias lamelas consecutivas de osso, adicionado aos espaços presentes na parte esponjosa, é denominado ósteon (Fig. 5). Os ósteons são estruturas diminutas (aproximadamente 0,3 mm) que representam a unidade estrutural básica do osso compactado (CORMACK, 1991). Em corte transversal, essas lamelas aparecem como um grupo de anéis concêntricos situados ao redor de um pequeno canal central (canal vascular ou canal de Havers), que atua como envoltório para dois pequenos vasos sanguíneos e um revestimento de células osteogênicas. Clopton Havers, em 1691, foi o primeiro a descrever estruturas tubulares presentes em ossos como canais vasculares. Estas estruturas secundárias passaram a ser conhecidas como canais de Havers ou canais haversianos, e as lamelas concêntricas que circundavam os mesmos receberam, posteriormente, o termo sistema de havers (TODD; BOWMANN, 1846). O osso haversiano (por apresentar densa formação deste tipo) é o resultado de um processo denominado

reconstrução haversiana, reconstrução secundária ou substituição. Neste processo, o osso que circunda os canais vasculares primários é reabsorvido para a formação de grandes cavidades. Quando a reabsorção termina, ocorre a deposição centrípeta de osso lamelar, que reabastecerá a cavidade para a formação de um ósteon secundário.

Figura 5 - Desenho esquemático mostrando as estruturas presentes em um ósteon. Os canalículos fazem as ligações entre as células ósseas (osteócitos).



Fonte: Modificado de <https://oimedicina.wordpress.com/2012/03/04/tecido-osseo-e-osteogenese/>.

Ósteons secundários são distintos dos ósteons primários por apresentarem uma linha delimitante, chamada de linha de cimentação ou linha de reversão, que marca a extensão original do osso absorvido. No início do processo de reconstrução, poucos ósteons secundários podem estar separados por finas áreas de osso primário. Sucessivas gerações de ósteons secundários podem formar-se na mesma área, resultando em denso tecido haversiano, onde a matriz presente entre dois ósteons secundários é proveniente de tecido secundário (CHINSAMY, 1994). Embora o termo sistema haversiano tenha sido frequentemente utilizado

em paleohistologia até a década de oitenta (DE RICQLÈS, 1980; BAKKER, 1986), esta denominação foi gradativamente sendo substituída pelo termo ósteons secundários (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; ANDRADE et al., 2015). Isto se deve ao fato de répteis modernos apresentarem nenhuma ou pouca reconstrução secundária (REID, 1992), amplamente encontrada em mamíferos, sendo este o grupo utilizado originalmente por Havers (1961) para mostrar tais estruturas. Atualmente existe um consenso na utilização do termo ósteon secundário (ao invés de sistema de Havers) nos estudos paleohistológicos de répteis fósseis (WERNING, 2012; PADIAN; LAMM, 2013).

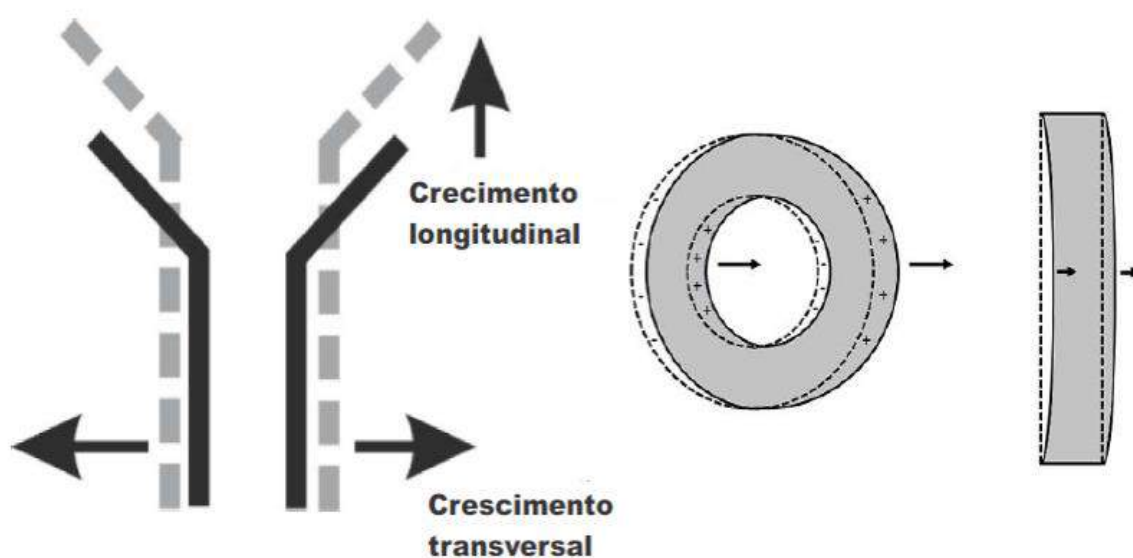
Uma outra trama de canais vasculares (contendo vasos sanguíneos) percorre o osso compacto, canais de Volkmann. Estes estão oblíqua ou transversalmente orientados em uma direção radial através da diáfise. Sua função é conectar os canais vasculares, localizados no centro de cada ósteon, com os subsequentes. Assim, os canais de Volkmann não são circundados por um padrão concêntrico de lamelas, sendo também denominados de ósteons primários. Outro constituinte fundamental do osso compacto são os osteócitos. Responsáveis pela manutenção do osso, são células discoides, achatadas, localizadas em lacunas. Cada lacuna aprisiona apenas um osteócito em seu interior. Estas células formam junções comunicantes entre elas através do contato entre seus prolongamentos citoplasmáticos, presentes no interior de canalículos (CORMACK, 1991). Estes canalículos formam uma rede de comunicação entre a “população” de osteócitos, mantendo a curto prazo a constância de cálcio e fosfato no meio interno (homeostase de cálcio e fosfato) (GARTNER; HIATT, 2002). Em ossos fossilizados, os osteócitos geralmente não se preservam, restando apenas o indício de suas lacunas, devidamente preenchidas por minerais (CHINSAMY, 2005; PADIAN; LAMM, 2013). Dependendo do estado de preservação das suas estruturas ósseas os canalículos também podem ser observados em cortes histológicos transversais de ossos fósseis.

Dois outros tipos celulares compõem o osso compacto, os osteoblastos e osteoclastos. Os osteoblastos são células cúbicas ou cilíndricas baixas, responsáveis pela síntese da matriz óssea. À medida que produzem a matriz óssea, os osteoblastos vão sendo rodeados por ela, transformando-se, após a conclusão do processo, em osteócito. Os osteoclastos são células multinucleadas responsáveis pela reabsorção da matriz óssea onde a mesma esteja se deteriorando ou em excesso. A cooperação entre osteoclasto e osteoblasto é responsável não só pela formação, remodelação e reparo ósseo, mas também pela manutenção, a longo prazo, da homeostase do cálcio e do fosfato do organismo.

1.3. DESENVOLVIMENTO DO TECIDO ÓSSEO

O crescimento do esqueleto envolve um processo mútuo de deposição e reabsorção óssea, conhecida como deposição aposicional de superfície. Várias superfícies são reconhecidas no osso: superfície periosteal, endosteal, superfície interna dos ósteons, entre outras (CHINSAMY, 2005). Um osso longo típico cresce em duas direções: em comprimento (longitudinal) e em diâmetro (transversal). O crescimento em comprimento ocorre por ossificação endocondral, onde o tecido precursor, cartilaginoso, é reabsorvido e substituído pela deposição de tecido ósseo. Já o crescimento em diâmetro envolve as superfícies periosteal (superfície externa) e endosteal (superfície interna). No crescimento aposicional, a adição de osso em qualquer uma das superfícies corresponde na remoção de osso na superfície oposta, um processo conhecido como *drift* (Fig. 6). O osso também sofre remodelações em algumas áreas para se ajustar ao crescimento, tamanho e o formato do osso (CHINSAMY, 2005).

Figura 6 - Representação esquemática mostrando como ocorre o crescimento longitudinal e o crescimento transversal nos ossos.



Fonte: Modificado de Chinsamy e Turan (2005).

Todos esses processos de remodelação, crescimento, reabsorção e incremento ósseo contribuem para a formação de um osso compacto estratificado. Desta forma, a microestrutura óssea é diferente em cada parte do esqueleto, e até mesmo em um mesmo elemento ósseo. Quanto mais complexo o osso, maior é o processo de remodelação. Sendo assim, ossos longos

tubulares, principalmente na região da diáfise, são reconhecidos por preservar melhor a integridade da microestrutura e por contar a história de crescimento do indivíduo, já que sofrem menos remodelação (CHINSAMY, 2005).

A deposição óssea pode formar um tecido ósseo primário ou secundário. Existem diferentes tipos de tecido ósseo primário, enquanto que o tecido secundário é formado pela remodelação nos tecidos primários por um processo chamado de reconstrução secundária ou remodelação Harvesiana (CHINSAMY, 2005).

Na deposição de osso primário, pode ocorrer a formação de diferentes tipos de tecido primário: Tecido Ósseo Fibrolamelar - este tipo de tecido resulta de uma matriz óssea fibrosa e ósteons primários. A presença deste tipo de tecido em vertebrados fósseis indica rápida deposição óssea e rápido crescimento. Dependendo do arranjo dos ósteons primários, o tecido fibrolamelar pode ser subdividido em: laminar, plexiforme, radial e reticular (RAY; BANDYOPADHYAY; BHAWAL, 2009; CHINSAMY, 2005). Tecido Ósseo Lamelar ou Lamelar Zonal – apresenta um arranjo ordenado das fibras de colágeno e das lacunas dos osteócitos. A presença deste tipo de tecido indica uma deposição óssea lenta (RAY; BANDYOPADHYAY; BHAWAL, 2009; CHINSAMY, 2005). Tecido Ósseo Paralelo Fibroso – caracteriza-se por apresentar as fibras de colágeno organizadas paralelamente. A presença deste tecido indica uma condição intermediária entre o tecido fibrolamelar e o tecido lamelar zonal (RAY; BANDYOPADHYAY; BHAWAL, 2009; CHINSAMY, 2005).

A formação de tecido secundário envolve a reabsorção e o alargamento dos ósteons primários, seguido de deposição de osso lamelar na superfície reabsorvida formando ósteons secundários. A estrutura geral do osso primário fornece acesso direto sobre a forma de deposição óssea, ou seja, se esta ocorreu de forma contínua ou cíclica. A deposição cíclica fica evidente na região do osso compacto, com formação de distintos anéis de crescimento (marcas de crescimento) ou resultando em bandas formadas por diferentes tipos de tecidos. As bandas são formadas por zonas e por anéis de crescimento que podem se alternar na região de osso compacto. As zonas tendem a ser mais vascularizadas e representar períodos de rápido crescimento. Os anéis de crescimento, que podem ser compostos por *annuli* e/ou linhas de parada de crescimento (lines of arrested growth = LAGs). Enquanto os *annuli* são menos vascularizados e indicam períodos de crescimento lento, as LAGs indicam uma parada total no crescimento. A deposição contínua, ininterrupta, ocorre sem a formação de ciclos de crescimento na região de osso compacto. Neste tipo de deposição o tecido pode ser totalmente

fibrolamelar ou apresentar uma proporção de tecidos lamelar zonal e de fibras paralelas (RAY; BANDYOPADHYAY; BHAWAL, 2009; CHINSAMY, 2005).

1.4. CARACTERIZAÇÃO GERAL DA HISTOLOGIA DOS OSSOS DE PTEROSSAUROS

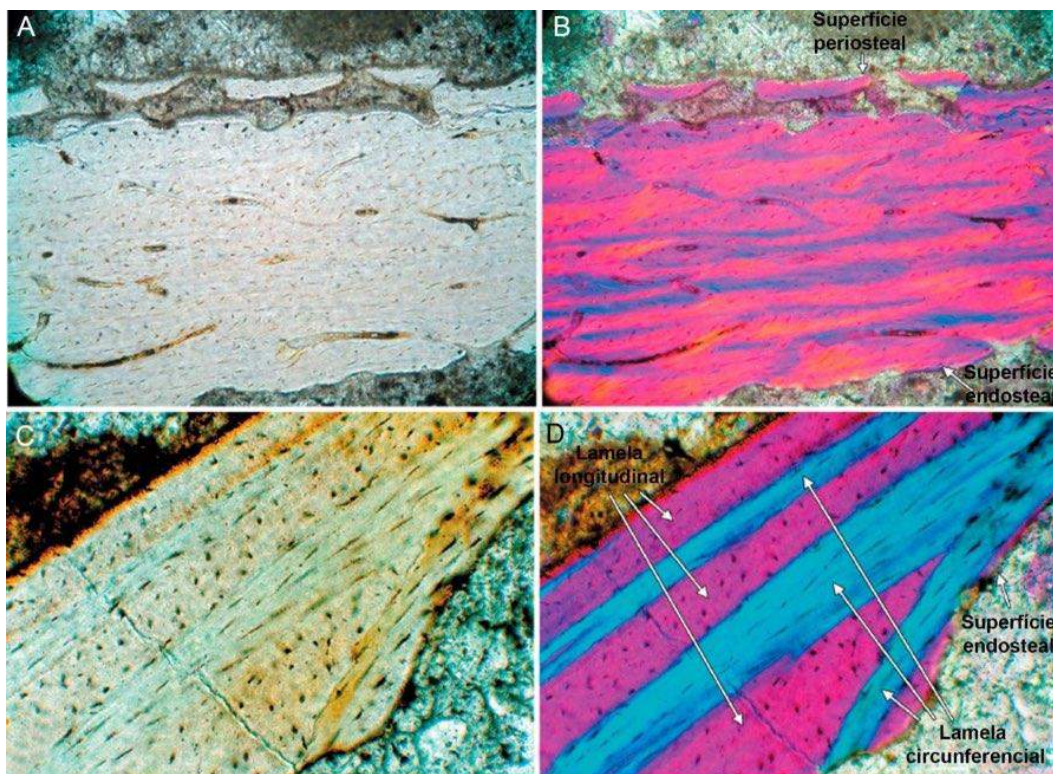
1.4.1. Tecido ósseo primário

O tecido ósseo primário, em pterossauros, é também denominado osso periosteal primário juvenil (STEEL, 2008) (Fig. 7). Quando este tecido está presente nos ossos, o córtex é inteiramente composto de tecido ósseo fibrolamelar, com numerosos canais vasculares dispostos num padrão reticular a laminar (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Na maioria dos casos os canais subjacentes ao periósteo abrem-se em direção à superfície periosteal (STEEL, 2008). Em ossos com tecido primário não há marcas de crescimento, tais como *annuli* ou LAG. Além disso, o osso não apresenta qualquer tipo de tecido secundário endosteal. Alguns ossos de pterossauros contêm um tipo incomum de tecido ósseo primário, denominado “plywood-like” (DE RICQLÈS; PADIAN; HORNER, 2000; STEEL, 2008), onde as fibras do osso e as lacunas de canais vasculares em cada lamela têm uma orientação preferencial, e esta varia de uma lamela para a próxima. Um exemplo claro de tecido “plywood-like” está presente no pterigoide de um ornithocheiridae descrito por Steel (2008), no qual a orientação das fibras alterna-se entre longitudinal e circunferencial em relação ao eixo longitudinal do osso (Fig. 7 C, D).

1.4.2. Tecido ósseo secundário

O tecido ósseo secundário em pterossauros é definido como qualquer osso que seja depositado sobre uma superfície previamente reabsorvida (PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 2001; STEEL, 2008). Em pterossauros, o osso secundário é visto na maior parte dos espécimes, particularmente em ossos pertencentes a indivíduos adultos e sub-adultos. Na maturidade, uma lamela endosteal é depositada sobre a superfície endosteal (Fig. 8) após a reabsorção endosteal ter cessado (STEEL, 2008).

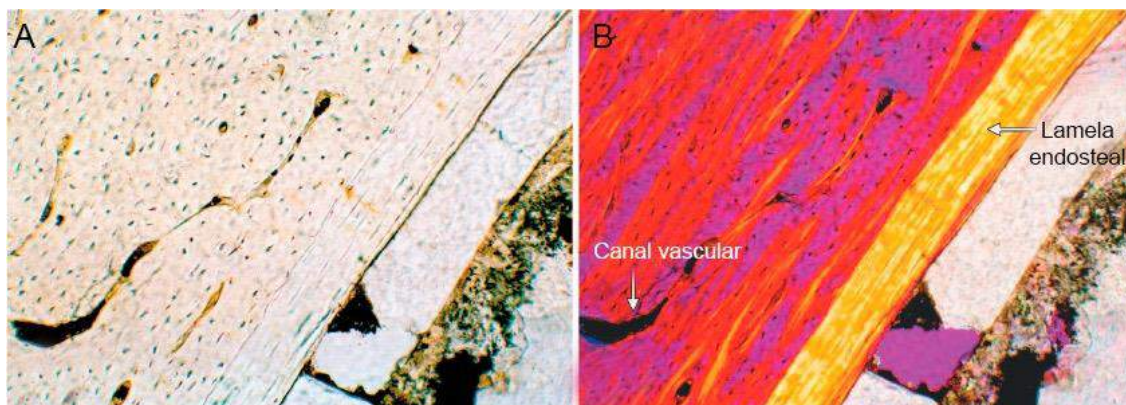
Figura 7 - A, B - Seção transversal da extremidade distal de um osso de pterossauro mostrando a posição periosteal do tecido primário fibrolamelar. A - Plano de luz polarizada longitudinal; B - Plano de luz polarizada cruzada; C, D - Seção transversal do osso composto de um pterigoide de pterossauro, mostrando o tecido primário 'plywood-like' ortogonal, com lamelas alternadas; C - Plano de luz polarizada longitudinal; D - Plano de luz polarizada cruzada.



Fonte: Modificado de Steel (2008).

A lamela endosteal é sempre avascular, orientada de modo circunferencial, e contém lacunas de osteócitos alargadas. A presença de uma lamela endosteal, na maioria das vezes, é acompanhada pela formação de uma EFS, indicando que o crescimento do perióstio também cessou ou retardou a taxas insignificantes (PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 2001; STEEL, 2008; ANDRADE et al., 2015; ELEUTÉRIO et al., 2015). No tecido ósseo secundário, o osso esponjoso pode se transformar em osso esponjoso compactado. O tecido ósseo secundário é encontrado por vezes, em todo o esqueleto de um mesmo indivíduo (STEEL, 2008). Uma característica notável para identificação de um tecido secundário é a presença de marcas de crescimento, como zonas, *annuli* ou LAGs. As marcas de crescimento são uma característica comum na maioria dos ossos de vertebrados, e geralmente representam uma diminuição na aposição óssea (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008).

Figura 8 - A, B - Corte transversal de uma ulna de pterossauro. A lamela endosteal é claramente visível, sugerindo que a reabsorção endosteal cessou nesta amostra. A: plano da luz polarizada longitudinal; B: plano de luz polarizada cruzada.



Fonte: Modificado de Steel (2008).

1.5. HISTÓRICO DOS ESTUDOS HISTOLÓGICOS EM ARCOSSAUROS

O conhecimento sobre a microestrutura óssea desenvolveu-se em paralelo com o avanço da tecnologia em microscopia (desde o microscópio de luz, microscópio com luz polarizada e, mais recentemente, os microscópios de varredura e de transmissão de elétrons) (CHINSAMY, 2005).

Os estudos pioneiros foram análises do tecido ósseo de pterossauros e dinossauros que tiveram início há mais de 150 anos atrás (OWEN, 1840; QUEKETT, 1849; 1855). Quekett foi o primeiro a reconhecer as lacunas dos osteócitos nos ossos de *Iguanodon*, as quais foram referidas por ele como "células ósseas" (CHINSAMY, 2005). Inicialmente tais estudos tinham um caráter apenas descritivo, já que análises comparativas dos dados histológicos e suas implicações paleobiológicas ainda não eram realizadas naquela época (ERICKSON; TUMANOVA, 2000). O primeiro estudo acerca da histologia óssea dos pterossauros foi o de Quekett (1849). Neste trabalho, foram descritas as estruturas presentes em secções transversais da diáfise do úmero, onde Quekett observou pela primeira vez, canais primários em ossos de pterossauros, além de canais vasculares, lacunas de osteócitos, canalículos e trabéculas no endósteo. Suas observações ficaram limitadas a essas características perceptíveis no plano de luz polarizada, já que a técnica da luz polarizada cruzada, que revela a orientação dos cristais de hidroxiapatita, e possivelmente a orientação das fibras de colágeno, só foi desenvolvida a

partir de 1874. O autor então publicou um catálogo contendo cerca de 15 lâminas de ossos de pterossauros (QUEKETT, 1855).

O primeiro trabalho sistemático sobre microestrutura óssea foi realizado em 1907, por Adolf Seitz. Neste trabalho descreveu a histologia óssea de inúmeros dinossauros (*Megalosaurus*, *Iguanodon* e *Trachodon*). Seitz é conhecido por ter estabelecido as diferenças entre canais vasculares primários e secundários no osso compacto, sendo também o primeiro a fornecer uma descrição de zoneamento ósseo em dinossauros, identificando-o como *Allosaurus* e *Stegosaurus*. Neste mesmo trabalho, Seitz (1907) descreveu detalhes histológicos da falange de um pterossauro do Jurássico, *Rhamphocephalus bucklandi* Meyer 1832, destacando a atenção para as convergências histológicas e microanatômicas entre estes pterossauros e as aves. Ele ainda observou as estruturas de uma falange alar de *Pteranodon*, encontrando características semelhantes entre estes répteis e grandes aves voadoras. Broili (1922) descreveu a microestrutura de tendões ossificados em hadrossauros e, um ano depois, Moodie descreveu tendões ossificados em *Anatosaurus* (hoje conhecido como *Edmontosaurus*). Moodie também é responsável por ter identificado diversas condições patológicas em ossos de dinossauros.

Um marco nos estudos ontogenéticos foi o trabalho realizado por Nopsca e Heidsieck, em 1933, no qual utilizaram a microestrutura óssea para distinguir diversas classes ontogenéticas entre juvenis e indivíduos imaturos de hadrossauros. Já nesta época havia ocorrido um grande avanço nos estudos relacionados com a organização fibrilar, principalmente o trabalho de Gross (1934), com a utilização de ossos de *Plateosarus* e *Brachiosaurus* para desenvolver conceitos de osso laminar e estabelecer o real significado de ósteons primários e secundários. Gross (1934) também descreveu a histologia de um osso da asa de *Dorygnathus banthensis* Theodori 1830. O autor observou no córtex da amostra ósteons primários orientados obliquamente, sem organização lamelar, inseridos em um tecido ósseo de origem perióstica. O material de pterossauro analisado por Gross (1934) foi reconhecido como pertencente a um animal quase adulto por apresentar poucos vasos sanguíneos e células com uma orientação mais ou menos circular.

Em 1947 o pesquisador italiano Amprino propôs que as diferenças encontradas no tecido ósseo são resultado de uma variação na taxa de deposição óssea, a qual não é determinada apenas pela quantidade de tecido ósseo depositado, mas também influenciada pela organização fibrilar. Assim, o tecido ósseo é um tecido vivo que registra diretamente a sua taxa de formação ao longo da existência dos indivíduos. De acordo com esta hipótese, uma baixa taxa de formação óssea resultaria em um tecido lamelar-zonal, que é caracterizado por um arranjo

organizado das fibras do colágeno e dos osteócitos, que tendem a ser mais achatados. Ao contrário, uma alta taxa de formação óssea resultaria em um tecido fibrolamelar caracterizado pelo arranjo aleatório tanto das fibras do colágeno como também dos osteócitos. Esta hipótese é amplamente aceita para identificar a taxa de formação óssea a partir do tipo de tecido ósseo depositado, sendo conhecida como regra de Amprino.

Entre os anos 1956 e 1958 os americanos Donald Brown e Sidney Enlow publicaram uma série de trabalhos nos quais foi documentado e fornecido um melhor entendimento sobre os padrões histológicos ocorrentes entre os maiores grupos de vertebrados. Nestas contribuições foi enfatizada a influência dos padrões evolutivos da paleohistologia, histologia óssea comparativa e biologia óssea. A análise comparativa entre animais recentes e fósseis, desde peixes a mamíferos, mostrou a grande variabilidade apresentada pelo tecido ósseo (histovariabilidade).

Enlow e Brown (1956, 1957, 1958) em suas análises revelaram no córtex de uma costela de *Pteranodon* uma trama de padrão reticular, formada por canais vasculares, semelhante aquele descrito para muitas aves, indicando tratar-se de osso primário. Estes autores introduziram, ainda, uma classificação de tecidos ósseos com base na presença ou ausência de canais vasculares, sua orientação e outras características histológicas.

Em 1963, Enlow publicou seu livro "Principles of Bone Remodeling", no qual há uma mudança de uma abordagem extensivamente comparativa para uma análise intensiva em modelos ósseos, selecionando apenas poucas espécies. Enlow defendia que para decifrar o significado biológico da diversidade e complexidade do tecido ósseo, é necessário reduzir os possíveis fatores casuais da diversificação, selecionando alguns modelos bem definidos e, a partir disso, estudá-los intensivamente. Esta nova abordagem nos estudos com histologia óssea mostrou a influência da ontogenia na histovariabilidade. O autor relacionou, ao invés de estrutura e função, uma explicação mais completa de remodelação e crescimento de uma maneira funcionalmente significativa.

Na década de 1960, John Currey, pesquisador bastante conhecido pelos seus trabalhos relacionados com propriedades mecânicas de ossos de animais modernos, também contribuiu para um melhor entendimento sobre a estrutura dos tecidos ósseos e, especialmente, sobre a vascularização em diferentes grupos de vertebrados. Em 1962, Currey descreveu o tecido ósseo de dois prossaurópodes provenientes do Zimbábue, verificando que este era densamente vascularizado, mais do que o encontrado em répteis modernos (excluindo aves) e equivalentes

ao encontrado em mamíferos recentes de tamanho similar. Currey postulou que esse alto nível de vascularização encontrado nos prossaurópodes poderia estar relacionado com especializações fisiológicas que não são vistas nos répteis atuais.

Em 1969 Donald Enlow participou do primeiro volume da famosa série "Biology of the Reptilia" de Carl Gans, no qual realizou uma detalhada revisão sobre a microestrutura óssea de répteis recentes e fósseis. Ilustrou também a microestrutura de uma costela de *Triceratops* mostrando a ocorrência de reconstrução secundária. Além disso, Enlow notou que a presença extensiva de remodelação Harvesiana é, em geral, uma característica encontrada tanto nos dinossauros ornitísquios quanto em saurísquios.

No início da década de 1970 o anatomista francês Armand de Ricqlès, avançou para o campo de paleohistologia publicando vários estudos sobre uma grande variedade de tetrápodes extintos, incluindo terápsidos não-mamalianos e dinossauros não-avianos. Os resultados de sua tese de doutorado foram publicados numa série de 12 artigos, todos nos *Annales de Paléontologie* de 1968 até 1981, sob o título geral *Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes* (RICQLÈS, 1968; 1969; 1972; 1974a; 1974b; 1975; 1976; 1977a; 1977b; 1978a; 1978b; 1981). Estes trabalhos foram importantes, pois analisaram a geração do tecido ósseo e a forma como este crescia dentro do esqueleto apendicular, explicando como um único osso pode expressar diferentes subtipos de tecidos em diferentes regiões, bem como a presença de diferentes subtipos de tecidos durante o desenvolvimento até à maturidade do indivíduo.

Em seus trabalhos de Ricqlès adicionou um nível de inferência nas suas análises paleohistológicas relacionando a taxa de deposição óssea com a fisiologia. Desde o início dos seus trabalhos, Ricqlès estava interessado na conexão entre o tecido ósseo e o metabolismo. Ricqlès (1974c; 1976; 1980), analisando a distribuição do tecido ósseo em diferentes grupos de tetrápodes, reportou que o tecido ósseo compacto dos dinossauros compunha-se por tecido fibrolamelar com remodelação Harvesiana, diferindo do tecido lamelar zonal típico dos répteis e sendo mais similar com o tecido encontrado em mamíferos e aves, que apresentam alta taxa de crescimento e rápida deposição óssea. Este fato foi posteriormente contestado por Reid (1981).

Em 1981 Reid, anunciou a presença de tecido lamelar zonal em dinossauros saurópodes, sugerindo que o tecido ósseo depositado em dinossauros seria resultado de altas taxas de deposição, como encontrado em animais endotérmicos. Posteriormente, Reid publicou uma

série de artigos relacionando a microestrutura óssea com a fisiologia (e.g. REID, 1984a; 1984b; 1987; 1990; 1993; 1997a) e crescimento (e.g., REID, 1997b) em dinossauros.

No final da década de 1980, Ricqlès iniciou uma parceria com John R. Horner, da Universidade de Montana, nos Estados Unidos. Horner havia descoberto uma série ontogenética de esqueletos de um dinossauro indeterminado, que variava desde embriões até indivíduos adultos (HORNER; MAKELA, 1979; HORNER; GORMAN, 1988). A partir da década de 1990, Ricqlès e Horner passaram a focar suas pesquisas no crescimento e na evolução do tecido ósseo, em arcossauros. Identificaram quatro fatores que parecem controlar a presença de determinado tecido ósseo numa certa região: ontogenia, filogenia, meio ambiente e fatores mecânicos.

Um trabalho sobre a ontogenia do pterossauro *Pteranodon*, no qual foram examinadas secções transversais de ossos da asa de diferentes indivíduos e de diferentes estágios ontogenéticos, foi publicado por Bennett (1993). Foram utilizados vários critérios como a distribuição dos canais vasculares, as estruturas das superfícies epifisárias e a histologia óssea para apoiar a ideia de que o crescimento de *Pteranodon* se dava de forma rápida. Além disso, foi verificada a similaridade com aves e mamíferos, devido à ocorrência de tecido fibrolamelar nas diáfises de indivíduos imaturos. Bennett (1995; 1996a) também estudou a distribuição dos tamanhos de pterossauros dos calcários de Solnhofen, na Alemanha, incluindo os gêneros *Rhamphorhynchus* e *Pterodactylus*. Ele concluiu que a maioria dos espécimes eram jovens, não havendo, portanto, muitas espécies distintas dentro de cada gênero. Dessa forma, Padian e colaboradores em 1995 analisaram a histologia dos ossos de um pequeno pterossauro, *Montanazhdarcho minor* Padian, de Ricqlès e Horner 1995, revelando que, embora fosse relativamente pequeno para essa linhagem, estes pterossauros apresentavam estruturas condizentes a um estágio adulto (PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 1995).

A técnica paleohistológica desdobrou-se nos anos subsequentes como uma importante ferramenta em diversos estudos e deixando de ser o propósito principal das pesquisas. Chiappe e Chinsamy (1996) utilizaram a análise histológica para concluir que os dentes de *Pterodaustro* seriam dentes verdadeiros, e não estruturas semelhantes às encontradas em baleias. Já Unwin et al. (1996) concluíram que o osso pteróide não apresentava características de tendões ossificados, mas sim de um osso verdadeiro.

Um trabalho completo, contendo a descrição detalhada das estruturas ósseas em pterossauros, foi elaborado por de Ricqlès et al. (2000). Neste, foram analisados os aspectos

ontogenéticos de pterossauros, sugerindo que os mesmos cresceram rapidamente até que um determinado tamanho adulto fosse atingido e, após o crescimento, cessaria repentinamente. Os autores também discutiram as propriedades biomecânicas de alguns aspectos da histologia óssea e microestrutura dos pterossauros, propondo a presença de uma estrutura única presente em seus ossos, que denominaram de “plywood-like”.

Na primeira análise histológica de um pterossauro do Triássico, Jenkins et al. (2001) examinaram a histologia de um fêmur de um pequeno espécime de *Eudimorphodon*, da Groenlândia, para determinar o seu estágio ontogenético. Eles descreveram um estágio juvenil devido à ausência das características esperadas para classificá-lo como um animal muito jovem ou adulto. No entanto, a alteração diagenética dificultou a análise histológica. Foram encontradas na matriz do tecido fibras paralelas com canais vasculares primários orientados longitudinalmente e a epífise continha trabéculas e cartilagem calcificada.

Sayão et al. (2000) realizaram o primeiro estudo histológico detalhado em pterossauros do Grupo Santana. Sayão et al. (2000) e Sayão (2003) relataram a utilização de técnicas histológicas para comparar a microestrutura óssea de um Anhangueridae da Formação Romualdo com um Tapejaridae da Formação Crato. O trabalho trouxe como resultado a inferência de diferentes taxas de crescimento em dois ossos distintos de um mesmo indivíduo, indicando haver uma histovariabilidade e remetendo a um crescimento alométrico nas asas desses animais. Essa variação não foi observada no espécime da Formação Crato, que apresentou evidências de crescimento rápido (SAYÃO, 2003).

A comparação entre pterossauros e dinossauros de pequeno porte foi feita por Padian et al. (2004), que para tal, utilizaram-se da histologia dos ossos de *Eudimorphodon*, *Dimorphodon* e *Rhamphorhynchus*. Os tecidos destes três pterossauros sugeriram um crescimento bastante rápido durante o início da ontogenia, sendo este retardado quando a idade adulta era atingida. Esses autores compararam os tecidos fibrolamelar em pequenos pterossauros, dinossauros, crocodilos e aves fósseis com os de aves e crocodilos atuais para que as taxas de crescimento fossem determinadas e sobrepostas em um cladograma.

A partir dos anos 2000 outros trabalhos histológicos têm focado na comparação do tecido ósseo dos dinossauros com répteis vivos e extintos (incluindo aves) (DE RICQLÈS; PADIAN; HORNER, 2003; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 2001; MAIN et al., 2005; PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 2001), bem como o crescimento nos dinossauros com relação aos pterossauros (DE RICQLÈS et al., 2000; PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS,

2004) e também aos crurotársios (DE RICQLÈS; PADIAN; HORNER, 2003). Ultimamente, trabalhos analisando a histologia óssea de arcossauromorfos não-arcossauros têm fornecido importantes informações sobre os padrões de crescimento destes grupos (e.g DE RICQLÈS et al., 2008; NESBITT et al., 2009; BOTHA-BRINK; SMITH, 2011). De Ricqlès et al. (2008) descreveram a histologia óssea de diversos grupos basais, dentre eles o rincossauro *Scaphonyx*, caracterizado como tendo um crescimento tipicamente reptiliano (isto é, apresentando crescimento lento durante toda a sua vida). Cabe salientar que estas conclusões são muito pontuais, pois basearam-se em apenas costelas e em ossos não identificados de materiais provenientes do Triássico Superior da Argentina (Formação Ischigualasto). Neste trabalho, de Ricqlès e colaboradores também descreveram diversos grupos de arcossauriformes, sendo destaque a descrição realizada para o eritrosúquio *Erytrosuchus*, que foi caracterizado por apresentar um tecido ósseo similar ao encontrado nos dinossauros de crescimento rápido. Este táxon também foi descrito por Botha-Brink e Smith (2011), tendo os autores encontrado o mesmo tipo de tecido descrito por de Ricqlès et al. (2008). Devido a estes resultados, ambos os estudos propuseram que a capacidade de atingir altas taxas de crescimento estaria presente a partir dos arcossauriformes, enquanto que arcossauromorfos não arcossauriformes manteriam a condição reptiliana. No entanto, a presença de outros arcossauriformes (e.g., *Vancleavea* e *Euparkeria*) com crescimento similar a *Scaphonyx*, e levando-se em consideração os poucos materiais analisados, fazem com que estes resultados sejam vistos de maneira preliminar (DE RICQLÈS et al., 2008; BOTHA-BRINK; SMITH, 2011).

Steel (2008) fez um apanhado histórico acerca dos estudos realizados com a histologia óssea em pterossauros, utilizando-se para isto de ossos inteiros de pterossauros e fragmentos pertencentes a coleções de museus e universidades. Neste trabalho, Steel (2008) pode perceber que os ossos são estrutural e histologicamente semelhantes aos de aves, por apresentarem paredes finas e predominantemente fibrolamelares, mas exibem recursos especializados ainda não descritos em aves, como a estruturação "plywood-like" (STEEL, 2008). Ossos de pterossauros parecem não ter qualquer tipo de correlação reprodutiva, o que se comprova com a descrição de um embrião de pterossauro em uma casca de ovo fina (WANG; ZHOU, 2003; WANG et al., 2015).

Ossos de *Pterodaustro*, um dos poucos táxons de pterossauros que apresentam sequências ontogenéticas conhecidas, foram utilizados para obter informações sobre as mudanças ontogenéticas dos elementos esqueléticos de vários indivíduos por Chinsamy et al. (2008). Para tal, vários ossos longos, como fêmur, úmero, tíbia, ulna e radio, foram analisados.

Os autores observaram que, após a eclosão, os juvenis cresceram rapidamente durante cerca de 2 anos, até que chegassem a aproximadamente 53% do seu tamanho e, logo após essa pausa, atingiam sua maturidade sexual. Depois disso, o crescimento continuou durante, pelo menos, 3 ou 4 anos, com taxas relativamente mais lentas, até que os tamanhos corporais adultos fossem atingidos, concluindo-se que *Pterodaustro* apresentava uma estratégia de crescimento determinado (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2008). Utilizando ossos de *Pterodaustro*, numa continuação do trabalho anterior, Chinsamy et al. (2009), verificaram as alterações na microestrutura do osso. Foi possível inferir, com este estudo, a dinâmica de crescimento desde o início da ontogenia até a idade adulta desse táxon, além de fornecer informações relativas à variabilidade histológica dos ossos dos indivíduos analisados. Este trabalho documenta também a presença do que parece ser o tecido do osso medular dentro da cavidade medular em um fêmur de *Pterodaustro* (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). Isto sugere que, assim como os pássaros, os pterossauros fêmeas poderiam ter depositado um tecido ósseo especial para lidar com a demanda de cálcio no período reprodutivo.

Foram amostrados ossos de cinco espécimes de *Rhamphorhynchus* para o estudo elaborado por Prondvai et al. (2012) sobre a diversidade nas estratégias de crescimento. A fase de crescimento rápido no início da ontogenia confirma a natureza não-volante de seus filhotes, e refuta a hipótese dos filhotes precoces, amplamente aceita. Sugeriu-se o surgimento do voo motorizado e não da reprodução como a causa da transição da fase de crescimento rápido a uma fase de crescimento mais lento prolongado. A primeira fase é seria indicada pela presença dominante do osso fibrolamelar nos juvenis, enquanto a segunda pela deposição óssea paralela de fibras compridas e linhas de pausa de crescimento no córtex. Esta transição também foi observada em *Pterodaustro*.

O maior réptil voador da Gondwana, o pterossauro *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus*, e outros pterossauros de grande porte da Formação Romualdo, foram analisados por Kellner et al. (2013). Neste estudo foi observado que os pterossauros grandes ou gigantescos, com envergadura maior do que 7,4 m, teriam evoluído já em meados do Cretáceo e formado uma parcela significativa da fauna de pterossauros da Formação Romualdo. Este trabalho fornece também as primeiras informações sobre o esqueleto pós-cranial de *Tropeognathus*, indicando que houve pouca variação morfológica dentro dos Anhangueridae.

1.6. OBJETIVOS

1.6.1. Geral

Descrever e comparar as estruturas morfológicas e histológicas, bem como analisar detalhadamente os seus estágios ontogenéticos dos diferentes espécimes fósseis de pterossauros encontrados no Grupo Santana (Formação Romualdo - Brasil) e no Grupo Tugulu (Subgrupo *d* - China).

1.6.2. Específicos

- Descrever novos espécimes de pterossauros do Grupo Santana;
- Traçar padrões de crescimento de representantes do clados Anhangueridae;
- Traçar padrões de crescimento do pterossauro do gênero *Hamipterus*;
- Identificar, por amostragem, o estágio ontogenético dos indivíduos das duas localidades.

2. ESTRUTURA DA TESE

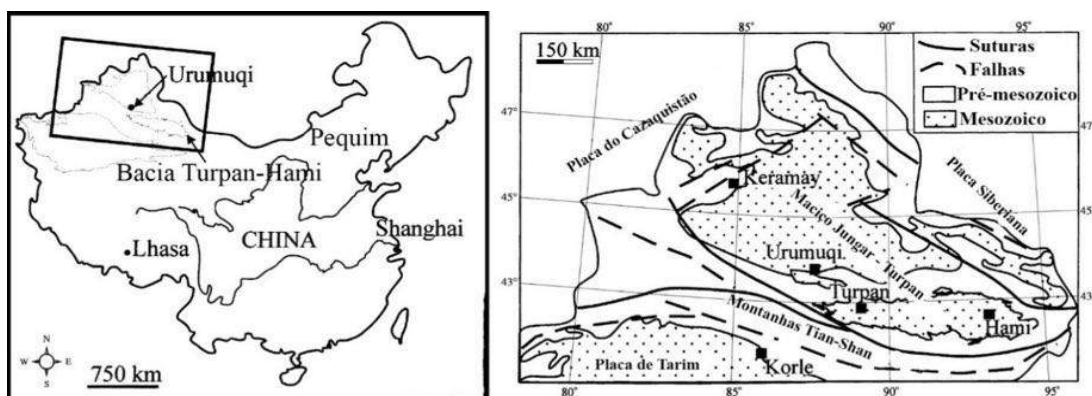
Esta tese apresenta uma introdução com o estado da arte do tema abordado. Um segundo capítulo explora a Geologia Regional das formações geológicas, de onde os fósseis analisados neste estudo são advindos. O terceiro capítulo traz a metodologia científica utilizada, desde a etapa de campo até os procedimentos laboratoriais detalhados. Os resultados da tese estão divididos em 4 manuscritos que estão ou serão submetidos para 4 publicações em periódicos cujo escopo atenda os resultados obtidos em cada artigo, e sigam a especificação do regimento do PPGEOC. O manuscrito I: *Um jovem pterossauro gigante: um novo espécime de anhanguerideo (Pterosauria, Pterodactyloidea) da Formação Romualdo, Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil* aborda a descrição morfológica e osteohistológica de um pterossauro de grandes proporções preservado em uma laje carbonática da Formação Romualdo, mas que apresenta um estágio ontogenético pouco avançado. O manuscrito II: *O curioso caso da ontogenia de pterossauros: usando a osteologia e a osteohistologia para determinação do desenvolvimento somático dos anhanguerídeos* inclui uma análise detalhada das principais feições macroscópicas (fusão e textura superficial de ossos) e microscópicas (osteohistologia), de seis espécimes de Pterodactyloides da Formação Romualdo, o manuscrito III: *História de vida do peculiar pterossauro Hamipterus tianshanensis da China, baseado em inferências paleohistológicas* busca estabelecer a história de vida deste pterossauro Pteranodontoide, utilizando alguns ossos isolados e traçando padrões ontogenéticas desta população de pterossauros eocretáceos. O manuscrito IV: *Conhecimento atual sobre a paleohistologia de pterossauros (Archosauria, Reptilia)* inclui um histórico abrangente de todos os trabalhos sobre paleohistologia de pterossauros, compilando o que se sabe atualmente sobre os tipos de tecidos ósseos destes répteis alados.

3. GEOLOGIA REGIONAL

3.1. BACIA TURPAN-HAMI

A Bacia Turpan-Hami, juntamente com as Bacias Junggar e Tarim, no Noroeste da China, são consideradas os maiores depósitos sedimentares do Mesozoico e do Cenozoico da China (GREENE et al., 2005), depósitos estes derivados do cinturão orogênico chinês Tian Shan (GREENE et al., 2005). A Bacia Turpan-Hami está localizada na parte oriental da Região Autônoma de Uigur de Xinjiang, no Noroeste da China (Fig. 9), sendo uma das três grandes bacias petrolíferas situadas ao longo da antiga Rota da Seda em Xinjiang (HAN; YANG, 1980; HSU, 1989). A Bacia Turpan-Hami é alongada lateralmente e está delimitada ao norte pelas Montanhas Bogda e ao sul pelas Montanhas Tian-Shan (CHEN et al., 2001). Possui um tamanho de aproximadamente 660 km de comprimento e varia de 60 a 80 km de largura, com uma área total de 50.000 km² (GREENE et al., 2004).

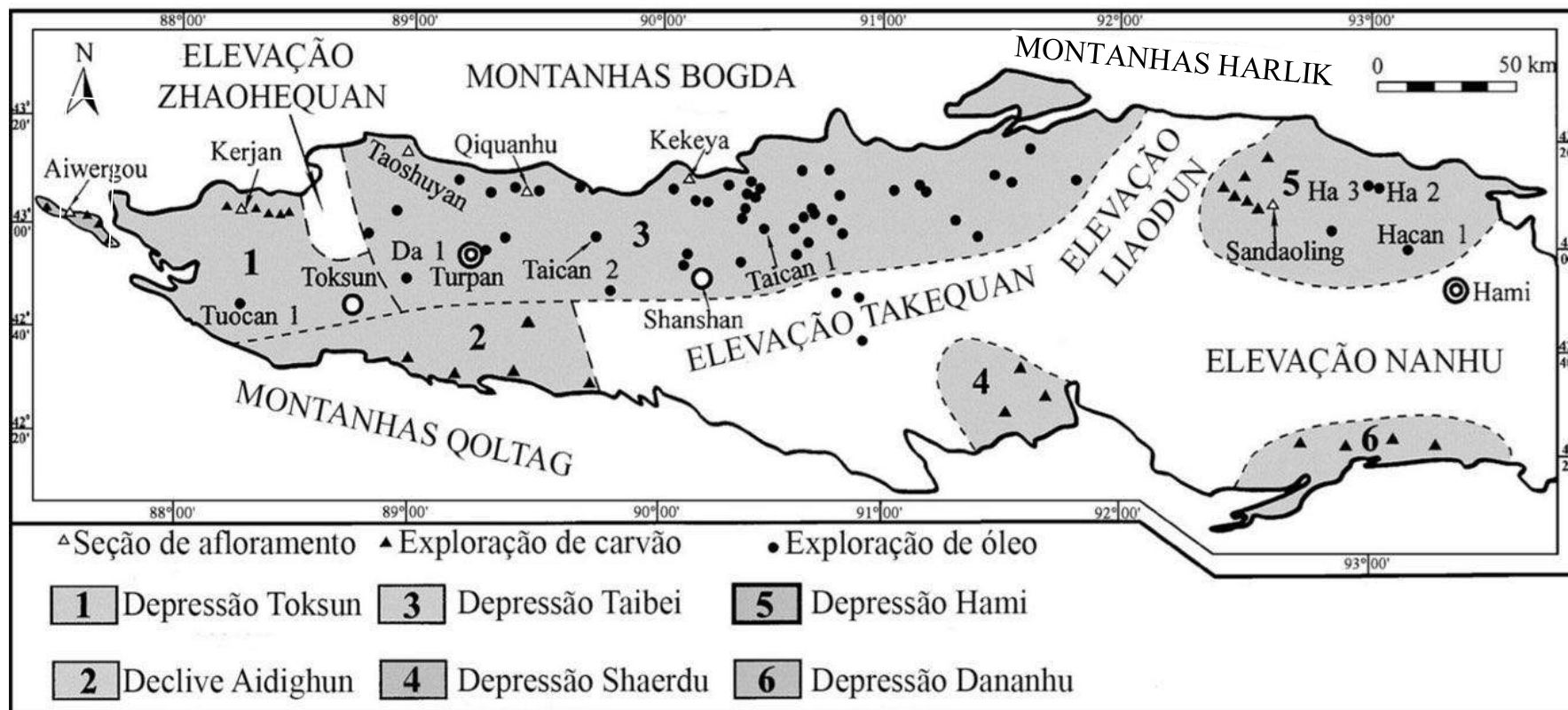
Figura 9 - Mapa mostrando a localidade e posição tectônica da Bacia Turpan-Hami.



Fonte: Modificado de Wang et al. (1993).

Esta Bacia é composta por três unidades tectônicas de primeira ordem: depressão Turpan a oeste, Liaodun Uplift ao centro e a depressão Hami a leste (WANG et al., 1998; LI et al., 2001) (Fig. 10). A depressão Turpan pode ser subdividida em sete unidades tectônicas de segunda ordem, sendo estas: Taibei Sag ao norte; Keyayi Sag, Bujaier Salient e Tuokexun Sag a oeste; e Luxi Salient, Tainan Sag e Takequan Salient ao sul. A depressão Hami pode ser subdividida em três unidades tectônicas de segunda ordem: Sanbao Sag, Huoshizheng Sag e Huangtian salientes (YUAN; LIANG; YAN, 2002).

Figura 10 - Mapa mostrando a maioria das unidades tectônicas e poços de exploração na Bacia Turpan-Hami.

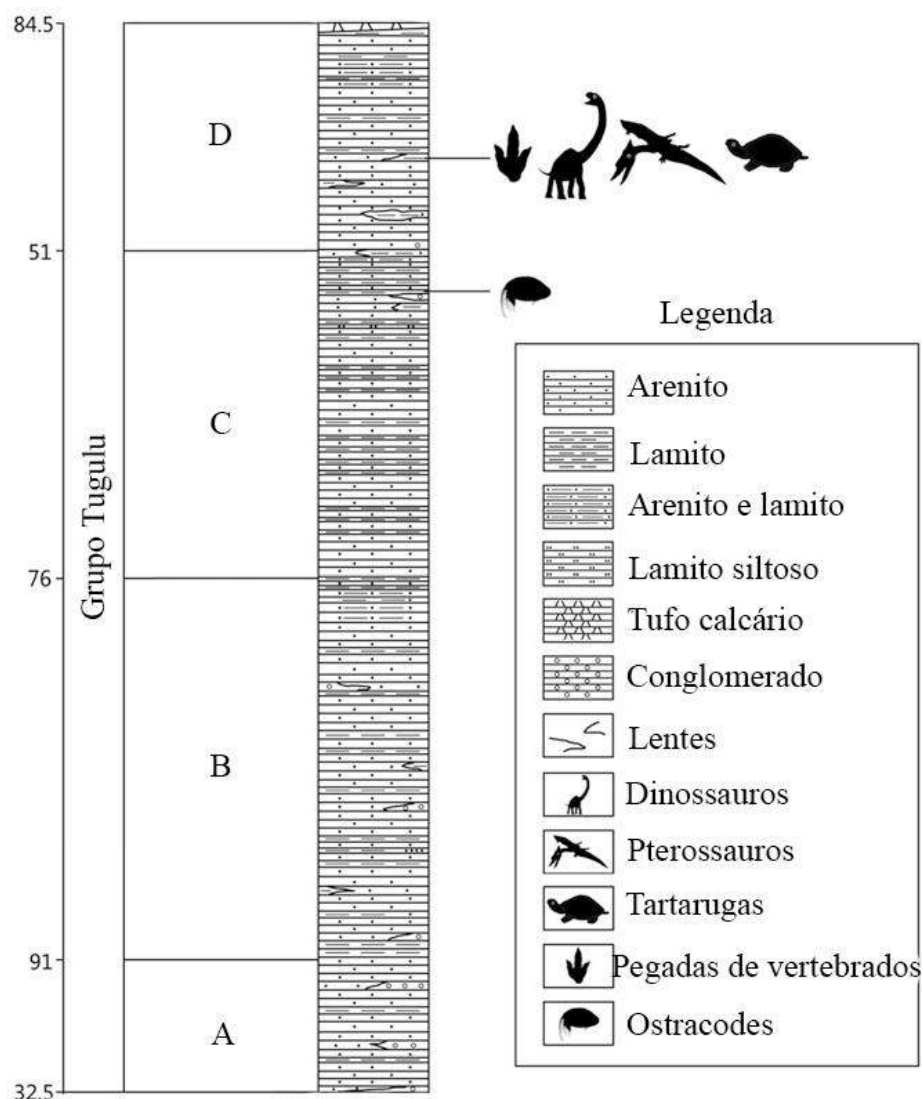


Fonte: Modificado de Shao et al. (2003).

No Nordeste da China, rochas datadas do Cretáceo Inferior são bem documentadas em várias bacias, mas o Cretáceo Superior é pouco registrado e escasso (GREENE et al., 2004). O limite Cretáceo Inferior-Superior tem sido estudado em maiores detalhes na Bacia Zhungeer de Xinjiang, onde a Formação Donggou do Cretáceo Superior apresenta uma desconformidade recobrimdo o Grupo Tugulu do Cretáceo Inferior. A Formação Donggou é caracterizada por uma assembleia de ostracodes do gênero *Talicypridea*, dominada por *Talicypridea amoena* (Liu) e *T. gemma* (Galeeva). O Grupo Tugulu, por outro lado, é caracterizado por uma assembleia de ostracodes do Cretáceo Inferior, representada por *Cypridea unicostata* Galeeva, *C. koskulensis* Mandelstam e *Clinocypris scolia* Mandelstam (YOUNG, 1973).

A Bacia Turpan-Hami possui uma sequência sedimentar bem desenvolvida do Carbonífero ao Quaternário. Durante a formação inicial desta bacia ocorreram inúmeras incursões marinhas; dessa forma, as camadas do Carbonífero ao Permiano Inferior (carbonatos marinhos, vulcanoclastos e rochas silícicas) representam as mais antigas rochas sedimentares que, atualmente, não são metamorfizadas (LI et al., 2001). O Grupo Tugulu, Cretáceo Inferior da Bacia Turpan-Hami, é registrado nas bacias de Junggar, Tarim e Turpan, e subdivide-se de diferentes maneiras em locais distintos (ver HENDRIX et al., 1992) possuindo nomenclaturas distintas. O mapa do levantamento geológico (1: 200 000) da Região Autônoma de Xinjiang (Divisão 2 1978) reconhece quatro subgrupos dentro do Grupo Tugulu (Noroeste de Xinjiang), que foram identificados em ordem estratigráfica ascendente como *a-d* (BRINKMAN et al., 2001) (Fig. 11). Tais subgrupos consistem em associações de fácies distintas que indicam mudanças deposicionais durante o Cretáceo Inferior desta Bacia. Análises paleoambientais mostram que as associações de fácies incluem depósitos dos tipos: planície deltaica distal (Tugulu *a*), planície de inundação fluvial entrelaçada (Tugulu *b* e *d*) e fluvio-lacustre (Tugulu *c*) (BRINKMAN et al., 2001). Na área da Bacia Turpan, o subgrupo Tugulu *c* é composto por camadas de lâminas intercaladas (em uma escala de decímetros até metros) de lamitos avermelhados maciços, folhelhos acinzentados e arenitos muito finos, com seixos intraformacionais e clastos de dessecação. Esta associação de fácies é interpretada como depósitos de deltas, extensas planícies aluviais com um gradiente baixo, ambiente sazonalmente árido que era dominado por lagos efêmeros, extensas planícies de inundação e pântanos (EBERTH et al., 1995; BRINKMAN et al., 2001).

Figura 11 - Seção estratigráfica geral do Grupo Tugulu.



Fonte: Modificado de Xing et al. (2013).

A camada superior do Grupo Tugulu (unidade *d*) em Wuerhe (anteriormente Wuerho ou Urho) contém uma fauna de vertebrados datada do Cretáceo Inferior (DONG, 2001). Esta fauna é caracterizada por uma abundância de psitacossauros (Ceratopsia) e dsungaripterideos (pterossauros pterodactilóides); espécimes de estegossauros do gênero *Wuerhosaurus*; e vários terópodes, também recuperados a partir desta mesma unidade (DONG, 1973; 1990; MAIDMENT et al., 2008); além do registro de abundantes pegadas de dinossauros e aves (XING et al., 2011). No entanto, os fósseis de vertebrados das camadas inferiores do Grupo Tugulu são escassos, consistindo apenas em restos de *Dsungaripterus* sp. e *Wuerhosaurus* sp. (XING, 2013).

Os espécimes do pterossauro *Hamipterus*, analisados nesta tese, foram coletados no subgrupo *Tugulu d.* Neste subgrupo, dentro da sequência sedimentar, existem algumas camadas intermediárias de tempestitos, em que os arenitos brancos-acinzentados e brechas de lamitos castanhos foram depositados em diferentes profundidades do lago e estão misturados (BRINKMAN et al., 2001). Essas camadas de tempestitos, onde foram encontrados os ossos de pterossauros, sugerem que grandes tempestades causaram uma mortandade, dando origem a um depósito caracterizado como *fossil-lagerstätte* com uma população de pterossauros bem preservada, incluindo indivíduos de diferentes estágios ontogenéticos, machos e fêmeas (WANG et al., 2014).

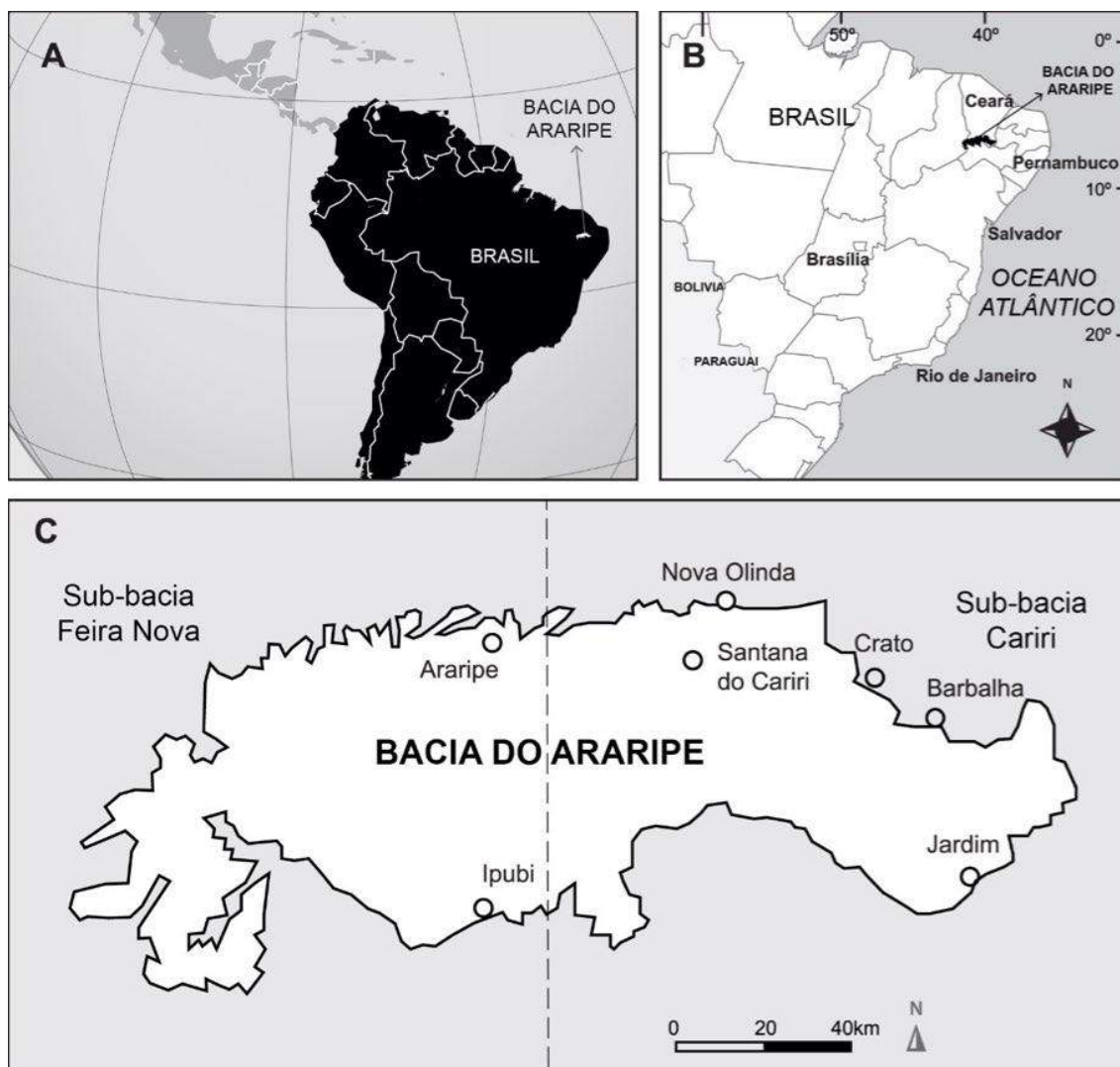
3.2. BACIA DO ARARIPE

A Bacia do Araripe está localizada na Região Nordeste do Brasil (Fig. 12), na parte central da província Borborema (ALMEIDA; HASUI, 1984). Esta é uma bacia intracratônica e a mais extensa das bacias interiores do Nordeste brasileiro; além de apresentar a história geológica mais complexa (MABESOONE; VIANA; LIMA FILHO, 1994). Ela encontra-se implantada em terrenos pré-cambrianos da zona Transversal da Província Borborema, a sul do Lineamento de Patos (ASSINE, 2007). A Bacia do Araripe está intimamente ligada a separação dos continentes Sul Americano e Africano e a abertura do Oceano Atlântico Sul (VALENÇA; NEUMANN; MABESOONE, 2003). Os ciclos de deposição desta bacia estão associados aos mecanismos tectônicos de separação dos continentes da margem atlântica, são estes: o pré-rifte - estágio anterior à separação, o sin-rifte - estágio simultâneo ao esforço de fragmentação dos blocos continentais e o pós-rifte - estágio posterior a esta fragmentação (ASSINE, 2007). A Bacia é composta de duas sub-bacias: Cariri e Feira Nova, que se estendem a Leste além dos limites atuais da Chapada, ocupando a depressão do Vale do Cariri, onde afloram unidades das sequências paleozoica, pré-rifte e rifte (ASSINE, 2007).

Devido à complexidade deposicional da Bacia do Araripe, a sua estratigrafia é bastante complexa e controversa, e têm sofrido subseqüentes mudanças para um maior detalhamento (e.g., BEURLIN, 1962; 1971; MABESOONE; TINOCO, 1973; BRITO-NEVES, 1990; PONTE; APPI, 1990; PONTE; PONTE-FILHO, 1996; NEUMANN; CABRERA, 1999; VIANA; NEUMANN, 2002; VALENÇA; NEUMANN; MABESOONE, 2003; MARTILL; BECHLY; LOVERIDGE, 2007; ASSINE, 2007; KELLNER et al., 2013). A estratigrafia

utilizada nesta tese é a proposta por Neumann e Cabrera (1999) que realizaram uma revisão detalhada da estratigrafia, elevando a Formação Santana para a categoria de Grupo e os membros Crato, Ipubi e Romualdo para Formações.

Figura 12 - A – Localização da Bacia do Araripe na América do Sul; B - A Bacia do Araripe dividida entre os estados do Ceará, Piauí e Pernambuco no Nordeste do Brasil; C - Esboço da Chapada do Araripe.



Fonte: Modificado de Sayão et al. (2011).

Nesse contexto geológico, algumas formações se destacam do ponto de vista paleontológico, por exemplo, a Formação Missão Velha apresenta diversos troncos fósseis, sendo considerada do Jurássico Superior (ASSINE, 2007). As camadas mais fossilíferas da região, no entanto, pertencem ao Grupo Santana e devem a origem do seu nome à descrição inicial de Small (1913) com o nome de “calcário de Sant’ana”, referente às camadas laminadas

da atual Formação Crato. A Formação Crato, de idade Aptiana, é composta de sucessivas camadas de calcário laminado e originada de um sistema lacustre hipersalino e raso, de águas calmas (ASSINE et al., 2014). A Formação Crato está posicionada na porção inferior do Grupo Santana e representa cerca de 5.500 km² de área total (VIANA; NEUMANN, 2002). O conteúdo fossilífero desta formação inclui uma imensa variedade de fauna e flora, que contém fragmentos de plantas (CRANE; MAISEY, 1991; MOHR; FRIIS, 2000; BERNARDES-DE-OLIVEIRA et al., 2003; LIMA; SARAIVA; SAYÃO, 2012), insetos (MARTINS-NETO, 2001), ostracodes (BERTHOU, 1990), conchostráceos (CARVALHO; VIANA, 1993), peixes (SANTOS, 1947; CASTRO-LEAL; BRITO, 2004), anfíbios (KELLNER; CAMPOS, 1986; BAEZ; MOURA; BATTEN, 2009), pterossauros (FREY; MARTILL, 1994; SAYÃO; KELLNER, 2000; 2006; KELLNER; CAMPOS, 2007; WITTON, 2008; PINHEIRO et al., 2011), Aves (SAYÃO; SARAIVA; UEJIMA, 2011; PRADO et al., 2016; CARVALHO et al., 2016), tartarugas (OLIVEIRA; KELLNER, 2007; OLIVEIRA; ROMANO, 2007), lagartos (SIMÕES, 2012) e crocodilomorfos (SALISBURY et al., 2003; FIGUEIREDO; KELLNER, 2009; SAYÃO et al., 2016).

A Formação Ipubi está intermediária aos dois *fossilagerstätten* (*sensu* VALENÇA; NEUMANN; MABESOONE, 2003). Seu estudo se dá principalmente devido a exploração das camadas de evaporitos que são explorados para a extração de gipsita (SARAIVA et al., 2007). Representa a fácies evaporítica de um sistema lacustre, composta por gipsita e anidrita (NEUMANN; CABRERA, 1999). As camadas de gipsita chegam a uma espessura máxima de 30 m e são lateralmente descontínuas, sendo intercaladas por folhelhos, carbonatos e arenitos (VIANA; CAVALCANTI, 1989). Seu conteúdo paleontológico, apesar de promissor, permanece ainda pouco estudado (LIMA; SARAIVA; SAYÃO, 2012). Dentre os espécimes fósseis já coletados estão os ostracódes, conchostráceos, fragmentos de gimnospermas e pteridófitas, coprólitos, peixes, quelônios (VIANA; CAVALCANTI, 1989; OLIVEIRA et al., 2011). Os fósseis estão sempre associados aos folhelhos pirobetuminosos, lateralmente em contato com os níveis de gipsita.

A Formação Romualdo (idade Aptiana-Albiana) é um dos *fossilagerstätten* mais conhecidos do mundo, apresentando uma extensa história de descobertas (MAISEY, 1991). A Formação Romualdo é constituída por camadas sobrepostas de folhelhos cinzas-esverdeados com níveis de concreções carbonáticas, arenitos finos, margas, calcários e raros níveis de folhelhos pirobetuminosos (VALENÇA; NEUMANN; MABESOONE, 2003). As concreções são compostas de calcário micrítico, finamente laminado, concordante com as lâminas de

folhelhos que as contém (SARAIVA et al., 2007). Do ponto de vista paleogeográfico, as sessões mais superiores da Formação Romualdo sugerem a ocorrência de uma incursão marinha (FARA et al., 2005). Essa sequência é interpretada como um lago de um ciclo de golfo, uma parte de um complexo sistema originado pela separação da América do Sul da África (VALENÇA; NEUMANN; MABESOONE, 2003). Os afloramentos da Formação Romualdo estão localizados nas encostas da Chapada do Araripe (Fig. 13), logo abaixo das camadas arenosas da Formação Araripina e, sobretudo, da Formação Exu, a uma cota média de 700m de altitude. Sua seção tipo foi definida na Mina Pedra Branca (município de Nova Olinda, CE), tendo como localidades de referência o Sítio Romualdo (Município de Crato, CE) e a Serra do Mãozinha (município de Missão Velha, CE) (VIANA; CAVALCANTI, 1989).

Figura 13 - Afloramento de parte do Grupo Santana, em uma mineradora desativada de extração de gipsita, no município de Araripina (PE), porção sudoeste da Bacia do Araripe.



Foto: Gustavo Oliveira.

Os fósseis preservados no núcleo das concreções calcárias da Formação Romualdo estão, geralmente, não compactados e extremamente bem preservados, sendo comum a preservação de tecidos moles (KELLNER et al., 2002). Os peixes, grupo mais abundante nesta formação, possuem uma elevada diversidade (SARAIVA et al., 2010), incluindo Chondrichthyes (como *Iansan beurleni* Silva Santos 1968 e *Tribodus limae* Brito e Ferreira 1989), actinoptérigeos (os mais representativos sendo, provavelmente, *Vinctifer comptoni* Jordan 1841, *Rhacolepis buccalis* Agassiz 1841 e *Tharrias araripis* Jordan e Branner 1908) e

Celacantídeos (*Axelrodichthys araripensis* Maisey 1986 e *Mawsonia gigas* Woodward 1907). Dentre os tetrápodes já foram registradas cinco espécies de tartarugas (*Araripemys barreto* Price 1973, *Santanachelys gaffneyi* Hirayama 1998, *Cearachelys placidoi* Gaffney et al. 2001, *Euraxemys esweini* Gaffney et al. 2006 e *Brasilemys josai* Lapparet de Broin 2000), alguns dinossauros (*Angaturama limai* Kellner e Campos 1996, *Irritator challenger* Martill, Cruickshank, Frey, Small e Clark 1996, *Santanaraptor placidus* Kellner 1999 e *Mirischia assimetrica* Naish, Martill e Frey 2004), crocodilomorfos (*Araripesuchus gomesi* Price 1959 e *Caririsuchus camposi* Kellner 1987), além de uma enorme diversidade de pterossauros com várias espécies descritas (*Anhanguera piscator* Kellner e Tomida 2000; *Cearadactylus atrox* Leonardi e Borgomanero 1985; *Tapejara wellnhoferi* Kellner 1989b e *Tupuxuara longicristatus* Kellner e Campos 1988). Não menos importantes, alguns vegetais foram reportados por Duarte (1985) como alguns ramos de gimnospermas associados a *Brachyphyllum obesum* Heer 1881 e *Brachyphyllum castilhoi*, preservados em concreções calcárias (ver, PRICE, 1959; MAISEY, 1991; RIFF et al., 2010; HIRAYAMA, 1998; OLIVEIRA; ROMANO, 2007; KELLNER; TOMIDA, 2000; KELLNER; CAMPOS, 2002; COIMBRA; ARAI; CARREÑO, 2002; CARVALHO; SANTOS, 2005; LIMA; SARAIVA; SAYÃO, 2012 para uma revisão).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização desta tese foram utilizados fósseis de pterossauros de coleções e espécimes coletados em escavações controladas e afloramentos. Os espécimes MN 4809-V, MN 6594-V e MN 7060-V são advindos da coleção de paleovertebrados do Museu Nacional, sendo este último coletado em escavação controlada. Os espécimes MPSC R 982 e MPSC R 2090 e MPSC R 1395 são pertencentes à coleção do Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri, sendo este último coletado em uma escavação controlada. Todos os espécimes utilizados de *Hamipterus tianshanensis* foram coletados em afloramentos da Bacia Turpan-Hami e estão depositados na coleção do Centro Acadêmico de Vitória (CAV-UFPE).

4.1. ORIGEM DAS AMOSTRAS

Os espécimes de *Hamipterus* foram coletados em afloramentos do Grupo Tugulu (Fig. 14) (Bacia Turpan-Hami), obtidos em campanhas de campo realizadas entre os anos de 2006 a 2014, ao sul das montanhas Tian Shan, em Xinjiang, noroeste da China. Nestas coletas foram retirados de afloramentos existentes na área de prospecção centenas destes espécimes, incluindo ossos tridimensionais, crânios e ovos. Dentre as centenas de fósseis coletados, 12 espécimes de ossos pós-cranianos (CAV ht 001, CAV ht 002, CAV ht 003, CAV ht 004, CAV ht 005, CAV ht 006, CAV ht 007, CAV ht 008, CAV ht 009, CAV ht 010, CAV ht 011, CAV ht 012) foram separados para a realização de parte deste trabalho. Estes espécimes foram tombados na coleção do Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, do Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco.

Os espécimes de Pterodactiloides MPSC R 1395 e MN 7060-V foram coletados em escavações controladas, com perfil em fina escala, em localidades fossilíferas da Formação Romualdo. MPSC R 1395 foi recuperado durante uma escavação controlada (Fig. 15 A), realizada na porção oeste da Bacia do Araripe, no município de Araripe, localidade sítio Baixa Grande (S 07 09' 754'' e W 39 59' 188''), Estado do Ceará. Este espécime estava preservado em uma laje carbonática dividida em 7 partes, fracamente laminada e altamente rígida, localizada no nível 1º Matracão, 3,8 m abaixo do topo da escavação (solo), em uma camada com uma espessura de aproximadamente 25 cm. No mesmo bloco de rocha onde foi encontrado

MPSC R 1395 também estavam preservados restos de icnofósseis (coprólitos), fragmentos lenhosos e um ramo vegetal associado ao gênero *Brachyphyllum*.

Figura 14 - Área de prospecção para coleta dos fósseis de *Hamipterus tianshanensis*.



Foto: Xiaolin Wang.

Figura 15 - Localidades onde foram realizadas escavações controladas para a coleta de fósseis da Formação Romualdo. A - Sítio Baixa Grande, Araripe (PE); B - Sítio Romualdo, Crato (CE).



Foto: A – Juliana Sayão; B – Edilson Santos.

O espécime MN 7060-V foi o primeiro pterossauro recuperado de uma escavação controlada (Fig. 15 B), com precisão estratigráfica e geográfica (ver VILA NOVA et al., 2011 para uma revisão). A escavação que resultou na coleta deste exemplar foi realizada no sítio Romualdo (S 07 07' 654'' e W 39 39' 88''), localidade tipo da Formação Romualdo (FARA et al., 2005), na cidade de Crato, Estado do Ceará. MN 7060-V foi encontrado preservado em uma concreção calcária micrítica, finamente laminada e preservado de forma tridimensional. Na mesma escavação que resultou na coleta deste espécime, centenas de peixes e coprólitos também foram encontrados.

4.2. PREPARAÇÃO MECÂNICA

Após a coleta, os espécimes que continham matriz rochosa recobrimdo grande parte dos ossos foram encaminhados para preparação (Fig. 16). O método utilizado para a preparação dos espécimes foi estritamente mecânico, utilizando-se a metodologia de May et al. (1994) e Silva e Kellner (2006). Para a realização deste trabalho foram utilizados o espaço e equipamentos do Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, no Centro Acadêmico de Vitória (CAV-UFPE) e do Laboratório de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri (LPU-URCA). Primeiramente a matriz rochosa dos espécimes fósseis foi desbastada com ponteiros de aço e com um auxílio de martelo pena, retirando uma parte da rocha matriz, sem se aproximar do fóssil; em seguida a rocha matriz foi desgastada com auxílio de uma caneta pneumática Micro Jack Series (Paleotools, New Jersey, EUA).

Para finalização da preparação mecânica foi utilizada uma caneta pneumática modelo Paleoaro PAT-2.5S com uma ponteira de carbide 2.5 stylus, acoplada a um sistema de ar comprimido portátil Schulz AIRPlus 2,3MS. Nesta etapa foi possível preparar as estruturas ósseas mais delicadas sob uma lupa de braço articulado com amplificação de 10x. Os fósseis foram recobertos com resina Paraloid® B-72/ Acryloide B-72 um copolímero de etilmetacrilato e metilacrilato que, solubilizado em acetona, pode ser aplicado na superfície óssea em todo o processo de preparação, aumentando, assim, a resistência dos espécimes. Eventuais quebras ocorrentes durante a preparação foram reparadas através da utilização de adesivo a base de cianoacrilato (adesivo instantâneo universal).

Figura 16 - Etapas da preparação mecânica desde a coleta até a finalização. A - Triagem dos espécimes em campo; B - Aplicação de preparação mecânica nos fósseis com matriz rochosa; C - Detalhe da preparação, com a utilização de canetas pneumáticas para desbastar a rocha matriz; D - Espécime antes da preparação; E - Espécime após a preparação. Escala: 6 cm.

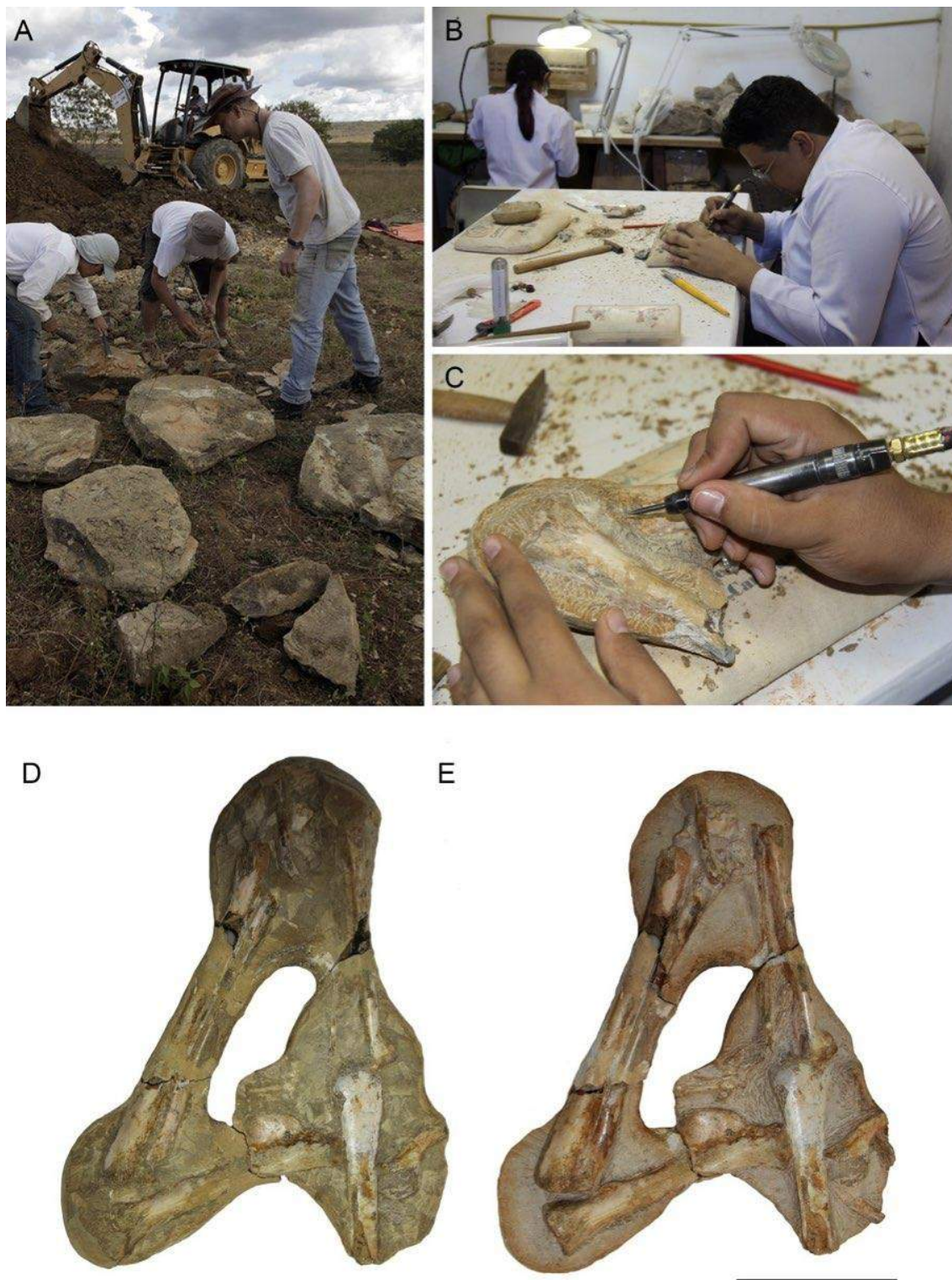


Foto: A-C – Flaviana Lima; D-E – autor.

4.3. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS

Todos os fósseis utilizados nesta tese foram medidos, fotografados e descritos antes de serem seccionados, seguindo a metodologia proposta por Lamm (2013) (Fig. 17). Mediante tal procedimento, as informações morfológicas, assim como as proporções originais do material utilizado, não foram perdidas após a retirada de secção de cada osso. Cada diáfise recebeu, em sua altura média, cortes transversais. Para tal, uma fina camada de resina epóxi cristal (Resapol T-208) foi colocada sobre os ossos para impedir a perda das camadas mais externas, comumente destruídas durante o corte. Pequenas porções de 0,5 mm a 1 cm foram retiradas dos ossos com auxílio de uma microretífica (Dremel 4000 com cabo extensor 225), com um disco de diamante acoplado, e posteriormente incluídas por completo em resina epóxi cristal (Resapol T-208), catalisada com Butanox M50 a uma concentração de 5%. Após o endurecimento do bloco de resina, o lado de montagem das seções foi desbastado e polido utilizando-se uma máquina de polimento metalográfico (AROPOL-E, AROTEC LTDA) com lixas abrasivas AROTEC (granulometria 60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500). Para evitar que a água que penetrou na microestrutura óssea durante o desbaste manchasse a lâmina, os blocos de resina foram secos em uma estufa a uma temperatura de 100 °C.

A superfície polida foi então colada com adesivo epóxi (de nome comercial Araldite, secagem em 10 minutos) em lâminas de vidro. Repetiu-se o processo, desta vez lixando a superfície externa até atingir uma espessura de 35 µm (CHINSAMY; RAATH, 1992; LAMM, 2013; ANDRADE; SAYÃO, 2014). Finalizada a preparação das lâminas histológicas, as secções foram examinadas e fotografadas em um microscópio de luz transmitida (Zeiss Inc. Barcelona, Espanha) acoplado a uma câmera AxioCam, com software de obtenção de imagens Axio Imager.M2. Para análise sob nicóis cruzados foi utilizado um microscópio petrográfico (Opton, Hexasystems, Brasil), utilizando-se de uma câmera acoplada. Por fim, as imagens obtidas foram processadas e tratadas usando um software de edição de imagens.

Figura 17 - Etapas da preparação de uma lâmina paleohistológica. A - Corte do espécime MPSC R 982; B - Detalhe do momento do corte; C - Amostras recobertas com resina epóxi em forma de silicone, enumeradas; D - Desbaste dos blocos de resina com as amostras incluídas; E - Amostras fixadas nas lâminas histológicas; F - Análise em microscópio das lâminas finalizadas; G - Fotomicrografia de uma lâmina finalizada.



