

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOCIÊNCIAS**

**ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSaurus AMERICANUS
(PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (PERMIANO
MÉDIO/SUPERIOR) DO RIO GRANDE DO SUL.**

BRODSKY DANTAS MACEDO DE FARIAS

ORIENTADORA: Profa. Dra. Marina Bento Soares

Porto Alegre – 2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GEOCIÊNCIAS**

**ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSaurus AMERICANUS
(PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (PERMIANO
MÉDIO-SUPERIOR) DO RIO GRANDE DO SUL.**

BRODSKY DANTAS MACEDO DE FARIAS

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Marina Bento Soares

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Juliana Manso Sayão – Centro de Tecnologia e Geociências (CTG),
Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

Dr. Ignacio Cerda – Instituto de Investigaciones en Paleobiología y Geología (IIPG)
Museo Provincial Carlos Ameghino, Rio negro, Argentina.

Dr. Flávio Augusto Pretto – Centro de Apoio à Pesquisa Paleontológica (CAPPA),
Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Dissertação de Mestrado apresentada
como requisito parcial para a
obtenção do Título de Mestre em
Geociências.

Porto Alegre, 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Farias, Brodsky Dantas Macedo de
ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSaurus
AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO
RIO DO RASTO (PERMIANO MÉDIO/SUPERIOR) DO RIO GRANDE
DO SUL / Brodsky Dantas Macedo de Farias. -- 2019.
93 f.
Orientador: Marina Bento Soares.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Geociências, Programa
de Pós-Graduação em Geociências, Porto Alegre, BR-RS,
2019.

1. Parareptilia. 2. Pareiasauria. 3.
Ósteohistologia. 4. História de vida. 5. Registro de
crescimento. I. Soares, Marina Bento, orient. II.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Sobre a Estrutura desta Dissertação

A dissertação de mestrado aqui apresentada segue a *Norma 103 - Submissão de teses e dissertações na forma de artigos* do PPGGEO-UFRGS, sendo estruturada em torno de um artigo a ser publicado em periódico científico indexado. Sua organização compreende as seguintes partes principais:

Parte I: Texto integrador contendo uma introdução sobre o tema e descrição do objeto da pesquisa do Mestrado, onde estão sumarizados os objetivos, a metodologia empregada e o referencial teórico de pesquisa desenvolvida, seguidos de uma discussão integradora contendo os principais resultados e interpretações deles derivados.

Parte II: Artigo submetido em periódico com corpo editorial permanente e revisores independentes, escrito pelo autor durante o desenvolvimento de seu Mestrado, acompanhado de carta de submissão.

Parte III: Anexos contendo os resumos publicados em eventos pelo autor durante o tempo de realização do Curso de Mestrado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe Sandra Ney, minha avó Brazilícia Nicinha, meu falecido avô Sebastião Avelino, que sempre sonhou em ver o neto finalizando todas as etapas da universidade e ao meu companheiro Cláudio Meireles por todo o apoio incondicional desde o início da minha jornada acadêmica, em 2012.

Agradeço à minha orientadora professora Marina Bento Soares pela sugestão da realização desse trabalho, pela orientação objetiva, por fomentar minha liberdade intelectual, mas sempre intervindo em momentos em que eu me excedi por inexperiência e pelas inúmeras portas que ela me abriu neste mestrado acadêmico. Gostaria de agradecer ao professor Cesar Schultz pelos aprendizados no decorrer desses dois anos; às professoras Ana Maria Ribeiro e Julia Desojo pelos ensinamentos práticos e por me darem a chance de trabalhar com outros materiais paralelamente ao mestrado. Sou grato também ao professor Leo Hartmann pelo auxílio na estruturação do artigo e à Dra. Jennifer Botha pelas correções do meu trabalho.

Agradeço a Fábio Veiga por me ensinar a técnica padrão de preparação de materiais histológicos fósseis, aos técnicos Marcelo e Lucas pela preparação mecânica dos elementos estudados nesse trabalho e também ao fotógrafo Luiz Flávio Lopes pelas fotografias das lâminas histológicas.

Agradeço ainda à Narla Stutz e à Ângela Scaramuzza pelo apoio em momentos estressante típicos da pós-graduação; à equipe do Laboratório de Paleontologia de Vertebrados por toda a ajuda e ensinamentos que acarretaram nessa dissertação.

Da mesma forma, sou grato pela ajuda financeira fornecida pela Capes e Propesq, e à UFRGS (Programa de Pós-Graduação em Geociências e Departamento de Paleontologia e Estratigrafia) pelo espaço cedido e pela estrutura tecnológica essencial para o tipo de trabalho realizado nesse mestrado.

RESUMO

A Paleohistologia se tornou bastante popular dentro da Paleontologia como uma das ferramentas mais confiáveis para obter informações paleobiológicas de vertebrados fósseis, não acessíveis por meio de estudos anatômicos tradicionais. A presente dissertação de mestrado utilizou essa ferramenta para obter os dados histológicos de *Provelosaurus americanus*, uma espécie do clado Pareiasauria encontrada apenas na América do Sul, e tecer as primeiras inferências relacionadas aos seus padrões de crescimento, estágio ontogenético e fisiologia, comparando-o com as poucas espécies de pareiassauros já estudadas paleohistologicamente. As descrições ósteo-histológicas de *P. americanus* aqui apresentadas provêm de elementos pertencentes a um único indivíduo (UFRGS-PV-0233-P) que foi encontrado em afloramento da Formação Rio do Rasto (Permiano Médio-Superior) da cidade de Aceguá, Rio Grande do Sul, Brasil. Foram preparadas lâminas paleohistológicas de ossos longos, costelas e osteodermas. Os resultados obtidos mostram que os ossos longos apresentam uma matriz do tipo paralelo-fibrosa alternada com lamelar-zonal, com o espaçamento entre as linhas de crescimento, padrão consistente para Pareiasauria. A baixa vascularização do tecido se mantém constante até a região periférica do cortex. A presença de vascularização, de tecido ósseo paralelo-fibroso e a ausência de EFS (External Fundamental System) nessa região indicam que o crescimento ósseo ainda estava ocorrendo sob taxas muito baixas. A ausência de uma mudança clara no nível de vascularização, bem como de espaçamento entre as LAGS em direção a região periférica do córtex sugere um estágio ontogenético sub-adulto para esse indivíduo. A costela apresentou o maior número de linhas de crescimento indicando uma idade mínima de pelo menos 14 anos para esse indivíduo. Os osteodermas apresentaram resultados contrastantes em relação aos poucos osteodermas de pareiassauros já estudados, mostrando uma estrutura trilaminar (diploe) composta de um núcleo esponjoso e duas camadas de córtex compacto. A existência dessa estrutura sugere uma ossificação metaplástica pelo menos nos estágios iniciais de desenvolvimento.

Palavras-chave: Parareptilia; Pareiasauria; Osteohistologia; Modo de vida; Registro de crescimento; Armadura óssea.

ABSTRACT

The Paleohistology has become very popular in Paleontology as one of the most reliable tools used to extract paleobiological data from fossil vertebrates, not accessible through traditional anatomical studies. This dissertation thesis utilized this tool to obtain histological data of *Provelosaurus americanus*, a small-sized species within Pareiasauria clade, only found in South America, and makes the first inferences related to its growth patterns, ontogenetic stage and physiology, comparing it with the few pareiasaurian species studied until now. The osteohistological descriptions of *P. americanus* here provided come from fossil elements belonging to a sole individual found in outcrops of Rio do Rasto Formation (Middle to Late Permian) of the Aceguá town, Rio Grande do Sul, Brazil. Standard paleohistological slides were prepared using long bones, ribs and osteoderms. All the long bones presented a parallel-fibered alternated with lamellar-zonal bone matrix with spaced growth lines, a pattern consistent within Pareiasauria. The low vascularization of the tissue is constant towards the outermost cortex. The presence of vascularization, parallel-fibered bone tissue and absence of EFS (External Fundamental System) indicate growth was still occurring at low rates. The absence of a clear change in vascularization, as well in the space between the LAGs towards the outermost cortex, suggests a sub-adult ontogenetic stage for this individual. However, the presence of vascularization, a parallel-fibered bone matrix, as well as the absence of an EFS (External Fundamental System) in this region suggest that bone growth was still occurring at very slow rates. The rib showed the higher number of growth lines, pointing to a minimal age of at least fourteen years to this individual. The osteoderms presented contrasting results when compared with the few studied pareiasaurian osteoderms, showing a trilaminar structure (diploe) composed of a central core and two layers of cortical bone. Its presence suggests a metaplastic ossification in at least the initial development stages.

Keywords: Parareptilia; Pareiasauria; Osteohistology; Life style; Growth record; Dermal armor.

SUMÁRIO

PARTE I – TEXTO INTEGRADOR

1. LISTA DE FIGURAS E ABREVIACÕES INSTITUCIONAIS	9
2. INTRODUÇÃO.....	10
3. OBJETIVOS.....	12
3.1. Geral.....	12
3.2. Específico.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1. Amostra.....	13
3.2. Procedimentos preliminares em métodos destrutivos.....	14
3.3. Preparação das amostras.....	14
3.4. Análise das lâminas histológicas.....	15
5. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
5.1. Panorama histórico da Paleohistologia.....	17
5.2. Estrutura histológica de ossos de vertebrados.....	21
5.3 Modos de ossificação e crescimento do esqueleto.....	24
5.4. Classificação das matrizes ósseas.....	28
5.5. Os Pareiasauria.....	32
5.6. <i>Provelosaurus americanus</i>	36
5.7. Estudos paleohistológicos em Pareiasauria.....	39
6. ANÁLISE INTEGRADORA.....	42
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

PARTE II

8. ARTIGO SUBMETIDO AO PERIÓDICO HISTORICAL BIOLOGY.....	61
---	-----------

PARTE III

9. ANEXO.....	91
----------------------	-----------

PARTE I – TEXTO INTEGRADOR

1. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Elementos de <i>Provelosaurus americanus</i> (UFRGS-PV-0233-P).	13
Figura 2. Ilustração esquemática do tecido ósseo cortical.	22
Figura 3. Regiões compacta e esponjosa em ossos longos.....	23
Figura 4. Ósteons preservados em costela de <i>Provelosaurus americanus</i> (UFRGS-PV-0233-P).....	23
Figura 5. Esquema ilustrando o processo de crescimento em ossos longos.....	25
Figura 6. Imagens ilustrando diferentes tipos de matriz óssea.....	26
Figura 7. Ilustração esquemática dos diferentes tipos de matriz.....	31
Figura 8. Modelo morfológico da tendência evolutiva nos pareiaossauros.....	33
Figura 9. Cladograma geral de Pareiasauria.	35
Figura 10. Reconstrução de um indivíduo de <i>Provelosaurus americanus</i>	36
Figura 11. Área de coleta do holótipo de <i>Provelosaurus americanus</i>	37

LISTA DE ABREVIÇÕES INSTITUCIONAIS

UFRGS-PV-P, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Paleontologia de Vertebrados, Coleção do Permiano, Porto Alegre, Brasil;

MCP, Museu de Ciências e Tecnologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre;

SAM, South African Museum, Cape Town.

2. INTRODUÇÃO

Parareptilia é considerado o terceiro maior clado dos amniotas, sendo particularmente diverso e conspícuo durante o Permiano (TSUJI, 2011). Dentro de Parareptilia se encontra Pareiasauria, um grupo-chave dos ecossistemas terrestres do Meso-Neopermiano (LEE, 1997a; BENTON, 2014), com espécies que podem ser encontradas principalmente na África do Sul e na Rússia, e em menor número na China, Brasil, Alemanha, Escócia (ARAÚJO, 1985a), Nigéria, Marrocos, Tanzânia e Zâmbia (TSUJI, 2011). Pareiasauria é conhecido pela falta de consenso em relação à validade de suas espécies e suas relações filogenéticas (LEE, 1997a). Recentes revisões taxonômicas lançaram novas perspectivas na sua filogenia, bioestratigrafia e tendências evolutivas (LEE, 1997a; TSUJI, 2011, 2013; TURNER et al., 2015; BENTON, 2016).

Os pareiassauros eram animais herbívoros e seu tamanho variava entre 1 e 3,5 metros (LEE, 1997a). As formas basais apresentavam geralmente tamanhos massivos e uma armadura de osteodermas limitada à região das vértebras dorsais, enquanto as formas derivadas possuíam tamanhos mais reduzidos e uma carapaça de osteodermas fusionados recobrimdo o dorso e regiões dos membros (LEE, 1997a,b; SCHEYER; SANDER, 2009; CANOVILLE; CHINSAMY, 2017). Informações provenientes de estudos anatômicos, tafonômicos e de isótopos estáveis argumentam um estilo de vida terrestre (CANNOVILE et al., 2014; REY ET AL., 2015), enquanto estudos paleohistológicos disputam um modo de vida aquático ou semi-aquático para os pareiassauros (KRILLOFF et al., 2008).

A paleohistologia é um ramo da paleontologia que trata da microestrutura óssea de fósseis (CHINSAMY; RAATH, 1992) e tem sido uma poderosa ferramenta utilizada para decifrar sinais biológicos que ficam registrados nos tecidos fossilizados de vertebrados (FRANCILLON-VIELLOT, 1990; CHINSAMY-TURAN, 2012). A análise da histologia óssea pode contribuir com informações acerca da filogenia, biomecânica, idade individual, estágio ontogenético, padrões de crescimento e modo de vida de vários táxons, enriquecendo os dados clássicos fornecidos por descrições morfológicas (RICQLÈS, 2011; CHINSAMY-TURAN, 2005, 2012; PADIAN; LAMM, 2013; SAYÃO, 2014; CANNOVILE AND CHINSAMY, 2017).

A maioria dos estudos acerca da microestrutura óssea de vertebrados extintos é realizada preferencialmente utilizando-se ossos longos. Isso ocorre devido

à baixa taxa de remodelação óssea na região da diáfise neste tipo de osso, o que os torna mais propensos a preservar os registros da história do desenvolvimento ósseo do animal (FRANCILLON-VIEILLOT et al. 1990; HORNER et al. 1999; CHINSAMY-TURAN, 2012). Outros tipos de elementos, como costelas, falanges e osteodermas também vem sendo alvo de estudos histológicos, fornecendo dados adicionais aos obtidos pela análise de ossos longos (p.e. SCHEYER; SANDER, 2009; STEIN; SANDER, 2009; CERDA; DESOJO, 2011; CERDA et al., 2013; WASKOW; SANDER, 2014; CERDA et al., 2015; WASKOW; MATEUS, 2017) Análises ósteo-histológicas vêm sendo feitas rotineiramente em diversos grupos como dinossauros (e.g. CASE, 1978; CHINSAMY, 1990; CHINSAMY, 1993; CHINSAMY, 1994; HORNER; PADIAN, 2004; SCHWEITZER; WITTMAYER; HORNER, 2005) e terápsidos não-mamalianos (e.g. CHINSAMY; RUBIDGE, 1993; BOTHA; CHINSAMY, 2005; RAY et al., 2009; BOTHA-BRINK; ANGIELCZYK, 2010; CHINSAMY-TURAN, 2012; JASINOSKI; CHINSAMY, 2012; NASTERLACK et al., 2012). Entretanto, poucos são os estudos que acessaram a microestrutura óssea em pareiassauros, os quais foram realizados com uma amostra bastante limitada (RICQLÈS, 1974; SCHEYER et al., 2009; TSUJI et al., 2015; LOOY et al., 2016), exceto o recente estudo conduzido por Canoville e Chinsamy (2017), que descreveu extensivamente a histologia óssea de várias espécies de pareiassauros da África do Sul, utilizando uma amostra considerável de múltiplos indivíduos e elementos ósseos. Perspectivas sobre as estratégias de crescimento de algumas espécies de pareiassauros foram fornecidas por estes estudos, evidenciando um crescimento rápido nos estágios ontogenéticos iniciais, representado por um tecido bastante vascularizado e alta taxa de deposição óssea, mudando para um crescimento lento com pouca vascularização em fases adultas, coincidindo com a maturidade sexual (RICQLÈS, 1974; SCHEYER et al., 2009; TSUJI et al., 2015; LOOY et al., 2016; CANNOVILE AND CHINSAMY, 2017).

No que se refere aos pareiassauros da América do Sul, este é o primeiro trabalho a tecer inferências paleobiológicas a partir da descrição detalhada dos tecidos ósseos de alguns elementos do pós-crânio de *Provelosaurus americanus* Araújo, 1985a, única espécie sulamericana encontrada até o momento, que é proveniente de afloramentos que constituem a formação Rio do Rasto (Permiano Médio-Superior) do Rio Grande do Sul (ARAÚJO, 1985a). O registro fóssil da

espécie compreende o holótipo (UFRGS-PV-0231-P), materiais referidos (UFRGS-PV-0232-P e UFRGS-PV-0233-P), além de algumas poucas outras ocorrências.

Devido ao desenvolvimento apenas de estudos de cunho taxonômico e bioestratigráfico, aspectos da paleobiologia de *P. americanus* permanecem praticamente desconhecidos. O artigo científico intitulado “*Bone microstructure of the pareiasaur Provelosaurus americanus from the Permian of southern Brazil*” submetido ao periódico *Historical Biology*, apresentado na segunda parte dessa dissertação, fornece as primeiras conclusões acerca da paleobiologia de *P. americanus*. Considerando que menos da metade de todas as espécies conhecidas de pareiassauros foram analisadas histologicamente, as conclusões desse trabalho contribuem na consolidação dos conhecimentos acerca dos aspectos paleobiológicos de Pareiasauria.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo principal da presente dissertação é realizar a primeira análise da microestrutura óssea de *Provelosaurus americanus*, proveniente da Formação Rio do Rasto (Bacia do Paraná), Permiano do Rio Grande do Sul, e com base na sua microestrutura óssea, inferir aspectos de sua paleobiologia.

3.2 Objetivos específicos

a) Apresentar uma descrição detalhada da histologia de vários elementos ósseos (rádio, ulna, tíbia, fíbula, costela, metatarsal e osteodermas) do espécime de *Provelosaurus americanus* UFRGS-PV-0233-P;

b) Tecer inferências sobre a história de vida do espécime *Provelosaurus americanus* UFRGS-PV-0233-P;

c) Comparar padrões da histologia óssea de *Provelosaurus americanus* com os de outros pareiassauros;

d) Contribuir no conhecimento dos padrões de tecido ósseo presentes nos amniotas mais basais, e seus aspectos fisiológicos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

Foram selecionados oito elementos ósseos (rádio, ulna, tíbia, fíbula, metatarsal, fragmento de costela, e dois osteodermas) (Fig. 1) do espécime de *Provelosaurus americanus* tombado como UFRGS-PV-233-P na coleção científica do Laboratório de Paleontologia de Vertebrados do Departamento de Paleontologia e Estratigrafia do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

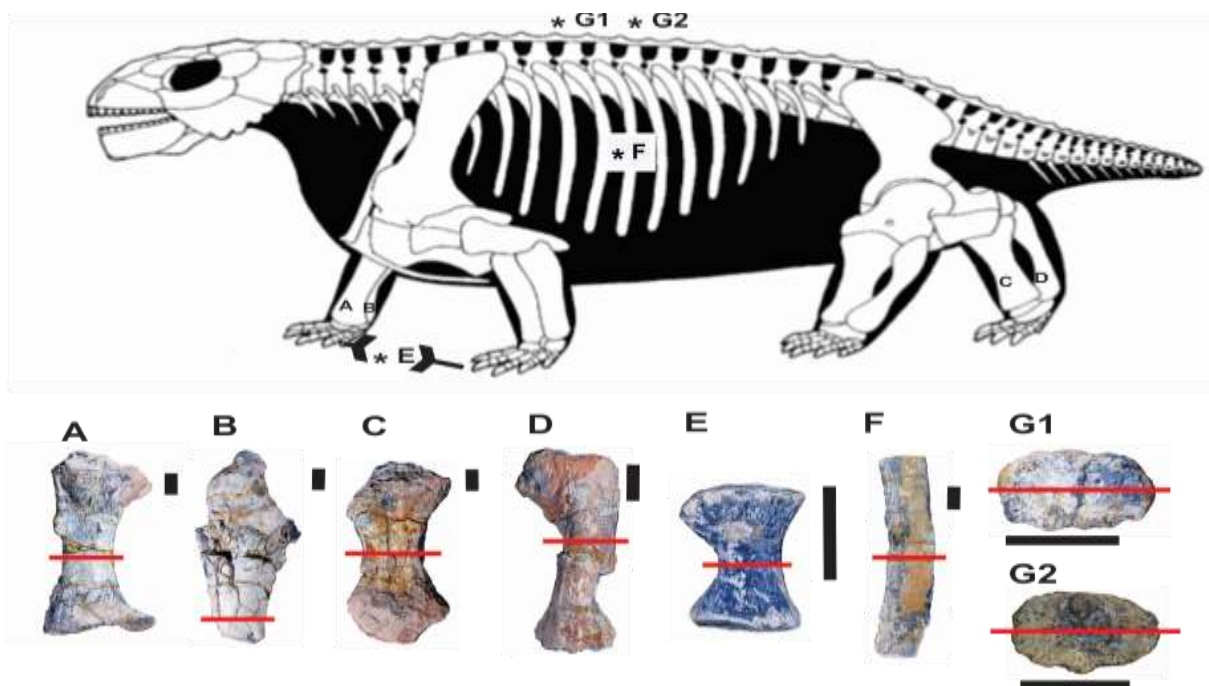


Figura 1. Elementos ósseos do espécime UFRGS-PV-0233-P de *Provelosaurus americanus* usados na preparação das lâminas histológicas. **A.** Rádio **B.** Ulna **C.** Tíbia **D.** Fíbula **E.** Metatarsal **F.** Fragmento de costela **G1.** Osteoderma 1 **G2.** Osteoderma 2. Traços em vermelho indicam a região onde os materiais foram cortados. * Região específica não identificada. Escala: 2 cm. Modelo do esqueleto de um pareiaossauro adaptado de LEE (1997b), sem escala. Imagens dos elementos feitas pelo autor (2017).