Foto: A-B-F – Flaviana Lima; C-E-G – autor; D – Juliana Sayão.

5. ARTIGO I

REVELANDO A CONFORMAÇÃO MICROESTRUTURAL DOS OSSOS DE UM JOVEM PTEROSSAURO ANHANGUERIDEO (PTEROSAURIA, PTERODACTYLOIDEA) DA FORMAÇÃO ROMUALDO, BACIA DO ARARIPE, NORDESTE DO BRASIL

R.A.M. BANTIM¹; J.S. FERREIRA²; A.A.F. SARAIVA²; A.W.A. KELLNER³; J.M. SAYÃO⁴

¹*Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Brasil. renanbantimbiologo@gmail.com*

²*Laboratório de Paleontologia da URCA, Universidade Regional do Cariri, Rua Carolino Sucupira, s/n, 63100-000, Crato, CE, Brasil. jennyferpaleo@gmail.com; alamocariri@yahoo.com.br*

³*Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Vertebrados Fósseis, Departamento de Geologia e Paleontologia, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, s/n, Bairro Imperial de São Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. alexander.kellner@gmail.com*

⁴*Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. jmsayao@gmail.com*

Resumo

Grandes proporções, fusão dos ossos e textura superficial óssea são alguns dos critérios utilizados para identificação ontogenética em espécimes de pterossauros. A paleohistologia, no entanto, é capaz de fornecer parâmetros menos subjetivos para a determinação do desenvolvimento dos organismos e de suas estratégias. O espécime MPSC R 1395, descrito parcialmente por Kellner et al. (2013) é reanalisado aqui, tendo sua descrição morfológica completa associada a uma análise histológica detalhada de diversos ossos. MPSC R 1395 foi

coletado no nível do segundo matracão (Formação Romualdo), na localidade Baixa Grande (Município de Araripe – CE) e consiste de um membro anterior esquerdo de um pterossauro anhanguerídeo contendo a parte proximal do úmero, parte distal da ulna; metacarpos I, II, III e IV, dígitos I, II, III e ungueais e dígito alar completo. O úmero apresenta uma crista deltopeitoral torcida, característica típica dos pteranodontoides e dentro desse grupo a proporção do IV metacarpo em comparação com a primeira falange é equivalente a dos Anhangueridae. Apesar de suas grandes dimensões, MPSC R 1395 apresenta o processo extensor da primeira falange e os carpais não fusionados. Foram realizadas sessões paleohistológicas na porção média da diáfise do úmero, ulna, primeiro, segundo, e quarto dígito alar. MPSC R 1395 trata-se de um jovem baseado na ausência de fusão de alguns elementos ósseos, que ainda não havia terminado o seu crescimento assintótico total, podendo ainda alcançar uma maior proporção corpórea. A ausência de estruturas típicas de indivíduos adultos, como cavidades de reabsorção óssea, lamelas circunferenciais internas ou externas (EFS) e a deposição de linhas de pausa de crescimento, são evidências desta interpretação. Conclui-se, portanto, que MPSC R 1395 não é um indivíduo totalmente maduro e suas amostras ósseas podem documentar a transição de um estágio de sub-adulto para o desenvolvimento corpóreo final de um adulto, visto que possui sinais claros de crescimento ainda ativo.

Palavras chave: Pterosauria, osteohistologia, matracão, Bacia do Araripe.

Introdução

Após décadas de trabalhos envolvendo fósseis de pterossauros da Bacia do Araripe, seus depósitos reconhecidos como *fossillagerstätten*, continuam a apresentar novos espécimes de pterossauros cretácicos (KELLNER, 1998, BANTIM et al., 2014). Os pterossauros, primeiros arcossauros a alçarem voo, representam a maior diversidade de tetrápodes preservados nas rochas albianas da Formação Romualdo (VILA NOVA et al., 2011), uma das principais unidades estratigráficas desta bacia. Até o momento, 19 táxons de pterossauros foram descritos a partir de restos tridimensionais preservados em concreções calcárias (KELLNER, 2006; SARAIVA et al., 2014; SAYÃO et al., 2015). Destes, apenas poucos espécimes apresentam todos os dados acerca do local de coleta e nível estratigráfico preciso: o holótipo de *Maaradactylus kellneri* Bantim, Oliveira, Saraiva e Sayão 2014, parte do material associado a *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* descrito por Kellner et al. (2013) e um membro apendicular de anhanguerídeo descrito por Vila Nova et al. (2011).

Estudos osteohistológicos em vertebrados fósseis constituem uma ferramenta importante para o esclarecimento de uma série de inferências relacionadas a animais extintos (SAYÃO, 2003), por exemplo: maturidade do esqueleto, taxas de crescimento, fisiologia e uma série de questões ecológicas (BENNETT, 1993; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; 2000). Aqui, apresentamos a descrição de um exemplar de pterossauro pterodactiloide, coletado a partir das camadas margosas da Formação Romualdo, mais especificamente no Sítio Baixa Grande, município de Araripe – CE. Devido à ausência de material craniano associado ao espécime MPSR R 1395 analisado aqui, visamos a aplicação de técnicas paleohistológicas para inferências mais aprofundadas acerca da fisiologia e da ontogenia deste indivíduo.

Abreviações anatômicas: dpc – deltopectoral crest of the humerus; etp – extensor tendon process; mus – muscle scars; epi – epiphysis; sul – sulcus; fo – foramen.

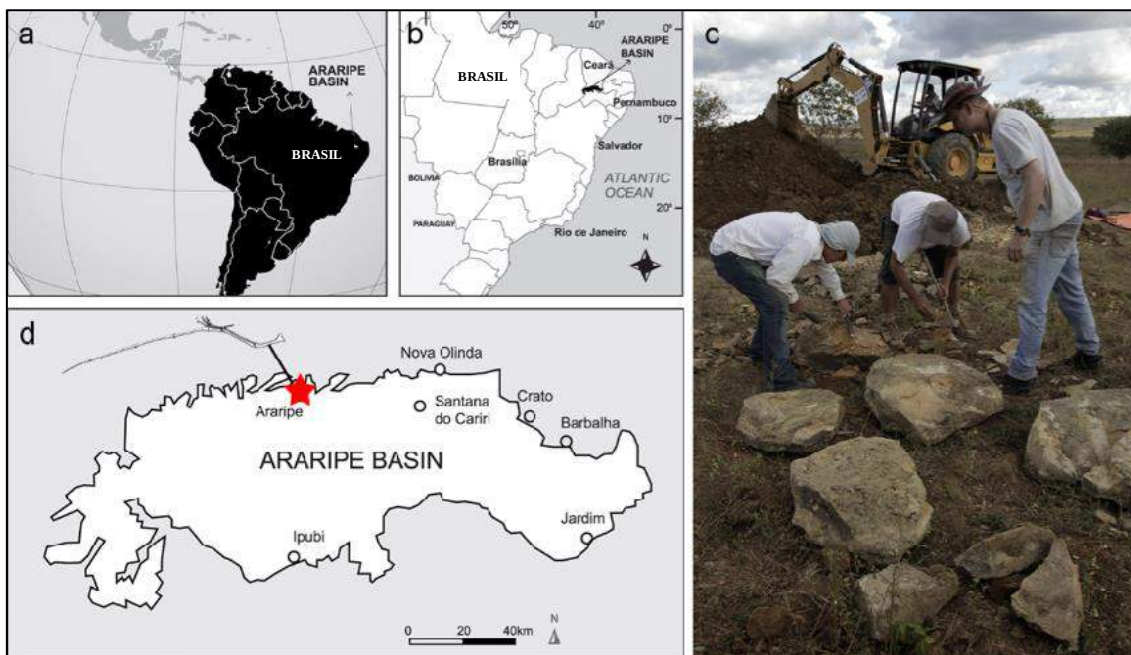
Abreviações histológicas: vc – vascular canals; po – primary osteons; LAG – line of arrested growth; so – secondary osteons; t – trabecullum.

Abreviações de instituições: MPSC - Museu de Paleontologia de Santana do Cariri, Brasil. NSM - Division of Vertebrate Paleontology, National Science Museum, Japan.

Localidade e estratigrafia

O espécime analisado aqui foi recuperado durante uma escavação controlada, realizada na porção oeste da Bacia do Araripe, na localidade sítio Baixa Grande (S 07 09' 754'' e W 39 59' 188''), no município de Araripe, Estado do Ceará (Fig. 1). A estratigrafia desta escavação mostrou-se bastante similar às demais localidades fossilíferas da Formação Romualdo, apresentando níveis de folhelhos calcíferos esverdeados contendo concreções calcárias, além de níveis de septárias e margas (Fara et al., 2005; Saraiva et al., 2007; Vila Nova et al., 2011). Diferencia-se das demais localidades fossilíferas da Formação Romualdo por estar mais próxima do embasamento cristalino, o que mostra que esta localidade poderia corresponder à antiga borda da laguna que deu origem as camadas de rochas da Formação Romualdo.

Figura 18 - A - Localização da Bacia do Araripe na América do Sul. B - A Bacia do Araripe abrange os estados do Ceará, Piauí e Pernambuco no Nordeste do Brasil. C - Coleta de MPSC R 1395 no afloramento, com as sete partes de concreções contendo a asa de MPSC R 1395. D - Mapa da Bacia do Araripe, onde a estrela indica o município de Araripe (CE).



Fonte: Mapa modificado de Sayão et al. (2011). Foto: Flaviana Lima.

O espécime MPSC R 1395 foi coletado em uma laje carbonática dividida em 7 partes (Fig. 1 C), fracamente laminada e altamente rígida, localizada no nível correspondente ao “1º matracão” (FARA et al., 2005; SARAIVA et al., 2007, VILA NOVA et al., 2011; KELLNER et al., 2013), localizado a uma profundidade de 3,8 m em relação ao topo da escavação (solo), em uma camada com uma espessura aproximada de 25 cm. A camada “1º matracão” está situada sobre um nível sem concreções, formado por folhelhos com diversos fitofósseis (LIMA, 2013). No mesmo bloco de rocha onde foi encontrado MPSC R 1395 também estavam preservados restos de icnofósseis (coprólitos), fragmentos lenhosos e um ramo vegetal associado ao gênero *Brachyphyllum*.

Materiais e métodos

Para este estudo foi utilizado o espécime MPSC R 1395, depositado na coleção do Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri, em Santana do Cariri – CE. Este espécime foi previamente figurado e parcialmente descrito por Kellner et al., (2013). MPSC R 1395 trata-se de uma asa esquerda parcialmente completa contendo a parte proximal do úmero,

parte distal da ulna, metacarpo IV, carpais, pteróide, primeira falange alar, segunda falange alar, terceira falange alar e a parte proximal da quarta falange alar. Devido à alta resistência da rocha onde este espécime estava inserido, foi necessário a aplicação das duas técnicas de preparação: mecânica e química, seguindo a metodologia de Silva e Kellner (2006). Para isto, alternou-se o uso de ponteiros e canetas pneumáticas, com imersão em solução de ácido acético, obtendo-se, por fim, a total separação dos ossos da matriz rochosa. Uma vez preparados, os ossos foram medidos, fotografados e descritos antes de serem seccionados.

Preparação das lâminas

A preparação das lâminas seguiu a metodologia proposta por Lamm (2013). Para esta análise foram seccionados os seguintes ossos: úmero (diáfise e metáfise), F1d4 (diáfise), F2d4 (diáfise e metáfise), F3d4 (diáfise) e F4d4 (metáfise), todos pertencentes a um membro anterior esquerdo de um pterossauro pterodactiloide. Tradicionalmente estudos osteohistológicos utilizam-se de parte da diáfise dos ossos para interpretação histológica, uma vez que esta região preserva mais tecido cortical e registra marcas de crescimento (FRANCILLON-VIEILLOT; ARNTZEN; GERAUDIE, 1990; ANDRADE; SAYÃO, 2014). Para a preparação das lâminas histológicas, uma amostra de aproximadamente 1 cm foi obtida a partir de cada osso. As amostras foram embebidas em resina epóxi Resapol T-208, catalisada com Butanox M50, e cortadas com auxílio de uma microretífica (Dremel 4000 com cabo extensor 225), com um disco de diamante acoplado. Em seguida, foram desbastadas e polidas, utilizando-se para tal de uma máquina de polimento metalográfico (AROPOL-E, AROTEC LTDA) com lixas abrasivas AROTEC (granulometria 60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500). Após o polimento as lâminas foram montadas e submetidas a novo polimento até que fossem suficientemente translúcidas para observação das estruturas osteohistológicas em microscópio biológico. A terminologia histológica utilizada em nossa descrição segue a de Francillon-Vieillot et al. (1990), e a descrição osteohistológica foi realizada no sentido endósteo - periósteo.

Obtenção e edição das imagens

As secções foram examinadas e fotografadas em um microscópio de luz transmitida (Zeiss Inc. Barcelona, Espanha) acoplado a uma câmera AxioCam, com software de obtenção

de imagens Axio Imager.M2. Para análise sob nicóis cruzados foi utilizado um microscópio pterográfico (Opton, Hexasystems, Brasil) com câmera acoplada.

Resultados

MPSC R 1395 (Fig. 2) é composto de um membro anterior esquerdo, parcialmente completo, de um pterossauro pterodactiloide. Este espécime não apresenta características anatômicas marcantes que permita um posicionamento taxonômico menos inclusivo. Foi atribuído ao grupo dos Anhangueridae por possuir relação entre o quarto metacarpo (26,8 cm) e a 1ª falange alar (57,7 cm) igual a 0,46 ($mcIV / F1d4 = 0.46$), uma característica deste grupo (VILA NOVA; SAYÃO, 2012). Apesar de apenas uma pequena parte (3 cm) estar ausente da 1ª falange, o comprimento total deste osso pôde ser mensurado, não alterando de maneira significativa o cálculo da relação de tamanho entre o McIV e a F1d4.

Descrição e comparação

Úmero: parte proximal (13,7 cm) de um úmero esquerdo com a presença de uma crista deltopeitoral parcialmente completa e torcida lateralmente, uma característica típica dos pteranodontoides (BENNETT, 2001; KELLNER, 2003; KELLNER et al., 2013). A margem ventral da crista deltopeitoral é relativamente grossa. Um foramên pneumático está presente dorsalmente, próximo da articulação proximal. A região medial do osso apresenta uma superfície rugosa, provavelmente relacionada à inserção muscular. Assemelha-se a outros espécimes do clado Anhangueridae, especialmente a *Anhanguera piscator*. Com base nas proporções de outros anhanguerídeos, em que o úmero tenha quase o mesmo comprimento do metacarpo IV (por exemplo, VILA NOVA; SAYÃO, 2012), estima-se que este osso possuía aproximadamente 29 cm de comprimento.

Ulna: parcialmente completa, estando apenas a porção distal preservada, com cerca de 13 cm de comprimento. Seu corpo é robusto, largo e cilíndrico, com três depressões côncavas em sua parte distal. Uma epífise não fusionada (3 cm) foi encontrada desarticulada próxima à sua região distal (antes da retirada da matriz rochosa), bem preservada e completa, exibindo todas suas características morfológicas. Sua presença desarticulada e próxima da região distal

do úmero aponta um estágio ontogenético juvenil para este indivíduo, como proposto por Kellner e Tomida (2000).

Figura 19 - Elementos apendiculares de MPSC R 1395. A - Úmero incompleto em vista lateral. B - Ulna incompleta em vista ventral e uma epífese isolada. C - McIV em vista cranial. D - F1d4 em vista dorsal com processo extensor desarticulado. E - F2D4 em vista dorsal. F - F3D4 em vista dorsal. G - F4DA em vista dorsal. H - Sincarpal proximal e sincarpal distal. I - Ungueais. J-K - Falanges dos dígitos I, II e III. L - Pteróide. A linha tracejada representa a área onde foi realizado o corte para preparação das lâminas histológicas. Escala: 100 mm.



Fonte: autor.

Carpo: MPSC R 1395 possui apenas o carpo distal lateral (sincarpal proximal e sincarpal distal) preservado. Este osso apresenta-se desarticulado dos outros ossos carpais, sem sinais de fusão. Em indivíduos tidos como juvenis, a série proximal apresenta dois elementos, enquanto a série distal é composta por quatro elementos (KELLNER; TOMIDA, 2000). O carpo distal lateral está bem preservado, apresentando seu formato original, sem nenhuma distorção. Além disso, possui características de encaixe referente ao carpo proximal e metacarpo IV e formato ovalado. Em vista sagital, pode-se observar uma depressão em direção à parte proximal. A morfologia geral do carpo lateral de MPSC R 1395 é bastante similar a de outros anhanguerídeos, sendo essencial para constituir o suporte ao osso pteróide (KELLNER; TOMIDA, 2000).

Pteróide: incompleto (6,9 cm), com ausência da parte distal e da articulação proximal. Este osso é alongado, achatado em vista craniocaudal e parcialmente distorcido devido a fatores preservacionais. O pteróide encontra-se desarticulado do carpo e está localizado próximo ao úmero na matriz rochosa. Neste espécime, não está preservado o foramen pneumático na região ventral, como ocorre em *Anhanguera araripensis*, *Anhanguera piscator* e *Pteranodon* (WELLNHOFER, 1991; KELLNER; TOMIDA, 2000).

Metacarpo: a região metacarpal é caracterizada somente pelo metacarpo alar completo. O metacarpo IV (26,8 cm) de MPSC R 1395 é robusto e curto se comparado aos dos Tapejaridae (VILA NOVA; SAYÃO, 2012). Neste espécime, as extremidades do metacarpo são ovaladas, sendo a região proximal maior que a região distal. Na articulação distal pode-se observar dois forâmens pneumáticos, um em vista caudal e o outro em vista cranial. A articulação proximal do metacarpo IV mostra um processo desenvolvido que, provavelmente, teria encaixe em uma fôvea na série do carpo distal (não preservada neste espécime). A articulação distal mostra a típica superfície arredondada para receber a inserção da 1ª falange alar. O tamanho proporcional do metacarpo IV é consistente com pteranodontóides, particularmente os Anhangueridae.

Dígitos I-III: parcialmente completos, com ausência apenas da 1ª falange do 1º dígito alar (F1d1). Todos os dígitos apresentam suas respectivas falanges ungueais. Após a preparação dos dígitos foi possível observar uma variação de tamanho entre eles (dígito I mede 5,8 cm, dígito II mede 10,4 cm e o dígito III mede 12,9 cm. A 2ª falange do dígito III apresenta-se no formato de um disco ósseo subarredondado que, em pterossauros, geralmente é menor (KELLNER; TOMIDA, 2000). Todas as ungueais estão curvadas e lateralmente comprimidas, contendo sulcos e extremidades laterais côncavas.

Dígito alar (dígito IV): contém 1ª, 2ª e 3ª falanges completas, e a 4ª falange parcialmente completa, com um comprimento total de 164,7 cm. A 1ª falange do dígito alar (F1d4) é alongada e possui o processo extensor não fusionado, formando um perfeito encaixe entre o metacarpo, o processo extensor e a 1ª falange alar. Na base onde o processo extensor se encaixa, existe uma cavidade (1,5 cm) onde está presente o foramên pneumático. Este foramên possivelmente seria constituído por cartilagem (KELLNER; TOMIDA, 2000). A 1ª falange alar é maior do que as outras, uma característica típica da maioria dos Pteranodontoides (BENNETT, 2003; KELLNER; TOMIDA, 2000; VILA NOVA; SAYÃO, 2012). A morfologia geral do dígito alar se mostra correspondente a elementos ósseos referidos a Anhangueridae, como *Anhanguera piscator* e *Tropeognathus mesembrinus*. A posição do processo extensor desarticulado da 1ª falange alar reforça a ideia de que este espécime era um indivíduo jovem, apesar de suas grandes proporções. A 2ª falange do dígito alar (F2d4) é menor (2,3 cm) do que a 1ª falange (F1d4). As porções cranial e caudal desta falange são mais espessas do que o corpo medial, sendo achatada dorsoventralmente. A terceira falange alar (F3d4) apresenta a articulação proximal ovalada e a articulação distal delgada e desgastada. Ao todo, possui um comprimento de 43,6 cm, da parte medial até a parte distal. Possivelmente, o desgaste na articulação distal que este apresenta foi causado por ação do intemperismo, o que comprometeu a camada óssea mais superior. A terceira falange alar (F3d4) é achatada dorsoventralmente e a superfície articular é convexa, apresentando certa porosidade em ambas as extremidades, proximal e distal. Em toda a extensão do dígito alar, a 4ª falange (F4d4) é a única que está parcialmente completa, possuindo comprimento de 8 cm. Possui baixo grau de preservação, visto que apenas a camada mais externa do osso está presente, não havendo o preenchimento da parte interna do osso por calcita. Em decorrência desse efeito preservacional, o osso encontra-se totalmente achatado, sem preservação da sua forma tridimensional original. Apenas a parte proximal da F4d4 está preservada, incluindo a articulação proximal com a F3d4.

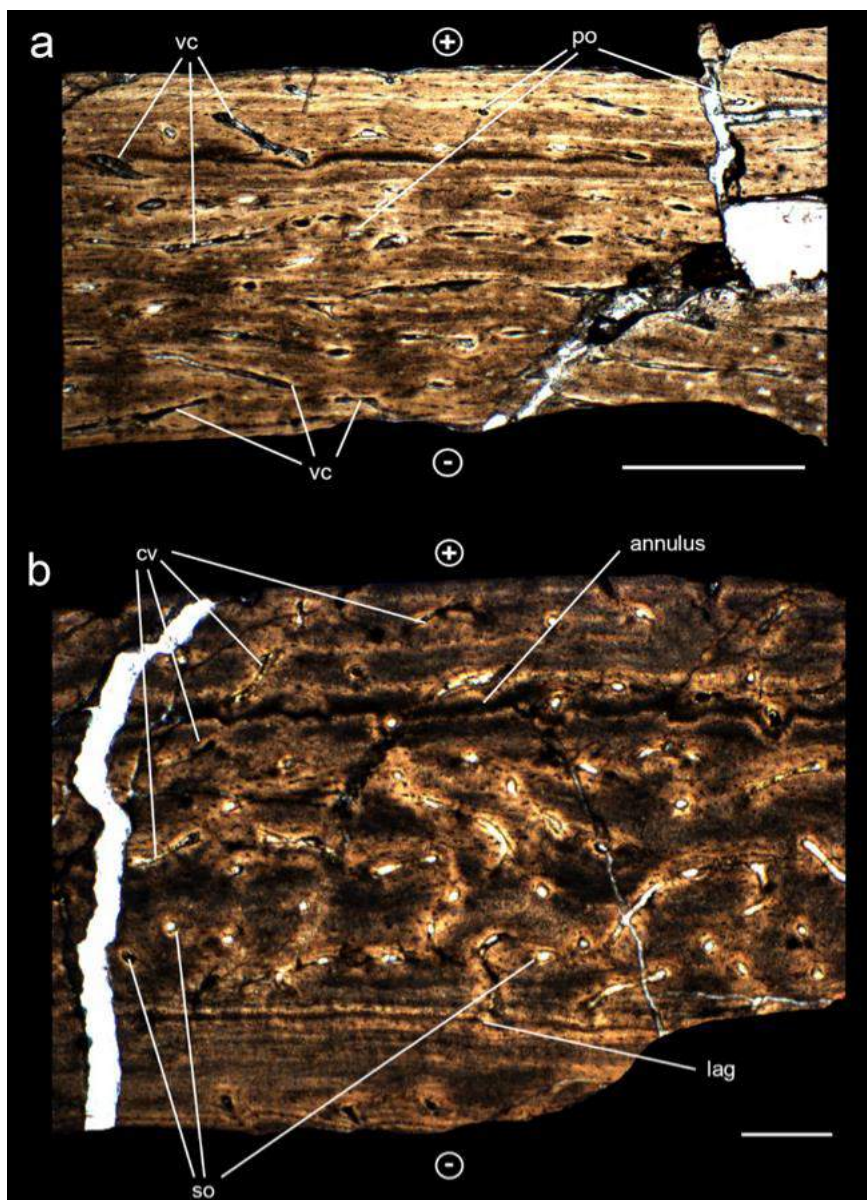
Caracterização osteohistológica

Para uma caracterização osteohistológica foram realizadas seções delgadas na porção média da diáfise do úmero, F1d4, F2d4 e F4d4 de MPSC R 1395. Aqui é apresentada uma descrição detalhada de cada elemento ósseo analisado. Em geral, a preservação da microestrutura óssea nos fósseis da Formação Romualdo não é fortemente alterada durante a diagênese e, portanto, permitiu discernir detalhes histológicos de diagenéticos.

Úmero: possui cavidade medular livre (Fig. 3 A). Na superfície endosteal não é observada a presença de lamelas circunferenciais internas. As lacunas de osteócitos estão organizadas longitudinalmente por todo o córtex, apresentando-se achatadas. O córtex do úmero de MPSC R 1395 é relativamente espesso, medindo aproximadamente 800 μm , composto por tecido ósseo lamelar, com canais vasculares organizados, por vezes, de forma longitudinal e laminar (anastomosados). Devido à ausência de lamelas circunferenciais e ósteons secundários, este tecido é caracterizado como primário (*sensu* SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Poucos ósteons primários são observados na porção inferior do córtex, com um diâmetro variando de aproximadamente 15 a 22 μm . Na porção superior do córtex (próximo a superfície periosteal) os ósteons primários aumentam em número, apresentando de 14 a 33 μm de diâmetro. Não estão presentes neste osso ósteons secundários nem marcas de crescimento, indicando que no momento da morte deste indivíduo as taxas de deposição óssea haviam diminuído provavelmente para a formação da lamela circunferencial interna e do sistema fundamental externo (EFS). Todas as características osteohistológicas do úmero apontam para um estágio ontogenético juvenil.

Ulna: o córtex é bastante espesso, com pelo menos 1300 μm de largura, composto por tecido ósseo secundário. Em seção transversal pode-se observar uma cavidade medular livre com ausência de trabéculas (Fig. 3 B). Na superfície endosteal não há preservação da lamela circunferencial interna. Em direção periosteal nota-se uma camada densa de aproximadamente 300 μm contendo lacunas de osteócitos organizadas longitudinalmente e alguns ósteons secundários em formação inicial (no mínimo 6), com diâmetro variando entre 10 a 18 μm . Estes ósteons estão localizados muito próximos a superfície endosteal, sugerindo uma atividade de erosão osteoclástica (LU et al., 2016). No topo desta camada está preservada uma linha de crescimento. Acima da LAG o tecido ósseo predominante é paralelo fibroso ou pseudo-lamelar, com canais vasculares anastomosados orientados de forma longitudinal e reticulares. Próximo à superfície periosteal é observada uma segunda marca de crescimento preservada na forma de uma linha irregular escura, classificada como uma *annuli*. Neste osso também estão presentes ósteons primários distribuídos ao longo do córtex, mas ausentes na região endosteal.

Figura 20 - Seção histológica transversal do úmero e da ulna de MPSC R 1395 vistas em um microscópio de luz transmitida. A - Córtex do úmero composto por vários canais primários prematuros e canais laminares e longitudinais. Escala: 350 μm . B - Córtex da ulna mostra a presença de ósteons secundários, *annuli*, LEG e canais vasculares laminares. Escala: 300 μm . O símbolo + representa a superfície periosteal e - a camada endosteal. Vc - canais vasculares; po - ósteons primários; lag - linha de pausa de crescimento; so - ósteon secundário.



Fonte: autor.

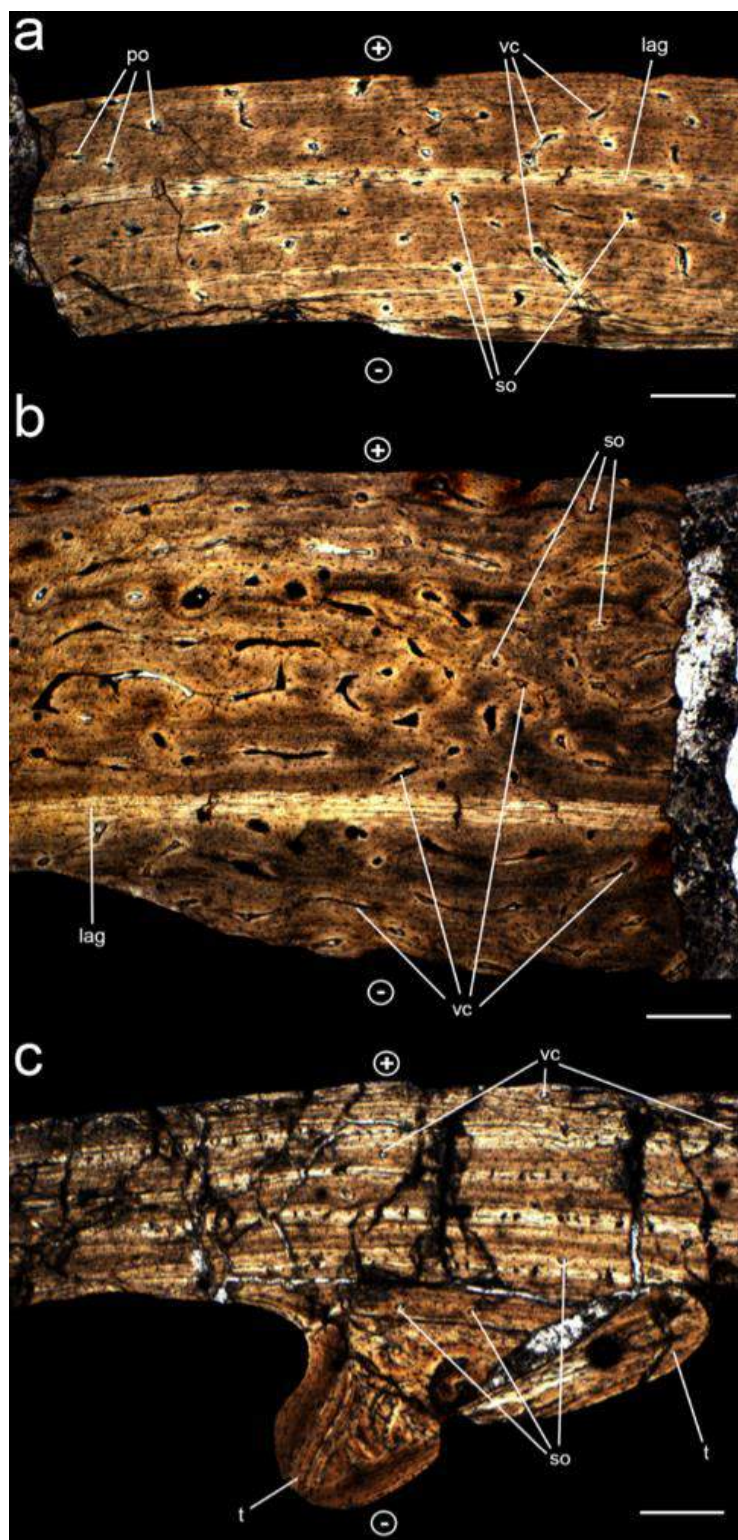
F1d4: a cavidade medular está completamente preenchida por franjas de calcita pós-diagenéticas. Devido à expansão destas franjas, o osso apresenta várias fraturas verticais cortando o córtex. Diferente do observado no úmero e na ulna, esta falange apresenta trabéculas com 110 a 200 μm de comprimento cortando o interior do osso. Na superfície endosteal alguns ósteons secundários, com diâmetro variando em 10 e 15 μm , estão presentes, indicando que o

processo de remodelamento ósseo estaria em fase inicial. Em direção ao perióstio o córtex é composto por tecido ósseo lamelar relativamente fino (580 μm de espessura) contendo poucos ósteons primários alinhados e dispostos radialmente (Fig. 4 A). A maioria absoluta dos canais vasculares está organizada longitudinalmente, sendo alguns poucos dispostos em padrão reticular. Uma linha de crescimento está presente na região medial do córtex. Não há deposição de lamelas circunferenciais internas ou externas. A ausência dessas estruturas determina que o indivíduo ainda não teria atingido seu desenvolvimento assintótico, permitindo ao osso ainda crescer linearmente (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; LU et al., 2016).

F2D4: a cavidade medular da segunda falange do dígito alar é composta por cristais de calcita preenchendo o osso. O córtex é bem espesso, com aproximadamente 1000 μm , composto de tecido paralelo fibroso, com canais vasculares organizados em um padrão longitudinal e reticular (Fig. 4 B). A superfície endosteal é irregular e não apresenta a lamela circunferencial interna. Próximo ao endóstio, uma linha de pausa de crescimento é claramente visível. Na parte medial do córtex, os canais vasculares estão organizados predominantemente de forma reticular, com alguns ósteons secundários, variando seu diâmetro entre 20 e 35 μm . Próximo à superfície periosteal os canais vasculares organizam-se predominantemente de forma longitudinal. Não há presença de lamelas externas.

F4D4: de uma maneira geral o córtex apresenta-se fraturado devido à expansão de veios de calcita, o que se refletiu na preservação da microestrutura desse osso. O tecido ósseo é constituído de tecido lamelar, com canais vasculares organizados em um padrão longitudinal. A cavidade medular é preenchida por finas trabéculas. A superfície endosteal é irregular e não apresenta a lamela circunferencial interna. O córtex é relativamente fino, com aproximadamente 445 μm de espessura (Fig. 4 C). Na parte medial do córtex estão presentes alguns ósteons secundários, com diâmetro variando entre 10 e 20 μm . Não há presença de lamelas circunferenciais externas.

Figura 21 - Seções histológicas transversais da F1d4, F2d4 e F4d4 de MPSC R 1395 vista com microscópio de luz transmitida. A - Córtex da F1d4 composto por numerosos ósteons primários e secundários cortados por canais vasculares longitudinais, e uma LAG. Escala: 300 μ m. B - Córtex da F2d4 mostrando a presença de ósteons secundários, LAG e canais vasculares anastomosados. Escala: 300 μ m. C - Córtex da F4d4 mostrando a presença de osteons secundários, canais vasculares laminares anastomosados e trabéculas. Escala: 250 μ m. O símbolo + representa a superfície periosteal e - a camada endosteal. Vc - canais vasculares; po - ósteons primários; lag - linha de pausa de crescimento; so - ósteons secundário; t - trabéculas.



Fonte: autor.

Discussão

Assim como em outros depósitos fossilíferos, na Formação Romualdo são raros os casos em que fósseis de pterossauros são encontrados completos (KELLNER; TOMIDA, 2000). Por isso, desde os estudos iniciais destes répteis alados, a descrição de novos táxons foi baseada, geralmente, em material incompleto (KELLNER, 1998; 2006). Apesar de não permitir uma classificação taxonômica menos inclusiva, MPSC R 1395 compartilha uma sinapomorfia com o clado Pteranodontoidea (*sensu* KELLNER, 1996; 2003): a crista deltopeitoral do úmero retorcida em direção posterior. Ao se comparar a morfologia de MPSC R 1395 com restos esqueléticos de pterossauros da Bacia do Araripe, nota-se que estes se assemelham a *Anhanguera piscator*. Em ambos os espécimes, a articulação proximal do úmero é lisa, contendo uma crista deltopeitoral curvada em direção posterior. Além disso, a ulna de *A. piscator* possui 3 depressões em suas regiões proximal e distal, o mesmo observado em MPSC R 1395. Também compartilham a não fusão de alguns ossos e estruturas, como os carpais, o processo extensor da 1ª falange alar, e as epífises da ulna (MPSC R 1395) e do úmero (*Anhanguera piscator*).

Comparado a *Barbosania gracilirostris* Elgin e Frey (2011) MPSC R 1395 apresenta divergências. No úmero de *Barbosania*, a crista inicia-se na parte proximal e é orientada ventrolateralmente, tendo o úmero o mesmo comprimento que o metacarpo IV. Em relação à ulna, *B. gracilirostris* apresenta a região distal ovalada e sem os tubérculos ressaltados em cada extremidade, diferente de MPSC R 1395. O côndilo ventral da ulna de *B. gracilirostris* é direcionado ventralmente e estende-se para a superfície cranial do metacarpo IV. Em MPSC R 1395 o côndilo ventral é ligeiramente direcionado para a parte proximal, não se estendendo, porém, mais do que o côndilo da superfície dorsal.

MPSC R 1395 é tido aqui como um pterossauro “gigante” devido ao seu estágio ontogenético ser de um animal ainda jovem, mas que apresenta proporções corpóreas avantajadas como abertura alar que poderia alcançar os 7 m de comprimento (ver KELLNER et al., 2013 para cálculos de envergadura). Até o momento, apenas alguns espécimes de pterossauros foram considerados como “gigantes”, porém, isto ainda é indefinido por não se saber exatamente o tamanho máximo que uma espécie de pterossauro poderia atingir (ver AVERIANOV et al., 2005; WITTON; NAISH, 2008; RODRIGUES et al., 2011; NOVAS et al., 2012; KELLNER et al., 2013). Poucos trabalhos tentaram estabelecer o tamanho máximo que um pterossauro poderia atingir ao final do seu crescimento, considerando como “gigantes” todos aqueles com envergadura alar maior do que 7 m (WITTON; HABIB, 2010) e

restringindo, portanto, o “gigantismo” apenas a *Pteranodon* e aos azdarchidae por serem os táxons com um maior número de indivíduos que possuem esta abertura alar preservada.

A ocorrência de pterossauros “gigantes” na Formação Romualdo foi relatada pela primeira vez por Dalla Vecchia e Ligabue (1993), que descreveram uma porção distal de uma falange alar de grandes proporções e associaram este fóssil a um pterossauro pterodactiloide. Posteriormente Martill e Unwin (2012), ao reanalisarem este material, concordaram que se tratava de um indivíduo “gigante”, mas que deveria ser associado ao grupo dos Azdarchoidea, pois esta falange poderia representar um indivíduo de grande porte, como *Thalassodromeus* ou *Tupuxuara*. A hipótese desta falange representar um azhdarchoidea foi refutada por Kellner et al. (2013), que afirmaram existir uma diferença considerável nas proporções dos elementos das asas dos azhdarchoides (incluindo *Thalassodrominae*) e os pteranodontoides (incluindo anhanguerídeos). Enquanto os pteranodontoides tem asas comparativamente grandes em relação ao corpo, os azhdarchoides tem asas curtas (KELLNER et al., 2013). Portanto, os maiores arcossauros voadores da Formação Romualdo seriam os pteranodontoides (KELLNER et al., 2013). Recentemente, um outro espécime associado a um indivíduo gigante foi MN 6594-V, referido a *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus*, representando, até o momento, o maior vertebrado alado recuperado de qualquer depósito fossilífero Gonduânico (KELLNER et al., 2013).

A ontogenia de pterossauros é um tema ainda muito discutido dentro do estudo de arcossauros fósseis (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Apesar disto, existem algumas características que vêm sendo amplamente empregadas na determinação dos diferentes estágios ontogenéticos. Atualmente aceita-se que a fusão de determinados ossos, como carpais, o processo extensor da 1ª falange alar e alguns ossos cranianos indicariam estágios ontogenéticos mais avançados nestes animais (BENNETT, 1993; FREY; MARTILL, 1998; KELLNER; TOMIDA, 2000; SAYÃO, 2003). Apesar de não possuir o crânio preservado, MPSC R 1395 apresenta os elementos das séries carpais não fusionados, assim como o processo extensor da 1ª falange alar e a presença da epífise do úmero na mesma condição, sugerindo tratar-se, de acordo com esses critérios, de um indivíduo juvenil.

Assim como existem características morfológicas para a caracterização ontogenética, existem estruturas osteológicas que indicam o estágio ontogenético da amostra analisada. Uma destas estruturas está presente apenas em organismos adultos, sendo estas as lamelas circunferenciais (STEEL, 2008). As seções histológicas de MPSC R 1395 mostraram a ausência de lamelas circunferenciais internas e externas (EFS) em todos os ossos analisados. A lamela

circunferencial externa (EFS) é uma forma de depósitos microestrutural do osso que, por vezes, apresenta-se preservada na porção mais externa do córtex, especialmente de ossos longos (WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011). Esta estrutura é pouco vascularizada e composta de tecido paralelo fibroso ou tecido lamelar depositado lentamente, produzindo uma suave "superfície de acabamento ósseo" (e.g., CORMACK, 1987; STARCK; CHINSAMY, 2002; PONTON et al., 2004). Ela pode ser encontrada em ossos longos de animais quando atingem a sua maturidade esquelética (ANDRADE et al., 2015). Quando esta camada está presente nos ossos, considera-se a cessação de crescimento na circunferência periosteal dos ossos indicando maturidade esquelética, embora os ossos ainda possam se tornar mais robustos (LEE; O'CONNOR, 2013; WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; ANDRADE; SAYÃO, 2014). O EFS já foi relatado em muitos grupos de répteis, mas a ideia de que estes animais poderiam crescer continuamente ao longo das suas vidas ainda é permanente. Esta microestrutura também tem sido relatada em mamíferos (CORMACK, 1987), aves (PONTON et al., 2004) e dinossauros não avianos (Erickson et al., 2004; PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS, 2004), além de pterossauros (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; KELLNER et al., 2013). Nas amostras de MPSC R 1395 esta estrutura é ausente, indicando um estágio ontogenético menos avançado.

Quando jovens, os pterossauros assemelham-se histologicamente às aves pela presença de tecido ósseo primário com canais plexiformes e, conforme avançam na ontogenia, tendem a desacelerar o crescimento, diferentemente do que é observado nas aves (SAYÃO, 2003). Ao analisar uma sequência ontogenética do pterossauro *Pterodaustro guinazui*, Chinsamy et al. (2009) propuseram duas fases de crescimento após o estágio de recém-nascido: a primeira é caracterizada pela fase inicial de ciclos de crescimento rápido e composto de tecido ósseo fibro-lamelar zonal, com *annuli*, sendo substituído posteriormente por uma segunda fase de crescimento, mais lenta, com ciclos de tecido ósseo paralelo fibroso a lamelar, interrompidos por LAGs (CHINSAMY et al., 2009). A presença de linhas de crescimento em MPSC R 1395, bem como a presença de tecido paralelo fibroso e lamelar em uma mesma amostra óssea e total ausência de lamela circunferencial e EFS, demonstra que o crescimento deste indivíduo estava ativo e constante, representando um animal ainda jovem (ver HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999 para uma revisão). Estas características coincidem com a observação morfológica na qual, essencialmente, todos os elementos que tendem a se fundir em um estágio adulto não estão fusionados (por exemplo, BENNETT 1993, KELLNER E TOMIDA, 2000).

Assim como observado por Sayão (2003) e Prondvai (2012), o espécime analisado aqui também possui uma variação histológica (histovariabilidade) nos ossos em um mesmo indivíduo, o que pode corroborar a hipótese de que os pterossauros apresentam diferentes taxas de crescimento para cada osso. A presença de linhas de crescimento, observada apenas na ulna e na primeira falange alar, endossa a evidência de uma variação de crescimento dos ossos de MPSC R 1395. A ausência destas linhas em alguns ossos deve-se a altas taxas de reabsorção óssea que ocorre nos ossos de pterossauros (SAYÃO, 2003). Além disso, linhas de pausa de crescimento são passíveis de obliteração por reconstrução secundária (SAYÃO, 2003). A histovariabilidade dentro de um mesmo indivíduo não é tão comum dentro do grupo dos arcossauros, sendo observada em apenas alguns grupos de dinossauros (HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; SANDER, 2000; WERNING, 2012). Recentemente Eleutério et al. (2015), ao analisarem membros anteriores de dois pterossauros anhanguerídeos em busca de influências biomecânicas na osteohistologia, também registraram a ocorrência de histovariabilidade nos espécimes analisados. Desse modo, além dos motivos conhecidos para a histovariabilidade, foi adicionado o fator biomecânico, onde o rádio de um dos espécimes analisados por Eleutério et al. (2015) apresentou-se altamente modificado devido à torção exercida pelo osso durante o voo batido, sendo o córtex do rádio deste indivíduo composto apenas por um tecido ósseo avascular com lacunas de osteócitos organizados lateralmente.

Conclusão

O conhecimento da ocorrência da biota fóssil da Bacia do Araripe, incluindo os pterossauros, é amplamente baseada em espécimes de museus com pouca ou nenhuma origem geográfica e geológica precisa. É provável que estes sejam advindos da parte leste da Bacia do Araripe, uma região intensamente explorada. MPSC R 1395 é o primeiro pterossauro coletado a partir do nível do 1º matracão em uma escavação controlada na porção oeste desta Bacia. MPSC R 1395 compartilha características dos pteranodontoides. Dentro deste grupo o tamanho proporcional do metacarpo alar é consistente com o dos Anhangueridae. Trata-se de um jovem baseado na ausência de fusão de alguns elementos ósseos que ainda não haviam terminado o seu crescimento assintótico total, podendo ainda alcançar uma maior proporção corpórea. A ausência de estruturas típicas de indivíduos adultos como cavidades de reabsorção óssea, lamelas circunferenciais internas ou externas (EFS) e a deposição de linhas de pausa de crescimento são evidências desta interpretação. Concluimos, portanto, que MPSC R 1395 não

é um indivíduo totalmente maduro e suas amostras ósseas podem documentar a transição de um estágio de sub-adulto para o desenvolvimento corpóreo final de um adulto, visto que possui sinais claros de crescimento ainda ativo.

Referências

- ANDRADE, R. C. L. P.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; CAMPOS, L. S.; ELEUTÉRIO, L. H. S.; SAYÃO, J. M. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 14, n. 1, p. 200-211. 2015.
- ANDRADE, R. C. L. P.; SAYÃO, J. M. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). **Plos One**, v. 7, p.102-189. 2014.
- AVERIANOV, A. O.; ARKHANGELSKY, M. S.; PERVUSHOV, E. M.; IVANOV, A. V. A new record of an Azhdarchid (Pterosauria: Azhdarchidae) from the Upper Cretaceous of the Volga Region. **Journal of Paleontology**, v. 40, p. 91-97. 2005.
- BANTIM, R. A. M.; SARAIVA, A. A. F.; OLIVEIRA, G. R.; SAYÃO, J. M. A new toothed pterosaur (Pterodactyloidea: Anhangueridae) from the Early Cretaceous Romualdo Formation, NE Brazil. **Zootaxa**, v. 3869, p. 201-223. 2014.
- BENNETT, S. C. The ontogeny of *Pteranodon* and other pterosaurs. **Paleobiology**, v. 19, p. 92-106. 1993.
- BENNETT, S. C. The osteology and functional morphology of the Late Cretaceous pterosaur *Pteranodon*. Part I. General description of osteology. **Palaeontographica A**, v. 260, p. 1-153. 2001.
- BENNETT, S. C. A survey of pathologies of large pterodactyloid pterosaurs, *Palaeontology*, 46 (1): 185-198. 2003.
- CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. M. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. **The Anatomical Record**, v. 292, p. 1462-77. 2009.
- CORMACK, D. H. **Ham's Histology**. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1987.
- DALLA VECCHIA, F. M.; LIGABUE, G. On the presence of a giant pterosaur in the Lower Cretaceous (Aptian) of Chapada do Araripe (northeastern Brazil). **Bollettino Della Societa Paleontologica Italiana**, v. 32, p. 131-136. 1993.
- DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K.; HORNER, J. R.; FRANCILLON-VIEILLOT, H. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 349-385. 2000.
- ELEUTÉRIO, L. H. S.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; ANDRADE, R. C. L. P.; SARAIVA, A. A. F.; KELLNER, A. W. A.; SAYÃO, J. M. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 18, n. 3. p. 403-412. 2015.

- ELGIN, R. A.; FREY, E. A nearly complete ornithocheirid pterosaur from the Aptian (Early Cretaceous) Crato Formation of NE Brazil. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 57, p. 101-110. 2012.
- ERICKSON, G. M.; MAKOVICKY, P. J.; CURRIE, P. J.; NORELL, M. A.; YERBY, S. A.; BROCHU, C. A. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid dinosaurs. **Nature**, v. 430, p. 772-775. 2004.
- FARA, E.; SARAIVA, A. A. F.; CAMPOS, D. A.; MOREIRA, J. K. R.; SIEBRA, D. C.; KELLNER, A. W. A. Controlled excavations in the Romualdo Member of the Santana Formation (Early Cretaceous, Araripe Basin, northeastern Brazil): stratigraphic, palaeoenvironmental and palaeoecological implications. **Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology**, v. 218, n. 145-160. 2005.
- FRANCILLON-VIEILLOT, H. J.; ARNTZEN, W.; GERAUDIE, J. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *Triturus marmoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): a skeletochronological comparison. **Journal of Herpetology**, v. 24, p. 13-22. 1990.
- FREY, E.; MARTILL, D. M. Late ontogenetic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil, **Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie**, v. 10, p. 587-594. 1998.
- HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K. Variation in dinosaur skeletochronology indicators: implications for age assessment and physiology. **Paleobiology**, v. 25, p. 295-304. 1999.
- HORNER, J. R.; PADIAN, K. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 271: 1875-1880 implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 349-385. 2004.
- KELLNER, A. W. A. Reinterpretation of a remarkably wellpreserved pterosaur soft tissue from the Early Cretaceous of Brazil. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 16, p. 718-722. 1996.
- KELLNER, A. W. A. Panorama e perspectivas do estudo de répteis fósseis no Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 70, n. 3, p. 647-676. 1998.
- KELLNER, A. W. A. Pterosaur phylogeny and comments on the evolutionary history of the group. **Geological Society London Special Publications**, v. 217, p. 105-137. 2003.
- KELLNER, A. W. A. **Pterossauros - os senhores do céu do Brasil**. Rio de Janeiro: Vieira & Lent, 2006. 176 p.
- KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A.; SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; RODRIGUES, T.; OLIVEIRA, G.; CRUZ, L. A.; COSTA, F. R.; SILVA, H. P.; FERREIRA, J. S. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 113-135. 2013.
- KELLNER, A. W. A.; TOMIDA, Y. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. **National Science Museum Monographs**, v. 17, n. 1-135. 2000.
- LAMM, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone Histology of Fossil Tetrapods**. University of California Press, 2013. p. 55-160.

LEE, A. H.; O'CONNOR, P. M. Bone histology confirms determinate growth and small body size in the noasaurid theropod *Masiakasaurus knopfleri*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 33, n. 4, p. 865- 876. 2013.

LIMA, F. J. **Posicionamento estratigráfico dos vegetais fósseis da Formação Romualdo, Cretáceo Inferior da Bacia do Araripe**. 2013. 70 f. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2013.

LU, J.; KUNDRÁT, M.; SHEN, C. New Material of the Pterosaur *Gladocephaloideus* Lü et al., 2012 from the Early Cretaceous of Liaoning Province, China, with Comments on Its Systematic Position. **Plos ONE**, v. 11, n. 6, p. 0154888. 2016.

MARTILL, D. M.; UNWIN, D. M. The world's largest toothed pterosaur, NHMUK R481, an incomplete rostrum of *Coloborhynchus capito* (Seeley, 1870) from the Cambridge Greensand of England. **Cretaceous Research**, v. 34, p. 1-9. 2012.

NOVAS, F. E.; KUNDRAT, M.; AGNOLÍN, F. L.; EZCURRA, M. D.; AHLBERG, P. E.; ISASI, M. P.; ARRIAGADA, A.; CHAFRAT, P. A new large pterosaur from the Late Cretaceous of Patagonia. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 32, p. 1147-1452. 2012.

PADIAN, K.; HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. **Paleontology**, v. 24, p. 555-571. 2004.

PONTON, F.; ELZANOWSKI, A.; CASTANET, J.; CHINSAMY, A.; DE MARGERIE, E.; DE RICQLÈS, A. J.; CUBO, J. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds. **Acta Ornithologica**, v. 39, p. 21-24. 2004.

PRONDVAI, E.; STEIN, K.; ÖSI, A.; SANDER, M. P. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. **Plos One**, v. 7, p. 31392. 2012.

RODRIGUES, T.; KELLNER, A. W. A.; MADER, B. J.; RUSSELL, D. New pterosaur specimens from the Kem Kem beds (Upper Cretaceous, Cenomanian) of Morocco. **Rivista Italiana di Paleontologia e Stratigrafia**, v. 117, p. 149-160. 2011.

SANDER, M. P. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: implications for growth and biology. **Paleobiology**, v. 26, p. 466-488. 2000.

SARAIVA, A. A. F.; BARROS, O. A.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J. **Guia para trabalhos de Campo em paleontologia na Bacia do Araripe**. Fortaleza: Expressão Gráfica Editora, Fortaleza, 2014. 108 p.

SARAIVA, A. A. F.; HESSEL, M. H.; GUERRA, N. C.; FARA, E. Concreções calcárias da Formação Santana, Bacia do Araripe: uma proposta de classificação. **Estudos Geológicos**, v. 17, n. 1, p. 40-57. 2007.

SAYÃO, J. M. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geological Society London Special Publications**, v. 1, p. 335-342.

SAYÃO, J. M.; VILA NOVA, B. C.; FRANÇA, M. A.; OLIVEIRA, G. R.; LIMA, F. J.; SARAIVA, A. A. F. Fósseis do Araripe – Um exemplo de diversidade ao longo do tempo profundo. In: ALBUQUERQUE, U. P.; MEIADO, M. V. (Eds.). **Sociobiodiversidade na Chapada do Araripe**. Bauru: Canal 6 Editora, 2015. Bauru, 535 p.

- SILVA, H. P.; KELLNER, A. W. A. A combinação de técnicas na preparação de vertebrados fósseis: o exemplo de *Thalassodromeus sethi* (Pterosauria, Tapejaridae). In: Gallo, V.; Brito, P. M. Silva, H. M. A. Figueiredo, F. J. (Eds.). **Paleontologia de vertebrados grandes temas e contribuições científicas**. Rio de Janeiro, Editora Interciência, 2006. 330 p.
- STARCK, J. M.; CHINSAMY, A. Bone microstructure and developmental plasticity in birds and other dinosaurs. **Journal of Morphology**, v. 254, p. 232-246. 2002.
- STEEL, L. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. **Zitteliana**, v. 28, p. 109-125. 2008.
- VILA NOVA, B. C.; SARAIVA, A. A. F.; MOREIRA, J. K. R.; SAYÃO, J. M. Controlled excavations in the Romualdo Formation Lagerstätte (Araripe Basin, Brazil) and pterosaur diversity: remarks based on new findings. **Palaaios**, v. 26, p. 173-179. 2011.
- VILA NOVA, B. C.; SAYÃO, J. M. On wing disparity and morphological variation of the Santana Group pterosaurs. **Historical Biology**, v. 24, p. 567-574. 2012.
- WELLNHOFER, P. **The illustrated encyclopedia of pterosaurs**. Londres: Salamander Books, 1991. 192 p.
- WERNING, S. The Ontogenetic Osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. **Plos ONE**, v. 7, n. 3. 2012.
- WITTON, M. P.; HABIB, M. B. On the size and flight diversity of giant pterosaurs, the use of birds as pterosaur analogues and comments on the pterosaur flightlessness. **Plos ONE**, v. 5, n. 11, p. 13982. 2010.
- WITTON, M. P.; NAISH, D. A reappraisal of azhdarchid pterosaur functional morphology and paleoecology. **Plos ONE**, v. 3, p. e2271. 2008.
- WOODWARD, H. N.; HORNER, J. R.; FARLOW, J. O. Osteohistological evidence for determinate growth in the American Alligator. **Journal of Herpetology**, v. 45, n. 3, p. 339-342. 2011.

6. ARTIGO II

O CURIOSO CASO DA ONTOGENIA DE PTEROSSAUROS: USANDO A OSTEOLOGIA E A OSTEOHISTOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO SOMÁTICO DOS ANHANGUERÍDEOS

R.A.M. BANTIM¹; A.W.A. KELLNER²; J.M. SAYÃO³

¹*Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Brasil. renanbantimbiologo@gmail.com.*

²*Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Vertebrados Fósseis, Departamento de Geologia e Paleontologia, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, s/n, Bairro Imperial de São Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. alexander.kellner@gmail.com.*

³*Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. jmsayao@gmail.com.*

Resumo

Tradicionalmente estudos osteológicos de vertebrados fósseis têm utilizado algumas características morfológicas (macroscópicas) dos ossos para identificação do estágio ontogenético (fusão de ossos, porosidade das extremidades ósseas). Já a osteohistologia, inserida em análises de vertebrados fósseis no último século, utiliza-se de estruturas histológicas (lamelas circunferenciais, LAGs, ósteons) para a determinação do estágio ontogenético. Nem sempre a associação destes dois ramos da anatomia pode ser aplicada, pois na maioria dos casos os fósseis encontram-se isolados, ou a preservação do osso não é suficiente para uma análise osteohistológica precisa. Visando associar a osteohistologia e a osteologia para identificação de padrões ontogenéticos, foram selecionados seis espécimes de pterossauros

da Formação Romualdo que apresentassem ou não ossos fusionados. Para a caracterização osteohistológica foram selecionados um ou mais elementos ósseos de um mesmo indivíduo para confecção de cortes histológicos. Para a caracterização osteológica foram tomados dados a partir da fusão de ossos e epífises e textura superficial dos ossos. Ao integrar ambos os dados foi possível observar uma disparidade entre maturidade histológica e maturidade osteológica, com alguns indivíduos considerados imaturos osteohistologicamente, mas apresentando fusão de ossos, característica típica de um indivíduo adulto. Com os resultados histológicos foi possível observar que possivelmente pterossauros pterodactiloides mantivessem um crescimento ósseo contínuo chegando a grandes proporções, e atingissem a maturidade sexual antes da maturidade esquelética, formando EFS ao final de seu crescimento total e possivelmente numa fase ontogenética mais senil. Além disso, aqui propõe-se uma classificação para os estágios juvenil, sub-adulto e adulto de pterossauros, encorajando trabalhos futuros a utilizarem além da morfologia tradicional, a osteohistologia para traçar um melhor entendimento das taxas de crescimento e ontogenia dos pterossauros.

Palavras-chave: Pterosauria, Ontogenia, Fusão de ossos, Paleohistologia.

Introdução

Os pterossauros pterodactiloides foram um grupo diversificado de arcossauros volantes, que dominaram os continentes e os ares durante parte da era Mesozoica (WELLNHOFER, 1991; KELLNER, 2006). Nas últimas décadas, grandes avanços no estudo dos répteis alados têm reformulado a nossa compreensão sobre estes animais, incluindo sua evolução, ecologia, ontogenia, morfologia funcional e comportamento. No entanto, os fundamentos sobre a biologia dos pterossauros continuam a ser problemáticos, principalmente aqueles relacionados à caracterização ontogenética dos indivíduos (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). A atribuição confiável do estado ontogenético de vertebrados fósseis, como a diferenciação de indivíduos neonatos, juvenis, sub-adultos e adultos, é uma questão crítica em estudos paleontológicos (TUMARKIN-DERATZIAN, 2010). Os termos ontogenéticos “juvenil”, “sub-adulto” e “adulto” como aplicados aos vertebrados fósseis, geralmente implicam em etapas sucessivas em direção à finalização do crescimento somático, especificamente à maturidade esquelética (TUMARKIN-DERATZIAN, 2010; HONE; FARKE; WEDEL, 2016). Apenas alguns trabalhos utilizaram a osteohistologia com o intuito de fornecer parâmetros menos subjetivos para a determinação do desenvolvimento dos pterossauros e de suas estratégias de

crescimento (por exemplo SAYÃO, 2003; CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009; PRONDVAI et al., 2012; WANG et al., 2015; ELEUTÉRIO et al., 2015).

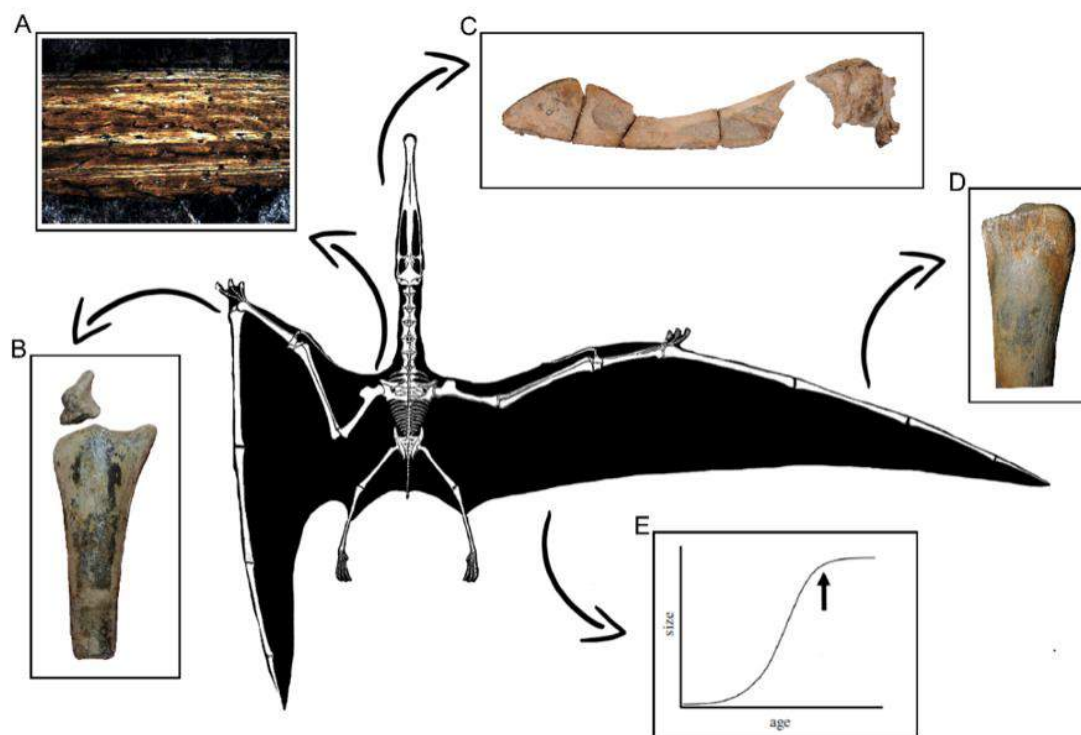
Os principais critérios macroscópicos independentes utilizados para avaliar os estágios ontogenéticos do esqueleto de alguns vertebrados fósseis incluem: ossificação das extremidades dos ossos (e.g., BENNETT, 1993), fusão de epífises e alguns elementos ósseos (CAREY, 1982; SADLER, 1991; BROCHU, 1996; GOTFREDSEN, 1997; FREY; MARTILL, 1998; CARRANO; HUTCHINSON; SAMPSON, 2005; IRMIS, 2007), o desenvolvimento de uma ornamentação craniana (DODSON, 1975; 1976; SAMPSON; RYAN; TANKE, 1997; KELLNER; TOMIDA, 2000; KELLNER; CAMPOS, 2002; RYAN et al., 2001; RYAN; RUSSELL, 2005; GOODWIN et al., 2006; HORNER; GOODWIN, 2006; 2008; KELLNER; CAMPOS, 2007; HONE; NAISH; CUTHILL, 2012) e a distinção entre texturas da superfície dos ossos de animais de diferentes classes de idade somáticas (TUMARKIN-DERATZIAN, 2010). Um segundo método (microscópico) é a avaliação da microestrutura do osso (BENNETT, 1993; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 2000; PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS, 2004; WERNING, 2012; KELLNER et al., 2013).

Tradicionalmente, nos estudos morfológicos de pterossauros, grandes proporções, fusão de estruturas e padrão de textura das extremidades ósseas são alguns dos critérios utilizados para identificação ontogenética (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000; SAYÃO, 2003) (Fig. 1). Analizamos seis espécimes de pterossauros comparando ambas as formas de identificação ontogenética (macroscópicas e microestrutura), ampliando a discussão acerca da maturidade esquelética dos pterossauros e como isso afeta as ideias atuais sobre a biologia desses répteis alados.

Abreviações histológicas: vc – canais vasculares (vascular canals); po – ósteons primários (primary osteons); LAG – Linha de pausa de crescimento (line of arrested growth); so – ósteon secundário (secondary osteon); t – trabécula (trabecullum); z – zona (zone); a – annulus; el – lamela endosteal (endosteal lamella).

Abreviações de instituições: MPSC - Museu de Paleontologia de Santana do Cariri, Brasil. MN – Museu Nacional, Rio de Janeiro, Brasil.

Figura 22 - Diferentes métodos utilizados para determinação da idade/ontogenia de espécimes de pterossauros. A - Presença de marcas de crescimento para determinação do estágio adulto para *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus*; B - Processo extensor da primeira falange alar não fusionado, indicando um estágio ontogenético de um juvenil; C - Presença de cristas cranianas bem desenvolvidas e suturas cranianas totalmente fechadas, indicando um estágio ontogenético adulto para *Maaradactylus kellneri* Bantim, Saraiva, Oliveira e Sayão (2014); D - Textura da superfície dos ossos, ausente em juvenis, e com ranhuras e sulcos em adultos; E - Crescimento assintótico baseado em múltiplas espécies, indicado pela seta preta (HONE et al., 2016).



Fonte: autor.

Material e métodos

Escolha dos espécimes

Este estudo foi baseado em seis espécimes fósseis de pterossauros pertencentes às coleções do Museu de Paleontologia da URCA em Santana do Cariri (MPSC) e do Museu Nacional (MN), são estes: MPSC R 1395 (asa esquerda parcialmente completa); MPSC R 982 (asa esquerda parcialmente completa); MPSC R 2090 (rádio, ulna, carpais e parte da primeira falange alar); MN 4809-V (asas esquerda e direita), MN 6594-V (fragmento de uma falange alar) e MN 7060-V (metacarpo IV e 1ª falange alar).

Preparação das lâminas

Para a investigação da microestrutura óssea, os espécimes MPSC R 1395, MPSC R 982, MPSC R 2090, MN 4809-V, MN6594-V e MN 7060-V foram medidos, fotografados e descritos antes de serem seccionados, seguindo a metodologia proposta por Lamm (2013). Tradicionalmente, estudos osteohistológicos utilizam a parte da diáfise dos ossos para interpretação histológica devido a esta região preservar mais tecido cortical e registro de marcas de crescimento (FRANCILLON-VIEILLOT, ARNTZEN; GERAUDIE, 1990; ANDRADE; SAYÃO, 2014). No entanto, devido à escassez de material, algumas amostras foram retiradas em porções das metáfises. Para a preparação das lâminas histológicas uma amostra de aproximadamente 1 cm foi obtida a partir de cada osso amostrado. Antes da preparação das lâminas histológicas, os espécimes foram preparados mecanicamente, com cautela para não alterar as superfícies ósseas dos exemplares. As amostras seccionadas foram embebidas em resina epóxi clara Resapol T-208 catalisada com Butanox M50, e após a secagem foram cortadas com auxílio de uma microretífica (Dremel 4000 com cabo extensor 225), com um disco de diamante acoplado. Em seguida, o lado de montagem das seções foi desbastado e polido utilizando-se de uma máquina de polimento metalográfico (AROPOL-E, AROTEC LTDA) com lixas abrasivas AROTEC (granulometria 60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500) até a eliminação de arranhões no bloco. Posterior ao polimento os blocos foram colados em lâminas de vidro e novamente desbastados até que fossem suficientemente translúcidos para a observação das estruturas osteohistológicas em microscópio biológico. Além da obtenção das novas amostras, algumas lâminas já existentes de alguns espécimes também foram reanalisadas neste trabalho.

Obtenção e edição das imagens

As secções foram examinadas e fotografadas em um microscópio de luz transmitida (Zeiss Inc. Barcelona, Espanha) acoplado a uma câmera AxioCam, com software de obtenção de imagens Axio Imager.M2. Para análise sob nicóis cruzados foi utilizado um microscópio petrográfico (Opton, Hexasystems, Brasil), utilizando uma câmera acoplada.

Resultados

MN 7060-V

Morfologia

MN 7060-V consiste em uma primeira falange alar (F1d4 = 251 mm) e de um metacarpo IV (mcIV = 137 mm) (Fig. 2 A, B). Este espécime foi descrito anteriormente por Vila Nova et al. (2011) e identificado como pertencente ao clado Anhangueria (ELEUTÉRIO et al., 2015). O metacarpo IV encontra-se preservado em três dimensões (Fig. 2 A), sem nenhum sinal de deformação, mas apresenta sinais de erosão e várias rachaduras, o que poderia apontar para a perda de algumas camadas mais externas do osso. Ao se analisar as principais características ontogenéticas macroscópicas pode-se observar que o processo extensor da primeira falange alar está ausente. Esta estrutura não se encontrava articulada à articulação proximal da F1d4, sendo considerada uma característica identificada previamente como de um indivíduo juvenil ou imaturo (BENNETT, 1993; FREY; MARTILL, 1998; KELLNER; TOMIDA, 2000; SAYÃO, 2003). Ao se observar as extremidades da F1d4 e do mcIV percebeu-se pouca ou quase nenhuma porosidade, indicando também um estágio ontogenético menos avançado (de acordo com BENNETT, 1993). A primeira falange alar apresenta sinais de preservação que são semelhantes às do metacarpo IV, mostrando uma deformação na direção longitudinal, que modifica sua curvatura natural.

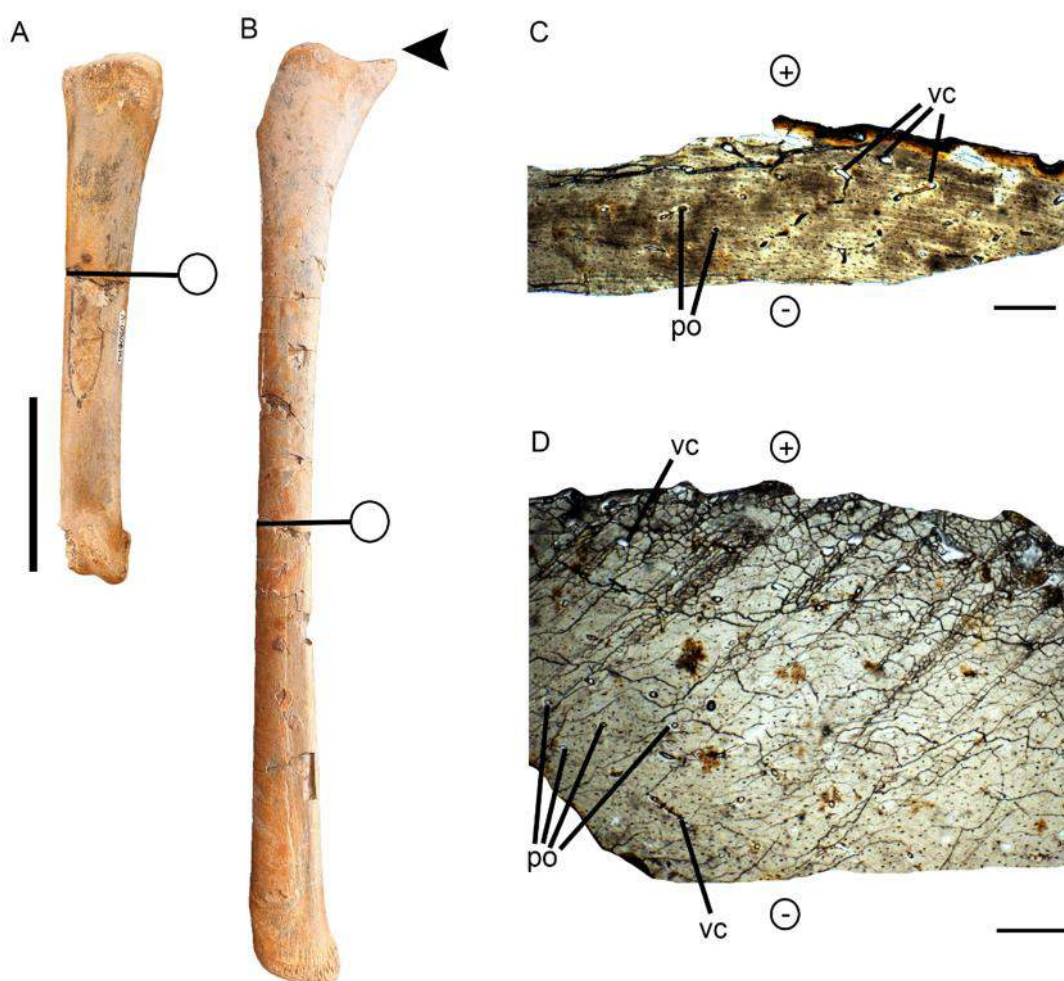
Histologia

Secções delgadas foram realizadas na diáfise da 1ª falange alar e do metacarpo IV de MN 7060-V (Fig. 2 C). O córtex é relativamente fino (~563 µm). Na superfície endosteal não há presença de trabéculas, zonas de reabsorção óssea ou lamelas circunferenciais internas, sendo relativamente plana e sem muitas irregularidades. Em direção ao perióstio observa-se um tecido ósseo do tipo lamelar, com alguns ósteons primários dispersos irregularmente pela matriz óssea, várias lacunas de osteócitos desorganizadas e poucos canais vasculares organizados em um padrão reticular, variando seu tamanho entre 14 a 18 µm. Não há presença

de marcas de crescimento. Algumas fraturas diagenéticas cortam o córtex em direção ao periósteo.

O córtex da F1d4 possui uma espessura média de 1163 μm , com uma cavidade medular livre de 800 μm (Fig. 2 D). Não apresenta nenhuma trabécula, zona de reabsorção óssea ou lamela circunferencial interna. O córtex mostrou características gerais similares ao McIV, apresentando múltiplas lacunas de osteócitos dispersas na matriz óssea. No entanto aqui os canais vasculares estão dispostos longitudinalmente, já havendo a formação de ósteons secundários. Não foram observadas LAGs, annuli ou EFS.

Figura 23 - Espécime MN 7060-V. Escala: 5 cm. A - Metacarpo IV; B - F1d4; C - Seção histológica transversal do McIV composto por poucos canais vasculares e ósteons primários. Escala: 240 μm ; D - Seção histológica transversal da F1d4, no córtex observa-se canais vasculares reticulares e longitudinais, além de ósteons primários. Escala: 240 μm . Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta indica a ausência do processo extensor da F1d4.



Fonte: autor.

MN 6594-V

Morfologia

O exemplar MN 6594-V consiste em um esqueleto parcial de um pterossauro, incluindo partes do crânio, mandíbula e pós-cranio. O mesmo foi referido ao anhanguerídeo *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer 1987 por Kellner e colaboradores (2013). Com envergadura estimada superior a 8 m, este espécime é o maior pterossauro identificado até o momento recuperado de um depósito Gonduânico (KELLNER et al., 2013). O pós-crânio de MN 6594-V inclui vértebras cervicais, dorsais e sacrais, escápula e coracoide, esterno, alguns ossos das asas, parte da pélve e um fêmur (KELLNER et al., 2013). Em relação aos ossos da asa, ambos os úmeros, as articulações distais do rádio e ulna estão incompletos, o carpo é incompleto, com as séries proximal e distal fusionadas. Apenas a articulação proximal do metacarpo IV foi preservada. O dígito alar (Fig. 3 A) encontra-se incompleto, e sua principal parte preservada consiste na articulação distal da 1ª falange alar.

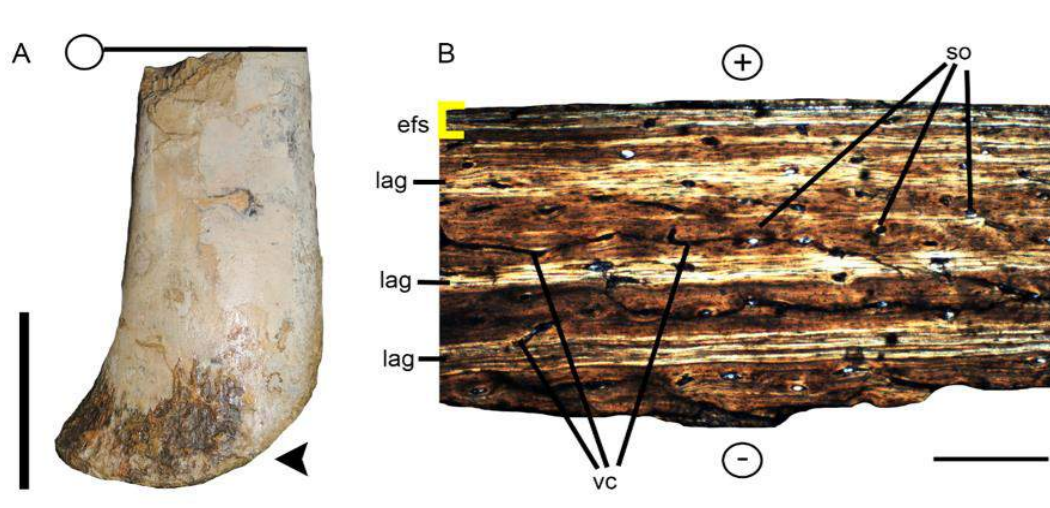
Macroscopicamente nota-se que todos os elementos cranianos estão fusionados e as suturas não podem ser distinguidas. Além disso, os carpais estão fusionados, caracterizando MN 6594-V como um indivíduo morfologicamente adulto (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000; KELLNER et al., 2013). Como o espécime MN 6594-V foi coletado sob a superfície do solo, a camada óssea mais externa dos elementos pós-cranianos está bastante desgastada devido a processos intempéricos, o que tornou a identificação de texturas ósseas inviável neste espécime.

Histologia

Para a caracterização microestrutural de MN 6594-V foi utilizada uma seção histológica da parte distal da 1ª falange alar (Fig. 3 B). Uma descrição preliminar da histologia deste espécime foi apresentada por Kellner et al. (2013). Aqui foi reanalisada uma seção histológica do mesmo osso e buscadas suas características ontogenéticas. Apesar da preservação tridimensional de todos os ossos da asa, este foi o único osso que não apresentava a superfície

intemperizada tampouco grande permineralização de calcita, sendo, portanto, o único adequado para este tipo de análise. O córtex apresenta uma espessura média de 700 μm , com uma cavidade medular trabeculada e três grandes zonas de reabsorção óssea. O tecido ósseo é predominantemente lamelar, com canais vasculares organizados de forma reticular e longitudinal. Nas proximidades do endósteo estão preservados poucos ósteons secundários e uma LAG. No total seu córtex apresenta três LAGs, uma próxima ao endósteo, uma no córtex medial e a última próxima ao periósteo, sendo coberta pela deposição de lamelas circunferenciais externas ou EFS. Ósteons secundários estão presentes na porção medial do córtex.

Figura 24 - Espécime MN 6594-V. Escala: 5 cm. A - Porção distal da F1d4; B - Seção histológica transversal da F1d4, no córtex observa-se canais vasculares reticulares, ósteons secundários, LAGs e EFS. Escala: 300 μm . Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta preta indica uma superfície óssea bastante rugosa e perfurada na F1d4.



Fonte: autor.

Dentre as características osteohistológicas apresentadas por MN 6594-V destacam-se a presença de marcas de crescimento (LAGs), a baixa vascularização e a deposição de EFS. A formação de LAGs está relacionada ao momento em que o indivíduo avança na ontogenia, permitindo a deposição de novas camadas de osso e a sucessiva diminuição de sua vascularização, sugerindo taxas mais lentas na formação do osso quando comparado com uma fase inicial do crescimento (SAYÃO 2003, CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2008). Mais tarde na ontogenia o espaçamento das LAGs tende a tornar-se visivelmente mais estreito como resultado da diminuição da aposição óssea (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE,

2008), assim como o padrão observado aqui. O espaçamento das linhas de crescimento em MN 6594-V, bem como as suas características histológicas gerais, tais como a presença de uma lamela circunferencial externa (EFS), sugerem que o crescimento deste indivíduo tivesse cessado, sendo seu estado de maturidade condizente com o de um indivíduo adulto.

MN 4809-V

Morfologia

MN 4809-V foi preservado tridimensionalmente em uma concreção calcária da Formação Romualdo. O espécime é composto pelos membros anteriores esquerdo e direito de um pterossauro anhanguerídeo, com a preservação do úmero, rádio, ulna, metacarpo IV, carpais, 1^a, 2^a e 3^a falanges do dígito alar, pteróide, dígitos 1, 2 e 3, tíbia e fêmur direito (Fig. 4 A). Este espécime foi descrito anteriormente por Sayão (2003) e identificado como um anhanguerídeo. Dentre as características morfológicas existem uma série de fusões nos ossos, como as epífises do úmero e da ulna; os carpais e o processo extensor da 1^a falange alar (Fig. 4 B). Além disso, as porções distais da maioria dos elementos ósseos da asa apresentam desgastes na superfície óssea constituídos por pequenos orifícios e microfendas.

Histologia

As seções histológicas utilizadas foram as da 1^a falange alar, ulna, rádio e metacarpo IV (Fig. 4 A). MN 4809-V foi analisado anteriormente por Sayão (2003), que apresentou o primeiro relato de histovariabilidade em ossos de um mesmo indivíduo de pterossauro. No entanto, em seu trabalho não foram traçadas inferências ontogenéticas deste indivíduo.

Na seção transversal da ulna esquerda observa-se um córtex de aproximadamente 556 µm, com uma cavidade medular livre (Fig. 4 C). Na superfície endosteal está preservada uma camada fina de osso avascular, classificada aqui como uma lamela circunferencial interna. Na maioria das vezes a presença de uma lamela endosteal é acompanhada pela formação de uma

EFS (STEEL, 2008), indicando que o crescimento do periósteo também cessou ou retardou a taxas insignificantes (ANDRADE; SAYÃO, 2014; ANDRADE et al., 2015). Isto, no entanto, não ocorre aqui, pois não há a presença de EFS nesse osso. Em direção ao periósteo o córtex é composto de um tecido ósseo lamelar com muitos canais vasculares orientados longitudinalmente e alguns formando ósteons secundários. No endósteo há uma pequena zona de reabsorção. Nenhuma LAG está preservada na ulna de MN 4809-V.

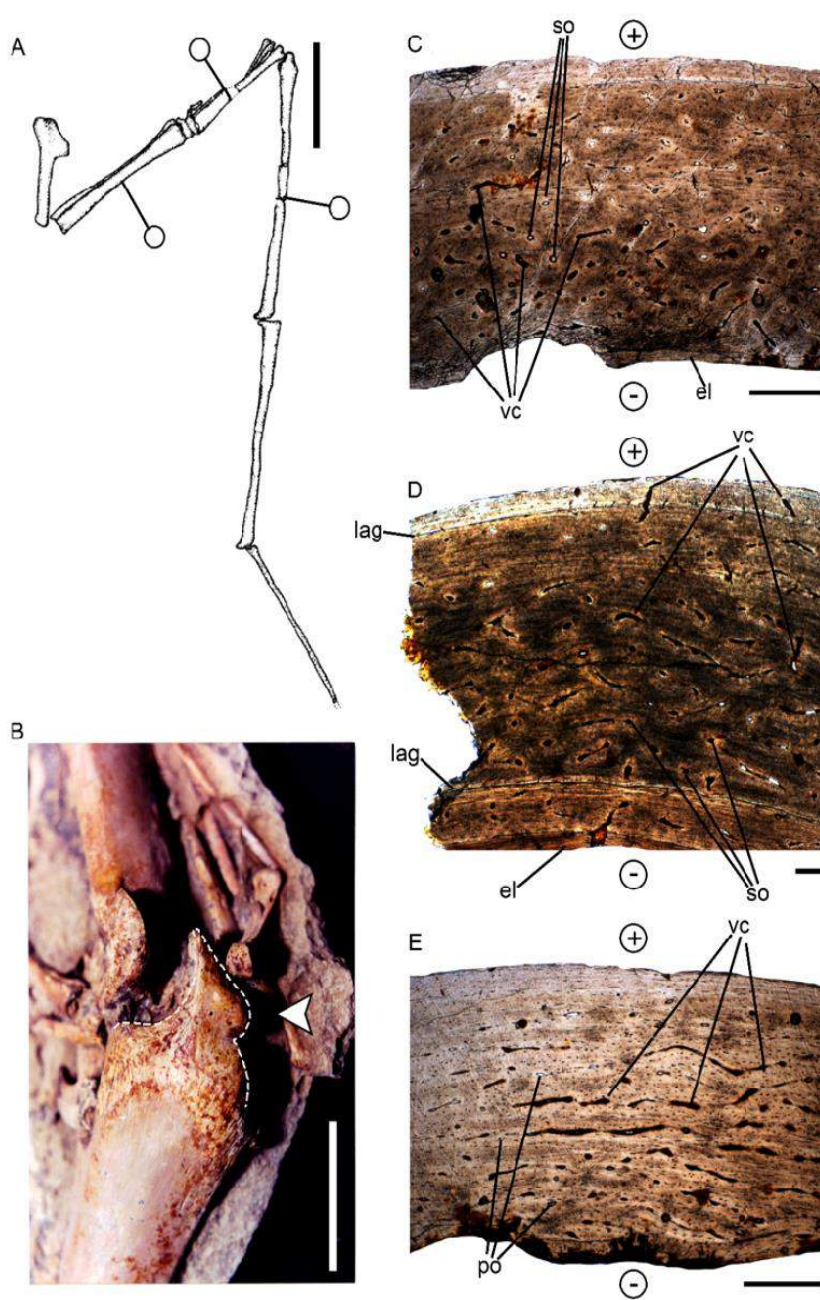
O metacarpo IV esquerdo de MN 4809-V (Fig. 4 D) é bastante espesso, com aproximadamente 1333 μm (quase o triplo da espessura da ulna). A cavidade medular do McIV é livre, sem trabéculas ou zonas de reabsorção óssea. A superfície endosteal é rodeada pelas lamelas circunferenciais internas. Seu córtex é composto tanto por tecido primário quanto secundário, na porção inferior e superior por tecido ósseo lamelar e a porção média é fibrolamelar. Na região que compreende o osso primário é possível observar ósteons primários embutidos dentro da matriz óssea e poucos canais vasculares reticulares. Na porção média do córtex, os canais vasculares são maiores em tamanho do que os que foram formados mais tarde, compreendidos na porção superior do córtex. Na porção média do córtex também ocorre a formação de ósteons secundários. Em todo o córtex do metacarpo IV ocorrem três marcas de crescimento: uma lamela interna no endósteo, uma linha de pausa de crescimento (LAG), que separa o tecido endosteal primário do córtex médio secundário, e uma terceira LAG que está depositada na porção superior do córtex, bem próxima ao periósteo. Nesta camada, acima da última LAG, ocorrem lacunas de osteócitos organizadas lateralmente e canais vasculares longitudinais.

O córtex da 1ª falange alar mede aproximadamente 1000 μm de espessura, e a seção transversal apresenta um córtex basicamente composto de tecido ósseo lamelar (Fig. 4 E). Não há presença de lamelas circunferenciais internas como ocorre na ulna e no metacarpo IV. A camada endosteal é relativamente irregular, mas sem a presença de trabéculas ou zonas de reabsorção óssea. Na porção endosteal os canais estão organizados em um padrão longitudinal, com alguns ósteons primários. No córtex médio os canais vasculares estão presentes em maior número e diâmetro, apresentando-se, por vezes, em padrões longitudinais e reticulares. Na porção periosteal do córtex os canais vasculares estão inseridos longitudinalmente na matriz óssea, apresentando ósteons secundários.

Foi observada uma diferenciação histológica entre os ossos aqui amostrados. Na ulna e no metacarpo IV estão presentes as lamelas circunferenciais internas, o que não ocorre na primeira falange alar. Apesar da presença de tecido secundário, osteons secundários, linhas de

crescimento e lamelas endosteais, MN4809-V não pode ser considerado um adulto devido à ausência de EFS. Isto indica que possivelmente MN 4809-V ainda não tivesse finalizado seu crescimento assintótico, apesar da fusão de algumas estruturas e de seu tamanho avantajado, indicando a presença de alometria.

Figura 25 - Espécime MN 4809-V. A - Asa esquerda completa de MN 4809-V, escala: 5 cm; B - Detalhe da fusão do processo extensor e da F1d4r. Escala: 6 cm; C - Seção histológica transversal da ulna, com córtex apresentando canais vasculares reticulares e ósteons secundários. Escala: 300 μ m; D - Seção histológica transversal do McIV apresentando canais vasculares reticulares, ósteons secundários, uma lamela endosteal e duas LAGs. Escala: 300 μ m; E - Seção histológica transversal da F1d4, no córtex observa-se canais vasculares reticulares e ósteons primários. Escala: 300 μ m. Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta branca aponta a fusão do processo extensor com a F1d4.



Fonte: autor.

MPSC R 2090

Morfologia

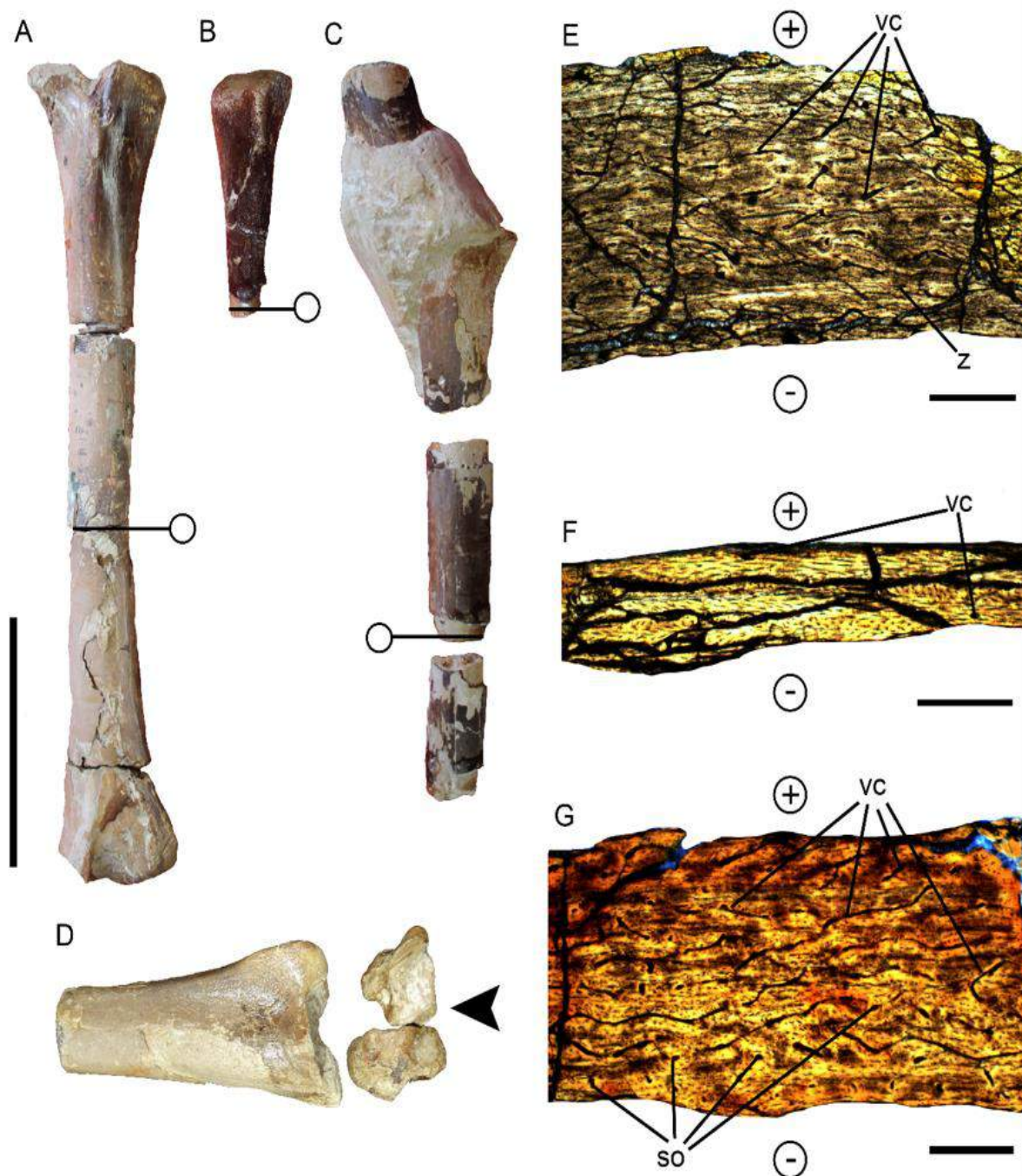
Este espécime é composto por um membro anterior direito incompleto, preservado tridimensionalmente, que contém uma ulna completa (Fig. 5 A), a porção distal de um rádio (Fig. 5 B), alguns ossos carpais, partes da 1ª e 2ª falanges alares (Fig. 5 C) e alguns fragmentos associados a outras falanges. Este espécime foi descrito anteriormente por Eleutério et al., (2015) e identificado como pertencente ao clado Anhangueridae.

Dentre as características ontogenéticas macroscópicas usualmente utilizadas notou-se que os ossos carpais não se encontram fusionados (Fig. 5 D) e a epífise da ulna está ausente, ambas características indicativas de um indivíduo sub-adulto (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000; SAYÃO, 2003). As texturas ósseas superficiais das extremidades da ulna e do rádio apresentam pouca ou quase nenhuma porosidade, característica indicativa de um estágio ontogenético menos avançado (BENNETT, 1993), sendo MPSC R 2090 caracterizado morfologicamente como sub-adulto.

Histologia

Foram confeccionadas três lâminas, uma da ulna, uma do rádio e uma da 1ª falange alar de MPSC R 2090. O córtex da ulna é relativamente espesso com 957 μm , e a cavidade medular é livre com 2900 μm de diâmetro (Fig. 5 E). Na cavidade medular não foram observadas lamelas circunferenciais internas. A microestrutura da ulna é composta de tecido fibrolamelar contendo canais vasculares dispostos em padrão reticular. No sentido endósteo-perioste, o córtex apresenta ainda várias lacunas de osteócitos organizados de acordo com o padrão das fibras de colágeno, não chegando a formar ósteons secundários. Na parte superior do endósteo, logo acima de uma fratura diagenética, está uma zona que indica que houve uma desaceleração da deposição óssea sem formar uma verdadeira linha de crescimento (LAG), pois a zona não está presente em toda a circunferência do osso.

Figura 26 - Espécime MPSC R 2090. Escala: 10 cm. A - Ulna; B - Rádio; C - F1d4; D - Detalhe dos ossos carpais não fusionados; E - Seção histológica transversal da ulna, no córtex observa-se canais vasculares reticulares e ósteons secundários. Escala: 300 μ m; F - Seção histológica transversal do rádio, no córtex observa-se canais vasculares longitudinais e tecido “plywood-like”. Escala: 250 μ m; G - Seção histológica transversal da F1d4, no córtex observa-se canais vasculares reticulares e ósteons secundários. Escala: 300 μ m. Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta preta aponta os ossos carpais não fusionados.



Fonte: autor.

O córtex do rádio é extremamente fino (espessura de 234 μm), possuindo uma cavidade medular livre com 1159 μm (Fig. 5 F). O córtex do rádio é composto por tecido paralelo fibroso. Em sentido endósteo-periósteo são observados poucos canais vasculares orientados longitudinalmente, porém as lacunas de osteócitos são mais numerosas e orientadas pelas fibras de colágeno (lamelas), ora em sentido horizontal e por vezes em sentido vertical. Este padrão é interpretado como um tecido periosteal primário, tido anteriormente como presente apenas em pterossauros e nomeado de “plywood-like” (DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008). Neste tipo de tecido as lacunas de osteócitos e canais vasculares em cada lamela apresentam um tipo de orientação preferida, variando a partir de uma lamela para a próxima (STEEL, 2008). Eleutério et al. (2015) relacionaram este padrão a fatores biomecânicos, tais como a pressão sofrida pelo rádio durante o voo, mas não identificaram esse tecido como “plywood-like”.

A primeira falange alar apresenta um córtex espesso com 889 μm (Fig. 5 G) e uma cavidade medular livre com 1869 μm . O córtex da F1D4 é constituído por tecido ósseo lamelar com algumas fraturas ao longo do osso. Os canais vasculares são dispostos em um padrão reticular, e por vezes de forma longitudinal. Próximo ao periósteo os canais longitudinais são rodeados por osteócitos, formando ósteons secundários. Não é possível observar na F1D4 nenhuma lamela circunferencial interna, EFS ou linha de crescimento. Face ao exposto, a ausência de EFS determina que MPSC R 2090 seja caracterizado histologicamente como um indivíduo juvenil.

MPSC R 1395

Morfologia

MPSC R 1395 (Fig. 6 A - D) consiste em um membro anterior esquerdo parcialmente completo, com a preservação da porção proximal de um úmero, porção distal e epífise da ulna, carpais não fusionados, pteróide, dígitos I, II e III, metacarpo IV, primeira, segunda, terceira e a parte proximal da quarta falange alar. Encontra-se extremamente bem preservado, não possuindo nenhuma distorção visível. O úmero possui uma crista deltopeitoral deformada e bem desenvolvida, que mostra a mesma morfologia de outros anhanguerídeos da Formação Romualdo (KELLNER et al., 2013). Com base nas proporções de outros anhanguerídeos, em

que o úmero tem quase o mesmo comprimento do metacarpo IV (por exemplo, VILA NOVA; SAYÃO, 2012), estima-se que este teria 262 mm de comprimento. A articulação proximal do metacarpo IV mostra um processo desenvolvido que se encaixa em uma fôvea na série do carpal distal. A 1ª falange alar é um elemento de grandes proporções, uma característica típica da maioria dos pteranodontoides. O processo extensor da 1ª falange não está fusionado, bem como os carpais e a epífise do úmero, sugerindo que este espécime era um indivíduo jovem, apesar de seu grande tamanho.

Histologia

Foram elaboradas seções delgadas do úmero, ulna e 1ª falange do dígito alar. O úmero (Fig. 6 E) possui uma cavidade medular livre. Na superfície endosteal não é observada a presença de lamelas circunferenciais internas. As lacunas de osteócitos estão organizadas longitudinalmente por todo o córtex e se apresentam achatadas. O córtex do úmero de MPSC R 1395 é relativamente espesso, medindo aproximadamente 800 µm, contendo um tecido ósseo organizado em um padrão lamelar, com canais vasculares organizados, por vezes, de forma longitudinal e laminar (anastomosados). Devido à ausência de lamelas circunferenciais e ósteons secundários, este tecido é caracterizado como primário (*sensu* SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Poucos ósteons primários são observados na porção inferior do córtex e estes apresentam um diâmetro de aproximadamente 15 a 22 µm. Na porção superior do córtex (próximo a superfície periosteal) os ósteons primários aumentam em número, apresentando de 14 a 33 µm de diâmetro. Apenas uma pequena *annuli* é observada na porção superior do córtex, indicando uma desaceleração do crescimento. Todas as características osteohistológicas do úmero apontam para um estágio ontogenético de um sub-adulto.

A cavidade medular da ulna em seção transversal é livre com ausência de trabéculas (Fig. 6 F). Na superfície endosteal não há preservação da lamelas circunferenciais internas. Em direção a camada periosteal, nota-se uma camada de aproximadamente 300 µm, densa e achatada, contendo lacunas de osteócitos organizadas longitudinalmente. Além disso, alguns ósteons secundários em formação inicial podem ser observados (no mínimo 6) com diâmetro que varia de 10 a 18 µm. Estes ósteons secundários estão localizados muito próximos a superfície endosteal, sugerindo uma atividade de erosão osteoclástica (LU et al., 2016). Alguns ósteons secundários são mal definidos e díspares em tamanho e no topo desta camada está

preservada uma linha de crescimento (LAG). Ao todo, o córtex da ulna de MPSC R 1395 é bastante espesso com pelo menos 1300 μm de comprimento, composto de um tecido ósseo secundário. Acima da LAG o tecido ósseo predominante é paralelo fibroso (ou pseudo-lamelar), com canais vasculares anastomosados, orientados de forma longitudinal e reticulares. Uma segunda marca de crescimento está localizada bem próximo a superfície periosteal, bem diferente da inferior, que está preservada na forma de uma linha irregular escura, identificada como um *annuli*. Neste osso também estão presentes ósteons primários, distribuídos ao longo do córtex, mas ausentes próximos a região endosteal.

A cavidade medular da 1ª falange alar é completamente preenchida por franjas de calcita pós-diagenéticas. Devido à expansão destas franjas, o osso apresenta várias fraturas verticais, cortando o córtex. Diferente do úmero e da ulna, esta falange apresenta trabéculas (com 110 e 200 μm de comprimento) cortando o interior do osso (Fig. 6 G), dando suporte e manutenção a falange. Na superfície endosteal (córtex profundo), alguns ósteons secundários estão presentes, indicando que o processo de remodelamento ósseo estaria em fase inicial. Estes ósteons são menores em relação aqueles do úmero e da ulna e apresentam diâmetro que varia em 10 e 15 μm . Em direção ao periósteo, observamos um córtex composto por tecido ósseo lamelar relativamente fino, com 580 μm de comprimento, contendo poucos ósteons primários alinhados e dispostos radialmente. A maioria absoluta dos canais vasculares está organizada num padrão longitudinal, sendo alguns poucos dispostos em um padrão reticular. Na região medial do córtex está presente uma marca de crescimento, identificada aqui como uma zona. Na 1ª falange não houve a deposição de lamelas circunferenciais internas ou externas (= sistema fundamental externo - EFS). A ausência dessa estrutura induz que o indivíduo ainda não teria atingido seu desenvolvimento assintótico, permitindo a esse osso crescer linearmente (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; LU et al., 2016). O padrão tecidual também não condiz com aquele apresentado por organismos nos estágios iniciais de desenvolvimento devido à ausência de tecido plexiforme, MPSC R 1395 pode ser, portanto, considerado um indivíduo sub-adulto.

Figura 27 - Espécime MPSC R 1395. Escala: 10 cm. A - F1d4; B - Porção anterior do úmero; C - Porção distal da ulna; D - Detalhe dos ossos carpais não fusionados; E - Seção histológica transversal do úmero, no córtex observa-se canais vasculares reticulares, ósteons primários e uma *annuli*. Escala: 300 μ m; F - Seção histológica transversal da ulna, o córtex mostra canais vasculares reticulares, ósteons secundários, uma LAG e uma *annuli*. Escala: 300 μ m; G - Seção histológica transversal da F1d4, no córtex observa-se canais vasculares reticulares, ósteons secundários e uma zona. Escala: 300 μ m. Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta preta em A aponta o processo extensor da F1d4 alar não fusionado e em C e D os ossos carpais não fusionados.



Fonte: autor.

MPSC R 982

Morfologia

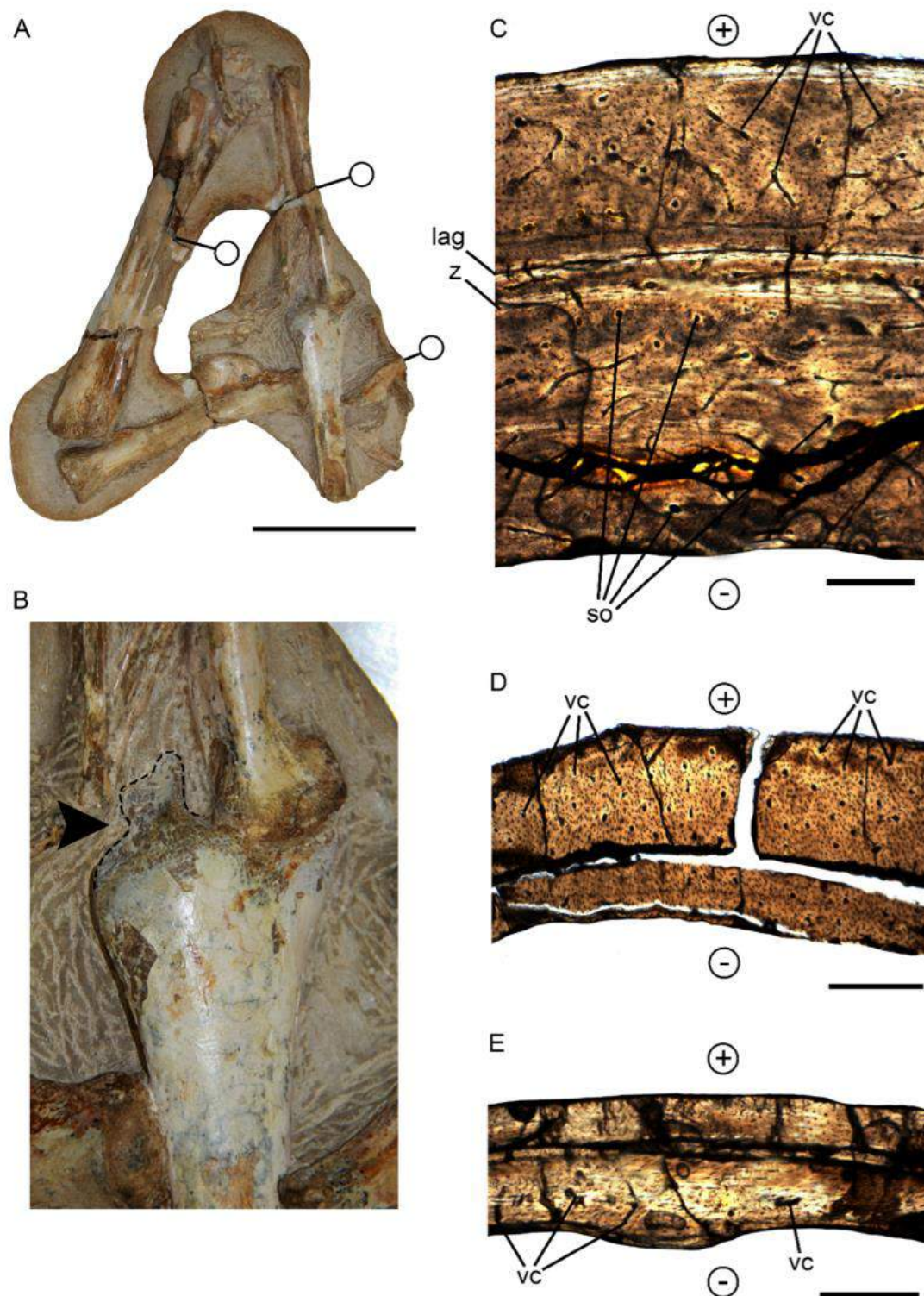
O espécime MPSC R 982 (Fig. 7 A) constitui restos tridimensionais de uma asa esquerda em concreção calcária, composta por escápula, coracoide, úmero, rádio, ulna, carpais, pteróide, metacarpo IV, dígitos I, II e III, ungueais e a porção proximal da 1ª falange alar. Compartilha uma característica sinapomórfica com Pteranodontoidea, que é a crista deltopeitoral do úmero deformada (KELLNER; TOMIDA, 2000). Com base nas proporções de outros anhanguerídeos, em que o úmero tem quase o mesmo comprimento do metacarpo IV (ver VILA NOVA; SAYÃO, 2012 para uma revisão), MPSC R 982 é atribuído aos Anhangueridae.

Antes de integrar a coleção do MPSC este material pertenceu a um colecionador privado que manipulou o espécime, reconstruindo artisticamente algumas partes com massa plástica (i.e. preparado de cargas minerais aglomerado com resina de poliéster). Isto fez com que fosse aplicado o método de preparação mecânica para retirada deste material. Como principais características ontogenéticas tem-se a presença do processo extensor da 1ª falange alar fusionado (Fig. 7 B), os carpais fusionados e a fusão da escapula e do coracoide formando o complexo escapulacoracoide. Devido à fusão destes ossos MPSC R 982 pode ser morfologicamente considerado um adulto.

Histologia

O metacarpo IV é relativamente completo, com aproximadamente 1500 µm de espessura. Seu córtex é composto de tecido ósseo secundário fibrolamelar (Fig. 7 C) e a cavidade medular é livre, com ausência de lamelas circunferenciais internas. A superfície do endóstio é irregular, sendo pouco vascularizado na base do córtex, com alguns canais vasculares reticulares e ósteons secundários. Em direção ao perióstio são observadas duas marcas de crescimento localizadas na porção medial do córtex, uma zona e uma LAG. Após as linhas de crescimento do córtex medial o tecido torna-se mais vascularizado, com um maior número de canais vasculares reticulares e longitudinais e ósteons secundários.

Figura 28 - Espécime MPSC R 982. Escala: 5 cm. A - Ossos preservados de MPSC R 982; B - Detalhe da fusão do processo extensor com a F1D4; C - Seção histológica transversal do McIV, no córtex observa-se canais vasculares reticulares, ósteons secundários, uma LAG e uma zona. Escala: 300 μ m; D - Seção histológica transversal do coracoide, no córtex observa-se apenas canais vasculares longitudinais. Escala: 300 μ m; E - Seção histológica transversal do rádio, no córtex observa-se poucos canais vasculares. Escala: 250 μ m. Os símbolos + e - representam a superfície periosteal e endosteal, respectivamente. A seta preta aponta o processo extensor da F1d4 fusionado.



Fonte: autor.

O coracoide de MPSC R 982 (Fig. 7 D) apresenta um córtex bem desenvolvido, com espessura média de 749 μm . O córtex é constituído de tecido secundário similar a uma organização paralelo fibrosa. Os canais vasculares estão organizados longitudinalmente por todo o córtex, desde a base, até o periósteo. As lacunas de osteócitos são desorganizadas na matriz óssea, mas nas proximidades de alguns canais vasculares parecem iniciar a formação de ósteons secundários. Linhas de crescimento, ósteons primários, trabéculas, zonas de reabsorção, EFS e lamelas circunferenciais estão ausentes. O rádio de MPSC R 982 (Fig. 7 E) parece ter a mesma conformação óssea do coracoide, com um córtex fino de, aproximadamente, 370 μm .

O rádio apresenta tecido ósseo secundário em um padrão lamelar; as lacunas de osteócitos são organizadas lateralmente e os poucos canais vasculares são reticulares. Da mesma maneira que o coracóide, o rádio não contém nenhuma outra estrutura além de canais vasculares, lacunas de osteócitos e uma linha de pausa de crescimento (LAG). Com base nos ossos seccionados, MPSC R 982 pode ser considerado um animal sub-adulto, pois não apresentava ainda EFS, mas no metacarpo IV, no coracoide e no rádio podem ser observados ósteons secundários.

Discussão

A primeira distinção fundamental na ontogenia de um vertebrado é entre adultos e não adultos. Os animais plenamente adultos são idealmente a unidade básica da taxonomia alfa (HONE; FARKE; WEDEL, 2016) e a morfologia de um animal adulto é considerada, por vezes, a base da maioria das análises funcionais e ecológicas (HONE; FARKE; WEDEL, 2016). Alguns autores têm utilizado a fusão e ossificação de determinados ossos como um indicador da maturidade ontogenética em pterossauros (WELLNHOFER, 1975; BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000), o que em parte é confirmado aqui. Por exemplo, a fusão de algumas vértebras dorsais formando o notário é visto em muitos táxons como um grau elevado de maturidade ontogenética (KELLNER; TOMIDA, 2000; BENNETT, 2001; VELDMEIJER, 2006). Outros elementos mostram co-ossificação semelhante, incluindo a fusão de ossos cranianos (KELLNER; TOMIDA, 2000).

A avaliação da textura superficial dos ossos que permite a categorização como ossos imaturos e maduros, têm sido observados em vários grupos de amniotas fósseis, incluindo

sinapsídeos basais (BRINKMAN, 1988), ictiossauros (JOHNSON, 1977), pterossauros (BENNETT, 1993) e dinossauros (CALLISON; QUIMBY, 1984; HORNER; CURRIE, 1994; JACOBS et al., 1994; SAMPSON; RYAN; TANKE, 1997; CARR, 1999; BRILL; CARPENTER, 2001; RYAN et al., 2001; TUMARKIN-DERATZIAN, 2003; RYAN; RUSSELL, 2005; BROWN, 2006; BROWN; RUSSELL; RYAN, 2007). A textura da superfície dos ossos de pterossauros também é alterada durante a ontogênese (BENNETT, 1993), por vezes sendo refletida na remodelação microestrutural do osso. O exemplo mais conhecido em estudos de pterossauros é a análise de Bennett (1993), no qual diversas amostras de *Pteranodon* foram analisadas segundo a fusão de ossos, ossificação epifiseal e textura óssea. Neste caso, quanto à textura óssea, os indivíduos mais jovens possuíam uma superfície óssea lisa ou levemente estriada, evoluindo para profundamente rugosa em estágios ontogenéticos mais avançados (BENNETT, 1993). Na sua avaliação de 707 espécimes de *Pteranodon*, Bennett (1993) ainda revelou que apenas 15% da amostragem representava indivíduos imaturos e, alguns indivíduos jovens foram semelhantes em tamanho quando comparados a adultos. Ele concluiu que o menor indivíduo da amostragem apresentou cerca de 70% do tamanho em relação ao maior indivíduo (BENNETT, 1993). Bennett relatou que o tamanho do corpo não era confiável para diferenciar fases ontogenéticas distintas e que o grau de fusão de ossos seria a melhor maneira de se distinguir indivíduos sub-adultos de adultos. Ele também propôs que *Nyctosaurus*, *Ornithocheirus* e *Anhanguera/Santadactylus* não mostraram uma diferença de tamanho entre adultos e sub-adultos. Considerando-se estes achados, Bennett (1993) propôs que indivíduos juvenis de *Pteranodon*, *Nyctosaurus*, *Ornithocheirus* e *Anhanguera/Santadactylus* cresceriam rapidamente até atingir o tamanho adulto e, em seguida, praticamente parariam de crescer. Alguns anos mais tarde, Prondvai et al. (2014) analisaram 56 mandíbulas do pterossauro cretácico *Bakonydraco galaczi*. Os autores uniram a osteohistologia e a morfometria e puderam concluir que as mandíbulas de menor tamanho eram caracterizadas histologicamente como de indivíduos adultos, propondo, assim, que o caráter “tamanho” não deveria ser utilizado para a caracterização ontogenética de pterossauros. Sayão (2003) também afirmou que os pterossauros cresceriam rapidamente até atingir a fase adulta, tendo o tecido ósseo regularmente apresentado linhas de crescimento e marcando esta transição de estágio ontogenético. Chinsamy et al. (2009) ao analisarem amostras de *Pterodaustro*, puderam concluir que de fato os pterossauros cresceriam rapidamente, cerca de 2 anos, até atingir o tamanho adulto, e poderiam ter crescido um pouco mais por mais 2 anos até atingir o crescimento assintótico (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). É fato que os pterossauros teriam crescido rapidamente durante a ontogenia (BENNETT, 1993; SAYÃO,

2003; STEEL, 2008; CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009; PRONDVAI; BODOR; ÖSI, 2014; LU et al., 2016), mas a identificação de quando esta mudança teria ocorrido durante o desenvolvimento ontogenético dos pterossauros é incerta. Ao analisar aqui os espécimes MPSC R 1395 e MN 6594-v nota-se que são indivíduos de tamanho relativamente grande: MPSC R 1395, com ossos não fusionados, epífises não fusionadas, caracterizado histologicamente como um sub-adulto e com uma abertura alar de 7 metros; e MN 6594-V, com ossos e epífises fusionados, caracterizado histologicamente como um adulto e com uma abertura alar de 8.7 metros. É possível que alguns pterossauros alcançassem grandes proporções por um longo tempo de vida e somente tivessem seus ossos fusionados bem próximo a uma maturidade histológica. Possivelmente eles conseguiriam atingir o tamanho corporal de um adulto em pouco tempo, mas não alcançariam, necessariamente, a maturidade esquelética ou osteohistológica.

Ao integrar os dados osteológicos (principais características ontogenéticas macroscópicas) e os osteohistológicos (principais microestruturas ósseas indicativas de estágios ontogenéticos), foi possível observar que, em alguns casos, a identificação ontogenética osteológica estava relacionada à osteohistológica, na qual alguns indivíduos considerados osteologicamente adultos ou sub-adultos também apresentavam uma conformação microestrutural que corroborava a osteologia. Porém, em alguns espécimes, o que se notou foi uma discordância de dados: indivíduos osteologicamente adultos, com microestrutura óssea de um pterossauro sub-adulto, com seus ossos ainda em crescimento somático.

Em nível microscópico, o tecido ósseo sofre uma considerável modelagem e remodelagem durante o desenvolvimento biológico dos pterossauros. Este fenômeno tem sido cada vez mais documentado em espécies modernas, e cada vez mais podem ser aplicados a arcosseiros extintos (FOWLER et al., 2011; ERICKSON, 2014; HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013; HONE; FARKE; WEDEL, 2016). Os indivíduos menores e presumidamente mais jovens, tem o tecido ósseo dos membros caracterizados por um osso primário não modificado (DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008). Este osso primário é substituído e remodelado, tornando-se um osso secundário (Steel, 2008) com diferenças claras, visíveis nas secções histológicas. Posterior a estas etapas uma aposição óssea ocorre em torno da circunferência óssea e, logo após, uma pausa neste crescimento (frequentemente representando um ciclo anual) produz linhas de crescimento (LAGs ou *annuli*). Em pterossauros, o registro de LAGs é relativamente raro devido ao tecido ósseo ser extremamente fino e rapidamente remodelado (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008, CHINSAMY; CODORNIÚ;

CHIAPPE, 2009). Como o crescimento diminui ao longo de toda a vida, o espaçamento entre as LAGs torna-se mais próximo. Quando as LAGs estão estreitamente espaçadas, formando uma camada de osso avascular no perióstio do córtex, denominam-se lamelas circunferenciais externas ou sistema fundamental externo (EFS) (DE RIQCLÉS et al., 2000; KLEIN; SANDER, 2008; STEEL, 2008; WERNING, 2012; ANDRADE et al., 2015). A presença de uma EFS é presumida para indicar a finalização do crescimento assintótico, e, portanto, um adulto.

Recentemente Hone et al. (2016) reuniram em um trabalho as principais características morfológicas de fusão de ossos, tamanho do corpo, osteohistologia, textura da superfície dos ossos e linhas de crescimento de diversos grupos de dinossauros. Os autores puderam perceber que, em estudos envolvendo a caracterização ontogenética de dinossauros, existem contradições que se sobrepõem para várias definições de maturidade, e que estas definições criam problemas para os investigadores. Segundo Hone et al. (2016) um espécime de dinossauro considerado maduro com base na ornamentação craniana pode ser imaturo com base na osteohistologia ou na fusão do esqueleto, por exemplo. Ainda segundo os autores animais adultos podem ser diagnosticados através de vários critérios (tamanho, crescimento assintótico, fusão de ossos, etc), mas também podem ser confundidos com sinais contraditórios (por exemplo, animais sexualmente maduros que ainda não teriam adquirido todas as características morfológicas que constituem um táxon). Hone et al. (2016) apontam ainda que, muitos fósseis não podem ser comparados com outros indivíduos e que as amostras histológicas não podem ser feitas a partir de todos os espécimes devido à preservação, fragilidade ou a disponibilidade de equipamentos. Os autores ainda criaram um conjunto de definições para as fases de vida de dinossauros, caracterizando-a da seguinte forma: adulto - um animal que teria chegado a um ponto na vida compatível com uma parada rápida de crescimento, como indicado pelos dados osteológicos e as características osteohistológicas (presença de uma EFS), além de maturidade reprodutiva; sub-adulto - um animal que combinaria características de jovens e adultos, mas sem características adultas definitivas (por exemplo, uma EFS ou forma final de ornamentação, como uma crista), porém possuindo características que não corresponderiam a uma condição juvenil (por exemplo, vários elementos ósseos fusionados e tamanho grande do corpo); juvenis - animais que não apresentassem qualquer sinal de maturidade iminente que pudesse caracterizá-los como um adulto ou sub-adulto (por exemplo, pouca ou nenhuma fusão esquelética, pouco desenvolvimento ornamental, poucas ou nenhuma LAG, nenhum osso medular, etc.); e embriões - qualquer espécime preservado dentro dos limites de um ovo ou que representem um indivíduo antes da eclosão. Considera-se aqui, que as definições propostas por

Hone et al. (2016) para adulto, sub-adulto e juvenil, podem ser aplicadas também a estudos ontogenéticos de pterossauros, desde que ao menos envolvam uma descrição osteológica e um estudo osteohistológico detalhado. Apenas discorda-se da caracterização de um embrião, pois nem sempre é possível distinguir um embrião de um animal recém-nascido, e preferiu-se referir a esta etapa de desenvolvimento como perinato, assim como proposto por Honer et al. (2001).

Ao comparar as diferentes características ontogenéticas dos espécimes utilizados aqui (Tabela 1), foi possível notar uma situação semelhante com a da pesquisa realizada por Hone et al. (2016). No espécime MN 4809-V vários ossos estão fusionados, tais como os carpais e o processo extensor da 1ª falange alar. Além disso, os ossos possuem as extremidades com um elevado nível de textura, o que é consistente com a interpretação do presente espécime como representando um indivíduo adulto. As secções histológicas mostraram a presença de uma fina camada de osso lamelar endosteal, uma camada óssea osso pouco vascularizada (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008), que pôde ser observada na porção inferior do córtex da ulna e do metacarpo IV, estando ausente na 1ª falange alar. Esta lamela circunferencial interna já fora relatada no pterosauro *Montanazhdarcho* (PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 1995), em uma ulna de um Ornitocheiridae (STEEL, 2008), em uma tíbia de *Pterodaustro* (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009), em alguns fragmentos de ossos de *Pteranodon* (DE RICQLÈS et al., 2000), na terceira falange alar de um espécime de *Rhamphorhynchus* (PRONDVAI et al., 2012), na 1ª falange alar do pterosauro basal *Prejanopterus curvirostris* (PEREDA-SUPERBIOLA et al., 2012) e, mais recentemente, em um úmero de um pequeno *Azhdarchoidea* (MARTIN-SILVESTONE et al., 2016), ou seja, ocorrendo tanto em pterossauros basais jurássicos (PRONDVAI et al., 2012), como em pterossauros derivados do final do Mesozoico (MARTIN-SILVESTONE et al., 2016). Isto aponta que esta estrutura teria sido compartilhada por ambos pterossauros não-pterodactiloides como pterodactiloides.

De uma maneira geral, a conformação de uma lamela endosteal é avascular, orientada de modo circunferencial e contendo apenas lacunas de osteócito alongadas (DE RICQLÈS et al., 2000; STEEL, 2008). Na maioria das vezes a presença de uma lamela endosteal é acompanhada pela formação de uma lamela circunferencial externa ou EFS (STEEL, 2008), indicando que o crescimento do perióstio também cessou ou retardou a taxas insignificantes (ANDRADE; SAYÃO, 2014). Entretanto, isto não ocorre em MN 4809-V. Como este espécime ainda não havia depositado uma EFS não poderia ser considerado um indivíduo adulto e sim um sub-adulto. Assim, o que pôde-se observar aqui é a primeira discordância entre maturidade

macroesquelética e microesquelética. Osteologicamente, MN 4809-V pode ser considerado um adulto, mas histologicamente ainda não havia atingido a fase adulta.

Tabela 1 – Comparação das características de identificação ontogenética de cada espécime de pterossauro utilizado neste trabalho.

ESPÉCIME	FUSÃO DE OSSOS	TEXTURA ÓSSEA SUPERFICIAL	OSTEOHISTOLOGIA
<i>MN 7060-V</i>	Não	Baixa	Juvenil – sem LAGs
<i>MN 6594-V</i>	Sim	Alta	Adulto - EFS
<i>MN 4809-V</i>	Sim	Alta	Sub-adulto – com LAGs, ausência de EFS
<i>MPSC R 2090</i>	Não	Baixa	Juvenil – sem LAGs
<i>MPSR R 1395</i>	Não	-	Sub-adulto – com LAGs, ausência de EFS
<i>MPSC R 982</i>	Sim	Baixa	Sub-adulto – com LAGs, ausência de EFS

Fonte: autor.

O mesmo relatado para MPSC R 982, que possui os carpais fusionados, o processo extensor da primeira falange alar fusionado e a fusão do coracoide com a escápula, formando o complexo escapulocoracoide, ou seja, uma conformação morfológica típica de um pterossauro adulto (BENNETT, 1993; BENNETT, 2001). Já as secções histológicas apontaram que este indivíduo estava plenamente ativo no seu crescimento, com um metacarpo alar altamente vascularizado e com a presença de linhas de crescimento e de ósteons secundários caracterizando altas taxas metabólicas (STEEL, 2008). Já no coracoide e no rádio do mesmo indivíduo ocorre de maneira diferente, os ossos apresentam-se pouco vascularizados, apontando uma menor taxa de crescimento. É possível que alguns ossos tenham o crescimento assintótico total finalizado antes de outros ossos de um mesmo indivíduo.

O espécime MN 4809-V foi analisado anteriormente por Sayão (2003) que observou que a histovariabilidade óssea estava presente nas amostras do espécime, indicando uma variação diferencial de taxas de crescimento em ossos diferentes. Uma variação na histologia entre ossos de um mesmo indivíduo não é comum dentro de Archosauria (SAYÃO, 2003), sendo observada apenas em alguns grupos de dinossauros (HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; SANDER, 2000; PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 2001). Esta condição é reafirmada aqui, como, por exemplo, a 1ª falange alar de MN 4809-V possuindo ósteons secundários e seu córtex sendo pouco vascularizado, indicando que este osso poderia crescer mais. Já a ulna mostra apenas ósteons primários e a deposição de uma lamela circunferencial interna, sugerindo que o crescimento deste osso estava prestes a cessar e que já tinha praticamente atingido o seu tamanho máximo. Posteriormente Chinsamy et al. (2009), relatariam a histovariabilidade em ossos de um mesmo indivíduo de *Pterodaustro*, possibilitando a compreensão de que esta condição teria sido relativamente comum nos répteis voadores (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009).

Ao analisar a configuração histológica dos indivíduos amostrados neste trabalho, nota-se que nenhum destes apresenta zonas de reabsorção óssea próxima à cavidade medular, e sim apenas ocorrências isoladas de ósteons secundários, assim como relatado anteriormente para o tecido ósseo de outros pterossauros (por exemplo, DE RICQLÈS et al., 2000; SAYÃO, 2003; PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS, 2004; STEEL, 2008; CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). Esta condição foi avaliada por Chinsamy et al. (2009), que verificou que apenas grandes azhdarchídeos apresentariam regularmente zonas de reabsorção óssea no córtex profundo (DE RICQLÈS et al., 2000). Neste trabalho, apenas o espécime MN 6594-V apresentou grandes zonas de reabsorção óssea, coincidentemente o pterossauro com maior envergadura alar do Gondwana (KELLNER et al., 2013), próxima a do tamanho dos Azhdarchidae. É possível que estas estruturas tenham sido depositadas apenas em pterossauros de grande porte, que necessitam de um remodelamento ósseo contínuo para a preservação de um córtex fino, dando suporte ao voo (STEEL, 2008; ELEUTÉRIO et al., 2015).

Alguns ossos de pterossauros contêm um tipo incomum de tecido ósseo periosteal primário, denominado "plywood-like" (DE RICQLÈS et al., 2000), no qual as fibras colágenas do osso e as lacunas de osteócitos tem uma orientação preferencial em cada lamela, e esta orientação varia de uma lamela para outra (STEEL, 2008). Este tipo de organização estrutural foi observada em escamas de celacanto (GIRAUD et al., 1978), em ósteons secundários femorais humanos (GIRAUD-GUILLE, 1988) e no córtex primário de um rato (WEINER;

ARAD; TRAUB, 1991). No entanto, existem diferenças entre esses exemplos (STEEL, 2008). Em ossos de pterossauros este tipo de tecido é ortogonal e as lamelas são orientadas no mesmo plano, mas inclinam cerca de 90° de uma lamela para outra (STEEL, 2008) e, ainda, tecidos “plywood-like” em pterossauros é comumente avascular ou com um baixo grau de vascularização. De acordo com Steel (2008) e de Ricqlés et al. (2000), o tecido “plywood-like” são geralmente encontrados em ossos pequenos de pterossauros de grande porte. Nas amostras aqui analisadas, o tecido “plywood-like” apenas foi observado no rádio do espécime MPSC R 2090, demonstrando que esse tipo de tecido não era tão comum quanto se pensava nos ossos de pterossauros como proposto por Sayão (2003). O rádio de MPSC R 2090 contém lamelas alternadas, aproximadamente da mesma espessura, apesar de que as lamelas circunferenciais tendem a ser um pouco mais finas do que as longitudinais, assim como observado por Steel (2008) em um pterigóide de um ornitocheiridae.

A presença de marcas de crescimento cíclicas é contínua e é, em parte, causada por processos fisiológicos endógenos (ELEUTÉRIO et al., 2015). Estes ciclos são sincronizados e amplificados por variações ambientais sazonais, tais como temperatura, luz, umidade, disponibilidade de alimentos, etc. (CASTANET; MEUNIER; DE RICQLÉS, 1977; DE BUFFRÉNIL, 1980; ELEUTÉRIO et al., 2015). Estes fatores são indicadores da periodicidade dos ciclos de crescimento circanuais (CASTANET; MEUNIER; DE RICQLÉS, 1977; DE BUFFRÉNIL, 1980; HUTTON, 1986). Embora as LAGs sejam comuns em vertebrados, estas marcas são raramente encontradas em pterossauros (ELEUTÉRIO et al., 2015). Em nossas análises, as LAGs foram encontradas na falange alar de MN 6594-V, no metacarpo IV e na ulna de MN 4808-V, na falange alar de MPSC R 1395 e no metacarpo IV de MPSC R 982. Consideramos aqui que a deposição de LAGs não é tão rara quando analisados diferentes ossos de um mesmo indivíduo. Devido à presença de histovariabilidade em ossos de pterossauros, é possível que as LAGs tenham sido depositadas em apenas alguns ossos, ou depositadas em ciclos diferentes, ficando apenas registrada a presença dos ciclos mais recentes.

Conclusão

O presente estudo permitiu a integração de observações anatômicas e histológicas para determinar o estágio ontogenético de alguns espécimes de pterossauros anhanguerídeos. Foi observado que existem contradições na definição de maturidade de pterossauros. Na amostragem utilizada aqui, indivíduos que apresentaram uma conformação osteológica típica

de um animal adulto apresentaram, de forma diferente uma conformação de um indivíduo sub-adulto baseado em inferências histológicas. O presente estudo também reforçou a ideia de que as características histológicas podem variar ao longo dos ossos de um mesmo indivíduo, confirmando que os ossos de pterossauros possuem diferentes taxas de crescimento.

Os ossos de pterossauros teriam crescido rapidamente, mas ocorreria ocasionalmente uma interrupção cíclica (e.g., anualmente em resposta às mudanças sazonais na disponibilidade de alimentos ou outras variáveis). Possivelmente os anhanguerídeos antigiriam grandes proporções corporais antes de alcançar uma maturidade esquelética (fusão de ossos) e osteohistológica. A história de vida de um pterossauro anhanguerídeo pode, assim, ser detalhada da seguinte forma: pterossauros jovens cresceriam rapidamente e não apresentariam nenhuma característica morfológica ou histológica que o identificasse como um sub-adulto; com o passar do tempo, as taxas de crescimento desacelerariam quando o tamanho de sub-adulto fosse alcançado, podendo este indivíduo sub-adulto possuir alguns ossos fusionados, linhas de crescimento, ósteons secundários e lamelas circunferenciais internas na microestrutura de seu osso; após a formação de uma lamela endosteal e uma EFS sobre a superfície periosteal, este indivíduo chegaria a fase adulta com todos os ossos fusionados. Considera-se aqui, que a deposição de LAGs não é tão rara em pterossauros quando analisados diferentes ossos de um mesmo indivíduo. Devido à presença de histovariabilidade em ossos de pterossauros, é possível que as LAGs tenham sido depositadas em apenas alguns ossos, ou depositadas em ciclos diferentes, ficando apenas registrada a presença dos ciclos mais recentes. Concordamos que estudos que envolvam a caracterização ontogenética de pterossauros sejam explícitos em suas características para a atribuição de um estágio ontogenético, facilitando, assim, a comparação e a interpretação para estudos paleobiológicos e paleoecológicos futuros destes répteis alados.

Referências

- ANDRADE, R. C. L. P.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; CAMPOS, L. S.; ELEUTÉRIO, L. H. S.; SAYÃO, J. M. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 14, n. 1, p. 200-211. 2015.
- ANDRADE, R. C. L. P.; SAYÃO, J. M. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). **Plos ONE**, v. 7, p.102189. 2014.

- BENNETT, S. C. The ontogeny of *Pteranodon* and other pterosaurs. **Paleobiology**, v. 19, p. 92-106. 1993.
- BENNETT, S. C. The osteology and functional morphology of the Late Cretaceous pterosaur *Pteranodon*. Part I. General description of osteology. **Palaeontographica A**, v. 260, p. 1-153. 2001.
- BOTHA, J.; CHINSAMY, A. Growth and life habits of the Triassic cynodont *Trirachodon*, inferred from bone histology. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 49, p. 619–627. 2004.
- BOTHA, J.; CHINSAMY, A. Growth patterns of *Thrinaxodon liorhinus*, a nonmammalian cynodont from the lower Triassic of South Africa. **Palaeontology**, v. 48, p. 385-394. 2005.
- BRILL, K.; CARPENTER, K. A baby ornithomimid from the Morrison Formation of Garden Park, Colorado. In: TANKE, D. H.; CARPENTER, K. (Eds.). **Mesozoic Vertebrate Life: New Research Inspired by the Palaeontology of Philip J. Currie**, Bloomington: Indiana University Press, 2001. 197–205 p.
- BRINKMAN, D. Size-independent criteria for estimating relative age in *Ophiacodon* and *Dimetrodon* (Reptilia, Pelycosauria) from the Admiral and Lower Belle Plains Formations of westcentral Texas. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 8, p. 172-180. 1988.
- BROCHU, C. A. Closure of neurocentral sutures during crocodilian ontogeny: Implications for maturity assessment in fossil archosaurs. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 16, p. 49-62. 1996.
- BROWN, C. **Surficial bone texture of centrosaurines (Archosauria: Dinosauria: Ceratopsidae): Can patterns be delimited?** 2006. Tese-University of Calgary, Calgary, 2006.
- BROWN, C.; RUSSELL, A.; RYAN, M. J. The developmental patterns of surficial bone texture on the skulls of centrosaurine dinosaurs. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 27, n. 3, p. 53. 2007.
- BYBEE, P. J.; LEE, A. H.; LAMM, E. T. Sizing the Jurassic theropod dinosaur *Allosaurus*: Assessing growth strategy and the evolution of ontogenetic scaling of limbs. **Journal of Morphology**, v. 267, p. 347-359. 2006.
- CALLISON, G.; QUIMBY, H. M. Tiny dinosaurs: Are they fully grown? **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 3, p. 200-209. 1984.
- CAREY, G. Ageing and sexing domestic bird bones from some Late Medieval deposits at Baynard's Castle, City of London. In: WILSON, B.; GRINGSON, C.; PAYNE, S. (Eds.). **Ageing and Sexing Animal Bones from Archaeological Sites**, 1982. B.A.R. British Series, 1982. 263–268 p.
- CARR, T. D. Craniofacial ontogeny in Tyrannosauridae (Dinosauria, Coelurosauria). **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 19, p. 497-520. 1999.
- CARRANO, M. T.; HUTCHINSON, J. R.; SAMPSON, S. D. New information on *Segisaurus halli*, a small theropod dinosaur from the Early Jurassic of Arizona. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 25, p. 835-849. 2005.
- CASTANET, J. F. J.; MEUNIER, A.; DE RICQLÈS, K. L'enregistrement de la croissance cyclique par les tissus osseux chez les vertébrés poikilothermes: données comparative et essai de synthèse. **Bulletin biologique de la France et de la Belgique**, v. 3, p. 183-202. 1977.

- CHINSAMY, A. Ontogenetic changes in the bone histology of the Late Jurassic ornithomimid *Dryosaurus lettowvorbecki*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 15, p. 96-104. 1995.
- CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. M. Developmental growth patterns of the filter-feeder pterosaur, *Pterodaustro guinazui*. **Biology Letters**, v. 4, p. 282-285. 2008.
- CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. M. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. **The Anatomical Record**, v. 292, p. 1462-77. 2009.
- DE BUFFRÉNIL, V. Mise en évidence de l'incidence des conditions de milieu sur la croissance de *Crocodylus siamensis* (Schneider, 1801) et valeurs des marques de croissance squelettiques pour l'évaluation de l'âge individuel. **Archives de Zoologie Expérimentale et Général**, v. 121, p. 63-76. 1980.
- DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K.; HORNER, J. R.; FRANCILLON-VIEILLOT, H. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 349-385. 2000.
- DODSON, P. Taxonomic implications of relative growth in *Lambeosaurine hadrosaurs*. **Systematic Zoology**, v. 24, p. 37-54. 1975.
- DODSON, P. Quantitative aspects of relative growth and sexual dimorphism in Protoceratops. **Journal of Paleontology**, v. 50, p. 929-940. 1976.
- ELEUTÉRIO, L. H. S.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; ANDRADE, R. C. L. P.; SARAIVA, A. A. F.; KELLNER, A. W. A.; SAYÃO, J. M. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangüeria (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 18, n. 3, p. 403-412. 2015.
- ERICKSON, G. M., CURRY ROGERS, K.; VARRICCHIO, D. J.; NORELL, M. A.; XU, X. Growth patterns in brooding dinosaurs reveals the timing of sexual maturity in non-avian dinosaurs and genesis of the avian condition. **Biology Letters**, v. 3, p. 558-561. 2007.
- ERICKSON, G. M., MAKOVICKY, P. J.; CURRIE, P. J.; NORELL, M. A.; YERBY, S. A.; BROCHU, C. A. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid dinosaurs. **Nature**, v. 430, p. 772-775. 2004.
- ERICKSON, G. M.; TUMANOVA, T. A. Growth curve of *Psittacosaurus mongoliensis* Osborn (Ceratopsia: Psittacosauridae) inferred from long bone histology. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, p. 551-566. 2000.
- ERICKSON, G. M. On dinosaur growth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, v. 42, p. 675-697. 2014.
- FOWLER, D. W.; WOODWARD, H. N.; FREEDMAN, E. A.; LARSON, P. L.; HORNER, J. R. Reanalysis of '*Raptorex kriegsteini*': a juvenile tyrannosaurid dinosaur from Mongolia. **PLoS ONE**, v. 6, p. 21376. 2011.
- FRANCILLON-VIEILLOT, H. J.; ARNTZEN, W.; GERAUDIE, J. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *Triturus marmoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): a skeletochronological comparison. **Journal of Herpetology**, v. 24, p. 13-22. 1990.
- FREY, E.; MARTILL, D. M. Late ontogenetic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie*, v. 10, p. 587-594. 1998.

GIRAUD, M. M.; CASTANET, J.; MEUNIER, F. J.; BOULIGAND, Y. The fibrous structure of coelacanth scales: a twisted 'plywood'. **Tissue and Cell**, v. 10, p. 671-686. 1978.

GIRAUD-GUILLE, M. M. Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. **Calcified Tissue International**, v. 42, p. 167-180. 1988.

GOODWIN, M. B.; CLEMENS, W. A.; HORNER, J. R.; PADIAN, K. The smallest known Triceratops skull: New observations on ceratopsid cranial anatomy and ontogeny. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 26, p. 103-112. 2006.

GOTFREDSEN, A. B. Sea bird exploitation on coastal Inuit sites, West and Southeast Greenland. **International Journal of Osteoarchaeology**, v. 7, p. 271-286. 1997.

HONE, D. W. E.; FARKE, A. A.; WEDEL, M. J. Ontogeny and the fossil record: what, if anything, is an adult dinosaur? **Biology Letters**, v. 12, p. 20150947. 2016.

HONE, D. W. E.; NAISH, D.; CUTHILL, I. C. Does mutual sexual selection explain the evolution of head crests in pterosaurs and dinosaurs? **Lethaia**, v. 45, p. 139-156. 2012.

HORNER, J. R.; CURRIE, P. J. Embryonic and neonatal morphology and ontogeny of a new species of *Hypacrosaurus* (Ornithischia: Lambeosauridae) from Montana and Alberta. In: CARPENTER, K.; HIRSCH, K. F.; HORNER, J. R. (Eds.). **Dinosaur Eggs and Babies**, 1994. Cambridge: Cambridge University Press. 1994. 312–336 P.

HORNER, J. R.; GOODWIN, M. B. Major cranial changes during Triceratops ontogeny. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 273, p. 2757-2761. 2006.

HORNER, J. R.; GOODWIN, M. B. Ontogeny of cranial epi-ossifications in Triceratops. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 28, p. 34-144. 2008.

HORNER, J. R.; PADIAN, K. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 271, p. 1875-1880. 2004.

HORNER, J. R.; PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A. Comparative osteohistology of some embryonic and perinatal archosaurs: developmental and behavioral implications for dinosaurs. **Paleobiology**, v. 27, p. 39-58. 2001.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K. Variation in dinosaur skeletochronology indicators: implications for age assessment and physiology. **Paleobiology**, v. 25, p. 295-304. 1999.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K. Long bone histology of the hadrosaurid dinosaur *Maiasaura peeblesorum*: growth dynamics and physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 20, p. 115- 129. 2000.

HUTTENLOCKER, A. K.; WOODWARD, H. N.; HALL, B. K. The biology of bone. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods: issues, methods, and databases**. 2013. Berkeley, CA: University of California Press. 13–34 p.

HUTTON, J. M. Age determination of living Nile crocodiles from the cortical stratification of bone. **Copeia**, v. 1986, p. 332-341. 1986.

IRMIS, R. B. Axial skeleton ontogeny in the Parasuchia (Archosauria: Pseudosuchia) and its implications for ontogenetic determination in archosaurs. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 27, p. 350-361. 2007.

- JACOBS, L. L.; WINKLER, P. A.; MURRY, MAURICE, J. M. A nodosaurid scuteling from the Texas shore of the Western Interior Seaway. In: CARPENTER, K.; HIRSSH, K. F.; HORNER, J. (Eds.). **Dinosaur Eggs and Babies**. 1994. Cambridge: Cambridge University Press. 1994. 337–346 p.
- JOHNSON, R. Size independent criteria for estimating relative age and the relationships among growth parameters in a group of fossil reptiles (Reptilia: Ichthyosauria). **Canadian Journal of Earth Sciences**, v. 14, p. 1916-1924. 1977.
- KELLNER, A. W. A. Pterosaur phylogeny and comments on the evolutionary history of the group. **Geological Society London Special Publication**, v. 217, p. 105-137. 2003.
- KELLNER, A. W. A. **Pterossauros - os senhores do céu do Brasil**. Rio de Janeiro: Vieira & Lent, 2006. 176 p.
- KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A. The function of the cranial crest and jaws of a unique pterosaur from the early Cretaceous of Brazil. **Science**, v. 297, n. 5580, p. 389-392. 2002.
- KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A. Short note on the ingroup relationships of the Tapejaridae (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Boletim do Museu Nacional**, v. 75, p. 1-14. 2007.
- KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A.; SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; RODRIGUES, T.; OLIVEIRA, G.; CRUZ, L. A.; COSTA, F. R.; SILVA, H. P.; FERREIRA, J. S. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 113-135. 2013.
- KELLNER, A. W. A.; TOMIDA, Y. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. **National Science Museum Monographs**, v. 17, p. 1-135. 2000.
- KLEIN, N.; SANDER, M. Ontogenetic stages in the long bone histology of sauropod dinosaurs. **Paleobiology**, v. 34, p. 247-263. 2008.
- LAMM, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone Histology of Fossil Tetrapods**. University of California Press, 2013. p. 55-160.
- LEE, A. Evolution of rapid limb growth and vascular canal organization in ceratopsian dinosaurs. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 26, n. 3, p. 89. 2006.
- LEE, A. How Centrosaurus (and other ceratopsians) grew to large size. In D. R. Braman, comp., *Ceratopsian Symposium: Short Papers, Abstracts, and Programs*, pp. 105–106. Drumheller: Royal Tyrrell Museum of Palaeontology. 2007.
- LEE, A.; WERNING, S. Sexual maturity in growing dinosaurs does not fit reptilian growth models. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 582-587. 2008.
- LU, J.; KUNDRÁT, M.; SHEN, C. New Material of the Pterosaur *Gladocephaloideus* Lü et al., 2012 from the Early Cretaceous of Liaoning Province, China, with Comments on Its Systematic Position. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6. 2016.
- MARTIN-SILVERSTONE, E.; WITTON, M. P.; ARBOUR, V. M.; CURRIE, P. J. A small azhdarchoid pterosaur from the latest Cretaceous, the age of flying giants. **Royal Society Open Science**, v. 3, n. 8, p. 160333. 2016.

- PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A. J.; HORNER, J. Bone histology determines identification of a new fossil taxon of pterosaur (Reptilia: Archosauria). **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 320, p. 77-84. 1995.
- PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A.; HORNER, J. R. Dinosaurian growth rates and bird origins. **Nature**, v. 412, p. 405-408. 2001.
- PADIAN, K.; HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. **Paleontology**, v. 24, p. 555-571. 2004.
- PEREDA-SUBERBIOLA, X.; KNOLL, F.; RUIZ-OMENACA, J. I.; COMPANY, J.; TORCIDA FERNANDEZ-BALDOR, D. Reassessment of Prejanopterus curvirostris, a basal pterodactyloid pterosaur from the Early Cretaceous of Spain. **Acta Geologica Sinica**, v. 86, p. 1389-1401. 2012.
- PRONDVAI, E.; BODOR, E. R.; ÓSI, A. Does morphology reflect osteohistology based ontogeny? A case study of Late Cretaceous pterosaur jaw symphyses from Hungary reveals hidden taxonomic diversity. **Paleobiology**, v. 40, p. 288-321. 2014.
- PRONDVAI, E.; STEIN, K.; ÓSI, A.; SANDER, M. P. Life history of Rhamphorhynchus inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. **PLoS ONE**, v. 7, p. 31392. 2012.
- RAY, S.; CHINSAMY, A. *Diictodon feliceps* (Therapsida, Dicynodontia): Bone histology, growth, and biomechanics. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 24, p. 180-194. 2004.
- RAY, S.; CHINSAMY, A.; BANDYOPADHYAY, S. *Lystrosaurus murrayi* (Therapsida, Dicynodontia): Bone histology, growth and lifestyle adaptations. **Palaeontology**, v. 48, p. 1169-1185. 2005.
- REIZNER, J.; HORNER, J. An ontogenetic series of the ceratopsid dinosaur *Einiosaurus procurvicornis* as determined by long bone histology. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 26, p. 3, p. 114. 2006.
- RODRIGUES, T.; KELLNER, A. W. A. Taxonomic review of the Ornitocheirus complex (Pterosauria) from the Cretaceous of England. **Zookeys**, v. 308, p. 1-112. 2013.
- RYAN, M. J.; RUSSELL, A. P. A new centrosaurine ceratopsid from the Oldman Formation of Alberta and its implications for centrosaurine taxonomy and systematics. **Canadian Journal of Earth Sciences**, v. 42, p. 1369-1387. 2005.
- RYAN, M. J.; RUSSELL, A. P.; EBERTH, D. A.; CURRIE, P. J. The taphonomy of a Centrosaurus (Ornithischia: Ceratopsidae) bone bed from the Dinosaur Park Formation (Upper Campanian), Alberta, Canada, with comments on cranial ontogeny. **Palaos**, v. 16, p. 482-506. 2001.
- SADLER, P. The use of tarsometatarsi in sexing and ageing domestic fowl (*Gallus gallus* L.), and recognising five toed breeds in archaeological material. **Circaea**, v. 8, p. 41-48. 1991.
- SAMPSON, S. D.; RYAN, M. J.; TANKE, D. H. Craniofacial ontogeny in centrosaurine dinosaurs (Ornithischia: Ceratopsidae): Taxonomic and behavioral implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 121, p. 293-337. 1997.
- SANDER, P. M. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: Implications for growth and biology. **Paleobiology**, v. 26, p. 466-488. 2000.

SANDER, P. M.; KLEIN, N. Developmental plasticity in the life history of a prosauropod dinosaur. **Science**, v. 310, p. 1800-1802. 2005.

SANDER, P. M.; KLEIN, N.; BUFFETAUT, E.; CUNY, G.; SUTEETHORN, V.; LE LOEUFF, J. Adaptive radiation in sauropod dinosaurs: Bone histology indicates rapid evolution of giant body size through acceleration. **Organisms, Diversity, and Evolution**, v. 4, p. 165-173. 2004.

SAYÃO, J. M. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geological Society London Special Publications**, v. 217, p. 335-342. 2003.

STEEL, L. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. **Zitteliana**, v. 28, p. 109-125. 2008.

STEYER, J. S.; LAURIN, M.; CASTANET, J.; DE RICQLES, A. First histological and skeletochronological data on temnospondyl growth: Palaeoecological and palaeoclimatological implications. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 206, p. 193-201. 2003.

TUMARKIN-DERATZIAN, A. R. **Bone surface textures as ontogenetic indicators in extant and fossil archosaurs: Macroscopic and histological evaluations**. 2003. Tese- University of Pennsylvania, Philadelphia. 2003

TUMARKIN-DERATZIAN, A. R. Histologic evaluation of ontogenetic bone surface texture changes in the frill of *Centrosaurus apertus*. In: RYAN, M. J.; CHINNERY-ALLGEIER, B. J.; EBERTH D. A. (Eds.). **New perspectives on horned dinosaurs**. 2010. Bloomington: Indiana University Press. 2010. 120-145 p.

VELDMEIJER, A. J.; MEIJER, H. J. M.; SIGNORE, M. *Coloborhynchus* from the Lower Cretaceous Santana Formation, Brazil (Pterosauria, Pterodactyloidea, Anhangueridae); an update. **PalArch's Journal of Vertebrate Palaeontology**, v. 3, n. 2, p. 15-29. 2006.

VILA NOVA, B. C.; SARAIVA, A. A. F.; MOREIRA, J. K. R.; SAYÃO, J. M. Controlled excavations in the Romualdo Formation Lagerstätte (Araripe Basin, Brazil) and pterosaur diversity: remarks based on new findings. **Palaios**, v. 26, p. 173-179. 2011.

VILA NOVA, B. C.; SAYÃO, J. M. On wing disparity and morphological variation of the Santana Group pterosaurs. **Historical Biology**, v. 24, p. 567-574. 2012.

WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; ZHOU, Z.; CAMPOS, D. A. Discovery of a rare arboreal forest-dwelling flying reptile (Pterosauria, Pterodactyloidea) from China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 1983-1987. 2008.

WEINER, S.; ARAD, T.; TRAUB, W. Crystal organisation in rat bone lamellae. **FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Journal**, v. 285, p. 49-54. 1991.

WELLNHOFER, P. Die Rhamphorhynchoidea (Pterosauria) der Oberjura-plattenkalke Stiddeutschlands. **Palaeontographica A**, v. 148, p. 1-33. 1975.

WELLNHOFER, P. **The illustrated encyclopedia of pterosaurs**. Londres, Salamander Books, 1991. 192 p.

WERNING, S. The ontogenetic osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. **Plos One**, v. 7, p. 1-25. 2012.

7. ARTIGO III

HISTÓRIA DE VIDA DO PECULIAR PTEROSSAURO *Hamipterus tianshanensis*, BASEADA EM INFERÊNCIAS PALEOHISTOLÓGICAS

R.A.M. BANTIM¹; X. CHENG²; A.W.A. KELLNER³; J.M. SAYÃO⁴

¹*Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Brasil. renanbantimbiologo@gmail.com*

²*Laboratório de Paleontologia da URCA, Universidade Regional do Cariri, Rua Carolino Sucupira, s/n, 63100-000, Crato, CE, Brasil.*

³*Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Vertebrados Fósseis, Departamento de Geologia e Paleontologia, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, s/n, Bairro Imperial de São Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. alexander.kellner@gmail.com*

⁴*Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. jmsayao@gmail.com*

Resumo

Nos últimos anos muitos fósseis de pterossauros foram descritos para rochas sedimentares da China, sendo um dos mais recentes e peculiares é o pterossauro Pteranodontoidea *Hamipterus tianshanensis* da bacia Turpan-Hami (Cretáceo Inferior), Xinjiang, noroeste da China. Para identificar o estágio ontogenético de alguns espécimes de *Hamipterus*, doze ossos foram seccionados para preparação de lâminas osteohistológicas. Em secções transversais, a principal característica compartilhada por todos os ossos é a ausência de osso “plywood-like”, que foi considerado como exclusivo para pterossauros. Isso reforça a evidência de que o tecido “plywood-like” é distribuído de forma desigual entre os pterossauros. A evidência de juvenis é registrada pela ausência de marcas de crescimento como *anulli* ou LAGs no córtex de um

pequeno úmero (CAV ht 002) que também não apresenta lamelas circunferenciais externas na superfície periosteal, tampouco evidência de ósteons secundários. Em contraste, o úmero de maiores proporções (CAV ht 001) apresenta lamelas periosteais (EFS) indicando que o crescimento periosteal cessou ou desacelerou para taxas insignificantes, sendo essa característica indicativa de um indivíduo maduro no final de seu crescimento assintótico. Em um metacarpo alar (CAV ht 006), o córtex é relativamente fino e composto principalmente de osso primário fibrolamelar, com poucos canais vasculares longitudinais dispostos. Uma marca de crescimento é evidente na área mediana do córtex, mas não há presença de osteons secundários. Isso indica que este espécime ainda estava crescendo. Este trabalho confirma a presença de múltiplos estágios ontogenéticos nas camadas tempestíticas onde estão preservados os fósseis de *Hamipterus*, endossando a existência de uma população de pterossauros neste local.

Palavras-chave: Pterosauria, História de vida, China, Paleohistologia.

Introdução

Ao longo da última década milhares de fósseis de pterossauros foram coletados em um recém descoberto *fossil-lagerstätte* na China (WANG et al., 2014). Esta área está localizada no noroeste da China, no sul de Shan Tian, na província de Xinjiang. Os afloramentos desta área pertencem aos níveis sedimentares da Bacia Turpan-Hami onde, até o momento, foram coletados vários crânios tridimensionais de pterossauros associados a machos e fêmeas, além de ovos associados a restos corpóreos. A partir de análises morfológicas detalhadas dos crânios e das proporções dos ossos, os espécimes de *Hamipterus tianshanensis*, coletados neste local, foram caracterizados como uma população de pterossauros (WANG et al., 2014). Todos os fósseis de pterossauros recolhidos nesta localidade pertencem ao grupo Tugulu, Cretáceo Inferior (SHEN; MATEER, 1992; EBERTH et al., 2001), que foram depositados sob condições fluviolacustres (BRINKMAN et al., 2001).

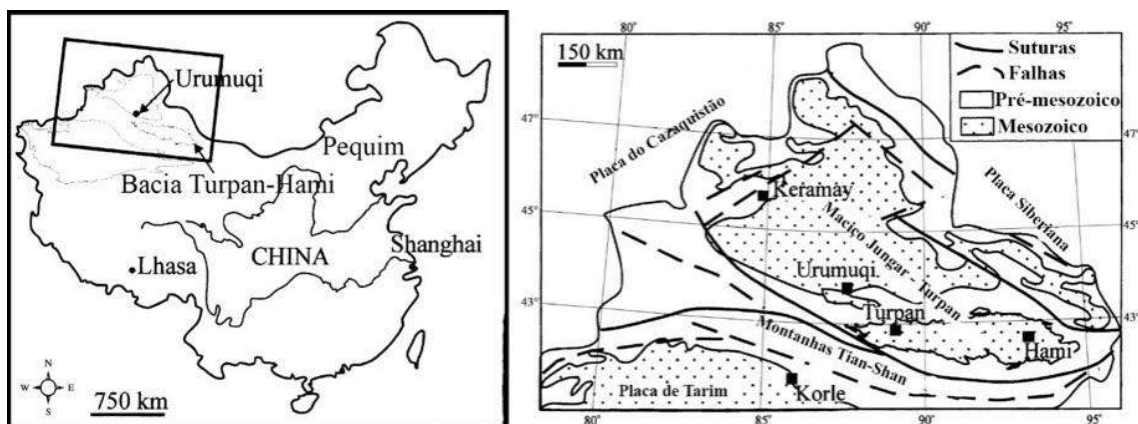
Existem vários outros espécimes associados a *Hamipterus tianshanensis*, além dos espécimes descritos e ilustrados na publicação original (WANG et al., 2014). Estes apresentam tamanhos variados, com a presença de indivíduos em diferentes proporções, o que sugere a presença de jovens e adultos na amostragem como proposto anteriormente por Wang et al. (2014). A osteohistologia é uma das melhores formas para se identificar a presença de diferentes fases ontogenéticas em uma população fóssil. Em arcossauros, esta abordagem permitiu a

determinação das taxas de crescimento em diferentes estágios ontogenéticos de dinossauros ornithopodes (WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; WERNING, 2012), na ave *Confuciusornis sanctus* (DE RICQULÈS; PADIAN; HORNER, 2003) e na determinação ontogenética do crocodilo anão *Susisuchus anatoceps* (SAYÃO et al., 2016), além dos pterossauros *Pteranodon* (BENNETT, 1993; DE RICQULÈS; FRANCILLON-VIEILLOT, 2000), *Rhamphorhynchus* (BENNETT, 1995; DE RICQULÈS; FRANCILLON-VIEILLOT, 2000; PRONDVAI et al., 2012), *Pterodaustro* (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009) e no complexo Anhangueria, sendo também utilizada a osteohistologia como base para diferentes abordagens ontogenéticas (SAYÃO, 2003; ELEUTÉRIO et al., 2015). Este artigo apresenta a caracterização osteohistológica de ossos pós-cranianos de *Hamipterus tianshanensis*, propondo um padrão ontogenético para a determinação dessa população de pterossauros.

Geologia regional

Os espécimes relatados aqui foram coletados em 2006 durante um trabalho de campo do Instituto de Paleontologia de Vertebrados e Paleoantropologia (Academia Chinesa de Ciências) e do Museu Nacional (Universidade Federal do Rio de Janeiro) nas camadas Eocretáceas do Grupo Tugulu, Sul de Shan Tian, no noroeste de Xinjiang, República de Popular da China (Fig. 1).

Figura 29 - Mapa mostrando a localidade e posição tectônica da Bacia Turpan-Hami.



Fonte: Modificado de Wang et al., 1993.

As Rochas do Grupo Tugulu consistem em camadas alternadas de lamitos, xisto e arenitos finos de origem fluvio-lacustre (BRINKMAN et al., 2001). Esta associação de fácies corresponde às condições climáticas quentes e sazonalmente áridas, com uma preponderância de planícies de inundação generalizada e lagoas transitórias (EBERTH et al., 2001). Além disso, na sequência sedimentar do Grupo Tugulu existem algumas camadas intercaladas de tempestitos em que os arenitos cinza-branco e brechas de lamitos marrons, que foram depositados em diferentes profundidades do lago, são misturados (WANG et al., 2014). É nesta camada de tempestitos onde quase todos os fósseis de pterossauros são encontrados, sugerindo que grandes tempestades causaram uma mortalidade em massa e deram origem a um depósito *lagerstätte* de uma população de pterossauros (WANG et al., 2014).

Material e métodos

A amostragem foi composta por vários exemplares de ossos dos membros tais como, úmero, ulna e metacarpo IV, de indivíduos de diferentes proporções corporais de *Hamipterus tianshanensis*. As amostras usadas aqui estão depositadas na coleção paleontológica do Centro Acadêmico de Vitória (CAV-UFPE). Para esta análise, cortes foram realizados na diáfise dos ossos, removendo uma amostra de 0,5 cm de cada espécime para a preparação das lâminas histológicas. Antes do corte, todos os ossos foram mecanicamente preparados com o uso de canetas pneumáticas e ferramentas manuais como ponteiras e agulhas. Os ossos foram posteriormente medidos e fotografados de acordo com o protocolo proposto por Lamm (2013). Os cortes histológicos foram produzidos usando técnicas histológicas fósseis convencionais (CHINSAMY; RAATH, 1992; LAMM, 2013). As amostras foram embebidas em resina cristal epóxi Resapol T-208, catalisada com Butanox M50, e cortadas com um disco diamantado. O lado de montagem das seções foi lixado usando uma máquina de polimento metalográfico (AROPOL-E, AROTEC LTDA) com lixas AROTEC de diferentes granulometrias (60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500), até atingir uma espessura final de 30-60 micrômetros.

As estruturas histológicas foram observadas em um microscópio óptico de luz transmitida. Nicóis cruzados paralelos e filtros de fluorescência foram utilizados para melhorar a birrefringência. As imagens histológicas foram feitas usando uma câmera digital AxioCam (Zeiss Inc., Barcelona, Espanha) acoplada ao microscópio Axio Imager.M2 (Zeiss Inc. Barcelona, Espanha). Seguiu-se a terminologia osteohistológica de Francillon-Vieillot et al. (1990). As características gerais da seção transversal são descritas e, em seguida, as

microestruturas são discutidas em detalhe, partindo da margem endosteal para a superfície periosteal. Os espécimes foram agrupados em categorias com base nos tipos de tecido ósseo, organização dos canais vasculares e estágio ontogenético (juvenil, sub-adultos e adultos), seguindo a metodologia proposta por Werning (2012). Foram considerados adultos apenas as amostras com evidência histológica de maturidade esquelética (i.e. mostrando sistema fundamental externo (EFS)).

Resultados

Em dinossauros, a maturidade esquelética ocorre depois do indivíduo ter atingido a maturidade reprodutiva (ERICKSON et al., 2007; LEE; WERNING, 2008; WERNING, 2012) e esta condição também é observada em pterossauros (WANG et al., 2015). A classificação "adulto" é aqui referida como um esqueleto histologicamente maduro, embora alguns sub-adultos já poderiam ser reprodutivamente maduros. Para facilitar a comparação de todos os dados, uma tabela foi criada listando os principais parâmetros para identificação do estágio ontogenético (Tab. 1).

Tabela 1 – Identificação da orientação vascular, tipo de tecido ósseo e estágio ontogenético de cada indivíduo amostrado.

ELEMENTO ÓSSEO	ESPÉCIME	TIPO DE TECIDO ÓSSEO	ORGANIZAÇÃO VASCULAR	ESTÁGIO ONTOGENÉTICO
Úmero	CAV ht 001	Secundário (osso paralelo-fibroso)	Longitudinal	Adulto
Úmero	CAV ht 002	Primário (osso paralelo-fibroso)	Plexiforme	Juvenil
Ulna	CAV ht 003	Primário (osso paralelo-fibroso)	Reticular e longitudinal	Juvenil

<i>Metacarpo IV</i>	CAV ht 004	Secundário (osso paralelo-fibroso)	Longitudinal	Sub-adulto
<i>Metacarpo IV</i>	CAV ht 005	Avascular (osso acelular)	X	?
<i>Metacarpo IV</i>	CAV ht 006	Osso Lamelar/Woven fibered	Longitudinal	Transição sub-adulto/adulto
<i>Metacarpo IV</i>	CAV ht 007	Secundário (osso paralelo-fibroso)	Reticular	Sub-adulto
<i>Ulna</i>	CAV ht 008	Primário (osso paralelo-fibroso)	Plexiforme	Juvenil
<i>Metacarpo IV</i>	CAV ht 009	Lamelar	Longitudinal	Sub-adulto

Fonte: autor.

CAV ht 001

Morfologia

Parte proximal esquerda, curta e robusta de um úmero, com aproximadamente 52 mm de comprimento e 9,42 mm de diâmetro. É isolado, preservado tridimensional, mas com algumas rachaduras e fraturas na diáfise. Ventralmente, um forâmen pneumático é localizado na parte distal da articulação, mas não há a presença de uma epífise calcificada, um indicativo de um indivíduo morfologicamente imaturo (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000). No entanto, a extremidade distal deste osso é extremamente porosa, indicando um certo grau de maturidade (BENNETT, 1993).