4.2 Procedimentos preliminares

Como uma parte considerável dos materiais foram destruídos durante o processo de confecção das lâminas histológicas, precauções foram tomadas para

garantir que dados originais referentes aos elementos utilizados fossem registrados. Foram coletados dados morfométricos (comprimento total e diâmetro) de cada material selecionado. Além disso, todos os elementos foram fotografados por uma câmera digital Canon EOS Rebel T3i, seguido de confecção de moldes de silicone (RTV 7030 – Ultralub Química LTDA, São Paulo, Brasil) e réplicas de gesso a fim de preservar as informações morfológicas.

4.3 Preparação das amostras

Nos ossos longos (úmero, rádio, ulna, tibia, fíbula e metatarsal), foram escolhidas para os cortes (sempre que possível) as regiões mais próximas ao centro da diáfise, por serem consideradas os locais onde ocorre menos remodelamento ósseo comparado a outros elementos, e, conseqüentemente preservando um registro mais completo da história de crescimento (FRANCILLON-VIEILLOT et al., 1990; HORNER et al., 1999; CHINSAMY-TURAN, 2012). Costelas também foram utilizadas, pois esses elementos apresentam um melhor registro de linhas de crescimento quando comparados a ossos longos (STEIN; SANDER, 2009; WASKOW; SANDER, 2014; WASKOW; MATEUS, 2017). Dois osteodermas foram amostrados para acessar com mais abrangência a histovariabilidade óssea intra-específica deste indivíduo.

Os cortes dos materiais foram realizados no Laboratório de Preparação de Amostras (LPA) do Instituto de Geociências da UFRGS, e a preparação das lâminas foi finalizada no Laboratório de Paleontologia de Vertebrados da mesma instituição. Em todas as etapas, dentro do possível, seguiu-se os procedimentos adotados por Chinsamy e Raath (1992) e Padian e Lamm (2013).

Geralmente, em ossos que possuem um tamanho consideravelmente problemático para obtenção de amostras, utiliza-se uma técnica conhecida como “core drilling” (perfuração de núcleo), descrita por Stein e Sander (2009), onde apenas uma pequena amostra do elemento é obtido, causando destruição mínima ao material. Entretanto, já é conhecido que a histologia óssea apresenta padrões diferentes em regiões diferentes dentro da mesma secção (CHINSAMY-TURAN, 2005). Dessa forma, optamos por preparar amostras inteiras de cada secção para se obter um registro completo desses padrões.

Devido ao fato de as amostras terem sido processadas por completo, lâminas de vidro de tamanho padrão foram insuficientes como substrato para o material na maioria dos casos. Assim, lâminas de vidro maiores foram utilizadas. Os ossos foram seccionados por técnicos do LPA utilizando serras diamantadas de marcas variadas. Após os cortes, os materiais foram embutidos em resina epóxi (Aradur® HY 951 catalizado com Araldite© GY279), descansadas em uma máquina de vácuo por dez minutos para eliminar bolhas e em refrigerador por duas horas para evitar superaquecimento da amostra e bolhas. Esperou-se vinte e quatro horas para a secagem completa dos blocos com os ossos embutidos na resina. Os blocos foram então desbastados em lixas d'água de diferentes granulometrias (80-3000) para serem aderidos às lâminas de vidro. Por último, os materiais foram novamente desbastados até a espessura mínima para serem visualizados no microscópio, polidos e tombados.

Após a preparação, todas as lâminas foram fotografadas por uma câmera CANON T3i, Lente Sigma DG MACRO 70mm, editadas posteriormente pelo software Corel Draw, para obter a totalidade do tecido amostrado.

4.4 Análise das lâmina histológicas

As lâminas foram analisadas em microscópios ópticos de luz polarizada Zeiss Axio Scope A1 e Olympus BX53-P. Imagens ampliadas de alta resolução foram obtidas utilizando câmeras digitais AxioCam ERC 5S e Olympus UC30 acopladas aos respectivos microscópios.

A terminologia utilizada para os ossos longos e costelas segue Francillon-Vieillot et al. (1990) e Chinsamy-Turan (2012). Para os osteodermas, foi usada a terminologia proposta por Scheyer and Sander (2004). Uma vez que não há obra de referência em paleohistologia óssea publicada em português, a opção foi por manter os nomes de algumas estruturas analisadas na sua grafia original, em inglês, acompanhada de uma tradução para o português, entre parênteses, na primeira vez que o termo é citado.

5. REFERENCIAL TEÓRICO

Quando fossilizados, os ossos de vertebrados geralmente apresentam uma excelente preservação em relação a sua microestrutura (CHINSAMY-TURAN, 2005). A Paleohistologia vem sendo uma importante ferramenta que fornece dados paleobiológicos e da história de crescimento dos vertebrados, e de fato, a análise da microestrutura óssea permanece como a mais importante e confiável para determinar o estágio ontogenético de vertebrados fósseis, bem como o único caminho direto para acessar a história de vida e as estratégias de crescimento de animais extintos (SCHEYER; KLEIN; SANDER, 2010). Mesmo que a matriz orgânica se decomponha durante o processo de fossilização, a matriz inorgânica preserva a microestrutura óssea geralmente intacta, de forma que inferências sobre a biologia de um vertebrado extinto possam ser realizadas (FRANCILLON-VIELLOT, 1990; CHINSAMY-TURAN, 2005; CHINSAMY-TURAN, 2012; PADIAN, LAMM, 2013).

O campo da Paleohistologia foi construído de forma similar ao da Paleontologia em geral, com a ideia atualística de que seres extintos podem ser compreendidos comparando-os com organismos modernos. Além disso, se desenvolveu a medida que se intensificavam as descrições dos distintos tecidos ósseos fossilizados e a validação dos seus significados, auxiliados pela evolução dos microscópios e outros equipamentos, e de novas técnicas utilizadas na sua interpretação (PADIAN, 2011). Assim, essa sessão fornece um breve resumo referente ao histórico dos estudos em histologia óssea dentro da Paleontologia de vertebrados, a caracterização do tecido ósseo na extração de dados biológicos em vertebrados e uma revisão bibliográfica do clado Pareiasauria, que inclui a espécie aqui estudada, *Provelosaurus americanus*, além dos estudos de histologia óssea já realizados em Pareiasauria.

5.1 Panorama histórico da Paleohistologia

No século XIX, quando a morfologia era a principal área de pesquisa nas Ciências Biológicas, era obrigatório qualquer cientista desse campo conhecer não apenas a anatomia de plantas e animais, mas também a sua microestrutura

(SLOAN, 1992; DESMOND, 1982, 1989 apud PADIAN; LAMM, 2013). Entretanto, com o rápido aparecimento de novos campos de estudo no século XX, como a genética, e os avanços na biologia celular e molecular, a histologia começou a ser considerada ultrapassada, pois não fornecia respostas satisfatórias para muitos dos aspectos biológicos que vinham sendo estudados como evolução e ecologia (PADIAN; LAMM, 2013).

Dessa forma, quando os primeiros estudos dentro da Paleohistologia foram realizados por personagens como Owen, Agassiz e Quekett, o foco principal era apenas realizar a descrição dos tecidos, sem que nenhum tipo de implicação biológica tivesse que ser extraída desse tipo de dado. Somente no final do século XIX até meados do século XX, é que a paleohistologia começou a ser utilizada metodicamente a partir de análises histológicas de vertebrados basais, entretanto ainda limitada apenas a estudos taxonômicos (RICQLÈS, 2011).

Entre esses primeiros estudos taxonômicos, destacaram-se os realizados por Williamson (1849), Goodrich (1913), Gross (1935) e Orvig (1951), os quais utilizaram a microestrutura de dentes (no caso de gnatostomados) e escamas de vários grupos de vertebrados basais (e.g., heterostracos, osteostracos, condrictes, placodermos, acantódios, sarcopterígeos e actinopterígeos) para classificá-los em um contexto taxonômico, ainda independente de implicações paleobiológicas (RICQLÈS, 2011). A contribuição conjunta desses e de muitos outros investigadores fez dos vertebrados paleozoicos o grupo mais detalhado histologicamente entre todos os vertebrados extintos (ENLOW; BROWN, 1956). Porém, trabalhos de cunho taxonômico não ficaram limitados aos vertebrados basais. Seitz (1907) realizou uma descrição detalhada de aproximadamente trinta gêneros de répteis e anfíbios. Broili (1922) descreveu tendões ossificados de dinossauros. Já Moodie (1926) foi além, conseguindo identificar patologias causadas por fungos em vários fósseis. Entretanto, apesar de fornecer caracteres específicos para a classificação taxonômica (especialmente para peixes basais), a paleohistologia lentamente começou a ser considerada limitada e de pouco interesse para os sistematas que trabalhavam com outros grupos (RICQLÈS, 2011).

Apesar disso, o cenário que preparava futuros pesquisadores para atuarem na paleohistologia com uma abordagem mais paleobiológica já estava em andamento. Enquanto os pesquisadores mencionados até então elucidavam a

microestrutura do tecido ósseo de vários vertebrados extintos, outros focaram suas pesquisas em descobrir o significado da organização tissular das diversas estruturas descritas, de forma que informações biológicas pudessem ser obtidas (PADIAN, 2011).

Amprino (1947) foi um dos pioneiros, sugerindo a ideia de que a microestrutura do tecido ósseo primário reflete a taxa de deposição óssea, sendo esta determinada não apenas pela quantidade de matriz óssea depositada, mas também pela organização das fibras de colágeno, conceito este conhecido com “Amprino’s Rule”, e que acabou originando a ideia de classificação do tecido ósseo em zonal-lamelar ou fibrolamelar, representando respectivamente, taxas de crescimento lento e acelerada.

Durante meados do século XX, Enlow e Brown foram os responsáveis por trazer uma visão comparativa dentro da paleohistologia. Em uma série de trabalhos (e.g., 1956, 1957, 1958), eles exploraram uma grande variedade de padrões histológicos em vários grupos de vertebrados (peixes até aves), tanto extintos quanto modernos, visando propor um sistema de classificação para os padrões microestruturais encontrados nos tecidos ósseos. Em uma de suas conclusões, foi sugerido que diferenças distintas na estrutura do tecido ósseo podem explicar os diferentes padrões de formação óssea, sua fisiologia e bioquímica (PADIAN, 2011). Após esses trabalhos de abordagem comparativa, Enlow voltou sua pesquisa para o significado biológico que poderia ser extraído do tecido ósseo, diminuindo o número de variáveis para começar a desenvolver estudos aplicados em organismos-modelo como *Homo* e *Macaca* (RICQLÈS, 2007).

Influenciado pelos trabalhos de Amprino e Enlow (RICQLÈS, 2011), Armand de Ricqlès realizou um trabalho considerado pioneiro por inúmeros aspectos e é reconhecido por muitos como o grande sintetizador da histologia óssea (LAURIN, 2011; PADIAN, 2011). Sua tese de doutorado foi publicada como uma série de trabalhos sob o título “Recherches paléohistologiques sur le os longs des tétrapodes” (RICQLÈS, 1968, 1969, 1972, 1974a, b, 1975, 1976, 1977a, b, 1978a, b, 1981). Nesses artigos, Ricqlès descreveu detalhadamente a microestrutura de tecidos ósseos a partir de uma abordagem evolutiva, permitindo observar como as mudanças ocorriam filogeneticamente entre os grupos estudados, além de padronizar a nomenclatura no campo da paleohistologia. Suas análises

paleohistológicas sempre relacionavam a taxa de deposição óssea com a fisiologia metabólica dos organismos (PADIAN, 2011).

Um dos principais desafios que Ricqlès enfrentou foi a quantidade limitada de amostras a sua disposição na época que iniciou sua pesquisa, sendo composta geralmente de fragmentos de ossos longos (PADIAN, 2011). Essas limitações ainda ocorrem com a maioria dos paleohistologistas, pois muitos dos materiais disponíveis são raros ou pertencem ao material-tipo de uma espécie, e compreensivelmente não são disponibilizados pelos curadores das coleções de fósseis (STEIN; SANDER, 2009).

No final de 1980, Armand de Ricqlès iniciou um projeto em conjunto com o paleontólogo Jack Horner que liderava o “Museum of the Rockies” (Museu das Montanhas Rochosas) da Universidade Estadual de Montana, Estados Unidos. Segundo Padian (2011), essa colaboração resultou na criação de um dos mais completos laboratórios de Paleohistologia no mundo e compensou um dos principais limitadores da pesquisa nessa área: a falta de material que pudesse ser utilizado. Nesse sentido, a colaboração entre esses pesquisadores foi vantajosa, pois todo o material utilizado era coletado por Jack Horner e sua equipe, o qual estava bastante interessado em compreender os padrões de crescimento em dinossauros. Assim, com uma grande amostra utilizada especificamente para estudos histológicos composta exclusivamente por dinossauros, foi possível atingir a padronização do método. Os elementos ósseos utilizados eram de diferentes estágios ontogenéticos, e passaram a ser sempre cortados na mesma região, permitindo conhecer em detalhes os padrões de crescimento de todo um clado. O sucesso na realização desse projeto estimulou vários outros paleontólogos ao redor do mundo a desenvolver trabalhos paleohistóricos com os mais variados grupos de tetrápodes.

Desde o início dos anos 1990, trabalhos com histologia óssea em fósseis vêm sendo realizados em praticamente todo o mundo. Para exemplificar, na África do Sul, Anusuya Chinsamy é conhecida por trabalhos importantes sobre o crescimento de dinossauros e outros tetrápodes, e se tornou uma das principais especialistas em paleohistologia do mundo com dois livros publicados: “The Microstructure of Dinosaur Bone” e “Forerunners of Mammals – Radiation, Histology, Biology” (CHINSAMY-TURAN, 2005, 2012). Nos Estados Unidos, pesquisas com arcossauros em geral (e.g., HORNER; LAMM, 2011; GREEN et al., 2010) são

realizadas no Museu das Montanhas Rochosas da Universidade Estadual de Montana, lideradas por Ellen-Thérèse Lamm, com colaboração do Laboratório de Kevin Padian na Universidade de Berkley. Kevin Padian e Ellen-Thérèse Lamm, com a colaboração de outros pesquisadores, contribuíram com o livro “Bone Histology of Fossil Tetrapods”.

Na Europa, além de Armand de Ricqlès, pesquisas paleohistológicas são realizadas por cientistas em laboratórios de ponta. Entre alguns exemplos, Vivian de Buffrénil (e.g., BUFFRÉNIL; BUFFETAUT, 1981; BUFFRÉNIL; MAZIN, 1992, BUFFRÉNIL et al., 2013), na França, Martin Sander na Alemanha (e.g., SANDER, 1999; 2000; SANDER; ADRASSY, 2006) e Torsten Scheyer (e.g., SCHEYER; SANDER, 2004, 2009; SCHEYER et al., 2017), na Suíça.

Na América do Sul, apesar de bem recente, a paleohistologia vem sendo desenvolvida na Argentina por Julia Desojo, Ignacio Cerda e colaboradores na pesquisa de paleobiologia em arcossauros, com destaque para o uso de osteodermas (e.g., CERDA; DESOJO, 2011; CERDA et al., 2013; CERDA et al., 2015). No Brasil, a maioria dos trabalhos provém de projetos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e da Universidade Federal de Pernambuco. Na UFRGS, a professora Marina Bento Soares lidera o projeto “Microestrutura de ossos fósseis de vertebrados permo-triássicos” que já produziu algumas monografias, dissertações e artigos (e.g., VEIGA, 2011; MATTIELLO, 2014; VEIGA et al., 2014; BOTHA-BRINK et al., 2018; VEIGA et al., 2018). Na UFPE, a professora Juliana Manso Sayão lidera pesquisas paleohistológicas com arcossauros do Cretáceo (e.g., SAYÃO, 2003; ANDRADE; SAYÃO, 2014; SAYÃO et al., 2016; SENA et al, 2018).

A Paleohistologia ainda é uma ciência em amadurecimento e deve evoluir lado a lado com a pesquisa em histologia óssea em vertebrados recentes, sendo a única forma de validar experimentalmente os significados biológicos registrados nos tecidos ósseos para que se possa fazer inferências sobre a paleobiologia de organismos extintos (RICQLÈS, 2011).

5.2 Estrutura histológica de ossos de vertebrados

Osso é um tecido esquelético de suporte bastante vascularizado existente na maioria dos vertebrados, com exceção dos “peixes” sem mandíbula atuais

(lampreias e feiticeiras) e tubarões. Sendo principal constituinte do esqueleto adulto, o tecido ósseo, além de fornecer suporte sólido para o corpo, também protege os órgãos vitais do crânio e da caixa torácica. O mesmo ainda funciona como depósito de medula óssea, substância responsável pela formação das células sanguíneas e também como um depósito de cálcio, fosfato e outros íons (HALL, 2005; CHINSAMY-TURAN, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). O tecido ósseo se origina da mesoderme e das células da crista neural (ectoderme) e consiste basicamente de uma fase orgânica composta de diferentes tipos celulares (osteoblastos, osteócitos e osteoclastos), e de uma fase inorgânica a partir de uma matriz extracelular mineralizada principalmente com microcristais de hidroxiapatita (CHINSAMY-TURAN, 2005; CHINSAMY-TURAN, 2012), além de menores quantidades de íons de bicarbonato, citrato, magnésio, potássio e sódio (JUNQUEIRA; CARNEIRO 2013).

A deposição óssea ocorre a partir da atividade de células secretoras chamadas de osteoblastos. Originalmente, a matriz óssea secretada por essas células não é mineralizada e se chama osteoide, formado principalmente por colágeno Tipo I, que é o substrato para que ocorra a mineralização do osso, além de outras proteínas como osteocalcina, osteoponina e osteonectina, polissacarídeos e uma rede de vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos (HALL, 2005; CHINSAMY-TURAN, 2012). Em seguida, quando o osteoide circunda completamente os osteoblastos em repouso, estes se modificam em osteócitos, e ocorre a impregnação de hidroxiapatita no osteoide para formar o osso (HALL, 2005). Os osteócitos se organizam aleatoriamente na maioria dos vertebrados, apesar de ocorrer osso acelular em algumas espécies de peixes (ENLOW; BROWN, 1956; 1958). Quando existentes, essas células ocupam espaços da matriz mineralizada chamados de lacunas (lacunae), e a comunicação entre elas ocorrem através de estruturas denominadas canálculos (Fig. 2) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). O osso pode ser modelado, remodelado ou removido pela atividade de células chamadas osteoclastos, que são células grandes e multinucleadas derivadas de células circulantes no sangue (CURREY, 2002). Nos fósseis de vertebrados nenhuma dessas células são preservadas e o que fica registrado é apenas o formato das lacunas dos osteócitos e dos canálculos na matriz de hidroxiapatita (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).

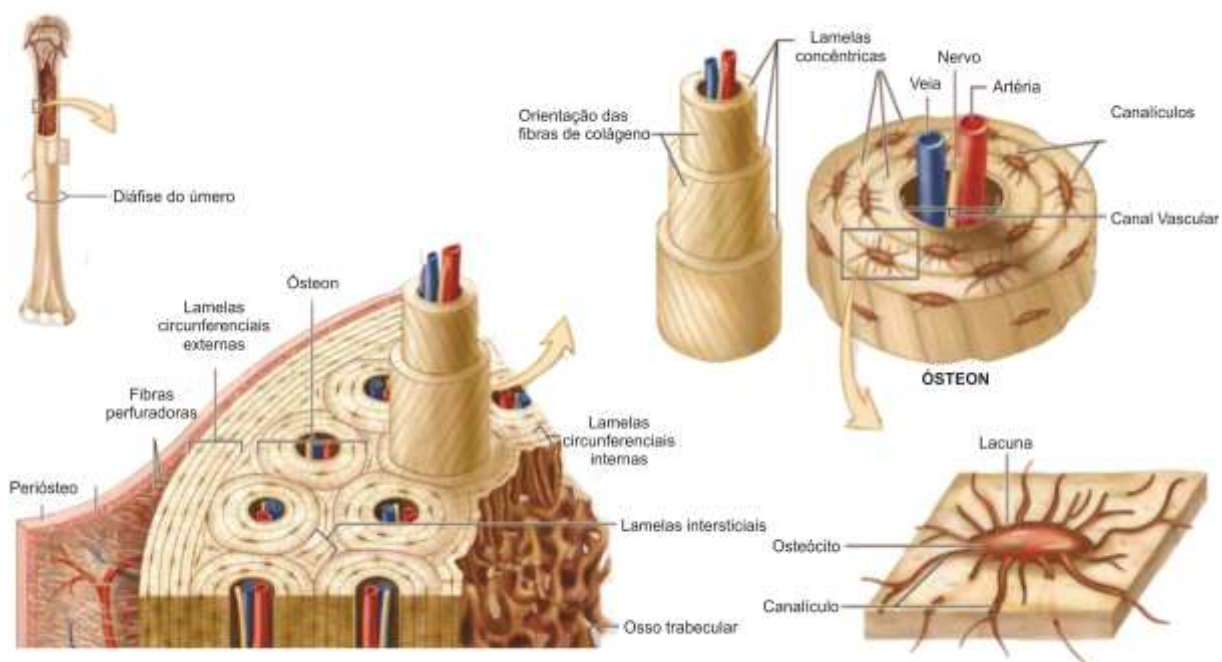


Figura 2. Ilustração esquemática mostrando as principais estruturas dentro da organização do tecido ósseo cortical de um úmero humano. Em organismos fósseis, apenas a parte inorgânica fica preservada. Células como os osteócitos são completamente decompostas e apenas as formas das lacunas e canalículos ficam preservadas. Adaptado de Junqueira e Carneiro (2013).

Com base no nível de porosidade, a estrutura óssea pode ser dividida em dois tipos: osso compacto e osso esponjoso (Fig. 3). Caso o volume mineral do tecido ósseo seja maior que 50% do seu espaço poroso, o osso é identificado como compacto. A situação contrária caracteriza o osso como esponjoso. A região compacta está geralmente limitada ao córtex, enquanto a região endosteal do osso geralmente é esponjosa e circunda o canal medular (PADIAN; LAMM, 2013). Em muitos casos, o nível de compactação de um osso está relacionado com o modo de vida do vertebrado e suas adaptações funcionais. Dependendo do grau de preservação do fóssil, é possível aplicar o mesmo método para vertebrados extintos (LAURIN et al., 2000; GIRODONT, LAURIN, 2003; KRILLOFF et al., 2008; CHINSAMY-TURAN, 2012).

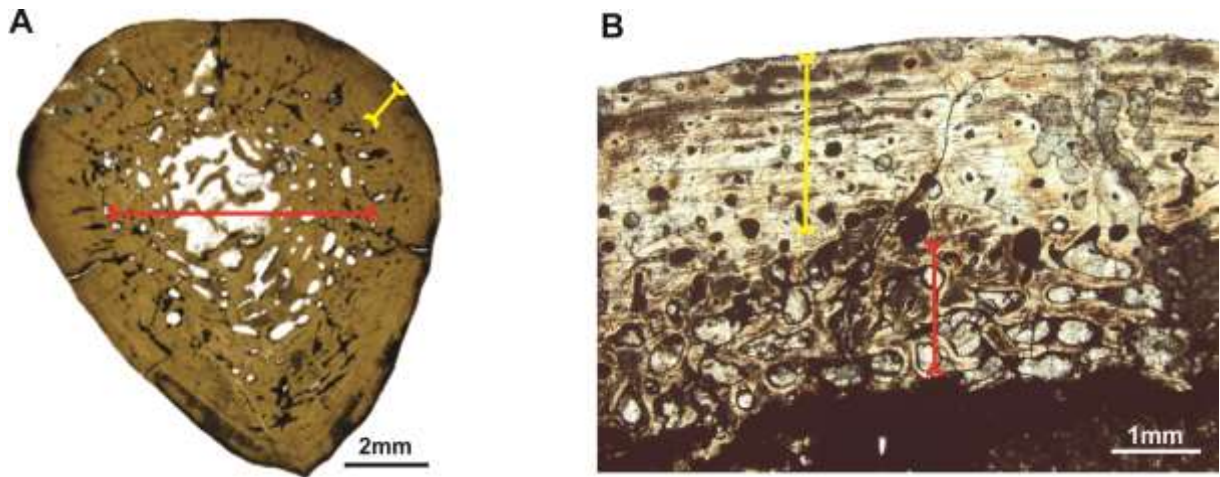


Figura 3. Regiões compacta (traço amarelo) e esponjosa (traço vermelho) em ossos longos de dois vertebrados fósseis. A. Corte transversal de um fêmur UOPB00022 de *Metoposaurus diagnosticus krasiejowensis* do Triássico Superior da Polônia. Adaptado de Konietzko-Meier; Klein (2012). B. Detalhe transversal da ulna UFRGS-PV-0233-P de *Provelosaurus americanus*. Foto do autor (2017).

A estrutura básica da matriz óssea cortical mineralizada é conhecida como ósteon, uma estrutura de forma circular depositada ao redor dos canais vasculares simples, que se subdivide em dois tipos: ósteons primários e secundários (Fig. 4).

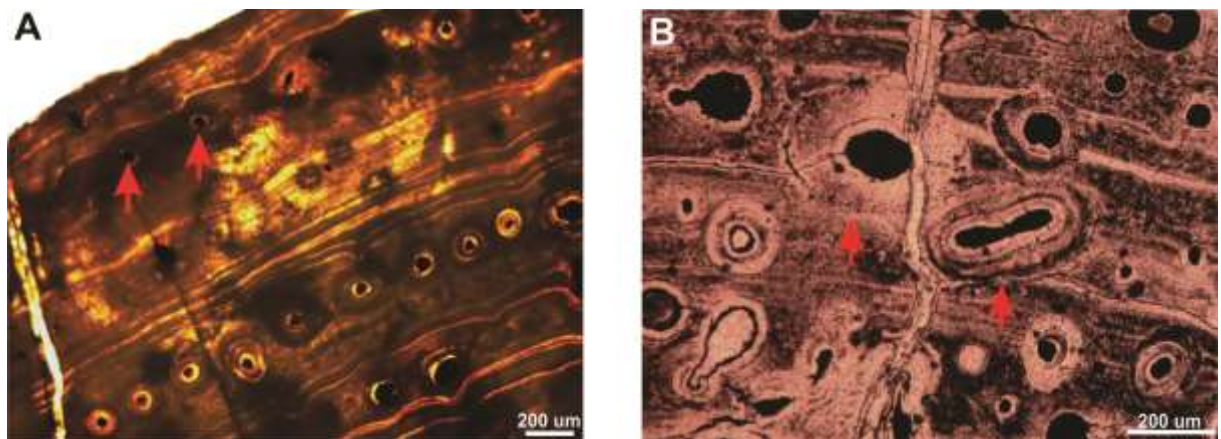


Figura 4. Ósteons preservados no tecido ósseo de uma costela UFRGS-PV-0233-P de *Provelosaurus americanus*. A. Ósteons primários na região periférica do córtex. B. Ósteons secundários na região perimedular do córtex, note as sucessivas camadas de lamelas ao redor dos canais vasculares. Fotos do autor (2017)

Os ósteons primários são depositados de forma centrípeta em um canal vascular de pequeno porte aprisionado anteriormente na matriz óssea pela atividade secretora dos osteoblastos (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990); não ocorre uma

delimitação por uma linha cementada (HALL, 2005). A quantidade de canais vasculares e, conseqüentemente, a quantidade de ósteons primários refletem as taxas de deposição óssea que são distintas entre os diferentes grupos de vertebrados. Os ósteons primários são o arcabouço do tecido ósseo primário (CHINSAMY-TURAN, 2005). O tecido ósseo primário é o primeiro a se formar, sendo depositado em uma superfície óssea pré-existente denominada perióstio (MARTIN et al., 1998). À medida que o tecido ósseo vai envelhecendo ocorre o processo de formação do tecido ósseo secundário enquanto o tecido primário é destruído pela ação dos osteoclastos. Esse tecido secundário é formado pelos ósteons secundários, que são depositados ao redor de canais vasculares maiores por onde passa um único vaso sanguíneo, sendo delimitado por linhas cementadas entre camadas de lamelas depositadas circunferencialmente, formando o Sistema Haversiano (CURREY, 2002; CHINSAMY-TURAN, 2005; HALL, 2005).

5.3 Os modos de ossificação e crescimento do esqueleto

Ossificação, também conhecida como osteogênese inclui todos os processos que acarretam na formação do osso, podendo estes ocorrer em várias superfícies a partir da ação dos osteoblastos. Quando a superfície é uma membrana orgânica, diz-se que a ossificação é intramembranosa. Caso ocorra em uma cartilagem calcificada precursora, o processo é denominado de ossificação endocondral. Pode ainda acontecer deposição óssea sobre a superfície periosteal do osso, sendo esta caracterizada por um modo de deposição centrifugal ou aposicional. Se a deposição óssea ocorre diretamente em um tecido conectivo pré-existente, como um tendão, a ossificação é metaplástica (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). A seguir serão focados apenas os processos responsáveis pela formação óssea dos elementos ósseos analisados em *Pareiasaurus americanus* (ossos longos e chatos), alvo da presente dissertação.

Ossos longos (e.g., fêmur, úmero, rádio, ulna, tíbia, fíbula e os ossos componentes das mãos e dos pés) são caracterizados por apresentarem crescimento tanto em comprimento (longitudinal) quanto em diâmetro (transversal). Quando o osso cresce em comprimento, ocorre o processo chamado de ossificação endocondral (Fig. 5), onde a forma cartilaginosa precursora é reabsorvida e então

substituída pela deposição da matriz óssea. Ao mesmo tempo, ocorre o crescimento em diâmetro, também conhecido por crescimento aposicional de superfície, e outro processo denominado “drift”, caracterizado por um balanço entre a deposição óssea subperiosteal e a reabsorção óssea na região endosteal. Para que o formato cilíndrico da diáfise seja mantido, ocorre remodelamento ósseo constante na região da metáfise, a partir da ação dos osteoclastos, conforme o osso vai crescendo em comprimento (CHINSAMY-TURAN, 2005). Devido a esse remodelamento, que frequentemente apaga o registro de tecido primário com a substituição por tecido secundário, a região mais central da diáfise é preferencialmente usada na Paleohistologia (CHINSAMY; RATH, 1992).

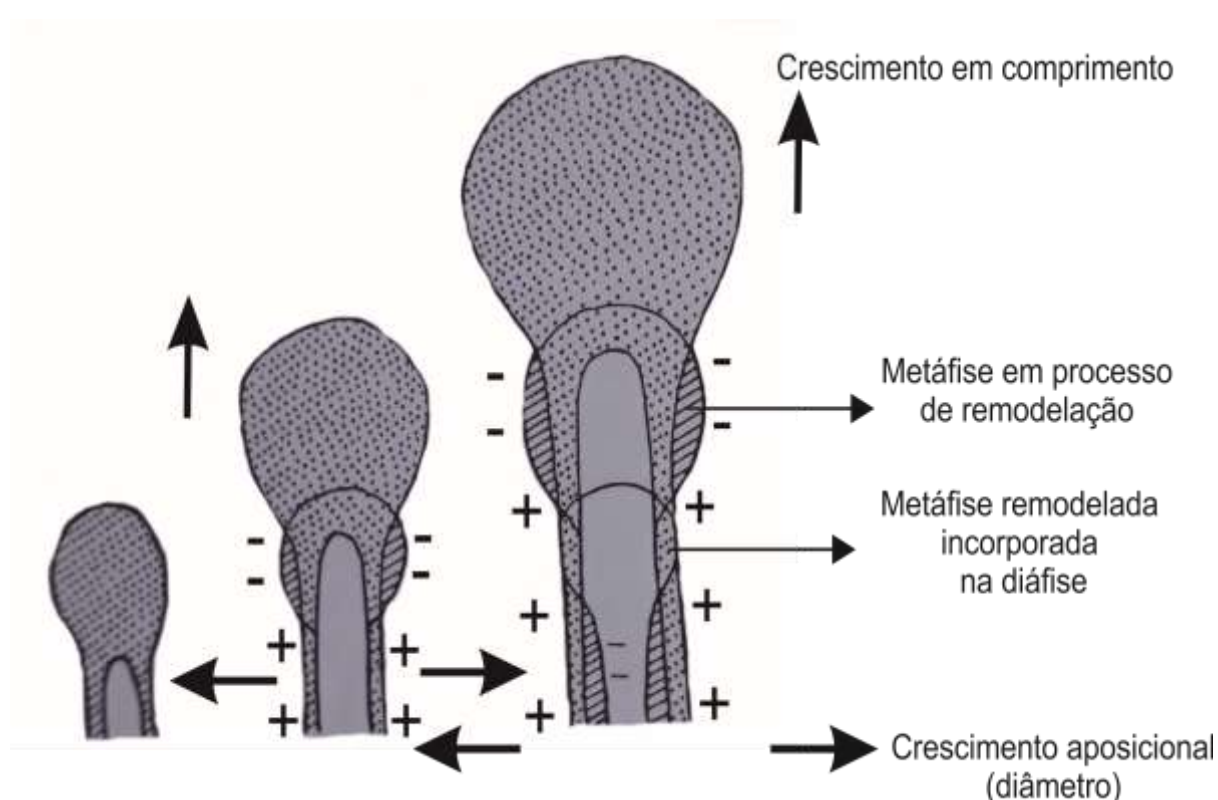


Figura 5. Esquema ilustrando o processo de crescimento em ossos longos, tanto em comprimento quanto em diâmetro. À medida que o osso vai crescendo em comprimento, a região da metáfise vai sendo remodelada e incorporada na diáfise. Dessa forma, as regiões que menos sofrem remodelamento são as referentes à diáfise original antes do crescimento. + = deposição óssea, - = remodelação óssea. Modificado de Chinsamy-Turan, 2005).

Alguns ossos chatos, como as costelas, também apresentam ossificação endocondral a partir de um modelo cartilaginoso que se origina das vértebras e mais tarde se ossificam (KARDONG, 2012). Já em outros ossos chatos de vertebrados (e.g., alguns ossos cranianos, clavículas e osteodermas), a ossificação ocorre de forma intramebranosa, que significa que a matriz óssea cresce diretamente pela ação dos osteoblastos formados do mesênquima. Aqui, a deposição óssea predomina em relação à reabsorção óssea, tanto na superfície externa quanto interna, formando duas camadas de córtex que cercam o núcleo esponjoso, estrutura denominada *díploe* (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990; CHINSAMY-TURAN, 2005; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Em osteodermas, pode ainda ocorrer um outro tipo de ossificação, chamado *metaplástica*, que consiste na ossificação direta de um tecido conectivo pré-existente, sem a presença de uma superfície cartilaginosa, processo conhecido na formação de osteodermas em répteis (FRANCILLON-VIELLOT, 1990; HALL, 2005).

À medida que ocorre deposição óssea, o processo pode ser contínuo ou cíclico. Quando as condições ambientais são favoráveis, o osso cresce de forma contínua, o que geralmente ocorre de forma rápida, até o momento da maturidade sexual, quando ocorre uma mudança evidente na matriz do tecido, que se torna menos vascularizada (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). Esse tipo de crescimento sem interrupções é comum em mamíferos e aves e se caracteriza por apresentar uma matriz fibrolamelar, que pode mudar para uma matriz paralelo-fibrosa na medida em que o vertebrado alcança a maturidade sexual. Vertebrados que crescem dessa forma indicam que os seus respectivos habitats eram climaticamente estáveis no decorrer de todo o ano. Dessa maneira, a única forma de observar a história de vida dos vertebrados que possuem esse tipo de crescimento é identificar as zonas de transição entre os tipos de matriz óssea (CHINSAMY-TURAN, 2012).

Se as condições ambientais não são favoráveis (e.g., baixas temperaturas, restrição hídrica), ou ainda a partir dos ritmos biológicos endógenos dos vertebrados, pode ocorrer o cessamento temporário ou cíclico do crescimento ósseo, momento registrado com a formação de marcas de crescimento anuais (CASTANET et al., 1993) entre as zonas de tecido ósseo. Estas marcas de crescimento são compostas de matriz lamelar ou paralelo-fibrosa, e se classificam

em “annuli” ou “lines of arrested growth” (LAGs). Annuli são marcas de crescimento mais estreitas que as zonas e indicam uma diminuição na taxa de deposição óssea, sendo geralmente compostas de lacunas de osteócitos achatadas e com canalículos pouco desenvolvidos ou ausentes e mineralização maior que nas zonas (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990), enquanto as LAGs (“lines of arrested growth”-linhas de parada do crescimento), sendo mais mineralizadas que annuli, podem ocorrer individualmente ou duplicadas (e.g., double LAGs). As LAGs sugerem uma parada abrupta no crescimento (CHINSAMY-TURAN, 2005). A maturidade sexual em vertebrados que crescem de forma cíclica é visualizado quando a espessura entre as zonas e as linhas de crescimento diminui em direção à periferia do córtex, (CHINSAMY-TURAN, 2012). O estudo dessas marcas de crescimento é chamado de esqueletocronologia, bastante útil para entender, a história de vida dos organismos. A partir de sua contagem é possível, em muitos casos, obter a idade absoluta ou idade mínima de um vertebrado (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).

Outros tipos de paradas abruptas são registrados por linhas reversas e linhas de cimento, que não são anuais. As “reversal lines” (linhas reversas) são observadas nas superfícies de osso reabsorvido, sendo frequentemente associadas com remodelamento durante a deposição óssea. Já as “cement lines” (linhas de cimento) também estão relacionadas com o remodelamento ósseo durante o crescimento. Entretanto, estas são formadas ao redor dos canais vasculares representando sucessivos períodos de deposição de osso secundário ao redor dos canais, formando os ósteons secundários (CHINSAMY-TURAN, 2012).

Marcas de crescimento são comuns em ambientes sazonais (LOOY et al., 2016), e promovem a estratificação cortical do osso, como pode ser observado em muitos répteis atuais como crocodilos e lagartos, além de mamíferos e aves (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990; CHINSAMY-TURAN, 2012). Animais como mamíferos e aves, são conhecidos por apresentarem crescimento determinado, o que significa que em determinado momento do desenvolvimento, geralmente após a maturidade sexual, o crescimento somático do osso irá cessar completamente, sendo esse momento registrado pelo aparecimento de um outro tipo de marcas de crescimento denominadas “rest lines” (linhas descanso) que se sucedem na periferia do córtex, estrutura denominada EFS - “external fundamental system” (sistema fundamental externo), também conhecida por OCL - outer circumferential layer

(camada circunferencial externa) (CHINSAMY-TURAN, 2012). No crescimento indeterminado, característico de anfíbios e muitos amniotas como tartarugas, crocodilos e lagartos, o osso continua a crescer mesmo após a maturidade sexual, ocorrendo apenas uma diminuição na taxa de crescimento que se torna muito lenta, caracterizada por uma matriz óssea paralelo-fibrosa ou lamelar (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).

5.4 Classificação das matrizes ósseas

Os ossos longos são formados por uma estrutura cilíndrica e compacta denominada de diáfise e duas extremidades robustas e esponjosas formadas por uma zona de transição denominada metáfise, além de zonas de articulação conhecida como epífises (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). As regiões centrais da diáfise são as principais regiões tissulares utilizadas na Paleohistologia para extrair dados paleobiológicos, pois essa é a região que ocorre a menor taxa de remodelamento, o que acarreta em uma preservação mais detalhada da história do crescimento ósseo desses elementos (FRANCILLON-VIEILLOT et al. 1990; HORNER et al. 1999; CHINSAMY-TURAN, 2012).

Os esqueletos dos vertebrados geralmente possuem uma combinação de tecidos ósseos que depende de uma variedade de fatores como a fase ontogenética, a região óssea e o ambiente local. A grande maioria das estruturas que definem os padrões de organização óssea são preservadas nos fósseis e podem ser comparadas com as de organismos modernos (CHINSAMY-TURAN, 2005). Basicamente ocorrem três tipos de matriz óssea: lamelar-zonal, paralelo-fibrosa e fibrolamelar (Fig. 5), mas ocorrem muitos tipos transicionais entre cada uma delas (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). A organização dessas matrizes reflete a velocidade de deposição óssea (crescimento) e, conseqüentemente, permite inferências em relação ao metabolismo dos vertebrados (AMPRINO, 1947; STOVER et al., 1992; MORI et al., 2003).

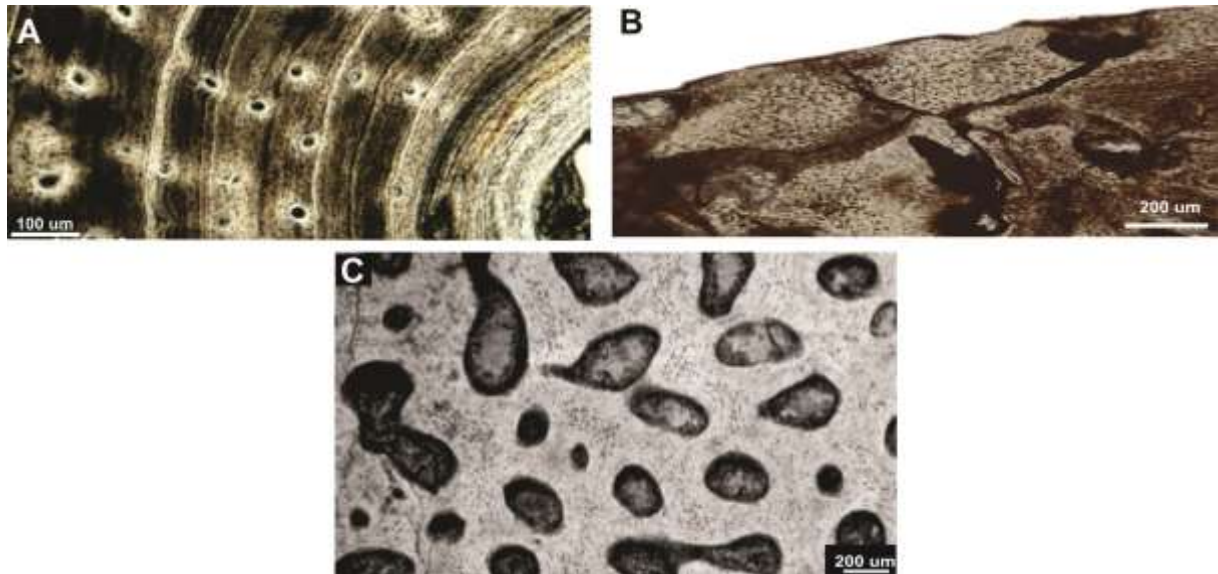


Figura 6. Imagens ilustrando diferentes tipos de matriz óssea. A. Osso lamelar em um rádio de *Alligator*. Note a baixa vascularização e a disposição bastante organizada das lacunas de osteócitos, típicos desse tipo de matriz óssea. Adaptado de Padian e Lamm (2013). B. Matriz paralelo-fibrosa pouco vascularizada no rádio UFRGS-PV-0233-P de *Provelosaurus americanus*. A deposição óssea nesse tipo de matriz é mais rápida que a lamelar e apresenta um número maior de lacunas de osteócitos, dispostas de forma mais aleatória. Foto do autor (2017). C. Matriz fibrolamelar em SAM-PK-5576, *Dicynodon*. Observar o nível de vascularização bastante elevado indicando um crescimento rápido. As lacunas de osteócitos são mais numerosas que nas matrizes lamelar e paralelo-fibrosa e estão espalhadas na matriz de forma completamente aleatória. Adaptado de Chinsamy-Turan (2012).