Osteohistologia

Na seção transversal, o córtex é espesso, com cerca de 990 mm (Fig. 2 A). É constituído principalmente por tecido ósseo secundário (osso paralelo-fibroso), composto por um complexo fibrolamelar. Os canais vasculares são relativamente elevados em número, com um diâmetro pequeno. Os canais são orientados principalmente longitudinalmente e, em alguns casos, são irregulares, exibindo algumas anastomoses. Sob a superfície periosteal, os canais são largos, mas ainda não formam ósteons secundários. Sob a luz polarizada cruzada (Fig. 2 B), é claramente observado o sistema fundamental externo (EFS de acordo com PADIAN; DE RICQLÉS; HORNER, 2001; STEEL, 2009; WERNING, 2012).

Próximo ao endóstio é observada uma LAG. A camada endosteal (Internal Fundamental System) é claramente visível quando exposta à luz polarizada cruzada, sugerindo que a reabsorção endosteal cessou neste indivíduo. Na maturidade, uma lamela endosteal é depositada sobre a superfície endosteal, após a reabsorção endosteal ter cessado (STEEL, 2008), como foi observado aqui. A lamela endosteal é avascular, orientada de modo circunferencial e contém lacunas de osteócito alongadas. É comum a presença de tecido fibrolamelar próximo ao endóstio de ossos de um indivíduo adulto, e predominantemente paralelo fibroso ou lamelar perto da superfície periosteal (HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013) sendo que, na maioria das vezes, a presença de uma lamela endosteal é acompanhada pela formação de uma EFS (STEEL, 2008), indicando que o crescimento do perióstio também cessou ou retardou a taxas insignificantes (ANDRADE; SAYÃO, 2014), conforme observado neste osso. A cavidade medular é livre, sem a presença de zonas de reabsorção ou de trabéculas, mas totalmente preenchida por grãos de quartzo advindos da rocha matriz.

CAV ht 002

Morfologia

Úmero esquerdo completo, curto e robusto, com aproximadamente 72 mm de comprimento e 3,76 mm de diâmetro. Encontra-se isolado, preservado tridimensionalmente, mas com uma fratura na região da diáfise, o que facilitou a escolha da área para seccionar a amostra transversal. A crista deltopeitoral está ausente e fragmentada na base, próximo à região anterior. Um forâmen pneumático pode ser observado na parte anterior do úmero. O termo "epiphysis", em seu sentido anatômico estrito, refere-se a uma ossificação secundária separada da diáfise por uma região cartilaginosa, em que o crescimento pode ocorrer até o ponto em que a diáfise e a epífise se fusionem (HAINES, 1942; 1969; STEEL, 2008). Neste espécime, a epífise é ausente, indicando tratar-se de um indivíduo imaturo como visto em outros pterossauros *Pterodactyloides* (veja BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000).

Osteohistologia

O córtex é fino, com aproximadamente 530 µm de espessura, composto de tecido ósseo primário (paralelo fibroso) com um complexo fibrolamelar (Fig. 2 C). Os canais vasculares estão dispostos num padrão plexiforme. Este tipo de tecido é identificado como osso periosteal primário juvenil, figurado por Steel (2008), encontrado em um úmero de um anhanguerídeo juvenil da Formação Romualdo (Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil). Os canais subjacentes à superfície periosteal são largos e não haviam se tornado osteons primários até a morte deste indivíduo. As cavidades de osteócitos estão desorganizadas na matriz óssea, mas se encontram paralelas próximo às cavidades de erosão. No endóstio é notável a presença de grandes cavidades de erosão em praticamente toda a circunferência do osso (Fig. 2 B, C), com aproximadamente 28 cavidades, o que pode indicar altas taxas de metabolismo para este indivíduo (HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013), já que estava na fase de maior crescimento e deposição óssea. Neste espécime não há marcas de crescimento, tais como *anulli* ou LAGs. Na superfície endosteal não existem lamelas, tampouco osteons secundários. Devido às características osteohistológicas analisadas é possível apontar que este indivíduo estaria, antes da morte, na fase ontogenética juvenil, o que é confirmado pela epífise humeral não fusionada (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000). O espécime possui cavidade medular livre, sem a presença de trabéculas, sendo totalmente preenchida por grãos de quartzo advindos da rocha matriz.

CAV ht 003

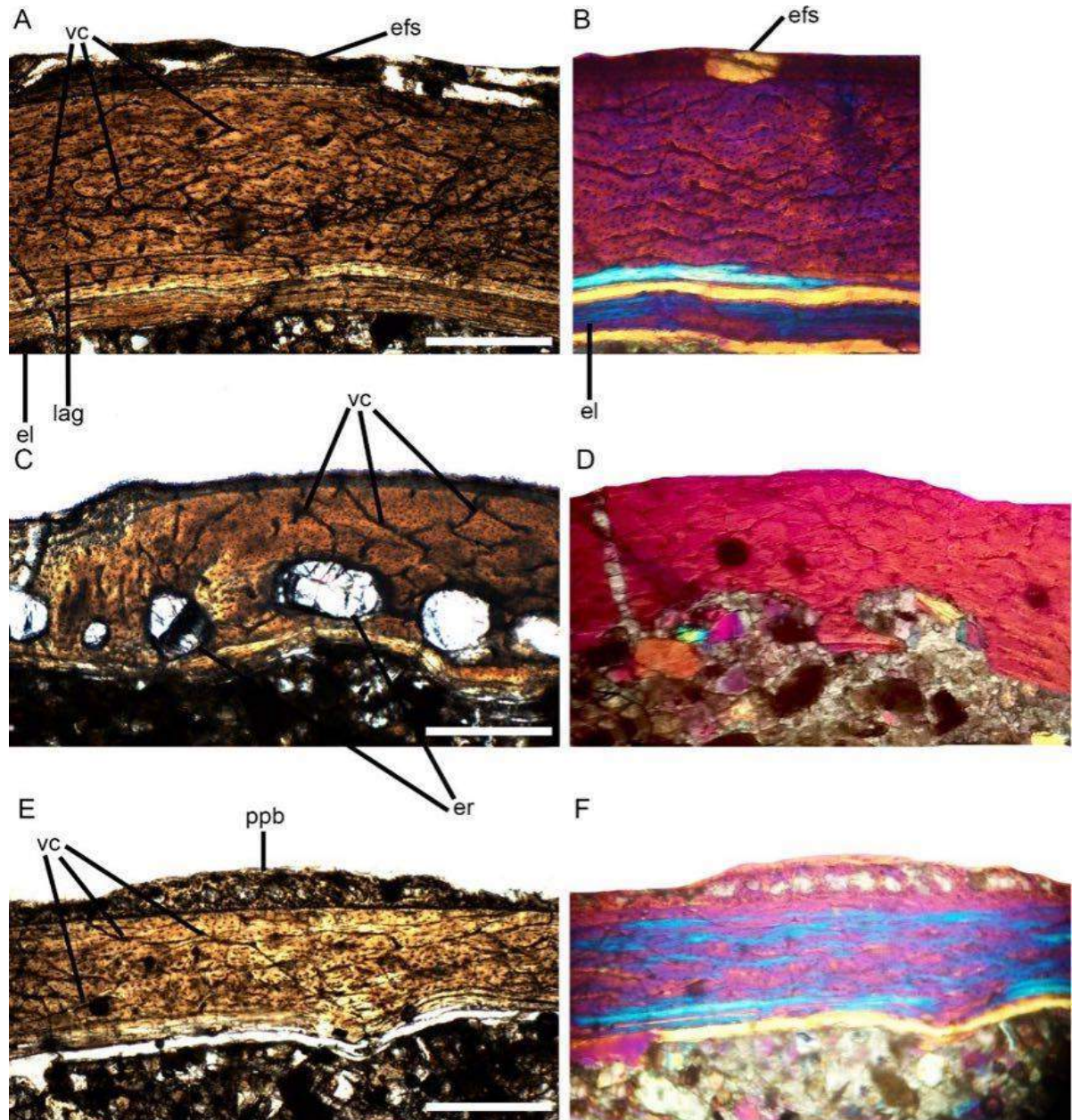
Morfologia

Porção distal de uma ulna esquerda com aproximadamente 45 mm de comprimento e 8,16 mm de diâmetro. Encontra-se isolada, preservada tridimensionalmente, mas com algumas fraturas e rachaduras por toda a porção do osso. Um forâmen pneumático pode ser observado ventralmente na parte distal da articulação.

Osteohistologia

O córtex mede 455 μm de espessura, composto de tecido ósseo primário (paralelo fibroso) com um complexo fibrolamelar, com poucos canais vasculares dispostos em um padrão reticular e longitudinal (Fig. 2 D). Na parte superior do periósteo é observada uma camada com osso periosteal primário juvenil, com aproximadamente 27 cavidades (Fig. 2 D, E), o que pode indicar altas taxas de metabolismo para este indivíduo (STEEL, 2008; HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013). Na superfície endosteal não existem lamelas, nem ósteons secundários. As cavidades de osteócitos estão desorganizadas na matriz óssea. Assim, este indivíduo estaria, antes da morte, na fase ontogenética juvenil, devido à presença de tecido periosteal primário juvenil e à ausência de EFS (PADIAN; DE RICQLÉS; HORNER, 2001; STEEL, 2008). Neste espécime não há marcas de crescimento, tais como *anulli* ou LAGs. Em algumas partes da lâmina, sob a vista de nicóis cruzados, pode-se observar uma linha mais clara no endósteo (Fig. 2 D), mas esta não é orgânica, tendo sido apenas formada pela separação do osso da matriz rochosa e provavelmente resultante da resina utilizada para emblocamento. O espécime possui cavidade medular livre, sem a presença de trabéculas, apenas preenchida por grãos de quartzo advindos da rocha matriz.

Figura 30 - A. Corte transversal do úmero adulto (CAV ht 001) sob luz polarizada plana, vc – vascular canals; LAG – lines of arrested growth; efs – external fundamental system; el – endosteal lemella. B. Corte transversal do úmero (CAV ht 001) sob luz polarizada cruzada; C. Corte transversal do úmero juvenil (CAV ht 002) sob luz polarizada plana; vc – vascular canals; er – erosion rooms; D. Corte transversal do úmero (CAV ht 002) sob luz polarizada cruzada; E. Corte transversal da ulna juvenil (CAV ht 003) sob luz polarizada plana; vc – vascular canals; ppb – periosteal primary bone; F. Corte transversal da ulna juvenil (CAV ht 003) sob luz polarizada cruzada. Escalas: 300 μ m.



Fonte: autor.

CAV ht 004*Morfologia*

Parte distal de um Metacarpo IV esquerdo, com aproximadamente 42 mm de comprimento e 6,28 mm de diâmetro. Encontra-se isolado e preservado tridimensionalmente.

Osteohistologia

O córtex com 660 μm de espessura (Fig. 3 A) é formado basicamente por tecido ósseo secundário (paralelo fibroso) com um complexo fibrolamelar. Os canais vasculares estão orientados, de uma maneira geral, de forma anastomosada e, por vezes, longitudinais, e as lacunas de osteócitos estão alinhadas longitudinalmente. Na parte superior do periósteo não é observada a presença de canais vasculares, apenas uma pequena camada com lacunas de osteócitos organizados longitudinalmente. Na parte medial e superior do córtex são observados alguns ósteons primários. Total ausência de marcas de crescimento, tais como *anulli* ou LAGs. A camada endosteal (internal fundamental system) é claramente visível quando exposta a luz polarizada cruzada (Fig. 3 B), sugerindo que a reabsorção endosteal cessou neste indivíduo. A lamela endosteal é avascular, orientada de modo circunferencial, e contém lacunas de osteócitos alongadas. Não é observado EFS no periósteo, o que indica que, até a morte deste indivíduo, apesar da lamela circunferencial externa estar presente, o EFS ainda não tinha sido formado. A cavidade medular é livre, está apenas preenchida por grãos de quartzo advindos da matriz rochosa. Devido à presença de uma lamela circunferencial interna e a presença de ósteons primários, este indivíduo é caracterizado como um sub-adulto, pois o crescimento ósseo ainda não havia cessado devido à ausência de EFS.

CAV ht 005*Morfologia*

Parte distal de um Metacarpo IV esquerdo, com aproximadamente 37 mm de comprimento e 9,62 mm de diâmetro encontra-se isolado e preservado tridimensionalmente.

Osteohistologia

Em seção transversal o córtex é muito fino, com aproximadamente 356 μm de espessura. O tecido ósseo é avascular ou *acellular bone* (veja PRONDVAI; BODOR; ÖSI, 2014), contendo apenas lacunas de osteócitos desorganizadas. Ausência de canais vasculares, ósteons primários, ósteons secundários e zonas de reabsorção. Provavelmente a ausência dessas estruturas deve-se a área selecionada para o corte, por se tratar de uma parte distal do osso, próximo à epífise. Cavidade medular livre, apenas preenchida por grãos de quartzo advindos da matriz rochosa. Total ausência de marcas de crescimento, tais como *anulli* ou LAGs. Não foi possível identificar o estágio ontogenético deste indivíduo com base na histologia.

CAV ht 006

Morfologia

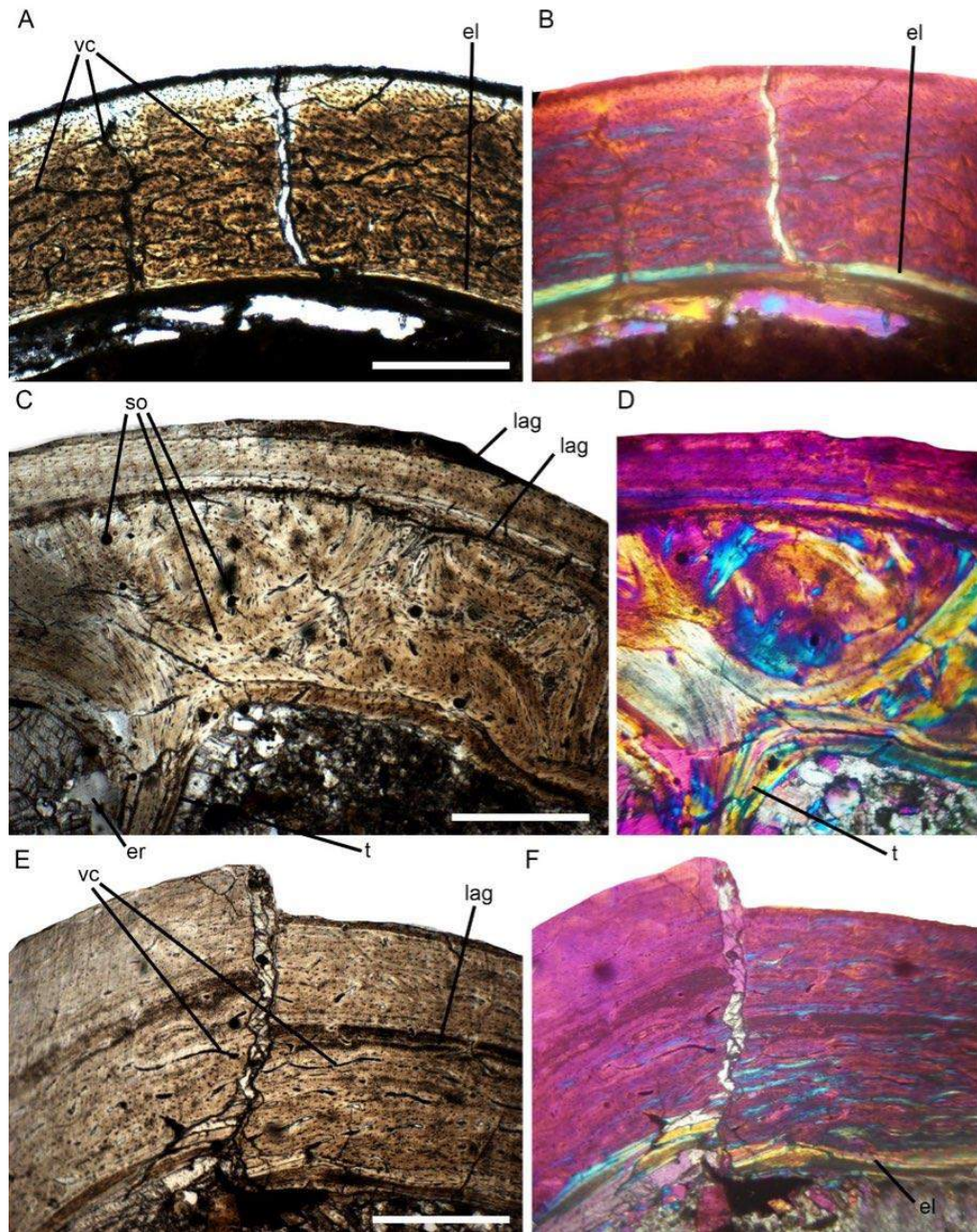
Parte distal de um Metacarpo IV direito, com aproximadamente 59 mm de comprimento e 10,04 mm de diâmetro; encontra-se isolado e preservado tridimensionalmente.

Osteohistologia

Em seção transversal o córtex mede 597 μm de espessura (Fig. 3 C). É observada a presença de duas marcas de crescimento, uma próxima à região endosteal e uma próxima ao periósteo. No córtex observa-se uma mudança brusca de tecido ósseo, a parte acima da LAG é formada por tecido ósseo lamelar, com a presença de canais vasculares dispostos em um padrão

longitudinal; na parte inferior da LAG o tecido ósseo é secundário (*Woven-fibered bone*) com as fibras de colágeno desorganizadas, canais vasculares reticulares e diversos ósteons secundários, possivelmente a camada inferior do córtex foi formada por tecido ósseo secundário com anastomoses longitudinais e irregulares.

Figura 31 - A. Corte transversal do McIV (CAV ht 004) sob luz polarizada plana, vc – vascular canals; el – endosteal lamella; B. Corte transversal do McIV (CAV ht 004) sob luz polarizada cruzada; C. Corte transversal do McIV (CAV ht 006) sob luz polarizada plana; so – secondary osteon; LAG – line of arrested growth; er – erosion room; t – trabecullum; D. Corte transversal do McIV (CAV ht 006) sob luz polarizada cruzada; E. Corte transversal do McIV (CAV ht 007) sob luz polarizada plana; vc – vascular canals; LAG – line of arrested growth; F. Corte transversal do McIV (CAV ht 007) sob luz polarizada cruzada. Escalas: 300 μ m.



Fonte: autor.

Em cerca de um terço de toda a seção transversal do osso os ósteons secundários da camada remodelada são incorporados em uma malha anisotrópica com feixes entrelaçados de lamelas que não participam da formação dos ósteons. Este padrão já fora observado em *Rhamphorhynchus* (PRONDVAI et al., 2012) e nomeado padrão “whirly ” onde *cancellous bone* é convertido em *compacted coarse bone*, devido ao preenchimento dos espaços intertrabeculares com lamelas ósseas (FRANCILLON-VIEILLOT; ARNTZEN; GERAUDIE, 1990; CHINSAMY, 2005; PRONDVAI et al., 2012), o que indica que esta área já foi localizada anteriormente próxima à região metafiseal, em um estágio ontogenético anterior (CHINSAMY, 2005; PRONDVAI et al., 2012). Na parte superior do córtex, próximo ao periósteo, as lacunas de osteócitos estão alinhadas longitudinalmente. Devido a altas taxas de crescimento neste indivíduo, duas grandes cavidades de erosão estão preservadas. Este indivíduo é caracterizado aqui entre a fase de sub-adulto a adulto; não apresenta lamelas internas tampouco EFS, mas possui ósteons secundários e duas linhas de pausa de crescimento. Ainda na região do periósteo é observada uma alteração na configuração das lacunas de osteócitos, uma estrutura em formato de meia lua, partindo da região superior do córtex em direção ao endósteo. Esta estrutura é interpretada aqui como possivelmente um calo ósseo. A cavidade medular é cortada transversalmente por trabéculas (Fig. 3 D).

CAV ht 007

Morfologia

Parte proximal de um úmero direito, alongado e robusto, com aproximadamente 82 mm de comprimento e 5,28 mm de diâmetro; encontra-se isolado, preservado tridimensionalmente, mas fragmentado em três partes, o que facilitou a retirada da amostra para o corte transversal. Na articulação proximal um forâmen pneumático de formato oval pode ser observado, posicionado no lado craniano, próximo a articulação distal.

Osteohistologia

Em vista transversal o córtex é relativamente espesso (780 μm) (Fig. 3 F), composto basicamente por tecido ósseo secundário (paralelo fibroso) com um complexo fibrolamelar e poucos canais vasculares dispostos em um padrão que alterna entre o reticular e as vezes longitudinais. Uma marca de crescimento é evidenciada na zona medial do córtex, mas não há presença de ósteons secundários. Devido à presença de uma LAG e de uma lamela endosteal (Fig. 3 E, F), este indivíduo é considerado um sub-adulto. Na região do periósteo é observado remodelamento ósseo, possivelmente um calo ósseo, partindo da região superior do córtex em direção ao endósteo. A opção de fratura é descartada, pois não foi observado nenhum fragmento de osso no córtex. A camada endosteal (internal fundamental system) é claramente visível quando exposta à luz polarizada cruzada, sugerindo que a reabsorção endosteal começara a cessar neste indivíduo. A lamela endosteal é avascular, orientada de modo circunferencial, e contém lacunas de osteócito alongadas. Não há a presença de EFS. Neste espécime a cavidade medular é livre, sem a presença cavidades de erosão ou de trabéculas.

CAV ht 008

Morfologia

Porção proximal de uma ulna esquerda, com aproximadamente 52 mm de comprimento e 3,76 mm de diâmetro; encontra-se isolada, preservada tridimensionalmente, com algumas rachaduras. Um forâmen pneumático pode ser observado ventralmente na parte proximal da articulação. A epífise da ulna não está fusionada, tampouco preservada neste espécime; portanto, morfologicamente, este indivíduo é considerado juvenil, como observado anteriormente no esqueleto de outros pterossauros (KELLNER; TOMIDA, 2000).

Osteohistologia

O córtex é fino, com 564 μm de espessura e composto de tecido ósseo primário (paralelo fibroso), com um complexo fibrolamelar (Fig. 4 A). Os canais vasculares estão organizados de forma plexiforme. Neste espécime não há marcas de crescimento, tais como *anulli* ou LAGs.

Na superfície endosteal não existem lamelas, tampouco ósteons secundários. O espécime possui cavidade medular livre, sem a presença de cavidades de erosão ou de trabéculas, apenas preenchida por grãos da rocha matriz (Fig. 4 B). Este indivíduo não apresentou nenhuma estrutura que o identificasse como um adulto e, por apresentar a orientação dos canais vasculares de forma plexiforme, sendo esta amplamente aceita como presente em juvenis (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; HUTTENLOCKER et al., 2013), é classificado aqui como juvenil.

CAV ht 009

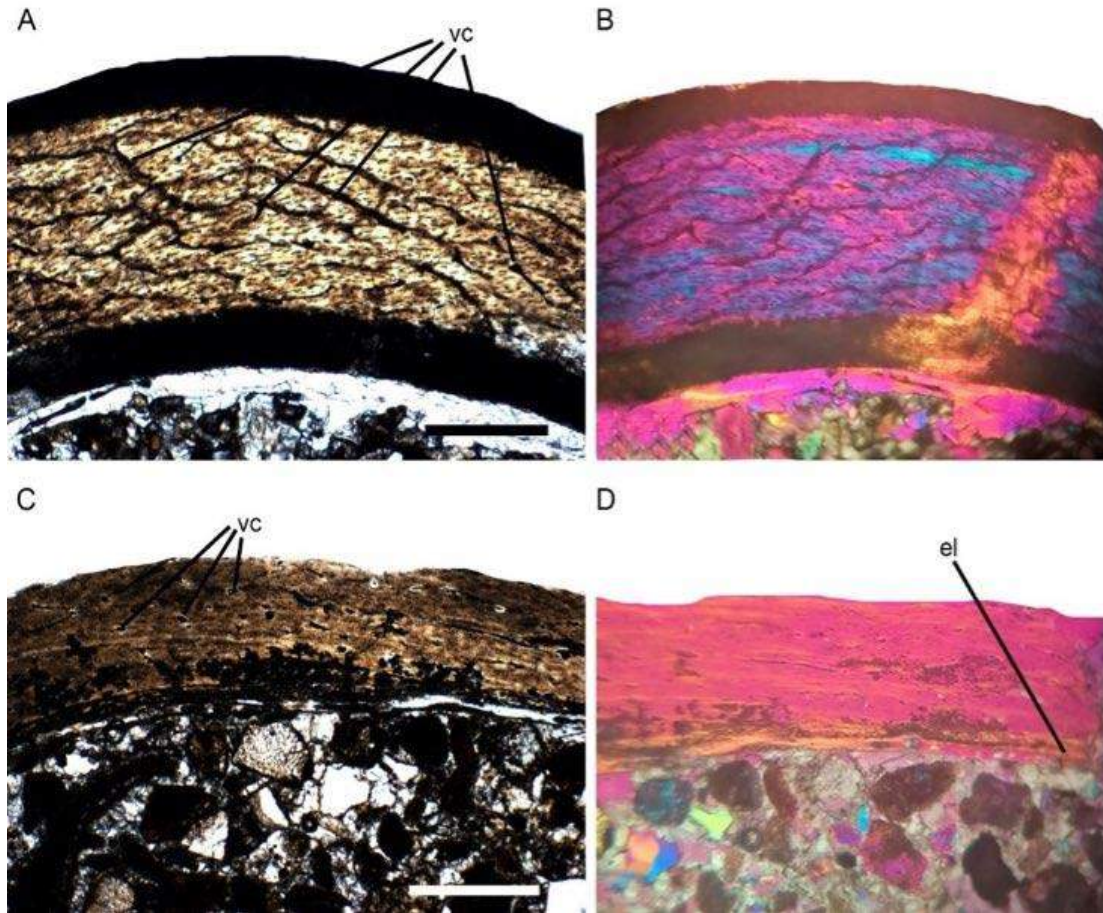
Morfologia

Parte distal de um Metacarpo IV direito, com aproximadamente 105 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro; encontra-se isolado e preservado tridimensionalmente. Em sua porção distal a articulação está fragmentada.

Osteohistologia

O córtex é fino, com aproximadamente 539 μm de espessura (Fig. 4 A). O tecido ósseo é caracterizado como lamelar, com canais vasculares organizados de forma longitudinal e alinhados horizontalmente. Na parte superior do córtex é observada a disposição de canais vasculares reticulares. Não foi observada a presença de EFS no periósteo. Uma pequena lamela endosteal é observada na base do córtex, apenas quando visualizada sob a ótica de nicóis cruzados (Fig. 4 D). A cavidade medular é livre, apenas preenchida por grãos de quartzo. Devido à presença de uma lamela endosteal e à ausência de canais plexiformes, este indivíduo é tido como um sub-adulto.

Figura 32 - A. Corte transversal da Ulna (CAV ht 008) sob luz polarizada plana, vc – vascular canals; B. Corte transversal do McIV (CAV ht 004) sob luz polarizada cruzada; C. Corte transversal do McIV (CAV ht 009) sob luz polarizada plana; vc – vascular canals; el – endosteal lamella; D Corte transversal do McIV (CAV ht 009) sob luz polarizada cruzada. Escalas: 300 μ m.



Fonte: autor.

Discussão

Idealmente os estudos histológicos de uma série ontogenética, que visem a reconstrução dos processos de desenvolvimento biológico, devem incluir amostras dos mesmos elementos ósseos de um mesmo esqueleto (PRONDVAI et al., 2012). Estudos osteohistológicos de algumas amostras representativas de uma série ontogenética constituem na melhor abordagem para revelar a estratégia de crescimento de um animal extinto e, assim, extrapolar os resultados para as suas estratégias de história de vida (PRONDVAI et al., 2012). Mediante a análise das sequências ontogenéticas, *Hamipterus* é caracterizado por apresentar um tecido ósseo associado a um crescimento rápido. O córtex de todos os ossos de indivíduos adultos apresentou altos níveis de vascularização, padrões complexos de organização e conectividade vascular, além de alta densidade de cavidades de osteócitos. Estas características histológicas sugerem que

Hamipterus mantinha uma rápida taxa de crescimento, pelo menos, até ao ponto de maturidade reprodutiva, algo também observado anteriormente em dinossauros (LEE; WERNING, 2008). No entanto, em algum momento na fase de sub-adulto, *Hamipterus* apresenta a transição para um regime de crescimento mais lento. Estas taxas de crescimento mais lentas são, inicialmente, observadas no córtex de sub-adultos, mas também em adultos, diminuindo ainda mais o número de cavidades de osteócitos e a densidade vascular, e, finalmente, a presença de lamelas circunferenciais internas e um EFS, sugerindo baixas taxas de crescimento prolongadas (por vários anos) antes do término do crescimento corpóreo como sugerido por Steel (2008). Estas tendências na histologia óssea sugerem fortemente um crescimento assintótico ("determinado") para o crescimento do esqueleto de *Hamipterus*, consistente com o que é observado em outros pterossauros (SAYÃO, 2003; PADIAN; HORNER; DE RICQLÈS, 2004; ELEUTÉRIO et al., 2015) e demais arcossauros (ERICKSON et al., 2004; WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; WERNING, 2012; ANDRADE; SAYÃO, 2014; ANDRADE et al., 2015).

O sistema fundamental externo (EFS) é uma forma de depósito microestrutural do osso, por vezes presente no córtex mais externo, dentro de uma seção transversal de ossos longos (WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; ANDRADE et al., 2015.). Esta estrutura é pouco vascularizada e composta de tecido paralelo fibroso ou lamelar, lentamente depositado, produzindo uma superfície lisa, “finalizando” a superfície do osso (por exemplo, CORMACK, 1987; STARCK; CHINSAMY, 2002; PONTON et al., 2004). O EFS pode ser encontrado em ossos longos de animais quando atingem a sua maturidade esquelética. A presença desta camada indica uma cessação efetiva do crescimento na circunferência do perióstio dos ossos longos e confirma a finalização da maturidade esquelética (embora os ossos ainda possam se tornar mais robustos) (LEE; O'CONNOR, 2013; WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; ANDRADE; SAYÃO, 2014; ANDRADE et al., 2015). A presença de EFS em pterossauros é relatada em ossos apendiculares de um indivíduo adulto (anhanguerídeo) por Sayão (2003). Em uma análise histológica da falange distal de *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* da Formação Romualdo por Kellner et al. (2013), também foi observado EFS, o que indicaria um estágio ontogenético adulto. É possível que na população de *Hamipterus* a maturidade sexual possa ter ocorrido antes mesmo da maturidade esquelética devido à grande quantidade de juvenis e sub-adultos na amostra. Este é o primeiro relato desta condição em pterossauros.

Além de dados osteohistológicos, alguns critérios são mais confiáveis para o estabelecimento de estágios ontogenéticos utilizando a morfologia externa do esqueleto (WERNING, 2012), sendo alguns estabelecidos para arcossauros por Irmis (2007) e propostos

para pterossauros (BENNETT, 1993; KELLNER; TOMIDA, 2000), embora vários métodos para descrever o grau de ossificação tenham sido sugeridos como potenciais fontes de informação ontogenética. A textura da superfície do osso também tem sido utilizada para avaliar o estágio ontogenético (juvenil, subadultos e adulto) em aves vivas de idade conhecida (CALLISON; WUIMBY, 1984; TUMARKIN-DERATZIAN et al., 2006) e sugeridos para pterossauros (BENNETT, 1993). A utilização do grau de ossificação e a textura da superfície do osso, em conjunto com uma análise osteohistológica, foi realizada pela primeira vez por Eleutério et al. (2015), traçando inferências ontogenéticas e biomecânicas para pterossauros anhanguerídeos do Brasil. Observando-se a textura óssea e a fusão dos ossos analisados, nota-se que o maior grau de porosidade está presente apenas nos sub-adultos que apresentam lamelas circunferenciais internas, e em maiores quantidades no espécime adulto, que apresenta EFS (ambos caracterizados ontogeneticamente com base na histologia). Isto é condizente, em parte, com a proposta de Bennett (1993), na qual os sub-adultos de *Pteranodon* possuíam um tecido ósseo fibrolamelar com canais plexiformes e um osso com pouca porosidade em sua superfície. Já os adultos possuíam epífises não fusionadas e ossos com alto grau de porosidade, com uma microestrutura óssea no padrão paralelo fibroso e canais vasculares longitudinais e reticulares (BENNETT, 1993).

Nas amostras analisadas não foi observada a presença de tecido ósseo “plywood-like”. Este tipo de tecido é considerado único em pterossauros (QUEKETT, 1855; DE RICQLÈS; FRANCILLON-VIEILLOT, 2000), tendo sido relatado em *Pteranodon*, *Montanazdarcho*, anhanguerídeos e azdarchídeos (por exemplo, PADIAN, 2001; SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Sua ausência em *Hamipterus* aponta que a distribuição deste tipo de tecido é feita de forma desigual entre estes répteis voadores (STEEL, 2008; CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009; WANG et al., 2015), não sendo reportado em *Pterodaustro* e outros clados de pequeno porte. Em ossos de pterossauros este tecido é ortogonal, sendo as lamelas orientadas no mesmo plano, mas inclinam-se cerca de 90° de uma lamela para outra (STEEL, 2008). Além disso, o tecido “plywood-like” em pterossauros é comumente avascular ou com um baixo grau de vascularização. De acordo com Steel (2008) e de Ricqlès et al. (2000), o tecido “plywood-like” é geralmente encontrado em ossos pequenos de pterossauros de grande porte.

Devido à grande quantidade de amostras e a presença de ovos nas camadas que foram coletados os ossos, seria plausível a presença de fêmeas que apresentassem osso medular, no qual, este tipo de tecido já foi identificado (e.g., *Pterodaustro*) e associado a fases reprodutivas (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). Sabe-se que as fêmeas ovíparas desenvolvem

um tecido ósseo chamado “camada medular” durante o período de ovulação e a fase de postura, já identificada em aves recentes e dinossauros não avianos (REISS, 1989; SCHWEITZER; WITTMAYER; HORNER, 2005; LEE; WERNING, 2008). Este tecido constitui uma maneira rápida das fêmeas obterem cálcio para formar a casca de ovo rígida (PAHL et al., 1997). Esta ideia de associação da fase reprodutiva foi refutada por Prondvai e Stein (2014) que, após a análise de diversas sínfises mandibulares de *Bakonydraco*, propuseram que esta estrutura seria advinda de alguma alteração patológica e que, devido às cascas de ovos de pterossauros serem extremamente finas, este tecido ósseo medular provavelmente não teria um papel reprodutivo nestes animais. A ausência de osso medular em *Hamipterus* corrobora a hipótese de que o desenvolvimento deste tipo de tecido teria sido irregular entre os arcossauros (SCHWEITZER et al., 2007; WANG et al., 2015).

Fósseis de pterossauros têm sido coletados em todos os continentes (KELLNER, 2006) mas, apesar disso, em todo o registro fóssil mundial são raras as localidades fossilíferas que apresentem a preservação de uma população de pterossauros (incluindo neonatais, jovens, adultos e senis, além de machos, fêmeas e ovos), sendo registradas até o momento apenas a população de tapejarídeos da espécie *Caiuajara dobruskii* Manzig, Kellner, Weinschütz, Fragoso, Vega, Guimarães, Godoy, Liccardo, Ricetti e Moura 2014, do Cretáceo Inferior do Brasil e a população de *Hamipterus tianshanensis*. *Caiuajara* apresenta o modo de preservação similar ao de *Hamipterus*, formando grandes acúmulos de ossos de diferentes indivíduos e estágios ontogenéticos. Um acúmulo de ossos de pterossauros pode ser considerado como uma camada de ossos que contém vários indivíduos que podem confiantemente ser atribuídos à mesma espécie e, pelo menos potencialmente, serem considerados como representantes de uma mesma população ou populações sucessivas (KELLNER et al., 2013; MANZIG et al., 2014).

Na acumulação de ossos onde são encontrados fósseis de *Caiuajara*, centenas de ossos que representam indivíduos de diferentes tamanhos foram recolhidos em uma área de aproximadamente do 20 m² (MANZIG et al., 2014). São conhecidos 47 indivíduos associados a *Caiuajara*, mas o número real de indivíduos deve estar na casa das centenas, sendo que todas as partes do esqueleto estão representadas (MANZIG et al., 2014). Poucos espécimes foram encontrados com esqueleto articulado ou intimamente associados. Grande parte dos mesmos encontrava-se misturados, o que torna difícil estabelecer quais elementos pertencem a um mesmo indivíduo (MANZIG et al., 2014). É notável que este acúmulo de pterossauros foi parcialmente submetido à seleção hidráulica (MANZIG et al., 2014), já que a maioria dos ossos encontrados são, predominantemente, de tamanho diminuto. Isto levou os autores a afirmar que

os espécimes coletados são, predominantemente, jovens ou muito jovens, com a presença de adultos sendo bastante rara e representada por apenas dois crânios e três úmeros (MANZIG et al., 2014). Esta suposição poderia ser comprovada com uma análise osteohistológica de algumas amostras de ossos de diferentes tamanhos.

Para a população de *Hamipterus* são conhecidos 40 indivíduos, sendo que este número também pode alcançar a casa de centenas (WANG et al., 2014). Nenhum exemplar foi coletado com esqueleto articulado ou intimamente associados, sendo todos os fósseis fragmentados e isolados (WANG et al., 2014), o que também dificultou a associação de elementos ósseos a um mesmo indivíduo. Observando-se os resultados obtidos através dos cortes transversais, nota-se que a maioria dos ossos analisados aqui são associados a indivíduos juvenis e sub-adultos, com tamanho diminuto. Não é descartada a possibilidade de que, durante o transporte dos exemplares de *Hamipterus*, tenha ocorrido uma seleção hidráulica, uma vez que, o ambiente de sedimentação onde foram encontrados os fósseis, seja interpretado como um depósito formado sob condições fluviolacustres com intercalações de tempestitos (POL et al., 2004; WANG et al., 2014). É justamente nas camadas de tempestitos onde quase todos os fósseis de pterossauros são encontrados, o que levou aos autores à sugestão de que grandes tempestades teriam causado a mortalidade em massa desta população de pterossauros (WANG et al., 2014).

Conclusão

A histologia de *Hamipterus tianshanensis* sugere que esta espécie de réptil alado teria crescido rapidamente durante as fases de juvenil e de sub-adulto precoce, apresentando um tecido ósseo bem vascularizado durante cada uma destas etapas. A partir da fase adulta é possível observar a presença de tecido ósseo paralelo fibroso em um complexo fibrolamelar próximo ao endóstio e lamelar próximo à superfície periosteal. A evidência de maturidade esquelética é observada apenas na amostra de um úmero adulto, embora alguns espécimes de sub-adultos apresentassem apenas lamelas circunferenciais internas. Como em outros pterossauros, o tecido ósseo variou entre os elementos ósseos no que diz respeito às suas taxas de remodelamento e disposição de canais vasculares.

Quanto à configuração osteohistológica (juvenil ou adulto), grau de fusão dos ossos (fusionado ou não fusionado) e textura da superfície dos ossos (poroso ou sem porosidade), pode-se concluir que, para juvenis e adultos, essas características se aplicam e correlacionam. Assim, quando um indivíduo é morfologicamente juvenil ele apresenta uma conformação

osteohistológica juvenil correlata, ossos não fusionados sem porosidade, e um indivíduo morfológicamente adulto apresenta conformação osteohistológica de um adulto e ossos fusionados/porosos. Apenas os sub-adultos não se enquadram neste padrão, nos quais os ossos apresentam um certo grau de porosidade, possuem uma estrutura osteohistológica de um adulto (mas com ausência de EFS) e ossos não fusionados. *Hamipterus* vivia em bando e provavelmente não havia segregação de machos e fêmeas devido à amostragem conter representantes de juvenis, sub-adultos e adultos.

Referências

- ANDRADE, R. C. L. P.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; CAMPOS, L. S.; ELEUTÉRIO, L. H. S.; SAYÃO, J. M. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 14, n. 1, p. 200-211. 2015.
- ANDRADE, R. C. L. P.; SAYÃO, J. M. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). **Plos ONE**, v. 7, p.102189. 2014.
- BENNETT, S. C. Taxonomy and systematics of the Late Cretaceous pterosaur Pteranodon (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Occasional Papers of the Natural History Museum, The University of Kansas Lawrence, Kansas**, v. 169, p. 1-70. 1993.
- BENNETT, S. C., The phylogenetic position of the Pterosauria within the Archosauromorpha, **Zoological Journal of the Linnaean Society**, v. 118, p. 261-308. 1995.
- BRINKMAN, D. B., EBERTH, D. A., RYAN, M. J., CHEN, P. J. The occurrence of *Psittacosaurus xinjiangensis* Sereno and Chow, 1988 in the Urho area, Junggar Basin, Xinjiang, People's Republic of China. **Canadian Journal of Earth Sciences**, v. 38, p. 1781–1786. 2001.
- CALLISON, G.; QUIMBY, H. M. Tiny dinosaurs: Are they fully grown? **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 3, p. 200-209. 1984.
- CHINSAMY, A. **The microstructure of dinosaur bone**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 2005. 195 p.
- CHINSAMY, A. **The microstructure of dinosaur bone**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 2005. 195 p.
- CHINSAMY, A. T.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. Palaeobiological Implications of the Bone Histology of *Pterodaustro guinazui*. **Anatomical Record**, v. 292, p. 1462-1477. 2009.
- CHINSAMY, A.; RAATH, M.A. Preparation of fossil bone for histological examination. **Palaeontology African Journal**, v. 29, p. 39-44. 1992.
- CORMACK, D. H. **Ham's Histology**. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1987.
- DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K.; HORNER, J. R. On the bone histology of some Triassic pseudosuchian archosaurs and related taxa. **Annales de Paléontologie**, v. 89, p. 67–101. 2003.

DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K.; HORNER, J. R.; FRANCILLON-VIEILLOT, H. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 349-385. 2000.

EBERTH, D. A.; DONALD, B. B.; CHEN, P. J.; YUAN, F. T.; WU, S. Z.; GANG, L.; CHENG, X. S. Sequence stratigraphy, paleoclimate patterns, and vertebrate fossil preservation in Jurassic-Cretaceous strata of the Junggar Basin, Xinjiang Autonomous Region, People's Republic of China. **Canadian Journal of Earth Science**, v. 38, p. 1627-1644. 2001.

ELEUTÉRIO, L. H. S.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; ANDRADE, R. C. L. P.; SARAIVA, A. A. F.; KELLNER, A. W. A.; SAYÃO, J. M. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 18, n. 3, p. 403-412. 2015.

ERICKSON, G. M.; CURRY ROGERS, K.; VARRICCHIO, D. J.; NORELL, M. A.; XU, X. 2007. Growth patterns in brooding dinosaurs reveals the timing of sexual maturity in non-avian dinosaurs and genesis of the avian condition. **Biology Letters**, v. 3, p. 558-561.

ERICKSON, G. M.; MAKOVICKY, P. J.; CURRIE, P. J.; NORELL, M. A.; YERBY, S.A. Gigantism and comparative life-history of tyrannosaurid dinosaurs. **Nature**, v. 430, p. 772-775. 2004.

FRANCILLON-VIEILLOT, H. J.; ARNTZEN, W.; GERAUDIE, J. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *Triturus marmoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): a skeletochronological comparison. **Journal of Herpetology**, v. 24, p. 13-22. 1990.

HAINES, R. W. The evolution of epiphyses and of endochondral bone. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 14, p. 267-292. 1942.

HAINES, R. W. Epiphyses and sesamoids. In: GANS, C.; BELLAIRS, A. D.; PARSONS, T. S. (Eds.). **Biology of the Reptilia, Vol. 1: Morphology**. 1969. London, Academic Press, 1969. 81-115 p.

HUTTENLOCKER, A. K.; WOODWARD, H. N.; HALL, B. K. The biology of bone. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods: issues, methods, and databases**. 2013. Berkeley, CA: University of California Press. 13-34 p.

IRMIS, R. B. Axial skeleton ontogeny in the Parasuchia (Archosauria: Pseudosuchia) and its implications for ontogenetic determination in archosaurs. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 27, p. 350-361. 2007.

KELLNER, A. W. A. **Pterossauros - os senhores do céu do Brasil**. Rio de Janeiro: Vieira & Lent, 2006. 176 p.

KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A.; SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; RODRIGUES, T.; OLIVEIRA, G.; CRUZ, L. A.; COSTA, F. R.; SILVA, H. P.; FERREIRA, J. S. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 113-135. 2013.

KELLNER, A. W. A.; TOMIDA, Y. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. **National Science Museum Monographs**, v. 17, n. 1-135. 2000.

LAMM, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone Histology of Fossil Tetrapods**. University of California Press, 2013. p. 55-160.

LEE, A. H.; O'CONNOR, P. M. Bone histology confirms determinate growth and small body size in the noasaurid theropod *Masiakasaurus knopfleri*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 33, n. 4, p. 865- 876. 2013.

LEE, A.; WERNING, S. Sexual maturity in growing dinosaurs does not fit reptilian growth models. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 582-587. 2008.

LU, J.; KUNDRÁT, M.; SHEN, C. New Material of the Pterosaur *Gladocephaloideus* Lü et al., 2012 from the Early Cretaceous of Liaoning Province, China, with Comments on Its Systematic Position. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6. 2016.

MANZIG, P. C.; KELLNER, A. W. A.; WEINSCHÜTZ, L. C.; FRAGOSO, C. E.; VEGA, C. S.; GUIMARÃES, G. B. Discovery of a Rare Pterosaur Bone Bed in a Cretaceous Desert with Insights on Ontogeny and Behavior of Flying Reptiles. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. 100005. 2014.

PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A.; HORNER, J. R. Dinosaurian growth rates and bird origins. **Nature**, v. 412, p. 405-408. 2001.

PADIAN, K.; HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. **Paleontology**, v. 24, p. 555-571. 2004.

PAHL, R.; WINKLER, D. W.; GRAVELAND, J.; BATTERMAN, B. W. Songbirds do not create long-term stores of calcium in their legs prior to laying: results from high-resolution radiography. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 264, p. 239-244. 1997.

POL, D.; JI, S.; CLARK, J.M.; CHIAPPE, L.M. Basal crocodyliforms from the Lower Cretaceous Tugulu Group (Xinjiang, China) and the phylogenetic position of *Edentosuchus*. **Cretaceous Research**, v. 25, p. 603–622. 2004.

PONTON, F.; ELZANOWSKI, A.; CASTANET, J.; CHINSAMY, A.; DE MARGERIE, E.; DE RICQLÈS, A. J.; CUBO, J. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds. **Acta Ornithologica**, v. 39, p. 21-24. 2004.

PRONDVAI, E.; BODOR, E. R.; ÓSI, A. Does morphology reflect osteohistology based ontogeny? A case study of Late Cretaceous pterosaur jaw symphyses from Hungary reveals hidden taxonomic diversity. **Paleobiology**, v. 40, p. 288-321. 2014.

PRONDVAI, E.; STEIN, K. 2014. Medullary bone-like tissue in the mandibular symphyses of a pterosaur suggests non-reproductive significance. *Scientific Reports*, 4:6253. doi:10.1038/srep06253

PRONDVAI, E.; STEIN, K.; ÖSI, A.; SANDER, M. P. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. **PLoS ONE**, v. 7, p. 31392. 2012.

QUEKETT, J. T. Descriptive and illustrative catalogue of the histological series. In: contained in the Museum of the Royal College of Surgeons of England, vol. 2, **Structure of the skeleton of vertebrate animals**. London. 1855.

REISS, M. J. **The Allometry of Growth and Reproduction**. New York: Cambridge Univ Press. 1989. 250 p.

SAYÃO, J. M. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geological Society London Special Publications**, v. 217, p. 335-342. 2003.

SAYÃO, J. M.; BANTIM, R. A. M.; ANDRADE, R. C. L. P.; LIMA, F. J.; SARAIVA, A. A. F.; FIGUEIREDO, R. G.; KELLNER, A. W. A. Paleohistology of *Susisuchus anatoceps* (Crocodylomorpha, Neosuchia): Comments on Growth Strategies and Lifestyle. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 0155297. 2016.

SAYÃO, J. M.; VILA NOVA, B. C.; FRANÇA, M. A.; OLIVEIRA, G. R.; LIMA, F. J.; SARAIVA, A. A. F. Fósseis do Araripe – Um exemplo de diversidade ao longo do tempo profundo. In: ALBUQUERQUE, U. P.; MEIADO, M. V. (Eds.). **Sociobiodiversidade na Chapada do Araripe**. Bauru: Canal 6 Editora, 2015. Bauru, 535 p.

SCHWEITZER, M. H.; ELSEY, R. M.; DACKE, C. G.; HORNER, J. R. Do egg-laying crocodilian (*Alligator mississippiensis*) archosaurs form medullary bone? **Bone**, v. 40, p. 1152-1158. 2007.

SCHWEITZER, M. H.; WITTMAYER, J. L.; HORNER, J. R. Gender-specific reproductive tissue in ratites and *Tyrannosaurus rex*. **Science**, v. 308, p. 1456-1460. 2005.

SHEN, Y. B.; MATEER, N. J. An outline of the Cretaceous system in northern Xinjiang, western China. In: NIAL, J. M.; CHEN, P.J. (Eds.). **Aspects of Nonmarine Cretaceous Geology**, 1992. Beijing: China Ocean Press, 1992. 49–77 p.

STARCK, J. M.; CHINSAMY, A. Bone microstructure and developmental plasticity in birds and other dinosaurs. **Journal of Morphology**, v. 254, p. 232-246. 2002.

STEEL, L. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. **Zitteliana**, v. 28, p. 109-125. 2008.

TUMARKIN-DERATZIAN, A. R.; VANN, D. R.; DODSON, P. Bone surface texture as an ontogenetic indicator in long bones of the Canada goose *Branta canadensis* (Anseriformes: Anatidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 148, p. 133-168. 2006.

WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; CHENG, X.; JIANG, S.; WANG, Q.; SAYÃO, J. M.; RODRIGUES, T.; COSTA, F. R.; LI, N.; MENG, X.; ZHOU, Z. 2015. Eggshell and histology provide insight on the life history of a pterosaur with two functional ovaries. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 3, p. 669-689.

WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; ZHOU, Z.; CAMPOS, D. A. Discovery of a rare arboreal forest-dwelling flying reptile (Pterosauria, Pterodactyloidea) from China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 1983-1987. 2008.

WANG, X., KELLNER, A. W. A., JIANG, S., WANG, Q., MA, Y., PAIDOU, Y., CHENG, X., RODRIGUES, T., MENG, X., ZHANG, J., LI, N. E ZHOU, Z. Sexually Dimorphic Tridimensionally Preserved Pterosaurs and Their Eggs from China. **Current Biology**, v. 24, n. 12, p. 1323–1330.

WANG, C.; LUO, B.; ZHENG, G., Organic geochemical characteristics and genesis of crude oils from the Terpan basin, China. **Acta Sedimentologica Sinica**, v. 11, p. 72–81. 1993.

WERNING, S. The ontogenetic osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. **Plos One**, v. 7, p. 1-25. 2012.

8. ARTIGO IV

PALEOBIOLOGIA DE PTEROSSAUROS (REPTILIA, ARCHOSAURIA), BASEADA EM EVIDÊNCIAS OSTEOHISTOLÓGICAS: O QUE SABEMOS E O QUE PODEMOS AFIRMAR?

BANTIM, R. A. M.¹; SAYÃO, J. M.²

¹*Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Brasil. renanbantimbiologo@gmail.com*

²*Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, PE, Brasil. jmsayao@gmail.com*

Resumo

Os pterossauros são caracterizados por apresentarem uma membrana alar sustentada pelo quarto dígito alongado, pela presença do osso pteróide e por seus ossos pneumáticos apresentando uma parede fina, sustentadas internamente por trabéculas, paredes separadoras e septos. Por possuírem ossos pneumáticos, por diversas vezes trabalhos paleohistológicos utilizaram-se de ossos de pterossauros para traçarem inferências biológicas, fisiológicas e biomecânicas desses répteis alados. Nas últimas décadas, diversos trabalhos foram realizados visando os aspectos biológicos deste grupo, como taxas de crescimento, ontogenia e modo de vida dos pterossauros, especialmente sob a ótica da constituição microestrutural óssea. Com este volume de trabalhos, diversas propostas foram criadas e refutadas ao longo de décadas de estudos sobre a osteohistologia de pterossauros. Neste trabalho apresenta-se um compilado de dados acerca do conhecimento atual da osteohistologia de pterossauros, além da caracterização de todos os tipos de tecidos ósseos descritos até hoje, concluindo este levantamento com o que realmente se pode afirmar sobre estes répteis alados com base na paleohistologia.

Palavras-chave: Pterosauria, osteohistologia, lamelas, ontogenia.

Introdução

Estudos paleohistológicos em vertebrados fósseis constituem uma importante ferramenta, podendo auxiliar a esclarecer uma série de problemas relacionados à biologia de animais extintos (SANDER, 2000; CHINSAMY, 2005; PADIAN; LAMM, 2013). A exemplo, podem ser inferidas a maturidade do esqueleto, taxas de crescimento, fisiologia e tratar de uma série de considerações ecológicas (BENNETT, 1993; CHINSAMY, 1995; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; 2000; STEEL, 2008). Esta linha de pesquisa assume a hipótese atualística de que tecidos e taxas de deposição são geralmente similares e, conseqüentemente, comparáveis em animais vivos e extintos (HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; SANDER, 2000). A partir destas informações é possível inferir sobre diversos aspectos da fisiologia, ontogenia e filogenia que influenciam a história de vida dos indivíduos (ERICKSON; TUMANOVA, 2000; HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 2000; CHINSAMY, 1997; 2005).

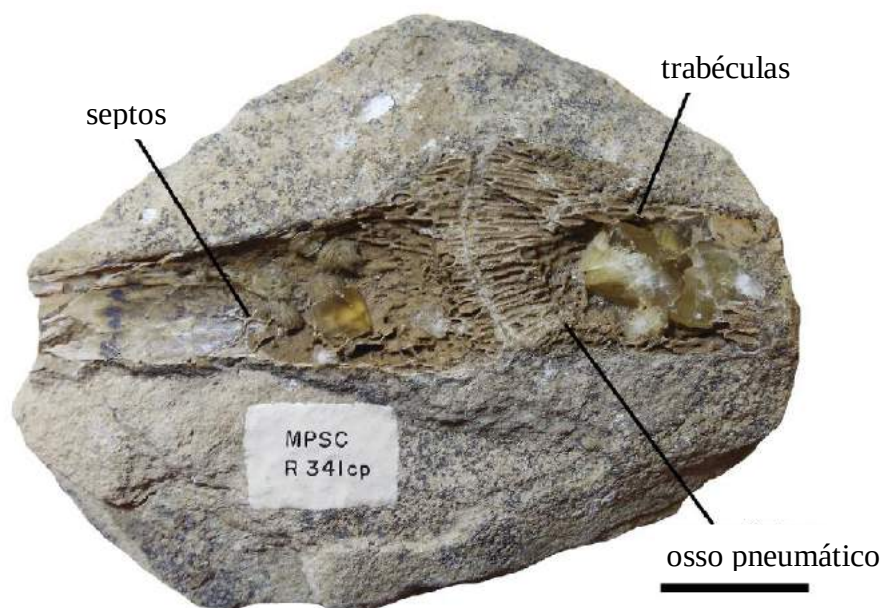
Nas últimas décadas, diversos trabalhos foram realizados visando os aspectos biológicos dos organismos fósseis, especialmente sob a ótica da microestrutura óssea. Embora o fóssil fique sujeito aos vários processos tafonômicos por milhões de anos, a estrutura microscópica dos ossos permanece preservada (CHINSAMY, 2005). Um estudo ósteohistológico completo envolve a descrição de múltiplos elementos de diferentes indivíduos para que seja possível determinar as variações no tecido ósseo que ocorrem devido à histovariabilidade (RAY; CHINSAMY, 2004; PRONDVAI et al., 2012).

Apesar dos componentes orgânicos dos tecidos mineralizados geralmente serem decompostos após a morte, os componentes inorgânicos dos ossos preservam a orientação espacial dos componentes orgânicos, tais como as lacunas de osteócitos, canais vasculares, fibras colágenas e, conseqüentemente, a histologia do osso (STEEL, 2008). A histologia óssea pode fornecer informações importantes sobre a fisiologia do organismo, como a organização da matriz de colágeno e o grau da vascularização do osso indicam as taxas relativas de deposição do osso (por exemplo, AMPRINO, 1947; CURREY, 1984), enquanto a presença de marcas de crescimento, tais como linhas de interrupção do crescimento (LAGs) ou deposição do sistema fundamental externo, indicariam a finalização do crescimento assintótico (PEABODY, 1961; DE RICQLÈS, 1969; 1975; KLEVEZAL, 1996; CASTANET, 1985; 1987; MEUNIER et al., 1988; CHINSAMY, 1997). Aspectos funcionais da morfologia do osso podem ser inferidos a partir do aspecto macroscópico do osso, bem como da sua micro-

arquitetura, e a distribuição de diferentes tipos de tecidos em todo o esqueleto ou dentro de um único osso podem refletir funções biomecânicas (CURREY, 1959; ELEUTÉRIO et al., 2015).

Os pterossauros são um grupo extinto de répteis alados que surgiu há pelo menos 228 milhões de anos, sendo os primeiros vertebrados a alçar voo (e.g., WELLNHOFER, 1991). Seus primeiros registros datam do Triássico Superior, idade Carniano-Noriano (BONAPARTE; SCHULTZ; SOARES, 2010), mesma época em que muitos outros grupos de tetrápodes surgiram, tais como testudines, crocodilomorfos e dinossauros (BENTON, 1985). Após seu aparecimento no Triássico (extremamente raro), este grupo apresenta-se amplamente distribuído ao longo dos períodos Jurássico e Cretáceo, diversificando-se até sua extinção no final deste período (e.g. WELLNHOFER, 1991). Os pterossauros são caracterizados por apresentarem um tecido membranoso apoiado pelo quarto dígito alongado (CUVIER, 1801; MARSH, 1876; ZITTEL, 1882), pela presença do osso pteróide e por seus ossos pneumáticos, apresentando uma parede fina (WELLNHOFER, 1991; 2008) e por serem sustentados internamente por trabéculas, paredes separadoras e septos (DE RICQLÉS et al., 2000) (Fig. 1). Por possuírem ossos pneumáticos, por diversas vezes trabalhos paleohistológicos se utilizaram de ossos de pterossauros para traçarem inferências biológicas, fisiológicas e biomecânicas desses indivíduos (ELEUTÉRIO et al., 2015).

Figura 33 - Espécime MPSC R 341cp (diáfises da primeira e segunda falanges alares), na qual observa-se a pneumaticidade óssea, septos e trabéculas em ossos de pterossauros. Escala: 5cm.



Fonte: autor.

Visando compilar todos os dados acerca do conhecimento atual da osteohistologia de pterossauros, reuniu-se aqui um pequeno histórico dos principais trabalhos sobre paleohistologia de diversos grupos de pterossauros, além de uma compilação dos tipos de tecidos ósseos descritos até hoje para os pterossauros, finalizando com o que realmente é possível afirmar sobre estes répteis alados com base na paleohistologia.

Contexto histórico

O conhecimento sobre a microestrutura óssea desenvolveu-se em paralelo com o avanço da tecnologia em microscopia (desde o microscópio de luz, microscópio com luz polarizada e, mais recentemente, os microscópios de varredura e de transmissão de elétrons) (CHINSAMY, 2005). Os estudos pioneiros foram análises do tecido ósseo de pterossauros e dinossauros que tiveram início há mais de 150 anos atrás (OWEN, 1840; QUEKETT, 1849; 1855). Quekett foi o primeiro a reconhecer as lacunas dos osteócitos nos ossos de *Iguanodon*, as quais foram referidas por ele como "células ósseas" (CHINSAMY, 2005). Inicialmente tais estudos tinham um caráter apenas descritivo, já que análises comparativas dos dados histológicos e suas implicações paleobiológicas ainda não eram realizadas naquela época (ERICKSON; TUMANOVA, 2000). O primeiro estudo acerca da histologia óssea dos pterossauros foi o de Quekett (1849). Neste trabalho, foram descritas as estruturas presentes em secções transversais da diáfise do úmero, onde Quekett observou pela primeira vez, canais primários em ossos de pterossauros, além de canais vasculares, lacunas de osteócitos, canalículos e trabéculas no endóstio. Suas observações ficaram limitadas a essas características perceptíveis no plano de luz polarizada, já que a técnica da luz polarizada cruzada, que revela a orientação dos cristais de hidroxiapatita, e possivelmente a orientação das fibras de colágeno, só foi desenvolvida a partir de 1874. O autor publicou então um catálogo contendo cerca de 15 lâminas de ossos de pterossauros (QUEKETT, 1855).

Em 1947 o pesquisador italiano Amprino propôs que as diferenças encontradas no tecido ósseo são resultado de uma variação na taxa de deposição óssea, a qual não é determinada apenas pela quantidade de tecido ósseo depositado, mas também influenciada pela organização fibrilar. Assim, o tecido ósseo é um tecido vivo que registra diretamente a sua taxa de formação ao longo da existência dos indivíduos. De acordo com esta hipótese, uma baixa taxa de formação óssea resultaria em um tecido lamelar-zonal, que é caracterizado por um arranjo organizado das fibras do colágeno e dos osteócitos, que tendem a ser mais achatados. Ao

contrário, uma alta taxa de formação óssea resultaria em um tecido fibrolamelar caracterizado pelo arranjo aleatório tanto das fibras do colágeno como também dos osteócitos. Esta hipótese é amplamente aceita para identificar a taxa de formação óssea a partir do tipo de tecido ósseo depositado, sendo conhecida como regra de Amprino.

Entre os anos 1956 e 1958 os americanos Donald Brown e Sidney Enlow publicaram uma série de trabalhos nos quais foi documentado e fornecido um melhor entendimento sobre os padrões histológicos ocorrentes entre os maiores grupos de vertebrados. Nestas contribuições históricas foi enfatizada a influência dos padrões evolutivos da paleohistologia, histologia óssea comparativa e biologia óssea. A análise comparativa entre animais recentes e fósseis, desde peixes a mamíferos, mostrou a grande variabilidade apresentada pelo tecido ósseo (histovariabilidade). No entanto, em suas conclusões, Enlow e Brown mostraram-se um tanto frustrados com os resultados obtidos com esta abordagem comparativa. Segundo estes pesquisadores, não foi possível reconhecer nenhuma correlação entre o tamanho corporal e o padrão de tecido ósseo, dentre outras questões.

Enlow e Brown (1956, 1957, 1958) em suas análises revelaram no córtex de uma costela de *Pteranodon* uma trama de padrão reticular, formada por canais vasculares, semelhante aquele descrito para muitas aves, indicando tratar-se de osso primário. Estes autores introduziram, ainda, uma classificação de tecidos ósseos com base na presença ou ausência de canais vasculares, sua orientação e outras características histológicas.

Em 1963, Enlow publicou seu mais famoso livro “Principles of Bone Remodeling”, no qual há uma mudança de uma abordagem extensivamente comparativa para uma análise intensiva em modelos ósseos, selecionando apenas poucas espécies. Enlow defendia que, para decifrar o significado biológico da diversidade e complexidade do tecido ósseo, é necessário reduzir os possíveis fatores casuais da diversificação, selecionando alguns modelos bem definidos e, a partir disso, estudá-los intensivamente. Esta nova abordagem nos estudos com histologia óssea mostrou a influência da ontogenia na histovariabilidade. O autor relacionou, ao invés de estrutura e função, uma explicação mais completa de remodelação e crescimento de uma maneira funcionalmente significativa.

No início da década de 1970 de Ricqlès publicou vários estudos paleohistológicos sobre uma grande variedade de tetrápodes extintos, incluindo terápsidos não-mamalianos e dinossauros não-avianos. Como resultado foram publicados numa série de 12 artigos, entre 1968 até 1981, sob o título geral *Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes* (RICQLÈS, 1968; 1969; 1972; 1974a; 1974b; 1975; 1976; 1977a; 1977b; 1978a; 1978b; 1981). Estes trabalhos foram inovadores, pois analisaram a geração do tecido ósseo e a forma como

este crescia dentro do esqueleto apendicular, explicando como um único osso pode expressar diferentes subtipos de tecidos em diferentes regiões.

Em seus trabalhos, de Ricqlès relacionou a taxa de deposição óssea com a fisiologia. Desde o início dos seus trabalhos, buscou-se a conexão entre o tecido ósseo e o metabolismo dos animais estudados. Ricqlès (1974c; 1976; 1980), analisando a distribuição do tecido ósseo em diferentes grupos de tetrápodes, reportou que o tecido ósseo compacto dos dinossauros compunha-se por tecido fibrolamellar com remodelação Harvesiana, diferindo do tecido lamelar zonal típico dos répteis e sendo mais similar com o tecido encontrado em mamíferos e aves, que apresentam alta taxa de crescimento e rápida deposição óssea. Este fato foi posteriormente contestada por Reid (1981).

Um trabalho sobre a ontogenia do pterossauro *Pteranodon*, no qual foram examinadas secções transversais de ossos da asa de diferentes indivíduos e de diferentes estágios ontogenéticos, foi publicado por Bennett (1993). Foram utilizados vários critérios como a distribuição dos canais vasculares, as estruturas das superfícies epifisárias e a histologia óssea para apoiar a ideia de que o crescimento de *Pteranodon* se dava de forma rápida. Além disso, foi verificada a similaridade nessa estratégia com a de aves e mamíferos, devido à ocorrência de tecido fibrolamellar nas diáfises de indivíduos imaturos. Bennett (1995; 1996) também estudou a distribuição dos tamanhos de pterossauros dos calcários de Solnhofen, na Alemanha, incluindo os gêneros *Rhamphorhynchus* e *Pterodactylus*. Ele concluiu que a maioria dos espécimes eram jovens, não havendo, portanto, muitas espécies distintas dentro de cada gênero. Seguindo essa mesma linha de raciocínio, Padian et al. (1995) analisaram a histologia dos ossos de um pequeno pterossauro, *Montanazhdarcho minor*, revelando que, embora fosse relativamente pequeno para essa linhagem, apresentava estruturas condizentes a um estágio adulto.

A técnica paleohistológica desdobrou-se nos anos subsequentes como uma importante ferramenta em diversos estudos e deixando de ser o propósito principal. Chiappe e Chinsamy (1996), utilizaram a análise histológica para concluir que os dentes de *Pterodaustro* seriam dentes verdadeiros, e não estruturas semelhantes às encontradas em baleias. Já Unwin et al. (1996) concluíram que o osso pteróide não apresentava características de tendões ossificados, conforme proposto anteriormente, mas sim de um osso verdadeiro.

Um trabalho completo, contendo a descrição detalhada das estruturas ósseas em pterossauros, foi elaborado por de Ricqlès et al. (2000). Neste foram analisados os aspectos ontogenéticos de pterossauros, sugerindo que os mesmos cresceriam rapidamente até que um determinado tamanho adulto fosse atingido e, após o crescimento, cessaria repentinamente. Os

autores também discutiram as propriedades biomecânicas de alguns aspectos da histologia óssea e microestrutura dos pterossauros, propondo a presença de uma estrutura única presente em seus ossos, que denominaram de “plywood-like”.

Na primeira análise histológica de um pterossauro do Triássico, Jenkins et al. (2001) examinaram a histologia de um fêmur de um pequeno espécime de *Eudimorphodon*, da Groenlândia, para determinar o seu estágio ontogenético. Eles encontraram um estágio juvenil devido à ausência das características esperadas para classificá-lo como um animal muito jovem ou adulto. No entanto, a alteração diagenética dificultou a análise histológica e o estudo não se utilizou de figuras que acompanhassem a descrição. Foram encontradas na matriz do tecido fibras paralelas com canais vasculares primários orientados longitudinalmente e a epífise continha trabéculas e cartilagem calcificada.

Sayão (2003) realizou o primeiro estudo histológico detalhado em pterossauros do Grupo Santana, no qual relatou a utilização de técnicas histológicas para comparar a microestrutura óssea de um Anhangueridae da Formação Romualdo com um Tapejaridae da Formação Crato. O trabalho trouxe como resultado a inferência de diferentes taxas de crescimento em dois ossos distintos do mesmo indivíduo, indicando haver uma histovariabilidade nos ossos de um mesmo indivíduo e remetendo à um crescimento alométrico nas asas desses animais. Essa variação não foi observada no espécime da Formação Crato, que apresentou evidências de crescimento rápido (SAYÃO, 2003).

A comparação entre pterossauros de pequeno porte foi feita por Padian et al. (2004) que, para tal, utilizaram-se da histologia dos ossos de *Eudimorphodon*, *Dimorphodon* e *Rhamphorhynchus*. Os tecidos destes três pterossauros sugeriram um crescimento bastante rápido durante o início da ontogenia, sendo este retardado quando a idade adulta era atingida. Esses autores compararam os tecidos fibrolamelar em pequenos pterossauros, dinossauros, crocodilos e aves fósseis com os de aves e crocodilos atuais para que as taxas de crescimento fossem determinadas e sobrepostas em um cladograma.

Steel (2008) fez um apanhado histórico acerca dos estudos realizados com a histologia óssea em pterossauros, utilizando-se para isto de ossos inteiros de pterossauros e fragmentos pertencentes a coleções de museus e universidades. Neste trabalho, Steel (2008) pode perceber que os ossos são estrutural e histologicamente semelhantes aos de aves, por apresentarem paredes finas e predominantemente fibrolamelares, mas exibem recursos especializados ainda não descritos em aves, como a estruturação “plywood-like” (STEEL, 2008). Ossos de pterossauros parecem não ter qualquer tipo de correlação reprodutiva, o que se comprova com

a descrição de um embrião de pterossauro em uma casca de ovo fina (WANG; ZHOU, 2003; WANG et al., 2015).

Ossos de *Pterodaustro*, um dos poucos táxons de pterossauros que apresentam sequências ontogenéticas conhecidas, foram utilizados para obter informações sobre as mudanças ontogenéticas dos elementos esqueléticos de vários indivíduos por Chinsamy et al. (2008). Para tal, vários ossos longos, como fêmur, úmero, tíbia, ulna e radio, foram analisados. Os autores observaram que, após a eclosão, os juvenis cresceram rapidamente durante cerca de 2 anos, até que chegassem a aproximadamente 53% do seu tamanho e, logo após essa pausa, atingiam sua maturidade sexual. Depois disso, o crescimento continuou durante, pelo menos, 3 ou 4 anos, com taxas relativamente mais lentas, até que os tamanhos corporais adultos fossem atingidos, concluindo-se que *Pterodaustro* apresentava uma estratégia de crescimento determinada. Ainda, utilizando ossos de *Pterodaustro*, numa continuação do trabalho anterior, Chinsamy et al. (2009), verificaram as alterações na microestrutura do osso. Foi possível inferir, com este estudo, a dinâmica de crescimento desde o início da ontogenia até a idade adulta desse táxon, além de fornecer informações relativas à variabilidade histológica dos ossos dos indivíduos analisados. Este trabalho documenta também a presença do que parece ser o tecido do osso medular dentro da cavidade medular em um grande fêmur de *Pterodaustro* (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009). Isto sugere que, assim como os pássaros, pterossauros fêmeas poderiam ter depositado um tecido ósseo especial para lidar com a demanda de cálcio no período reprodutivo.

Foram amostrados ossos de cinco espécimes de *Rhamphorhynchus* para o estudo elaborado por Prondvai et al. (2012) sobre a diversidade nas estratégias de crescimento. A fase de crescimento rápido no início da ontogenia suporta a natureza não-volante de seus filhotes, e refuta a hipótese dos filhotes precoces, amplamente aceita. Sugeriu-se o surgimento do voo motorizado e não da reprodução como a causa da transição da fase de crescimento rápido a uma fase de crescimento mais lento prolongado. A primeira fase seria indicada pela presença dominante do osso fibrolamelar nos juvenis, enquanto a segunda pela deposição óssea paralela de fibras compridas e linhas de pausa de crescimento no córtex. Esta transição também foi observada em *Pterodaustro*.

O maior réptil voador do Gondwana, o pterossauro *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus*, e outros pterossauros de grande porte da Formação Romualdo, foram analisados por Kellner et al. (2013). Neste estudo foi observado que os pterossauros grandes ou gigantescos, com envergadura maior do que 7,4 m, teriam evoluído já em meados do Cretáceo e formado uma parcela significativa da fauna de pterossauros da Formação Romualdo. Este trabalho fornece

também as primeiras informações sobre o esqueleto pós-cranial de *Tropeognathus*, indicando que houve pouca variação morfológica dentro dos Anhangueridae.

No ano seguinte, Prondvai e Stein (2014) analisaram dezenas de lâminas delgadas de sínfises mandibulares do pterossauro *Bakonydraco galaczi*, um pterossauro Azhdarchidae do Cretáceo Superior (Santoniano) da Hungria. Os autores reavaliaram a presença do tecido ósseo medular (*medullary bone*) em pterossauros e revelaram que as múltiplas sínfises mandibulares de *Bakonydraco* possuíam um tecido ósseo especial que mostrava todas as características microanatômicas, histológicas e de desenvolvimento do osso medular, apesar de sua localização incomum. Os autores concluíram que a presença deste tecido na amostra torna improvável uma origem patológica e sugerem que o tecido medular semelhante a osso provavelmente teve um papel não-reprodutivo nos pterossauros.

Wang et al. (2015) reanalisaram o fóssil de *Kupengopterus* sp., um pterossauro não pterodactilóide da China, anteriormente descrito com a preservação de um ovo eclodido. Neste trabalho, os autores revelaram a presença de um segundo ovo dentro da cavidade do corpo da fêmea grávida, demonstrando claramente que os pterossauros tinham dois ovidutos. Uma seção histológica no fêmur no espécime fêmea de *Kupengopterus* sp. não apresentou a preservação de osso medular, o que levou aos autores a sugerirem que este pterossauro atingiu a maturidade reprodutiva antes da maturação esquelética.

Eleutério et al. (2015) fizeram a descrição osteohistológica e morfológica de dois espécimes compostos por ossos de membros anteriores, associados ao clado Anhangueria. Os autores encontraram o tecido “plywood-like” em um rádio de um dos espécimes analisados e traçaram fatores biomecânicos que provavelmente influenciaram a deposição deste tipo de tecido ósseo.

Na descrição de um novo espécime de pterossauro, Martin-Silverstone et al. (2016) analisaram um úmero, vértebras dorsais (incluindo três vértebras notariais fundidas) e outros fragmentos ósseos, associados a um Azhdarchoidea do Cretáceo Superior da Columbia Britânica. O novo material apresentava um úmero e as vértebras de pequenas proporções, indicando uma envergadura de cerca de 1,5 m. Os autores realizaram cortes histológicos no úmero e avaliaram o grau de fusão dos ossos, sugerindo que o indivíduo estava se aproximando da maturidade no momento da morte. Os autores concluíram que pterossauros de pequeno porte são extremamente raros nos estratos do Cretáceo Superior.

Bennett e Penkalski (2017), analisaram quatro espécimes do pterossauro *Pteranodon*, que exibiam padrões de alternância irregular com faixas claras e escuras nas superfícies laterais da pré-maxila, anterior à fenestra nasoantorbital. Os autores realizaram cortes histológicos

nestas faixas e perceberam que pré-maxila de *Pteranodon* é constituída de duas folhas finas de ossos interconectados por septos regularmente espaçados, com os espaços pneumatizados, associando esta configuração a uma estrutura análoga moderna, os favos de mel. Os autores concluíram que os espécimes que exibiam as bandas eram machos imaturos, portanto, a presença das bandas em machos imaturos é interpretada como um alargamento e remodelação do rosto à medida que os machos atingiam a maturidade sexual.

Tipos de tecido ósseo identificados em pterossauros

Tecido ósseo primário - fibrolamelar

O osso fibrolamelar apresenta um alto grau de histovariabilidade em qualquer porção (ou secção histológica), produzido por um conjunto de processos de modelagem espacial ou temporal disjuntos, mas coordenados (CURREY 1987, 2002; HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013). Na maioria dos casos é encontrado na superfície periosteal de juvenis e, por vezes, no endóstio como tecido “plywood-like” (HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013).

Em pterossauros consiste em um tecido fibroso, altamente poroso, na maioria das vezes depositado rapidamente e exibindo uma rede vascular reticular ou plexiforme (Fig 2, A). Seus espaços vasculares são abertos posteriormente para serem preenchidos por osso lamelar denso, caracterizado como fibrolamelar, com a finalidade de reforçar o esqueleto (HUTTENLOCKER; WOODWARD; HALL, 2013). O tecido ósseo fibrolamelar em pterossauros pode também ser denominado “osso periosteal primário juvenil” (DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008). Quando este tecido está presente nos ossos, o córtex é inteiramente composto por tecido ósseo fibrolamelar, com numerosos canais vasculares dispostos num padrão reticular a laminar (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Na maioria dos casos, os canais subjacentes ao perióstio abrem-se em direção à superfície periosteal (STEEL, 2008). Em ossos com tecido primário não há marcas de crescimento, tais como *annuli* ou LAG; além disso, o osso não apresenta qualquer tipo de tecido secundário endosteal. Uma das primeiras caracterizações de tecido fibrolamelar em pterossauros foi realizada por de Ricqlés et al. (2000) em ossos longos de *Pteranodon* e *Quetzalcoatlus*.

Tecido ósseo primário - Plywood-like

O tecido “plywood-like” pode ser descrito como um tecido que se encaixa em um padrão biológico com camadas “plywood” (MEUNIER; CASTANET, 1982; DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008). Cada camada é relativamente grossa e formada por fibras homogêneas, densas, de fibras ósseas paralelas (DE RICQLÉS et al., 2000). As células são orientadas de acordo com a orientação das fibras em cada camada, com canais vasculares primários de pequeno diâmetro atravessando cada camada (ENLOW, 1966). De uma camada para outra a orientação das fibras ósseas muda, assim como a orientação das células ósseas (DE RICQLÉS et al., 2000) (Fig. 2, B). Este tecido qualifica-se como “plywood ortogonal” conforme definido por Meunier e Castanet (1982).

De acordo com de Ricqlés et al. (2000), o tecido “plywood-like” é encontrado principalmente nos ossos menores de pterossauros de grande porte. O tecido “plywood-like” parece ser resultado da tensão e das forças de compressão de diferentes direções, resultando em um comprometimento biomecânico para determinado osso (STEEL, 2008). Elevados esforços de flexão e torção atuaram sobre os ossos das asas dos pterossauros (BIEWENER; DIAL, 1995; STEEL, 2008) e, no estudo de Steel (2008), o tecido “plywood-like” foi encontrado nos pterigóides de um ornitocheirideo de pequeno porte. Segundo Steel (2008) estes pterigóides poderiam ter sofrido impactos súbitos e dobra durante a alimentação, resultando na formação de tecido “plywood-like”. Exemplos deste tecido ósseo foram observados também em uma escápula de *Pteranodon*, em ossos de membros e uma vértebra de três azdarchídeos diferentes, e em ossos dos membros anteriores de *Montanazhdarcho* (PADIAN; RICQLES; HORNER, 1995; DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008).

Tecido ósseo secundário

O tecido ósseo secundário em pterossauros é definido como qualquer osso que seja depositado sobre uma superfície previamente reabsorvida (STEEL, 2008). Além de reparar ou remodelar o tecido primário, o tecido secundário está presente em ossos diferentes e de diferentes taxas de crescimento (DE RICQLÉS et al., 2000) (Fig. 2, C). Em pterossauros o osso secundário é visto na maior parte dos espécimes, particularmente em ossos pertencentes a

indivíduos adultos e sub-adultos. Na maturidade, uma lamela endosteal é depositada sobre a superfície endosteal após a reabsorção endosteal ter cessado (STEEL, 2008). A lamela endosteal é sempre avascular, orientada de modo circunferencial e contém lacunas de osteócitos alargadas. A presença de uma lamela endosteal, na maioria das vezes, é acompanhada pela formação de uma EFS, indicando que o crescimento do perióstio também cessou ou retardou a taxas insignificantes (STEEL, 2008; ANDRADE et al., 2015; ELEUTÉRIO et al., 2015). No tecido ósseo secundário o osso esponjoso às vezes se transforma em osso esponjoso compactado. O tecido ósseo secundário é encontrado por vezes em todo o esqueleto de um mesmo indivíduo (STEEL, 2008). Uma característica notável para identificação de um tecido secundário é a presença de marcas de crescimento, como zonas, *annuli* ou LAGs. As marcas de crescimento são uma característica comum na maioria dos ossos de vertebrados e geralmente representam uma diminuição na aposição óssea (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008).