A matriz lamelar-zonal (Fig. 5A) é formado por camadas compactadas de fibras de colágeno organizadas em direções alternadas. Quando este tipo de matriz é visto em um microscópio de luz polarizada, observa-se uma alternância de feixes de cor escura e clara, que representa a mudança de direção das fibras de colágeno entre sucessivas camadas (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). Cada uma dessas camadas possuem osteócitos de formato achatado e com poucos canalículos organizados em fileiras (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). A deposição de uma matriz lamelar ocorre de duas formas: como feixes paralelos de lamela, denominado de osso lamelar circunferencial, ou, em forma de cilindros. Este último tipo de deposição é o que dá origem aos ósteons primários e secundários (CURREY, 2002). A matriz lamelar é a que possui as menores taxas de crescimento e de mineralização, além de ser pouco vascularizado ou avascular (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990; CHINSAMY, 2005). É encontrada principalmente em tartarugas, crocodilos e algumas aves, mas pode ser encontrado

em mamíferos adultos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A matriz paralelo-fibrosa (Fig. 5B) é semelhante ao lamelar, mas quando visto no microscópio de luz polarizada não apresenta alternância de cores, já que a organização das fibras de colágeno segue uma única direção. Os osteócitos também são achatados, mas podem se distribuir em fileiras ou aleatoriamente; ainda há certo grau de organização (CHINSAMY-TURAN, 2012). Por ter uma maior vascularização e uma taxa de deposição mais alta que a lamelar-zonal, mesmo que ainda baixa em relação ao tecido fibrolamelar, a matriz paralelo-fibrosa é considerada intermediária entre o osso lamelar e o fibrolamelar (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).

A matriz fibrolamelar (Fig. 5C) é a que está relacionada com uma taxa de crescimento bastante acelerada, que é frequentemente encontrada em vertebrados imaturos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013) como em aves e nos mamíferos modernos, e também em vários grupos extintos, como alguns dinossauros, pterossauros, cinodontes e dicinodontes. A matriz fibrolamelar já foi relacionada com endotermia de dinossauros, mas devido aos inúmeros registros em amniotas modernos e extintos tidos como ectotérmicos (e.g., crocodilos juvenis, “pelicossauros”, gorgonopsios e dicinodontes), essa correlação não é mais utilizada (CHINSAMY, 1997). A matriz fibrolamelar é caracterizada pela disposição desorganizada das fibras de colágeno (CHINSAMY-TURAN, 2012), seus osteócitos apresentam um formato globular ou arredondado, são numerosos e estão distribuídos aleatoriamente pela matriz óssea (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990; CHINSAMY-TURAN, 2005; CHINSAMY-TURAN, 2012). Ocorre também uma grande quantidade de ósteons primários, cuja organização reflete diferentes tipos de classificação de tecido ósseo fibrolamelar: a) laminar b) plexiforme c) reticular d) radial (Fig. 6).

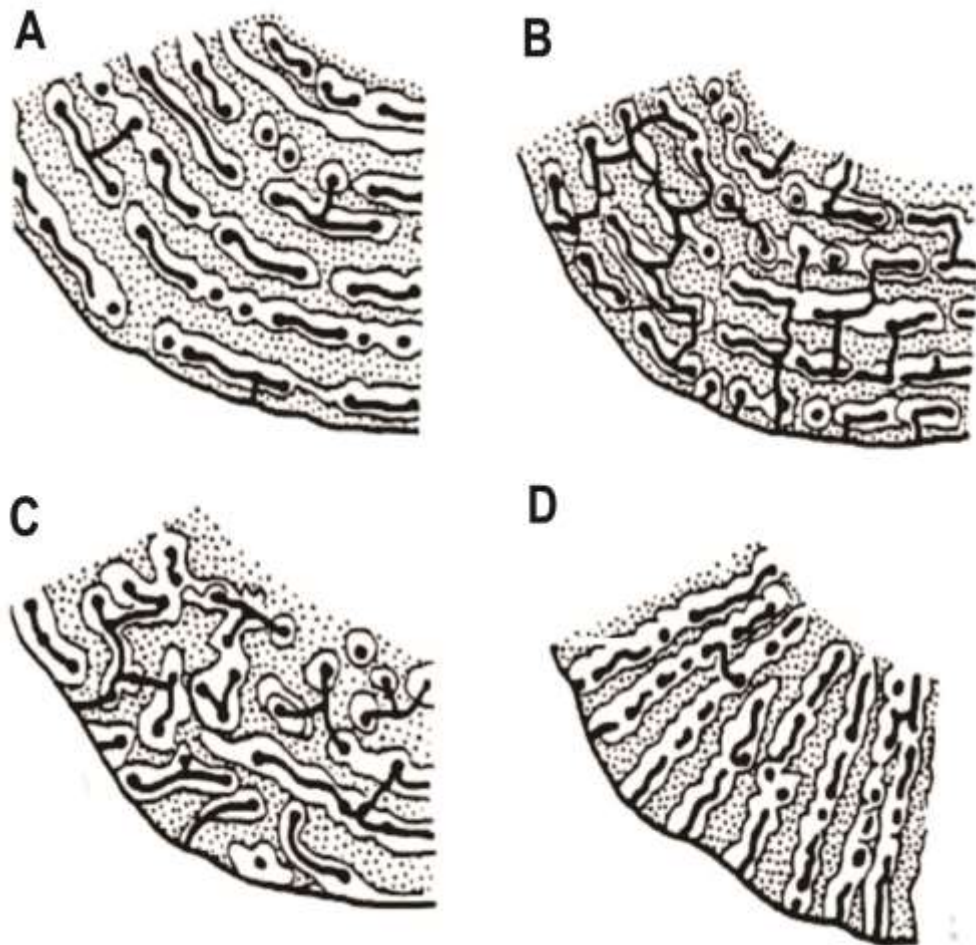


Figura 7. Ilustração esquemática dos diferentes tipos de matriz fibrolamelar baseado na organização dos ósteons primários: A. Laminar B. Plexiforme C. Reticular D. Radial. Adaptado de Francillon-Viellet et al. (1990).

- a) Laminar (Fig. 6A): Os ósteons primários são dispostos em fileiras longitudinais paralelas à circunferência do elemento ósseo (CHINSAMY-TURAN, 2012). Aparece em maior parte no córtex primário depositado durante a fase de crescimento ativo em grandes vertebrados terrestres. Esse tipo de matriz fibrolamelar já foi descrita na diáfise de muitos mamíferos, terápsidos não-mamíferos e dinossauros (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).
- b) Plexiforme (Fig. 6B): Os ósteons primários também possuem um arranjo circunferencial como na matriz laminar, mas as conexões entre os ósteons primários ocorrem geralmente de forma radial (CHINSAMY-TURAN, 2005; 2012). É ainda mais vascularizado que o osso laminar. Há ocorrência desse tipo de tecido no córtex de ossos longos de dinossauros saurópodes e em mamíferos artiodáctilos de grande porte. É relacionado com rápida e normal

- deposição de camadas de osso compacto (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).
- c) Reticular (Fig. 6C): Difere dos padrões laminar e plexiforme por apresentar mais conexões entre os ósteons primários que frequentemente se anastomosam de forma oblíqua, resultando numa rede tridimensional de organização aleatória (CHINSAMY-TURAN, 2005; 2012). É associado com rápida deposição de quantidades relativamente modestas de osso primário compacto. É encontrado geralmente no osso compacto de algumas aves e de pterossauros (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990).
 - d) Radial (Fig. 6D): Caracteriza-se por apresentar a organização dos ósteons primários de forma radial (CHINSAMY-TURAN, 2012). A deposição da matriz óssea ocorre de forma muito mais rápida que nos tipos de tecidos ósseos anteriores (FRANCILLON-VIELLOT et al., 1990). Esse tecido já foi encontrado em aves modernas como pinguins e galinhas e em dinossauros como o ornitópode *Maiasaura* (CUBO et al., 2015).

5.5 Os Pareiasauria

Os Parareptilia foram bastante diversos e geograficamente bem distribuídos durante o Permiano, com a maioria dos seus táxons encontrando a extinção no final desse período (TSUJI, 2011). Dentro de Parareptilia encontram-se os enigmáticos pareiassauros, um grupo de tetrápodes que incluem alguns dos maiores (de 1m a 3,5m do focinho à ponta da cauda) herbívoros do Meso-Neopermiano (LEE, 1997a), com espécies que podem ser encontradas principalmente na África do Sul e na Rússia, e em menor número na China, Brasil, Alemanha, Escócia, Nigéria, Marrocos, Tanzânia e Zâmbia (ARAÚJO, 1985a; TSUJI, 2011). Eles alcançaram uma diversidade taxonômica razoável em um curto período de tempo, tornando-se um dos poucos grupos de amniotas a possuírem distribuição cosmopolita (TSUJI, 2011). O grupo, apesar de ter sobrevivido a um pulso de extinção no Guadalupiano, não conseguiu sobreviver ao evento de extinção em massa do Permiano/Triássico (RUTA et al., 2011).

Os pareiassauros podem ser identificados por uma combinação única e

distinta de características. Entre algumas delas estão: a presença de uma bossa no osso angular da mandíbula, que frequentemente se alonga formando um “chifre”, cujo tamanho varia entre os táxons do grupo; astrágalo e calcâneo fundidos no tarso, que juntos formam uma estrutura em forma de bloco (LEE, 1997a); crânio com condição anápsida; e a presença de dentes em forma de folha, cada um possuindo cinco ou mais cúspides (REISZ; SUES, 2000). O formato dos dentes sugere que os pareiassauros eram herbívoros que se alimentavam de vegetação macia (BENTON, 2014).

Outra característica marcante dos pareiassauros é a ocorrência de osteodermas, que nas formas mais basais localizavam-se em fileira única ao longo dos arcos neurais das vértebras dorsais. As formas basais são conhecidas por possuírem os maiores tamanhos corporais do grupo. As formas de tamanho intermediário apresentam osteodermas espalhados por todo dorso, mas de forma esparsa. Já os pareiassauros mais derivados, que geralmente possuem um tamanho corpóreo bastante reduzido em comparação com as formas basais, possuem osteodermas distribuídos ao redor de todo o dorso, que se fundem formando uma carapaça, e em algumas regiões dos membros (LEE, 1997a, b; SCHEYER; SANDER, 2009; CANOVILLE; CHINSAMY, 2017). Essa tendência na redução de tamanho e aumento do número de osteodermas é ilustrado na figura 8.

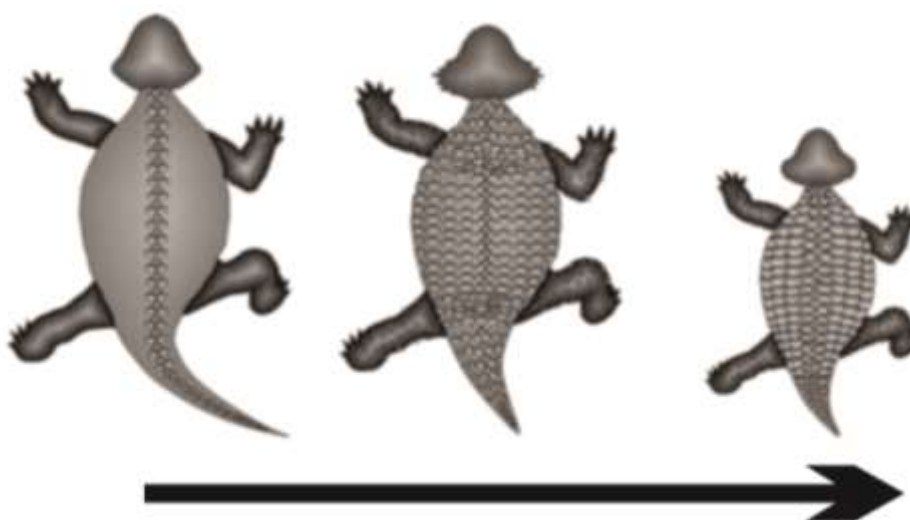


Figura 8. Modelo morfológico esquematizando a tendência evolutiva nos pareiassauros (indicada pelo sentido da seta). Observa-se que essa tendência se inicia com formas robustas e esparsamente encouraçadas para formas menores com carapaças dorsais completas. Adaptado de Lee (1997a) e Scheyer e Sander (2009).

Até a revisão taxonômica realizada por Lee (1997a), Pareisauria possuía 49 gêneros. Segundo o autor, isso ocorreu devido à forma equivocada com que os pesquisadores da metade do século XX costumavam denominar novos gêneros, baseados unicamente em caracteres cranianos. Após a revisão (Lee, 1997a), notou-se que muitas espécies nomeadas correspondiam a estágios ontogenéticos diferentes de uma mesma espécie, ou pertenciam a outro grupo. Mesmo com a identificação de duas novas espécies feita por Lee (1997a), o número de gêneros diminuiu para apenas 19. Após isso, uma nova revisão taxonômica foi feita por Tsuji (2011) (Fig. 9), onde foram identificadas mais duas novas espécies totalizando 21 espécies conhecidas. Outras revisões taxonômicas têm sido feitas à medida que novos fósseis são encontrados (e.g., TSUJI, 2013; TURNER et al, 2015; XU et al., 2015; BENTON, 2016), mas nenhuma tão detalhada como as realizadas por Lee (1997a) e Tsuji (2011). Cannovile e Chinsamy (2017), apontaram, a partir de dados ostéohistológicos, que o número de espécies de pareiassauros tem sido subestimado, sugerindo que uma nova revisão taxonômica bem detalhada deveria ser feita.

Devido às controvérsias relacionadas à taxonomia desse grupo, estudar a sua paleobiologia tem se mostrado desafiante. Somam-se a isso a falta de vertebrados análogos modernos para comparações e a dificuldade de resolver suas afinidades filogenéticas com os demais Parareptilia (TSUJI et al., 2012). Assim, aspectos biológicos como variabilidade ontogenética, estratégias de crescimento e modo de vida dos pareiassauros ainda estão subexplorados. Até então, poucos trabalhos foram realizados com pareiassauros utilizando a paleohistologia, ferramenta que vem sendo aplicada rotineiramente para acessar esses aspectos paleobiológicos em diversos outros grupos de vertebrados (p.e., RICQLÈS, 1974, 1976a,b; KRILOFF ET AL., 2008; SCHEYER e SANDER, 2009; LYSON et al., 2013, 2014; TSUJI et al., 2015; LOOY et al., 2016, CANNOVILE e CHINSAMY, 2017).

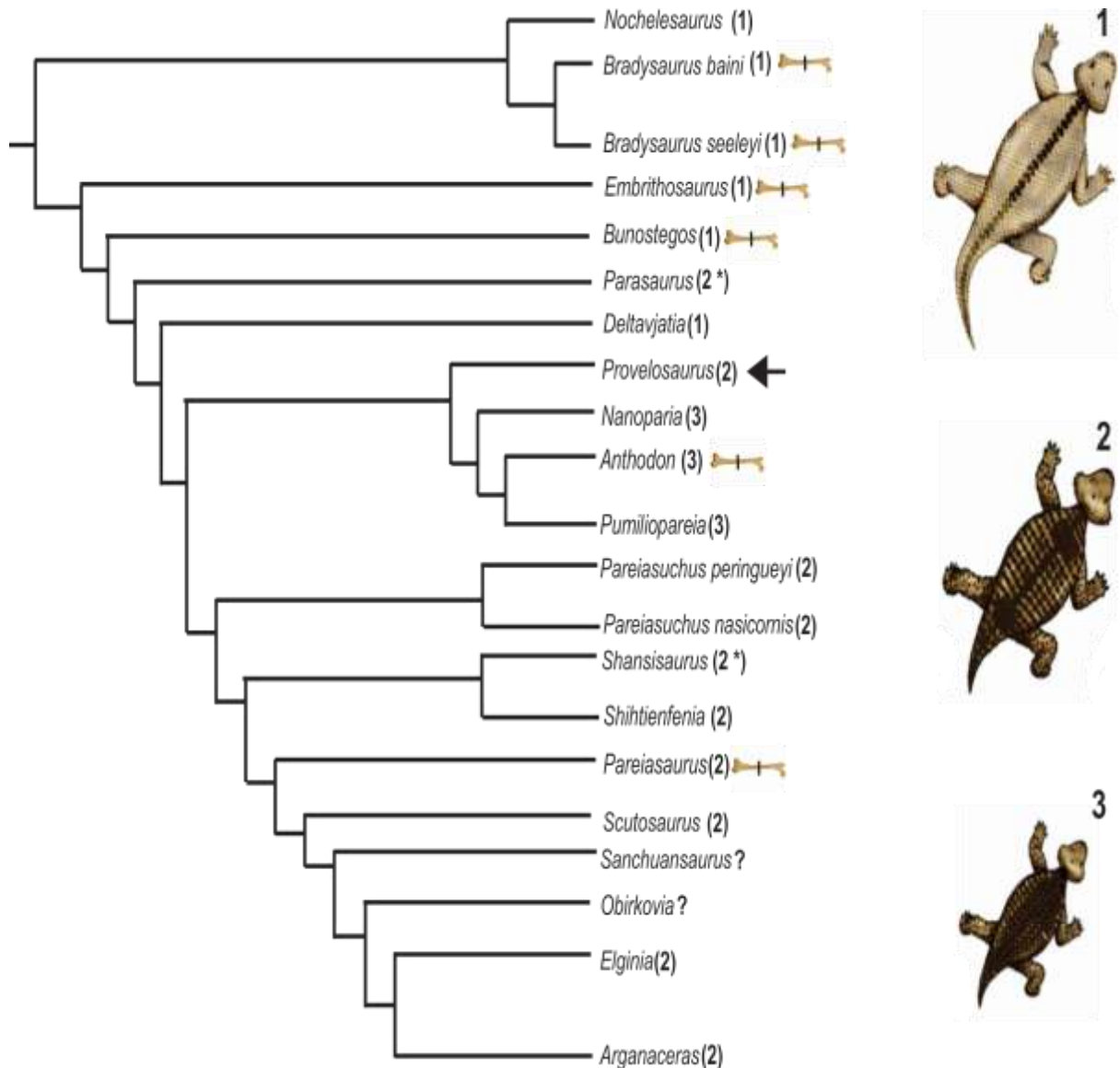


Figura 9. Cladograma geral de Pareiasauria. *Provelosaurus americanus*, estudado nesse trabalho, se encontra como táxon-irmão dos pareiassauros “anões” *Nanoparia*, *Anthodon* e *Pumiliopareia*. Os números entre parentêses significam os respectivos morfótipos (1-formas basais, 2- formas intermediárias, 3 - formas derivadas) encontrados em Pareiasauria, ilustrados a direita, os quais foram descritos na figura anterior. O esquema do osso com um traço no centro representa quais espécies já foram paleohistologicamente amostradas. * = morfótipo especulado, sem acesso completo aos osteodermas da espécie. (Modificado de TSUJI, 2011 e Canoville e Chinsamy, 2017).

5.6 *Provelosaurus americanus*

Sistemática Paleontológica

REPTILIA Laurenti, 1768

PARAREPTILIA Olson, 1947 (*sensu* deBraga & Reisz, 1996)

PAREIASAURIDAE Seeley, 1888

Provelosaurus americanus (Araújo, 1985a) (Fig. 10)



Figura 10. Crânio do holótipo UFRGS-PV-0231-P, à esquerda, e reconstrução de um indivíduo de *Provelosaurus americanus*, à direita. Sem escala. Foto: Cesar Leandro Schultz. Arte: Felipe A. Elias

Durante o verão de 1979, em uma coleta de campo liderada pelo Dr. Mário Costa Barberena, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, foram encontrados os primeiros fósseis pertencentes a um pareiassauro na América do Sul. O material foi encontrado na BR-153, km 204, em afloramento localizado na estrada que conecta o município de Bagé e Aceguá, no Rio Grande do Sul, Brasil (Fig. 11). Estas camadas são relacionadas à formação Rio do Rasto, Permiano Médio-Superior do Rio Grande do Sul (HOLZ et al., 2010). Esse material, consistindo do holótipo e parátipo, foi catalogado, respectivamente, como UFRGS-PV-0231-P (crânio sem mandíbula, escápula, coracoide e úmero direito) e UFRGS-PV-0232-P (cintura pélvica direita). Em expedições subsequentes, a 600 metros do afloramento onde foram encontrados os dois primeiros espécimes, foram coletados novos materiais, correspondentes ao esqueleto axial e apendicular da mesma espécie, catalogados como UFRGS-PV-0233-P (ARAÚJO, 1985a).



Figura 11. Momento da coleta do holótipo UFRGS-PV-0231-P de *Provelosaurus americanus* por pesquisadores da UFRGS em 1979 (à esquerda), e o panorama do afloramento (foto atual) em que o material foi encontrado (à direita). Foto da esquerda de Luiz E. Lavina.

A espécie *Pareiasaurus americanus* foi erigida por Araújo (1985a) com base no holótipo e parátipo, sendo descrita em detalhe em uma série de trabalhos publicados nos Anais da Academia Brasileira de Ciências (ARAÚJO, 1985b; ARAÚJO, 1986a; ARAÚJO, 1986b; ARAÚJO, 1987; ARAÚJO-BARBERENA, 1989a; ARAÚJO-BARBERENA, 1989b). O novo táxon recebeu o nome de *Pareiasaurus americanus* devido às semelhanças morfológicas com *Pareiasaurus serridens* da África do Sul. Mais tarde, Lee (1997a) sugeriu a transferência de gênero dessa nova espécie, pois em sua análise filogenética, *Pareiasaurus americanus* não foi considerado estreitamente relacionado com *Pareiasaurus serridens*. Assim, uma mudança para o nome atual, *Provelosaurus americanus*, foi proposta com o objetivo de eliminar gêneros polifiléticos.

O nome *Provelosaurus americanus* é derivado do latim (pro=antes, velo=cobertura) e refere-se a observação de que este táxon é intermediário entre os pareiassauros mais basais (os quais apresentam tamanhos massivos e uma armadura com poucos osteodermas) e as formas mais derivadas (também conhecidas como “pareiassauros anões”, que possuem uma carapaça formada por osteodermas fusionados entre si). Dessa forma, *P. americanus* se configura como um animal de tamanho intermediário (aproximadamente 1 metro de comprimento), com osteodermas não fusionados espalhados por todo o corpo, não formando uma carapaça. Filogeneticamente, *P. americanus* forma um grupo monofilético com os “pareiassauros anões” *Anthodon*, *Nanoparia* e *Pumiliopareia* (LEE, 1997a).