Tecido Haversiano denso

A presença de tecido ósseo Haversiano denso em pterossauros é controversa. De acordo com Bowerbank (1848), Quekett (1855), Seitz (1907), Gross (1934), Enlow e Brown (1957), Wellnhofer (1970), de Ricqlès (1976), Bennett (1993) e Steel (2008), os ossos de pterossauros não possuem tecido Haversiano denso e, muito raramente, exibem ósteons secundários. De Ricqlès et al. (2000), ao analisarem ossos de azhdarchideos observaram, em alguns espécimes, um córtex retrabalhado, com a presença de um grupo de ósteons secundários típicos, com canais de Havers centrais quase obliterados por deposição secundária. Além desse registro, o tecido Haversiano denso foi observado em *Montanazhdarcho* (PADIAN; DE RICQLÈS; HORNER, 1995), sendo considerado relativamente semelhante ao dos azhdarchideos analisados por de Ricqlès. (2000). Além destes, Sayão (2003) relata a presença de ósteons secundários no metacarpo alar, primeira falange alar e em um fêmur de um ornitocheirideo (Fig. 2, C). Nas ocorrências descritas por de Ricqlès et al. (2000) e Sayão (2003), os ósteons secundários são orientados longitudinalmente dentro do osso; em ambos os estudos os ósteons secundários foram encontrados principalmente na região perióstica do tecido ósseo, e de Ricqlès et al. (2000) observaram ósteons secundários associados às bases das trabéculas, o mesmo observado posteriormente por Steel (2008), possibilitando a este último propor que possivelmente os ósteons secundários estavam presentes em todas as regiões do córtex periosteal profundo mas

que teria sido removidos principalmente pela reabsorção endosteal. Se este fosse o caso, as etapas ontogênicas mais jovens teriam tecido Haversiano no córtex (STEEL, 2008), mas isso não foi observado em qualquer estudo, e o tecido Haversiano denso em tetrápodes desenvolve-se geralmente na idade adulta (AMPRINO, 1967; STEEL, 2008).

Trabéculas

As trabéculas são particularmente importantes nos ossos, pois aumentam sua rigidez, força e dureza (ROGERS; LABARBERA, 1993). Em pterossauros as trabéculas geralmente contêm tecido periosteal em seu núcleo, que é contínuo com o tecido periosteal primário formando o córtex do osso (STEEL, 2008). As trabéculas são formadas de duas maneiras: a primeira durante o processo de expansão medular, na qual ocorre a remoção do tecido periosteal mais antigo (mais profundo) (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008); e a segunda na fase de construção, na qual o tecido endosteal é depositado na superfície das trabéculas (STEEL, 2008). Os ossos de pterossauros apresentam estruturas trabeculares (Fig. 2, E) que atravessam a cavidade medular de uma extremidade a outra, comprovando a propriedade de reforço nos ossos destes répteis alados (STEEL, 2008). A primeira descrição de uma trabécula em osso de pterossauro foi apresentada por Currie e Russell (1982).

Epífises

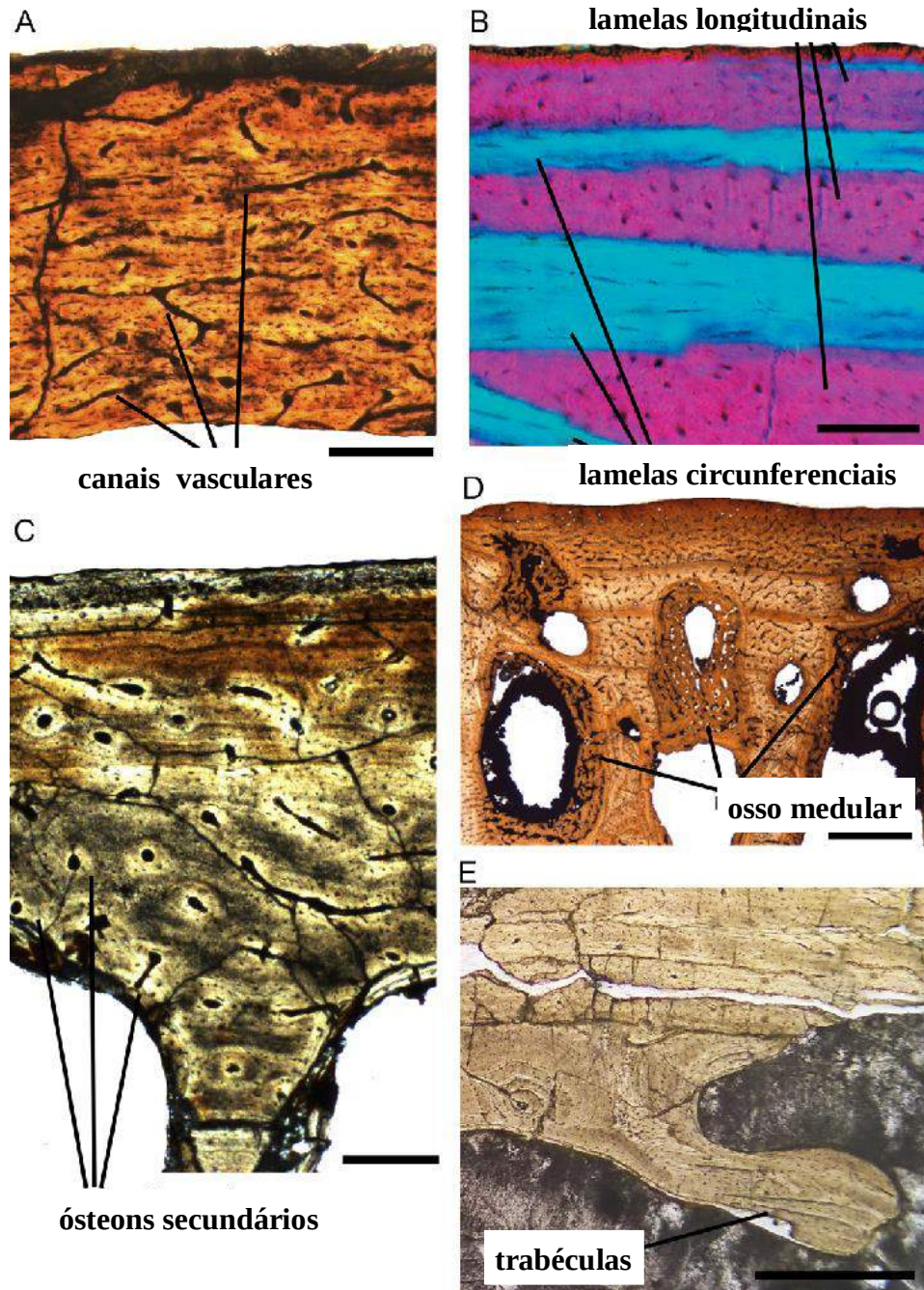
O termo "epífise", no seu sentido anatômico estrito, refere-se a uma ossificação secundária separada da diáfise por região cartilaginosa, onde o crescimento ósseo pode ocorrer até fusão das diáfises com as epífises (HAINES, 1942; 1969; STEEL, 2008). As epífises dos pterossauros são constituídas de uma fina camada de osso subcondral, suportado por trabéculas orientadas longitudinalmente (DE RICQLÉS et al., 2000; STEEL, 2008), cobertas por cartilagem calcificada que contém lacunas globulares de condrócitos e canais transfiseais (STEEL, 2008). Seções delgadas de epífises foram confeccionadas em falanges de *Pteranodon* e *Montanazdarcho* (DE RICQLÉS et al., 2000), em ossos de uma asa de pterossauro proveniente do Cambridge Greensand e em falanges alares de pterossauros da Formação Romualdo (STEEL, 2008).

Osso medular

O osso medular é um tipo de tecido ósseo não estrutural que, em condições naturais, desenvolve-se nas cavidades medulares hematopoiéticas de ossos de aves fêmeas, induzidas por hormônios durante o ciclo de postura (SCHRAER; HUNTER, 1985; DACKÉ et al., 1993; PRONDVAI; STEIN, 2014). O osso medular não possui função mecânica (PRONDVAI; STEIN, 2014) e serve como um armazenamento de cálcio que pode ser rapidamente mobilizado durante a calcificação dos ovos de casca dura de aves (HURWITZ, 1965; BONUCCI; GHERARDI, 1975). Mediante análise em seção delgada observou-se no osso medular a presença de grandes áreas superficiais devido à sua natureza altamente porosa e vascularizada (Fig. 2, D); suas trabéculas são compostas de *woven bone* e o nível de atividade dos osteoclastos é consideravelmente mais elevado na medula do osso cortical (CANDLISH; HOLT, 197; PRONDVAI; STEIN, 2014).

Este tipo de tecido ósseo foi descrito pela primeira vez em pombos e, mais tarde, em algumas outras espécies de aves existentes, como codornas japonesas, patos e avestruzes (PRONDVAI; STEIN, 2014). Em vertebrados fósseis o primeiro registro de osso medular foi observado em diferentes dinossauros não-avianos, especificamente em ossos dos membros posteriores de *Tyrannosaurus rex* (SCHWEITZER; WITTMAYER; HORNER, 2005), contribuindo como mais uma evidência para relação filogenética entre aves e dinossauros terópodes (SCHWEITZER; WITTMAYER; HORNER, 2005). Em pterossauros existem apenas dois registros de osso medular: o primeiro em um fêmur de *Pterodaustro* (CHINSAMY; CODORNIÚ; CHIAPPE, 2009), e o segundo em diversas sínfises mandibulares de *Bakonydraco* descritas por Prondvai e Stein (2014).

Figura 34 - A – Tecido ósseo primário (fibrolamelar), em uma seção delgada de uma primeira falange do dígito alar de um Anhangueridae (espécime MPSC R 2090) escala 200 μm ; B – Tecido “plywood-like” em um pterigoide de um Ornitocheiridae (modificado de Steel, 2008) escala 300 μm ; C – Tecido ósseo secundário em uma seção delgada de um fêmur de um Anhangueridae (spécime MN 4809-V) escala 200 μm ; D – Tecido ósseo medular (medullary bone) em uma mandíbula de *Bakonydraco* (modificado de Prondvai e Stein, 2014) escala 800 μm ; E – Seção delgada da primeira falange alar de um Anhangueridae (espécime MPSC R 1395), com a ocorrência de uma trabécula em formação inicial, escala 400 μm .



Fonte: A-C-E: autor; B e D: Steel (2008).

O que realmente podemos afirmar

Taxas de crescimento e Linhas de crescimento

A ontogenia de pterossauros é um tema ainda muito discutido dentro do estudo de arcossauros fósseis (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008). Apesar disso, existem algumas características que vem sendo amplamente empregadas na determinação dos diferentes estágios ontogenéticos. Atualmente aceita-se que a fusão de determinados ossos, como carpais, o processo extensor da 1ª falange alar e alguns ossos cranianos indicam estágios ontogenéticos mais avançados nestes animais (BENNETT, 1993; FREY; MARTILL, 1998; KELLNER; TOMIDA, 2000; SAYÃO, 2003).

Um dos trabalhos pioneiros no quesito “taxas de crescimento” baseado no tamanho de pterossauros foi o de Bennett (1993), que discutiu a ontogenia de *Pteranodon* e observou que o tamanho por si só não era um indicador confiável de maturidade, uma vez que 14,5% dos animais analisados eram 70% tão grandes quanto os maiores indivíduos. Este mesmo trabalho reavaliou as conclusões de Wellnhofer (1970) e Mateer (1976) sobre *Pterodactylus*, e de Wellnhofer (1975) sobre *Rhamphorhynchus*, tendo concluído que o tamanho-dependente, utilizado como critério taxonômico para separar esses gêneros em espécies, era inviável e devia basear-se na maturidade óssea histológica. O autor inferiu que as taxas de crescimento dos pterossauros eram tipicamente crocodilianas, podendo ter sido rápidas em grandes pterodactilóides. De Ricqlés et al. (2000) analisaram vários ossos de diversos táxons de pterossauros e também reforçaram a ideia de Bennett quanto ao crescimento rápido em grandes pterossauros, uma vez que as estruturas que predominavam nos ossos longos de pterossauro eram proporcionais às observadas nos ossos de rápido crescimento de aves e mamíferos existentes. A partir destes trabalhos foi possível correlacionar de uma melhor forma as características morfológicas associadas à osteohistologia.

Assim como existem características morfológicas para a caracterização ontogenética, existem estruturas osteológicas que indicam o estágio ontogenético dos indivíduos. A lamela circunferencial externa (EFS) consiste em uma forma de depósito microestrutural do osso que, por vezes, apresenta-se preservada na porção mais externa do córtex, especialmente de ossos longos (WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011). Esta estrutura é pouco vascularizada e composta de tecido paralelo fibroso ou tecido lamelar, depositado lentamente e produzindo uma suave "superfície de acabamento ósseo" (e.g, CORMACK, 1987; STARCK; CHINSAMY, 2002; PONTON et al., 2004). A EFS pode ser encontrada em ossos longos de animais quando

atingem a sua maturidade esquelética (ANDRADE et al., 2015). Quando esta camada está presente nos ossos há uma cessação de crescimento na circunferência periosteal dos ossos indicando maturidade esquelética, embora os ossos ainda possam tornar-se mais robustos (LEE; O'CONNOR, 2013; WOODWARD; HORNER; FARLOW, 2011; ANDRADE; SAYÃO, 2014). A EFS já foi relatada em muitos grupos de répteis, mas a ideia de que estes animais poderiam crescer continuamente ao longo das suas vidas ainda é permanente. Esta microestrutura também tem sido relatada em mamíferos (CORMACK, 1987), aves (PONTON et al., 2004) e dinossauros não avianos (ERICKSON et al., 2004; PADIAN et al., 2004), além de pterossauros (SAYÃO, 2003; STEEL, 2008; KELLNER et al., 2013).

A presença de marcas de crescimento cíclicas é contínua é, em parte, causada por processos fisiológicos endógenos (ELEUTÉRIO et al., 2015). Estes ciclos são sincronizados e amplificados por variações ambientais sazonais, tais como temperatura, luz, umidade, disponibilidade de alimentos, etc. (CASTANET; MEUNIER; DE RICQLÈS, 1977; DE BUFFRÉNIL, 1980; ELEUTÉRIO et al., 2015). Estes fatores são indicadores da periodicidade dos ciclos de crescimento circanuais (CASTANET et al., 1977; DE BUFFRÉNIL, 1980; HUTTON, 1986). Embora as LAGs sejam comuns em vertebrados, estas marcas são raramente encontradas em pterossauros (ELEUTÉRIO et al., 2015).

Quando jovens, os pterossauros assemelham-se histologicamente às aves pela presença de tecido ósseo primário com canais plexiformes e, conforme avançam na ontogenia, tendem a desacelerar o crescimento, diferentemente do que é observado nas aves (SAYÃO, 2003). Ao se analisar uma sequência ontogenética do pterossauro *Pterodaustro guinazui*, Chinsamy et al. (2009) propuseram duas fases de crescimento após o estágio de recém-nascido: a primeira é caracterizada pela fase inicial de ciclos de crescimento rápido e composto de tecido ósseo fibro-lamelar zonal, com annuli, sendo substituído posteriormente por uma fase de crescimento mais lento, com ciclos de tecido ósseo paralelo fibroso a lamelar, interrompidos por LAGs.

Histovariabilidade

Assim como observado por Sayão (2003) e Prondvai et al. (2012), alguns espécimes de pterossauros apresentam uma histovariabilidade nos ossos, o que pode corroborar a hipótese de que os pterossauros apresentariam diferentes taxas de crescimento para cada osso. A histovariabilidade dentro de um mesmo indivíduo não é tão comum dentro do grupo dos arcossauros, sendo observada em apenas alguns grupos de dinossauros (HORNER; DE RICQLÈS; PADIAN, 1999; SANDER, 2000; WERNING, 2012). Recentemente, Eleutério et

al. (2015), ao analisarem membros anteriores de dois pterossauros anhanguerídeos em busca de influências biomecânicas na osteohistologia, também registraram a ocorrência de histovariabilidade nos espécimes analisados. Desse modo, além dos motivos conhecidos para a histovariabilidade, foi adicionado o fator biomecânico, no qual o rádio de um dos espécimes analisados por Eleutério et al. (2015) apresentou-se altamente modificado devido à torção exercida pelo osso durante o voo batido, sendo o córtex do rádio deste indivíduo composto apenas por um tecido ósseo avascular, com lacunas de osteócitos organizados lateralmente.

Tecido “plywood like”

Alguns ossos de pterossauros contêm um tipo incomum de tecido ósseo periosteal primário, denominado "plywood-like" (DE RICQLÈS et al., 2000), no qual as fibras colágenas do osso e as lacunas de osteócitos apresentam uma orientação preferencial em cada lamela, e esta orientação varia de uma lamela para outra (STEEL, 2008). Este tipo de organização estrutural foi observado em escamas de celacanto (GIRAUD et al., 1978), em ósteons secundários femorais humanos (GIRAUD-GUILLE, 1988) e no córtex primário de um rato (WEINER; ARAD; TRAUB, 1991). No entanto, existem diferenças entre esses exemplos (STEEL, 2008). Em ossos de pterossauros este tecido é ortogonal, no qual as lamelas são orientadas no mesmo plano mas inclinam cerca de 90° de uma lamela para outra (STEEL, 2008), além disso, o tecido “plywood-like” em pterossauros é comumente avascular ou com um baixo grau de vascularização. De acordo com Steel (2008) e de Ricqlès et al. (2000), o tecido “plywood-like” é geralmente encontrado em ossos pequenos de pterossauros de grande porte.

Conclusão

Conforme relatado em vários estudos anteriores, os tecidos ósseos dos pterossauros são estrutural e histologicamente mais relacionados aos das aves do que aos de crocodilos e lagartos, sendo constituído de paredes ósseas finas e com a presença de tecido fibrolamelar. Esta relação é tida aqui como possivelmente relacionada ao modo de vida destes dois grupos e a fatores biomecânicos, que produzem a deposição do tipo de tecido e de estruturas histológicas bem similares entre estes dois grupos. Desde os primeiros trabalhos sobre paleohistologia de pterossauros, muitos espécimes puderam ser analisados, passando de análises apenas em ossos isolados, a seções delgadas em vários ossos de um mesmo indivíduo, o que levou ao melhor

entendimento da paleobiologia destes animais nas últimas décadas. Alguns tipos de tecido ósseo ainda permanecem pouco compreendidos, por exemplo o tecido “plywood-like”, que ainda carece de novas análises e interpretações, pois sua distribuição mostra-se desigual dentro da filogenia de Pterosauria. Diferente do tecido “plywood-like”, o tecido ósseo medular pode ser cada vez mais entendido em pterossauros, o que antes se achava relacionado à reprodução em pterossauros, hoje já pode ser desconsiderado. Fica claro aqui que a presença de osso haversiano é de fato coerente em pterossauros, tendo sido demonstrado em diversos trabalhos nos últimos anos. Devido aos ossos de pterossauros serem bastante delgados, a reabsorção óssea foi constante, o que diminuiu a chance de preservação de estruturas secundárias, como ósteons secundários e linhas de crescimento; o que limitou diversas inferências no passado, está claro atualmente com os novos estudos. Os pterossauros jovens teriam crescido rapidamente, mas as taxas de crescimento teriam diminuído na fase de sub-adulto; após a deposição de uma lamela endosteal e de uma lamela periosteal (EFS), um indivíduo poderia ser considerado um adulto. Ainda, podemos afirmar que a histovariabilidade é um fato presente em pterossauros.

Referências

- AMPRINO, R. La structure du tissue osseux envisage comme expression de differences dans la vitesse de l'accroissement. **Archives de Biologie**, v. 58, p. 315 – 330. 1947.
- ANDRADE, R. C. L. P.; SAYÃO, J. M. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). **Plos One**, v. 7, p.102-189. 2014.
- ANDRADE, R. C. L. P; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; CAMPOS, L. S.; ELEUTÉRIO, L. H. S.; SAYÃO, J. M. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 14, n. 1, p. 200-211. 2015.
- BENNETT, S. C. Taxonomy and systematics of the Late Cretaceous pterosaur Pteranodon (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Occasional Papers of the Natural History Museum, The University of Kansas Lawrence, Kansas**, v. 169, p. 1-70. 1993.
- BENNETT, S. C., The phylogenetic position of the Pterosauria within the Archosauromorpha, **Zoological Journal of the Linnaean Society**, v. 118, p. 261-308. 1995.
- BENNETT, S. C. Year-classes of pterosaurs from the Solnhofen Limestones of Germany: taxonomic and systematic implications. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 16, n. 3, p. 432-444. 1996.
- BENNETT, S. C.; PENKALSKI, P. Waves of bone deposition on the rostrum of the pterosaur *Pteranodon*. **Geological Society London, Special Publications**, p. 455, 2017.
- BENTON, M.J. Classification and phylogeny of the diapsid reptiles, **Zoological Journal of the Linnaean Society**, v. 84, p. 97-164. 1985.

BIEWENER, A. A.; DIAL, K. P. In vivo strain in the humerus of pigeons (*Columba livia*) during flight. **Journal of Morphology**, v. 225, p. 61–75. 1995.

BONAPARTE, J. F.; SCHULTZ, C. L.; SOARES, M. B. Pterosauria from the Late Triassic of southern Brazil. **Lecture Notes in Earth Sciences**, v.132, p. 63-71. 2010.

BONUCCI, E.; GHERARDI, G. Histochemical and electron microscope investigations on medullary bone. **Cell Tissue Research**, v.163, p. 81–97. 1975.

BOWERBANK, J. S. Microscopical observations on the structure of the bones of *Pterodactylus giganteus* and other fossil animals. **Quarterly Journal of the Geological Society**, v. 4, p. 2-10. 1848.

CANDLISH, J. K.; HOLT, F. J. The proteoglycans of fowl cortical and medullary bone. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 40, p. 283–290. 1971.

CASTANET, J. La squelettechronologie chez les Reptiles I – Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques chez les Lézards et les Tortues (1). **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie**, v. 7, p. 23–40. 1985.

CASTANET, J. La squelettechronologie chez les Reptiles I – Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques chez les Lézards et les Tortues (1). **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie**, v. 13, n. 7, p. 23–40. 1985.

CASTANET, J. F. J.; MEUNIER, A.; DE RICQLÈS, K. L'enregistrement de la croissance cyclique par les tissue osseux chez les vertébrés poikilothermes: données comparative et essai de synthèse. **Bulletin biologique de la France et de la Belgique**, v. 3, p. 183-202. 1977.

CHIAPPE, L. M.; CHINSAMY, A. *Pterodaustro* true teeth. **Nature**, v. 379, p. 211-212. 1996.

CHINSAMY, A. Ontogenetic changes in the bone histology of the Late Jurassic ornithomimid *Dryosaurus lettowvorbecki*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 15, p. 96–104. 1995.

CHINSAMY, A. Assessing the biology of fossil vertebrates through bone histology. **Palaeontologia Africana**, v. 33, p. 29–35. 1997.

CHINSAMY, A. **The microstructure of dinosaur bone**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 2005. 195 p.

CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. M. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. **The Anatomical Record**, v. 292, p. 1462-77. 2009.

CORMACK, D. H. **Ham's Histology**. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1987.

CURREY, J. D. Differences in the tensile strength of bone of different histological types. **Quarterly Journal of the Microscopical Society**, v. 103, p. 111–133. 1959.

CURREY, J. D. **Mechanical Adaptations of Bones**; Princeton, Princeton University Press, 1984. 294 pp.

CURREY, J. D. The evolution of the mechanical properties of amniote bone. **Journal of Biomechanics**, v. 20, p. 1035–1044. 1987.

CURREY, J. D. **Bones: structure and mechanics**. Princeton, Princeton University Press, 2002. 436 p.

CURRIE, P. J.; RUSSELL, D. A. A giant pterosaur (Reptilia: Archosauria) from the Judith River (Oldman) Formation of Alberta. **Canadian Journal of Earth Sciences**, v. 19, p. 894–897. 1982.

CUVIER, G. “Extrait d’un ouvrage sur les espèces de quadrupèdes. Dont on a trouvé les ossements dans l’intérieur de la terre, adressé aux savants et aux amateurs des sciences, par. G. Cuvier, membre de l’Institut, professeur au Collège de France et à l’École Centrale Du Panthéon, etc.”. **Journal de physique, de chimie, d’histoire naturelle et des arts**, v.2, p. 253–267. 1801.

DACKE, C. G.; ARKLE, S.; COOK, D. J.; WORMSTONE, I. M.; JONES, S.; ZAIDI, M.; BASCAL, Z. A. Medullary bone and avian calcium regulation. **Journal of Experimental Biology**, v. 184, p. 63–88. 1993.

DE BUFFRÉNIL, V. Mise en évidence de l’incidence des conditions de milieu sur la croissance de *Crocodylus siamensis* (Schneider, 1801) et valeurs des marques de croissance squelettiques pour l’évaluation de l’âge individuel. **Archives de Zoologie Expérimentale et Général**, v. 121, p. 63–76. 1980.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes I. Origine du tissu osseux plexiforme des dinosauriens sauropodes. **Annales de Paléontologie**. v. 54, p. 133–145. 1968.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes II. Quelques observations sur la structure des os longs des thériodontes. **Annales de Paléontologie**. v. 55, p. 3–52. 1969.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes III. Titanosuchiens dinocéphales et dicynodontes. **Annales de Paléontologie**. v. 58, p. 17–60. 1972.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes IV. Eothériodontes et pélycosaures. **Annales de Paléontologie**. v. 60, p. 1–39. 1974a.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes V. Cotylosaures et mésoasaures. **Annales de Paléontologie**. v. 60, p. 171–216. 1974b.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Première partie, structures. **Annales de Paléontologie**. v. 61, p. 51–129. 1975.

DE RICQLÈS, A. J. On bone histology of fossil and living reptiles, with comments on its functional and evolutionary significance. In: BELLAIRS, A. D’A.; COX, C. B. (Eds.). **Morphology and Biology of Reptiles**. 1976, Academic Press: London, p. 123–150.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, suite. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 33–56. 1977a.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, fin. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 133-160. 1977b.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 85-111. 1978a.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution, fin. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 153-184. 1978b.

DE RICQLÈS, A. J. Tissue Structures of Dinosaur Bone—Functional Significance and Possible Relation to Dinosaur Physiology. In: THOMAS, R.D.K., OLSON, E.C. (Eds.). **A Cold Look at the Warm-Blooded dinosaurs**. 1980. New York, p. 103-139.

DE RICQLÈS, A. J.; FRANCILLON-VIEILLLOT, H. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauris): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**. v. 129, p. 349-385. 2000.

ELEUTÉRIO, L. H. S.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; ANDRADE, R. C. L. P.; SARAIVA, A. A. F.; KELLNER, A. W. A.; SAYÃO, J. M. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 18, n. 3, p. 403-412 2015.

ENLOW, D. H. **Principles of Bone Remodeling**, Springfield (Charles C. Thomas), 1963. 123 pp.

ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part I. **Texas Journal of Science**, v. 8, p. 403 – 443. 1956.

ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part II. **Texas Journal of Science**, v. 9, p. 185-214. 1957.

ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part III. **Texas Journal of Science**, v. 10, p. 187-230. 1958.

ERICKSON, G. M.; TUMANOVA, T. A. Growth curve of *Psittacosaurus mongoliensis* Osborn (Ceratopsia: Psittacosauridae) inferred from long bone histology. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, p. 551-566. 2000.

ERICKSON, G. M.; MAKOVICKY, P. J.; CURRIE, P. J.; NORELL, M. A.; YERBY, S. A.; BROCHU, C. A. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid dinosaurs. **Nature**, v. 430, p. 772-775. 2004.

FREY, E.; MARTILL, D.M. Late ontogenetic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil, **Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen**, v. 10, p. 587-594. 1998.

GIRAUD, M. M.; CASTANET, J.; MEUNIER, F. J.; BOULIGAND, Y. The fibrous structure of coelacanth scales: a twisted 'plywood'. **Tissue and Cell**, v. 10, p. 671-686. 1978.

GIRAUD-GUILLE, M.M. Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. **Calcified Tissue International**, v. 42, p. 167-180. 1988.

GROSS, W. Die typen des mikroskopien knochenbaues bei fossilen Stegocephalen und Reptilien. **Zeitschrift fur Anatomie**, v. 103, p. 731-764. 1934.

HAINES, R. W. The evolution of epiphyses and of endochondral bone. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, v. 14, p. 267-292. 1942.

HAINES, R. W. Epiphyses and sesamoids. In: GANS, C. A.; BELLAIRS, D.; PARSONS, T. S. (Eds.). **Biology of the Reptilia, Vol. 1: Morphology**. 1969. London- (Academic Press), 1969. 81-115 p.

HORNER, J. R.; DE RICQLÉS, A. E PADIAN, K. Variation in dinosaur Skeletochronology indicators: implications for age assesment and physiology. **Paleobiology**, v. 25, n. 3, p. 295:304 1999.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K. The bone histology of the hadrosaurid dinosaur *Maiaasaura peeblesorum*: growth dynamics and physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v.20, p. 15-129. 2000.

HURWITZ, S. Calcium turnover in different bone segments of laying fowl. **American Journal of Physiology**, v. 208, p. 203-207. 1965.

HUTTENLOCKER, A. K.; WOODWARD, H. N.; HALL, B. K. The biology of bone. In PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods: issues, methods, and databases**, Berkeley, CA: University of California Press. 2013. 13-34 p.

HUTTON, J. M. Age determination of living Nile crocodiles from the cortical stratification of bone. **Copeia**, v. 1986, p. 332-341. 1986.

JENKINS, F. A.; SHUBIN, N. H.; GATESY, S. M; PADIAN, K. A diminutive pterosaur (Pterosauria: Eudimorphodontidae) from the Greenlandic Triassic. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, v. 156, p. 151-170. 2001.

KELLNER, A. W. A.; TOMIDA, Y. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. **National Science Museum Monographs**, v. 17, n. 1-135. 2000.

KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A.; SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; RODRIGUES, T.; OLIVEIRA, G.; CRUZ, L. A.; COSTA, F. R.; SILVA, H. P.; FERREIRA, J. S. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 113-135. 2013.

KLEVEZAL, G. A. **Recording Structures of Mammals. Determination of Age and Reconstruction of Life History**. Rotterdam-Balkema Publishers, 1996. 274 pp.

LEE, A. H.; O'CONNOR, P. M. Bone histology confirms determinate growth and small body size in the noasaurid theropod *Masiakasaurus knopfleri*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 33, n. 4, p. 865- 876. 2013.

MARTIN-SILVERSTONE, E.; WITTON, M. P.; ARBOUR, V. M.; CURRIE, P. J. A small azhdarchoid pterosaur from the latest Cretaceous, the age of flying giants. **Royal Society Open Science**, v. 3, n. 8, p. 160333. 2016.

MARSH, O.C. Notice of anew sub-order of Pterosauria. **American Journal of Science**, v. 11, p. 507-509. 1876.

MEUNIER, F. J.; CASTANET, J. Organisation spaciales des fibres de collagène de la plaque basale des tresses des Tektostens. **Zoologica Scripta**, v. 11, p. 141-153. 1982.

MEUNIER, F. J. ; CASTANET, J. ; FRANCILLON-VIEILLOT, H. ; DE RICQLÈS, A. La détermination de l'âge individuel à partir de l'étude des tissus squelettiques chez les Vertébrés. **Bulletin APBG**, v. 1, p. 141-153. 1988.

OWEN, R. **Odontography, a treatise on the comparative anatomy of teeth, etc.** London-H. Baillière, 1840. 655 p.

PADIAN, K. E LAMM, E. T. **Bone histology of fossil tetrapods: advancing methods, analysis, and interpretation.** Oakland, University of California Press, 2013. 285 p.

PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A. J.; HORNER, J. Bone histology determines identification of a new fossil taxon of pterosaur (Reptilia: Archosauria). **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v. 320, p. 77-84. 1995.

PADIAN, K.; HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. **Paleontology**, v. 24, p. 555-571. 2004.

PEABODY, F. E. Annual growth zones in living and fossil vertebrates. **Journal of Morphology**, v. 108, p. 11-62. 1961.

PONTON, F.; ELZANOWSKI, A.; CASTANET, J.; CHINSAMY, A.; DE MARGERIE, E.; DE RICQLÈS, A. J.; CUBO, J. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds. **Acta Ornithologica**, v. 39, p. 21-24. 2004.

PRONDVAI, E.; STEIN, K. Medullary bone-like tissue in the mandibular symphysis of a pterosaur suggests non-reproductive significance. **Scientific Reports**, v. 4, p. 6253. 2014.

PRONDVAI, E.; STEIN, K.; ÖSI, A.; SANDER, M. P. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. **Plos One**, v. 7, p. 31392. 2012.

QUEKETT, J. T. On the intimate structure of bone, as composing the skeleton in the four great classes of animals, viz., mammals, birds, reptiles and fishes, with some remarks on the great value of the knowledge of such structure in determining the affinities of minute fragments of organic remains. **Transactions of the Microscopical Society of London**, v. 2, p. 46-58. 1849.

QUEKETT, J. T. Descriptive and illustrative catalogue of the histological series. In: contained in the Museum of the Royal College of Surgeons of England, vol. 2, **Structure of the skeleton of vertebrate animals**. London. 1855.

RAY, S.; BOTHA, J.; CHINSAMY, A. Bone histology and growth patterns of some non-mammalian therapsids. **Journal of Vertebrate Palaeontology**, v. 24, p. 634-648. 2004.

REID, R. E. H. Lamellar-zonal bone with zones and annuli in the pelvis of a sauropod dinosaur. **Nature**, v. 292, p. 49-51. 1981.

ROGERS, R. R.; LABARBERA, M. Contribution of internal bony trabeculae to the mechanical properties of the humerus of the pigeon (*Columba livia*). **Journal of zoology, London**, v. 230, p. 433-441. 1993.

SANDER, M. P. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: implications for growth and biology. **Paleobiology**, v. 26, p. 466-488. 2000.

SAYÃO, J. M. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geological Society London Special Publications**, v. 1, p. 335-342.

SCHRAER, H.; HUNTER, S. J. The development of medullary bone: A model for osteogenesis. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 82, p. 13-17. 1985.

SCHWEITZER, M. H.; WITTMAYER, J. L.; HORNER, J. R. Gender-specific reproductive tissue in ratites and *Tyrannosaurus rex*. **Science**, v. 308, p. 1456-1460. 2005.

SEITZ, A. L. Vergleichende Studien über den mikroskopischen Knochenbau fossiler und rezenter Reptilien und dessen Bedeutung für das Wachstum und Umbildung des Knochengewebes im Allgemeinen. **Nova Acta Abhandlungen der Kaiserlichen Leopoldinisch-Carolinischen Deutschen Akademie der Naturforscher**, v. 87, p. 229-370. 1907.

STARCK, J. M.; CHINSAMY, A. Bone microstructure and developmental plasticity in birds and other dinosaurs. **Journal of Morphology**, v. 254, p. 232-246. 2002.

STEEL, L. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. **Zitteliana**, v. 28, p. 109-125. 2008.

WANG, Z.; ZHOU, Z.H. Two new pterodactyloid pterosaurs from the Early Cretaceous Jiufotang Formation of western Liaoning, China. **Vertebrata Palasiatica**, v. 41, n. 1, p. 34-41. 2003.

WEINER, S.; ARAD, T.; TRAUB, W. Crystal organisation in rat bone lamellae. **FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Journal**, v. 285, p. 49-54. 1991.

WELLNHOFER, P. 1970. Die Pterodactyloidea (Pterosauria) der Oberjura Plattenkalke Süddeutschlands. Bayerische Akademie der Wissenschaften Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse Abhandlungen, 141: 1-133.

WELLNHOFER, P. Die Rhamphorhynchoidea (Pterosauria) der Oberjura-plattenkalke Süddeutschlands. **Palaeontographica A**, v. 148, p. 1-33. 1975.

WELLNHOFER, P. **The illustrated encyclopedia of pterosaurs**. Londres, Salamander Books, 1991. 192 p.

WELLNHOFER, P. A short history of pterosaur research. **Zitteliana**, v. 28, p. 7-19. 2008.

WERNING, S. The Ontogenetic Osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. **Plos ONE**, v. 7, n. 3. 2012.

WOODWARD, H. N.; HORNER, J. R.; FARLOW, J. O. Osteohistological evidence for determinate growth in the American Alligator. **Journal of Herpetology**, v. 45, n. 3, p. 339-342. 2011.

ZITTEL, K.A. Über Flugsaurier aus dem lithographischen Schiefer Bayerns. **Paläontographica**, v. 29, p. 47-8. 1882.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Descrição de novos espécimes de pterossauros do Grupo Santana

Dois novos espécimes de pterossauros, provenientes de concreções calcárias da Formação Romualdo foram descritos nesta tese. O espécime MPSC R 1395 foi o primeiro pterossauro coletado a partir do nível do 1º matracão em uma escavação controlada na porção oeste da Bacia do Araripe, representando um indivíduo jovem baseado na ausência de fusão de alguns elementos ósseos, e que ainda não havia terminado o seu crescimento assintótico total, podendo ainda alcançar uma maior proporção corpórea. Ao ser analisado sob a ótica da osteohistologia, foi possível concluir que devido ausência de estruturas típicas de indivíduos adultos, como cavidades de reabsorção óssea, lamelas circunferenciais internas ou externas (EFS) e a deposição de linhas de pausa de crescimento são evidências dessa interpretação. MPSC R 1395 não é um indivíduo totalmente crescido e suas amostras ósseas documentam a transição de um estágio de sub-adulto para o desenvolvimento corpóreo final de um adulto, visto que possui sinais claros de crescimento ainda ativo. O segundo espécime, descrito pela primeira vez nesta tese, MPSC R 982, é um espécime da coleção do MPSC e não trazia consigo grandes informações acerca da localização geográfica e estratigráfica, mas por apresentar a preservação do complexo escapulocoracóide, foi possível realizar a primeira descrição osteohistológica deste osso em pterossauros. Ambos os espécimes descritos aqui, puderam ser incluídos em uma grande análise, que resultou no segundo artigo desta tese, onde os padrões osteohistológicos foram confrontados com os de fusão de ossos, e textura superficial dos ossos. Sendo possível concluir que os pterossauros anhanguerídeos poderiam atingir grandes proporções corpóreas, até chegar ao final do seu desenvolvimento somático e finalizar o crescimento com a deposição de uma lamela circunferencial externa (EFS).

Padrões de crescimento de representantes do clado Anhangueridae

O presente estudo permitiu a integração de observações anatômicas e histológicas para determinar o estágio ontogenético de alguns espécimes de pterossauros anhanguerídeos. Foi

observado que existem contradições na definição de maturidade de pterossauros. Na amostragem utilizada aqui, indivíduos que apresentaram uma conformação osteológica típica de um animal adulto, apresentaram de forma diferente uma conformação de um indivíduo sub-adulto, baseado em inferências histológicas. O presente estudo também reforçou a ideia de que as características histológicas podem variar ao longo dos ossos de um mesmo indivíduo, confirmando que os ossos de pterossauros possuem diferentes taxas de crescimento.

Os ossos de pterossauros cresciam rapidamente, mas ocorria ocasionalmente uma interrupção cíclica, o que pode ter ocorrido anualmente em resposta às mudanças sazonais na disponibilidade de alimentos ou outras variáveis. Possivelmente, os anhanguerídeos atingiriam grandes proporções corporais antes de alcançar uma maturidade esquelética (fusão de ossos) e osteohistológica. A história de vida de um pterossauro anhanguerídeo pode ser detalhada da seguinte forma: pterossauros jovens cresceriam rapidamente e não apresentariam nenhuma característica morfológica ou histológica que o caracterizasse como um sub-adulto; com o passar do tempo, as taxas de crescimento desacelerariam quando o tamanho de sub-adulto fosse alcançado, podendo este indivíduo sub-adulto possuir alguns ossos fusionados, linhas de crescimento, ósteons secundários e lamelas circunferenciais internas na microestrutura de seu osso; após a formação de uma lamela endosteal e uma EFS sobre a superfície periosteal, este indivíduo chegaria a fase adulta com todos os ossos fusionados. Consideramos aqui que a deposição de LAGs não é tão rara em pterossauros, quando analisados diferentes ossos de um mesmo indivíduo. Devido a presença de histovariabilidade em ossos de pterossauros, é possível que as LAGs tenham sido depositadas em apenas alguns ossos, ou depositadas em ciclos diferentes, ficando apenas registrada a presença dos ciclos mais recentes. Nós concordamos que estudos que envolvam a caracterização ontogenética de pterossauros sejam explícitos em quais características foram eleitas para a atribuição de um estágio ontogenético, facilitando a comparação e a interpretação para estudos paleobiológicos e paleoecológicos futuros, destes répteis alados.

Padrões de crescimento do pterossauro do gênero Hamipterus

Ao analisar a osteohistologia de 12 ossos, de diferentes indivíduos do gênero Hamipterus, nós pudemos concluir que esta espécie de réptil alado cresceu rapidamente durante as fases de juvenil e de sub-adulto precoce, apresentando um tecido ósseo bem vascularizado

durante cada uma dessas etapas. Foi possível observar que a partir da fase adulta o tecido ósseo paralelo fibroso estava presente em um complexo fibrolamelar próximo ao endóstio e lamelar próximo a superfície periosteal. A evidência de maturidade esquelética foi observada apenas na amostra de um úmero adulto, embora alguns espécimes de sub-adultos apresentassem apenas lamelas circunferenciais internas. Como em outros pterossauros, o tecido ósseo variou entre os elementos ósseos no que diz respeito às suas taxas de remodelamento e disposição de canais vasculares.

Quanto a configuração osteohistológica (juvenil ou adulto), grau de fusão dos ossos (fusionado ou não fusionado) e textura da superfície dos ossos (poroso ou sem porosidade), pode-se concluir que para juvenis e adultos, essas características se aplicam e correlacionam. Assim, quando um indivíduo é juvenil ele apresenta uma conformação osteohistológica juvenil, ossos não fusionados e osso sem porosidade, mas quando um indivíduo é adulto ele apresenta conformação osteohistológica de um adulto e ossos fusionados/porosos. Apenas os sub-adultos não se enquadram neste padrão, onde os ossos têm um certo grau de porosidade, possuem uma estrutura osteohistológica de um adulto (mas com ausência de EFS) e possuem ossos não fusionados. *Hamipterus* vivia em bando e provavelmente não havia segregação de machos e fêmeas, devido a amostragem conter representantes de juvenis, sub-adultos e adultos.

Estágio ontogenético dos indivíduos das duas localidades

Com um total de 18 espécimes analisados nesta tese (12 espécimes de pterossauros do gênero *Hamipterus* e 6 espécimes de anhanguerídeos), Utilizando os principais caracteres morfológicos como fusão de ossos e a textura superficial dos ossos, associados aos principais caracteres osteohistológico foi possível determinar com precisão o estágio ontogenético dos indivíduos amostrados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, D. A.; HASUI, Y. **O Pré-Cambriano do Brasil**. São Paulo, Edgard Blücher, 1984. 378 p.
- AMPRINO, R. La structure du tissu osseux envisage comme expression de differences dans la vitesse de l'accroissement. **Archives de Biologie**, v. 58, p. 315 – 330. 1947.
- ANDRADE, R. C. L. P; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; CAMPOS, L. S.; ELEUTÉRIO, L. H. S.; SAYÃO, J. M. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 14, n. 1, p. 200-211. 2015.
- ANDRES, B. The early evolutionary history and adaptive radiation of Pterosauria. **Acta Geologica Sinica**, v. 86, p. 1356-1365. 2012.
- ANDRES, B.; JI, Q. A new pterosaur from the Liaoning Province of China, the phylogeny of the Pterodactyloidea, and convergence in their cervical vertebrae. **Palaeontology**, v. 51, p. 453-469. 2008.
- ASSINE, M. L. Bacia do Araripe. **Boletim de Geociências**. Petrobras, 15 (2): 371-389. 2007.
- ASSINE, M. L; PERINOTTO, J. A. J.; CUSTÓDIO, M. A.; NEUMANN, V. G.; VAREJÃO, F. G.; MESCOLOTTI, P. C. Sequências deposicionais do Andar Alagoas da Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil. **Boletim de Geociências da Petrobras**, v. 22, n. 1, p. 3-28. 2014.
- BAEZ A. M.; MOURA G. J. B.; BATTEN R. G. Anurans from the Lower Cretaceous Crato Formation of northeastern Brazil: implications for the early divergence of neobatrachians. **Cretaceous Research**, v. 30, p. 829-846. 2009.
- BAKKER, R. T. **The dinosaur heresies: new theories unlocking the mistery of the dinosaurs and their extinction**. New York, William Morrow. 1986. 481p.
- BARRETT, P. M.; BUTLER, R. J.; EDWARDS, N. P.; MILNER, A. R. Pterosaur distribution in time and space: an atlas. **Zitteliana B**, v. 28, p. 61-107. 2008.
- BELL, C. M.; PADIAN, K. Pterosaur fossils from the Cretaceous of Chile: evidence for a pterosaur colony on an inland desert plain. **Geological Magazine**, v. 132, p. 31-38. 1995.
- BENNETT, S. C. Taxonomy and systematics of the Late Cretaceous pterosaur Pteranodon (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Occasional Papers of the Natural History Museum, The University of Kansas Lawrence, Kansas**, v. 169, p. 1-70. 1993.
- BENNETT, S. C., The phylogenetic position of the Pterosauria within the Archosauromorpha, **Zoological Journal of the Linnaean Society**, v. 118, p. 261-308. 1995.
- BENNETT, S. C. Year-classes of pterosaurs from the Solnhofen Limestones of Germany: taxonomic and systematic implications. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 16, n. 3, p. 432-444. 1996.
- BENTON, M.J. Classification and phylogeny of the diapsid reptiles, **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 84, p. 97-164. 1985.

- BERNARDES-DE-OLIVEIRA, M. E. C.; DILCHER, D.; BARRETO, A. M. F.; BRANCO, F. R.; MOHR, B.; FERNANDES, M. C. C. La Flora del Miembro Crato, Formación Santana, Cretácico Temprano de la Cuenca de Araripe, Noreste del Brasil. **10 Congreso Geológico Chileno, Concepción**. Actas, p. s/n-s/n. 2003.
- BERTHOUS, P. Y. Le bassin d'Araripe et le petits bassins intracontinentaux voisins (NE du Brésil): formation et évolution dans le cadre de l'ouverture de l'Atlantique Equatorial. Comparaison avec les bassins ouest-africains dans le même contexte. **Atas I Simpósio da Bacia Araripe e Bacias Interiores do Nordeste do Brasil**, Crato (CE), pp. 113–134. 1990.
- BEURLIN, K. A geologia da Chapada do Araripe. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 34, n. 3, p. 365–370. 1962.
- BEURLIN, K. As condições ecológicas e faciológicas da Formação Santana na Chapada do Araripe (Nordeste do Brasil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 43, p. 411–415. 1971.
- BONAPARTE, J. F.; SCHULTZ, C. L.; SOARES, M. B. Pterosauria from the Late Triassic of southern Brazil. **Lecture Notes in Earth Sciences**, v.132, p. 63–71. 2010.
- BOTHA-BRINK, J.; SMITH, R. M. H. Osteohistology of the Triassic archosauromorphs *Prolacerta*, *Proterosuchus*, *Euparkeria*, and *Erythrosuchus* from the Karoo Basin of South Africa. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 31, n. 6, p. 1238–1254, 2011.
- BRITO NEVES, B. B. A Bacia do Araripe no contexto geotectônico regional. **I Simpósio da Bacia do Araripe e Bacias Interiores do Nordeste do Brasil**. Crato, Atas. p. 21–33. 1990.
- BROILI, F. Ueber den feineren Bau der “verknöcherten Sehnen“ (=verknöcherten Muskeln) von Trachodon. **Anatomischer Anzeiger**, v. 55, p. 465–475. 1991.
- CAMPOS, D. A.; KELLNER, A. W. A. Panorama of the flying reptiles study in Brazil and South America (Pterosauria/ Pterodactyloidea/ Anhangueridae), **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 57, p. 141–142. 1985.
- CARVALHO, M. S. S.; SANTOS, M. E. C. M. Histórico das Pesquisas Paleontológicas na Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 28, p. 15–35. 2005.
- CARVALHO, I. S.; VIANA, M. S. S.; LIMA FILHO, M. F. Os icnofósseis de dinossauros da Bacia do Araripe (Cretáceo Inferior, Ceará-Brasil). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 67, p. 433–442. 1995.
- CARVALHO, I. S.; NOVAS, F. E.; AGNOLÍN, F. L.; ISASI, M. P.; FREITAS, F. I.; ANDRADE, J. A. A new genus and species of enantiornithine bird from the Early Cretaceous of Brazil. **Brazilian Journal of Geology**, v. 45, n. 2, p. 161–171. 2016.
- CASTANET, J. La squelettochronologie chez les Reptiles I – Résultats expérimentaux sur la signification des marques de croissance squelettiques chez les Lézards et les Tortues (1). **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie**, v. 7, p. 23–40. 1985.
- CASTANET, J. La squelettochronologie chez les Reptiles III – Application. **Annales des Sciences Naturelles, Zoologie**, v. 8, p. 157–172. 1987.
- CASTRO LEAL, M. E. D.; BRITO, I. M. The ichthyodectiform *Cladocycclus gardneri* (Actinopterygii: Teleostei) from the Crato and Santana Formations, Lower

- Cretaceous of Araripe Basin, North-Eastern Brazil. **Annales de Paléontologie**, v. 90, p. 103–113. 2004.
- CHEN, J. P.; QIN, Y.; HUFF, B. G.; WANG, D. R.; HUANG, D. F. Geochemical evidence for mudstone as the possible major oil source rock in the Jurassic Turpan Basin, northwest China. **Organic Geochemistry**, v. 32, p. 1103–1125. 2001.
- CHIAPPE, L. M.; CHINSAMY, A. *Pterodaustro* true teeth. **Nature**, v. 379, p. 211–212. 1996.
- CHINSAMY, A. Image analysis and the physiological implications of the vascularization of femora in archosaurs. **Modern Geology**, v. 19, p. 101–108. 1993a.
- CHINSAMY, A. Bone histology and growth trajectory of the prosauropod dinosaur *Massospondylus carinatus* Owen. **Modern Geology**, v. 18, p. 19–329. 1993b.
- CHINSAMY, A. Dinosaur bone histology: implications and inferences. **Paleontological Society Special Publication**, v. 7, p. 213–227. 1994.
- CHINSAMY, A. Ontogenetic changes in the bone histology of the Late Jurassic ornithomimid *Dryosaurus lettowvorbecki*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 15, p. 96–104. 1995.
- CHINSAMY, A. Assessing the biology of fossil vertebrates through bone histology. **Palaeontologia Africana**, v. 33, p. 29–35. 1997.
- CHINSAMY, A. **The microstructure of dinosaur bone**. Baltimore, Maryland: Johns Hopkins University Press, 2005. 195 p.
- CHINSAMY, A.; CHIAPPE, L. M.; DODSON, P. Mesozoic avian bone microstructure: physiological implications. **Paleobiology**, v. 21, n. 4, p. 561–574. 1995.
- CHINSAMY, A.; CODORNIU, L.; CHIAPPE, L. M. Developmental growth patterns of the filter-feeder pterosaur, *Pterodaustro guinazui*. **Biological Letters**, v. 4, p. 282–285. 2008.
- CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. M. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. **The Anatomical Record**, v. 292, p. 1462–77. 2009.
- CHINSAMY, A.; BUFFETAUT, E.; CANOVILLE, A.; ANGST, D. Insight into the growth dynamics and systematic affinities of the Late Cretaceous *Gargantuavis* from bone microstructure. **Naturwissenschaften**, v. 101, p. 447–452. 2014.
- COIMBRA, J. C., ARAI, M.; CARREÑO, A. L. Biostratigraphy of Lower Cretaceous microfossils from the Araripe basin, northeastern Brazil. **Geobios**, v. 35, n. 6, p. 687–698. 2002.
- CORMACK, D. H. **Ham's Histology**. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1987.
- CRANE, P. R.; MAISEY, J. G. Fossil plants. In: MAISEY, J. G. 1991 (Ed.). **Santana fossils: an illustrated atlas**. Neptune City, T. F.H. Publications, 1991. p. 414–419. 1991.
- CURREY, J. D. Differences in the tensile strength of bone of different histological types. **Quarterly Journal of the Microscopical Society**, v. 103, p. 111–133. 1959.
- CURREY, J. D. Differences in the blood supply of bone of different histological types. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, 101: 351–370. 1960.
- CURREY, J. D. The histology of the bone of a prosauropod dinosaur. **Paleontology**, v. 5, p. 238–246. 1962.

CURREY, J. D. **Mechanical Adaptations of Bones**; Princeton, Princeton University Press, 1984. 294 pp.

CURREY, J. D. **Bones: structure and mechanics**. Princeton, Princeton University Press, 2002. 436 p.

CUVIER, G. “Extrait d’un ouvrage sur les espèces de quadrupèdes. Dont on a trouvé les ossements dans l’intérieur de la terre, adressé aux savants et aux amateurs des sciences, par. G. Cuvier, membre de l’Institut, professeur au Collège de France et à l’École Centrale Du Panthéon, etc.”. **Journal de physique, de chimie, d’histoire naturelle et des arts, tome LII**, p. 253-267. Paris. 1801.

DE BUISONJÉ, P. H. *Santanadactylus brasiliensis* nov. gen., nov. sp., a long necked, large pterosaur from the Aptian of Brasil, **Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Proc B**, v. 83, p. 145-157. 1980.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes I. Origine du tissu osseux plexiforme des dinosaures sauropodes. **Annales de Paléontologie**. v. 54, p. 133-145. 1968.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes II. Quelques observations sur la structure des os longs des thériodontes. **Annales de Paléontologie**. v. 55, p. 3-52. 1969.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes III. Titanosuchiens dinocéphales et dicynodontes. **Annales de Paléontologie**. v. 58, p. 17-60. 1972.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes IV. Eothériodontes et pélycosaures. **Annales de Paléontologie**. v. 60, p. 1-39. 1974a.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes V. Cotylosaures et méso-saures. **Annales de Paléontologie**. v. 60, p. 171-216. 1974b.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Première partie, structures. **Annales de Paléontologie**. v. 61, p. 51-129. 1975.

DE RICQLÈS, A. J. On bone histology of fossil and living reptiles, with comments on its functional and evolutionary significance. In: BELLAIRS, A. D’A.; COX, C. B. (Eds.). **Morphology and Biology of Reptiles**. 1976, Academic Press: London, p. 123-150.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, suite. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 33-56. 1977a.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, fin. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 133-160. 1977b.

DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 85-111. 1978a.

- DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l'histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution, fin. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 153–184. 1978b.
- DE RICQLÈS, A. J. Tissue Structures of Dinosaur Bone—Functional Significance and Possible Relation to Dinosaur Physiology. In: THOMAS, R.D.K., OLSON, E.C. (Eds.). **A Cold Look at the Warm-Blooded dinosaurs**. 1980. New York, p. 103–139.
- DE RICQLÈS, A. J. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes. VI.—Stégocéphales. **Annales de Paléontologie**. v. 67, p. 141–160. 1981.
- DE RICQLÈS, A. J. Cyclical growth in the long limb bones of a sauropod dinosaur. **Acta Palaeontologia Polonica**, v. 28, n. 225–232. 1983.
- DE RICQLÈS, A. J.; FRANCILLON-VIEILLOT, H. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauris): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**. v. 129, p. 349–385. 2000.
- DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K.; HORNER, J. R. On the bone histology of some Triassic pseudosuchian archosaurs and related taxa. **Annales de Paléontologie**, v. 89, p. 67–101. 2003.
- DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K.; HORNER, J. R.; KNOLL, F. On the origin of high growth rates in archosaurs and their ancient relatives: complementary histological studies on Triassic archosauriforms and the problems of a “phylogenetic signal” in bone histology. **Annales de Paleontologie**, v. 94, p. 57–76. 2008.
- DONG, Z.M. Dinosaurs from Wuerho. Memoirs of the Institute of Vertebrate Paleontology and Paleoanthropology, **Academia Sinica** v. 11, p. 45-52. 1973.
- DONG, Z.M. Stegosaur of Asia. In: CARPENTER, K., CURRIE, P.J. (Eds.). **Dinosaur systematics: Approaches and perspectives**. Cambridge University Press, Cambridge, 1990. 255-268 p.
- DONG, Z.M. Mesozoic fossil vertebrates from the Junggar Basin and Turpan Basin, Xinjiang, China. In: SUN, G., MOSBRUGGER, V., ASHRAF, A.R., WANG, Y. (Eds.). **The Advanced Study of Prehistory Life and Geology of Junggar Basin, Xinjiang China**. Proceedings of Sino-German Cooperation Symposium on the Prehistory and Geology of Junggar Basin, Xinjiang, Urumqi, pp. 95 - 103. 2001.
- EBERTH, D. A.; BRINKMAN, D. B.; CHEN, P. J.; YUAN, F. T.; WU, S. Z. Stratigraphy and paleoenvironments of dinosaur-bearing Jurassic/Cretaceous sections in Junggar Basin, Northwest China. **Geological Association of Canada Annual Meeting, Final Program and Abstracts**, 20: A-27. 1995.
- ELEUTÉRIO, L. H. S.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J.; ANDRADE, R. C. L. P.; SARAIVA, A. A. F.; KELLNER, A. W. A.; SAYÃO, J. M. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 18, n. 3, p. 403-412 2015.
- ELIAS, F. A.; BERTINI, R. J.; MEDEIROS, M. A. Pterosaur teeth from the Laje do Coringa, middle Cretaceous, São Luís-Grajaú basin, Maranhão state, Northern-Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 37, n. 2, p. 1-9. 2007.
- ENLOW, D. H. **Principles of Bone Remodeling**, Springfield (Charles C. Thomas), 1963. 123 pp.

- ENLOW, D. H. The bone of reptiles. In: GANS, C.; BELLAIRS, A. D.; PARSONS, T. S. (Eds.). **Biology of the Reptilia**. 1969. Morphology; London (Academic Press), p. 45-80. 1969.
- ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part I. **Texas Journal of Science**, v. 8, p. 403 – 443. 1956.
- ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part II. **Texas Journal of Science**, v. 9, p. 185–214. 1957.
- ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part III. **Texas Journal of Science**, v. 10, p. 187–230. 1958.
- ERICKSON, G. M.; TUMANOVA, T. A. Growth curve of *Psittacosaurus mongoliensis* Osborn (Ceratopsia: Psittacosauridae) inferred from long bone histology. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 130, p. 551–566. 2000.
- FARA, E.; SARAIVA, A. A. F.; CAMPOS, D. A.; MOREIRA, J. K. R.; SIEBRA, D. C.; KELLNER, A. W. A. Controlled excavations in the Romualdo Member of the Santana Formation (Early Cretaceous, Araripe Basin, northeastern Brazil): stratigraphic, palaeoenvironmental and palaeoecological implications. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 218, p. 145-161. 2005.
- FASTNACHT, M. First record of *Coloborhynchus* (Pterosauria) from the Santana Formation (Lower Cretaceous) of the Chapada do Araripe, Brazil. **Paläontologische Zeitschrift**, v. 75, n. 1, p. 23 -36. 2001.
- FIGUEIREDO R. G.; KELLNER A. W. A. A new crocodylomorph specimen from the Araripe Basin (Crato Member, Santana Formation), northeastern Brazil. **Paläontologische Zeitschrift**, v. 83, n. 2, p. 323-331. 2009.
- FREY, E.; MARTILL, D. M. A new pterosaur from the Crato Formation (Lower Cretaceous, Aptian) of Brazil. **Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen**, v. 194, p. 421–441. 1994.
- FREY, E.; MARTILL, D. M.; BUCHY, M. A new species of tapejarid pterosaur with soft-tissue head crest. In: BUFFETAUT, E.; MAZIN, J. M. (Eds.). **Evolution and Paleobiology of Pterosaurs**. 2003. Londres-Geological Society Special Publications, 2003. 217: 65-72.
- GAFFNEY, E. S.; TONG, H.; MEYLAN, P. A. Evolution of the side-necked turtles: the families Bothremydidae, Euraxemydidae, and Araripemydidae. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 300, p. 1-698. 2006.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Atlas colorido de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ed. 2002. 450 p.
- GREENE, T. J.; ZINNIKER, D.; MOLDOWAN, J. M.; CHENG, K. M.; SU, A. G. Controls of oil family distribution and composition in nonmarine petroleum systems: a case study from the Turpan–Hami Basin, northwestern China. **AAPG Bull**, v. 88, p. 447-481. 2004.
- GREENE, T. J.; CARROLL, A. R.; WARTES, M.; GRAHAM, S. A.; WOODEN, J. L. Integrated provenance analysis of a complex orogenic terrane: Mesozoic uplift of the Bogda Shan and inception of the Turpan–Hami Basin, NW China. **Journal of Sedimentary Research**, v. 75, n. 2, p. 251-267. 2005.

GROSS, W. Die typen des mikroskopien knochenbaues bei fossilen Stegocephalen und Reptilien. **Zeitschrift fur Anatomie**, v. 103, p. 731-764. 1934.

HAN, D.; YANG, Q. **Coalfield geology of China (Volume 2) (in Chinese)**. Beijing- China Coal Industry Publishing House, 1980. 415 P.

HENDRIX, M. S.; GRAHAM, S. A.; CARROLL, A. R.; SOBEL, E. R.; MCKNIGHT, C. L.; SCHULEIN, B. J.; WANG, Z. X. Sedimentary record and climatic implications of recurrent deformation in the Tian Shan: Evidence from Mesozoic strata of the north Tarim, south Junggar, and Turpan basins. **Geological Society of America Bulletin**, v. 104, p. 53–79. 1992.

HIRAYAMA, R. Oldest known sea turtle. **Nature**, v. 392, p. 705–708. 1998.

HORNER, J.; MAKELA, R. Nest of juveniles provides evidence of family structure among dinosaurs. **Nature**, v. 282, p. 296–298. 1979.

HORNER, J. R.; GORMAN, J. **Digging Dinosaurs**. New York-Workman. 1988. 210 p.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. E PADIAN, K. Variation in dinosaur Skeletochronology indicators: implications for age assesment and physiology. **Paleobiology**, v. 25, n. 3, p. 295:304 1999.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K. The bone histology of the hadrosaurid dinosaur Maiasaura peeblesorum: growth dynamics and physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v.20, p. 15–129. 2000.

HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K. Comparative osteohistology of some embryonic and perinatal archosaurs: developmental and behavioral implications for dinosaurs. **Paleobiology**, v. 27, p. 39–58, 2001.

HSÜ, K. J. Origin of sedimentary basins of China. In: Zhu, X. (Ed.). **Chinese sedimentary basins**. 1989. Amsterdam, Elsevier Scientific Publications, 1989. 207–227 p.

JENKINS, F. A.; SHUBIN, N. H.; GATESY, S. M; PADIAN, K. A diminutive pterosaur (Pterosauria: Eudimorphodontidae) from the Greenlandic Triassic. **Bulletin of the Museum of Comparative Zoology**, v. 156, p. 151-170. 2001.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Basic Histology: text & atlas**. São Paulo-São Paulo, 2005. 554 p.

KELLNER, A. W. A. Os répteis voadores do Cretáceo Brasileiro, **Anuário do Instituto de Geociências**, v.1, p. 86-106. 1989.

KELLNER, A. W. A. Pterosaur phylogeny and comments on the evolutionary history of the group. **Geological Society, Special Publication**, v. 217, p. 105-137. 2003.

KELLNER, A. W. A. **Pterossauros os senhores do céu do Brasil: relato inédito da aventura de importantes descobertas da paleontologia**. Rio de Janeiro-Vieira e Lent, 2006. 175p.

KELLNER A. W. A.; CAMPOS D. A. Primeiro registro de Amphibia (Anuro) no Cretáceo Inferior da Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 58, n. 4, p. 610. 1986.

KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A. The function of the cranial crest and jaws of a unique pterosaur from the early Cretaceous of Brazil. **Science**. v. 297, p. 389-392. 2002.

- KELLNER A. W. A.; CAMPOS, D. A. Short note on the ingroup relationships of the Tapejaridae (Pterosauria, Pterodactyloidea). **Boletim do Museu Nacional – Geologia**, v. 75, p. 1–14. 2007.
- KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A.; SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; RODRIGUES, T.; OLIVEIRA, G.; CRUZ, L. A.; COSTA, F. R.; SILVA, H. P.; FERREIRA, J. S. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 113-135. 2013.
- KELLNER, A. W. A.; GALLO, V.; SARAIVA, A. S. F.; SAYÃO, J. M.; SILVA, H. P. On the fossil locality 'Ladeira do Berlenga' (Santana Formation, Araripe Basin) in Piauí, Northeastern Brazil, **Arquivos do Museu Nacional**, v. 60, n. 3, p. 111-116. 2002.
- KELLNER, A. W. A.; TOMIDA, Y. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. **National Science Museum Monographs**, v. 17, n. 1-135. 2000.
- KLEVEZAL, G. A. **Recording Structures of Mammals. Determination of Age and Reconstruction of Life History**. Rotterdam-Balkema Publishers, 1996. 274 pp.
- LAMM, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone Histology of Fossil Tetrapods**. University of California Press, 2013. p. 55-160.
- LEAL, M. E. C.; BRITO, P. M. Anura do Cretáceo Inferior da Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil. In: GALLO, V. (Ed.). **Paleontologia de vertebrados - grandes temas e contribuições científicas**. 2006. Rio de Janeiro-Interciência, 2006. p. 145-152.
- LEONARDI, G.; BORGOMANERO, G. *Cearadactylus atrox* nov. gen., nov. sp.: novo Pterosauria (Pterodactyloidea) da Chapada do Araripe, Ceará, Brasil. **Coletânea de Trabalhos Paleontológicos, Série Geologia**, v. 1, p. 75-80. 1985.
- LI, M. W.; BAO, J. P.; LIN, R. Z.; STASIUKA, L. D.; YUAN, M. S. Revised models for hydrocarbon generation, migration and accumulation in Jurassic coal measures of the Turpan Basin, NW China. **Organic Geochemistry**, v. 32, p. 1127–1151. 2001.
- LIMA F. J.; SARAIVA, A. A. F.; SAYÃO J. M. Revisão da Paleoflora das Formações Missão Velha, Crato e Romualdo, Bacia do Araripe, Nordeste do Brasil. **Estudos Geológicos**, v. 22, p. 99-115. 2012.
- LÜ, J.; UNWIN, D. M.; JIN, X.; LIU, Y.; JI, Q. Evidence for modular evolution in a long tailed pterosaur with a pterodactyloid skull. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 277, n. 1680, p. 383-389. 2010.
- MABESOONE, J. M.; TINOCO, I. M. Palaeoecology of the Aptian Santana Formation (northeastern Brazil). **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 14, p. 97-118. 1973.
- MABESOONE, J. M.; VIANA, M. S. S.; LIMA FILHO, M. F. Sedimentary fill of the Araripe–Potiguar depression (NE Brazil). Abstracts, **14th Intern. Sedim. Cong.**, Recife-Brazil. Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brazil, p. 46-47. 1994.

- MAIDMENT, S. C. R.; NORMAN, D. B.; BARRETT, P. M.; UPCHURCH, P. Systematics and phylogeny of Stegosauria (Dinosauria: Ornithischia). **Journal of Systematic Palaeontology**, v. 6, p. 367-407. 2008.
- MAIN, R. P.; DE RICQLÈS, A.; HORNER, J. R.; PADIAN, K. The evolution and function of thyreophoran dinosaur scutes: implications for plate function in stegosaurs. **Palaeobiology**, v. 31, p. 291–314, 2005.
- MAISEY, J. G. **Santana Fossils: An Illustrated Atlas**. Neptune: T.F.C. Publications. 1991. 459 p.
- MARSH, O.C. Notice of anew sub-order of Pterosauria. **American Journal of Science**, v. 11, p. 507-509. 1876.
- MARTILL, D. M.; BECHLY, G.; LOVERIDGE, R. F. **The Crato Fossil Beds of Brazil – Window into an Ancient World**. Cambridge University Press. 2007. 625 p.
- MARTINS-NETO R. G. Primeiro registro de Trichoptera (Insecta) na Formação Santana (Cretáceo Inferior), Bacia do Araripe, nordeste do Brasil, com descrição de sete novos táxons. In: **Simpósio sobre a Bacia do Araripe e Bacias Interiores do Nordeste, 1 e 2, Crato, 1990/1997. Boletim**, p. 212-226. 2001.
- MAY, P.; RESER, P.; LEIGGI, P. Macrovertebrates preparation. In: LEIGGI, P.; MAY, P. (Eds.). **Vertebrates paleontological techniques, volume I**. 1994. Cambridge University Press. 1994. 113-128 p.
- MEUNIER, F. J. ; CASTANET, J. ; FRANCILLON-VIEILLOT, H. ; DE RICQLÈS, A. La détermination de l'âge individual à partir de l'étude des tissus squelettiques chez les Vertébrés. **Bulletin APBG**, v. 1, p. 141–153. 1988.
- MOHR, B. A. R.; FRIIS, E. M. Early angiosperms from the Aptian Crato Formation (Brazil), a preliminary report. **International Journal of Plant Science**, v. 161, n. 6, p. 155-167. 2000.
- NESBITT, S. J.; STOCKER, M. R.; SMALL B. J.; DOWNS, A. The osteology and relationships of *Vancleavea campi* (Reptilia: Archosauriformes). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 157, p. 814–864. 2009.
- NEUMANN, V. H.; CABRERA, L. Una nueva propuesta estratigrafica para la tectonosecuencia post-rifte de la cuenca de Araripe, noreste de Brasil. In: **Boletim do 5º Simpósio sobre o Cretáceo do Brasil**, São Paulo, p. 279-285. 1999.
- NOPCSA, F. V.; HEIDSIECK, E. On the bone histology of the ribs in immature and half-grown trachodont dinosaurs. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 12, p. 221–226, 1933.
- OLIVEIRA, G. R.; KELLNER, A. W. A. A new side-necked turtle (Pleurodira, Pelomedusoides) from the Santana Formation (Early Cretaceous), Araripe Basin, Northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 1425, p. 53-61. 2007.
- OLIVEIRA, G. R.; ROMANO, P. S. R. Histórico dos achados de tartarugas fósseis do Brasil. **Arquivos do Museu Nacional**, v. 65, p. 113–133. 2007.
- OLIVEIRA, G. R.; SARAIVA, A. A. F.; SILVA, H. P.; ANDRADE, J. A. F. G.; KELLNER, A. W. A. First turtle from the Ipubi Formation (Early Cretaceous), Santana Group, Araripe Basin, Brazil. **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 14, n. 1, p. 61-66. 2011.

OWEN, R. **Odontography, a treatise on the comparative anatomy of teeth, etc.** London-H. Bailliére, 1840. 655 p.

PADIAN, K. E LAMM, E. T. **Bone histology of fossil tetrapods: advancing methods, analysis, and interpretation.** Oakland, University of California Press, 2013. 285 p.

PADIAN, K. Osteology and functional morphology of *Dimorphodon macronyx* (Buckland) (Pterosauria: Rhamphorhynchoidea) based on new material in- the Yale Peabody Museum. **Postilla (Peabody Museum of Natural History, Yale University)** v. 189, p. 1-44. 1983.

PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A. J.; HORNER, J. Bone histology determines identification of a new fossil taxon of pterosaur (Reptilia: Archosauria). **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences**, v. 320, p. 77-84. 1995.

PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A.; HORNER, J. R. Dinosaurian growth rates and bird origins. **Nature**, v. 412, p. 405-408. 2001.

PADIAN, K.; HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. J. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. **Paleontology**, v. 24, p. 555-571. 2004.

PEABODY, F. E. Annual growth zones in living and fossil vertebrates. **Journal of Morphology**, v. 108, p. 11-62. 1961.

PINHEIRO, F. L.; FORTIER, D. C.; SCHULTZ, C. L.; DE ANDRADE, J. A. F. G.; BANTIM, R. A. M. New information on *Tupandactylus imperator*, with comments on the relationships of Tapejaridae (Pterosauria), **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 56, n. 3, p. 567-580. 2011.

PONTE, F. C.; APPI, C. J. Proposta de revisão da coluna litoestratigráfica da Bacia do Araripe. In **Anais do Congresso Brasileiro de Geologia**, 36 (1): 211- 226. 1990.

PONTE, F. C.; PONTE-FILHO, F. C. **Estrutura Geológica e Evolução Tectônica da Bacia do Araripe.** Recife-DNPM, 1996. 68 p.

PRADO, G. M. E. M.; ANELLI, L. E.; PETRI, S.; ROMERO G. R. New occurrences of fossilized feathers: systematics and taphonomy of the Santana Formation of the Araripe Basin (Cretaceous), NE, Brazil. **PeerJ**, v. 4, p. 1916. 2016.

PRICE, L. I. A presença de Pterosauria no Cretáceo Superior do Estado da Paraíba. **Notas preliminares e Estudos, Divisão de Geologia e Mineralogia (DNPM)**, v. 71, p. 1-10. 1953.

PRICE, L. I. Sobre um crocodilídeo Notossuquio do Cretáceo Brasileiro. **Departamento Nacional da Produção Mineral/Divisão de Geologia e Mineralogia.** Boletim 188, 56 p. 1959.

PRICE, L. I. A presença de Pterosauria no Cretáceo Inferior da Chapada do Araripe, Brasil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 43, p. 451-461. 1971.

PRONDVAL, E.; STEIN, K.; ÖSI, A.; SANDER, M. P. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. **Plos One**, v. 7, p. 31392. 2012.

QUEKETT, J. T. On the intimate structure of bone, as composing the skeleton in the four great classes of animals, viz., mammals, birds, reptiles and fishes, with some remarks on the great value of the knowledge of such structure in determining the affinities of minute

fragments of organic remains. **Transactions of the Microscopical Society of London**, v. 2, p. 46-58. 1849.

QUEKETT, J. T. Descriptive and illustrative catalogue of the histological series. In: contained in the Museum of the Royal College of Surgeons of England, vol. 2, **Structure of the skeleton of vertebrate animals**. London. 1855.

RAY, S.; BOTHA, J.; CHINSAMY, A. Bone histology and growth patterns of some non-mammalian therapsids. **Journal of Vertebrate Palaeontology**, v. 24, p. 634-648. 2004.

RAY, S.; BANDYOPADHYAY, S.; BHAWAL, D. Growth patterns as deduced from bone microstructure of some selected neotherapsids with special emphasis on dicynodonts: phylogenetic implications. **Paleoworld**, v.18, p. 53–66. 2009

REID, R. E. H. Lamellar-zonal bone with zones and annuli in the pelvis of a sauropod dinosaur. **Nature**, v. 292, p. 49-51. 1981.

REID, R. E. H. The histology of dinosaur bone, and its possible bearing on Dinosaurian physiology. In: FERGUSON, M. W. J. (Ed.). **Structure, Development and Evolution of Reptiles**. 1984. London-Academic Press. 1984. 629–663 p.

REID, R. E. H. Bone and dinosaurian “endothermy”. **Modern Geology**, v. 11, p. 133–154. 1987.

REID, R. E. H. Zonal “growth rings” in dinosaurs. **Modern Geology**, v. 15, p. 19–48. 1990.

REID, R. E. H. Apparent zonation and slowed late growth in a small Cretaceous theropod. **Modern Geology**, 18: 391-406. 1992.

REID, R. E. H. Apparent zonation and slowed late growth in a small Cretaceous theropod. **Modern Geology**, v. 18, p. 391–406. 1993.

REID, R. E. H. Dinosaurian physiology: the case for “intermediate” dinosaurs. In: FARLOW J. O.; BRETT-SUR-MAN, M. (Eds.). **The complete dinosaur**. Bloomington-Indiana University Press. 1997. 449–473 p.

RIFF, D.; ROMANO, P. S. R.; OLIVEIRA, G. R.; AGUILERA, O. A. Neogene crocodile and turtle fauna in northern South America. In: HOORN, C.; WESSELINGH, E. P. (Eds.). **Amazonia, Landscape and Species Evolution: A Look into the Past**. 2010.. Blackwell Publishing. 2010.

SALISBURY, S. W.; FREY, E.; MARTILL, D. M.; BUCHY, M. C. "A new crocodilian from the Lower Cretaceous Crato Formation of north-eastern Brazil". **Palaeontographica. Abteilung A, Palaeozoologie – Stratigraphie**, v. 270, n. 1, p. 3–47. 2003.

SANDER, M. P. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: implications for growth and biology. **Paleobiology**, v. 26, p. 466-488. 2000.

SANTOS, R. S. Uma redescoberta de *Dastilbe elongatus*, com algumas considerações sobre o gênero *Dastilbe*. **Divisão de Geologia e Mineralogia, Notas preliminares e Estudos**, v. 42, p. 1-7. 1947.

SARAIVA, A. A. F.; HESSEL, M. H.; GUERRA, N. C.; FARA, E. Concreções Calcárias da Formação Santana, Bacia do Araripe: uma proposta de classificação. **Estudos Geológicos**, v. 17, n. 1, p. 40–58. 2007.

SARAIVA, A. A. F.; BARROS, O. A.; BANTIM, R. A. M.; LIMA, F. J. **Guia para trabalhos de campo em paleontologia na Bacia do Araripe**. Crato-Ed. Francys cópias, 2010. 88 p.

SAYÃO, J. M. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geological Society London Special Publications**, v. 1, p. 335-342.

SAYÃO, J. M.; KELLNER, A. W. A. Description of a pterosaur rostrum from the Crato Member, Santana Formation (Aptian-Albian) northeastern Brazil. **Boletim do Museu Nacional**, v. 54, p. 1-8. 2000.

SAYÃO, J. M.; KELLNER A. W. A. Novo esqueleto parcial de pterossauros (Pterodactyloidea, Tapejaridae) do Membro Crato (Aptiano), Formação Santana, Bacia do Araripe, nordeste do Brasil. **Estudos Geológicos**, v. 16, p. 16-40. 2006.

SAYÃO, J. M.; SARAIVA, A. A. F.; UEJIMA, A. M. K. New evidence of feathers in the Crato Formation supporting a reappraisal on the presence of Aves. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 1, p. 197–210. 2011.

SAYÃO, J. M.; VILA NOVA, B. C.; ROMANO, P. S. Considerações sobre os padrões de distribuição geográfica dos Pterodactyloidea (Archosauria, Pterosauria). In: GALLO, V.; SILVA, H. M. A.; BRITO, P. M.; FIGUEIREDO, F. J. (Eds.). **Paleontologia de Vertebrados: Relações entre América do Sul e África**. 2012. Rio de Janeiro: Interciência, 2012, v1, 2012. 281-300 p.

SAYÃO, J. M.; BANTIM, R. A. M.; ANDRADE, R. C. L. P.; LIMA, F. J.; SARAIVA, A. A. F.; FIGUEIREDO, R. G.; KELLNER, A. W. A. Paleohistology of *Susisuchus anatoceps* (Crocodylomorpha, Neosuchia): Comments on Growth Strategies and Lifestyle. **PLoS ONE**, v. 11, n. 5, p. 0155297. 2016.

SCHELLNHUBER, H. J. Earth system analysis and the second Copernican revolution. **Nature**, v. 402, p. 19-23. 1999.

SEITZ, A. L. Vergleichende Studien über den mikroskopischen Knochenbau fossiler und rezenter Reptilien und dessen Bedeutung für das Wachstum und Umbildung des Knochengewebes im Allgemeinen. **Nova Acta Abhandlungen der Kaiserlichen Leopoldinisch-Carolinischen Deutschen Akademie der Naturforscher**, v. 87, p. 229-370. 1907.

SHAO, L.; ZHANG, P.; HILTON, J.; GAYER, R.; WANG, Y.; ZHAO, C.; LUO, Z. Paleoenvironments and paleogeography of the Lower and lower Middle Jurassic coal measures in the Turpan-Hami oil-prone coal basin, northwestern China. **AAPG Bulletin**, v. 87, n. 2, p. 335–355. 2003.

SILVA, H. P.; KELLNER, A. W. A. A combinação de técnicas na preparação de vertebrados fósseis: o exemplo de *Thalassodromeus sethi* (Pterosauria, Tapejaridae). In: Gallo, V.; Brito, P. M. Silva, H. M. A. Figueiredo, F. J. (Eds.). **Paleontologia de vertebrados grandes temas e contribuições científicas**. Rio de Janeiro, Editora Interciência, 2006. 330 p.

SIMÕES, T. R. Redescription of *Tijubina ponteii*, an Early Cretaceous lizard (Reptilia; Squamata) from the Crato Formation of Brazil. **Anais Academia Brasileira de Ciências**, v. 84 n.1. 2012.

- SMALL, H. L. **Geologia e suprimento d'água subterrânea no Ceará e parte do Piauí**. Rio de Janeiro-Inspeção Federal de Obras contra as Secas, 1913. 181 p.
- STEEL, L. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. **Zitteliana**, v. 28, p. 109-125. 2008.
- TODD, R. B.; BOWMANN, W. **The physiological anatomy and physiology of man**. Philadelphia - Blanchard and Lea. 1846.
- UNWIN, D. M.; FREY, E.; MARTILL, D. M.; CLARKE, J. B.; RIESS, J. On the nature of the pteroid in pterosaurs. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 263, p. 45-52. 1996.
- UNWIN, D.M. On the phylogeny and evolutionary history of pterosaurs. **Geological Society Special Publications, Londres**, v. 217, p. 139-190. 2003.
- UNWIN, D.M. **The Pterosaurs: From Deep Time**. New York: Pi Press. 2006. 273 p.
- VALENÇA, L. M. M.; NEUMANN, V. H.; MABESOONE, J. M. An overview on Callovian Cenomanian intracratonic basins of northeast Brazil: onshore stratigraphic record of the opening of the southern Atlantic. **Geological Acta**, v. 1, p. 261–275. 2003.
- VIANA, M. S. S.; CAVALCANTI, V. M. M. Faciologia das formações Missão Velha e Brejo Santo na região de Missão Velha, Ceará. **13º Simpósio de Geologia do Nordeste, Fortaleza**, 166-169. 1989.
- VIANA, M. S. S.; NEUMANN, V. H. L. Membro Crato da Formação Santana, Chapada do Araripe, CE. Riquíssimo registro de fauna e flora do Cretáceo. In: SCHOBENHAUS C. (Eds.). **Sítios Geológicos e Paleontológicos do Brasil**. 2002. Brasília: DNPM/CPRM/SIGEP, 2002. 113-120 p.
- VILA NOVA, B.; SAYÃO, J. M. On wing disparity and morphological variation of the Santana Group pterosaurs. **Historical Biology (Print)**, v. 24, p. 567–574. 2012.
- VILA NOVA, B. C.; SARAIVA, A. A. F.; MOREIRA, J. K. R.; SAYÃO, J. M. Controlled excavations in the Romualdo Formation Lagerstätte (Araripe Basin, Brazil) and pterosaur diversity: remarks based on new findings. **Palaio**, v. 26, p. 173-179. 2011.
- WANG, Z.; ZHOU, Z.H. Two new pterodactyloid pterosaurs from the Early Cretaceous Jiufotang Formation of western Liaoning, China. **Vertebrata Palasiatica**, v. 41, n. 1, p. 34-41. 2003.
- SHAO, L.; ZHANG, P.; HILTON, J.; GAYER, R.; WANG, Y.; ZHAO, C. E LUO, Z. Paleoenvironments and paleogeography of the Lower and lower Middle Jurassic coal measures in the Turpan-Hami oil-prone coal basin, northwestern China. **AAPG Bulletin**, v. 87, n. 2, p. 335–355. 1993.
- WANG, C. G.; CHENG, K. M.; XU, Y. C.; ZHAO, C. Y. **Geochemistry of Jurassic Coal-derived Hydrocarbons of Turpan-Hami Basin**. Beijing, Science Press, 1998. 72 p.
- WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; ZHOU, Z.; CAMPOS, D. A. Discovery of a rare arboreal forest-dwelling flying reptile (Pterosauria, Pterodactyloidea) from China. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 1983-1987. 2008.

- WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; JIANG, S.; CHENG, X. New toothed flying reptile from Asia: close similarities between early Cretaceous pterosaur faunas from China and Brazil. **Naturwissenschaften**, p. 99. 2012.
- WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; JIANG, S.; MENG, X. An unusual long tailed pterosaur with elongated neck from western Liaoning of China. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n. 4, p. 793–812. 2009.
- WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; JIANG, S.; WANG, Q.; MA, Y.; PAIDOUOLA, Y.; CHENG, X.; RODRIGUES, T.; MENG, X.; ZHANG, J.; LI, N.; ZHOU, Z. Sexually Dimorphic Tridimensionally Preserved Pterosaurs and Their Eggs from China, **Current Biology**, 2014.
- WANG, X.; KELLNER, A. W. A.; CHENG, X.; JIANG, S.; WANG, Q.; SAYÃO, J. M.; RODRIGUES, T.; COSTA, F. R.; LI, N.; MENG, X.; ZHOU, Z. Eggshell and histology provide insight on the life history of a pterosaur with two functional ovaries. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 3, p. 669-689. 2015.
- WELLNHOFER, P. **The illustrated encyclopedia of pterosaurs**. Londres, Salamander Books, 1991. 192 p.
- WELLNHOFER, P. A short history of pterosaur research. **Zitteliana**, v. 28, p. 7-19. 2008.
- WERNING, S. The Ontogenetic Osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. **Plos ONE**, v. 7, n. 3. 2012.
- WILKINSON, M.T. Threedimensional geometry of a pterosaur wing skeleton, and its implications for aerial and terrestrial locomotion. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 154, p. 27–69. 2008.
- WITTON, M.; HABIB, M. On the size and flight diversity of giant pterosaurs, the use of birds as pterosaur analogues and comments on pterosaur flightlessness. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11. 2010.
- WITTON, M. P.; NAISH, D. A reappraisal of azhdarchid pterosaur functional morphology and paleoecology. **PLoS ONE**, v. 3, p. 2271. 2008.
- XING, L. D.; HARRIS, J. D.; JIA, C. K.; LUO, Z. J.; WANG, S. N.; AN, J. F.; Early Cretaceous bird-dominated and dinosaur footprint assemblages from the northwestern margin of the Junggar Basin, Xinjiang, China. **Palaeoworld**, v. 20, p. 308-321. 2011.
- XING, L.; LOCKLEY, M. G.; MCCREA, R. T.; GIERLINSKI, G. D.; BUCKLEY, L. G.; ZHANG, J.; QI, L.; JIA, C. First record of Deltapodus tracks from the Early Cretaceous of China. **Cretaceous Research**, v. 42, p. 55-65. 2013.
- Xinjiang Geological Team (No.1 Geological Research Team of the Xinjiang Bureau of Geological and Mineral Resources), 1992, **The forming, evolution and coal accumulation regularity of the Turpan-Hami coal-accumulating basin in the Xinjiang Uygur Autonomous Region (in Chinese with English abstract)**: Urumuqi, China, Xinjiang Weisheng Publishing House, 80 p.
- YOUNG, C. C. Pterosaurian fauna from Wuerho Sinkiang (Xinjiang). **Memoirs of the Institute of Vertebrate Paleontology and Paleoanthropology Academia Sinica**, v. 11, p. 18-36, 1973.

YUAN, M. S.; LIANG, S. J.; YAN, L. C. **Petroleum Geology and Exploration of the Turpan–Hami Basin**. Beijing - Petroleum Industry Press, 2002. 195 p.

ZITTEL, K.A. Über Flugsaurier aus dem lithographischen Schiefer Bayerns. **Paläontographica**, v. 29, p. 47-8. 1882.

APÊNDICE - ARTIGOS SUBMETIDOS

2017-5-25

ScholarOne Manuscripts

Alcheringa

Home

Author

Review

Submission Confirmation

Print

Thank you for your submission

Submitted to
Alcheringa

Manuscript ID
TALC-2017-0035

Title
Macro and microstructure reveal to be a reliable strategy to assess the ontogenetic stage of a giant flying reptile from the Early Cretaceous of Brazil

Authors
Bantim, Renan
Andrade, Rafael
Saraiva, Antônio
Ferreira, Jennyfer
Kellner, Alexander
Sayão, Juliana

Date Submitted
24-May-2017

Author Dashboard



Macro and microstructure reveal to be a reliable strategy to assess the ontogenetic stage of a giant flying reptile from the Early Cretaceous of Brazil

Journal:	<i>Alcheringa</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Standard Research Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Bantim, Renan; Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Geociências - PPGEOC Andrade, Rafael; Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Geociências - PPGEOC Saraiva, Antônio; Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Paleontologia da URCA - LPU Ferreira, Jennyfer; Universidade Regional do Cariri, Laboratório de Paleontologia da URCA - LPU Kellner, Alexander; Museu Nacional / UFRJ, Department of Geology and Paleontology Sayão, Juliana; Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Núcleo de Biologia
Keywords:	Pterosauria, Anhangueridae, Ontogeny, Paleohistology, Araripe Basin

Macro and microstructure reveal to be a reliable strategy to assess the ontogenetic stage of a giant flying reptile from the Early Cretaceous of Brazil

RENAN ALFREDO MACHADO BANTIM^a; RAFAEL CÉSAR LIMA PEDROSO DE ANDRADE^a; JENNYFER SOBREIRA FERREIRA^b; ANTÔNIO ÁLAMO FEITOSA SARAIVA^b; ALEXANDER WILHELM ARMIN KELLNER^c; JULIANA MANSO SAYÃO^d

BANTIM, R.A.M., ANDRADE, R.C.L.P; FERREIRA, J.S., SARAIVA, A.A.F., KELLNER, A.W.A. & SAYÃO, J.M. xxx 2017. A young giant flying reptile (Anhangueridae, Pterodactyloidea) from the Romualdo Formation, Araripe Basin, Northeastern Brazil. Alcheringa xx, xxx–xxx. ISSN 0311-5518.

The specimen MPSC R 1395, briefly mentioned as a 5.5 m wingspan pteranodontoid with anhanguerid affinities by Kellner *et al.*, (2013) is reanalyzed here. Now we present its complete morphological description associated with a detailed histological analysis of several bones. MPSC R 1395 is one of the few pterosaur from the Araripe Basin with precise geographic as well as stratigraphic location, having been found in the Baixa Grande locality (Araripe Municipality – Ceará State) coming from the “second-matracão” level of the Romualdo Formation. It consists of a left forelimb of an anhanguerid pterosaur, containing the proximal part of the humerus; the distal part of the ulna; the wing metacarpal; and digits I, II, III, IV, including ungueals. Despite its large dimensions, MPSC R 1395 presents the extensor process of the first phalanx and the unfused carpals. Paleohistological sections were performed on the middle shaft of the humerus, ulna, and the first, second, and fourth phalanges of the wing finger. MPSC R 1395 can be considered a young individual based on

the unfused condition of several elements, which had not completed its total asymptotic growth. The absence of typical bone microstructures of adult individuals such as bone resorption cavities, endosteal lamellae or external fundamental system (EFS), and the formation of growth marks reinforce this interpretation. Therefore, we can conclude that MPSC R 1395 was not a fully-grown individual at time of death and probably could have reached a wing span over 7 m and fall in the category of a giant pterosaur, contribution to the idea that such large flying reptiles might have not been uncommon in the Albian times at the northeastern of Brazil.

Renan A. M. Bantim (renanbantimbiologo@gmail.com) and Rafael César Lima Pedroso de Andrade (rafaclpa@gmail.com), Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brazil, Antonio A.F. Saraiva (alamocariri@yahoo.com.br) and Jennyfer S. Ferreira (jennyferpaleo@gmail.com, Laboratório de Paleontologia da URCA, Universidade Regional do Cariri, Rua Carolino Sucupira, s/n, 63100-000, Crato, Ceará, Brazil. Alexander W. A. Kellner (kellner@mn.ufrj.br), Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Vertebrados Fósseis, Departamento de Geologia e Paleontologia, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, s/n, Bairro Imperial de São Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil and Juliana M. Sayão (jmsayao@gmail.com), Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brazil.

Keywords: Pterosauria, Anhangueridae, ontogeny, paleohistology, Araripe Basin

PTEROSAURS represent the greatest diversity of tetrapods preserved in the Albian rocks of the Romualdo Formation (Vila Nova *et al.*, 2011), one of the main stratigraphic units of the Araripe Basin. To date, 27 taxa have been described; all based on remains preserved in the typical calcareous concretions from this unit (Kellner 2006, Saraiva *et al.*, 2014, Sayão *et al.*, 2015). However, the validity and the taxonomic assignment of some taxa have been subject of controversy (e.g., Kellner *et al.*, 2013). Within this diversity, most species of this pterosaur fauna do represent two main clades: the Anhangueria and the Tapejaridae. The first group consists of all pteranodontoids more closely related to *Anhanguera blittersdorffi* than to *Istiodactylus latidens* and *Cimoliopterus cuvieri*, and are recognized by their anterior expansion of the premaxillary tip with the jaw end tall (Rodrigues & Kellner 2013). The second is a clade which consists of toothless pterosaurs, easily recognized by their well-developed cranial sagittal crests and particularly large nasoantorbital fenestrae (Kellner 1989). Tapejaridae are split into Thalassodrominae and Tapejarinae (Kellner & Campos 2007).

Despite this great diversity and the large number of specimens recovered from the Araripe Basin (e.g., Kellner 1994, Pêgas *et al.*, 2016) most have been collected by local habitants, what resulted in a general lack of locality and stratigraphic data (Vila Nova *et al.*, 2011, Bantim *et al.*, 2014). Among the few exceptions is a partial wing (MPSR R 1395) that was briefly mentioned by Kellner *et al.*, (2013), who regarded this material as belonging to a very large pterosaur (maximized wingspan of *ca* 5.5 m). Here, we present a complete and detailed description of this specimen and perform osteohistological studies trying to access its ontogenetic status.

Anatomical abbreviations: dpc – deltopectoral crest of the humerus; etp – extensor tendon process; mus – muscle scars; epi – epiphysis; sul – sulcus; fo – foramen; ph1d4 – first phalanx

of fourth digit; ph2d4 - second phalanx of fourth digit; ph3d4 - third phalanx of fourth digit; ph4d4 - fourth phalanx of fourth digit; mcIV – wing metacarpal.

Histological abbreviations: vc – vascular canals; po – primary osteons; LAG – line of arrested growth; so – secondary osteons; t – trabeculae.

Institutional abbreviations: MPSC - Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri - Santana do Cariri, Brasil; NSM - Division of Vertebrate Paleontology, National Science Museum, Japan.

Location and stratigraphy

The specimen MPSR R 1395 was recovered during a controlled excavation carried out in the western portion of the Araripe Basin, at the locality known as Baixa Grande (S 07 09 '754' and W 39 59' 188 "), located in the municipality of Araripe (Saraiva *et al.*, 2016), in the state of Ceará, Brazil (Fig. 1). The stratigraphic sequence of this excavation is very similar to other fossiliferous sites at the Romualdo Formation that have been reported in the literature (e.g. Fara *et al.*, 2005, Vila Nova *et al.*, 2011), with levels of greenish calciferous shales, containing calcareous concretions, as well as septate and marl. The main difference from other sites is the geographic location, being much closer to the basement.

MPSC R 1395 was collected from a laminated concretion that was originally divided into seven parts (Fig. 1, c-d), from a layer that corresponds to the level known as the “second Matracão” (Fara *et al.*, 2005, Saraiva *et al.*, 2007, Vila Nova *et al.*, 2011). Measured from the border of the excavation, this 25 cm thick layer is located about 3.8 m deep. and was deposited above a level without carbonate concretions. The latter it is composed of greenish shales with several phytofossils (Lima 2013). Remains of ichnofossils (coprolites), woody fragments and a plant branch referable to *Brachyphyllum* were found close to the bones.

Please insert Figure 1 here

Material and methods

The specimen MPSC R 1395 is deposited at the Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri, in Santana do Cariri, Ceará State. It is an incomplete left wing containing the proximal part of the humerus, the distal part of the ulna, metacarpal IV, carpals, pteroid, complete first to third wing phalanges, and the proximal portion of the fourth wing phalanx.

Due to the high resistance of the sedimentary matrix, both mechanical and chemical standard preparation techniques were employed, following the procedures presented by Silva & Kellner (2006) but using acetic acid solution rather than the formic acid. that is less toxic. All steps for the chemical and mechanical preparation were carried out in the premises of the Laboratório de Paleontologia da URCA, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará State.

All elements of MPSC R 1395 were measured, photographed and described before sectioned, following the methodology proposed by Lamm (2013). For the preparation of the histological slides, samples of approximately one centimeter were obtained from the midshaft of each bone and from the methaphysis of some samples. They were soaked in Resapol T-208 epoxy resin, catalyzed with Butanox M50, and sectioned with the aid of a micro rotary tool (Dremel 4000 with 225 extender cable), with a coupled diamond disk. They were then thinned and polished using a metal polishing machine (AROPOL-E, AROTEC LTDA) with AROTEC abrasive grit (grit size 60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500). After polishing, the slides were assembled and re-polished until they were sufficiently translucent for observation of the osteohistological structures under a biological microscope.

The following bones were sectioned: humerus (diaphysis and metaphysis), the first wing phalanx (ph1d4, diaphysis), the second wing phalanx (ph2d4, diaphysis and metaphysis), the third wing phalanx (ph3d4, diaphysis) and fourth wing phalanx (ph4d4, metaphysis).

Traditionally, osteohistological studies use bone diaphysis for histological interpretation, since this region preserves more cortical tissue and registers growth marks compared to other areas (Francillon-Vieillot *et al.*, 1990, Andrade & Sayão 2014, Wang *et al.* 2015) but here we also took some additional samples of the metaphysis from areas of the bones that were fractured. The histological terminology used in our description follows that of Francillon-Vieillot *et al.*, (1990), and the osteohistological description was performed in the endosteal - periosteal direction.

Sections were examined and photographed under a transmitted light microscope (Zeiss Inc. Barcelona, Spain) coupled to an AxioCam camera operating the Axio Imager.M2 imaging software. A petrographic microscope (Opton, Hexasystems, Brazil) with a coupled camera was used for analysis under crossed nicols. All procedures for the elaboration of histological slides were carried out in the premises of the Laboratório de Biodiversidade do Nordeste – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco – Vitória de Santo Antão, Pernambuco State.

Results

MPSC R 1395 (Fig. 2) is composed of an incomplete left anterior limb of a pterodactyloid pterosaur. This specimen does not present anatomical characteristics that allow an accurate taxonomical positioning. It can be attributed to the Anhangueridae due to the ratio between the fourth metacarpal (268 mm) and the first wing phalanx (577 mm; $mcIV/ph1d4 = 0,46$), that has been regarded as characteristic for this group (Vila Nova & Sayão, 2012). Although only a small part (three cm) is absent from the first phalanx, the total length of this bone could be estimated without significantly altering the calculation of the size ratio between *mcIV* and *ph1d4*.

Description and comparisons

Only the proximal part of a left humerus (137 mm) is preserved (Fig. 2, a). The deltopectoral crest is warped, typical of pteranodontoids (Bennett 2001, Kellner 2003) and shows a relatively thickened ventral margin. A pneumatic foramen is present dorsally near the proximal articulation (the caput humeri). The medial region of the bone presents a rough surface, probably related to muscular insertion. It resembles other anhanguerid specimens, especially *Anhanguera piscator* (see Kellner & Tomida 2000). Based on the proportions of other anhanguerids, where the humerus is almost the same length as the IV metacarpal (e.g., Vila Nova & Sayão 2012), it is estimated that this bone was approximately 262 mm in length.

Only the distal portion of the ulna is preserved, (length: *ca* 130 mm). The preserved portion of the shaft is robust and has a cylindrical transverse section. The articulation surface shows three concave depressions (Fig. 2, b). The epiphysis (30 mm) is unfused and was found disarticulated near the distal region of this bone. This is a feature up to now found in young individuals (Kellner & Tomida 2000, Kellner 2015).

The sole preserved elements of the carpus are the lateral distal carpal and one element of the distal sincarpal (Fig. 2, h). The latter was not fused with other carpals indicating that the sincarpal was unfused, a feature observed in very young individuals (Kellner & Tomida 2000, Kellner 2015). The lateral distal carpal is well preserved, presenting no perceptible distortions. A depression is observed towards the proximal part in the sagittal view. The general morphology of the lateral carpal is very similar to that of other anhanguerids (Kellner & Tomida 2000).

An elongated and thin bone found associated with the carpal elements is here interpreted as the pteroid (Fig. 2, l). It is incomplete (69 mm), lacking both, the proximal articulation and the distal portions. This bone is flattened in anteroposterior view and partially distorted due to taphonomy. No pneumatic foramen was observed in the ventral region

1
2
3 differing from *Anhanguera araripensis*, *Anhanguera piscator* and *Pteranodon* that shows one
4
5 (Wellnhofer 1991, Kellner & Tomida 2000).
6
7

8
9 The wing metacarpal (mcIV) is the sole preserved element of the metacarpus. It is
10 complete (268 mm), robust and short (Fig. 2, c), typical of the pteranodontoid condition and
11 differing from other pterodactyloids such as the Tapejaridae that are also found in this
12 deposit (Vila Nova & Sayão 2012). Two pneumatic foramina are present on the distal
13 articulation, one on each, the posterior and anterior surface. The proximal articulation shows a
14 developed process that likely fits into a fovea on the distal carpal series (not preserved in this
15 specimen). The distal articulation shows the typical rounded surface that receives the first
16 wing phalanx. The proportional size of the mcIV is consistent with pteranodontoids,
17 particularly Anhangueridae (Kellner *et al.*, 2013).
18
19

20 The digits I, II and III are partially complete, with only the first phalanx of the first digit
21 (ph1d1) absent. All digits present their respective ungueals (Fig. 2, l-k). A size variation was
22 observed (digit I - 58 mm, digit II - 104 mm and digit III - 129 mm). The second phalanx of
23 digit III is presented in sub-round disc shape, where, in pterosaurs, it is generally smaller
24 (Kellner & Tomida 2000). All ungueals are curved and laterally compressed, with grooves
25 and lateral concave surfaces. The wing finger contains the first, second and third complete
26 phalanges, with a partial fourth phalanx, displaying a total length of 1647 mm. The first
27 phalanx of the wing digit (ph1d4) is elongated and has an unfused extensor process (Fig. 2,
28 d). At the base, where the extensor process fits, there is a cavity (15 mm), where the
29 pneumatic foramen is present. This foramen was possibly constituted by cartilage (Kellner &
30 Tomida 2000). The first phalanx is larger than the others, typical of most pteranodontoids
31 (Kellner & Tomida 2000, Bennett 2003, Vila Nova & Sayão 2012). The position of the
32 disarticulated extensor process of the first phalanx reinforces the idea that this specimen was a
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

young individual, despite its large proportions. The second phalanx of the wing digit (ph2d4) is smaller than the first (Fig. 2, e). The cranial and caudal portions of this phalanx are flattened dorsoventrally and expanded relative to the shaft. The third wing phalanx (ph3d4) presents thin and worn proximal oval and distal articulations (Fig. 2, f), displaying a total length of 436 mm, from the medial to the distal portion. The distal articulation was probably eroded due to weathering, and lost the uppermost external bone layer. The ph3d4 is dorsoventrally flattened and the articular surface is convex, presenting certain porosity at both the proximal and distal articulations. The fourth phalanx (ph4d4) is incomplete with the preserved portion about 80 mm long (Fig. 2, g). It is well preserved, showing the outermost bone layer, lacks any calcite filling in its inner portion.

Please insert figure 2 here

Histological characterization

The humerus shows a free medullary cavity (Fig. 3). The presence of internal circumferential lamellae is not observed on the endosteal surface. Osteocytes lacunae are flattened and organized longitudinally throughout the cortex. The cortex is relatively thick, measuring approximately 800 µm, composed of lamellar bone tissue, with organized vascular canals, sometimes in longitudinally and laminarly (anastomosed) pattern. Due to the absence of circumferential lamellae and secondary osteons, this is characterized as a primary tissue (*sensu* Sayão 2003, Steel 2008). Few primary osteons are seen in the lower portion of the cortex, with diameters ranging from 15 to 22 µm approximately. Primary osteons increase in number in the upper portion of the cortex (near the periosteal surface), ranging from 14 to 33 µm in diameter. No secondary osteons or growth marks are present in this bone, indicating that, at the time of its death, the bone deposition rates had decreased, probably due to the

formation of the inner circumferential lamella and the external fundamental system (EFS). All the osteohistological features of the humerus point to a juvenile ontogenetic stage.

Please insert Figure 3 here

The cortex of the ulna is quite thick, at least 1300 μm wide, composed of secondary bone tissue. A free marrow cavity with no trabeculae can be observed in the cross sections (Fig. 4). No preservation of the inner circumferential lamella on the endosteal surface occurred. An approximately 300 μm layer, containing longitudinally organized lacunae of osteocytes and some secondary osteons in initial formation (at least 6), with diameter ranging from 10 to 18 μm , is observed in the periosteal direction. These osteons are located very close to the endosteal surface, suggesting osteoclastic erosion activity (Lu *et al.*, 2016). At the top of this layer a growth line is preserved. The predominant bone tissue above the line of arrested growth is a parallel fibrous or pseudo-lamellar tissue, with anastomosed, longitudinally oriented and reticular vascular canals. A second growth mark is observed near the periosteal surface, preserved in the form of a dark irregular line, classified as annulus. In this bone, primary osteons are also distributed along the cortex but absent in the endosteal region.

Please insert figure 4 here

The medullary cavity of the first wing phalanx is completely filled by post-diagenetic calcite fringes. Due to the expansion of these fringes, the bone presents several vertical fractures, cutting into the cortex. Unlike the one observed in the humerus and ulna, this phalanx presents trabeculae with 110 to 200 μm in length cutting the inside of the bone marrow. Some secondary osteons with diameter ranging 10-15 μm are present on the endosteal surface,

1
2
3 indicating that the bone remodeling process would be in the initial stage. In the periosteum,
4
5 the cortex is composed of relatively thin lamellar bone tissue (580 μm thick), containing few
6
7 radially aligned primary osteons (Fig. 5). The absolute majority of vascular canals area are
8
9 arranged longitudinally, with a few arranged in a reticular pattern. A growth line is present in
10
11 the medial region of the cortex. There is no deposition of internal or external circumferential
12
13 lamellae. The absence of these structures determines that the individual has not yet reached its
14
15 asymptotic development, allowing the bone to grow linearly (Sayão 2003, Steel 2008, Lu *et*
16
17 *al.*, 2016).
18
19

20
21
22
23 Please insert figure 5 here
24
25
26

27 In ph2d4 the medullary cavity is composed of calcite crystals filling up the bone. The
28
29 cortex is thick, approximately 1000 μm , comprising parallel fibered tissue (PFB), with
30
31 vascular canals arranged in a longitudinal and reticular pattern (Fig. 6). The endosteal surface
32
33 is irregular and does not possess the inner circumferential lamellae. An arrested growth line is
34
35 clearly visible near the endosteum. The vascular canals are predominantly reticularly
36
37 organized in the medial part of the cortex, containing some secondary osteons, ranging
38
39 between 20 and 35 μm in diameter. The vascular canals near the periosteal surface are
40
41 predominantly organized longitudinally. No external lamellae are present.
42
43
44
45
46

47 Please insert figure 6 here
48
49
50

51 In general, the cortex of the ph4d4 is fractured due to the expansion of calcite veins,
52
53 reflecting the preservation of this bone microstructure. The bony tissue is composed of
54
55 lamellar tissue, with vascular canals organized in a longitudinal pattern. The medullary cavity
56
57
58
59
60

is filled by fine trabeculae. The endosteal surface is irregular and does not present the inner circumferential lamellae. The cortex is relatively thin, approximately 445 μm thick (Fig 7). Some secondary osteons are present in the medial part of the cortex, ranging from 10 and 20 μm in diameter. No external circumferential lamellae are present.

Please insert figure 7 here

Discussion

As in other fossiliferous deposits, complete pterosaurs fossils are rarely found in the Romualdo Formation (Kellner & Tomida 2000), compared to the quantity of fossil fish, for example. Thus, since the initial studies of these flying reptiles, the description of new taxa was generally based on incomplete or partial material (Kellner 1998, 2006). MPSC R 1395 is one of the few pterosaur specimens recovered from a controlled excavation, with accurate stratigraphic and geographic data. Before that, Vila Nova *et al.*, (2001) recovered from a previous controlled excavation done at the locality Romualdo, a wing metacarpal and the first phalanx of the alar digit. A second specimen was collected in the surrounding area of the Pterosaurs Park, consists of almost complete skull that became the holotype of *Maaradactylus kellneri* described by Bantim *et al.*, (2014). The finding of these specimens reinforced the importance of controlled excavations (e.g., Fara *et al.*, 2005; Vila Nova *et al.*, 2001) to have a better feeling of the stratigraphic distribution of several taxa, including pterosaurs. It should be noted that in none of such excavation yielded a pterosaur bone bed, which proved to be remarkably rare in the geological record (Manzig *et al.* 2014; Wang *et al.*, 2014).

Although not allowing for a more detailed taxonomic classification, MPSC R 1395 shares a synapomorphies with the clade Pteranodontoidea (*sensu* Kellner 1996, 2003): a warped deltopectoral crest of the humerus. Similarities with *Anhanguera piscator* are observed such

as a smooth proximal humerus articulation, containing a posteriorly curved deltopectoral crest. In addition, the ulna in *A. piscator* shows three depressions in its proximal and distal regions, as does MPSC R 1395. They also share the non-fusion of some bones such as carpals, the extensor process of the first wing phalanx and the epiphyses of the ulna (MPSC R 1395) and humerus (*Anhanguera piscator*), what suggests that they might have had a similar ontogenetic stage at time of death. Differences are observed when MPSC R 1395 is compared with *Barbosania gracilirostris* Elgin & Frey (2011). In the *Barbosania*, the deltopectoral crest of the humerus, begins at the proximal part and is oriented ventrolaterally. Regarding the ulna, *B. gracilirostris* presents an oval distal region without the tubercles highlighted at each end, in contrast to MPSC R 1395. The ventral condyle of the *B. gracilirostris* ulna is directed ventrally and extends to the cranial surface of the mcIV, while in MPSC R 1395 the ventral condyle is slightly directed towards the proximal part, although it does not extend further than the condyle of the dorsal surface.

This specimen corresponds to a non-fully mature animal but exhibits large body proportions, as observed by the wingspan which is estimated *ca* 5.5 m (see Kellner *et al.*, 2013 for wingspan calculations). To date, only a few pterosaur specimens have been considered giants (Witton & Habib 2010, Naish & Witton 2017). To consider a pterosaur as reaching giant size is somewhat controversial due to the difficulties in establishing the maximum size a species could attain (Averianov *et al.*, 2005, Witton e Naish 2008, Rodrigues *et al.*, 2011, Novas *et al.*, 2012, Kellner *et al.*, 2013). Very few studies have attempted to establish the maximum size that a pterosaur could reach at the end of its growth.

The occurrence of large pterosaurs in the Albian Romualdo Formation was first reported by Dalla Vecchia & Ligabue (1993), with the description of the distal portion of a large wing phalanx, associating this fossil with a pterodactyloid pterosaur. Later, Martill & Unwin (2012), when reanalyzing this material, agreed that it was a "giant" individual, but that it

should be associated with the Azhdarchoidea group, because this phalanx could represent a large individual, such as *Thalassodromeus* or *Tupuxuara*. However, Kellner *et al.*, (2013) pointed out that there is a considerable difference between azhdarchoid (including Thalassodrominae) and pteranodontoid (including Anhangueridae) wing element proportions: while pteranodontoids have comparatively large wings relative to the body size, the reverse is true for azhdarchoids that have shorter wings and, therefore, comparatively smaller wingspans (Kellner, 2003; Kellner *et al.*, 2013). Recently, *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* (MN 6594-V), was considered as a giant, representing the largest winged vertebrate recovered from any Gondwanic deposits (Kellner *et al.*, 2013). Since several anatomical and osteohistological aspects of MPSC R 1395 points to an individual that was very young and was not fully grown, we regard that it could have reached a much larger wingspan falling into the category of giants (Kellner *et al.*, 2013). Pterosaur ontogeny is one of a much-discussed topic within the study of fossil archosaurs (Sayão, 2003, Steel, 2008, Kellner, 2015). Despite this, some characteristics have been widely used in determining different ontogenetic stages. It is now accepted that the fusion of certain bones, such as carpals, the extensor process of the first wing phalanx, and some cranial bones indicate more advanced ontogenetic stages in these animals (Bennett 1993, Frey and Martill 1998, Kellner & Tomida 2000, Sayão 2003, Kellner 2015). Despite of not presenting the preserved skull, MPSC R 1395 shows an unfused carpal series, as well as extensor process of the first wing phalanx and the presence of the humeral epiphysis in the same condition, suggesting that, according to these criteria, this is a juvenile individual. Following the Kellner (2015) proposal, MPSC R 1395 may be considered a juvenile individual in a stage ontogenetic stage 2 (OS2) (Kellner 2015). Still according to this model, to reach OS3, bones as the carpals should be fused, a condition not observed in MPSC R 1395. The large size of this individual also suggests that there might be other ontogenetic stages between OS2 and OS3 that could not be separated so far.

As morphological characteristics used for ontogenetic characterization, some osteohistological features indicate the ontogenetic stage of the analyzed sample. One of these structures, the circumferential lamellae, is present only in adult organisms (Steel 2008). The histological sections of MPSC R 1395 showed the absence of internal and external circumferential lamellae (EFS) in all analyzed bones. The external circumferential lamellae (EFS) is a form of microstructural bone deposit, sometimes preserved in the outermost portion of the cortex, especially in long bones (Woodward *et al.*, 2011). This structure is poorly vascularized and composed of parallel fibered or lamellar tissue, deposited slowly, producing a smooth "bone finishing surface" (e.g. Cormack 1987, Starck & Chinsamy 2002, Ponton *et al.*, 2004). It can be found in long bones when animals reach their skeletal maturity (Andrade *et al.*, 2015). When this layer is present in bones, it indicates a growth cessation in the periosteal circumference of the bones, and, thus skeletal maturity, although the bones can still become more robust (Lee & O'Connor 2013, Woodward *et al.*, 2011, Andrade & Sayão 2014). EFS have been reported in many reptile groups, but the idea that these animals could grow continuously throughout their lives still endures. This structure has also been reported in mammals (Cormack 1987), birds (Ponton *et al.*, 2004), Crocodilians (Andrade *et al.* 2015), non-avian dinosaurs (Erickson *et al.*, 2004, Horner & Padian 2004, Padian *et al.*, 2004), as well as pterosaurs (Sayão 2003, Steel 2008, Kellner *et al.*, 2013). This structure is absent in MPSC R 1395 samples, indicating an early ontogenetic stage.

When young, pterosaurs histologically resemble birds due to the presence of primary bone tissue with plexiform canals (de Ricqlés *et al.*, 2000). As they progress in their ontogeny, their growth rates tend to slow, in contrast to what is observed in birds (Sayão 2003). Two growth stages after the newborn were proposed to *Pterodaustro guinazui* from Lower Cretaceous deposits of Argentina (Chinsamy *et al.*, 2009). The first is characterized by an initial stage composed of fast-growing cycles and comprising zonal fibro-lamellar bone tissue, with

annulus. It was subsequently replaced by a later growth phase with parallel fibered lamellar bone cycling cycles, interrupted by LAGs (Chinsamy *et al.*, 2009).

The presence of growth lines in MPSC R 1395, as well as the incidence of fibered and lamellar parallel tissue in a same bone sample, and total absence of circumferential lamella and EFS indicates that MPSC R 1395 growth was active and constant, representing a young animal (see Horner *et al.*, 1999 for a review). These characteristics coincide with the morphological observation that, essentially, all the elements that tend to fuse in an adult stage are unfused (for example, Bennett 1993, Kellner & Tomida 2000, Kellner 2015).

As observed by Sayão (2003), Prondvai (2012) and Eleutério *et al.*, (2015), the specimen analyzed herein also shows bone histovariability, which can corroborate the hypothesis that pterosaurs present different growth rates for each bone. The presence of growth lines, observed only in the ulna and the first wing phalanx, supports the evidence of growth variation of MPSC R 1395 bones. The absence of these lines in some bones might be explained due to the high rates of bone resorption that occur in pterosaur bones (Sayão 2003). In addition, lines of arrested growth can be obliterated by secondary reconstruction (Sayão 2003). Thus, in addition to known reasons for histovariability, the biomechanical factor was previously added by Eleutério *et al.*, 2015. Histovariability within a single individual is not as common within archosaurs, being observed only in some dinosaur groups and crocodylomorphs (Horner *et al.*, 1999, Sander 2000, de Ricqlès *et al.*, 2000, Werning 2012; Woodward *et al.*, 2014).

Conclusions

MPSC R 1395 shares pteranodontoid characteristics, and, within this group the proportional size of the wing metacarpal is consistent with that of Anhangueridae. It is a young specimen based on the presence of unfused bone elements, which had not finished their total asymptotic

growth yet, so the individual would be able to attain greater body proportions. The absence of typically adult structures, such as bone resorption cavities, internal or external circumferential lamellae (EFS *External Fundamental System*) and the deposition of arrested growth lines, are evidence of this interpretation. We conclude, therefore, that MPSC R 1395 is a not fully grown individual and that its bone samples can document the transition from a sub-adult stage to the final body development of an adult, as the bones show clear signs of active growth. As observed here, macroanatomical data interpretation don't match with the microstructure arrangement, so that the former cannot be considered the only source for its ontogenetic assignment. Although the unfused bones indicate a young stage, the histological sections point to a more advanced growth stage, with the presence of growth lines and secondary osteons, pointed to a sub-adult. To avoid misinterpretations about the ontogenetic stage of pterosaur specimens, here we suggest that future works should be accompanied by an osteohistological analysis, bringing more reliability to the analysis.

Acknowledgements

The authors thank the late Dr. Plácido Cidade Nuvens (1943-2016), former director of the Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri for the access to the specimen MPSC R 1395. We also would like to thank Fabiana Costa Nunes (UFABC), Gustavo Oliveira (UFRPE), and Bruno Vila Nova (FFCL_USP) for valuable discussions and suggestions that improved this manuscript. This project was partially funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq with grants to AWAK (#304780/2013-8), JMS (#458164/2014-3), AAFS and a fellowship to RAMB (#140555/2013-7). Other foundations that also provided financial support to this research is The Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP

(fellowships to AÁFS and JSF) and the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (grant #E-26/202.893/2015 to AWAK).

References

ANDRADE, R.C.L.P. & SAYÃO, J.M., 2014. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). *Plos One*, 7, 102-189. doi:10.1371/journal.pone.0102189.

ANDRADE, R.C.L.P., BANTIM, R.A.M., LIMA, F.J., CAMPOS, L.S., ELEUTÉRIO, L.H. S. & SAYÃO, J.M., 2015. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. *Cadernos de Cultura e Ciência* 14 (1), 200-211.

AVERIANOV, A.O., ARKHANGELSKY, M.S., PERVUSHOV, E.M. & IVANOV, A.V., 2005. A new record of an Azhdarchid (Pterosauria: Azhdarchidae) from the Upper Cretaceous of the Volga Region. *Journal of Paleontology* 40, 91-97.

BANTIM, R.A.M., SARAIVA, A.A.F., OLIVEIRA, G.R. & SAYÃO, J.M., 2014. A new toothed pterosaur (Pterodactyloidea: Anhangueridae) from the Early Cretaceous Romualdo Formation, NE Brazil. *Zootaxa* 3869, 201-223. doi:10.11646/zootaxa.3869.3.1.

BENNETT, S.C., 1993. The ontogeny of *Pteranodon* and other pterosaurs. *Paleobiology* 19, 92-106.

BENNETT, S.C., 2001. The osteology and functional morphology of the Late Cretaceous pterosaur *Pteranodon*. Part I. General description of osteology. *Palaeontographica A* 260, 1-153.

BENNETT, S.C., 2003. A survey of pathologies of large pterodactyloid pterosaurs. *Palaeontology* 46 (1), 185-198.

CHINSAMY, A., CODORNIÚ, L. & CHIAPPE, L.M., 2009. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. *The Anatomical Record* 292, 1462-77. doi:10.1002/ar.20990.

CORMACK, D.H., 1987. *Ham's Histology*. JB Lippincott Company, Philadelphia, 792pp.

DALLA VECCHIA, F.M. & LIGABUE, G., 1993. On the presence of a giant pterosaur in the Lower Cretaceous (Aptian) of Chapada do Araripe (northeastern Brazil). *Bollettino della Società Paleontologica Italiana* 32, 131-136.

DE RICQLÈS, A., PADIAN, K., HORNER, J.R. & FRANCILLON-VIEILLOT, H., 2000. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. *Zoological Journal of the Linnean Society* 129, 349-385. doi:10.1111/j.1096-3642.2000.tb00016.x.

1
2
3 ELEUTÉRIO, L.H.S., BANTIM, R.A.M., LIMA, F.J., ANDRADE, R.C.L.P., SARAIVA,
4
5 A.A.F., KELLNER, A.W.A. & SAYÃO, J.M., 2015. Biomechanical and physiological
6
7 influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea).
8
9
10 *Revista Brasileira de Paleontologia* 18(3): 403-412.

11
12
13
14 ELGIN, R.A. & FREY, E., 2012. A nearly complete ornithocheirid pterosaur from the Aptian
15
16 (Early Cretaceous) Crato Formation of NE Brazil. *Acta Palaeontologica Polonica* 57, 101-
17
18 110. doi:10.4202/app.2010.0079.

19
20
21
22
23 ERICKSON, G.M., MAKOVICKY, P.J., CURRIE, P.J., NORELL, M.A., YERBY, S.A. &
24
25 BROCHU, C.A., 2004. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid
26
27 dinosaurs. *Nature* 430, 772-775.

28
29
30
31
32 FARA, E., SARAIVA, A.A.F., CAMPOS, D.A., MOREIRA, J.K.R., SIEBRA, D.C. &
33
34 KELLNER, A.W.A., 2005. Controlled excavations in the Romualdo Member of the Santana
35
36 Formation (Early Cretaceous, Araripe Basin, northeastern Brazil): stratigraphic,
37
38 palaeoenvironmental and palaeoecological implications. *Palaeogeography Palaeoclimatology*
39
40 *Palaeoecology* 218, 145-160.

41
42
43
44
45 FRANCILLON-VIEILLOT, H.J., ARNTZEN, W. & GERAUDIE, J., 1990. Age, growth and
46
47 longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *Triturus marmoratus* and their hybrids (Amphibia,
48
49 Urodela): a skeletochronological comparison. *Journal of Herpetology* 24, 13-22.
50
51
52 doi:10.2307/1564284.

FREY, E. & MARTILL, D.M., 1998. Late ontogenic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Monatshefte* 10, 587–94.

HORNER, J.R., DE RICQLÈS, A. & PADIAN, K., 1999. Variation in dinosaur skeletochronology indicators: implications for age assessment and physiology. *Paleobiology* 25, 295-304.

HORNER, J.R. & PADIAN, K., 2004. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. Proceedings of the Royal Society of London, Series B, 271: 1875-1880 implications. *Zoological Journal of the Linnean Society* 129, 349-385. doi:10.1111/j.1096-3642.2000.tb00016.x.

KELLNER, A.W.A., 1989. Os répteis voadores do Cretáceo Brasileiro. *Anais do Instituto de Geociências*, 86-106.

KELLNER, A.W.A., 1994. Remarks on pterosaur taphonomy and paleoecology. *Acta Geologica Leopoldensia* 39 (1), 175-189.

KELLNER, A.W.A. 1996. Reinterpretation of a remarkably well preserved pterosaur soft tissue from the Early Cretaceous of Brazil. *Journal of Vertebrate Paleontology* 16, 718-722.

KELLNER, A.W.A. 1998. Panorama e perspectivas do estudo de répteis fósseis no Brasil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 70 (3), 647-676.

KELLNER, A.W.A. 2003. Pterosaur phylogeny and comments on the evolutionary history of the group. 105–137. — in Buffetaut, E. & Mazin, J.-M., (eds.) (2003): Evolution and Palaeobiology of Pterosaurs. *Geological Society of London, Special Publications* 217, London, 1-347

KELLNER, A.W.A., 2006. *Pterossauros - os senhores do céu do Brasil*. Rio de Janeiro, Vieira & Lent, 176 pp.

KELLNER, A.W.A., 2015. Comments on Triassic pterosaurs with discussion about ontogeny and description of new taxa. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 87(2), 669-689.
<http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201520150307>

KELLNER A.W.A. & CAMPOS, D.A., 2007. Short note on the ingroup relationships of the Tapejaridae (Pterosauria, Pterodactyloidea). *Boletim do Museu Nacional-Geologia* 75, 1–14.

KELLNER, A.W.A., CAMPOS, D.A., SAYÃO, J.M., SARAIVA, A.A.F., RODRIGUES, T., OLIVEIRA, G., CRUZ, L.A., COSTA, F.R., SILVA, H.P. & FERREIRA, J.S., 2013. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 85, 113-135. doi:10.1590/S0001-37652013000100009.

KELLNER, A.W.A. & TOMIDA, Y., 2000. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. *National Science Museum Monographs* 17, 1-135.

LAMM, E.T., 2013. Preparation and Sectioning of Specimens. In *Bone Histology of Fossil Tetrapods*. PADIAN, K., LAMM, E.T., eds, University of California Press. California, 55-160.

LEE, A.H. & O'CONNOR, P.M., 2013. Bone histology confirms determinate growth and small body size in the noasaurid theropod *Masiakasaurus knopfleri*. *Journal of Vertebrate Paleontology* 33 (4), 865- 876.

LIMA, F.J., 2013. *Posicionamento estratigráfico dos vegetais fósseis da Formação Romualdo, Cretáceo Inferior da Bacia do Araripe*. Masters dissertation, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 70pp.

LU, J., KUNDRÁT, M. & SHEN, C. 2016. New Material of the Pterosaur Gladocephaloideus Lü *et al.*, 2012 from the Early Cretaceous of Liaoning Province, China, with Comments on Its Systematic Position. *Plos ONE* 11(6), 0154888. doi:10.1371/journal.pone.0154888

MARTILL, D.M. & UNWIN, D.M., 2012. The world's largest toothed pterosaur, NHMUK R481, an incomplete rostrum of *Coloborhynchus capito* (Seeley, 1870) from the Cambridge Greensand of England. *Cretaceous Research* 34, 1-9.

MANZIG, P. C., KELLNER, A. W. A., WEINSCHÜTZ, L. C., FRAGOSO, C. E., VEGA, C. S., GUIMARÃES, G. B., GODOY, L. C., LICCARDO, A., RICETTI, J. H. Z. & DE MOURA, C. C. 2014. Discovery of a rare pterosaur bone bed in a Cretaceous Desert with insights on ontogeny and behavior of flying reptiles. *Plos One*, 9(8): e100005.

NAISH, D. & WITTON, M.P. 2017. Neck biomechanics indicate that giant Transylvanian azhdarchid pterosaurs were short-necked arch predators. *Peer J* 5, e2908.

NOVAS, F.E., KUNDRAT, M., AGNOLÍN, F.L., EZCURRA, M.D., AHLBERG, P.E., ISASI, M.P., ARRIAGADA, A. & CHAFRAT, P., 2012. A new large pterosaur from the Late Cretaceous of Patagonia. *Journal of Vertebrate Paleontology* 32, 1147-1452.

PADIAN, K., HORNER, J.R. & DE RICQLÈS, A.J., 2004. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. *Paleontology* 24, 555-571. doi:10.1671/0272- 4634(2004)024[0555:gisdap]2.0.co;2.

PÊGAS, R.V., LEAL, M.E.C. & KELLNER, A.W.A., 2016. A Basal Tapejarine (Pterosauria; Pterodactyloidea; Tapejaridae) from the Crato Formation, Early Cretaceous of Brazil. *PLoS ONE* 11(9): e0162692. doi:10.1371/journal.pone.0162692

PONTON, F., ELZANOWSKI, A., CASTANET, J., CHINSAMY, A., DE MARGERIE, E., DE RICQLÈS, A.J. & CUBO, J., 2004. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds. *Acta Ornithologica* 39, 21-24.

PRONDVAI, E., STEIN, K., ÖSI, A. & SANDER, M.P. 2012. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. *Plos One* 7, e31392. doi:10.1371/journal.pone.0031392.

RODRIGUES, T. & KELLNER, A.W.A., 2013. Taxonomic review of the *Ornithocheirus* complex (Pterosauria) from the Cretaceous of England. *ZooKeys* 308, 1-112.

RODRIGUES, T., KELLNER, A.W.A., MADER, B.J. & RUSSELL, D., 2011. New pterosaur specimens from the Kem Kem beds (Upper Cretaceous, Cenomanian) of Morocco. *Rivista Italiana di Paleontologia e Stratigrafia* 117, 149-160.

SANDER, M.P., 2000. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: implications for growth and biology. *Paleobiology* 26, 466-488. doi: 10.1666/0094-8373(2000)026<0466:lhotts>2.0.CO;2.

SARAIVA, A.A.F., BARROS, O.A., BANTIM, R.A.M., LIMA, F.J., 2014. *Guia para trabalhos de Campo em paleontologia na Bacia do Araripe*. Expressão Gráfica Editora, Fortaleza, 108pp.

SARAIVA, A.A.F., HESSEL, M.H., GUERRA, N.C. & FARA, E., 2007. Concreções calcárias da Formação Santana, Bacia do Araripe: uma proposta de classificação. *Estudos Geológicos* 17(1), 40-57.

SARAIVA, A.A.F., LIMA, F.J., BANTIM, R.A.M., VILA NOVA, B.C., SAYÃO, J.M. & KELLNER, A.W.A. 2016. Sítio Baixa Grande – nova localidade fossilífera para a Formação Romualdo (Grupo Santana), Bacia do Araripe. *Cadernos de cultura e Ciência* 15(1), 03-18.

SAYÃO, J.M., 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. In: *Evolution and palaeobiology of pterosaurs*. BUFFETAUT, E. & MAZIN, J.M., eds, Geological Society 217, 335-342. doi:10.1144/GSL.SP.2003.217.01.21.

SAYÃO, J.M., VILA NOVA, B.C., FRANÇA, M.A., OLIVEIRA, G.R., LIMA, F.J. & SARAIVA, A.A.F., 2015. Fósseis do Araripe – Um exemplo de diversidade ao longo do tempo profundo. In *Sociobiodiversidade na Chapada do Araripe*, ALBUQUERQUE, U.P.E. & MEIADO, M.V. Canal 6 Editora, Bauru, 535pp.

SILVA, H.P. & KELLNER, A.W.A., 2006. A combinação de técnicas na preparação de vertebrados fósseis: o exemplo de *Thalassodromeus sethi* (Pterosauria, Tapejaridae). In: *Paleontologia de vertebrados grandes temas e contribuições científicas*, Gallo, V., Brito, P. M., Silva, H.M.A. & Figueiredo, F.J. eds. Editora Interciência, Rio de Janeiro, 330pp.

STARCK, J.M. & CHINSAMY, A., 2002. Bone microstructure and developmental plasticity in birds and other dinosaurs. *Journal of Morphology* 254, 232-246.

STEEL, L., 2008. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. *Zitteliana* 28, 109-125.

VILA NOVA, B.C., SARAIVA, A.A.F., MOREIRA, J.K.R. & SAYÃO, J.M., 2011. Controlled excavations in the Romualdo Formation Lagerstätte (Araripe Basin, Brazil) and pterosaur diversity: remarks based on new findings. *Palaios* 26, 173-179. doi:10.2110/palo.2010.p10-072r.

VILA NOVA, B.C. & SAYÃO, J.M., 2012. On wing disparity and morphological variation of the Santana Group pterosaurs. *Historical Biology* 24, 567-574. doi:10.1080/08912963.2012.658386.

WANG, X., KELLNER, A. W. A., CHENG, X., JIANG, S., WANG, Q., SAYÃO, J.M., RODRIGUES, T., COSTA, F.R., LI, N., MENG, X. & ZHONGHE, Z. 2015. Eggshell and histology provide insight on the life history of a pterosaur with two functional ovaries. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 87(3): 669-689.

WANG, X., KELLNER, A. W. A., JIANG, S., WANG, Q., MA, Y., PAIDOUOLA, Y., CHENG, X., RODRIGUES, T., MENG, X., ZHANG, J., LI, N. & ZHOU, Z. 2014. Sexually Dimorphic Tridimensionally Preserved Pterosaurs and Their Eggs from China. *Current Biology*, 24(12): 1323-1330

WELLNHOFER, P., 1991. *The illustrated encyclopedia of pterosaurs*. Salamander Books, Londres, 192 pp.

WERNING, S., 2012. The Ontogenetic Osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. *Plos ONE* 7: 3.

1
2
3 WITTON, M.P. & HABIB, M.B., 2010. On the size and flight diversity of giant pterosaurs,
4 the use of birds as pterosaur analogues and comments on the pterosaur flightlessness. *Plos*
5 *ONE*, 5(11), e13982.
6
7
8
9

10
11 WITTON, M.P. & NAISH, D., 2008. A reappraisal of azhdarchid pterosaur functional
12 morphology and paleoecology. *Plos ONE* 3, e2271.
13
14
15
16
17

18 WOODWARD, H.N., HORNER, J.R. & FARLOW, J.O., 2011. Osteohistological evidence
19 for determinate growth in the American Alligator. *Journal of Herpetology* 45(3), 339-342.
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure 1 – Geographical and geological informations of Baixa Grande site excavation. (a) Location of the Araripe Basin in South America. (b) Outline of the Araripe Plateau, that covers areas of the states of Ceará, Piauí and Pernambuco in Northeastern Brazil. (c) Stratigraphic scheme of the controlled excavation at Baixa Grande site using the strata nomenclature proposed by Fara et al., (2005) and followed by Vila Nova et al., (2011). (d) Field work that the Baixa Grande site during the extraction of MPSC R 1395. Maps in (a) and (b) after Sayão *et al.*, (2011). The field work photograph is a courtesy of Lara Velho.

Figure 2 – Appendicular elements of MPSC R 2395. (a) Incomplete humerus in lateral view. (b) Incomplete ulna in ventral view and an isolated epiphysis. (c) McIV in cranial view. (d) ph1d4 in dorsal view with disarticulated extensor process. (e) ph2d4 in dorsal view. (f) ph3d4 in dorsal view. (g) ph4d4 in dorsal view. (h) Proximal sincarpal and distal sincarpal. (i) Ungueals. (j) - (k) Phalanges of digits I, II and III. (j) Pteroid. The dashed line represents the sampled area for the histological slides. Scale: 100 mm.

Figure 3 - Transverse sections of the humerus of MPSC R 1395 under transmitted light microscope. The humerus cortex is composed of several premature primary canals and laminar and longitudinal canals. Scale: 350 µm. Scale: 300 µm. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; po - primary osteons.

Figure 4 - Transverse sections of the ulna of MPSC R 1395 under transmitted light microscope. The ulna cortex shows the presence of secondary osteons, annulus,LAG and

laminar vascular canals. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

Figure 5 - Transverse section of ph1d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph1d4 cortex composed of numerous primary and secondary osteons cut by longitudinal vascular canals and one lag. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; po - primary osteons; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

Figure 6 - Transverse sections of the ph2d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph2d4 cortex showing the presence of secondary osteons, one LAG and anastomosed vascular canals. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

Figure 7 - Transverse sections of the ph4d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph4d4 cortex showing the presence of secondary osteons, anastomosed laminar vascular canals and trabeculae. Scale: 250 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; so - secondary osteons; t - trabecullum.

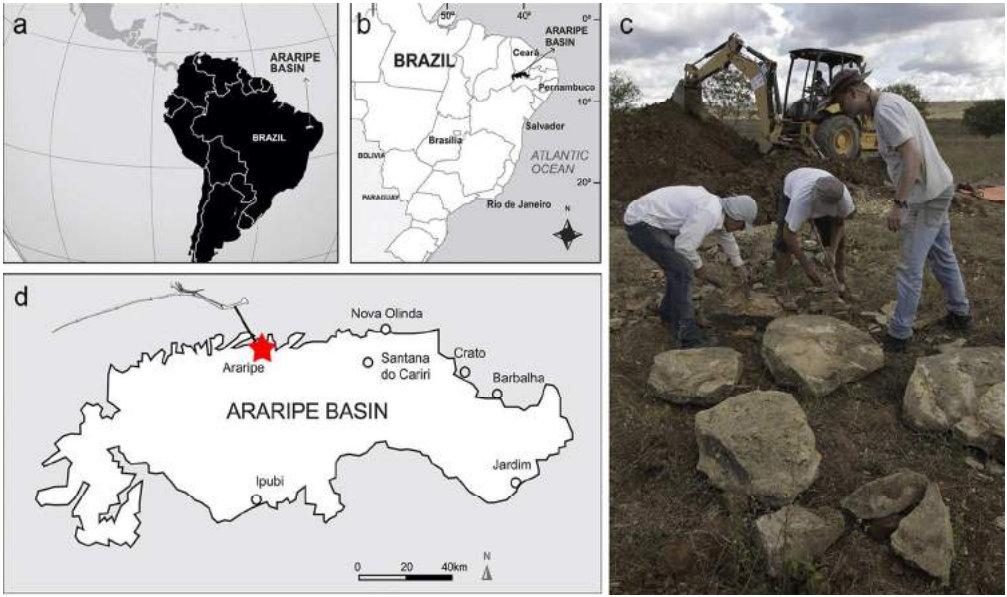


Figure 1 - Geographical and geological information of Baixa Grande site excavation. (a) Location of the Araripe Basin in South America. (b) Outline of the Araripe Plateau, that covers areas of the states of Ceará, Piauí and Pernambuco in Northeastern Brazil. (c) Stratigraphic scheme of the controlled excavation at Baixa Grande site using the strata nomenclature proposed by Fara et al., (2005) and followed by Vila Nova et al., (2011). (d) Field work that the Baixa Grande site during the extraction of MPSC R 1395. Maps in (a) and (b) after Sayão et al., (2011). The field work photograph is a courtesy of Lara Velho.

168x99mm (300 x 300 DPI)



Figure 2 – Appendicular elements of MPSC R 2395. (a) Incomplete humerus in lateral view. (b) Incomplete ulna in ventral view and an isolated epiphysis. (c) McIV in cranial view. (d) ph1d4 in dorsal view with disarticulated extensor process. (e) ph2d4 in dorsal view. (f) ph3d4 in dorsal view. (g) ph4d4 in dorsal view. (h) Proximal sincarpal and distal sincarpal. (i) Ungueals. (j) - (k) Phalanges of digits I, II and III. (j) Pteroid. The dashed line represents the sampled area for the histological slides. Scale: 100 mm.

160x220mm (299 x 299 DPI)

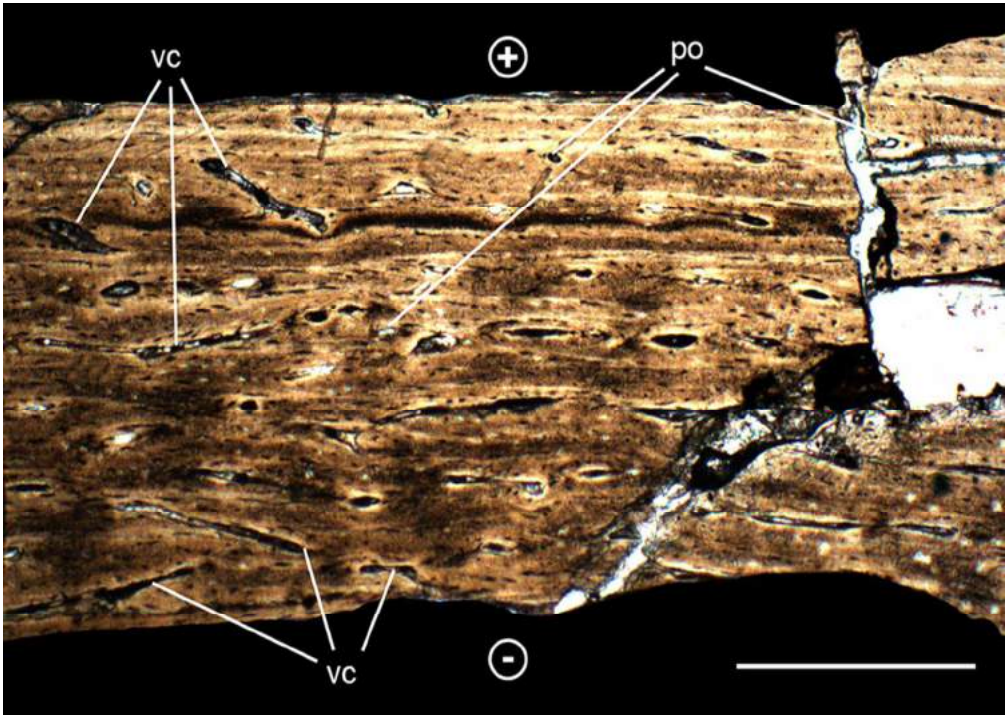


Figure 3 - Transverse sections of the humerus of MPSC R 1395 under transmitted light microscope. The humerus cortex is composed of several premature primary canals and laminar and longitudinal canals. Scale: 350 μ m. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; po - primary osteons.

168x120mm (300 x 300 DPI)

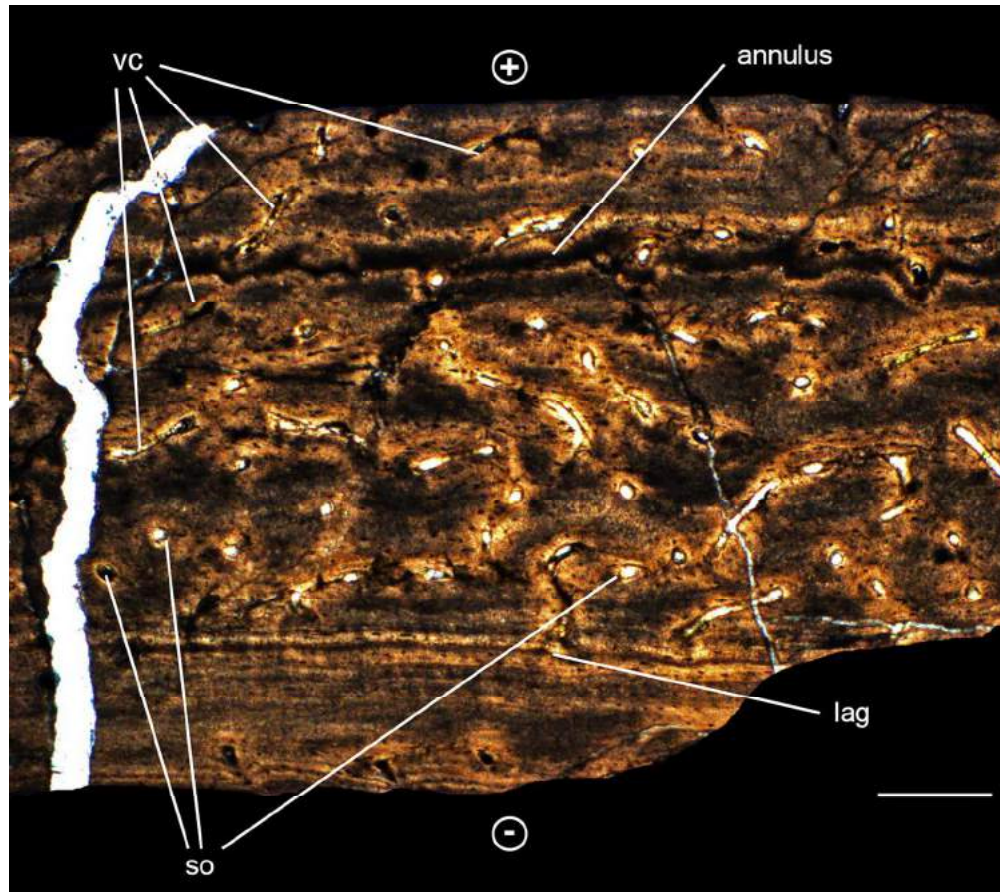


Figure 4 - Transverse sections of the ulna of MPSC R 1395 under transmitted light microscope. The ulna cortex shows the presence of secondary osteons, annulus, LAG and laminar vascular canals. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

168x150mm (300 x 300 DPI)

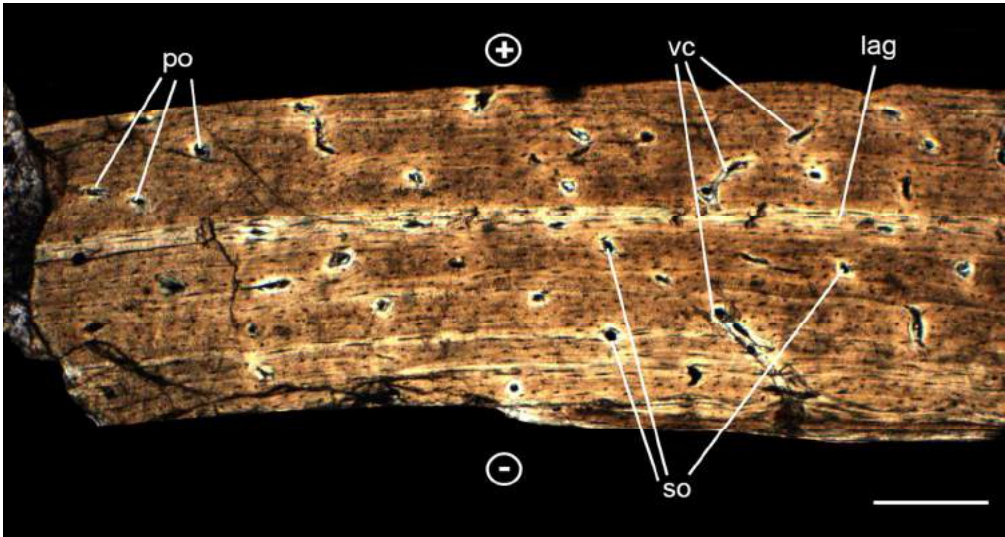


Figure 5 - Transverse section of ph1d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph1d4 cortex composed of numerous primary and secondary osteons cut by longitudinal vascular canals and one lag. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; po - primary osteons; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

168x90mm (300 x 300 DPI)

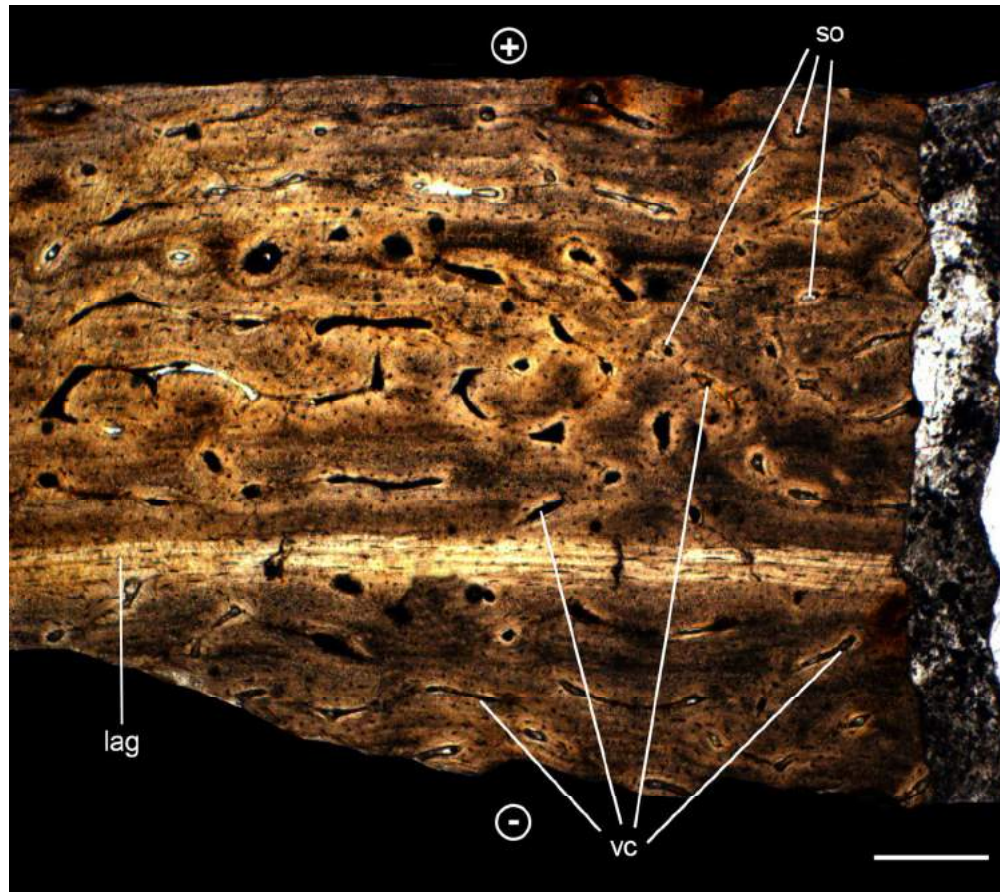


Figure 6 - Transverse sections of the ph2d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph2d4 cortex showing the presence of secondary osteons, one LAG and anastomosed vascular canals. Scale: 300 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; lag - line of arrested growth; so - secondary osteons.

168x150mm (300 x 300 DPI)

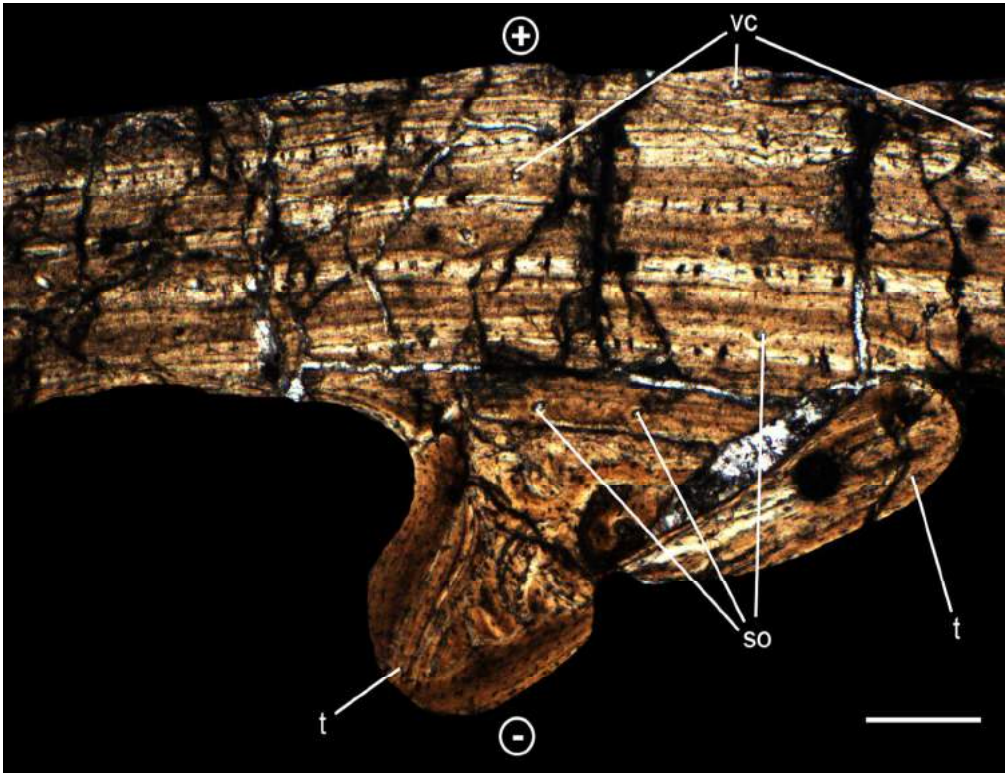


Figure 7 - Transverse sections of the ph4d4 of MPSC R 1395 under a transmitted light microscope. The ph4d4 cortex showing the presence of secondary osteons, anastomosed laminar vascular canals and trabeculae. Scale: 250 μ m. Periosteal surface (+); endosteal layer (-). vc - vascular canals; so - secondary osteons; t - trabecullum.

168x129mm (300 x 300 DPI)

 Palaeontology Home Author Review

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to

Palaeontology

Manuscript ID

PALA-08-17-4045-OA

Title

COMBINING OSTEOHISTOLOGY AND BONE FUSION TO ESTABLISH THE ONTOGENETIC DEVELOPMENT OF FLYING REPTILES (PTERODACTYLOIDEA, PTEROSAURIA)

Authors

Bantim, Renan

Kellner, Alexander

Sayão, Juliana

Date Submitted

26-Aug-2017

[Author Dashboard](#)

© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2017. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

 @ScholarOneNews |  System Requirements |  Privacy Statement |  Terms of Use



**COMBINING OSTEOHISTOLOGY AND BONE FUSION TO
ESTABLISH THE ONTOGENETIC DEVELOPMENT OF FLYING
REPTILES (PTERODACTYLOIDEA, PTEROSAURIA)**

Journal:	<i>Palaeontology</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Bantim, Renan; Universidade Federal de Pernambuco, Geociências; Universidade Regional do Cariri, Kellner, Alexander; Museu Nacional, Geology and Paleontology Sayão, Juliana; Universidade Federal de Pernambuco, Biologia
Key words:	Pterosaurs, bone fusion, ontogeny, osteohistology, sexual maturity, Albian

SCHOLARONE™
Manuscripts

COMBINING OSTEOHISTOLOGY AND BONE FUSION TO ESTABLISH THE
ONTOGENETIC DEVELOPMENT OF FLYING REPTILES
(PTERODACTYLOIDEA, PTEROSAURIA)

by RENAN A. M. BANTIM^{1,2*}; ALEXANDER W. A. KELLNER³ and Juliana M.
SAYÃO^{4*}

¹Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e
Geociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio
Ramos, s/n, Cidade Universitária, Recife, Brasil;
renanbantimbiologo@gmail.com

²*Current address:* Museu de Paleontologia da Urca, Universidade Regional do
Cariri, Rua José Augusto, 326, 63190-000, Centro, Santana do Cariri/Ceará,
Brazil; renan.bantim@urca.br

³Laboratório de Sistemática e Tafonomia de Vertebrados Fósseis,
Departamento de Geologia e Paleontologia, Museu Nacional/Universidade
Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista, s/n, Bairro Imperial de São
Cristóvão, 20940-040, Rio de Janeiro, RJ, Brasil; kellner@mn.ufRJ.br

⁴Laboratório de Biodiversidade do Nordeste, Universidade Federal de
Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de
Santo Antão, PE, Brasil; jmsayao@gmail.com

*Corresponding authors

Abstract

Traditionally, osteological studies on fossil vertebrates have used some
morphological (macroscopic) bone characteristics to identify ontogenetic stages
(bone fusion, superficial bone texture). Osteohistology was introduced to fossil

vertebrate analyses in the last century; it uses histological structures (circumferential lamellae, LAGs, osteons) to determine ontogenetic stages. The association between these two anatomy branches cannot be applied to all cases, since fossils are often isolated, or bone preservation is not sufficient to accomplish an accurate osteohistological analysis. We selected six pterosaurs specimens from Albian of Araripe Basin, who presented fused bones, or not, for osteohistology and osteology association in order to identify ontogenetic patterns. One or more bone elements from the same individual were selected for histological section preparation and osteohistological characterization. Bone and epiphysis fusion data, and data of superficial bone texture were collected for osteological characterization. It was possible observing disparity between the histological and osteological maturities by integrating the collected data; some individuals were osteohistologically immature, but presented bone fusion typical of adult individuals. Histological results evidenced that pterodactyloid pterosaurs could keep continuous bone growth and reach large proportions; sexual maturity would be reached before the skeletal maturity. The EFS formation would happen at the end of the species total growth, or yet, in a more senile ontogenetic stage. In addition, we herein suggest a stage classification for juvenile, sub-adult and adult pterosaurs to encourage its use in future studies, besides the traditional morphology, to draw a better understanding about pterosaurs' growth rates and ontogeny.

Keywords: pterosaurs, ontogeny, bone fusion, osteohistology, sexual maturity, Albian

Pterodactyloid pterosaurs form a diverse group of flying archosaurs that dominated the skies during part of the Mesozoic era, and throughout the whole Cretaceous period (Wellnhofer 1991; Kellner 2006). Great advancements in the study about these winged reptiles were conducted in the last decades, and they enhanced our knowledge about these animals, including their evolution, ecology, ontogeny, functional morphology and aspects of their potential behavior. Questions about the ontogenetic characterization of individuals

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

remain unanswered (Chinsamy et al. 2009). The literature often addresses that the reliable identification of the ontogenetic status of fossil vertebrates is strongly desirable; neonate, juvenile, sub-adult, and adult differentiation is a critical issue to paleontological studies (Tumarkin-Deratzian 2010). The ontogenetic terms juvenile, sub-adult and adult applied to fossil vertebrates often involve successive stages towards the end of the somatic growth, mainly to skeletal maturity (Tumarkin-Deratzian 2010; Hone et al. 2016). Only few studies have used osteohistology to provide subjective parameters for pterosaurs development determination and for their growth strategies (e.g. Sayão 2003; Chinsamy et al. 2009; Prondvai et al. 2012; Wang et al. 2015; Eleutério et al. 2015; Kellner 2015).

The main independent macroscopic criteria adopted to assess the ontogenetic stages of some fossil vertebrates include bone ossification (e.g. Bennett 1993), epiphysis fusions, some bone elements (Carey 1982; Sadler 1991; Brochu 1996; Gotfredsen 1997; Frey & Martill, 1998; Carrano et al. 2005; Irmis 2007; Kellner 2015), and cranial ornamentation development (Dodson 1975, 1976; Sampson et al. 1997; Kellner & Tomida 2000; Kellner & Campos 2002; Ryan et al. 2001; Ryan & Russell 2005; Goodwin et al. 2006; Horner & Goodwin 2006, 2008; Kellner & Campos 2007; Hone et al. 2012). A second method (osteohistology) lie on bone microstructure evaluation (Bennett 1993; Horner et al. 2000; Padian et al. 2004; Werning 2012; Kellner et al. 2013). Histological sections remain rarely performed, despite their great scientific potential, due to the destructive nature of this procedure (Sayão 2003). For pterosaur, some of these evidences are used for ontogenetic determination (Fig. 1)

We herein analyzed six incomplete pterosaur specimens through both the macroscopic features and the microstructure provided by histological sections to broaden the discussion about pterodactyloid pterosaurs skeletal maturity and how these features affects current ideas about the species' biology.

Histological abbreviations: vc – vascular canals; po – primary osteons; LAG – line of arrested growth; so – secondary osteon; t – trabecullum; z – zone; a – annulus; el - endosteal lamella.

Institutional abbreviations: MPSC - Museu de Paleontologia de Santana do Cariri, Santana do Cariri, Brazil. MN – Museu Nacional, Rio de Janeiro, Brazil.

MATERIAL AND METHODS

Specimens

The current study was based on six pterosaur specimens, namely: MPSC R 1395, (partial left wing); MPSC R 982 (partial left wing); MPSC R 2090 (radio, ulna, carpals and part of the first wing phalanx); MN 4809-V (left and right wings), MN 6594-V (wing phalanx fragment) and MN 7060-V (IV metacarpus and first wing phalanx). Some of the specimens were previously analyzed through an osteohistological approach, but for biomechanics purposes, ontogeny or simply histological descriptions were taken into account. We herein provide a detailed description of the structures by comparing bone fusion and osteohistology through the addition of new specimens and data.

Slide preparation

Specimens MPSC R 1395, MPSC R 982, MPSC R 2090, MN 4809-V, MN6594-V and MN 7060-V were measured, photographed and described for bone microstructure investigation, before they were sectioned, according to the methodology by Lamm (2013). Traditionally, osteohistological studies use the bone diaphysis area in histological interpretations, because it preserves a larger amount of cortical tissue and growth markers (Francillon-Vieillot et al. 1990, Andrade & Sayão 2014). However, some samples were sectioned in the metaphysis portion due to material scarcity. A sample (approximately 1 cm of thickness) from each sampled bone was obtained for histological slide preparation. Specimens were mechanically prepared with care prior to such preparation, it was done not to alter bone surfaces in the specimens. The sectioned samples were immersed in clear epoxy resin Resapol T-208 catalyzed with Butanox M50. They were cut with the aid of a micro rectify (Dremel 4000 with extender cable 225) coupled to a diamond disk, after they were left to dry. Then, the section assembly side was ground and polished in a

metal polishing machine (AROPOL-E, AROTEC LTDA) using AROTEC abrasive grit (grit size 60 / P60, 120 / P120, 320 / P400, 1200 / P2500) to remove scratches from the block. After the blocks were polished, they were glued on glass slides and thinned again; it was done in order to make the blocks translucent enough to enable the observation of osteohistological structures through biological microscopy. Besides the new samples, some old slides assembled with some specimens were herein reanalyzed.

Imaging and image analysis

The sections were examined and photographed in a light microscope (Zeiss Inc. Barcelona, Spain) equipped with an AxioCam camera with Axio Imager, after the histological slides were prepared. The M2 imaging software was used in the examination procedure. A petrographic microscope (Opton, Hexasystems, Brazil) equipped with a camera was used for under crossed nichols analyses.

RESULTS

MN7060-V

Morphology

The MN 7060-V consists of a first wing phalanx (ph1d4 = 251 mm) and a wing metacarpal (mclV = 137 mm) (Fig. 2A-B); this specimen was previously described by Vila Nova et al. (2011) as belonging to the Anhangueria clade. Eleutério et al. (2015) described the specimen's histological sections, but did not address its ontogenetic stages, only the biomechanical factors. The wing metacarpal is preserved in three dimensions (Fig. 2A), with no sign of deformation, but it shows erosion signs and several small fissures, fact that suggests the possible loss of parts of the cortex outer layers.

The analysis of the main ontogenetic macroscopic characteristics showed that there is no extensor process in the first wing phalanx and that it did not fuse to the proximal articulation of ph1d4. Such condition characterizes juvenile or immature individuals (Bennett 1993; Frey & Martill 1998; Kellner & Tomida 2000; Sayão 2003). Observations over ph1d4 and mclV extremities evidenced little, or almost no porosity in them and it also indicates delayed ontogenetic

stage (according to Bennett 1993). The first phalanx presented a preservation signal similar to the wing metacarpal, it shows a deformation in longitudinal direction that changes the phalanx natural curvature.

Histological features

Thin sections from the first wing phalanx and the metacarpus IV of MN 7060-V, and from the diaphysis, were sampled (Fig. 2C). The cortex was relatively thin (~ 563 μm), there was no trabeculae, bone resorption zones or internal circumferential lamellae on the endosteal surface, which was relatively flat and somehow even. Lamellar bone tissue was observed in the periosteum, it had some primary osteons irregularly dispersed in the bone matrix, several lacunae of disorganized osteocytes and few vascular canals organized in reticular pattern (from 14 to 18 μm). There were no growth marks, despite some diagenetic fractures cutting the cortex into the periosteum.

The cortex of ph1d4 recorded mean thickness 1163 μm , with free medullary cavity 800 μm (Fig. 2D). There was no trabecula, bone resorption zone or internal circumferential lamella. The cortex showed general characteristics similar to the wing metacarpal, it presented multiple osteocytes lacunae dispersed through the bone matrix. However, the vascular canals were herein longitudinally arranged, and there was secondary osteon formation, besides no LAGs, annuli or EFS were observed.