Malabarba et al. (2003) relataram a ocorrência de fragmentos do crânio de um pareiassauro (MCP4263PV) na localidade Posto Queimado, município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, identificando-os como pertencendo a *P. americanus*. O menor tamanho comparado aos materiais de Aceguá levaram os autores a atribuir um estado ontogenético juvenil ao novo espécime. A descrição deste material foi realizada por Cisneros et al. (2005), os quais diagnosticaram o gênero de forma mais detalhada que Lee (1997a), confirmando a posição da espécie dentro do gênero *Provelosaurus* e identificando as seguintes autapomorfias: quadradojugal com uma superfície ventrolateral longa, com duas bossas cilíndricas proeminentes localizadas distalmente e um esquamosal expandido dorsoventralmente. Os últimos materiais de *P. americanus* coletados foram preliminarmente descritos por Melo e Cisneros (2008) provenientes de Aceguá. O espécime (UFRGS-PV-353-P) conta com cinco vértebras (incluindo atlas, axis e cervicais) e um ramo mandibular esquerdo com dentição. Ainda existem outros materiais inéditos de Aceguá aguardando descrição.

Provelosaurus americanus é proveniente do Membro Morro Pelado da formação Rio do Rasto, a qual possui um significativo registro fóssil de vertebrados. Litoestratigraficamente, a formação Rio do Rasto localiza-se na porção superior do Grupo Passa Dois, sendo limitada por contatos transicionais com as formações Teresina, na base, e Piramboia, no topo. As espessuras dessa unidade variam de acordo com a localidade na Bacia do Paraná, com o menores tamanhos ocorrendo nas regiões marginais e com progressões em direção ao interior (WARREN et al., 2008). A formação Rio do Rasto integra a Supersequência Gondwana I (MILANI, 1997) na Bacia do Paraná e é datada como Permiano Médio-Tardio baseando-se em faunas de tetrápodes (BARBERENA et al., 1980, 1985, 1991; CISNEROS et al., 2012; BOOS et al., 2016). Seus afloramentos se estendem extensivamente do estado do Paraná ao estado do Rio Grande do Sul, formando um cinturão rochoso de aproximadamente 1000 km (DIAS e BARBERENA, 2001). O ambiente deposicional do Membro do Morro Pelado possui diferentes interpretações. Castro e Medeiros (1980) consideraram o ambiente como um sistema fluvial meandrante a mixohalino, enquanto Lavina (1991) e Rohn (1994) interpretaram como ambientes deltaicos e eólicos. Em interpretações mais recentes, o ambiente deposicional do Membro Morro Pelado é descrito como a parte distal de um delta aluvial, com vastos

depósitos fluviais coalescentes, incluindo a deposição de extravasamento de diques marginais e, pontualmente, canais fluviais rasos, além de dunas eólicas (Rohn *et al.*, 2005; Warren *et al.*, 2008; Ferreira-Oliveira & Rohn, 2010).

Como já mencionado, *P. americanus* é o único registro de Pareiasauria em continente americano. Araújo (1985a) correlacionou as camadas de Aceguá contendo os materiais referentes a este pareiassauro com a fauna da Zona de Assembleia de *Daptocephalus* (Longipiano) da Série Beaufort Inferior, da Bacia do Karoo, África do Sul. Essa correlação se deu devido a suposta similaridade de caracteres osteológicos entre *Provelosaurus americanus* e *Pareiasaurus serridens* e outros pareiassauros que ocorrem nessa Zona. Entretanto, após Lee (1997a) considerar *P. americanus* táxon-irmão dos “pareiassauros anões” da África do Sul, Langer (2000) correlacionou a espécie brasileira com a Zona de Assembleia *Tapinocephalus* (Guadalupeano) da África do Sul, devido a ocorrência de *Anthodon*, *Nanoparia* e *Pumiliopareia* nessa mesma zona. Após a descoberta de *Provelosaurus* em Posto Queimado (São Gabriel), que já contava com registros de dinocefálios, Malabarba *et al.* (2003) correlacionaram as faunas de Aceguá e Posto Queimado, postulando também uma idade guadalupeana, compatível com a Zona de Assembleia de *Tapinocephalus*, onde igualmente pareiassauros e dinocefálios são registrado em conjunto.

Até o presente momento, apenas estudos de implicação taxônomica, filogenética e bioestratigráfica foram realizados com *Provelosaurus americanus* e dessa forma, sua paleobiologia é praticamente desconhecida.

5.7 Estudos paleohistológicos em Pareiasauria

Os primeiros trabalhos ósteo-histológicos em pareiassauros foram realizados por Armand de Ricqlès (1974b, 1976), com os gêneros *Bradysaurus* e *Pareiasaurus serridens*. A amostra era bastante limitada, consistindo de fragmentos da região da diáfise de ossos longos e seu padrão ósseo foi descrito como lamelar-zonal. Ricqlès (1978b) descreveu esse tipo de tecido ósseo como moderadamente ou extremamente vascularizado (dependendo do estágio ontogenético) com regiões de annuli avascular, o que sugere que o animal possuía uma rápida, mas cíclica, taxa de deposição óssea. A região perimedular do córtex foi relatada como sendo

extremamente remodelada e a cavidade medular preenchida completamente por tecido esponjoso. Ricqlès (1974b) também analisou fragmentos de costelas e encontrou um padrão completamente diferente do dos ossos longos, apresentando remodelamento Haversiano e o canal medular possuindo ou não osso esponjoso.

Após um longo hiato de estudos paleohistológicos em pareiazauros, Krilloff et al. (2008) tentaram inferir o modo de vida para o gênero *Pareiasaurus*, anteriormente considerado como semi-aquático (PIVETEAU, 1955). Após validar a utilização de variáveis, como nível de compactação óssea da tíbia de anfíbios modernos em modelos discriminantes para inferir o estilo de vida de organismos extintos, baseou-se nos resultados fornecidos por esses modelos, concluindo que *Pareiasaurus* era, de fato, aquático. Os autores, entretanto, considerando que outros táxons de pareiazauros foram interpretados como terrestres com base na fauna encontrada geralmente associada com esses, decidiram considerar *Pareiasaurus* como semi-aquático.

Scheyer e Sander (2009) descreveram pela primeira vez a histologia óssea de osteodermas de três gêneros de pareiazauros: *Bradysaurus*, *Pareiasaurus* e *Anthodon*, todos encontrados em continente africano. A análise da microestrutura óssea desses elementos permitiu determinar sua origem como intramembranosa e essa condição foi hipotetizada como presente em toda a linhagem. Foi realizada também a comparação com osteodermas de tartarugas, devido a alguns autores considerarem Pareiasauria como o grupo que deu origem às tartarugas (e.g., LEE, 1997b). Entretanto, foi observado que poucos caracteres são compartilhados entre os osteodermas desses dois grupos, e hoje é quase consensual que tartarugas estão inseridas em Diapsida, com base em dados morfológicos e moleculares (e.g., CRAWFORD et al., 2013; SCHOCH; SUES, 2015). Os autores, por fim, utilizaram o software Bone Profiler para tentar inferir o estilo de vida baseado no nível de compactação óssea dos osteodermas, não havendo, contudo, uma conexão evidente.

Looy et al. (2016), utilizaram a paleohistologia em fragmentos ósseos referentes ao pareiazauro nigeriano *Bunostegos* como evidencia biológica para a ocorrência de mudanças climáticas extremas durante o final do Permiano. Assim como outros pareiazauros previamente estudados, *Bunostegos* exibiu uma matriz óssea fibrosa e uma grande quantidade de canais vasculares o que indica que esses

animais apresentavam uma rápida taxa de deposição óssea durante a fase juvenil e metabolismo ativo. Entretanto, a presença de LAGs, sugeriu que eles viviam sob constante flutuações climáticas. Os autores consideraram que como os pareiassauros já foram considerados semi-aquáticos, a presença de LAGs poderia indicar uma possível mudança anual nas reservas hídricas locais.

O trabalho mais recente envolvendo a histologia óssea de pareiassauros foi promovido por Cannovile e Chinsamy (2017), utilizando uma amostra extensiva de diferentes ossos longos (fêmur, úmero, rádio, tíbia e fíbula) e costelas de gêneros da África do Sul (e.g., *Bradysaurus*, *Embrithosaurus*, *Pareiasaurus*, *Anthodon*), representativa tanto taxonomicamente quanto estratigraficamente. Devido ao tamanho razoavelmente grande dos ossos longos, e visando evitar maiores danos ao material, os autores optaram por utilizar a técnica de perfuração de núcleo (core drilling) na maior parte dos elementos amostrados.

A microestrutura óssea da maioria dos ossos longos mostrou-se similar em todos os pareiassauros amostrados por Cannovile e Chinsamy (2017), apresentando a região medular com uma densa rede de tecido esponjoso, consistindo basicamente de trabeculae secundária. O córtex sofre intenso remodelamento, principalmente na região ventral dos ossos longos. Dessa forma, o córtex compacto apresenta-se como uma fina camada, sendo um pouco mais espessa na região dorsal. No córtex periférico de alguns dos espécimes seccionados foi possível visualizar uma espessa camada de osso lamelar avascular, interrompida por linhas de crescimento apresentando um espaço muito pequeno entre elas, indicando que o animal já tinha atingido a maturidade sexual e diminuído o ritmo de crescimento.

Assim como Ricqlès (1974), todas as costelas seccionadas apresentaram osso Haversiano denso, com várias gerações de ósteons secundários de diferentes formatos e orientações. Esse padrão também foi observado na fíbula de *Anthodon*.

Apesar das similaridades, algumas diferenças foram encontradas nos diferentes elementos, como a taxa de deposição óssea e intensidade de remodelamento ósseo, comprovando que existem taxas de crescimento diferenciadas entre os elementos e variadas limitações mecânicas. Outra observação é que a quantidade de tecido ósseo secundário é mais intensa em organismos adultos que juvenis.

Este abrangente trabalho de Cannovile e Chinsamy (2017) forneceu uma

base de dados robusta sobre os aspectos microestruturais de vários elementos ósseos de diversos táxons de pareiassauros em distintos estágios ontogenéticos, o que é sempre recomendável em um estudo paleohistológico, porém nem sempre possível.

5. ANÁLISE INTEGRADORA

O artigo apresentado na Parte II dessa dissertação, intitulado “*Bone microstructure of the pareiasaur Provelosaurus americanus from the Middle/Late Permian of southern Brazil*”, submetido ao periódico *Historical Biology* é o primeiro estudo de cunho paleobiológico referente à única espécie de Pareiasauria do continente americano, *Provelosaurus americanus* e, portanto, todos os dados apresentados são inéditos.

No artigo são apresentadas descrições ósteo-histológicas de vários ossos longos, um fragmento de costela e osteodermas do espécime UFRGS-PV-0233-P proveniente da Formação Rio do Rasto, Rio Grande do Sul, Brasil. Os principais resultados e conclusões serão apresentados a seguir:

Todos os ossos longos analisados (rádio, ulna, tíbia, fíbula e metatarsal) apresentaram na zona endosteal uma matriz óssea bastante remodelada com a presença de muitos ósteons secundários, o que acarretou na destruição de parte do registro de crescimento de UFRGS-PV-0233-P. O restante do córtex é caracterizado por tecido ósseo primário paralelo-fibroso alternado algumas vezes com tecido lamelar zonal, ambos pouco vascularizados e com várias linhas de crescimento (número máximo de linhas foi encontrado na ulna, contabilizando 13), característico de animais que estão crescendo de forma lenta. É difícil discernir se a vascularização de fato diminui em direção a periferia do tecido ósseo. Da mesma forma, o espaçamento entre as LAGs se dá de forma irregular, não sendo possível identificar se a maturidade sexual havia sido atingida, apesar do baixo ritmo de crescimento. Esse conjunto de dados indica que UFRGS-PV-0233-P era um indivíduo sub-adulto no momento de sua morte. A ausência de um “External

Fundamental System”, presente em pareiaossauros completamente adultos, a presença de canais vasculares e de tecido paralelo-fibroso na região periférica do córtex, sugerem que o crescimento somático ainda não tinha cessado completamente, apesar de estar ocorrendo com taxas de deposição óssea muito baixas.

O fragmento de costela também se apresentou bastante remodelado na região mais interna do córtex, com muitos ósteons secundários; seguindo em direção à zona subperiosteal, ocorre a presença de uma matriz paralelo-fibrosa com muitas lacunas de osteócitos, estratificada por LAGs. Nesse elemento foi registrado o maior número de linhas de crescimento, totalizando 14. Na ulna analisada 13 LAGs foram contabilizadas, mostrando que mais de uma dúzia de ciclos de parada de crescimento/deposição óssea foram preservados. A presença dessas linhas indica que anualmente ocorriam interrupções no crescimento, provavelmente por motivos ambientais como, por exemplo, escassez hídrica, que era algo comum durante o período Permiano e que está em acórdância com a tendência à aridização observada nas rochas do membro Morro Pelado da Formação Rio do Rasto (MILANI, 1997; HOLZ et al., 2010). Como algumas linhas podem ter sido apagadas na área em que ocorreu remodelamento, tanto na costela quanto na ulna, infere-se que este indivíduo morreu com uma idade mínima de 14 anos.

Os osteodermas apresentaram muitas áreas infiltradas com óxido de manganês, o que dificultou a visualização de algumas regiões. Entretanto uma visão geral da microestrutura permitiu a observação de muitas estruturas. A visualização do córtex interno só foi possível em um dos osteodermas (o osteoderma 2), que apresentou tecido paralelo-fibroso com algumas linhas de crescimento. Acima do córtex interno, observou-se um núcleo extremamente remodelado e com muitas cavidades, proporcionando um aspecto esponjoso com poucos resquícios de tecido primário e ósteons primários. Acima do núcleo encontra-se um córtex externo quase avascular, com ausência de linhas de crescimento no osteoderma 1, mas possuindo 4 LAGs no osteoderma 2 mas apresentando algumas regiões de tecido primário paralelo-fibroso. Essa estrutura trilaminar conhecida como díplome, e que é encontrada em osteodermas de outros vertebrados, por exemplo, tartarugas (SCHEYER et al., 2017), fitossauros, aetossauros (SCHEYER et al., 2014) e mamíferos pampateríios (WOLF et al., 2011), é inédita para o clado Pareiasauria. No

único estudo realizado com osteodermas de pareiassauros, a estrutura destes foi descrita como sendo composta por uma base interna achatada e um córtex externo convexo, com a ocorrência de paquiosose em ambas as regiões e com a ausência de uma zona de transição entre essas duas áreas. Esta configuração indicou a não ocorrência de uma estrutura díploe para o clado Pareiasauria. Dessa forma, o tipo de ossificação proposta para os osteodermas dos pareiassauros foi o intramembranoso, já que, com exceção das fibras de Sharpey, não foi encontrada nenhuma outra estrutura que indicasse ossificação metaplástica. A existência de díploe sugere que ossificação metaplástica pode ter ocorrido pelo menos nos estágios iniciais de desenvolvimento dos osteodermas de *P. americanus*.

Mesmo tratando-se de dados oriundos de apenas um indivíduo, com exceção dos osteodermas estudados, a histologia óssea de *Provelosaurus americanus* é consistente com o padrão encontrado em todas as espécies de pareiassauros já estudadas, consolidando os padrões de crescimento dentro do grupo. Estudos histológicos em *P. americanus* completos a partir de uma série ontogenética ainda são impossibilitados uma vez que os únicos espécimes tidos como juvenis são a cintura pélvica UFRGS-PV-0232-P e fragmentos do crânio (MCP4263PV), dependendo, portanto, de novos achados.

REFERÊNCIAS

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. A.; SAYÃO, J. S. 2014. Paleohistology and Lifestyle Inferences of a Dyrosaurid (Archosauria: Crocodylomorpha) from Paraíba Basin (Northeastern Brazil). **Plos One**, v. 9, p. e102189, 2014.

ARAÚJO, D. C. F. 1985a. Sobre *Pareiasaurus americanus* sp. nov., do Permiano Superior do Rio Grande do Sul, Brasil. I. Diagnose específica. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, v. 57, p. 63-66.

_____. 1985b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidea. III. Descrição osteológica do crânio de *Pareiasaurus americanus*. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, v. 57, p. 67-85.

_____. 1986a. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidea. IV. Descrição osteológica da escápula-coracóide de *Pareiasaurus americanus*. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, v. 58, p. 379-385.

_____. 1986b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidea. IV. Descrição osteológica do propódio e epipódio dos membros anterior e posterior de *Pareiasaurus americanus*. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, v. 58, p. 387-401.

_____. 1987. Armadura osteodérmica de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985 (Cotylosauria, Procolophonia, Pareiasauroidea) do Permiano Superior do Rio Grande do Sul, Brasil. **Paula-Coutiana**, v. 1, p. 11-16.

ARAÚJO-BARBERENA, D. C. F. 1989a. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidea. V. Descrição de pélvis de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985.

An. Acad. Brasil. Ciênc., v. 61, p. 285-294.

_____. 1989b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. VI. Descrição do esqueleto axial de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985. **An. Acad. Brasil. Ciênc.**, v. 61, p. 295-209 .

BARBERENA, M. C.; CORREIA, N. R.; AUMOND, J. J. 1980. Contribuição à estratigrafia e bioestratigrafia do Grupo Passa Dois na Serra do Cadeado (nordeste do Paraná, Brasil). **Revista Brasileira de Geociências**, v. 10, p. 268-275.

_____.; ARAÚJO, D. C; LAVINA, E. L. 1985. Late Permian and Triassic tetrapods of the Southern Brazil. **National Geographic Research**, v. 1, p. 5-20.

_____.; ARAÚJO-BARBERENA, D. C.; LAVINA, E. L.; FACCINI, U. F. 1991. The evidence for close paleofunistic affinity between South America and Africa, as indicated by Late Permian and Early Triassic Tetrapods. **Seventh International Gondwana Symposium: Gondwana Seven Proceedings**, São Paulo. p. 455-467.

BENTON, M. J. 2014. Evolution of early amniotes. In: BENTON, M. J. (Ed.) **Vertebrate Paleontology**. 4° Ed. Blackwell Science Ltd. p. 118-146.

BENTON, M. J. 2016. The chinese pareiasaurs. **Zoological Journal of the Linnean Society**, doi: 10.1111/zoj.12389.

BOOS, A. D. S.; KAMMERER, C. F.; SCHULTZ, C. L.; SOARES, M. B.; ILHA, A. L. R. 2016. A New Dicynodont (Therapsida: Anomodontia) from the Permian of Southern Brazil and Its Implications for Bidentalians Origins. **Plos One**, v. 11, p. e0155000.

BOTHA J., CHINSAMY A. 2005. Growth patterns of *Thrinaxodon liorhinus*, a non-mammalian cynodont from the Lower Triassic of South Africa. **Palaeontology**, v. 48, p. 385–394.

BOTHA-BRINK, J.; ANGIELCZYK K. D. 2010. Do extraordinarily high growth rates in Permo-Triassic dicynodonts (Therapsida, Anomodontia) explain their success before and after the end-Permian extinction? **Zool J Linn Soc**, v. 160, p. 341–365.

_____; BENTO SOARES, MARINA ; MARTINELLI, AGUSTÍN G. . Osteohistology of Late Triassic prozostrodontian cynodonts from Brazil. **PeerJ**, v. 6, p. e5029, 2018.

BROILI, F. 1922. Ueber den feineren Bau der “verknöcherten Sehnen“ (=verknöcherten Muskeln) von *Trachodon*. **Anatomischer Anzeiger**, v. 55, p. 465-475.

BUENO, A. O. 2015. **Descrição ósteo-histológica de elementos fósseis de *Dinodontosaurus turpior* (Therapsida, Dicynodontia), Mesotriássico do Rio Grande do Sul, Brasil**. Dissertação (Mestrado em Geociências) – Instituto de Geociências - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

BUFFRÉNIL, V.; BUFFETAUT, E. 1981. Skeletal growth lines in an Eocene crocodylian skull from Wyoming as an indicator of ontogenic age and paleoclimatic conditions. **Jornal of Vertebrate Paeontology**, v. 1, p. 57-66.

BUFFRÉNIL, V.; MAZIN, J. M. 1992. Contribution de l’histologie osseuse à l’interprétation paléobiologique du genre *Placodus* Agassiz, 1833 (Reptilia, Placodontia). **Revue de Paléobiologie**, v. 11, p. 397-407.

BUFFRÉNIL, V. DE; ASTIBIA, H.; PEREDA SUBERBIOLA, X.; BERRETEAGA, A. & BARDET, N. 2008. Bone histology of basal sirenians from the middle Eocene of western Europe. **Geodiversitas**, v. 30, p. 425-432.

CANOVILLE, A.; CHINSAMY, A. 2017. Bone microstructure of Pareiasaurs (Parareptilia) from the Karoo Basin, South Africa: Implications for Growth Strategies and Lifestyle Habits. **The Anatomical Record**, vol. 300, p. 1039-1066.

CANOVILLE, A.; THOMAS, D. B.; CHINSAMY, A. 2014. Insights into the habitat of

Middle Permian pareiasaurs (Parareptilia) from preliminary isotopic analyses. **Lethaia**, v. 47, p. 266-274.

CASE, T. J. 1978. Speculations on the growth rate and reproduction of some dinosaurs. **Paleobiology**, v. 4, p. 320-328.

CASTANET, J.; FRANCILLON-VIEILLOT, H.; MEUNIER, J.; RICQLÈS, A. 1993. Bone and individual aging. In **Bone Growth**, edited by B. K. Hall. 245–283. Boca Raton, Fla.: CRC Press.

CASTRO, J. C., MEDEIROS, R. A., 1980. Excursão 9: Fácies e modelos de sedimentação das Formações Rio do Sul e Rio Bonito, leste de Santa Catarina; fácies e evolução sedimentar do Grupo Passa Dois na BR-470-SC. In: **Roteiro de Excursões 31º Congresso Brasileiro de Geologia, Camboriú, SC**, vol. 3, p. 69–97.

CERDA I. A.; DESOJO J. B. 2011. Dermal armour histology of aetosaurs (Archosauria: Pseudosuchia), from the Upper Triassic of Argentina and Brazil. **Lethaia**, v. 44, p. 417–428.

_____; _____; SCHEYER, T. M.; SCHULTZ, C. L. 2013. Osteoderm microstructure of “rauisuchian” archosaurs from South America. **Geobios**, v. 46, p. 273–283.

_____; _____; _____. 2015. Osteoderm histology of Proterochampsia and Doswelliidae (Reptilia: Archosauriformes) and their evolutionary and paleobiological implications. **Journal of Morphology**, v. 276, p. 385–402.

CHINSAMY, A. 1990. Physiological implications of the bone histology of *Syntarsus rhodesiensis* (Saurischia: Theropoda). **Palaeontologica africana**, v. 27, p. 77-82.

_____; RAATH, M. A. 1992. Preparation of fossil bone for histological study. **Palaeontol Afr**, v. 29, p. 39-44.

_____. 1993a. Bone histology and growth trajectory of the prosauropod dinosaur *Massospondylus carinatus* Owen. **Modern Geology**, v. 18, p. 319-329.

_____; RUBIDGE, B 1993b. Dicynodont (Therapsida) bone histology: phylogenetic and physiological implications. **Palaeontologia africana**, v. 30, p. 97-106.

_____; CHIAPPE, L., & DODSON, P. 1994. Growth rings in Mesozoic avian bones: Physiological implications for basal birds. **Nature**, v. 368, p. 196-197.

_____. Assessing the biology of fossil vertebrates through bone histology. *Palaeontologia Africana* 33: 29–35, 1997.

CHINSAMY-TURAN, A. 2005. **The microstructure of dinosaur bone: Deciphering biology with fine-scale techniques**. Baltimore: Johns Hopkins University Press.

_____. A. 2012. The microstructure of bones and teeth of nonmammalian therapsids. In: CHINSAMY-TURAN, A. (Ed.). **The Forerunners of Mammals: Radiation. Biology. Histology**. Bloomington: Indiana University Press. p. 65-88.

CISNEROS, J. C.; ABDALA, F. 2005. Pareiasaurids from the Rio do Rasto Formation, Southern Brazil: Biostratigraphic Implications for Permian Faunas of the Paraná Basin. **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 8, p. 13-24.

_____; ABDALA, F.; ATAYMAN-GUVEN, S.; RUBIDGE, B.; SENEGOR, A. M. C.; SCHULTZ, C. L. 2012. Carnivorous dinocephalian from the Middle Permian of Brazil and tetrapod dispersal in Pangaea. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, p. 10.1073/pnas.11.

CRAWFORD, N. G.; FAIRCLOTH, B. C.; MCCORMACK, J. E.; BRUMFIELD, R. T.; WINKER, K.; GLENN, T. C. 2012. More than 1000 ultraconserved elements provide evidence that turtles are sister group of archosaurs. **Biology Letters**, v. 8, p. 783-786.

CUBO, J.; WOODWARD, H; WOLFF, E.; HORNER, J. R. 2015. First Reported Cases of Biomechanically Adaptive Bone Modeling in Non-Avian Dinosaurs. **PLoS ONE**, v. 10, p. e0131131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131131>.

CURREY, J. D. (2002). **Bones: Structure and Mechanics**. Princeton, NJ: Princeton University Press.

DIAS, E. V.; BARBARENA, M. C. 2001. A temnospondyl amphibian from the Rio do Rasto Formation, Upper Permian of Southern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 73, p. 135-143.

ENLOW, D. H. 1963. Principles of bone remodeling, Springfield: Charles Thomas.

_____. 1968. The Human Face: An Account of the Postnatal Growth and development of the Craniofacial Skeleton, New York; Harper & Row.

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

_____; _____. 1957 A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part II. **Texas Journal of Science** v. 9, p. 185–214.

_____; _____. 1958. A comparative and histological study of fossil and recent bone tissues. Part III. **Texas Journal of Science**, v. 10, 187-230.

FERREIRA-OLIVEIRA, L. G.; ROHN, R., 2009, Leaiid conchostracans from the uppermost Permian strata of the Paraná Basin, Brazil: Chronostratigraphic and paleobiogeographic implications: **Journal of South American Earth Sciences**, v. 29, p. 371–380.

FRANCILLON-VIEILLOT, H.; BUFFRÉNIL, V. DE; CASTANET, J.; GÉRAUDIE, J.; MEUNIER, F. J.; SIRE, J.Y.; ZYLBERBERG, L.; RICQLÈS, A. DE. 1990. Microstructure and mineralization of vertebrate skeletal tissues. In: CARTER, J. G.

(Ed.). **Skeletal biomineralization: Patterns, processes and evolutionary trends**. Vol. I. New York: Van Nostrand Reinhold. p. 471–530.

GIRODONT, M.; LAURIN, M. 2003. Bone profiler: a tool to quantify, model, and statistically compare bone-section compactness profiles. **Jornal of Vertebrate Paleontology**, v. 23, p. 458-461.

GOODRICH, E. S. 1913. On the structure of bone in fishes: a contribution to palaeohistology. **Proc. Zool. Soc. London**, p. 80-85.

GROSS, W., 1934. Histologische Studien am Aussenskelett fossilen Agnathen und Fische. **Palaeontographica**, v. 83, p. 1-60.

GREEN, J. L.; SCHWEITZER, M. H.; LAMM, E. T. 2010. Limb bone histology and growth in *Placerias hesternus* (Therapsida: Anomodontia) from the Upper Triassic of North America. **Palaeontology**, v. 53, p. 347-364.

HALL, B. K. 2005. **Bones and Cartilage: developmental skeletal biology**. 2ed. Elsevier, Amsterdam.

HOLZ, M.; FRANÇA, A. B.; SOUZA, P. A.; IANNUZZI, R.; ROHN, R. 2010. A stratigraphic chart of the Late Carboniferous/Permian succession of the eastern border of the Paraná Basin, Brazil, South America. **Jornal of South American Earth Sciences**, v. 29, p. 381-399.

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

_____; PADIAN, K. 2004. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. **Proceedings of Royal Society**, v. 271, p. 1875-1880.

_____; LAMM, E. T. 2011. Ontogeny of the parietal frill of Triceratops: a

preliminary histological analysis. **Comptes Rendus Palevol**, v. 10, p. 439-452.

JASINOSKI SC, CHINSAMY A. 2012. Mandibular histology and growth of the nonmammaliaform cynodont *Tritylodon*. **J Anat**, v. 220, p. 564– 579.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. 2013. **Basic Histology: Text and Atlas**. 13ed. McGraw-Hill, New York.

KRILOFF A, GERMAIN D, CANOVILLE A, VINCENT P, SACHE M, LAURIN M. 2008. Evolution of bone micranatomy of the tetrapod tibia and its use in paleobiological inference. **J Evol Biol**, v. 21, p. 807–826.

LAURIN, M.; STEYER, J. S.; GIRONDOT, M.; RICQLÈS, A. 2000. Early limb evolution: histological features and their relevance to the problem of the conquest of land by vertebrates. **Journal of Vertebrate Paleontology**, v. 20, p.

_____. 2011. A preliminary biography of Armand de Ricqlès (1938-), the great synthesizer of bone histology. **Comptes Rendus Palevol**, v. 10, p. 293-301.

LAVINA, E. L., 1991. Geologia sedimentar e paleogeografia do Neopermiano e Eotriássico (Intervalo Kazaniano-Scythiano) da Bacia do Paraná. Porto Alegre, Tese de doutorado, Instituto de Geociências, **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 333p.

LEE, M. 1997a. A taxonomic revision of pareiasarian reptiles: Implications for Permian terrestrial Paleogeology. **Mod Geol**, v. 21, p. 231-298.

_____. 1997b. Pareiasaur phylogeny and the origin of turtles. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 120, p. 197-280.

LOOY, C.; RANKS, S. L.; CHANEY, D. L.; SANCHEZ, S.; STEYER, S.; SMITH, R. M. H., SIDOR, C. A.; MYERS, T. S.; IDE, O.; TABOR, N. J. 2016. Biological and physical evidence for extreme seasonality in central Permian Pangaea. **Palaeogeogr**

Palaeoclimatol Palaeoecol, v. 451, p. 210–226.

LYSON, T. R.; BEVER, G. S.; SCHEYER, T. M.; HSIANG, A. Y.; GAUTHIER, J. A. 2013. Evolutionary origin of the turtle shell. **Curr Biol**, v. 23, p. 1–7.

LYSON, T. R., SCHACHNER, E. R.; BOTHA-BRINK, J.; SCHEYER, T. M.; LAMBERTZ, M.; BEVER, G. S.; RUBIDGE, B. S.; QUEIROZ, K. D. 2014. Origin of the unique ventilatory apparatus of turtles. **Nat Commun**, v. 5, p. 5211.

MALABARBA, M. C.; ABDALA, F.; WEISS, F.; PEREZ, P. A. 2003. New data on the late Permian Fauna of Posto Queimado, Rio do Rasto Formation, Southern Brazil. **Revista Brasileira de Paleontologia**, v. 6, p. 35-40.

MARTIN R. B.; BURR D. B.; SHARKEY, N. A. 1998. **Skeletal Tissue Mechanics**. New york: springer-verlag.

MATTIELLO, B. S. 2014. Análise da microestrutura óssea de *Clevosaurus brasiliensis* (Lepidosauria, Rhynchocephalia) do Triássico Superior do Rio Grande do Sul (Sequência Candelária). Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.

MELO, T. P.; CISNEROS, J. C. Novos materiais de *Provelosaurus americanus* (Araújo, 1985) da Formação Rio do Rasto em Aceguá, RS. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Paleontologia - Paleo RS, 2008, Porto Alegre. Cd de Resumos - PALEO RS 2008, 2008.

MOODIE, R. L. 1923. **Palaeopathology**. University of Illinois Press, Urbana.

MORI, R.; KODAKA, T.; SANO, T.; ASARI, M.; NAITO, Y. 2003. Comparative histology of the laminar bone between young calves and foals. **Cell Tissues Organs**, v. 175, p. 43-50.

NASTERLACK T, CANOVILLE A, CHINSAMY A. 2012. New insights into the biology of the Permian genus *Cistecephalus* (Therapsida, Dicynodontia). **J Vert Paleontol**, v. 32, p. 1396–1410.

ØRVIG, T. 1951. Histologic studies of Placoderms and fossil elasmobranchs 1: the endoskeleton with remarks on the hard tissues of lower vertebrates. **Arkives Zool.**, v. 2, p. 321-456.

PADIAN, K. 2011. Vertebrate paleohistology then and now: A retrospective in the light of the contributions of Armand de Ricklès. **Comptes Rendus Palevol**, v. 10, p. 303-309.

PADIAN, K.; LAMM, E. T. 2013. **Bone Histology of Fossil Tetrapods: Advancing Methods, Analysis, and Interpretation**. University of California Press.

PIVETEAU, J. 1955. Amphibiens, reptiles, oiseaux. In: Piveteau J, editor. **Traité de paléontologie**, v. 5. Paris: Masson et Cie. p 1–1113.

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

REISZ, R. R.; SUES, H. D. 2000. Herbivory in late Paleozoic and Triassic terrestrial vertebrates. *In*: **Evolution of Herbivory in Terrestrial Vertebrates: Perspectives from the fossil record**. Cambridge University Press, Cambridge.

REY, K.; AMIOT, R.; FOUREL, F.; RIGAUDIER, T.; ABDALA, F.; DAY, M. O.; FERNANDEZ, V.; FLUTEAU, F.; FRANCE-LANORD, C.; RUBIDGE, B. S.; SMITH RM, VIGLIETTI PA, ZIPFEL B, L_ECUYER C. 2015. Global climate perturbations during the Permo-Triassic mass extinctions recorded by continental tetrapods from South Africa. **Gondwana Res.** doi:10.1016/j.gr.2015.09.008.

RICQLÈS, A. J. DE. 1968 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.

_____. 1969. 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.

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

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

_____. 1974b. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes V. — Cotylosaures et mésosaures. **Annales de Paléontologie**. v. 60, p. 171–216.

_____. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 61, p. 51–129.

_____. 1976. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 62, p. 71–126.

_____. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 33–56.

_____. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 63, p. 133–

160.

_____. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 85–111.

_____. 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. **Annales de Paléontologie**. v. 64, p. 153–184.

_____. 1981. Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes. VI.– Stégocéphales. **Annales de Paléontologie**. v. 67, p. 141–160.

_____. 2007. Fifty years after Enlow and Brown’s Comparative histological study of fossil and recent bone tissues (1956-1958): A review of Professor Donald H. Enlow’s contribution of palaeohistology and comparative histology of bone. **Comptes Rendus Palevol**, v. 6, p. 591-601.

_____. 2011. Vertebrate palaeohistology: Past and future. **Comptes Rendus Palevol**, v. 10, p. 509–515.

ROHN, R., 1994. Evolução ambiental da Bacia do Paraná durante o Neopermiano no leste de Santa Catarina e do Paraná. Programa de Pós-graduação em Geologia Sedimentar, Tese de doutorado. **Universidade de São Paulo**, 386p.

_____; ASSINE, M. L.; MEGLHIORATTI, T., 2005. A new insight on the Late Permian environmental changes in the Paraná Basin, South Brazil. In: Gondwana 12, Mendoza, 2005. **Abstracts, Academia Nacional de Ciencias**, p. 316.

RUTA M.; CISNEROS J. C.; LIEBRECHT T.; TSUJI L. A.; MULLER J. 2011. Amniotes through major biological crises: Faunal turnover among parareptiles and the end-Permian mass extinction. **Palaeontology**, v. 54, p. 1117–1137.

SAYÃO, J. M. 2003. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. **Geol Soc Spec Publ**, v. 217, p. 335–342.

_____; BANTIM, RENAN A. M.; ANDRADE, RAFAEL C. L. P.; LIMA, FLAVIANA J.; SARAIVA, ANTÔNIO A. F.; FIGUEIREDO, RODRIGO G.; KELLNER, ALEXANDER W. A. 2016. Paleohistology of *Susisuchus anatoceps* (Crocodylomorpha, Neosuchia): Comments on Growth Strategies and Lifestyle. **Plos One**, v. 11, p. e0155297, 2016.

SANDER, P. M., 1999, Life history of the Tendaguru sauropods as inferred from long bone histology. **Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde der Humboldt-Universität zu Berlin, Geowissenschaftliche Reihe**, v. 2, p. 103-112.

_____, P. M., 2000, Long bone histology of the Tendaguru sauropods: Implications for growth and biology. **Paleobiology**, v. 26, p. 466-488.

_____; ANDRASSY, P., 2006, Lines of arrested growth and long bone histology in Pleistocene large mammals from Germany: What do they tell us about dinosaur physiology? **Palaeontographica A**, v. 277, p. 143-159.

SCHEYER, T. M.; SANDER, P. M. 2004. Histology of ankylosaur osteoderms: implications for systematics and function. **J. Vertebr. Paleontol**, v. 24, p. 874–893.

_____. M.; SANDER P. M. 2009. Bone microstructures and mode of skeletogenesis in osteoderms of three pareiasaur taxa from the Permian of South Africa. **J. Evol. Biol.**, v. 22, p. 1153–1162.

_____.; KLEIN, N.; SANDER, P. M. 2010. Developmental palaeontology of Reptilia as revealed by histological studies. **Sem Cell Dev Biol**, v. 21, p. 462–470.

_____.; DESOJO, J. B.; CERDA, I. A. 2014. Bone Histology of Phytosaur, Aetosaur, and Other Archosauriform Osteoderms (Eureptilia, Archosauromorpha). **The**

Anatomical Record, v. 297, p. 240–260.

_____, T. M.; SYROMYATNIKOVA E. V.; DANILOV, I. G. 2017. Turtle shell bone and osteoderm histology of Mesozoic and Cenozoic stem-trionychian Adocidae and Nanhsiungchelyidae (Cryptodira: Adocusia) from Central Asia, Mongolia, and North America. **Fossil Record** v. 20, p. 69-85.

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

SCHOCH, R. R.; SUES, H. D. 2015. A Middle Triassic stem-turtle and the evolution of the turtle body plan. **Nature**, v. 523, p. 584–587.

SEITZ, A. L. 1907. Vergleichenden Studien über den mikroskopischen Knochenbau fossiler und rezenter Reptilien. **Nova Acta Abhandlungen der Kaiserlichen Leopold-Carolignischen Deutschen Akademie der Naturforscher**. v. 37, p. 230-370.

SENA, M. V. A.; ANDRADE, R. C. L. P.; SAYÃO, J. M.; OLIVEIRA, G. R. 2018. Bone microanatomy of *Pepesuchus deiseae* (Mesoeucrocodylia, Peirosauridae) reveals a mature individual from the Upper Cretaceous of Brazil. **Cretaceous Research**, .

STEIN, K.; SANDER, P. M. 2009. Histological core drilling: A less destructive method for studying bone histology. In: Brown MA, Kane JF, Parker WG, editors. *Methods in fossil preparation: Proceedings of the First Annual Fossil Preparation and Collections Symposium*. p 69–80.

STOVER, S. M.; POOL, R. R.; MARTIN, R. B.; MORGAN, J. P. 1992. Histological features of the dorsal cortex of the third metacarpal bone mid-diaphysis during postnatal growth in thoroughbred horses. **J Anat**, v. 181, p. 455-469.

TSUJI L. A. 2011. **Evolution, morphology and paleobiology of the Pareiasauria**

and their relatives (Amniota: Parareptilia). Tese de Doutorado, Humboldt-Universität zu Berlin.

_____; SIDOR C. A., CHIBA K., ANGIELCZYK K. D., STEYER J. 2015. The Permian and Triassic parareptiles of Tanzania and Zambia: Review of diversity and new life history insights provided by osteohistology. **J Vert Paleontol**, Prog Abstracts. 227.

TURNER M. L.; TSUJI, L. A.; IDE O, S. C. A. 2015. The vertebrate fauna of the upper Permian of Niger—IX. The appendicular skeleton of *Bunostegos akokanensis* (Parareptilia: Pareiasauria). **J Vert Paleontol**, v. 35, p. e994746.

VEIGA, F. H.; SOARES, M. B.; SAYAO, J. M. 2014. Osteohistology of hyperodapedontine rhynchosaurs (Diapsida, Archosauromorpha) from the Upper Triassic of Southern Brazil. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 1, p. 1-19.

_____; BOTHA-BRINK, J.; SOARES, M. B. 2018. Osteohistology of the non-mammaliaform traversodontids and from southern Brazil. **Historical Biology**, v. 1, p. 1-11, 2018.

WARREN, L. V.; ALMEIDA, R. P.; HACHIRO, J.; MACHADO, R.; ROLDAN, L. F.; STEINER, S. S.; CHAMANI, M. A. C. 2008. Evolução sedimentar da Formação Rio do Rasto (Permo-Triássico da Bacia do Paraná) na porção centro sul do estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 38, p. 213-227.

WASKOW, K.; SANDER, P. M. 2014. Growth record and histological variation in the dorsal ribs of *Camarasaurus* sp. (Sauropoda). **J Vert Paleontol**, v. 34, p. 852–869.

_____; MATEUS, O. 2017. Dorsal rib histology of dinosaurs and a crocodile from western Portugal: Skeletochronological implications on age determination and life history traits. **Comptes Rendus Palevol**, v. 16, p. 425-439.

WILLIAMSON, W. C. 1849. On the microscopic structure of the scales and dermal

teeth of some ganoid and placoid fishes. **Phil. Trans. Roy. Soc. London**, v. 139, p. 435–475.

WOLF, D.; KALTHOFF, D. C.; SANDERS, P. M. 2011. Osteoderm histology of the Pampatheriidae (Cingulata, Xenarthra, Mammalia): Implications for Systematics, Osteoderm Growth and Biomechanical Adaptation. **Journal of Morphology**, v. 273, p. 388–404.

XU, L.; LI, X. W.; JIA, S. H.; LIU, J. 2015. The Jiyuan tetrapod fauna of the upper Permian of China—1. New pareiasaur material and the reestablishment of Honania complicidentata. **Acta Palaeontologica Polonica**, v. 60, p. 689–700.


PARTE II

8. ARTIGO SUBMETIDO AO PERIÓDICO HISTORICAL BIOLOGY

Comprovante de submissão no periódico *Historical Biology* do artigo “*Bone microstructure of the pareiasaur Provelosaurus americanus from the Permian of Brazil*”.

ScholarOne Manuscripts 22/01/2019 18:06

ScholarOne Manuscripts™ Brodsky Farias | Instructions & Forms | Help

Historical Biology 

Home | **Author** | Reviewer

Author Dashboard / Submission Confirmation

Submission Confirmation

Thank you for your submission

Submitted to	Historical Biology
Manuscript ID	GHBI-2019-0013
Title	Bone microstructure of the pareiasaur <i>Provelosaurus americanus</i> from the Middle Permian of Brazil
Authors	Farias, Brodsky Schultz, Cesar Soares, Marina
Date Submitted	22-Jan-2019

Author Dashboard

Pesquisar e-mail

1 de 232

Historical Biology - Manuscript ID GHBI-2019-0013 Caixa de entrada

Historical Biology <onbehalf@manuscriptcentral.com> para eu 18:05 (há 14 minutos) ☆ ↶ ⋮

Inglês > português Traduzir mensagem Desativar para: Inglês ×

22-Jan-2019

Dear Mr Farias:

Your manuscript entitled "Bone microstructure of the pareiasaur *Provelosaurus americanus* from the Middle Permian of Brazil" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the *Historical Biology*.

Your manuscript ID is GHBI-2019-0013.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. Please log in to Manuscript Central at <https://mc.manuscriptcentral.com/ghbi> to add your ORCID to this submission and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Centre after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/ghbi>.

Thank you for submitting your manuscript to the *Historical Biology*.