MN 6594-V

Morphology

The MN 6594-V was composed of a partial skeleton, including skull, mandible, forelimb and hindlimb parts. It was referred to *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 by Kellner et al. (2013). This specimen was recovered from any Gondwanic deposit, and is the largest pterosaur identified so far, due to its wingspan, which was estimated to measure over 8 m (Kellner et al. 2013). The post-skull of MN 6594-V included cervical, dorsal and sacral vertebrae, scapula and coracoid, sternum, some wing bones, part of the pelvis and femur (Kellner et al. 2013). Wing bones such as humerus, distal radius

1
2
3 articulations, ulna and the carpus were incomplete; the carpus had the proximal
4 and distal series fused to each other. Only the proximal joint of the wing
5 metacarpal was preserved; the alar digit (Fig. 3A) was incomplete and the distal
6 joint of the first wing phalanx was the main preserved part.
7
8
9

10
11
12 Macroscopic examinations evidenced that all cranial elements were fused to
13 each other and the sutures could not be distinguished. In addition, the carpals
14 were fused and it characterized MN 6594-V as a morphologically adult
15 individual (Bennett 1993, Kellner & Tomida 2000, Kellner et al. 2013). The MN
16 6594-V specimen was collected from the soil surface; therefore, its layer of
17 external post-cranial elements was quite worn due to weathering processes.
18 Such conditions made it impossible to identify textures in the specimen.
19
20
21
22
23

24
25 *Histological features*
26

27 A histological section of the distal part of the first wing phalanx was observed to
28 characterize the microstructure of MN 6594-V (Fig. 3B). A preliminary
29 description of the specimen's histology was presented by Kellner et al. (2013).
30 We herein analyzed a histological section of the same bone, and searched for
31 its ontogenetic features. Despite the three-dimensional preservation of all the
32 wing bones, MN 6594-V was the only not approved either for weathered surface
33 or for great calcite permineralization; however, it was the only specimen suitable
34 for this analysis type. The cortex presented mean thickness 700 µm, with one
35 trabecular medullar cavity and three large bone resorption zones. The bone
36 tissue was predominantly lamellar, and presented vascular canals arranged in
37 reticular and longitudinal pattern. Few secondary osteons and one LAG were
38 preserved in the endostal region. The cortex showed three LAGs, one near the
39 endosteal, one in the medial cortex and one near the periosteum, which was
40 covered by external circumferential lamellae or EFS depositions. Secondary
41 osteons were recorded in the medial portion of the cortex.
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51

52 Growth marks (LAG), low vascularization and EFS deposition were among the
53 osteohistological features presented by MN 6594-V. The LAGs formation is
54 associated with the moment when the individual advances in ontogeny, which
55 allows the deposition of new bone layers and successive vascularization
56
57
58
59
60

1
2
3 decrease. These conditions somehow suggest bone formation in comparison to
4 an initial growth stage (Sayão 2003; Chinsamy et al. 2008). Ontogeny and LAG
5 gaps on later stages tend to become noticeably narrower due to decreased
6 bone apposition (Chinsamy et al. 2008), and it complies with the herein
7 observed pattern. The gap in MN 6594-V growth lines, as well as these lines'
8 general histological characteristics (external circumferential lamellae - EFS),
9 suggest that this individual stopped growing, so it was an adult individual.
10
11
12
13
14
15
16

17 *MN 4809-V*

18 *Morphology*

19
20 MN 4809-V was three-dimensionally preserved in a carbonate concretion from
21 the Romualdo Formation. The specimen consists of the anterior, left and right
22 limbs of an anhanguerid pterosaur, and it preserved the humerus, radius, ulna,
23 wing metacarpal, carpals; 1st, 2nd and 3rd phalanx of the wing digit; pteroid;
24 digits 1, 2 and 3, tibia and right femur. The specimen was previously described
25 by Sayão (2003) and identified as anhanguerid, it showed several bone fusions
26 since the epiphysis of the humerus and ulna fused to the bones. The carpals
27 and the extensor process of the 1st wing phalanx is unfused (Fig. 4B). In
28 addition, the distal portions of most bony elements in the wing presented worn
29 bone surface, which showed small holes and micro-slits.
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41

42 *Histological features*

43
44 The herein used histological sections resulted from the first wing phalanx, ulna,
45 radius and from the wing metacarpal (Fig. 4A). The MN 4809-V specimen was
46 previously analyzed by Sayão (2003), who represented the first bone
47 histovariability report concerning the same pterosaur individual. Nevertheless,
48 we found no ontogenetic inferences in this individual.
49
50
51
52

53 The cortex in the transverse section of the left ulna measured
54 approximately 556 μm , it had a free medullary cavity (Fig. 4C). A thin avascular
55 bone layer was preserved on the endosteal surface, we classified it as an
56 internal circumferential lamella. An endosteal lamella is often accompanied by
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

EFS formation (Stell 2008), and it indicates significant decrease or delay in periosteum growth (Andrade & Sayão, 2014; Andrade et al. 2015); however, it did not happen in the current study, because there was no EFS in the bone. The cortex was composed of lamellar bone tissue towards the periosteum, which also presented many longitudinally oriented vascular canals and some secondary osteon formations. There was a small resorption zone in the endosteum. No LAG was preserved in the MN 4809-V ulna.

The MN 4809-V left wing metacarpal (Fig. 4D) was quite thick, approximately 1333 µm, but it was almost three times the ulna's thickness. The mclV medullar cavity was free, and showed no trabeculae or bone resorption zones. The endosteal surface was surrounded by inner circumferential lamellae; its cortex comprised primary and secondary tissues; the lower and upper portions were composed of lamellar bone tissue; the middle portion of the cortex was fibrolamellar. There were primary osteons embedded within the bone matrix and few reticular vascular canals in the region comprising the primary bone. The vascular canals in the middle portion of the cortex were larger than the canals formed later in time and were preserved in the upper portion of the cortex. Moreover, there were secondary osteon formations in the middle portion of the cortex. Three growth marks were recorded throughout the wing metacarpal cortex, namely: an internal lamella in the endosteum; a line of arrested growth (LAG), which separated the primary endosteal tissue from the secondary middle cortex; and a third LAG, which was deposited in the upper portion of the cortex, very close to the periosteum. There were osteocytes lacunae and longitudinal vascular canals above the last LAG of this layer.

The cortex thickness in the first wing phalanx was approximately 1000 µm and the cross section showed cortex basically composed of lamellar bone tissue (Fig. 4E). There were no internal circumferential lamellae, but they were recorded both in the ulna and in the wing metacarpal. The endosteal layer was relatively irregular, but did not show trabeculae or bone resorption zones. The canals were organized in longitudinal pattern in the endosteal portion, and had some primary osteons. The vascular canals in the middle cortex were counted in larger number and diameter, sometimes they presented longitudinal and reticular patterns. The vascular canals in the periosteal portion of the cortex

were longitudinally inserted in the bone matrix, which presented secondary osteons.

We observed histological difference between the herein sampled bones. Inner circumferential lamellae were recorded in the ulna and in the wing metacarpal, although they were not found in the first wing phalanx. Despite the presence of secondary tissue, secondary osteons, growth lines and endosteal lamellae, MN4809-V could not be considered an adult individual, due to the absence of EFS. It is likely that MN 4809-V had not reached its finite asymptotic growth, despite the fusion between some structures and their larger sizes, fact that indicates allometry.

MPSC R 2090

Morphology

The specimen was composed of incomplete right anterior limb, which was three-dimensionally preserved and contained complete ulna (Fig. 5A), distal portion of a radius (Fig. 5B), some carpal bones, parts of ph1d4 and ph2d4 (Fig. 5C), besides some fragments associated with other phalanges. The specimen was previously described by Eleutério et al. (2015) and identified as representative of the Anhangueridae clade.

We observed that, among the often used macroscopic ontogenetic features, the carpal bones were not fused (Fig. 5D) and the ulna epiphysis was absent; both characteristics indicate a sub-adult individual (Bennett 1993; Kellner & Tomida 2000). The superficial bone texture in the ulna epiphysis and in the radius presented little or no porosity, and it indicates less advanced ontogenetic stage (Bennett 1993); MPSC R 2090 was morphologically characterized as sub-adult.

Histological features

Three slides of MPSC R 2090 were analyzed, one of the ulna, one of the radius, and one of the first wing phalanx. The ulna cortex was relatively thick (957 μm), and the medullary cavity was free at diameter 2900 μm (Fig. 5F). No internal circumferential lamellae were observed in the medullary cavity. Ulna microstructure was composed of fibrolamellar tissue, which contained vascular

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

canals arranged in reticular pattern. The cortex also presented several osteocytes lacunae in the endosteal-periosteal direction organized according to the pattern of the collagen fibers, but did not show secondary osteon formations. The area at the top of the endosteum, above a diagenetic fracture, showed bone deposition deceleration and no true growth line (LAG) formation, because there was no zone throughout the circumference of the bone.

The radius cortex was extremely thin (234 μm) and had free medullary cavity (1159 μm) (Fig. 5F). The radius cortex was composed of parallel fibered tissue. Few longitudinally-oriented vascular channels were observed in endosteal-periosteal direction, but the osteocyte lacunae were more numerous and oriented by the collagen fibers (lamellae) - horizontally or vertically. Such pattern is interpreted as primary periosteal tissue, also known as "plywood-like", which was previously known to be found in pterosaurs, only (de Ricqlès et al. 2000; Steel 2008). Osteocyte lacunae and the vascular canals in each lamella of this tissue type tend to an orientation type, they go from one coverslip to the next (Steel 2008). Eleutério et al. (2015) associated this pattern with biomechanical factors such as the pressure suffered by the radius during flight; however, they did not classify this tissue as "plywood-like".

The first wing phalanx presented thick cortex (889 μm) (Fig. 5G) and free marrow cavity (1869 μm). The ph1d4 cortex consisted of lamellar bone tissue presenting some fractures along the bone. The vascular canals were arranged in reticular pattern, sometimes they were longitudinal. The longitudinal canals near the periosteum were surrounded by osteocytes and formed secondary osteons. No internal circumferential lamella, EFS or growth line could be observed in ph1d4. Accordingly, EFS absence determines MPSC R 2090 histological characterization as a juvenile individual.

MPSC R 1395

Morphology

The MPSC R 1395, which was previously described by Kellner et al. (2013), was composed by a partially complete anterior left limb. The proximal portion of the humerus, the distal portion of the ulna, the epiphysis of the ulna, non-fused carpals, pteroid; digits I (Fig 6A-B-C-D), II and III; wing metacarpal, first, second, third, and the proximal part of the fourth wing phalanx were preserved. The humerus had a deformed and well-developed deltopectoral crest, which showed the same morphology of other anhanguerids from the Romualdo Formation (see Kellner et al. 2013). Based on proportions of other anhanguerids, who record humerus as long as the wing metacarpal (see Vila Nova & Sayão 2012), it is estimated that it would be 262 mm long. The proximal joint of the wing metacarpal showed developed process, which fits the fovea of the distal carpal series. The first wing phalanx is an element of great proportions, it is a typical characteristic of most pteranodontoids. The extensor process of the first phalanx was not fused, the carpals were not fused and the epiphysis of the humerus was not fused, and it suggests that the specimen was a young individual, despite its size.

Histological features

Thin sections were made in the humerus, ulna and first phalanx of the alar digit. The humerus (Fig. 6E) had free marrow cavity. Internal circumferential lamellae were not observed on the endosteal surface. Flattened osteocyte lacunae were longitudinally organized throughout the cortex. The humerus cortex of MPSC R 1395 was relatively thick (approximately 800 μm), it showed bone tissue organized in lamellar pattern, the vascular canals could be longitudinal and laminar (anastomosed). The lamellar tissue was characterized as primary due to the absence of circumferential lamellae and secondary osteons (sensu Sayão, 2003; Steel, 2008). Few primary osteons (approximately 15 to 22 μm , diameter) were seen in the lower portion of the cortex. The number of primary osteons (from 14 to 33 μm in diameter) increased in the upper portion of the cortex (near the periosteal surface). Only a small annulus was observed in the upper portion of the cortex, and it indicates slow growth. All the osteohistological features of the humerus pointed towards the sub-adult ontogenetic stage.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The marrow cavity of the ulna (in cross section) was free and showed no trabeculae (Fig. 6F). There was no inner circumferential lamellae preservation on the endosteal surface. A dense and flattened layer (approximately 300 μm) heading towards the periosteal layer presented longitudinally-organized osteocyte lacunae. In addition, some secondary osteons (in initial formation and diameter ranging from 10 to 18 μm) could be observed (at least 6). These secondary osteons were located very close to the endosteal surface, and it suggests osteoclastic erosion activity (Lu et al. 2016). Some secondary osteons were poorly defined and had different sizes; a growth line (LAG) was preserved on the top of this layer. The ulna cortex of MPSC R 1395 was quite thick, at least 1300 μm long, it was composed of secondary bone tissue. The predominant bone tissue above the LAG was parallel fibered (or pseudo-lamellar), longitudinally and reticularly oriented with anastomosed vascular canals. A second growth mark was located very close to the periosteal surface, quite different from the lower one, which was preserved as a dark irregular line identified as annulus. The bone also presented primary osteons distributed along the cortex; however, there were no primary osteons near the endosteal region.

The marrow cavity of the first wing phalanx was completely filled with post-diagenetic calcite fringes. The bone had several vertical fractures due to fringe expansion. Unlike the humerus and ulna, this phalanx presented trabeculae (110 and 200 μm long) cutting the bone inside (Fig. 6G); they support and maintain the phalanx. Some secondary osteons were found on the endosteal surface (deep cortex), fact that indicates that the bone remodeling process was in initial stage. These osteons were smaller than those in the humerus and ulna, their diameter varied from 10 to 15 μm . We observed a cortex composed of relatively thin lamellar bone tissue (580 μm long) heading toward the periosteum, it contained few aligned and radially arranged primary osteons. Most of the vascular canals were organized in longitudinal pattern, few were arranged in reticular pattern. There was a growth mark in the medial region of the cortex, which was herein identified as a zone. There was no internal or external circumferential lamellae deposition (= external fundamental system - EFS) in the first phalanx. The absence of this structure allows assuming that the

individual did not reach its asymptotic development; it allowed bone to grow linearly (Sayão 2003; Steel 2008; Lu et al. 2016). The tissue pattern did not match the pattern presented by organisms in early development stages, due to the absence of plexiform tissue; therefore, MPSC R 1395 could be classified as a sub-adult individual.

MPSC R 982

Morphology

The specimen MPSC R 982 (Fig. 7A) was represented by a limestone concretion containing three-dimensional remains of a left wing composed of one scapula, coracoid, humerus, radius, ulna, carpals, pteroid, wing metacarpus; digits I, II and III; and the proximal portion of the first wing phalanx. It shared a synapomorphic feature with Pteranodontoidea, namely: the deformed deltopectoral crest of the humerus (Kellner and Tomida, 2000). Based on the proportions of other anhanguerids wings, where the fourth metacarpal showed about 40% of the first wing phalanx length ($mcIV/ph1d4 < 0.40$) (see Vila Nova & Sayão 2012 for a review), it is attributed to the Anhangueridae.

The presence of an unfused extensor process in the first wing phalanx (Fig. 7B), the fusion of carpals and a fusion between scapula and coracoid forming the scapulocoracoid complex were the main ontogenetic characteristics; therefore, the fusion of these bones allowed classifying MPSC R 982 as an adult individual.

Histological features

The wing metacarpal was relatively complete, approximately 1500 μm thick. Its cortex was composed of fibrolamellar secondary bone tissue (Fig. 7C), and the marrow cavity was free; there were no circumferential lamellae. Endosteum surface was uneven and presented little vascularity at the base of the cortex, as well as some reticular vascular canals and secondary osteons. Two growth marks headed towards the periosteum, which was located in the medial portion of the cortex; there were a zone and a LAG. The tissue became more vascularized and presented a larger number of reticular and longitudinal

vascular channels and secondary osteons after the growth lines of the medial cortex.

The coracoid of MPSC R 982 (Fig. 7D) showed well-developed cortex (mean thickness 749 μm). The cortex was composed of secondary tissue similar to a parallel fibered organization. The vascular canals were longitudinally arranged throughout the cortex, from the base to the periosteum. The osteocytes lacunae were disorganized in the bone matrix, but they appeared to initiate the formation of secondary the osteons close to some vascular channels. Growth lines, primary osteons, trabeculae, resorption zones, EFS and circumferential lamellae were absent.

The MPSC R 982 radius (Fig. 7E) appeared to have the same bone conformation of the coracoid and fine cortex (approximately 370 μm). Radius presented secondary bone tissue in lamellar pattern, the osteocyte lacunae were laterally organized and few vascular canals were reticular. Similar to the coracoid, the radius contained no structure other than vascular canals, osteocyte lacunae and a growth line (LAG). The MPSC R 982 could be considered a sub-adult animal based on the sectioned bones, since it did not have EFS; however, secondary osteons could be observed in the wing metacarpus, in the coracoid and in the radius.

DISCUSSION

After we connected the osteological data (the main macroscopic and ontogenetic elements) to the osteohistological data (the main bone microstructures indicative of ontogenetic stages), it was possible to observe that the osteological ontogenetic identification, in some cases, was related to osteohistological characterization. Some individuals previously osteologically classified as adult or sub-adults also had microstructural conformation corroborating the osteology. However, some osteologically adult specimens showed bones in somatic growth, which complies with the data, because the bone microstructure showed compliance with a sub-adult pterosaur.

The first fundamental distinction in vertebrate ontogeny lies between adults and non-adults. Fully adult animals are ideally a basic unit of alpha taxonomy (Hone et al. 2016). The morphology of an adult animal is sometimes the basis for more functional and ecological analyses (Hone et al. 2016). Some authors used bone fusions and ossifications as ontogenetic maturity indicator in pterosaurs (Wellnhofer 1975; Bennett 1993; Kellner & Tomida 2000); for example, the fusion of some dorsal vertebrae forming a notary in many taxa is indicative of high ontogenetic maturity degree (Kellner & Tomida 2000; Bennett 2001; Veldmeijer 2006). There are other elements showing co-ossification, and they include the fusion of cranial bones (Kellner & Tomida 2000).

Superficial bone texture assessments allow categorizing bones as immature and mature in several groups of fossil amniotes including basal synapsids (Brinkman 1988), ichthyosaurs (Johnson 1977) and dinosaurs (Callison & Quimby 1984; Horner & Currie 1994; Jacobs et al. 1994; Sampson et al. 1997; Carr 1999; Brill & Carpenter 2001; Ryan et al. 2001; Tumarkin-Deratzian et al. 2006; Brown 2006; Brown et al. 2007). The surface texture of pterosaur bones changed during ontogenesis (Bennett 1993); it reflected on bone microstructural remodeling. The best example of it found in pterosaur studies is the analysis by Bennett (1993), who assessed several *Pteranodon* samples according to bone fusion, epiphyseal ossification and bone texture. Younger individuals had smooth or slightly striated bone surface evolving to deeply rough surface in late ontogenetic stages (Bennett 1993).

Bennett (1993) studied 707 *Pteranodon* specimens and found that only 15% of the sample represented immature individuals; curiously, some young individuals were similar in size to adults. He concluded that the smallest individual in the sample was approximately 70% smaller than the biggest individual (Bennett 1993). Bennett reported that body size was an unreliable variable to differentiate ontogenetic phases and that bone fusion degree was the best way to distinguish sub-adult from adult individuals. He also proposed that *Nyctosaurus*, *Ornithocheirus* and *Anhanguera* adult and sub-adult individuals had the same size. Accordingly, Bennett (1993) proposed that *Pteranodon*, *Nyctosaurus*, *Ornithocheirus* and *Anhanguera* juveniles grew fast to adult size and practically stopped growing after that. Few years later, Prondvai et al.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

(2014) analyzed 56 Cretaceous pterosaur *Bakonydraco galaczi* mandibles; they combined their osteohistology and morphometry and concluded that smaller jaws were histologically characterized as adult individuals. They assumed that size should not be used for pterosaurs' ontogenetic characterization (Prondvai et al. 2014). Sayão (2003) stated that pterosaurs grew rapidly until reaching the adult stage and that their bone tissue often presented growth lines that marked the transition of this ontogenetic stage. Chinsamy et al. (2009) analyzed *Pterodaustro* samples and concluded that pterosaurs grew rapidly for 2 years until reaching adult size and that they could grow a little longer for another 2 years, until reaching the asymptotic growth (Chinsamy et al. 2009).

Pterosaurs actually grew rapidly during the ontogeny (Bennett 1993; Sayão 2003; Steel 2008; Chinsamy et al. 2009; Prondvai et al. 2014; Lu et al. 2016), but it is impossible being sure about the moment when pterosaurs were subjected to this change during the ontogenetic development. The analysis applied to MPSC R 1395 and MN 6594-v specimens showed that they were relatively large-sized individuals; MPSC R 1395 presented unfused bones, unfused epiphyses, it was histologically characterized as sub-adult and had wingspan of approximately 7 meters; MN 6594-V presented fused bones and epiphyses, it was histologically characterized as adult and had 8.7m wingspan. Assumingly, some pterosaurs reached large proportions throughout life and only had their bones fused when they were very close to histological maturity; they could possibly reach adult body sizes within short time-periods, but would not necessarily reach skeletal or osteohistological maturity.

Bone tissue underwent considerable modeling and remodeling during pterosaurs' biological development at microscopic level. This phenomenon has been increasingly documented in modern species and often applied to extinct archosaurs (Fowler et al. 2011; Erickson 2014; Huttenlocker et al. 2013; Hone et al. 2016). The smaller and presumably younger individuals have limb bone tissue characterized by unmodified primary bone (de Ricqlés et al. 2000; Steel 2008). This primary bone is replaced and remodeled to become secondary bone (Steel 2008), which presents clear and visible differences in the histological sections. There is bone apposition around the bone circumference

after these stages; soon after this growth stops (often representing an annual cycle) and growth lines (LAGs or annuli) are produced.

LAG records in pterosaurs are relatively rare, because bone tissue is extremely thin and quickly remodeled (Sayão 2003; Steel 2008; Chinsamy et al. 2009).

The spacing between LAGs becomes closer as growth rates decreases throughout life. When LAGs are closely spaced they form a layer of avascular bone in the periosteum of the cortex called external circumferential lamellae or external fundamental system (EFS) (de Ricqlès et al. 2000; Werning 2012; Andrade et al. 2015). Assumingly, EFSs indicate accomplished asymptotic growth; therefore, an adult individual.

Recently, Hone et al. (2016) gathered the main morphological characteristics of bone fusion, body size, osteohistology, bone surface texture and the growth lines of different groups of dinosaurs in a single article. The authors showed contradictions in studies involving the ontogenetic characterization of dinosaurs that overlap several maturity definitions, which create problems for researchers. According to Hone et al. (2016), a dinosaur specimen classified as mature according to the cranial ornamentation, may be immature according to osteohistology or skeletal fusion, for instance. Adult animals can be diagnosed through many criteria (size, asymptotic growth, bone fusion, etc.), but they may also present contradictory signs (e.g. sexually mature animals who have not yet acquired all the morphological characteristics of a taxon) (Hone et al. 2016).

Hone et al., (2016) also pointed out that many fossils simply cannot be compared to other individuals and that histological samples cannot derive from all specimens due specimens' preservation, fragility or availability (Hone et al. 2016). The authors suggested a set of definitions to characterize dinosaur life stages: adult, animal who reached a point in life compatible to rapid growth stop according to osteological data and osteohistological characteristics (presence of a EFS) rather than reproductive maturity; Sub-adult, animal who combines young and adult characteristics but who lack ultimate adult characteristics (for example, an EFS or final form of ornamentation, like a crest), although they present characteristics that do not comply with the juvenile profile (for example, multiple fused bone elements and large body size); Juvenile, any animal who shows no sign of impending maturity, which may characterize it as adult or sub-

adult (e.g., little or no skeletal fusion, poorly ornamental development, few or no LAG, no medullary bone, etc.); and embryos, any specimen preserved within the limits of an egg or a specimen representing an individual prior to hatching. We herein assume that the definitions proposed by Hone et al. (2016) for adult, sub-adult and juvenile individuals can be applied to ontogenetic studies about pterosaurs; they at least provide an osteological description and detailed osteohistological studies. We only disagree with the embryo characterization, because it is not always possible distinguishing an embryo from a hatchling animal; we refer to this development stage as perinate, according to Horner et al. (2001).

It was possible to observe a situation similar to that in the research carried out by Hone et al. (2016) when we compared the different ontogenetic characteristics of the herein assessed specimens (Table 1). Several bones were fused in the MN 4809-V specimen, such as the carpals and the extensor process of the first wing phalanx. In addition, the bones presented high texture-level extremities, and this result is consistent with the interpretation that represents this specimen as an adult. Histological sections showed a thin endosteal lamellar bone layer and a layer of poorly vascularized bone (Sayão 2003; Steel 2008), which could be found in the inferior portion of the ulna cortex and in the wing metacarpal, but that could not be seen in the first wing phalanx. In a fragment of a bone, since there is no *Montanazhdarcho* pterosaur (Padian et al. 1995), in *Pteranodon* (de Ricqlès et al. 2000), in an ulna of an ornithocheirid (Steel, 2008), in a *Pterodaustro* tibia (Chinsamy et al. 2009) in the third phalanx of a basal *Rhamphorhynchus* specimen (Prondvai et al. 2012), in the first phalanx of *Prejanopterus curvirostris* (Pereda-Superbiola et al. 2012) and in a humerus of a little azhdarchoidea (Martin-Silverstone et al. 2016), that is, occurring both in Jurassic basal pterosaurs (Prondvai et al. 2012) and in Mesozoic-derived pterosaurs (Martin-Silverstone et al. 2016), pointing out that this structure was shared by both non-pterodactyloid as pterodactyloids pterosaurs.

Overall, an endosteal lamella is avascular, circumferentially oriented and contains elongated osteocyte lacunae, only (de Ricqlès et al. 2000; Steel 2008). An endosteal lamella is often accompanied by external circumferential lamella

or EFS formation (Stell 2008), fact that indicates ceased or delayed periosteum growth at insignificant rates (Andrade & Sayão 2014); however, it does not happen in MN 4809-V. This specimen could not be considered an adult, but a sub-adult individual, since it did not have deposited EFSs. Thus, we could observe the first disagreement between macro skeletal and micro skeletal maturity.

Table 1: Comparison between the different ontogenetic identification characteristic of each pterosaur specimen used in the present study.

<i>SPECIMEN</i>	<i>BONE FUSION</i>	<i>BONE TEXTURE SURFACE</i>	<i>OSTEOHISTOLOGY</i>	<i>ONTOGENETIC STAGE BY KELLNER (2015)</i>
MN 7060-V	No	Low	Juvenile – no LAGs	OS2
MN 6594-V	Yes	High	Adult – presence of EFS	OS6
MN 4809-V	Yes	High	Sub-adult – with LAGs, absence of EFS	OS3 or >
MPSC R 2090	No	Low	Juvenile – no LAGs	OS2
MPSR R 1395	No	-	Sub-adult – no LAGs, absence of EFS	OS6
MPSC R 982	Yes	Low	Sub-adult – with LAGs, absence of EFS	OS3

The same was recorded for the second herein analyzed specimen: MPSC R 982. It had carpals, extensor process of the first phalanx, and fused coracoid and scapula, i.e., a morphological conformation typical of an adult pterosaur (Bennett 1993, 2001). The histological sections evidenced that this individual was fully active during its growth, had highly-vascularized wing metacarpal with growth lines, and secondary osteons, which characterize high metabolic rates

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

(Steel 2008). The coracoid and radius of the same individual were less vascularized, and it indicates lower growth rate. Assumingly, some bones in the same individual finished the total asymptotic growth before others.

The MN 4809-V specimen was previously analyzed by Sayão (2003), who observed bone histovariability in MN 4809-V, fact that indicated differential growth rate variation in different bones. Histology variation between bones in the same individual is not common within Archosauria (Sayão 2003), it is observed in some groups of dinosaurs, only (Horner et al., 1999; Sander 2000; Padian et al. 2001). We herein corroborated this condition; the first phalanx of MN 4809-V, for example had secondary osteons and poorly vascularized cortex, thus indicating that this bone could have grown more.

The ulna only showed primary osteons and the deposition of inner circumferential lamella; thus, growth in this bone was about to cease and it was almost in its maximum size. Chinsamy et al. (2009) reported histovariability in *Pterodaustro* bones, it allowed understanding that such condition was relatively common in flying reptiles (Chinsamy et al. 2009).

The analysis applied to the histological configuration of individuals sampled in the present study showed that none of these specimens present bone resorption areas near the marrow cavity, but they have isolated secondary osteonsas previously reported for the bone tissue of other pterosaurs (Ricqlès et al. 2000; Sayão 2003; Padian et al. 2004; Steel 2008; Chinsamy et al. 2009). Chinsamy et al. (2009) found that only large azhdarchids often present bone resorption zones in the deep cortex (de Ricqlès et al. 2000). With regard to the present study, only the MN 6594-V specimen presented large bone resorption zones; interestingly, this specimen belongs to the largest winged pterosaur from Gondwana (Kellner et al. 2013), who had wingspan relatively close to that of Azhdarchidae. Possibly, these structures were only deposited in large pterosaurs, who required continuous bone remodeling to preserve a thin cortex to support the flight (Steel 2008; Eleutério et al. 2015).

Some pterosaur bones have an unusual type of primary periosteal bone named "plywood-like" (de Ricqlès et al. 2000), in which bone collagen fibers and osteocytes lacunae have a preferential orientation in each lamella; such

orientation can vary from lamella to lamella (Steel 2008). This structural organization type was observed in coelacanth scales (Giraud et al. 1978), in human femur (Giraud-guille 1988) and in the primary cortex of a mouse (Weiner et al. 1991); however, there are differences between these examples (Steel 2008). Plywood in pterosaur bones is orthogonal, the lamellae are oriented in the same plane, but have approximately 90 ° inclination from one lamella to another (Steel 2008). The "plywood-like" in pterosaurs is commonly avascular or have low vascularization degree. According to Steel (2008) and de Ricqlès et al. (2000), "plywood-like" tissue is often found in small bones of large pterosaurs. Plywood-like tissue in our samples was observed in the radius of the MPSC R 2090 specimen, only; thus, demonstrating that this tissue type was not common in pterosaur bones, as proposed by Sayão (2003). The MPSC R 2090 radius contained alternated lamellae presenting almost the same thickness; however, the circumferential lamellae tended to be slightly thinner than the longitudinal ones, as it was observed by Steel (2008) in a pterygoid of an Ornitocheiridae.

The presence of cyclic growth marks is continuous and partly caused by endogenous physiological processes (Eleutério et al. 2015). These cycles are synchronized and amplified by seasonal environmental variations, such as temperature, light, humidity, food availability, etc. (Castanet et al. 1977; de Buffrénil 1980; Eleutério et al. 2015). These factors indicate the periodicity of the annual growth cycles (Castanet et al. 1977; de Buffrénil 1980; Hutton 1986). Although LAGs are common in vertebrates, these lines are rarely found in pterosaurs (Eleutério et al. 2015). The herein conducted analyses showed LAGs in the MN 6594-V phalanx, in the wing metacarpal and in the ulna of MN 4808-V, in MPSC R 1395 phalanx and in the wing metacarpus of MPSC R 982. We assume that LAGs deposition is not so rare, because the analysis of different bones from the same individual evidenced so. Possibly, LAGs were deposited in few bones, or deposited in different cycles due to histovariability in pterosaurs bones, only the presence of more recent cycles was recorded.

CONCLUSION

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The present study allowed integrating anatomical and histological observations to determine the ontogenetic stage of some anhanguerid pterosaur specimens. There were contradictions in the definition of pterosaur maturity. Individuals composing the current sample, who presented typical osteological conformation of an adult animal, also presented conformation of a sub-adult individual based on histological inferences. The present study reinforced that histological characteristics can change along the bones of the same individual, and it confirms that pterosaur bones present different growth rates.

Pterosaur bones grew rapidly, but, occasionally, a cyclical disruption could happen, it could even occur annually in response to seasonal changes in food availability or in other variables. Possibly, anhanguerids reached great corporal proportions before reaching skeletal (bone fusion) and osteohistological maturity. The life history of an anhanguerid pterosaurs can be detailed as follows: young pterosaurs grew rapidly and did not present any morphological or histological feature able to characterize them as a sub-adults; growth rates would decrease when the sub-adult size was reached - this sub-adult individual was able to possess some fused bones, growth lines, secondary osteons, and internal circumferential lamellae in the microstructure of its bone; after endosteal lamella and EFS formation on the periosteal surface this individual would reach adulthood with all bones fused. We assume that LAGs deposition is not so rare in pterosaurs, since results are different for bones in the same individual. Possibly, LAGs were deposited in few bones, or in different cycles, due to histovariability in pterosaurs bones; only more recent cycles were recorded. We agree that studies involving the ontogenetic characterization of pterosaurs are explicit about the characteristics chosen to attribute an ontogenetic stage, and it facilitates comparisons and interpretations in future paleobiological and palaeoecological studies about these flying reptiles.

Acknowledgements

The authors thank the late Dr. Plácido Cidade Nuvens (1943-2016), former director of the Museu de Paleontologia da Universidade Regional do Cariri for the access to the specimens. We also would like to thank Fabiana Costa Nunes

(UFABC), Gustavo Oliveira (UFRPE), and Bruno Vila Nova (FFCL_USP) for valuable discussions and suggestions that improved this manuscript. This project was partially funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq with grants to AWAK (#304780/2013-8), JMS (#458164/2014-3), AAFS and a fellowship to RAMB (#140555/2013-7). Other foundations that also provided financial support to this research is The Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP (fellowships to AÁFS and JSF) and the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro - FAPERJ (grant #E-26/202.893/2015 to AWAK).

REFERENCES

- ANDRADE, R. C. L. P. and SAYÃO, J. M. 2014. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). *PLOS ONE*, **7**: e102189.
doi:10.1371/journal.pone.0102189.
- ANDRADE, R. C. L. P., BANTIM, R. A. M., LIMA, F. J., CAMPOS, L. S., ELEUTÉRIO, L. H. S. and SAYÃO, J. M. 2015. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. *Cadernos de Cultura e Ciência*, **14** (1): 200-211.
- BENNETT, S. C. 1993. The ontogeny of *Pteranodon* and other pterosaurs. *Paleobiology*, **19**: 92-106.
- BENNETT, S. C. 2001. The osteology and functional morphology of the Late Cretaceous pterosaur *Pteranodon*. Part I. General description of osteology. *Palaeontographica A*, **260**: 1-153.
- BRILL, K. and CARPENTER, K. 2001. A baby ornithopod from the Morrison Formation of Garden Park, Colorado 197–205. In TANKE, D. H. and CARPENTER, K. (eds.). *Mesozoic Vertebrate Life: New Research Inspired by the Palaeontology of Philip J. Currie*. Bloomington: Indiana University Press. 577pp.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

BRINKMAN, D. 1988. Size-independent criteria for estimating relative age in Ophiacodon and Dimetrodon (Reptilia, Pelycosauria) from the Admiral and Lower Belle Plains Formations of westcentral Texas. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **8**: 172-180.

BROCHU, C. A. 1996. Closure of neurocentral sutures during crocodilian ontogeny: Implications for maturity assessment in fossil archosaurs. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **16**: 49-62.

BROWN, C. 2006. Surficial bone texture of centrosaurines (Archosauria: Dinosauria: Ceratopsidae): Can patterns be delimited? thesis. University of Calgary, Calgary.

BROWN, C., RUSSELL, A. and RYAN, M.J. 2007. The developmental patterns of surficial bone texture on the skulls of centrosaurine dinosaurs. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **27**(3, Suppl.): 53A.

CALLISON, G. and QUIMBY, H. M. 1984. Tiny dinosaurs: Are they fully grown? *Journal of Vertebrate Paleontology*, **3**: 200-209.

CAREY, G. 1982. Ageing and sexing domestic bird bones from some Late Medieval deposits at Baynard's Castle, City of London 263–268. In B. WILSON, C., GRIGSON, and PAYNE, S. (eds.). *Ageing and Sexing Animal Bones from Archaeological Sites*, B.A.R. British Series, Vol. 109. 268p.

CARR, T. D. 1999. Craniofacial ontogeny in Tyrannosauridae (Dinosauria, Coelurosauria). *Journal of Vertebrate Paleontology*, **19**: 497-520.

CARRANO, M. T., HUTCHINSON, J. R. and SAMPSON, S. D. 2005. New information on *Segisaurus halli*, a small theropod dinosaur from the Early Jurassic of Arizona. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **25**: 835-849.

CASTANET, J. F. J., MEUNIER, A. and DE RICQLÈS, K. 1977. L'enregistrement de la croissance cyclique par les tissue osseux chez les vertébrés poikilothermes: donnés comparative et essai de synthese. *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*, **3**: 183-202.

- CHINSAMY, A., CODORNIÚ, L. and CHIAPPE, L. M. 2008. Developmental growth patterns of the filter-feeder pterosaur, *Pterodaustro guinazui*. *Biology Letters*, **4**: 282-285. doi:10.1098/rsbl.2008.0004.
- CHINSAMY, A., CODORNIÚ, L. and CHIAPPE, L.M. 2009. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. *The Anatomical Record*, **292**: 1462-77. doi:10.1002/ar.20990.
- DE BUFFRÉNIL, V. 1980. Mise em évidence de l'incidence des conditions de milieu sur la croissance de *Crocodylus siamensis* (Schneider, 1801) et valeurs des marques de croissance squelettiques pour l'évaluation de l'âge individuel. *Archives de Zoologie Expérimentale et Général*, **121**: 63-76.
- DE RICQLÈS, A., PADIAN, K., HORNER, J.R. and FRANCILLON-VIEILLOT, H. 2000. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **129**: 349-385. doi:10.1111/j.1096-3642.2000.tb00016.x.
- DODSON, P. 1975. Taxonomic implications of relative growth in *Lambeosaurine hadrosaurs*. *Systematic Zoology*, **24**: 37-54.
- DODSON, P. 1976. Quantitative aspects of relative growth and sexual dimorphism in Protoceratops. *Journal of Paleontology*, **50**: 929-940.
- ELEUTÉRIO, L. H. S., BANTIM, R. A. M., LIMA, F. J., ANDRADE, R. C. L. P., SARAIVA, A. A. F., KELLNER, A. W. A. and SAYÃO, J.M. 2015. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). *Revista Brasileira de Paleontologia*, **18**(3): 403-412.
- ERICKSON, G. M. 2014. On dinosaur growth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, **42**: 675–697. (doi:10.1146/annurev-earth-060313-054858).
- FOWLER, D. W., WOODWARD, H. N., FREEDMAN, E. A., LARSON, P.L. and HORNER, J. R. 2011. Reanalysis of '*Raptorex kriegsteini*': a juvenile tyrannosaurid dinosaur from Mongolia. *PLoS ONE*, **6**: e21376. (doi:10.1371/journal.pone.0021376).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

FRANCILLON-VIEILLOT, H. J., ARNTZEN, W. and GERAUDIE, J. 1990. Age, growth and longevity of sympatric *Triturus cristatus*, *Triturus marmoratus* and their hybrids (Amphibia, Urodela): a skeletochronological comparison. *Journal of Herpetology*, **24**: 13-22. doi:10.2307/1564284.

FREY, E. and MARTILL, D.M. 1998. Late ontogenic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie*, **10**: 587-594.

GIRAUD, M. M., CASTANET, J., MEUNIER, F.J. and BOULIGAND, Y. 1978. The fibrous structure of coelacanth scales: a twisted 'plywood'. *Tissue and Cell*, **10**: 671-686.

GIRAUD-GUILLE, M. M. 1988. Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. *Calcified Tissue International*, **42**: 167-180.

GOODWIN, M. B., CLEMENS, W. A., HORNER, J.R. and PADIAN, K. 2006. The smallest known Triceratops skull: New observations on ceratopsid cranial anatomy and ontogeny. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **26**: 103-112.

GOTFREDSEN, A. B. 1997. Sea bird exploitation on coastal Inuit sites, West and Southeast Greenland. *International Journal of Osteoarchaeology*, **7**: 271-286.

HONE, D. W. E., NAISH, D. and CUTHILL, I. C. 2012. Does mutual sexual selection explain the evolution of head crests in pterosaurs and dinosaurs? *Lethaia*, **45**: 139-156. (doi:10.1111/j.1502-3931.2011.00300.x).

HONE, D. W. E., FARKE, A. A. and WEDEL, M. J. 2016 Ontogeny and the fossil record: what, if anything, is an adult dinosaur? *Biology Letters*, **12**: 20150947. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2015.0947>.

HORNER, J. R. and CURRIE, P. J. 1994. Embryonic and neonatal morphology and ontogeny of a new species of *Hypacrosaurus* (Ornithischia: Lambeosauridae) from Montana and Alberta. In CARPENTER, K., HIRSCH, K.F. and HORNER, J. R. (eds.), *Dinosaur Eggs and Babies*, pp. 312–336. Cambridge: Cambridge University Press.

1
2
3 HORNER, J. R., DE RICQLÈS, A. and PADIAN, K. 1999. Variation in dinosaur
4 skeletochronology indicators: implications for age assessment and physiology.
5 *Paleobiology*, **25**: 295-304.
6
7

8 HORNER, J. R.; DE RICQLÈS, A. and PADIAN, K. 2000. Long bone histology
9 of the hadrosaurid dinosaur *Maiasaura peeblesorum*: growth dynamics and
10 physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. *Journal of*
11 *Vertebrate Paleontology*, **20**: 115- 129. doi:10.1671/0272
12 4634(2000)020[0115:lbhoth]2.0.co;2.
13
14
15
16

17 HORNER, J. R. and GOODWIN, M. B. 2006. Major cranial changes during
18 Triceratops ontogeny. *Proceedings of the Royal Society B*, **273**: 2757-2761.
19
20

21 HORNER, J. R. and GOODWIN, M.B. 2008. Ontogeny of cranial epi-
22 ossifications in Triceratops. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **28**: 134-144.
23
24

25 HORNER, J. R., PADIAN, K. and DE RICQLÈS, A. 2001. Comparative
26 osteohistology of some embryonic and perinatal archosaurs: developmental and
27 behavioral implications for dinosaurs. *Paleobiology*, **27**: 39-58.
28
29
30

31 HUTTENLOCKER, A. K., WOODWARD, H. N. and HALL, B. K. 2013. The
32 biology of bone. In PADIAN, K and LAMM, E. T. (eds). *Bone histology of fossil*
33 *tetrapods: issues, methods, and databases*, pp. 13–34. Berkeley, CA: University
34 of California Press.
35
36
37

38 HUTTON, J. M. 1986. Age determination of living Nile crocodiles from the
39 cortical stratification of bone. *Copeia*, **1**:332-341. doi:10.2307/1444994.
40
41

42 IRMIS, R. B. 2007. Axial skeleton ontogeny in the Parasuchia (Archosauria:
43 Pseudosuchia) and its implications for ontogenetic determination in archosaurs.
44 *Journal of Vertebrate Paleontology*, **27**: 350-361.
45
46
47

48 JACOBS, L. L., WINKLER, D. A., MURRY, P. A. and MAURICE, J.M. 1994. A
49 nodosaurid scuteling from the Texas shore of the Western Interior Seaway. In
50 CARPENTER, K., HIRSCH, K. F. and HORNER, J. R. (eds.), *Dinosaur Eggs*
51 *and Babies*, pp. 337–346. Cambridge: Cambridge University Press.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

JOHNSON, R. 1977. Size independent criteria for estimating relative age and the relationships among growth parameters in a group of fossil reptiles (Reptilia: Ichthyosauria). *Canadian Journal of Earth Sciences*, **14**: 1916-1924.

KELLNER, A.W.A. 2006. Pterossauros - os senhores do céu do Brasil. Rio de Janeiro: Vieira & Lent, 176 p.

KELLNER, A. W. A., 2015. Comments on Triassic pterosaurs with discussion about ontogeny and description of new taxa. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **87**(2): 669-689

KELLNER, A. W. A. and CAMPOS, D. A. 2002. The function of the cranial crest and jaws of a unique pterosaur from the early Cretaceous of Brazil. *Science*, **297** (5580): 389-392.

KELLNER, A. W. A.; CAMPOS, D. A. 2007. Short note on the ingroup relationships of the Tapejaridae (Pterosauria, Pterodactyloidea. *Boletim do Museu Nacional*, **75**: 1-14.

KELLNER, A. W. A., CAMPOS, D. A., SAYÃO, J. M., SARAIVA, A. A. F., RODRIGUES, T., OLIVEIRA, G., CRUZ, L. A., COSTA, F. R., SILVA, H. P. and FERREIRA, J. S. 2013. The largest flying reptile from Gondwana: a new specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea, Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower Cretaceous, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **85**: 113-135. doi:10.1590/S0001-37652013000100009.

KELLNER, A. W. A. and TOMIDA, Y. 2000. Description of a new species of Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. *National Science Museum Monographs*, **17**: 1-135.

KLEIN, N. and SANDER, M. 2008. Ontogenetic stages in the long bone histology of sauropod dinosaurs. *Paleobiology*, **34**: 247-263. (doi:10.1666/0094-8373(2008)034[0247:OSITLB]2.0.CO;2)

LAMM, E. T. 2013. Bone Histology of Fossil Tetrapods. In PADIAN, K, LAMM, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. University of California Press, p. 55-160.

1
2
3 LU, J., KUNDRÁT, M. and SHEN, C. 2016. New Material of the Pterosaur
4 *Gladocephaloideus* Lü et al., 2012 from the Early Cretaceous of Liaoning
5 Province, China, with Comments on Its Systematic Position. *PLoS ONE*, **11**(6):
6 e0154888. doi:10.1371/journal.pone.0154888
7
8

9
10 MARTIN-SILVERSTONE, E., WITTON, M. P., ARBOUR, V. M. and CURRIE, P.
11 J. 2016. A small azhdarchoid pterosaur from the latest Cretaceous, the age of
12 flying giants. *Royal Society Open Science*, **3**(8):
13 160333. doi:10.1098/rsos.160333.
14
15

16
17 PADIAN, K., DE RICQLÈS, A. and HORNER, J.R. 2001. Dinosaurian growth
18 rates and bird origins. *Nature*, **412**: 405-408. doi:10.1038/35086500.
19
20

21 PADIAN, K., DE RICQLÈS, A.J. and HORNER, J. 1995. Bone histology
22 determines identification of a new fossil taxon of pterosaur (Reptilia:
23 Archosauria). *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Serie II. Sciences*
24 *de la Terre et des Planetes*, **320**: 77-84.
25
26
27

28 PADIAN, K., HORNER, J.R. and DE RICQLÈS, A.J. 2004. Growth in small
29 dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies.
30 *Paleontology*, **24**: 555-571. doi:10.1671/0272-
31 4634(2004)024[0555:gisdap]2.0.co;2.
32
33
34
35

36 PEREDA-SUBERBIOLA, X., KNOLL, F., RUIZ-OMENACA, J. I., COMPANY, J.
37 and TORCIDA FERNANDEZ-BALDOR, D. 2012. Reassessment of
38 *Prejanopterus curvirostris*, a basal pterodactyloid pterosaur from the Early
39 Cretaceous of Spain. *Acta Geologica Sinica*, **86**: 1389-1401. doi:10.1111/1755-
40 6724.12008.
41
42
43
44

45 PRONDVAI, E., STEIN, K., ÖSI, A. and SANDER, M. P. 2012. Life history of
46 *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of
47 Pterosaurian growth strategies. *PLOS ONE*, **7**:e31392.
48 doi:10.1371/journal.pone.0031392.
49
50
51

52 PRONDVAI, E., BODOR, E. R. and ÖSI, A. 2014. Does morphology reflect
53 osteohistology based ontogeny? A case study of Late Cretaceous pterosaur jaw
54 symphyses from Hungary reveals hidden taxonomic diversity. *Paleobiology*, **40**:
55 288-321. doi:10.1666/13030.
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

RYAN, M. J. and RUSSELL, A. P. 2005. A new centrosaurine ceratopsid from the Oldman Formation of Alberta and its implications for centrosaurine taxonomy and systematics. *Canadian Journal of Earth Sciences*, **42**: 1369-1387.

RYAN, M. J., RUSSELL, A. P., EBERTH, D. A. and CURRIE, P. J. 2001. The taphonomy of a Centrosaurus (Ornithischia: Ceratopsidae) bone bed from the Dinosaur Park Formation (Upper Campanian), Alberta, Canada, with comments on cranial ontogeny. *Palaos*, **16**: 482-506.

SADLER, P. 1991. The use of tarsometatarsi in sexing and ageing domestic fowl (*Gallus gallus* L.), and recognising five toed breeds in archaeological material. *Circaea*, **8**: 41-48.

SAMPSON, S. D., RYAN, M. J. and TANKE, D. H. 1997. Craniofacial ontogeny in centrosaurine dinosaurs (Ornithischia: Ceratopsidae): Taxonomic and behavioral implications. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **121**: 293-337.

SANDER, P. M. 2000. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: Implications for growth and biology. *Paleobiology*, **26**: 466-488.

SAYÃO, J. M. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. In BUFFETAUT, E and Mazin. J. M. (eds). *Evolution and palaeobiology of pterosaurs*, Geological Society, p. 335-342 (Special Publication 217). doi:10.1144/ GSL.SP.2003.217.01.21.

STEEL, L. 2008. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. *Zitteliana*, **28**:109-125.

TUMARKIN-DERATZIAN, A.R., VANN, D. R., DODSON, P. 2006. Bone surface texture as an ontogenetic indicator in long bones of the Canada goose *Branta canadensis* (Anseriformes: Anatidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* **148**:133–168

TUMARKIN-DERATZIAN, A. R. 2010. Histologic evaluation of ontogenetic bone surface texture changes in the frill of *Centrosaurus apertus*. In RYAN, M. J.,

CHINNERY-ALLGEIER, B. J. and EBERTH, D. A. (eds.), *New perspectives on horned dinosaurs*. Bloomington: Indiana University Press.

VELDMEIJER, A. J., MEIJER, H. J. M. and SIGNORE, M. 2006. *Coloborhynchus* from the Lower Cretaceous Santana Formation, Brazil (Pterosauria, Pterodactyloidea, Anhangueridae); an update. *PalArch's Journal of Vertebrate Palaeontology*, **3**(2): 15-29.

VILA NOVA, B. C. and SAYÃO, J. M. 2012. On wing disparity and morphological variation of the Santana Group pterosaurs. *Historical Biology*, **24**: 567-574. doi:10.1080/08912963.2012.658386.

WANG, X. L., KELLNER, A. W. A., CHENG, X., JIANG, S. X., WANG, Q., SAYÃO, J. M., RODRIGUES, T., COSTA, F., LI, N., MENG, X. AND ZHOU, Z. H. Eggshell and histology provide insight on the life history of a pterosaur with two functional ovaries. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. **87**:1599–1609. doi: 10.1590/0001-3765201520150364.

WEINER, S., ARAD, T. and TRAUB, W. 1991. Crystal organisation in rat bone lamellae. *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Journal*, **285**: 49-54.

WELLNHOFER, P. 1991. The illustrated encyclopedia of pterosaurs. Londres, Salamander Books, 192 p.

WERNING, S. 2012. The ontogenetic osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. *Plos One*, **7**:1-25. doi:10.1371/journal.pone.0033539.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure 1. Several evidences used to determine the age/ontogeny of pterosaur specimens. A. Presence of growth marks to determine the adult stage of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* (Kellner et al. 2013); B. Extensor process of the first unfused wing phalanx indicating the juvenile ontogenetic stage; C. Presence of well-developed premaxillary crest and of some closed cranial sutures indicating the adult ontogenetic stage of *Maaradactylus kellneri* Bantim, Saraiva, Oliveira and Sayão (2014); D. Bone surface texture - it is absent in juveniles and presents grooves and slots in adults; E. Asymptotic growth based on multiple species - highlighted by black arrows (Hone et al. 2016). (modified from Kellner & Tomida 2000).

Figure 2. MN 7060-V, scale bar: 5 cm. A. Wing metacarpal; B. first wing phalanx; C. mclV cross-section composed of vascular and primary canals, scale: 240 µm; D. ph1d4 transverse histological section, cortex showing reticular and longitudinal vascular canals towards the primary osteons, scale: 240 µm. The symbols (+) and (-) represent periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow indicates absence of ph1d4 extensor process.

Figure 3. MN 6594-V, scale bar: 5 cm. A. Distal portion of the first wing phalanx; B. ph1d4 transverse histological section, cortex showing reticular vascular canals, secondary osteons, LAGs and EFS, scale: 300 µm. The (+) and (-)

1
2
3 symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black
4 arrow indicates rough and perforated bone surface in ph1d4.
5
6
7
8

9 Figure 4. MN 4809-V. A. Complete left wing of MN 4809-V, scale bar: 5 cm; B.
10 Detail of the fusion between the extensor process and the first wing phalanx,
11 scale: 6 cm; C. Transverse histological section of the ulna, the cortex presents
12 reticular vascular canals and secondary osteons, scale: 300 μ m; D. Transverse
13 histological section of mclV, which presents reticular vascular canals,
14 secondary osteons, one endosteal lamella and two LAGs, scale: 300 μ m; E.
15 Transverse histological section of ph1d4; the cortex shows reticular vascular
16 canals and primary osteons, scale: 300 μ m. The (+) and (-) symbols represent
17 the periosteal and endosteal surface, respectively. The white arrow points to the
18 fusion between the extensor process and ph1d4.
19
20
21
22
23
24
25

26 Figure 5. MPSC R 2090, scale bar: 10 cm. A. Ulna; B. Radius; C. first wing
27 phalanx; D. Detail of unfused carpal bones; E. Transverse histological section of
28 the ulna, the cortex shows reticular vascular canals and secondary osteons,
29 scale: 300 μ m; F. Transverse histological section of the radius, the cortex
30 shows longitudinal vascular channels and "plywood" tissue, scale: 250 μ m; G.
31 Transverse histological section of ph1d4, the cortex shows reticular vascular
32 canals and secondary osteons, scale: 300 μ m. The symbols (+) and (-)
33 represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow
34 points to non-fused carpal bones.
35
36
37
38
39
40
41
42
43

44 Figure 6. MPSC R 1395, scale bar: 10 cm. A. first wing phalanx; B. Anterior
45 portion of the humerus; C. Distal portion of the ulna; D. Detail of the unfused
46 carpal bones; E. Transverse histological section of the humerus, the cortex
47 shows reticular vascular canals, primary osteons and annuli, scale: 300 μ m; F.
48 Transverse histological section of the ulna, the cortex shows reticular vascular
49 canals, secondary osteons, one LAG and one annuli, scale: 300 μ m; G.
50 Transverse histological section of ph1d4, the cortex shows reticular vascular
51 canals, secondary osteons and a zone, scale: 300 μ m. The (+) and (-) symbols
52 represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow in
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

A indicates the extensor process of the first unfused wing phalanx, and the unfused carpal bones in C and D.

Figure 7. MPSC R 982, scale bar: 5 cm. A. MPSC R 982 preserved bones; B. Detail of the fusion between the extensor process and ph1d4; C. Transversal histological section of mclV, the cortex shows reticular vascular canals, secondary osteons, a LAG and a zone, scale: 300 µm; D. Transversal histological section of the coracoid, the cortex only shows longitudinal vascular canals, scale: 300 µm; E. Transversal histological section of the radius, the cortex shows few vascular canals, scale: 250 µm. The (+) and (-) symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow points towards the fused extensor process of the first wing phalanx.

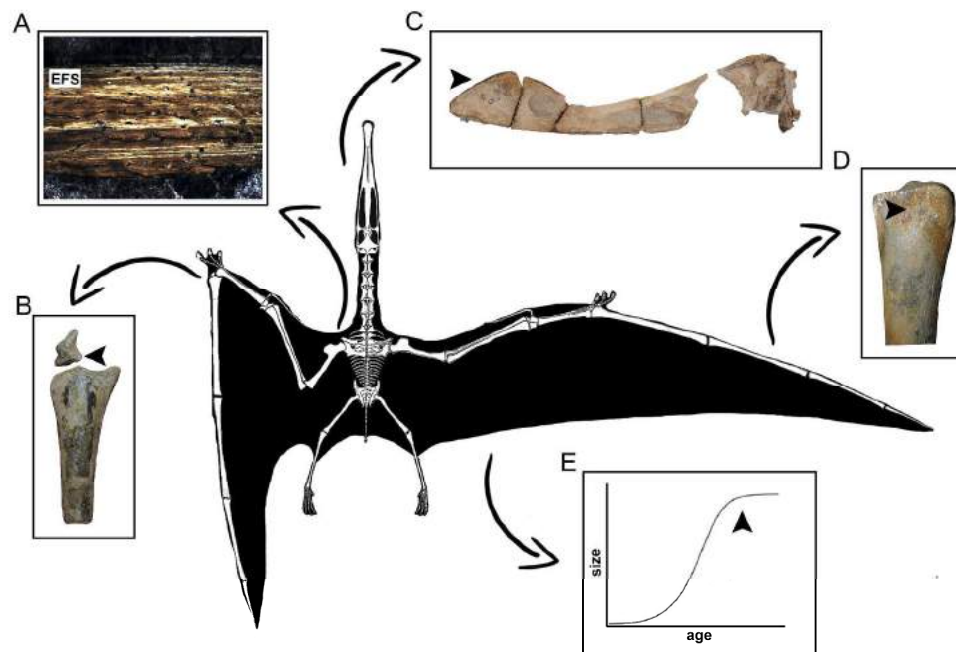


Figure 1. Several evidences used to determine the age/ontogeny of pterosaur specimens. A. Presence of growth marks to determine the adult stage of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* (Kellner et al. 2013); B. Extensor process of the first unfused wing phalanx indicating the juvenile ontogenetic stage; C. Presence of well-developed premaxillary crest and of some closed cranial sutures indicating the adult ontogenetic stage of *Maaradactylus kellneri* Bantim, Saraiva, Oliveira and Sayão (2014); D. Bone surface texture - it is absent in juveniles and presents grooves and slots in adults; E. Asymptotic growth based on multiple species - highlighted by black arrows (Hone et al. 2016). (modified from Kellner & Tomida 2000).

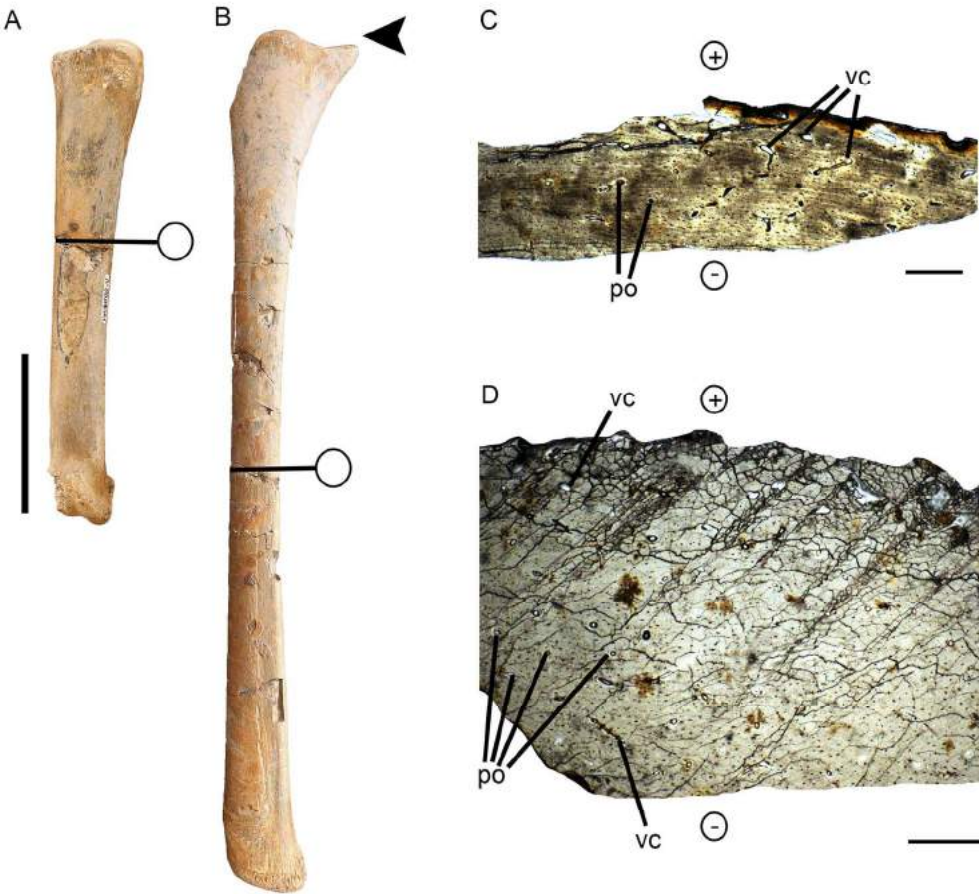


Figure 2. MN 7060-V, scale bar: 5 cm. A. Wing metacarpal; B. first wing phalanx; C. mcIV cross-section composed of vascular and primary canals, scale: 240 μ m; D. ph1d4 transverse histological section, cortex showing reticular and longitudinal vascular canals towards the primary osteons, scale: 240 μ m. The symbols (+) and (-) represent periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow indicates absence of ph1d4 extensor process.

160x148mm (300 x 300 DPI)

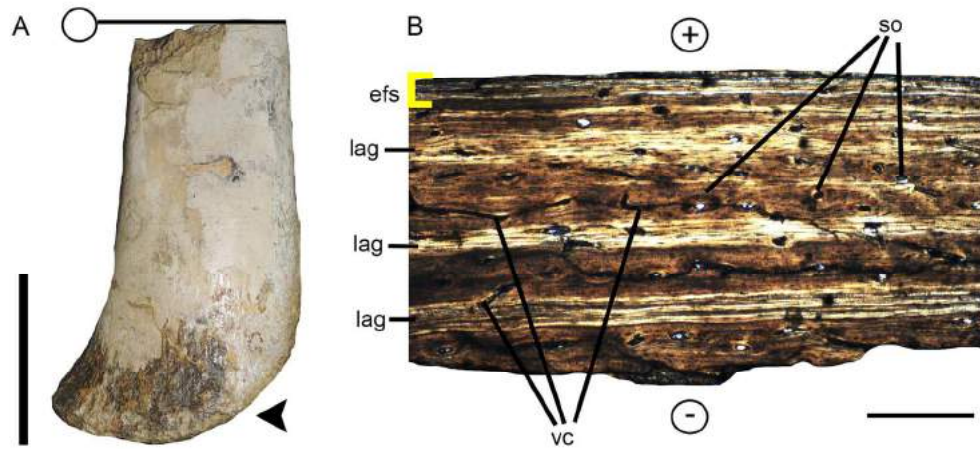


Figure 3. MN 6594-V, scale bar: 5 cm. A. Distal portion of the first wing phalanx; B. ph1d4 transverse histological section, cortex showing reticular vascular canals, secondary osteons, LAGs and EFS, scale: 300 μ m. The (+) and (-) symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow indicates rough and perforated bone surface in ph1d4.

160x78mm (300 x 300 DPI)

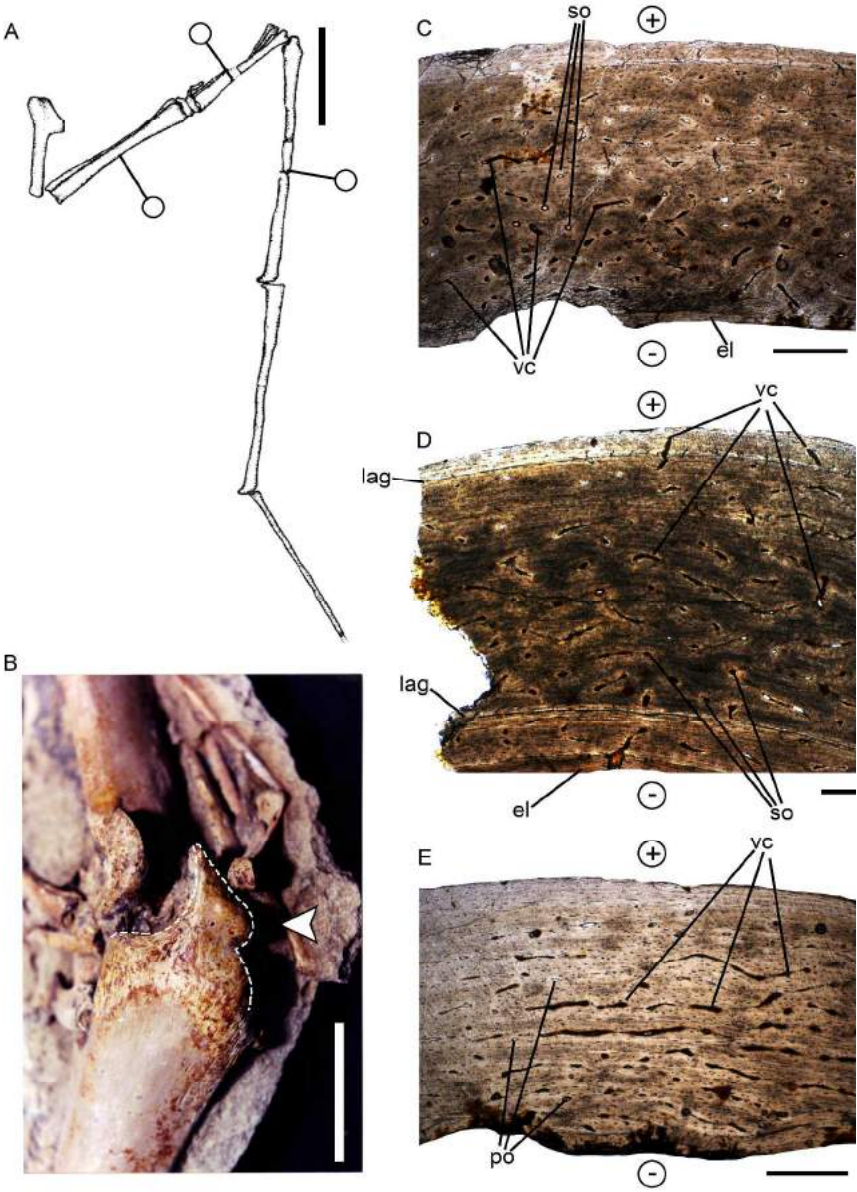


Figure 4. MN 4809-V. A. Complete left wing of MN 4809-V, scale bar: 5 cm; B. Detail of the fusion between the extensor process and the first wing phalanx, scale: 6 cm; C. Transverse histological section of the ulna, the cortex presents reticular vascular canals and secondary osteons, scale: 300 μ m; D. Transverse histological section of mcIV, which presents reticular vascular canals, secondary osteons, one endosteal lamella and two LAGs, scale: 300 μ m; E. Transverse histological section of ph1d4; the cortex shows reticular vascular canals and primary osteons, scale: 300 μ m. The (+) and (-) symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The white arrow points to the fusion between the extensor process and ph1d4.

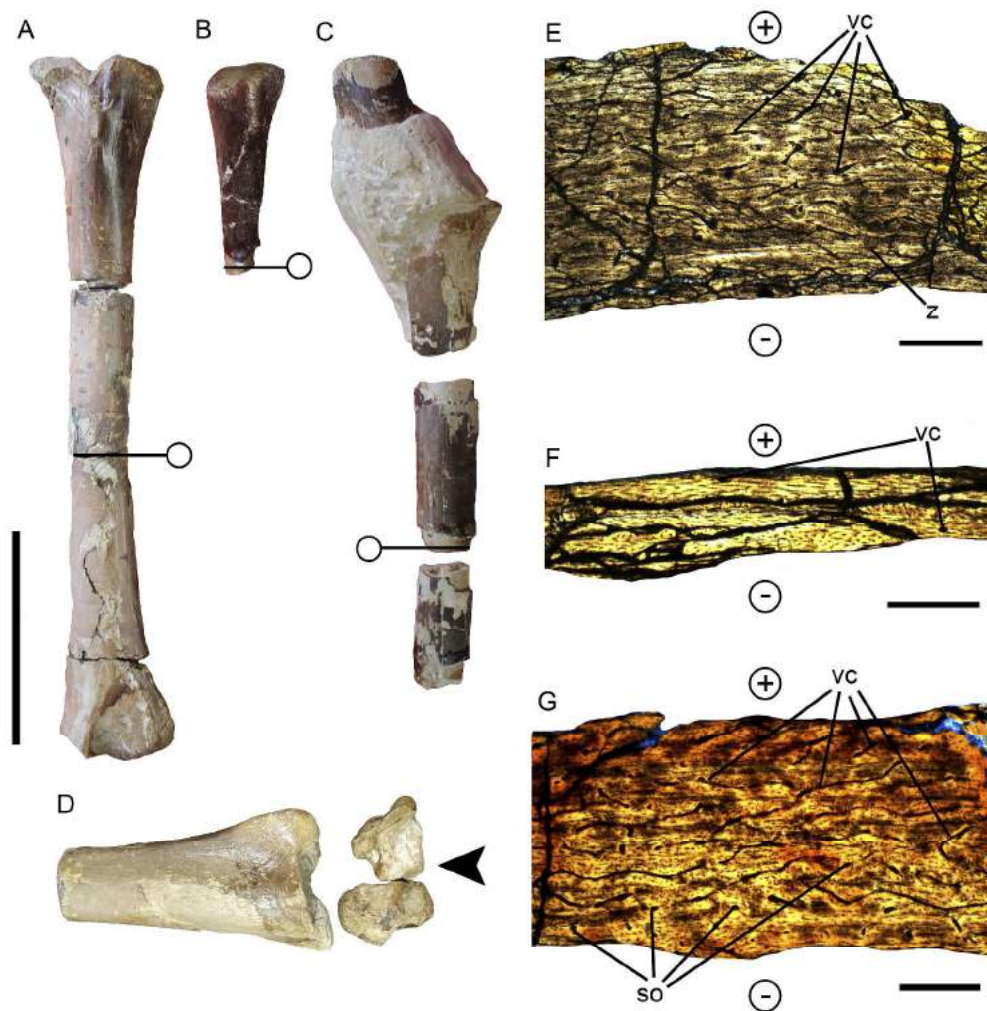


Figure 5. MPSC R 2090, scale bar: 10 cm. A. Ulna; B. Radius; C. first wing phalanx; D. Detail of unfused carpal bones; E. Transverse histological section of the ulna, the cortex shows reticular vascular canals and secondary osteons, scale: 300 μ m; F. Transverse histological section of the radius, the cortex shows longitudinal vascular channels and "plywood" tissue, scale: 250 μ m; G. Transverse histological section of ph1d4, the cortex shows reticular vascular canals and secondary osteons, scale: 300 μ m. The symbols (+) and (-) represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow points to non-fused carpal bones.

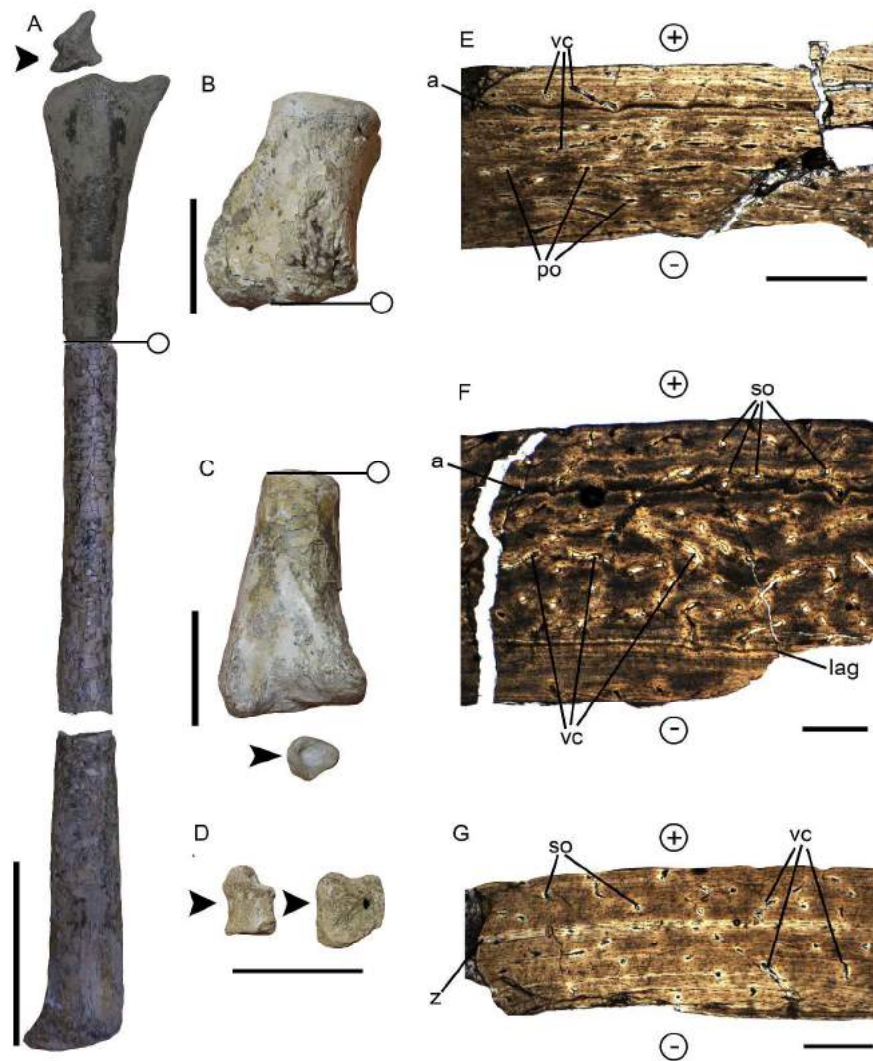


Figure 6. MPSC R 1395, scale bar: 10 cm. A. first wing phalanx; B. Anterior portion of the humerus; C. Distal portion of the ulna; D. Detail of the unfused carpal bones; E. Transverse histological section of the humerus, the cortex shows reticular vascular canals, primary osteons and annuli, scale: 300 μ m; F. Transverse histological section of the ulna, the cortex shows reticular vascular canals, secondary osteons, one LAG and one annuli, scale: 300 μ m; G. Transverse histological section of ph1d4, the cortex shows reticular vascular canals, secondary osteons and a zone, scale: 300 μ m. The (+) and (-) symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow in A indicates the extensor process of the first unfused wing phalanx, and the unfused carpal bones in C and D.

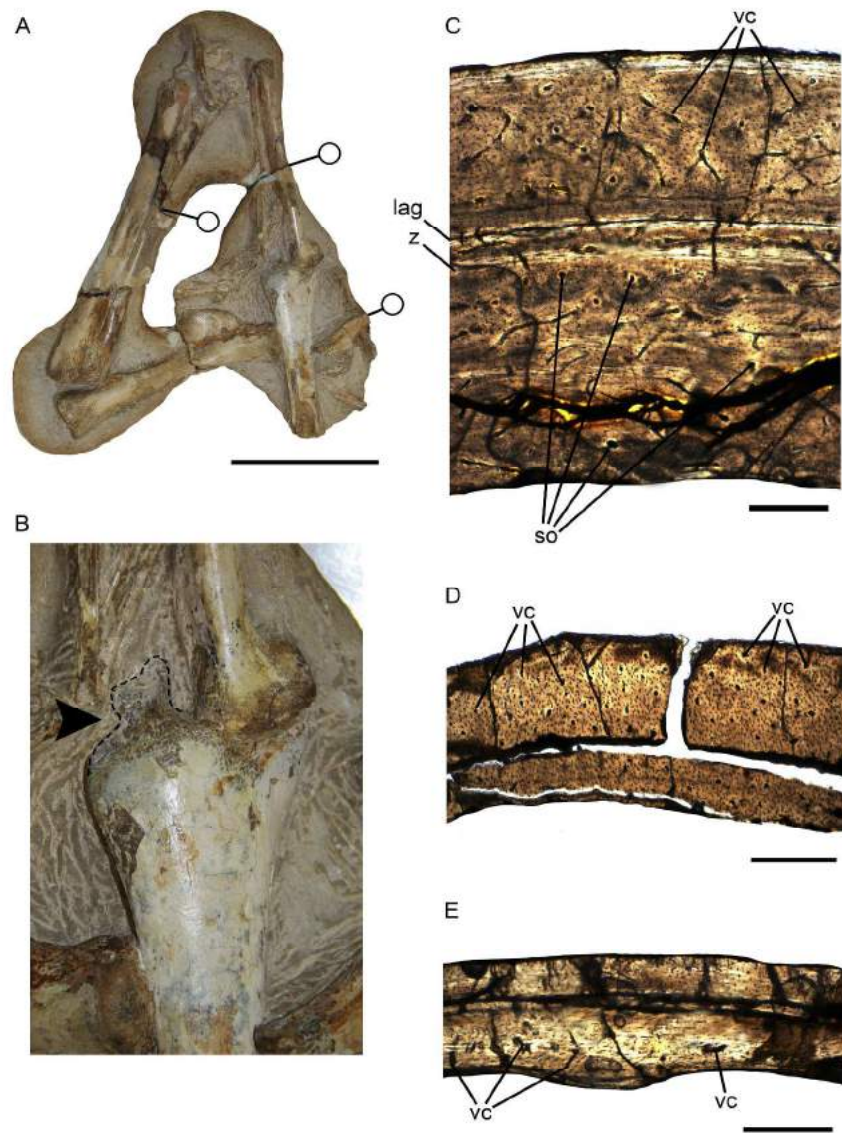


Figure 7. MPSC R 982, scale bar: 5 cm. A. MPSC R 982 preserved bones; B. Detail of the fusion between the extensor process and ph1d4; C. Transversal histological section of mcIV, the cortex shows reticular vascular canals, secondary osteons, a LAG and a zone, scale: 300 µm; D. Transversal histological section of the coracoid, the cortex only shows longitudinal vascular canals, scale: 300 µm; E. Transversal histological section of the radius, the cortex shows few vascular canals, scale: 250 µm. The (+) and (-) symbols represent the periosteal and endosteal surface, respectively. The black arrow points towards the fused extensor process of the first wing phalanx.

[Home](#)[Author](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to

Anais da Academia Brasileira de Ciências

Manuscript ID

AABC-2017-0899

Title

REVIEWING PARAMETERS AND CONFRONTING IDEAS ABOUT PTEROSAUR OSTEOHISTOLOGY AND THEIR PALEOBIOLOGICAL INFERENCES

Authors

Bantim, Renan

Sayão, Juliana

Date Submitted

07-Nov-2017

[Author Dashboard](#)



REVIEWING PARAMETERS AND CONFRONTING IDEAS ABOUT PTEROSAUR OSTEOHISTOLOGY AND THEIR PALEOBIOLOGICAL INFERENCES

Journal:	<i>Anais da Academia Brasileira de Ciências</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Bantim, Renan; Universidade Federal de Pernambuco, Programa de pós-graduação em Geociências; Universidade Regional do Cariri, Museu de Paleontologia Sayão, Juliana; Universidade Federal de Pernambuco, Laboratory of Northeast Biodiversity
Keyword:	Pterosaur, Cretaceous, Bone tissue, Evolution, Osteohistology
Classifications:	Ciências da Terra (Earth Sciences)

SCHOLARONE™
Manuscripts

**REVIEWING PARAMETERS AND CONFRONTING IDEAS ABOUT
PTEROSAUR OSTEOHISTOLOGY AND THEIR PALEOBIOLOGICAL
INFERENCES**

BANTIM, R. A. M.¹ & SAYÃO, J. M.²

¹*Programa de Pós-graduação em Geociências, Centro de Tecnologia e Geociências,
Universidade Federal de Pernambuco, Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n, Cidade
Universitária, Recife, Brasil. renanbantimbiologo@gmail.com*

²*Laboratório de Paleobiologia e Microestruturas, Universidade Federal de
Pernambuco, Rua do Alto Reservatório, s/n, Bela Vista, 55608-680, Vitória de Santo
Antão, PE, Brasil. jmsayao@gmail.com*

Keywords: Pterosaur, Cretaceous, Bone Tissue, Evolution, Osteohistology

Running title: Pterosaur Osteohistology

Academy section: Earth Sciences

Correspondent author: Renan A. M. Bantim – renanbantimbiologo@gmail.com

Abstract

Osteohistology of fossil taxa is an important tool to elucidate some aspects of the biology of extinct animals. As examples of results obtainable from this approach are the skeletal maturity, growth rates, physiology and a number of ecological data. Primarily concerning pterosaurs, osteohistology becomes one of the few methods available up to know to understand the biology of the group. In spite of that, osteohistological studies are in lacking of consensus due to the contrast between the amount of data available and the huge diversity of the group, besides little sample information regarding the diversity presented by the group. A compilation of the main osteohistological information from different groups of pterosaurs available in the specialized literature is herein presented.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1. Introduction

The pneumatic structure of bones (Fig. 1) is one of the most significant adaptations of pterosaur's skeleton to the flight (Unwin 2006, Witton 2013). This pneumacity in pterosaurs, is composed of trabecular and septae structures (Fig. 1, A-B) that cross the medullar cavity, demonstrating their function of strengthen in the bones of these flying reptiles (Steel 2008). The first description of a trabecula in a pterosaur bone was presented by Currie and Russell (1982). The understanding of the mechanisms involved in the maintenance of this characteristic has been one of the main objectives of osteohistological studies (de Ricqlès et al. 2000), which have traced biological, physiological and biomechanical trends in the group.

Osteohistology of fossil taxa is an important tool to elucidate some aspects of the biology of extinct animals (Sander 2000, Chinsamy 2005, Padian and Lamm 2013). As examples of results obtainable from this approach are the skeletal maturity, growth rates, physiology and a number of ecological data (e.g. Horner et al. 2000, de Ricqlès et al. 2000, Padian et al. 2004, Chinsamy et al. 2009, Werning, 2012, Prondvai et al. 2012, Woodward et al. 2014). Some authors established that growth rates and bone deposition were similar both in extinct and living organisms (Horner et al. 1999, Sander 2000). Consequently, it would be possible to infer several physiological, ontogenetic and phylogenetic characteristics exerting influence in the life history of vertebrates (Erickson and Tumanova 2000, Horner et al. 2000, Chinsamy 1997, 2005). Primarily concerning pterosaurs, osteohistology becomes one of the few methods available up to now to understand the biology of the group. In spite of that, osteohistological studies are in lacking of consensus due to the contrast between the amount of data available and the huge diversity of the group, besides little sample information regarding the diversity presented by the group.