Sincerely,
Historical Biology Editorial Office

Bone microstructure of the pareiasaur *Provelosaurus americanus* from the Middle Permian of Brazil

Brodsky Dantas Macedo de Farias^a, Cesar Leandro Schultz^{a,b} and Marina Bento Soares^{a,b}

^aPrograma de Pós-Graduação em Geociências, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil; ^bDepartamento de Paleontologia e Estratigrafia, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

CONTACT Brodsky Dantas Macedo de Farias email: brodskymacedo@gmail.com; brodskyfarias@gmail.com Adress: Avenida Sapé 1191. Apt. 201. CEP: 58038382. João Pessoa, Paraíba, Brazil

Bone microstructure of the pareiasaur *Provelosaurus americanus* from the Middle Permian of southern Brazil

Provelosaurus americanus from the Guadalupian (Middle Permian) of Brazil, is the only species of pareiasaur known from South America and the studies related to it are limited to anatomical descriptions. This is the first life history study of this species. Using paleohistology, a reliable tool to investigate the life history of extinct vertebrates, we examined the microstructure of limb bones, a rib fragment and osteoderms of a specimen of *P. americanus*. Our results show that the bone tissues of this specimen comprise poorly vascularized parallel-fibered and sometimes lamellar-zonal bone interrupted by growth marks indicating relatively slow, cyclical growth. This is consistent with the pattern of other somatically mature pareiasaurs from South Africa. However, the space between the LAGs are irregular and there is no clear decreasing in vascularity toward the periphery of the bone, suggesting a sub-adult ontogenetic stage to *P. americanus*. The osteoderms sampled present a trilaminar structure consisting of a diploe composed of a cancellous core surrounded by two cortical layers. A diploe is absent from the osteoderms of previously studied South African pareiasaurs. The osteogenesis of the osteoderms is intramembraneous, but a metaplastic ossification during the early developmental stages cannot be ruled out, due to extensive remodeling in the central core.

Keywords: Parareptilia; Pareiasauria; Osteohistology; Life history; Growth record; Dermal armor.

Introduction

Pareiasauria comprises a monophyletic clade of herbivorous basal amniotes (Parareptilia) from the Middle and late Permian (Wordian-Changhsingian), which includes 21 species (Lee, 1997; Tsuji, 2011; Canoville and Chinsamy, 2017)). Fossils of the group are found mainly in South Africa and Russia, but several specimens have also been located in China, Brazil, Germany, Scotland, Niger, Morocco, Tanzania and Zambia (Araújo, 1985; Lee, 1997; Tsuji, 2011). Their evolution is marked by three general morphotypes: (a) basal forms of large size (2.5-3.5 meters) with a few isolated osteoderms above the vertebral column; (b) pareiasaurs of

medium to large size (1-2.5 meters) with sparse dermal armour covering the dorsal surface and limbs; and (c) highly derived forms, also called “dwarf pareiasaurs”, of small size (up to 1 meter) and a full dorsal carapace comprising fused osteoderms (Lee, 1997; Scheyer and Sander, 2009; Canoville and Chinsamy, 2017). Their “leaf-like” dentition suggests that they were soft plant eaters. Although initially thought to be the sister group of turtles (Lee, 1997), recent phylogenetic analyses indicate a closer relationship with the nycteroleterids (Tsuji, 2011; Benton, 2014). Pareiasaurs succeeded as key components of late Permian ecosystems, before disappearing during the Permo-Triassic Mass Extinction (Benton, 2014; Smith and Botha-Brink, 2014).

In South America, the group is restricted to one known species, remains of which have been recovered from outcrops in the Rio do Rasto Formation (Guadalupian-Longipian), in the localities of Aceguá and São Gabriel, both in the Rio Grande do Sul state of Brazil (Araújo, 1985; Malabarba et al., 2003). The holotype (UFRGS-PV-0231-P) and referred material (UFRGS-PV-0232-P and UFRGS-PV-0233-P) were initially described in a series of studies (Araújo, 1985a; Araújo, 1985b; Araújo, 1986a; Araújo, 1986b; Araújo, 1987; Araújo-Barberena, 1989a; Araújo-Barberena, 1989b). Araújo (1985a) named the specimen *Pareiasaurus americanus* due to the alleged morphological similarity with *Pareiasaurus serridens* from South Africa. A decade later, Lee (1997) proposed the new genus *Provelosaurus* arguing that *P. americanus* is more closely related to the “dwarf pareiasaurs” *Anthodon*, *Nanoparia* and *Pumiliopareia* than *P. serridens*. Cisneros and Abdala (2005) provided a more complete diagnosis, confirming the placement of the Brazilian pareiasaur in the genus *Provelosaurus*.

Despite several morphological studies, little is known about the paleobiology of pareiasaurs. Additionally, the absence of analogous extant animals limits the deductions that can be made about their life history (Canoville and Chinsamy, 2017). Bone histological

analysis is a reliable tool for accessing biological aspects of extinct organisms such as growth strategies, ontogenetic age, bone depositional rates and lifestyle adaptations, boosting the classical data provided by morphological descriptions (Francillon-Vieillot et al., 1990; Horner et al. 1999; Chinsamy-Turan, 2012; Sayão, 2014). Although the organic components of bones decompose during fossilization, the inorganic matrix generally preserves the size and shape of the osteocyte lacunae and vascular canals, as well as the orientation of the collagen fibers, allowing inferences about the growth of an extinct animal to be made (Francillon-Vieillot et al., 1990).

A large histological database of both extant and extinct organisms is required to make reliable deductions about the biology of a clade (Ricqlès, 2011). Compared with other groups (e.g., Dinosauria, Pterosauria and Therapsida), the bone histology of Pareiasauria is not well explored (e.g. Ricqlès, 1974, 1976a, b; Krilloff et al., 2008; Scheyer and Sander, 2009; Tsuji et al., 2015; Looy et al., 2016). Only recently was a comprehensive study on a large sample of pareiasaurs from South Africa conducted by Canoville and Chinsamy (2017). Although taxonomic uncertainties limited their conclusions, the bones analysed in their study (limb bones and ribs) showed that the medullary cavities are generally filled by loose to dense spongiosa composed mostly of secondary trabecular bone. Cortices are usually relatively thin (depending on the element sampled) and comprise parallel-fibered and/or lamellar-zonal bone, indicating a relatively slow, and cyclical growth pattern. Its bone histology shows a cyclical but reasonable fast growth (but not as fast as in fibrolamellar bone) during early ontogeny characterized by a well-vascularized bone matrix alternated with narrow annuli or LAGs. Later in development, probably with the attainment of sexual maturity, growth slowed down changing to a poorly vascularized or avascular bone alternated with several closely spaced resting lines in the outer cortex.

Here, we provide the first osteohistological description of several postcranial elements

and osteoderms of the pareisaur *Provelosaurus americanus* Araújo, 1985 from southern Brazil. The data from this study provides new life history information on a pareiasaur from Brazil and adds to the knowledge on pareisaur biology in general.

Geological setting

Stratigraphically, the *Provelosaurus* specimens belong to the Morro Pelado Member of Rio do Rasto Formation (Gordon, 1947), which crops out in three states of southern Brazil, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul. This formation belongs to the Passa Dois Group of the Paraná Basin, within the Gondwana I Supersequence (Milani et al., 2007). The depositional environment of the Morro Pelado Member is characterized by lacustrine, fluvial and aeolian facies (Rohn et al., 2005; Milani et al., 2007). A rich fauna of tetrapods has been recovered from the fine to medium-grained reddish sandstones, commonly stratified, with pelitic intercalations (Rohn, 2007; Holz et al., 2010). Besides pareiasaurs, the tetrapod fossils of the Morro Pelado Member include temnospondyl amphibians, dinocephalians, a basal anomodont and dicynodonts (Barberena and Araújo, 1975; Barberena, 1998; Cisneros et al., 2011; Cisneros et al., 2012; Strapasson et al., 2015; Boos et al., 2015, 2016; Pacheco et al., 2016).

The age of the Rio do Rasto Formation is still under debate, but most studies point to a Middle/late Permian, Guadalupian/Longipian age (Cisneros et al., 2005; Ventura-Santos et al., 2006; Langer et al., 2008; Cisneros et al., 2012; Boos et al., 2015). The pareiasaur material comes from two localities in the Rio Grande do Sul state, situated in the municipalities of Aceguá and São Gabriel (Araújo, 1985a; Malabarba et al., 2003; Cisneros et al., 2005). However, the holotype (UFRGS-PV-0231-P) and the type series (UFRGS-PV-0232-P and UFRGS-PV-0233-P) were collected in Aceguá along the BR 153 Highway. UFRGS-PV-0233-P, the subject of this study, was found 600 m away from the holotype site.

Material and methods

No permission was required for this study, which complies with all relevant regulations. The material is housed in the Laboratório de Paleontologia de Vertebrados of Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil, and the authors MBS and CLS are the curators of the collection.

Provelosaurus americanus remains are rare; it is known from the holotype UFRGS-PV-0231-P (cranium lacking lower jaw, right scapulocoracoid and right humerus) and referred material UFRGS-PV-0232-P (pelvis), UFRGS-PV-0233-P (dorsal vertebrae, ribs, pelvis, caudal vertebrae, osteoderms, right humerus, radius and ulna, right femur, tibia and fibula) (Araújo, 1985a); and a new specimen housed in Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUC with the number MCP 4263PV (left partial cranium including a portion of the snout with maxillary teeth, orbit, most of the temporal region and the quadrate) (Cisneros et al., 2005).

In this analysis, we used eight elements (right radius, ulna, tibia, and fibula, isolated metatarsal, a rib fragment and two osteoderms of unknown anatomical region) from specimen UFRGS-PV-0233-P (Figure 1). The majority of the elements consist of limb bones. These elements exhibit the least secondary remodeling in the midshaft region compared to other elements and thus, preserve a better growth record of primary bone tissue (Francillon-Vieillot et al., 1990; Horner et al. 1999; Chinsamy-Turan, 2012). We also used ribs in our sample because they may exhibit a more adequate record of growth marks than weight-carrying bones (Waskow and Sander, 2014; Waskow and Mateus, 2017). In addition, we tested two osteoderms and a metatarsal to access intraspecific bone histovariability of this individual.

Figure 1 - Near here

Thin sections were made at the Laboratório de Preparação de Amostras of Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil, complying with the standard procedures of Chinsamy and Raath (1992) and Padian and Lamm (2013). Considering the destructive nature of thin section preparation, precautions were taken to preserve important data. All bones were measured with a caliper rule and photographed using a Canon EOS Rebel T3i digital camera prior to thin sectioning. Molds in silicon rubber (RTV 7030 – Ultralub Química LTDA, São Paulo, Brazil) and plaster casts were manufactured to maintain external morphological information of the specimens. The elements were embedded in a clear epoxy resin Aradur® HY 951 catalyzed with Araldite© GY279, and sectioned in the selected region with diamond saws. Sections were fixed to glass slides using the same clear epoxy resin. These thick sections were then wet ground and polished using a metallographic polishing machine with 3M abrasive papers of increasing grit size (P80, P220, P320, P600, P1200, P1500, P2000 and P3000) until the bone microstructure could be viewed under a microscope.

All resulting thin-sections were photographed with a Canon EOS RebelT3i digital camera to obtain low magnification views of the whole cross section of each thin section. The bone microstructure analyses were conducted under ordinary and polarized light, using Zeiss Axio Scope A1 and Olympus BX53-P optical microscopes. High magnification images were obtained using Axiocam ERC 5S and Olympus UC30 digital sight cameras plugged into the respective microscopes. Terminology follows Francillon-Vieillot et al. (1990) and Chinsamy-Turan (2012) for the limb bones and ribs. For the osteoderms, we used the terminology proposed by Scheyer and Sander, 2004.

Results

General Remarks on the osteohistology of *Provelosaurus americanus* (UFRGS-PV-0233-P)

All sampled elements were permineralized with calcite and manganese minerals, resulting in grayish color. The degree of preservation varies among the elements. In the limb bones, for instance, these minerals fill the medullary cavity and only a few remnants of trabecular bone are seen. The cortex of some of these bones shows micro-cracks and numerous regions were remodeled even in the outermost cortex. Other elements, such as the metatarsal and rib, exhibit excellent preservation in both the medullary cavity and cortex. The bone histology of the two osteoderms was damaged by manganese and exhibits poor preservation in the cortices. Vascular canals, where blood vessels and connective tissue are located, present an overall longitudinal orientation through the cortices. In the long bones and ribs, the compacta present three distinct layers: the innermost cortex comprising a highly remodeled Haversian system with enlarged erosional spaces formed during early ontogeny; a transitional region comprising few secondary osteons and many primary osteons, demonstrating a decrease in both vascularization and remodeling; and a third layer extending towards the periphery showing low vascularization and a number of cyclical growth marks. Growth marks appear as annuli (only in the metatarsal), representing a temporary decrease in growth rate, or Lines of Arrested Growth (LAG), representing temporary cessations in growth, and are deposited seasonally (Francillon-Vieillot et al., 1990). The bone matrix presents a great density of highly disorganized osteocyte lacunae, the shape of which were round. The branches of the canaliculi were difficult to discern. Although diagenesis affected several regions of the bones, the bone microstructure is preserved well enough in other regions for us to be able to make biological inferences about this species.

Radius. The radius reveals a medullary cavity infilled with mineral sediment (Fig. 2A), but a few small fragments of loose trabeculae are preserved concentrated close to the center of the bone. The primary bone tissue is lamellar-zonal/parallel-fibered with round and unorganized osteocyte lacunae (Figure 2 (C-E)). Some regions alternate between lamellar-zonal and parallel-fibered bone through the zones (Figure 2 (D, E)). The perimedullary region is poorly preserved in some extensively remodeled regions. Secondary osteons are present, amongst numerous large resorption cavities, some anastomose (Figure 2B). Vascularization throughout the primary cortex is poor, with a mixture of small vascular canals, mostly longitudinally-oriented primary osteons, and some secondary osteons. Remodeling processes were extensive resulting in a cancellous appearance (Figure 2B). Nine irregularly spaced LAGs interrupt the primary tissue (Figure 2B). An External Fundamental System (EFS), which usually presents as multiple, very closely spaced growth marks at the bone periphery and indicates an overall cessation in growth, is absent. The lack of an EFS, relatively constant vascularization, the single row of vascular canals following the circumference of the outermost cortex, and the prevalence of parallel-fibered bone at the subperiosteal surface, suggests that growth was still occurring at the time of death (Figure 2 (B, E)).

Ulna. A complete ulna was not available for sampling, but a thin section was made from the proximal shaft of the diaphysis, near the metaphysis. As in all limb bones in this study, the medullary cavity is occupied by infiltrating diagenetic minerals (Figure 2F). Few traces of trabecular bone are seen, but most of them are covered by manganese. The primary bone tissue comprises parallel-fibered bone interspersed by LAGs (Figure 2 (G, H)). The perimedullary region is highly remodeled with many erosional spaces, resulting in a spongy appearance (Figure. 2G). Several generations of secondary osteons and resorption cavities are found in the mid-cortex (Figure 2H). The outermost cortex is poorly vascularized with longitudinal simple canals and a few primary osteons. The bone matrix in this region is

mainly parallel-fibered (Figure 2I). A total number of thirteen LAGS were observed, but it might have more toward the outer cortex missing due to preservation (Figure 2G). The preserved regions of the outer cortex do not present LAGs, or rest lines that would form an EFS, and its bone matrix is mainly parallel-fibered with some vascularization. This set of information suggest that growth was stil occurring at slow pace.

Figure 2 - Near here

Tibia. A midshaft region of the diaphysis was sampled. Manganese and other diagenetic minerals fill the medullary cavity (Figure 3A). The bone tissue is lamellar-zonal mixed with parallel-fibered bone (Figure 3 (C-D)). The inner cortex is extensively remodeled, showing randomly distributed primary osteons and several generations of secondary osteons, the latter sometimes anastomosed (Figure 3 (B-C)). At least five growth cycles were counted, but poor preservation and remodeling prevents a definitive count (Figure 3C). The mid and outer cortices exhibit a few simple canals and primary osteons that are either randomly distributed or arranged in longitudinal rows around the bone (Figure 3 (B-D)). The poor vascularization, narrow growth zones and slowly growing bone tissues (lamellar-zonal and parallel-fibered bone) indicate a relatively slow growth rate. The absence of an EFS, relatively vascularization, and parallel-fibered bone at the sub-periosteal surface, (Figure 3E) suggests continued growth at the time of death.

Fibula. The medullary cavity is mostly diagenetic, but fragments of a dense network of bone trabeculae are present close to the innermost cortex (Figure 3F). The deep cortex was remodeled extensively by secondary processes, with large resorption cavities, resulting in a

cancellous appearance of the bone (Figure (3F, G)). The patches of primary bone in the inner cortex reveal a parallel-fibered bone tissue with scattered small primary osteons (Figure 3I). The resorption cavities are surrounded by lamellar bone and are probably forming secondary osteons (Figure 3I). The outer cortex reveal a poorly vascularized, lamellar-zonal bone with at least eight irregularly spaced LAGs (Figure 3H). Toward the periphery of the bone, the matrix change to parallel-fibered with round and random osteocyte lacunae, indicating bone was still growing at slow pace.

Figure 3 - Near here

Metatarsal. The cross-section shows a large medullary cavity infilled with coarse trabeculae (Figure 4A). Large resorption cavities in the perimedullary region decrease in size towards the inner compact cortex (Figure 4A). Primary bone tissue in the innermost cortex appears only in tiny areas between the erosional voids where some scattered primary osteons were found (Figure 4 (B, C)). The osteocyte lacunae in the inner cortex are round and randomly distributed forming a parallel-fibered bone (Figure 4C). However, the outermost cortex shows poorly vascularized lamellar-zonal bone the osteocyte lacunae here are more organized and are flat) indicating a decrease in growth rate (Figure 4B, C). Five anulli were observed in the compact cortex (Figure 4B). The space between each anulli decreases towards the bone periphery, indicating slower growth rates. An EFS was not observed in the outermost cortex and some vascular canals are still present as well patches of parallel-fibered bone, suggesting that growth was still occurring although slowly.

Figure 4 - Near here

Rib fragment. A rib fragment reveals a large medullary cavity and relatively thick cortex (compared to the limb bones). Coarse bony trabeculae and large resorption cavities surround the medullary cavity and extend into the inner cortex in places (Figure 5A). Multiple generations of secondary osteons are present throughout the cortex (Figure (5B, C)). The primary bone tissue consists of a parallel-fibered bone matrix with round, haphazardly-arranged osteocyte lacunae and several LAGs (Figure 5B). Vascularization is poor and consists mostly of longitudinally-oriented simple canals, but primary osteons are also found (Figure (5B, D)). The osteocyte lacunae remain the same organization towards the sub-periosteal surface, forming parallel-fibered bone (Figure 5E). In some areas of the cortex, remodeling reaches the periphery and the cortex (in that area) (Figure 5A). At least fourteen LAGs, some of which form multiple LAGs in places (Figure 5D), were observed traversing the entire cortex (Figure 5B). They do not form a clear EFS as vascularization, indicating continued growth, is present at the bone periphery.

Figure 5 - Near here

Osteoderms. Two osteoderms of unknown orientation were sampled transversely. The bone tissues of the internal cortex of osteoderm 1 (Figure 6 (A-D)) are poorly preserved and infiltrated with manganese, but a small region is preserved well enough to show

longitudinally-oriented primary vascular canals (Figure 6D). Above the internal cortex, a central core comprising cancellous bone (diploe) can be seen, comprising long, thin trabeculae (Figure 6 (A, C)). In this region, the erosional spaces vary in size. The trabeculae show secondary lamellar bone tissue surrounding the erosional spaces and scattered primary osteons are present in remnants of primary bone (Figure 6C). The contact between the core and the external cortex is sharp. The external cortex is thin and mostly avascular, but a few longitudinal simple vascular canals were observed (Figure 6B), even in the outermost area. Preservation of growth marks is poor, preventing interpretation of the ontogenetic stage in this element, but areas in the outermost cortex showing vascular canals and a parallel-fibered bone matrix follow the trend showed in the other elements sampled in this study in that the bone was still growing, but at a relatively slow rate.

Although manganese has badly damaged the bone tissue in osteoderm 2 (Figure 6 (E-G)), an external and internal cortex with a central cancellous core (diploe) can be confirmed (Figure 6 (E, G)). Vascularization is higher in the internal cortex compared to the external cortex in both osteoderms. At least three LAGs were counted in the internal cortex and four in the external cortex, and the space between them does not show a decrease towards the periphery (Figure 6 (F, G)).

Figure 6 - Near here

Discussion

All the *P. americanus* bones analyzed in this study contain a mixture of poorly vascularized

parallel-fibered and lamellar-zonal primary bone tissue interrupted by LAGs. Only the metatarsal seems to present annuli. A decrease in vascularization from the inner to outer cortex is not apparent although in some elements the space between the LAGs/annuli suggests that this individual had departed from the juvenile stage and may have reached reproductive maturity at time of death. However, the absence of an EFS and continued vascularization in some bones indicates that it was still growing, but at slow growth rates. With this data set of paleobiological information, *P. americanus* might be at a sub-adult ontogenetic stage.

Other authors have noted rapid growth rates during early development in several species of pareiasaur and it is possible that *P. americanus* grew at similar rates at younger ontogenetic stages, however, the destruction of the early growth by remodeling in the bones of our specimen prevents confirmation at this time (see Ricqlés, 1974, 1976, b; Krilloff et al., 2008; Scheyer and Sander, 2009; Tsuji et al., 2015; Looy et al., 2016; Canoville and Chinsamy, 2017). Rapid early growth is expected in *P. americanus* since, according to Spencer and Lee (2000), pareiasaurs might lack osteoderms during the juvenile stage, which decrease their chances of survival against potential predators.

The rib showed the highest number of LAGs. Growth marks are considered reliable indicators of cyclical growth rhythms (Castanet et al., 1993) and are usually deposited annually in extant tetrapods (e.g. Castanet, 1994; Looy et al., 2016). In UFRGS-PV-0233-P, the number of LAGs in the rib suggests that this pareiasaur was at least fourteen years old when it died, but due to extensive remodeling of the inner cortex, some LAGs are likely missing and it may have been older than this.