A compilation of the main osteohistological information from different groups of pterosaurs available in the specialized literature is herein presented. The diversity of bone tissues, comparing some divergent information and presenting a critical analysis about the current osteohistological knowledge of this group of flying archosaurs is emphasized.

Institutional abbreviations: MN – Museu Nacional; MPSC – Museu de Paleontologia da URCA em Santana do Cariri.

PLEASE INSERT FIGURE 1 HERE

1.1 Historical context

Knowledge about bone microstructure has developed in tandem with advances in microscopy technology (e.g. light microscope, polarized light microscope and, more recently, scanning and electron transmission microscopes) (Chinsamy 2005). Pioneering studies on archosaur histology were carried out on fossil teeth (Owen 1840). Bone tissue analyses, however, started over 150 years ago involving skeletons of pterosaurs and dinosaurs (Bowerbank 1848), with a series of subsequent works (Queckett 1849a, 1849b, 1855). Initially, these studies were merely descriptive, since comparative analyses of histological data, and their paleobiological implications, were not usual approaches (Erickson and Tumanova 2000). The first osteohistological study in pterosaurs was carried out in Cretaceous bone fragments from the South England, and consisted essentially in their comparison to reptile and mammal bones (Bowerbank 1848). In the following year, Queckett (1849) described for the first-time microstructures of the humerus, such as the primary canals, canaliculi and trabeculae of the endosteum. Subsequently that author published a catalog containing about 15 pterosaur bone slides (Queckett, 1855). The presence of longitudinal haversian canals and canaliculi, and the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

recognition of similarities between the histology of pterosaurs and other reptiles, especially birds, were pointed out by Phillips (1871) on Bathonian bones from England.

In the later century bones of *Dorygnathus* were included in an extensive work involving amphibians and other reptiles. These were described as hollow, without spongy tissue and with a huge medullar cavity (Gross 1934). About 22 years later, a series of papers documented histological patterns among the largest groups of vertebrates (Enlow and Brown 1956, 1957, 1958), providing elucidation on their structure. These contributions emphasized shared evolutionary patterns, comparative bone histology and bone biology, including the analysis of a *Pteranodon* rib, which revealed a reticular pattern, composed of vascular channels, similar to many birds, an indicative of primary bone (Enlow and Brown 1957). The authors also proposed a classification for bone tissues based on the presence of vascular channels, their orientation and other histological characteristics (Enlow and Brown 1956, 1957, 1958).

Arambourg (1959) compared the histology description of the alar metacarpus of a giant pterosaur from the Upper Cretaceous of Jordan, to tibiae of *Pteranodon* and *Phoenicopterus ruber* Linnaeus, 1758 (pink flamingo). The author noticed differences in the size, shape and density of the osteocytes of the two pterosaurs and the flamingo, and attributed them to either genetic differences or the fossilization process. Some years later, a brief description of a pterosaur humerus was included in a pathological study in dinosaurs by Campbell (1966). That author observed the presence of dense cortical tissue with external circumferential lamellae and without reabsorption cavities. Unfortunately, neither curatorial number nor additional information about that fossil were supplied in that work. In a monography on Upper Jurassic pterosaurs from the southern Germany, Wellnhofer (1970) described the typical reticular vascular canals of

1
2
3 pterosaurs in an alar phalange of *Pterodactylus antiquus* Sömmerring, 1812, and the
4
5 similarity between the compact tissue of pterosaurs and birds.
6
7

8 At the end of the 1960's to the beginning of the 1980's several paleohistological
9
10 studies on various extinct tetrapods were published (de Ricqlès 1968, 1969, 1972,
11
12 1974a, 1974b, 1975, 1976, 1977a, 1977b, 1978a, 1978b, 1981). The innovation brought
13
14 by those works was the analysis of the bone tissue generation and its development in the
15
16 appendicular skeleton, demonstrating as a single bone may present different subtypes of
17
18 tissues in different parts. A several pterosaur taxa were included in a discussion on the
19
20 osteology of reptiles (de Ricqlès 1976). Yet very short, that report stressed structural
21
22 similarities with birds, such as large medullar cavities in the diaphysis closed by a dense
23
24 cortex with spongy tissue in the epiphyses.
25
26
27

28 The ontogeny of *Pteranodon* was analyzed in transversal sections of wings of
29
30 several specimens in different ontogenetic stages (Bennett 1993). Many criteria were
31
32 adopted to support the hypothesis that the growth of *Pteranodon* was fast, such as the
33
34 distribution of vascular canals and the structure of the epiphyses surface. Besides, it was
35
36 noticed some similarity in this aspect to birds and mammals due to the occurrence of
37
38 fibrolamellar tissue in the diaphysis of the alar metacarpi of juvenile and adult
39
40 specimens of *Pteranodon* (Bennett 1993). Subsequently, the same author studied the
41
42 size distribution of pterosaurs in the Solnhofen limestone (Germany) including the
43
44 genera *Rhamphorhynchus* and *Pterodactylus* (Bennett 1995, 1996). He concluded that
45
46 the specimens were predominantly juvenile, and put in doubt the taxonomic validity of
47
48 the species. Following this reasoning, Padian et al. (1995) analyzed the histology of the
49
50 bones of a small pterosaur (*Montanazhdarcho minori* Padian, de Ricqlès and Horner,
51
52 1995), concluding that despite the small size, its structures demonstrating that it was an
53
54 adult specimen (Padian et al. 1995).
55
56
57
58
59
60

Posteriorly, de Ricqlès et al. (1997) carried out another comparison between pterosaurs and living birds, especially in relation to the cortex thickness and the strongly irrigated fibrolamellar tissue, which indicated that the growing was continuous and fast. Circumferential growing marks, exclusive of pterosaurs, were interpreted as a temporary deceleration in the growing, associated to changes in the organization of the fibrolamellar bone, creating the so-called plywood-like tissue. The paleohistologic techniques improved appreciably in the subsequent years, and became an important tool. Among the new approaches, the microstructural analysis of teeth in *Pterodaustro*, has revealed that despite the fibrous aspect, they presented both enamel and dentine, differently from the filtering structures of Mysticeti (Chiappe and Chinsamy 1996). In another study, the pteroid microstructure was analyzed, revealing that it was not an ossified tendon as previously proposed (Wild 1978, Padian 1984), but a bone instead (Unwin et al. 1996).

An ontogenetic analysis in the bones of azhdarchid revealed that the pterosaurs grew fastly up to a certain size, interrupting the process abruptly afterwards (de Ricqlès et al. 2000). That work also discussed biomechanical and osteological aspects of pterosaurs that demonstrated the presence of a typical plywood-like structure in their bones (de Ricqlès et al. 2000).

The first histologic analysis of a Triassic pterosaur was undertook on the histology of the femur of a small specimen of *Eudimorphodon*, from Greenland, to investigate its ontogenetic stage (Jenkins et al. 2001). The analyses revealed a parallel fibrous matrix, which are indicators of fast growing. Structures typical of either newborn or adult specimens were not found demonstrating, therefore, that the histology of this specimen per se was not sufficient to determine its age (Jenkins et al. 2001). The

diagenetic alteration made difficult the histologic analysis and the authors did not present figures to complement the description (Jenkins et al. 2001).

The first osteohistological study in pterosaurs from the Santana Group (Brazil) compared the microstructure of an anhanguerid from the Romualdo Formation with a tapejarid from the Crato Formation (Sayão 2003). Based on the analysis of the microstructure of 14 bones, that author observed different growth rates in bones from the same individual. This demonstrates the histovariability and an allometric growth in the wings. Variation was not observed in the specimen from the Crato Formation, which presented evidences of fast growth (Sayão 2003).

Padian et al. (2004) compared the bone histology pterosaurs and small dinosaurs *Eudimorphodon cromptonellus* Zambelli, 1973, *Dimorphodon macronyx* Buckland, 1829 and *Rhamphorhynchus*. Tissues of those three pterosaurs showed a fast growth along their ontogeny, slowing down at the adult age. Those authors compared the fibrolamellar tissues of small pterosaurs, dinosaurs, crocodiles and fossil birds, to recent crocodiles and birds. The growth rates obtained were assembled in a cladogram (Padian et al. 2004).

A historical review on pterosaurs osteohistology with the description of new slides of both complete and fragmented bones from museum collection and universities was carried out by Steel (2008). The author observed that the structure and histological composition were similar to the bones of birds, with thin walls predominantly fibrolamellar. Notwithstanding, they presented specialized structures absent in birds, such as the plywood-like (Steel, 2008).

Bones of *Pterodaustro*, one of the rare examples of pterosaur with ontogenetic sequence thoroughly known, were used in a study on ontogenetic changes in bones from

several individuals (Chinsamy et al. 2008). In that work, long bones such as femora, humeri, tibiae, ulnae and radius were analyzed, and the results demonstrated that after hatching they grew up fastly for about two years, reaching approximately 53% of their size and, after a pause, reached their sexual maturity (Chinsamy et al. 2008). After that, the growing process went on for, at least, three or four years, in a relatively slower rate, until the adult size was reached demonstrating, therefore, a determinate growing strategy (Chinsamy et al. 2008).

In a continuation of the aforementioned work, Chinsamy et al. (2009) observed alterations in the bone microstructure of *Pterodaustro* and the growing dynamics along the ontogeny, besides information on the histological variability of the studied specimens. It also documents, apparently, the presence of medullar tissue in a large femur (Chinsamy et al. 2009). The authors suggested that, similarly to the birds, the female pterosaur deposited a special bone tissue to supply calcium to the organism during reproduction.

Five specimens of *Rhamphorhynchus* were examined by Prondvai et al. (2012) to investigate diversity in growing strategies. Fast-growing in early stages of life sustains the non-flying character of the hatchlings, and refutes the broadly accepted hypothesis of premature hatchlings (Prondvai et al. 2012). It was suggested that the appearance of the flight instead of reproduction would be the cause of the transition between the fast growing and slow growing stages. The first stage is indicated by the dominance of fibrolamellar bone in the juveniles, while the second one, by the concomitant deposition of long fibers and arrested lines in the cortex (Prondvai et al. 2012).

The largest flying reptile in the Gondwana, the pterosaur *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* and other huge pterosaurs of the Romualdo Formation were also object of

bone histological analyses (Kellner et al. 2013). Those authors presented the description of an alar phalanx, highlighting the presence of the external fundamental system, or circumferential lamellae (EFS) and growing lines (LAGs) in pterosaurs, which suggests that growing marks are not so rare in pterosaurs.

In the following year, Prondvai and Stein (2014) analyzed tens of slides of mandible symphyses of *Bakonydraco galaczi* Ósi, Weishampel and Jianu, 2005, an Upper Cretaceous (Santonian) Azhdarchidae from Hungary. The authors reassessed the presence of medullary bone-like and discovered that the multiple mandibular symphyses of *Bakonydraco* have a special bone tissue where it was possible to observe all the microanatomic, histologic and ontogenetic characteristics of the medullary bone, despite its uncommon location. The authors concluded that the presence of this tissue in the sample is probably not pathologic.

Wang et al. (2015) carried out a new study of *Kupengopterus* sp., a non-pterodactyloid pterosaur from China, previously described with a hatched egg preserved. The authors revealed the presence of another egg in the body of that female, which demonstrated that pterosaurs had two oviducts. A histologic section in the female's femur of *Kupengopterus* sp. did not reveal medullary bone preserved, demonstrating that pterosaurs reached the reproductive maturity before the full development of the skeleton.

Eleutério et al. (2015) presented the osteohistological and morfological description of the bones from the anterior limbs of two specimens related to the clade Anhangueria. The authors found the plywood-like tissue in a radius and defined biomechanical aspects probably influent in the deposition of this type of bone tissue.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

In the description of a new specimen of pterosaur, Martin-Silverstone et al. (2016) analyzed a humerus and a dorsal vertebra (including three notarial vertebrae fusioned) and other bone fragments associated to an Upper Cretaceous Azhdarchoidea from the British Columbia, Canada, which indicated a wingspan of about 1.5 m. The authors carried out histological analyses in the humerus and assessed the degree of fusion of the bones concluding that the specimen was close to the maturity and that small pterosaur are extremely rare in Upper Cretaceous layers.

Bennett and Penkalski (2017), analyzed four specimens of *Pteranodon*, which presented irregular patterns of alternance of clear and dark bands on the lateral surface of the pre-maxilla, in the anterior portion of the nasoantorbital fenestra. Histological analyses in those bands revealed that the pre-maxilla of *Pteranodon* is constituted of two thin bone membranes connected by septa regularly separated with pneumatic chambers, analogous to honeycombs. The authors concluded that the banded-specimens were immature males, and the banded marks resulted from the widening and remodeling of the rostrum along the growing and sexual maturity.

Pterosaur bone tissues

Primary-fibrolamellar bone tissue

The bone composed by fibrolamellar tissue is highly variable and originates from spatial and temporal disjunctions, but coordinated steps (Currey 1987, Huttenlocker et al. 2013). In tetrapods in general it is found in the periosteal surface of juveniles, and sometimes in the endosteum, composing their plywood-like tissue (Huttenlocker et al. 2013).

In pterosaurs, it consists in a fibrous tissue with high porosity, in most cases deposited rapidly and showing a reticular or plexiform vascular system (Fig. 2, A). The

vascular spaces are opened posteriorly to be filled by dense lamellar bone, characterized as fibrolamellar, whose main function is the reinforcement of the skeleton (Huttenlocker et al. 2013). The fibrolamellar bone tissue in pterosaurs is also named juvenile primary periosteal bone (De Ricqlés et al. 2000, Steel 2008). In most cases the canals that underlying the periosteum open toward its surface (Steel 2008). In bones with the primary tissue there are not growing marks, such as the annuli or LAG, moreover, the bone does not present any type of endosteal secondary tissue. One of the first characterizations of the fibrolamellar tissue was based in its description in long bones of *Pteranodon* and *Quetzalcoatlus* (De Ricqlés et al. 2000).

Primary bone tissue - Plywood-like

The plywood-like was described previously as a tissue that fits in a plywood layers biological pattern (Meunier and Castanet 1982, De Ricqlés et al. 2000, Steel 2008). Each layer is relatively thick and composed of parallel bone fibers, homogeneous and dense (De Ricqlés et al. 2000). The cells follow a pattern of orientation defined by the fibers of each layer, with primary vascular canals of small diameter crossing the layers (Enlow, 1966). The orientation of the fibers changes in each layer, as well as the orientation of the cells (De Ricqlés et al. 2000) (Fig. 2, B). This tissue is classified as plywood orthogonal by Meunier and Castanet (1982).

The plywood-like is found mainly in small bones of large pterosaurs (De Ricqlés et al. 2000). This tissue seems result from the tension and compression to different directions, which caused biomechanic effects in the bone (Steel 2008), since torsion and flexion movements exerted intense influence on the wing bones of pterosaurs (Biewener and Dial 1995, Steel 2008). In previous works, plywood-like tissues were recorded in pterigoids of a small ornithomimid (Steel 2008). These pterigoids might have suffered

sudden impacts and folds during the feeding, resulting in the plywood-like (Steel 2008). This tissue has been also observed in a scapula of *Pteranodon*, in limb bones and a vertebra of three azdarchids, in bones of the anterior limbs of *Montanazhdarcho* (Padian et al. 1995, De Ricqlès et al. 2000, Steel 2008) and in a radius of two distinct anhanguerids (Sayão, 2003, Eleuterio et al. 2015).

PLEASE INSERT FIGURE 2 HERE

Secondary bone tissue

The secondary bones tissue in pterosaurs is defined as any bone deposited on a surface previously re-absorbed (de Ricqlès et al. 2000, Steel 2008). Besides the action of repair and reshape the primary tissue, the secondary one is present in bones with distinct growing rates (de Ricqlès et al. 2000) (Fig. 3, A). In pterosaurs, secondary bones are seen in most specimens, especially in bones from adult and sub-adult individuals (Steel, 2008). In the adult life, the endosteal lamella is deposited in the internal surface (Fig. 3, A), after endosteal reabsorption (Steel 2008, Wang et al. 2015). The endosteal lamella is always avascular, with circumferential orientation, and osteocyte gaps widened. The presence of an endosteal lamella is, in most cases, followed by the formation of an external fundamental system, which indicates that the periostic growing was also interrupted or drastically reduced (Padian et al. 2000, Steel 2008, Andrade et al. 2015, Eleutério et al. 2015). In the secondary bone tissue, the spongy bone is sometimes transformed into compact spongy bone. The secondary bone is occasionally found in all skeleton of an individual (Steel 2008). A remarkable characteristic to the identification of a secondary tissue is the presence of growing marks (Fig. 3, A), such as zones, *annuli* or LAGs (Steel 2008, Eleutério et al. 2015).

The growing marks are common in several vertebrates and usually represent a reduction in the bone apposition (Sayão 2003, Steel 2008).

Dense haversian tissue

The presence of dense haversian tissue in pterosaurs is controversial. Previous works have proposed that pterosaurs do not present it and, rarely, secondary osteons (Bowerbank 1848, Quekett 1855, Seitz 1907, Gross 1934, Enlow and Brown 1957, Wellnhofer 1970, de Ricqlès 1976, Bennett 1993, Steel 2008, Eleutério et al. 2015). It was observed, however, that some azhdarchids present a reworked cortex, with a typical group of secondary osteons, characterized by central Havers canals, almost filled by secondary deposition (De Ricqlès et al. 2000). Besides this record, the dense haversian tissue was observed in *Montanazhdarcho* (Padian et al. 1995), being considered relatively similar to those of the azhdarchids analyzed by de Ricqlès (2000). It was, moreover, recorded the presence of secondary osteons in the wing metacarpal, first wing phalanx and in a femur (Fig. 3, A) of an anhanguerid (Sayão 2003). In the occurrences described by de Ricqlès et al. (2000) and Sayão (2003) the secondary osteons are longitudinally oriented inside the bone. In both studies the secondary osteons were found mainly in the periostic region of the bone tissue, associated to the base of the trabeculae (de Ricqlès et al. 2000), as also observed by Steel (2008). These evidences allowed the proposition that the secondary osteons were, probably, present in all regions of the deep periosteal cortex, but removed subsequently by endosteal reabsorption (Steel 2008).

Trabecules and epiphyses

The trabecules are particularly important in the bones, since they increase their rigidity, strength and resistance (Rogers and Labarbera 1993). In pterosaurs the

trabecules usually have periosteal tissue inside, which is continuous with the primary periosteal tissue, originating the bone cortex (Steel 2008). The trabecules are formed along two distinct stages. The first one during the medullar expansion, where the older periosteal tissue is removed (Sayão 2003, Steel 2008), and in the second one, the endosteal tissue is deposited on the trabeculae surface (Steel 2008).

The term epiphysis in its strict anatomic sense, refers to a secondary ossification separated from the diaphysis by a cartilaginous region, where the bone growing occurs up to the diaphysis and the fusion of epiphysis (Haines 1942, 1969, Steel 2008). The pterosaur's epiphyses are composed of a thin layer of subchondral bone supported by trabecules oriented longitudinally (De Ricqlès et al. 2000, Steel 2008), covered by calcified cartilage with globular lacunae of chondrocytes and transphyseal canals (Steel 2008). Thin sections of epiphyses were done in phalanges of *Pteranodon* and *Montanazhdarcho* (De Ricqlès et al. 2000), in bones of a pterosaur wing from Cambridge Greensand and in alar phalanx from the Romualdo Formation (Steel 2008).

Medullary bone-like

The medullary bone is a non-structural tissue that, under normal conditions, develops in the hematopoietic medullar cavities of female birds, induced by reproductive hormones (Schraer and Hunter 1985, Prondvai and Stein 2014). The medullary bone does not have mechanical function (Prondvai and Stein 2014), and constitutes a calcium reservoir easily mobilized during the calcification of the eggshells (Hurwitz 1965, Bonucci and Gherardi 1975, Kerschnitzki et al. 2014). Its microscopic analysis reveals an enlarged surface due to the high porosity and vascularization (Fig. 3, B). The trabecules are composed of woven bone and the activity level of the osteoclasts is considerably higher in the medulae of the cortical bone (Candlish and Holt 1971, Prondvai and Stein 2014, Prondvai 2016).

This type of bone was described for the first time in pigeons (Kyes and Potter 1934) and, later, in other recent birds, such as domestic birds (Bloom et al. 1958), Japanese quails (Taylor and Moore 1953), ducks and ostrich (Landauer et al. 1941) and having its function reassessed in vertebrate fossils by Prondvai (2016). In fossil vertebrates the first record of medullary bone was in different non-avian dinosaurs, specifically in bones from the posterior limbs of *Tyrannosaurus rex* Osborn, 1905 (Schweitzer et al. 2005), which provided additional evidence of the phylogenetic relation between birds and theropod dinosaurs (Schweitzer et al. 2005), where its presence is considered as a reliable indicator of a sexually mature female. In pterosaurs there are only two records of medullary bone-like, in a femur of *Pterodaustro* (Chinsamy et al. 2009) and several mandibular symphyses of *Bakonydraco* (Prondvai and Stein 2014). In *Bakonydraco* (Fig. 3, B), the mandibular symphyses showing a special bone tissue that shows all microanatomical, histological, and developmental characteristics of medullary bone, despite its unusual location (Prondvai and Stein 2014). In pterosaurs, this type of bone tissue is considered previously by Chinsamy et al. (2009) as originally from breeding females, but, due to its frequent occurrence in the sample it was considered a pathologic origin unlikely (Prondvai and Stein 2014), with independent evolutionary appearance from dinosaurian medullary bone, being considered an equally viable phylogenetic hypothesis, due to common origin, a later diverging function and physiological regulation (Prondvai and Stein 2014).

PLEASE INSERT FIGURE 3 HERE

2. What can we affirm?

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Growing rate and growing lines

The ontogeny of pterosaurs has been intensively studied in fossil archosaurs (Bennett 1993, Sayão 2003, Steel 2008) and some characteristics have been broadly used in the identification of the different ontogenetic stages. Presently, the fusion of some bones (e.g. carpals), the extensor process of the first phalanx, and some cranial bones are considered as indicators of late ontogenetic stages (Bennett 1993, Frey and Martill 1998, Kellner and Tomida 2000, Sayão 2003, Kellner 2015), though few information from thin sections are available. Growing rates in pterosaurs have been obtained based on the relation between the size, fusion of bones and osteohistological characteristics (Bennett, 1993). The juveniles *sensu* Bennett (1993) present a fibrolamellar tissue with open vascular canals in the periosteon, originating several grains in the surface, being considered as typical of fast growing processes, as proposed for *Pterandon*. In most cases, the presence of fibrolamellar bones in amniotas indicates a strategy of fast and determinate growing (Prondvai et al. 2012).

This proposal was adopted in subsequent works such as Padian et al. (1995) who analyzed the morphology and histology of *Montanazdharco*. In a synthesis on the anatomy, ontogeny and biomechanics in pterosaurs, De Ricqlès et al. (2000) presented thin sections of long bones from specimens of the Early Jurassic–Late Cretaceous interval, based on histological data from several sizes, skeletal elements, growing stages and phylogenetic affinities. The authors observed that most part of the bones was fibrolamellar, indicating high growing rates, high metabolism (Fig. 4, A, B, C, D), altricial development and prolonged parental care.

In a review of the growing rates of dinosaurs and pterosaurs, Padian et al. (2004) analyzed the osteohistology of some specimens of basal pterosaurs such as *Eudimorphodon* and *Rhamphorhynchus*, and more derived forms such as *Pteranodon*.

The results demonstrated slow rates in more basal taxa, such as *Eudimorphodon* and *Rhamphorhynchus*, and faster with similar rates to birds and mammals in derived and large forms (Padian et al. 2004). Histological analyses used to be done only in one or few individuals, but Chinsamy et al. (2008), based on hundreds of individuals of the genus *Pterodaustro* concluded that the juveniles grew rapidly until reaching 53% of the size; after that, they would grow during three or four years, but at lower rates up to the maturity, which corroborate the results by Bennett (1993) and Padian et al. (2004). Those authors, moreover, proposed a determinate growing for *Pterodaustro*.

Growing rates continued to be discussed by Prondvai et al. (2012), specifically in basal pterosaurs, such as *Rhamphorhynchus*. Prior to that study, low growing rates were proposed for the genus, analogous to the rates observed in crocodiles (De Ricqlès et al. 2000, Padian et al. 2004). The osteohistological analysis in an ontogenetic series of *Rhamphorhynchus*, revealed the predominance of fibrolamellar bones in juveniles, which would indicate higher growing rates (Prondvai et al. 2012) (Fig. 4, A). The early growing rate in *Rhamphorhynchus* supports a non-flying character of the hatchlings, which contradicts the broadly accepted hypothesis by Bennett (1993) and Padian et al. (2004). The stage of fast growing would be followed by a long phase of slow growing, as demonstrated by the deposition of fibrous parallel bone and growing lines in the cortex. This transition has been also observed in *Pterodaustro* (Prondvai et al. 2012). The beginning of the motorized flight would be the cause of the transition between the fast-growing stage to a slower and longer growing period (Prondvai et al. 2012). The authors concluded also that there is no evidence of either determinate or indeterminate growing in *Rhamphorhynchus*.

In pterosaurs the determination of the growing rates is still uncertain, at least in the late stages. It is possible to affirm, based on the bibliography, that juvenile

Pterodaustro grew rapidly (Chinsamy et al. 2008). Due to the small number of analyzed specimens it is not possible to assume, however, a fast growing to the group as a whole (Prondvai et al. 2012). After recent discoveries of pterosaur bone-beds in Cretaceous deposits from Brazil and China, with several ontogenetic stages, including embryos and eggs, those subjects could be elucidated.

External Fundamental System and the determinate growth in pterosaurs

Analogously to morphological characteristics that are indicative of the ontogeny, some bone structures can also be used with the same objective, such as the external fundamental system (EFS). The external circumferential lamella (= EFS) is a microstructural deposit of the bone, sometimes preserved in the outer part of the cortex, especially in long bones of archosaurs (Woodward et al. 2011, Andrade et al. 2015). This structure is poorly vascularized and composed of fibrous parallel tissues or lamellar tissue, deposited slowly as a “smooth finishing surface” in the bone (e.g. Cormack 1987, Starck and Chinsamy 2002, Ponton et al. 2004). It can be found in long bones of adult specimens, indicating the ending of the development of the periosteal circumference and that the skeleton maturity was reached, however the bones can still become more robust (Woodward et al. 2011, Lee and O'Connor 2013, Andrade and Sayão 2014, Andrade et al. 2015).

The EFS has already been recorded in mammals (e.g. Cormack 1987), birds (e.g. Ponton et al. 2004), non-avian dinosaurs (Erickson et al. 2004, Horner and Padian 2004, Padian et al. 2004), and crocodylomorphs (Woodward et al. 2011, Andrade et al. 2015). It was also recorded in pterosaurs (Fig. 4, D), but the number of specimens analyzed with EFS is still too low. In the basal pterosaurs, multiple bones of five specimens of an ontogenetic series of *Rhamphorhynchus* were sectioned (Prondvai et al. 2012). Although two of them revealed adult histology, none of the samples presented EFS.

Also, *Kunpengopterus* sp. (IVPP V18403), a female with two eggs, doesn't show EFS in its femoral section (Kellner et al. 2015). The only exception was in bones of *Dorignathus* (Gross, 1934) and the third wing phalanx of *Dimorphodon macronix* (de Ricqlès et al. 2000). Concerning the Archaeopterodactyloidea (sensu Kellner, 2003), hundreds of *Pterodaustro*'s bones had been sampled, and no EFS was found (Chinsamy et al. 2008, 2009). Despite the great size of the azhdarchids, all bones including those which the osteohistology shows adults features as *Bakonydraco* (Prondvai and Stein 2014, Prondvai 2016), *Montanazhdarcho minor* (Padian et al. 1995), *Quetzalcoatlus* and two other azhdarchid taxa (de Ricqlès et al. 2000) and a huge ulna (MUCPv-358) of a Dsungaripteroidea from Argentina (Kellner et al. 2006) the EFS was absent. Therefore, the anhanguerids are the only group of pterosaurs with a broader record of EFS (Sayão 2003, Steel 2008, Kellner et al. 2013), despite absent in bones of other two specimens (Eleutério et al. 2015).

Despite intermittent, the EFS record in pterosaurs is observed in different groups, from basal to more derived ones. Among in the anhanguerids these structures are more frequent, confirming a determined growth strategy at least to this group, as proposed by Prondvai et al. (2012). What is really clear from this sampling is that the vast majority of pterosaur taxa described so far was based on individuals whose maximum growth had not yet been reached.

Growth Marks

The occurrence of cyclic growing marks is continuous and, in part, caused by endogen physiologic processes (Eleutério et al. 2015). These cycles are synchronized and amplified by seasonal variation, such as light, temperature, humidity, food availability, etc. (Castanet et al. 1977, de Buffrénil 1980, Eleutério et al. 2015). These factors indicate cyclically growing (Castanet et al. 1977, de Buffrénil 1980, Hutton 1986).

Although LAGs are common in vertebrates, these marks are rarely found in pterosaurs (Eleutério et al. 2015).

PLEASE INSERT FIGURE 4 HERE

When juveniles the pterosaurs are histologically similar to birds (Fig. 4, A), due to the presence of primary bone tissue with plexiform canals. They differ, however, by a trend of deceleration in the growing along the development (Sayão 2003). In the analysis of the ontogeny of the pterosaur *Pterodaustro guinazui* Bonaparte, 1969, Chinsamy et al. (2009) proposed two growing phases after the hatchling: (i) one characterized by the initial fast-growing cycles, composed by zonal fibrolamellar tissue-lamellar, with *annuli*, and (2) a subsequent phase of slower growing, with cycles of fibrous to lamellar bone tissue, interrupted by LAGs (Chinsamy et al. 2009).

Histovariability

As observed by Sayão (2003) and Prondvai et al. (2012), some specimens of pterosaurs present bone histovariability, which corroborate the hypothesis that pterosaurs present different growing rates for different bones. Histovariability in bones of the same individual is not common in archosaurs, being observed only in some dinosaurs (Horner et al. 1999, Sander 2000, Padian et al. 2001, Werning 2012). Recently, Eleutério et al. (2015), analyzing biomechanical influences in anterior limbs of two anhanguerids, also reported an osteohistological diversity. So, besides the previously known causes, it was included the biomechanic as histovariability factor, as demonstrated by the radius of a specimen conspicuously modified due to the torsion undergone by the bone during the

flight, being the radius cortex of this individual composed by an avascular bone tissue with osteocyte gaps disposed laterally (Eleutério et al. 2015).

Plywood like tissue

Some pterosaur bones have an uncommon type of primary periosteal bone tissue, which have been defined as plywood-like by de Ricqlès et al. (2000). It was identified as follows: “Each layer is relatively thick and composed of homogeneous bone fibers, denses and parallels; the cells are fusiform and oriented according to the fibers. Locally, vascular canals of small diameter, cross the layers. From one layer to the other the orientation of the fibers change, as observed for the bone cells. This tissue is classified as orthogonal plywood. In a cross section examined under crossed nicols, the layers with longitudinally orientated fibers are highly anisotropic, while the layers with transversally cut fibers, are isotropic” (de Ricqlès et al. 2000). In this type of bone tissue organization, the collagen fibers and the osteocyte gaps have a preferential and exclusive orientation in each lamella (Steel 2008). This type of structural organization was observed in coelacanth scales (Giraud et al. 1978), in secondary osteons of human femora (Giraudguille 1988) and in the primary cortex of a rat (Weiner et al. 1991). Differences, however, exist among those given examples (Steel 2008). In pterosaur bones, the plywood is orthogonal, i.e., the lamellae are orientated in the same plane, but inclined 90° each other (Steel 2008). Moreover, it is commonly avascular or with low vascularization.

During the analysis of thin section of *Pteranodon* bones, de Ricqlès et al. (2000) observed a cortex with lamellar tissue, assuming that it could be a plywood-like pattern, which had never been recorded in tetrapods before (de Ricqlès et al. 2000). Examples of this type of tissue were recorded in a scapula of *Pteranodon* (de Ricqlès et al. 2000), in sections of limb bones and a vertebra of three different azhdarchids (de Ricqlès et al.

2000), in wing bones of *Montanazhdarcho* (Padian et al. 1995), in a second phalanx of fourth digit (Sayão 2003) and in a pterigoid (Steel 2008) of an *Anhangueria* from the Araripe Basin.

Even after the analysis of dozens of specimens of *Pterodaustro*, plywood-like tissues were not observed (Chinsamy et al. 2009), demonstrating that the distribution of this tissue is irregular among the pterosaurs, and seem to be restrict to the smaller bones of large individuals (Steel 2008). Besides, it can be also considered a product of biomechanical factors (Steel 2008). The occurrence of this tissue in Pterosauria, though irregular, is noteworthy, but little is known up to now in terms of its origin and function.

3. Conclusion

According to several studies, the bone tissues in pterosaurs are both structurally and histologically more related to the birds ones, than to crocodiles and lizard, being composed of thin walls and with fibrolamellar tissue. This relation is herein considered as the result of similar life modes and to biomechanical factors, which lead to the synthesis of tissue and similar histological structures in both groups. Since the first osteohistological studies of pterosaurs, several specimens have been analyzed. Those were not only based on isolated bones, but also in thin sections from many bones from the same individual, leading, therefore to more comprehensive paleobiologic knowledge of these animals in the last few decades.

Some types of bone tissues are still poorly known, for instance, the plywood-like, since its occurrence among the Pterosauria is uneven. Different from the plywood-like, the medullary bone-like tissue is increasingly more understood in pterosaurs, and its

pathogenic origin is increasingly more accepted than the reproductive process one. It becomes clear that the presence of haversian bone is a fact in pterosaurs, as has been demonstrated in several publications. As the pterosaur bones are significantly thin, the reabsorption process was constant. This reduces the probability of preservation of secondary structures, such as secondary osteons and growing lines, which has limited inferences in several previous studies.

The young pterosaurs have grown fastly, but the growing rates reduced at the sub-adult stage. After the deposition of endosteal and periosteal lamellae (EFS), the individual could be considered adult. Another aspect that can be considered as a fact in pterosaurs is the histovariability.

Acknowledgements

The authors thank the AABC editor Alexander W. A. Kellner for the invitation to participate in the special volume of the centenary of ABC. We would also like to thank Dr. Edina Prondvai (Ghent University) for allowing the use of the photograph of *Bakonydraco* slide. This project was partially funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq with grants to JMS (#458164/2014-3), and a fellowship to RAMB (#140555/2013-7).

References

ANDRADE RCLP AND SAYÃO JM. 2014. Paleohistology and lifestyle inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). Plos One 7: 102-189

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

ANDRADE RCLP, BANTIM RAM, LIMA FJ, CAMPOS LS, ELEUTÉRIO LHS AND SAYÃO JM. 2015. New data about the presence and absence of the external fundamental system in Archosaurs. *Cad Cult Cienc* 14: 200-211.

ARAMBOURG C. 1959. *Titanopteryx philadelphiae* nov. gen., nov. sp. Ptérosauren géant. *Notes Mém Moyen-Orient* 7: 229–234.

BENNETT SC. 1993. Taxonomy and systematics of the Late Cretaceous pterosaur *Pteranodon* (Pterosauria, Pterodactyloidea). *Occas Pap Nat Hist Mus* 169: 1-70.

BENNETT SC. 1995. The phylogenetic position of the Pterosauria within the Archosauromorpha, *Zool J Linn Soc-Lond* 118: 261-308.

BENNETT SC. 1996. Year-classes of pterosaurs from the Solnhofen Limestones of Germany: taxonomic and systematic implications. *J Vertebr Paleontol* 16: 432-444.

BENNETT SC AND PENKALSKI P. 2017. Waves of bone deposition on the rostrum of the pterosaur *Pteranodon*. *Geol Soc Lond Spec Pub* 1: 455.

BIEWENER AA AND DIAL KP. 1995. In vivo strain in the humerus of pigeons (*Columba livia*) during flight. *J Morphol* 225: 61–75.

BLOOM M, DOMM L, NALBANDOV A AND BLOOM W. 1958. Medullary bone of laying hens. *Am J Anat* 102: 411-444

BONUCCI E AND GHERARDI G. 1975. Histochemical and electron microscope investigations on medullary bone. *Cell Tissue Res* 163: 81–97.

BOWERBANK JS. 1848. Microscopical observations on the structure of the bones of *Pterodactylus giganteus* and other fossil animals. *Q J Geol Soc* 4: 2-10.

CAMPBELL JG. 1966. A dinosaur bone lesion resembling avian osteopetrosis and some remarks on the mode of development of the lesions. *J R Microsc Soc* 85:163–174.

CANDLISH JK AND HOLT FJ. 1971. The proteoglycans of fowl cortical and medullary bone. *Comp Biochem Physiol* 40: 283–290.

CASTANET JFJ, MEUNIER A AND DE RICQLÈS K. 1977. L'enregistrement de la croissance cyclique par les tissue osseux chez les vertébrés poikilothermes: donnés comparative et essai de synthese. Bull biol Fran Belg 3: 183-202.

CHIAPPE LM AND CHINSAMY A. 1996. *Pterodaustro* true teeth. Nature 379: 211-212.

CHINSAMY, A. 1997. Assessing the biology of fossil vertebrates through bone histology. Palaeontol Afric 33: 29–35.

CHINSAMY, A. 2005. The microstructure of dinosaur bone. Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland: 195 p.

CHINSAMY A, CODORNIU L AND CHIAPPE LM. 2008. Developmental growth patterns of the filter-feeder pterosaur, *Pterodaustro guinazu*. Biol Lett 4:282–285.

CHINSAMY A, CODORNIÚ L AND CHIAPPE LM. 2009. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guiñazui*. Anat Rec 292: 1462-77.

CORMACK, D. H. 1987. Ham's Histology. JB Lippincott Company. Philadelphia.

CURREY, J. D. 1984. Mechanical Adaptations of Bones. Princeton University Press. Princeton, London: 294 pp.

CURREY, J. D. 1987. The evolution of the mechanical properties of amniote bone. J Biomech 20: 1035–1044.

CURRIE PJ AND RUSSELL DA. 1982. A giant pterosaur (Reptilia: Archosauria) from the Judith River (Oldman) Formation of Alberta. Can J Earth Sci 19: 894–897.

DE BUFFRÉNIL V. 1980. Mise em évidence de l'incidence dès conditions de milliu sur la croissance de *Crocodylus siamensis* (Schneider, 1801) et valeurs des marques de croissance squelettiques pour l'évaluation de l'âge individuel. Arch Zool Exp Gén 121: 63-76.

DE RICQLÈS AJ. 1968. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tetrápodes I. Origine du tissu osseux plexiforme des dinosauriens sauropodes. Ann Paléontol 54: 133–145.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

DE RICQLÈS AJ. 1969. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes II. Quelques observations sur la structure des os longs des thériodontes. *Ann Paléontol* 55: 3–52.

DE RICQLÈS AJ. 1972. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes III. Titanosuchiens dinocéphales et dicynodontes. *Ann Paléontol* 58: 17–60.

DE RICQLÈS AJ. 1974a. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes IV. Eothériodontes et pélycosaures. *Ann Paléontol* 60: 1–39.

DE RICQLÈS AJ. 1974b. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes V. Cotylosaures et mésosaures. *Ann Paléontol* 60: 171–216.

DE RICQLÈS AJ. 1975. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Première partie, structures. *Ann Paléontol* 61: 51–129.

DE RICQLÈS AJ. 1976. On bone histology of fossil and living reptiles, with comments on its functional and evolutionary significance. In: BELLAIRS ADA AND COX CB (Eds.), *Morphology and Biology of Reptiles*. London: Academic Press, p. 123-150.

DE RICQLÈS AJ. 1977a. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, suite. *Ann Paléontol* 63: 33–56.

DE RICQLÈS AJ. 1977b. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Deuxième partie, fonctions, fin. *Ann Paléontol* 63: 133-160.

DE RICQLÈS AJ. 1978a. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution. *Ann Paléontol* 64: 85-111.

DE RICQLÈS AJ. 1978b. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes VII. Sur la classification, la signification fonctionnelle et l’histoire des tissus osseux des tétrapodes. Troisième partie, évolution, fin. *Ann Paléontol* 64: 153–184.

DE RICQLÈS A. 1981. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes. VI.—Stégocéphales. *Ann Paléontol* 67: 141-160.

DE RICQLÈS AJ, HORNER, JR AND FRANCILLON-VIEILLOT H. 2000. Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauris): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. *Zool J Linn Soc-Lond* 129: 349–385.

ELEUTÉRIO LHS, BANTIM RAM, LIMA FJ, ANDRADE RCLP, SARAIVA AAF, KELLNER AWA AND SAYÃO JM. 2015. Biomechanical and physiological influences on the osteohistological deposition of Anhangueria (Pterosauria, Pterodactyloidea). *Rev Bras Paleontolog* 18: 403-412.

ENLOW DH. 1966. A comparative study of facial growth in Homo and Macaca. *Am J Phys Anthropol* 24: 293-308.

ENLOW DH AND BROWN SO. 1956. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part I. *Tex J Sci* 8: 403 – 443.

ENLOW DH AND BROWN SO. 1957. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part II. *Tex J Sci* 9: 185–214.

ENLOW DH AND BROWN SO. 1958. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part III. *Tex J Sci* 10: 187–230.

ERICKSON, G. M.; MAKOVICKY, P. J.; CURRIE, P. J.; NORELL, M. A.; YERBY, S. A.; BROCHU, C. A. Gigantism and comparative life-history parameters of tyrannosaurid dinosaurs. *Nature*, v. 430, p. 772-775. 2004.

ERICKSON GM AND TUMANOVA TA. 2000. Growth curve of *Psittacosaurus mongoliensis* Osborn (Ceratopsia: Psittacosauridae) inferred from long bone histology. *Zool J Linn Soc-Lond* 130: 551–566.

FREY, E.; MARTILL, D.M. 1998. Late ontogenetic fusion of the processus tendinis extensoris in Cretaceous pterosaurs from Brazil, *Neues Jahrb Geol P-A* 10: 587-594.

GIRAUD MM, CASTANET J, MEUNIER FJ AND BOULIGAND Y. 1978. The fibrous structure of coelacanth scales: a twisted 'plywood'. *Tissue and Cell*, v. 10, p. 671-686.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

GIRAUD-GUILLE MM. 1988. Twisted plywood architecture of collagen fibrils in human compact bone osteons. *Calcified Tissue Int* 42: 167-180.

GROSS W. 1934. Die typen des mikroskopien knochenbaues bei fossilen Stegocephalen und Reptilien. *Z Anat* 103: 731-764.

HAINES RW. 1942. The evolution of epiphyses and of endochondral bone. *Biol Rev* 14: 267–292.

HAINES RW. 1969. Epiphyses and sesamoids. In: GANS CA ET AL. (Eds.), *Biology of the Reptilia*, Vol. 1: Morphology. London: Academic Press, p. 81–115.

HORNER JR, DE RICQLÈS A AND PADIAN K. 1999. Variation in dinosaur Skeletochronology indicators: implications for age assesment and physiology. *Paleobiology* 25: 295:304.

HORNER JR, DE RICQLÈS AJ AND PADIAN K. 2000. The bone histology of the hadrosaurid dinosaur *Maiasaura peeblesorum*: growth dynamics and physiology based on an ontogenetic series of skeletal elements. *J Vertebr Paleontol* 20: 15–129.

HORNER JR AND PADIAN K. 2004. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 271: 1875-1880 implications. *Zool J Linn Soc-Lond* 129: 349-385.

HURWITZ S. 1965. Calcium turnover in different bone segments of laying fowl. *Am J Physiol* 208: 203–207.

HUTTENLOCKER AK, WOODWARD HN AND HALL BK. 2013. The biology of bone. In: PADIAN K AND LAMM ET (Eds.), *Bone histology of fossil tetrapods: issues, methods, and databases*. Berkeley, University of California Press. p. 13–34.

HUTTON JM. 1986. Age determination of living Nile crocodiles from the cortical stratification of bone. *Copeia*, 1986: 332-341.

JENKINS FA, SHUBIN NH, GATESY SM AND PADIAN KA. 2001. diminutive pterosaur (Pterosauria: Eudimorphodontidae) from the Greenlandic Triassic. *B Mus Comp Zoo* 156: 151-170.

1
2
3 KELLNER AWA. 2003. Pterosaur phylogeny and comments on the evolutionary
4 history of the group. 105–137. Geol Soc London 217: 1-347

5
6 KELLNER AWA. 2015. Comments on Triassic pterosaurs with discussion about
7 ontogeny and description of new taxa. An Acad Bras Cienc 87: 669–689.

8
9
10 KELLNER AWA AND TOMIDA Y. 2000. Description of a new species of
11 Anhangueridae (Pterodactyloidea) with comments on the pterosaur fauna from the
12 Santana Formation (Aptian-Albian), Northeastern Brazil. Natl Sci Mus Monogr 17: 1-
13 135.

14
15
16 KELLNER AWA ET AL. 2013. The largest flying reptile from Gondwana: a new
17 specimen of *Tropeognathus* cf. *T. mesembrinus* Wellnhofer, 1987 (Pterodactyloidea,
18 Anhangueridae) and other large pterosaurs from the Romualdo Formation, Lower
19 Cretaceous, Brazil. An Acad Bras Cienc 85: 113-135.

20
21 KYES P AND POTTER TS. 1934. Physiological marrow ossification in female
22 pigeons. Anat Rec 60: 377-379.

23
24 LANDAUER W, PFEIFFER CA, GARDNER WU AND SHAW JC. 1941. Blood
25 serum and skeletal changes in two breeds of ducks receiving estrogens. Endocrinology
26 28: 458–464.

27
28 LEE AH AND O'CONNOR PM. 2013. Bone histology confirms determinate growth
29 and small body size in the noasaurid theropod *Masiakasaurus knopfleri*. J Vertebr
30 Paleontol 33: 865- 876.

31
32 MARTIN-SILVERSTONE E, WITTON MP, ARBOUR VM AND CURRIE PJ. 2016.
33 A small azhdarchoid pterosaur from the latest Cretaceous, the age of flying giants. Roy
34 Soc Open Sci 3: 160333.

35
36 MEUNIER FJ AND CASTANET J. 1982. Organisation spaciales des fibres de collagène
37 de la plaque basale des écailles des Tektostens. Zool Scr 11: 141-153.

38
39 OWEN R. 1840. Odontography, a treatise on the comparative anatomy of teeth, etc.
40 London-H. Baillière. 655 p.

41
42 PADIAN KA. 1984. A large pterodactyloid pterosaur from the two medicine formation
43 (Campanian) of Montana. J Vert Paleontol 4: 516–524.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

PADIAN K AND LAMM ET. 2013. Bone histology of fossil tetrapods: advancing methods, analysis, and interpretation. Oakland, University of California Press, 285 p.

PADIAN K, DE RICQLÈS AJ AND HORNER J. 1995. Bone histology determines identification of a new fossil taxon of pterosaur (Reptilia: Archosauria). C R Acad Sci 320: 77-84.

PADIAN K, DE RICQLÈS A AND HORNER JR. 2001. Dinosaurian growth rates and bird origins. Nature 412: 405-408.

PADIAN K, HORNER JR AND DE RICQLÈS AJ. 2004. Growth in small dinosaurs and pterosaurs: the evolution of archosaurian growth strategies. Paleontology 24: 555-571.

PHILLIPS J. 1871. Geology of Oxford and the Valley of the Thames. Clarendon Press, Oxford, 523 p.

PONTON F, ELZANOWSKI A, CASTANET J, CHINSAMY, A, DE MARGERIE E, DE RICQLÈS AJ AND CUBO J. 2004. Variation of the outer circumferential layer in the limb bones of birds. Acta Ornithol 39: 21-24.

PRONDVAI E. 2016. Medullary bone in fossils: function, evolution and significance in growth curve reconstructions of extinct vertebrates. J Evol Biol doi: 10.1111/jeb.13019.

PRONDVAI E, STEIN K, ÖSI A AND SANDER MP. 2012. Life history of *Rhamphorhynchus* inferred from bone histology and the diversity of Pterosaurian growth strategies. Plos One 7: e31392.

PRONDVAI E AND STEIN K. 2014. Medullary bone-like tissue in the mandibular symphyses of a pterosaur suggests non-reproductive significance. Sci Rep 4: 6253. doi:10.1038/srep06253

QUEKETT JT. 1849a. On the intimate structure of bone, as composing the skeleton in the four great classes of animals, viz., mammals, birds, reptiles and fishes, with some remarks on the great value of the knowledge of such structure in determining the affinities of minute fragments of organic remains. T Mic Soc Lond 2: 46-58.

QUEKETT JT. 1849b. Additional observations on the intimate structure of bone. T Mic Soc Lond 2: 59-64.

1
2
3 QUEKETT JT. 1855. Descriptive and illustrative catalogue of the histological series. In:
4 contained in the Museum of the Royal College of Surgeons of England, vol. 2, Structure
5 of the skeleton of vertebrate animals. London.
6
7

8
9 ROGERS RR AND LABARBERA M. 1993. Contribution of internal bony trabeculae
10 to the mechanical properties of the humerus of the pigeon (*Columba livia*). J Zool-
11 London 230: 433-441.
12
13

14
15 SANDER MP. 2000. Longbone histology of the Tendaguru sauropods: implications for
16 growth and biology. Paleobiology 26: 466-488.
17
18

19
20 SAYÃO JM. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the
21 Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. Geol Soc London 1: 335-
22 342.
23
24

25
26 SCHRAER H AND HUNTER SJ. 1985. The development of medullary bone: A model
27 for osteogenesis. Comp Biochem Physiol 82: 13-17.
28
29

30
31 SCHWEITZER MH, WITTMAYER JL AND HORNER JR. 2005. Gender-specific
32 reproductive tissue in ratites and *Tyrannosaurus rex*. Science 308: 1456-1460.
33
34

35
36 SEITZ AL. 1907. Vergleichende Studien über den mikroskopischen Knochenbau
37 fossiler und rezenter Reptilien und dessen Bedeutung für das Wachstum und Umbildung
38 des Knochengewebes im Allgemeinen. Nova Act Lc 87: 229-370.
39
40

41
42 STARCK JM AND CHINSAMY A. 2002. Bone microstructure and developmental
43 plasticity in birds and other dinosaurs. J Morphol 254: 232-246.
44
45

46
47 STEEL L. 2008. The palaeohistology of pterosaur bone: an overview. Zitteliana 28:
48 109-125.
49
50

51
52 TAYLOR TG AND MOORE JM. 1953. Avian medullary bone. Nature. 172: 504-505.
53
54

55
56 UNWIN DM. 2006. The Pterosaurs: From Deep Time. New York: Pi Press. 273 p.
57
58

59
60 WANG XL ET AL. 2015. Eggshell and histology provide insight on the life history of a
pterosaur with two functional ovaries. An Acad Bras Cienc 87: 1599-1609.

WEINER S, ARAD T AND TRAUB W. 1991. Crystal organisation in rat bone lamellae. FEBS J 285: 49-54.

WELLNHOFER P. 1970. Die Pterodactyloidea (Pterosauria) der Oberjura Plattenkalke Süddeutschlands. Bayerische Akademie der Wissenschaften Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse Abhandlungen, 141: 1–133.

WERNING S. 2012. The Ontogenetic Osteohistology of *Tenontosaurus tilletti*. Plos ONE 7: 3.

WILD R. 1978. Die Flugsaurier (Reptilia, Pterosauria) aus der Oberen Trias von Cene bei Bergamo. Italien Boll Soc Paleont It 17: 176-256.

WOODWARD HN, HORNER JR AND FARLOW JO. 2011. Osteohistological evidence for determinate growth in the *American Alligator*. J Herpetol 45: 339-342.

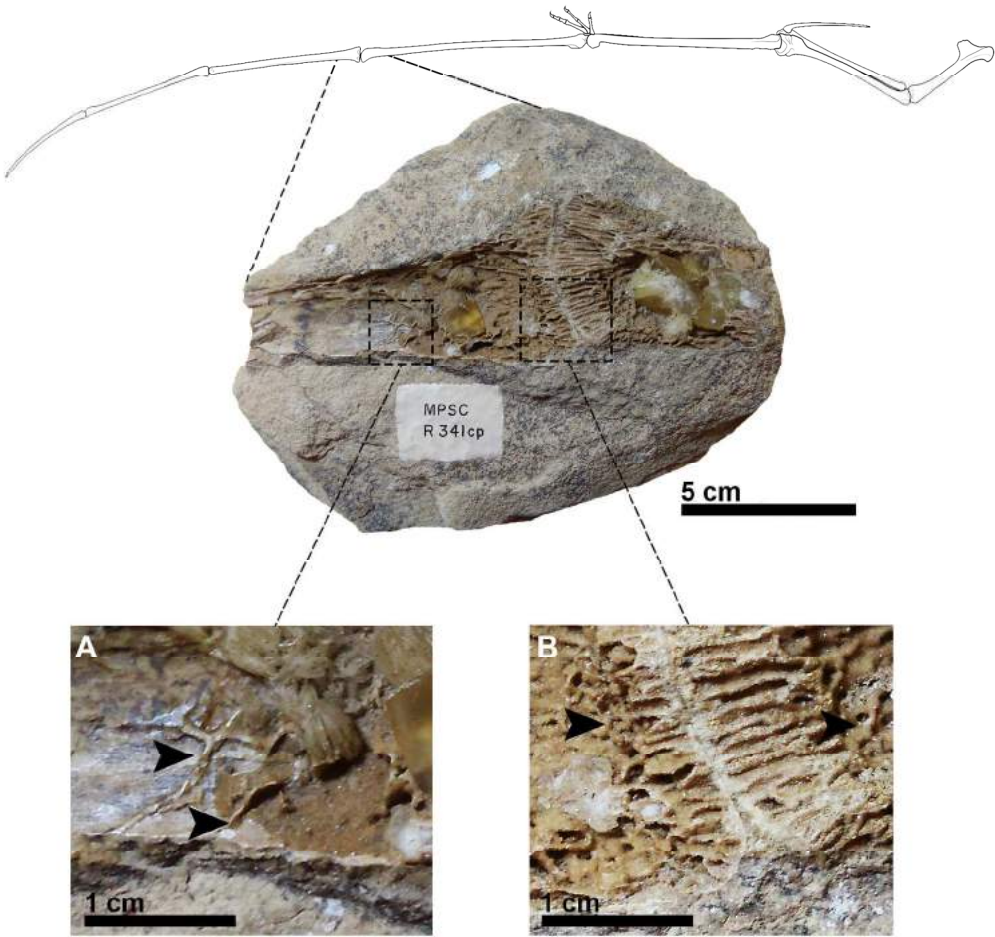
FIGURE CAPTIONS

Figure 1: General pattern of pneumaticity in pterosaur bones (MPSC R 341cp diaphysis of the first and second alar phalanges). A. Detail of septa; B. Detail of trabeculae. Scale: 5 cm.

Figure 2: A. Primary bone tissue (fibrolamellar) in a thin section of the first phalanx of the alar digit of an Anhangueridae (MPSC R 2090), the white arrows point the vascular channels; B. Plywood-like tissue in a radio of an Anhangueridae (MPSC R 2090). cl – circumferential lamellae; ll – longitudinal lamellae.

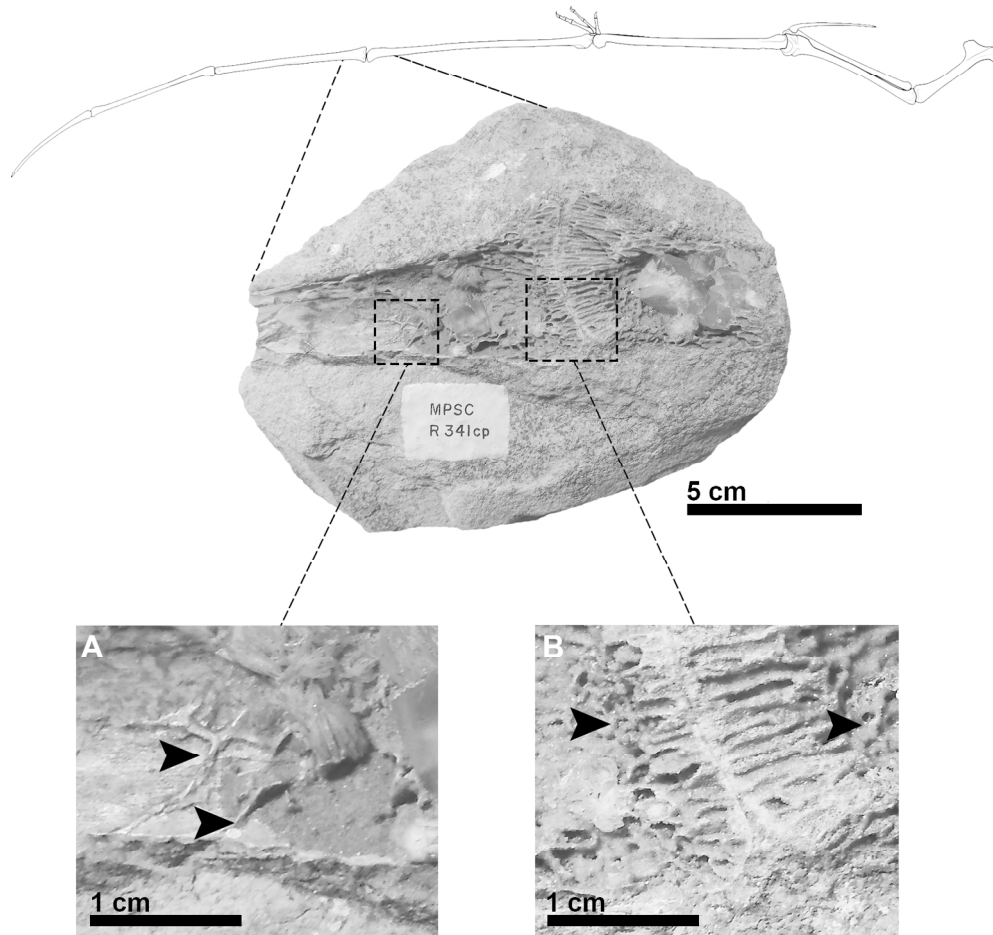
Figure 3: Examples of pterosaur bone tissue. A. Secondary bone tissue in a femur of an Anhangueridae (MN 4809-V); B. Medullary-like bone in a symphysis of *Bakonydraco* (reproduced with Edina Prondvai permission, personal archives). LAG – Line of arrested growth; el – endosteal lamellae; so – secondary osteon; Mb – Medullary bone-like.

Figure 4: Sketch of osteohistological ontogenetic phases of pterosaurs. A. Hatchling to juvenile, the primary bone shows some vascular canals, and high vascularization; B. Juvenile stage, it's possible identify a fibrolamellar pattern, including open canals in the periosteal region; C. Juvenile to sub-adult stage, in this stage is possible found the presence of trabeculae, secondary osteons and one fibrolamellar bone with low vascularization. D. Adult stage to final growth, in the final stage of ontogenetic development, the pterosaur shows endosteal lamellae, many secondary osteons in the endosteal region and an external fundamental system, stating that growth has ceased. EFS– external fundamental system; vc – vascular canal; so – secondary osteon; t – trabeculae; end – endosteal lamellae.



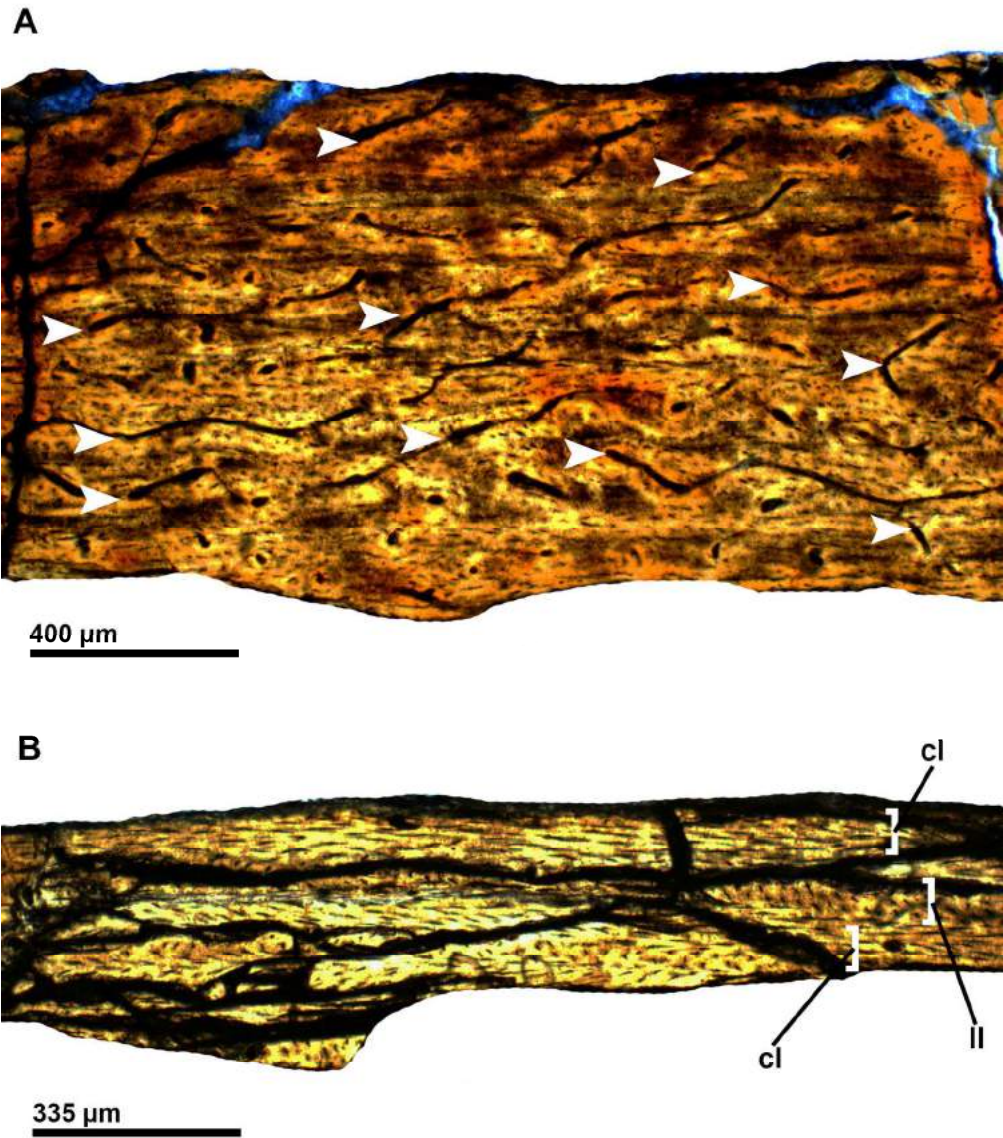
General pattern of pneumacity in pterosaur bones (MPSC R 341cp diaphysis of the first and second alar phalanges). A. Detail of septa; B. Detail of trabeculae. Scale: 5 cm.

158x153mm (300 x 300 DPI)



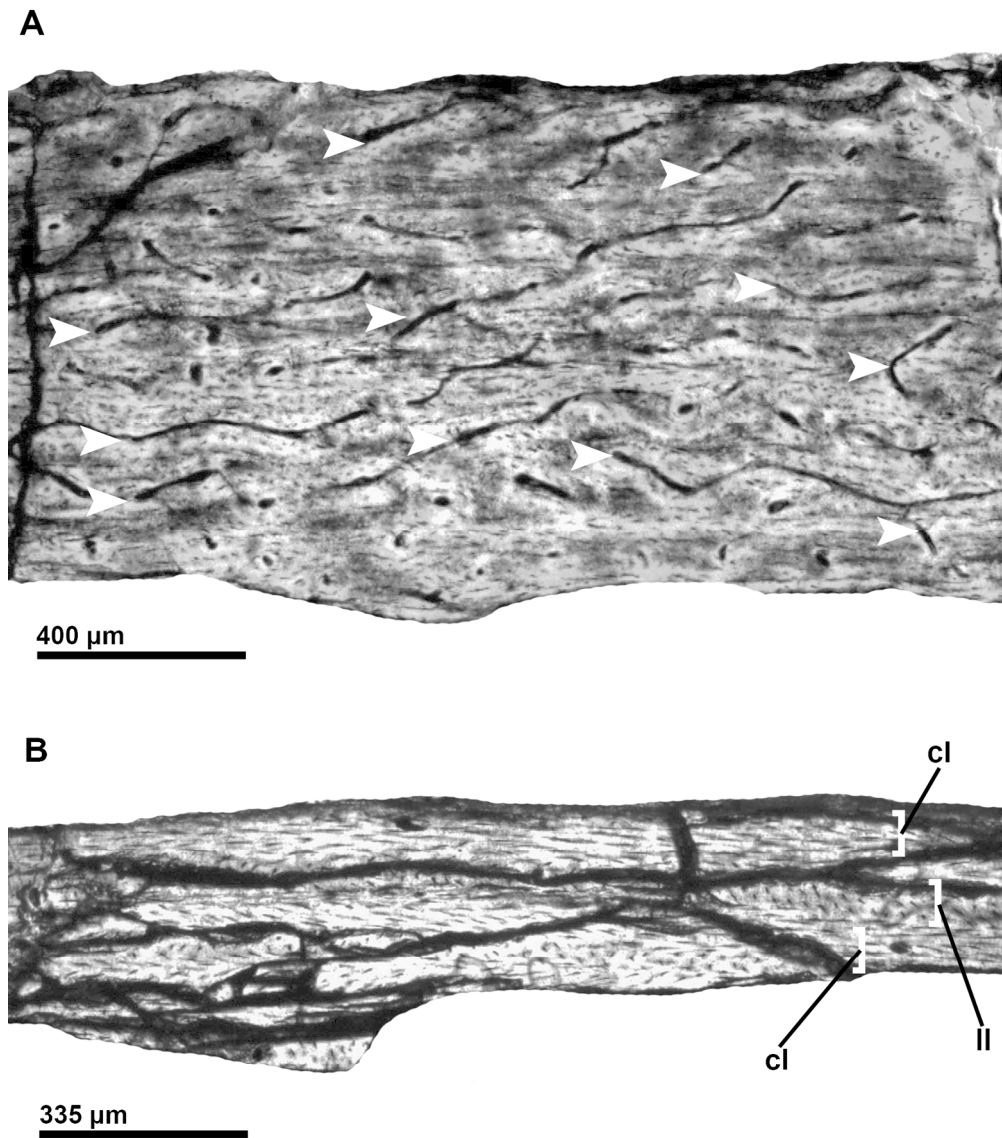
General pattern of pneumaticity in pterosaur bones (MPSC R 341cp diaphysis of the first and second alar phalanges). A. Detail of septa; B. Detail of trabeculae. Scale: 5 cm.

158x153mm (300 x 300 DPI)



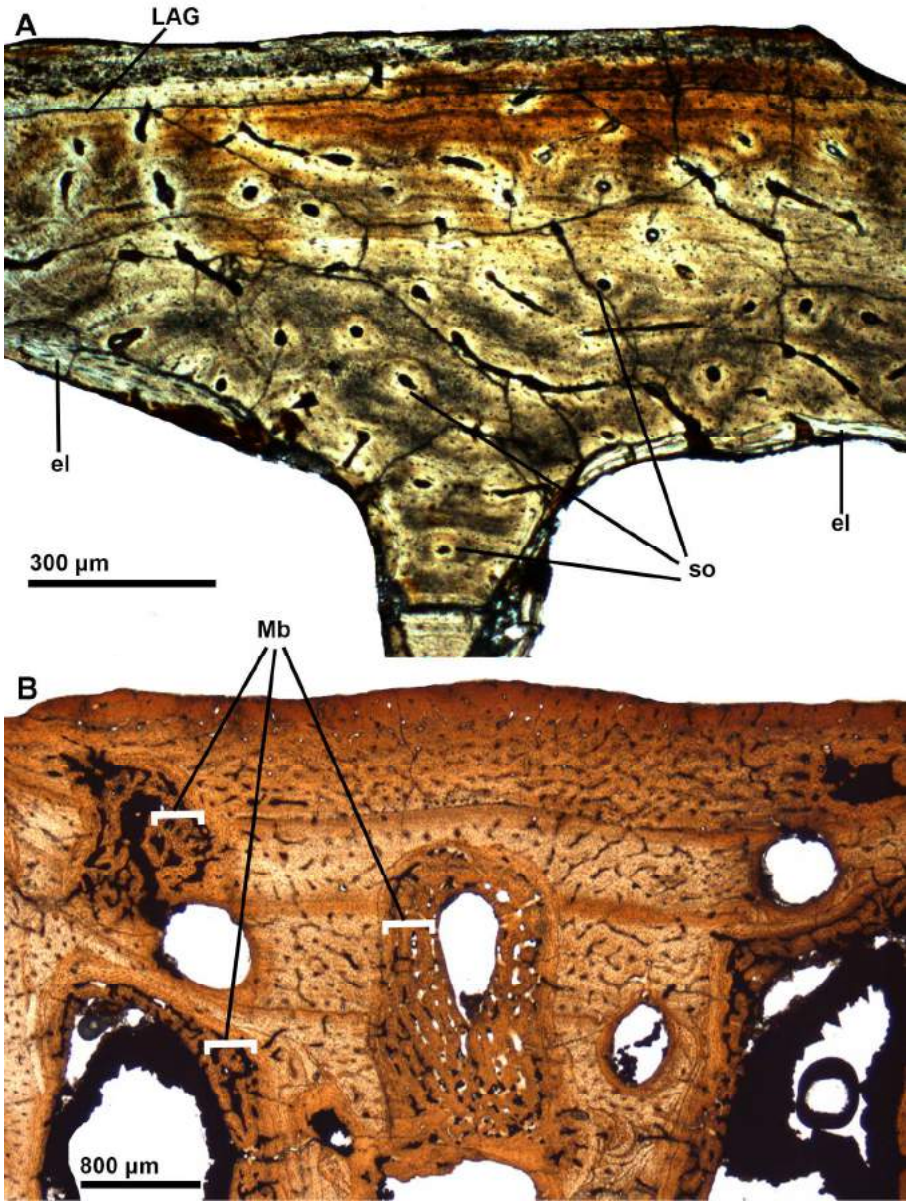
A. Primary bone tissue (fibrolamellar) in a thin section of the first phalanx of the alar digit of an Anhangueridae (MPSC R 2090), the white arrows point the vascular channels; B. Plywood-like tissue in a radio of an Anhangueridae (MPSC R 2090). cl – circumferential lamellae; ll – longitudinal lamellae.

165x193mm (300 x 300 DPI)



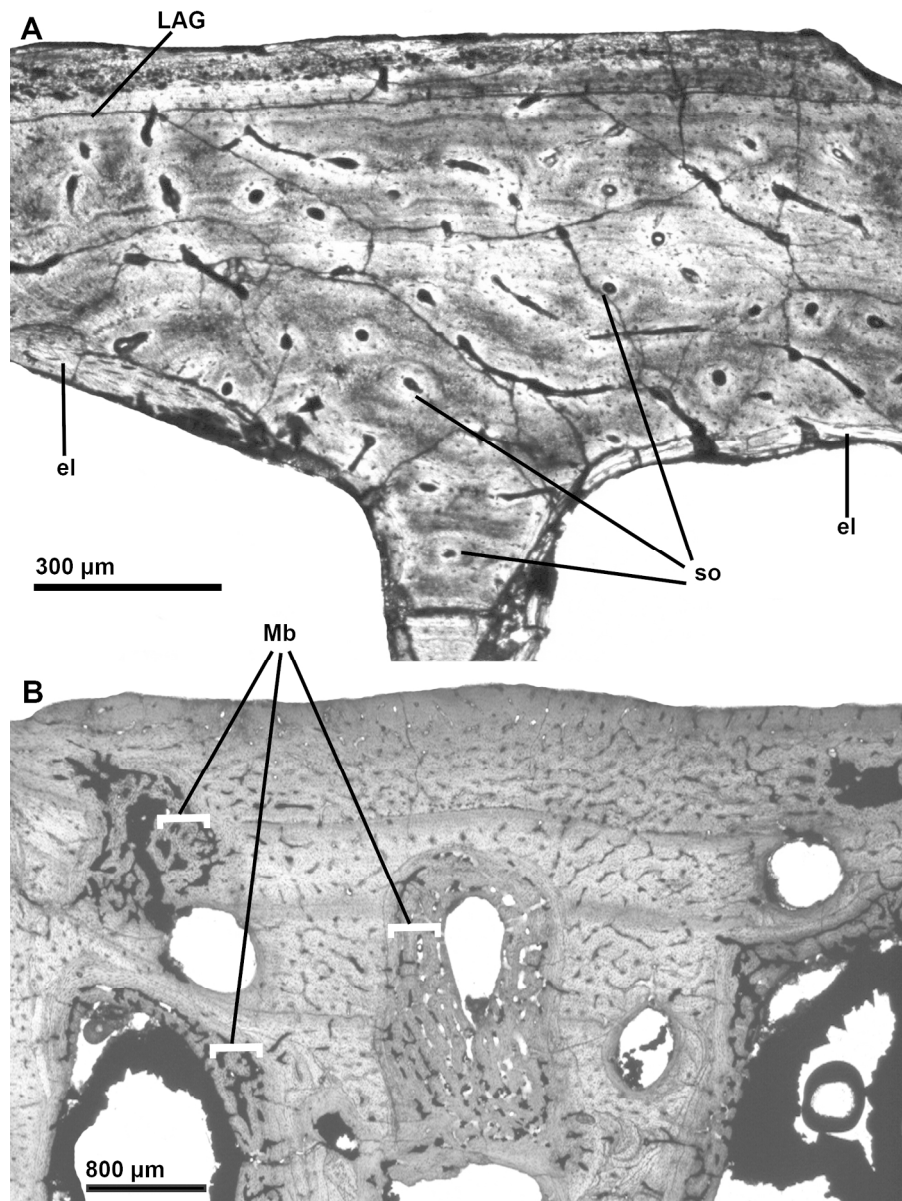
A. Primary bone tissue (fibrolamellar) in a thin section of the first phalanx of the alar digit of an Anhangueridae (MPSC R 2090), the white arrows point the vascular channels; B. Plywood-like tissue in a radio of an Anhangueridae (MPSC R 2090). cl – circumferential lamellae; ll – longitudinal lamellae.

165x193mm (300 x 300 DPI)



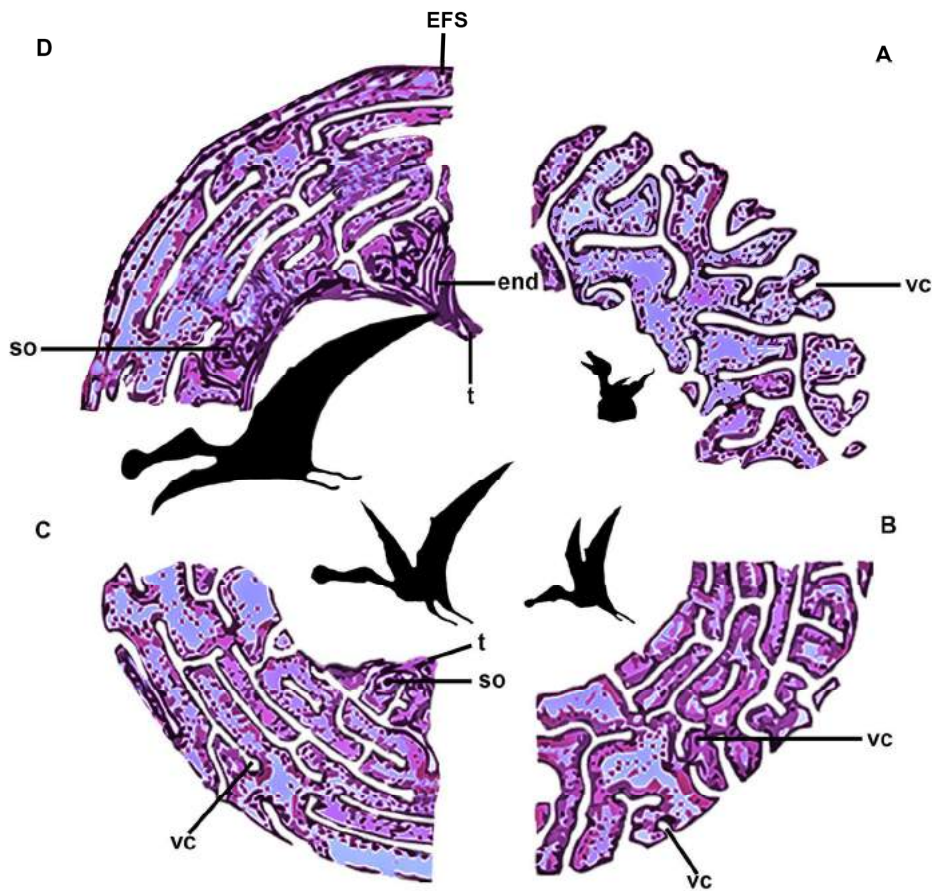
Examples of pterosaur bone tissue. A. Secondary bone tissue in a femur of an Anhangueridae (MN 4809-V); B. Medullary-like bone in a symphysis of Bakonydraco (reproduced with Edina Prondvai permission, personal archives). LAG – Line of arrested growth; el – endosteal lamellae; so – secondary osteon; Mb – Medullary bone-like.

165x219mm (300 x 300 DPI)



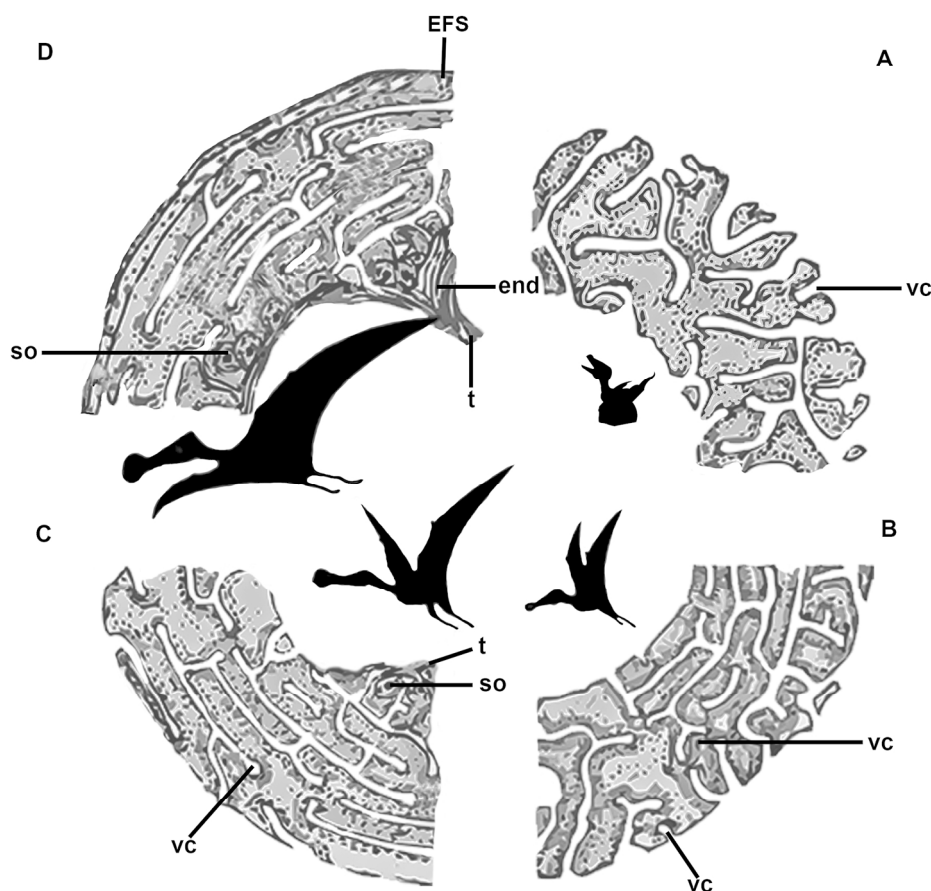
Examples of pterosaur bone tissue. A. Secondary bone tissue in a femur of an Anhangueridae (MN 4809-V); B. Medullary-like bone in a symphysis of Bakonydraco (reproduced with Edina Prondvai permission, personal archives). LAG – Line of arrested growth; el – endosteal lamellae; so – secondary osteon; Mb – Medullary bone-like.

165x219mm (300 x 300 DPI)



Sketch of osteohistological ontogenetic phases of pterosaurs. A. Hatchling to juvenile, the primary bone shows some vascular canals, and high vascularization; B. Juvenile stage, it's possible identify a fibrolamellar pattern, including open canals in the periosteal region; C. Juvenile to sub-adult stage, in this stage is possible found the presence of trabeculae, secondary osteons and one fibrolamellar bone with low vascularization. D. Adult stage to final growth, in the final stage of ontogenetic development, the pterosaur shows endosteal lamellae, many secondary osteons in the endosteal region and an external fundamental system, stating that growth has ceased. EFS- external fundamental system; vc - vascular canal; so - secondary osteon; t - trabeculae; end - endosteal lamellae.

165x172mm (300 x 300 DPI)



Sketch of osteohistological ontogenetic phases of pterosaurs. A. Hatchling to juvenile, the primary bone shows some vascular canals, and high vascularization; B. Juvenile stage, it's possible identify a fibrolamellar pattern, including open canals in the periosteal region; C. Juvenile to sub-adult stage, in this stage is possible found the presence of trabeculae, secondary osteons and one fibrolamellar bone with low vascularization. D. Adult stage to final growth, in the final stage of ontogenetic development, the pterosaur shows endosteal lamellae, many secondary osteons in the endosteal region and an external fundamental system, stating that growth has ceased. EFS- external fundamental system; vc - vascular canal; so - secondary osteon; t - trabeculae; end - endosteal lamellae.

165x172mm (300 x 300 DPI)