Growth marks indicate that *P. americanus* underwent a cyclical rate of bone deposition. Cyclical growth marks may be deposited in response to environmental stress, environmental cues or may reflect endogenous biological rhythms, particularly in extant homeothermic endotherms with high metabolic rates (Francillon-Viellet et al., 1990;

Woodward et al., 2013). Looy et al. (2016) used the growth marks of *Bunostegos*, a pareiasaur from the Moradi Formation, as evidence of seasonal or episodic changes in the local climate. Individuals of this genus had bursts of rapid growth contrasting with temporary decreases or cessations in growth. The authors argued that pareiasaurs are considered semi-aquatic (Krilloff et al., 2008) and the presence of growth marks suggests an annual fluctuation in the water supply (Looy et al., 2016). However, recent work using stable isotopes shows that Middle Permian pareiasaurs were likely terrestrial (Canoville et al., 2014; Rey et al., 2015). Canoville and Chinsamy (2017) noted that the spongy nature of the bones in pareiasaurs is unusual for terrestrial animals, but the nature of the cancellous bone does not support a shallow water (very thick, compact cortices) or pelagic lifestyle (active diving). The medullary cavity infilling is likely due to their large body size as seen in large extant graviportal animals (Houssaye et al., 2015), or possibly their posture. More biomechanical research is required before a consensus is reached on the lifestyle of these animals.

The first and only work that investigated the microstructure of osteoderms in pareiasaurs was made by Scheyer and Sander (2009). They used a sample limited to three genera (*Bradysaurus*, *Pareiasaurus* and *Anthodon*) to represent the taxonomic breadth of the group. They noted that the morphology of pareiasaur osteoderms differs notably between species, but their bone histology is notably similar. However, intraspecific variability in the osteohistology was observed in *Pareiasaurus* and *Anthodon*, mainly concerning the vascularization pattern and thickness of internal and external cortices (Scheyer and Sander, 2009). The osteoderms comprised a flat internal base and convex external surface showing pachyostosis in both cortices, especially at the margins. The contact between the cortices was unclear in their sample and they thus, interpreted the pareiasaur osteoderms as lacking a diploe structure (cancellous bone core).

The two osteoderms of *P. americanus* examined in the present study show thinner

internal and external cortices compared to those described by Scheyer and Sander (2009). Additionally, a diploe structure is present in both osteoderms, which is thicker than the internal and external cortices. The cortex of these elements consists of cyclically deposited parallel-fibered bone tissue. Due to the extensive remodeling in the inner region of both cortices, many LAGs were likely destroyed, preventing a reliable skeletochronology analysis as was done by Scheyer and Sander (2009). As observed in many limb bones of adult pareiasaurs, the osteoderms of *Provelosaurus* are poorly vascularized.

Since the number of pareiasaurs osteoderms sampled histologically is very limited, it is difficult to suggest a model for osteoderms development as they aged. However it should be noted, based on the osteoderms already analysed (Bradysaurus, Anthodon, Pareiasaurus and Provelosaurus), the following (see Figure 3 in Scheyer and Sander (2009) for comparison) : a) if *Provelosaurus* is at a sub-adult ontogenetic stage as our data set may show and, the Bradysaurus, Anthodon and Pareiasaurus sampled by Scheyer and Sander (2009) are sexually mature, the diploe-like structure seen in Provelosaurus may represent the initial stage at least in sub-adults; b) as bone deposition continues in the pareiasaurs osteoderms they become pachyostotic as shown in Bradysaurus, Anthodon and Pareiasaurus; c) however, Anthodon and Pareiasaurus show bone remodeling in the internal cortex, which become mixed with the central core, making the diploe-like structure disappear; D) while Bradysaurus has both internal and external cortices completely remodeled, giving it a cancellous appearance, and this could be the last stage in osteoderm development in pareiasaurs. More osteoderms of different ontogenetic stages need to be studied to test this hypothesis.

The ossification process in pareiasaur osteoderms was intramembraneous (Scheyer and Sander, 2009). Scheyer and Sander (2009) did not find any features suggesting metaplastic ossification (with the exception of Sharpey's fibers) and thus, they considered this mode of skeletogenesis to be absent in pareiasaurs. However, our data, including the presence

of remodeling in the bone core, suggests that metaplastic ossification should be considered, at least in early phases of osteoderm development, because of the potential resorption of metaplastic tissue formed at the beginning of the ossification process. This was also noted by Ponce et al. (2017) in an examination of osteoderms of the Triassic archosauriform *Doswellia kaltenbachi*, which has similar osteohistology to *P. americanus* (zonal bone in the basal and external cortex, with a core of cancellous bone).

Conclusions

The osteohistology of *Provelosaurus americanus* is consistent with that of other members of Pareiasauria. As observed in other pareiasaurs, the bone histology of *P. americanus* comprises poorly vascularized parallel-fibered and lamellar-zonal bone, indicating slow growth rates. Relatively vascularization, absence of an EFS and parallel-fibered bone in the periphery of the outer cortex indicate a sub-adult ontogenetic stage. The maximum number of growth marks found indicates that UFRGS-PV-0233-P was at least fourteen years old. However, a reliable skeletochronology analysis remains problematic in pareiasaur due to the intense bone remodeling processes in the inner cortex.

The presence of a diploe structure in the osteoderms of *P. americanus* contrasts the pattern seen in other pareiasaur species studied to date. The structure observed here opens the possibility of metaplastic ossification during earlier developmental stages. The diploe-like structure seen in the osteoderms of *Provelosaurus* might be present in juveniles pareiasaurs since the structure was not found in other osteoderms of adult pareiasaurs.

Acknowledgments

Fábio Veiga is acknowledged for teaching the histological procedure. We thank Marcelo Campos and Lucas Medeiros (Laboratório de Preparação de Amostras, Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, Brazil) for the mechanical preparation of limb bones and Luiz

Lopes (UFRGS) for photographing the elements and the whole cross sections. We are grateful to Agustin Martinelli (UFRGS) for the fruitful discussions and sharing of important papers. Léo A. Hartmann (UFRGS) was helpful in the manuscript structure.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors

Funding

This work was supported by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior [under the grant PROEX-0497] to BDMF; Pró-Reitoria de Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul [under the grants 2017-17285 and 2018-19696] to BDMF.

REFERENCES

- Amprino, R. (1947). La structure du tissu osseux envisagée comme expression de différences dans la vitesse de l'accroissement. *Arch. Biol.* 58:315-330.
- Araújo, DCF. 1985a. Sobre *Pareiasaurus americanus* sp. nov, do Permiano Superior do Rio Grande do Sul, Brasil. I. Diagnose específica. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 57:63-66.
- Araújo, DCF. 1985b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. III. Descrição osteológica do crânio de *Pareiasaurus americanus*. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 57:67-85.
- Araújo, DCF. 1986a. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. IV. Descrição osteológica da escápula-coracóide de *Pareiasaurus americanus*. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 58:379-385.
- Araújo, DCF. 1986b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. IV. Descrição osteológica do propódio e epipódio dos membros anterior e posterior de *Pareiasaurus americanus*. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 58:387-401.
- Araújo, DCF. 1987. Armadura osteodérmica de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985 (Cotylosauria, Procolophonia, Pareiasauroidae) do Permiano Superior do Rio Grande do Sul, Brasil. *Paula-Coutiana.* 1:11-16.
- Araújo-Barberena, DCF. 1989a. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. V. Descrição de pélvis de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985. *An. Acad. Brasil. Ciênc.* 61:285-294.

- Araújo-Barberena, DCF. 1989b. Estudo do material Sul-Americano de Pareiasauroidae. VI. Descrição do esqueleto axial de *Pareiasaurus americanus* Araújo, 1985. An. Acad. Brasil. Ciênc. 61:295-209 .
- Barberena, MC. 1998. *Australerpeton cosgriffi* n.g., n.sp., a Late Permian Rhinesuchoid amphibian from Brazil. An. Acad. Brasil. Ciênc. 70:125-137.
- Benton, MJ. Vertebrate Paleontology. 4° Ed. Blackwell Science Ltd. 2014
- Boos, A, Kammerer, CF, Schultz, CL, Paes Neto, VD. 2016. A tapinocephalid dinocephalian (Synapsida, Therapsida) from the Rio do Rasto Formation (Paraná Basin, Brazil): Taxonomic, ontogenetic and biostratigraphic considerations. Journal of South American Earth Sciences. 63:375e384.
- Canoville, A, Chinsamy, A. 2017. Bone microstructure of Pareiasaurs (Parareptilia) from the Karoo Basin, South Africa: Implications for Growth Strategies and Lifestyle Habits. The Anatomical Record. 300:1039-1066.
- Canoville A, Thomas DB, Chinsamy A. 2014. Insights into the habitat of Middle Permian pareiasaurs (Parareptilia) from preliminary isotopic analyses. Lethaia. 47:266-274.
- Castanet, J, Francillon-Vieillot, H, Meunier, FJ, Ricqlès, A. 1993. Bone individual aging. In: Hall BK, editor. Bone Growth. Boca Raton (FL), CRC Press; p. 245-283.
- Castanet, J. 1994. Age estimation and longevity in Reptiles. Gerontology. 40:174-192.
- Cisneros JC, Abdala F, Malabarba MC. 2005. Pareiasaurids from the Rio do Rasto Formation, Southern Brazil: biostratigraphic implications for Permian faunas of the Paraná Basin. Revista Brasileira de Paleontologia. 8:13-24.
- Cisneros JC, Abdala F, Rubidge BS, Dentzien-Dias PC, de Oliveira Bueno A. 2011. Dental occlusion in a 260-million-year-old therapsid with saber canines from the Permian of Brazil. Science. 331:1603-1605.
- Cisneros, JC, Abdala, F, Atayman-Güven, S, Rubidge, BS, Sengor, AMC, Schultz, CL. 2012. Carnivorous dinocephalian from the Middle Permian of Brazil and tetrapod dispersal in Pangaea. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 10:1584e1588
- Chinsamy, A. Raath, MA. 1992. Preparation of fossil bone for histological study. Palaeontol Afr. 29:39-44.
- Chinsamy-Turan, A. 2012. Forerunners of Mammals: Radiation, Histology, Biology. Indiana University Press.
- Francillon-Vieillot, H, Buffrénil, V de, Castanet, J, Géraudie, J, Meunier, FJ, Sire, JY, Zylberberg, L, Ricqlès, A. 1990. Microstructure and mineralization of vertebrate

- skeletal tissues. In: Carter JG, editor. *Skeletal biomineralization: Patterns, processes and evolutionary trends*, Vol. I. New York: Van Nostrand Reinhold. p 471–530.
- Holz M, França AB, Souza PA, Iannuzzi R, Rohn R. 2010. A stratigraphic chart of the Late Carboniferous /Permian succession of the eastern border of the Paraná Basin, Brazil, South America. *Journal of South American Earth Sciences*. 29:381-399.
- Horner, JR, Ricqlès, A, Padian, K. 1999. Variation in dinosaur skeletochronology indicators: implications for age assessment and physiology. *Paleobiology*. 25:295-304.
- Houssaye A, Waskow K, Hayashi S, Cornette R, Lee AH, Hutchinson JR. 2015. Biomechanical evolution of solid bones in large animals: A microanatomical investigation. *Biol J Linn Soc*. 117: 350-371.
- Kriloff A, Germain D, Canoville A, Vincent P, Sache M, Laurin, M. 2008. Evolution of bone micranatomy of the tetrapod tibia and its use in paleobiological inference. *J EvolBiol*. 21:807-826.
- Lee, MSY. 1997. A taxonomic revision of pareiasarian reptiles: Implications for Permian terrestrial Paleoeology. *Mod Geol*. 21:231-298.
- Looy C, Ranks SL, Chaney DL, Sanchez S, Steyer S, Smith RMH, Sidor CA, Myers TS, Ide O, Tabor NJ. 2016. Biological and physical evidence for extreme seasonality in central Permian Pangaea. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*. 451:210-226.
- Malabarba, MC, Abdala, F, Weiss, F, Perez, PA. 2003. New data on the late Permian Fauna of PostoQueimado, Rio do Rasto Formation, Southern Brazil. *Revista Brasileira de Paleontologia*. 6:49-54.
- Pacheco CP, Eltink E, Müller RT, Dias-da-Silva S. 2016. A new Permian temnospondyl with Russian affinities from South America, the new family Konzhukoviidae, and the phylogenetic status of Archegosauroidae. *Journal of Systematic Palaeontology*. doi: 10.1080/14772019.2016.1164763
- Padian, K., Lamm, ET. 2013. *Bone Histology of Fossil Tetrapods: Advancing Methods, Analysis, and Interpretation*. University of California Press.
- Ponce, DA, Cerda, IA, Desojo, JB, and Nesbitt, S.J. 2017. The osteoderm microstructure in doswelliids and proterochampsids and its implications for palaeobiology of stem archosaurs. *Acta Palaeontologica Polonica* 62:819-831.
- Rey K, Amiot R, Fourel F, Rigaudier T, Abdala F, Day MO, Fernandez V, Fluteau F, France-Lanord C, Rubidge BS, Smith RM, Viglietti PA, Zipfel B, Lecuyer, C. 2015. Global

- climate perturbations during the Permo-Triassic mass extinctions recorded by continental tetrapods from South Africa. *Gondwana Res.*
doi:10.1016/j.gr.2015.09.008.
- Ricqlès, AD. 1974. Recherches paléohistologiques sur les os longs de tétrapodes. V. Cotysaures et mésosaures. *Ann Paléontol.* 62:71-126.
- Ricqlès AD. 1976. On bone histology of fossil and living reptiles, with comments on its functional and evolutionary significance. *Linn. Soc. Symp. Ser.* 3:123-151.
- Ricqlès, AD. 2011. Vertebrate palaeohistology: Past and future. *Comptes Rendus Palevol.* 10:509-515.
- Rohn R, Assine ML, Meglhioratti T. 2005. A new insight on the Late Permian environmental changes in the Paraná Basin, South Brazil. In: *Gondwana, Mendoza.* 12:316.
- Sayão, JM. 2014. Histovariability in bones of two pterodactyloid pterosaurs from the Santana Formation, Araripe Basin, Brazil: preliminary results. *Geol. Soc. Spec. Publ.* 217:335-342.
- Scheyer TM, Sander PM. 2009. Bone microstructures and mode of skeletogenesis in osteoderms of three pareiasaur taxa from the Permian of South Africa. *J. EvolBiol.* 22:1153-1162.
- Spencer, PS, Lee, MSY. 2000. A juvenile *Elginia* and early growth in pareiasaurs. *J. Paleontol.* 74:1191-1195.
- Strapasson, A.; Pinheiro, FL, Soares, MB. 2015. On a new stereospondylomorph temnospondyl from the Middle/Late Permian of Southern Brazil. *Acta Palaeontologica Polonica.* 60:843–855.
- Tsuji LA. 2011. Evolution, morphology and paleobiology of the Pareiasauria and their relatives (Amniota: Parareptilia). PhD Dissertation; 2010.
- Tsuji LA, Sidor CA, Chiba K, Angielczyk KD, Steyer J. 2015. The Permian and Triassic parareptiles of Tanzania and Zambia: Review of diversity and new life history insights provided by osteohistology. *J Vert Paleontol Prog Abstracts* 2015:227.
- Waskow, K, Mateus, O. 2017. Dorsal rib histology of dinosaurs and a crocodile from western Portugal: Skeletochronological implications on age determination and life history traits. *Comptes Rendus Palevol.* 16:425-439.
- Woodward, HN, Padian, K, Lee, AH. 2013. Skeletochronology in: Padian, K, Lamm, E T (eds). *Bone Histology of Fossil Tetrapods: Advancing Methods, Analysis, and Interpretation.* University of California Press. p. 195-215.

Figure Captions

Figure 1. Elements sampled in this study of *Provelasaurus americanus* UFRGS-PV-0233-P showing the sampled regions (red bars). A. Radius B. Ulna C. Tibia. D. Fibula E. Metatarsal F. Rib fragment. G and H. Osteoderms. Scale bars: 2 cm.

Figure 2. Osteohistology of the radius and ulna of UFRGS-PV-0233-P *Provelosaurus americanus*. A. Cross-section of the radius. B. Detail of the cortex showing several LAGs and a remodeled inner cortex. C. Detail of the mid cortex showing parallel-fibered bone and some simple vascular cannals. D. Lamellar-zonal bone and parallel-fibered bone in the mid cortex of the radius, some primary osteons can be seen. E. High magnification of the outer cortex of the radius. Note vascularization even in the outermost region, as well the patches of parallel-fibered bone, and absence of an EFS, suggesting that growth was still occurring. F. Diaphyseal cross-section of the ulna. G. Overall cortex showing several LAGs and resorption cavities. H. Detail of the mid-cortex in G. Note that moderate vascularization is present in this region and the bone matrix is characterized by parallel-fibered bone. Many generations of secondary osteons can be seen here. I. Outer cortex of G presenting poor vascularized parallel-fibered bone and some primary osteons. Red arrows: LAGs; white arrows: primary osteons; yellow arrows: secondary osteons. Abbreviations: Pfb - parallel-fibered bone. Lzb- lamellar-zonal bone. R.c - resorption cavities Scale bars: A and F: 1 cm; B and G: 1 mm; H: 500 μm C, D, E, I: 200 μm .

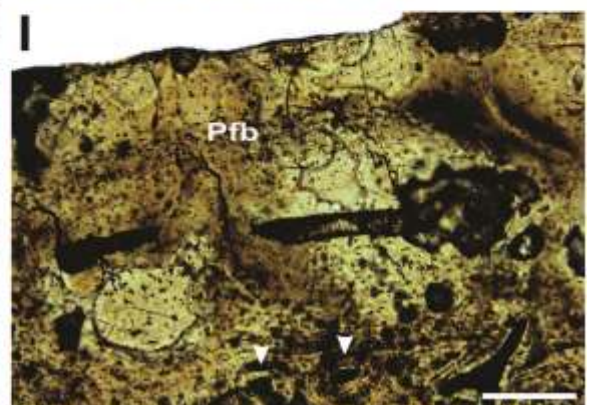
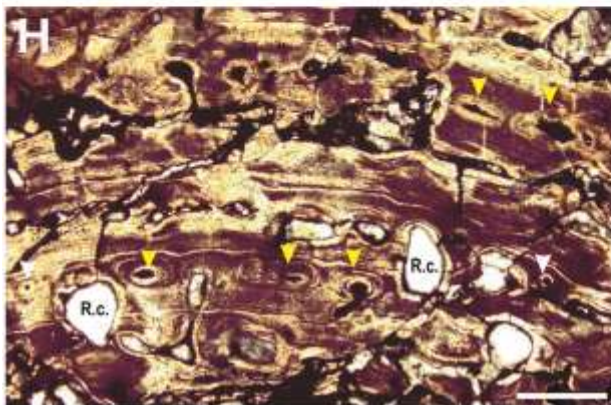
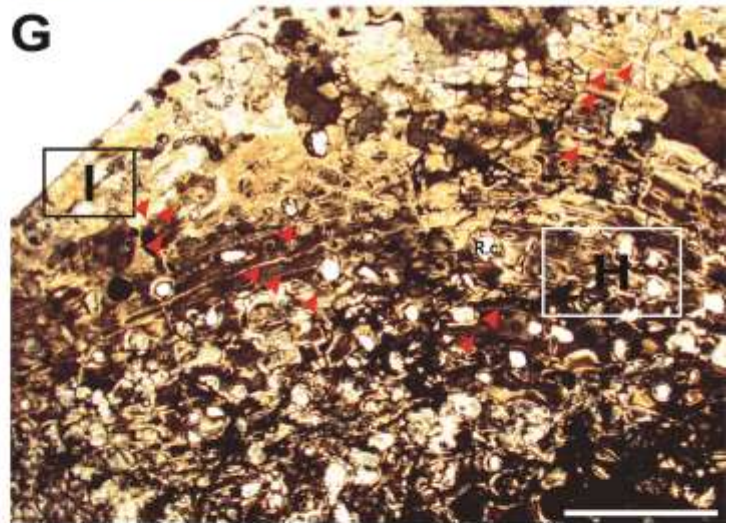
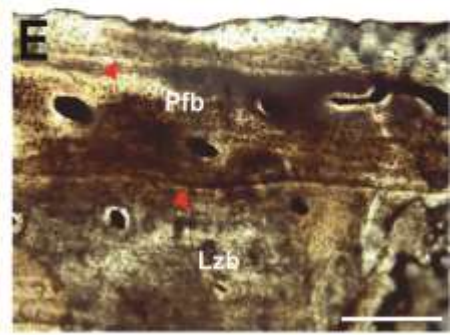
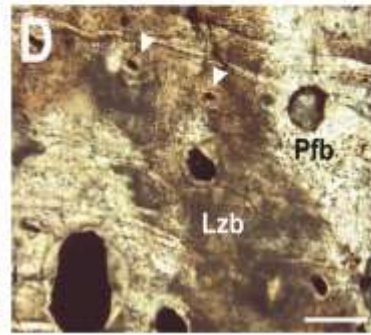
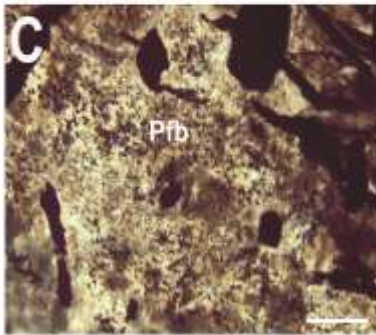
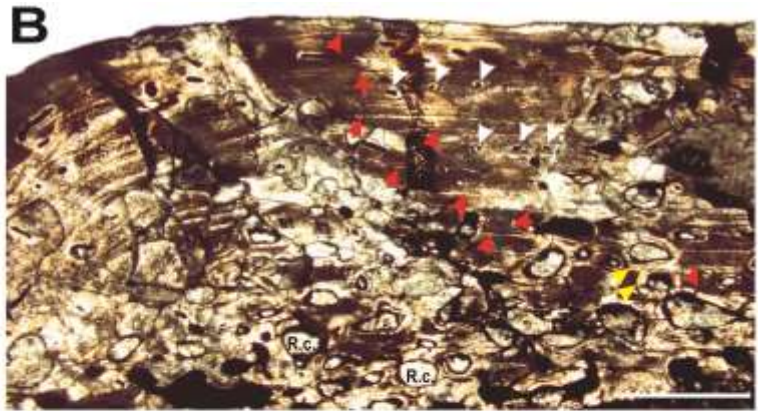
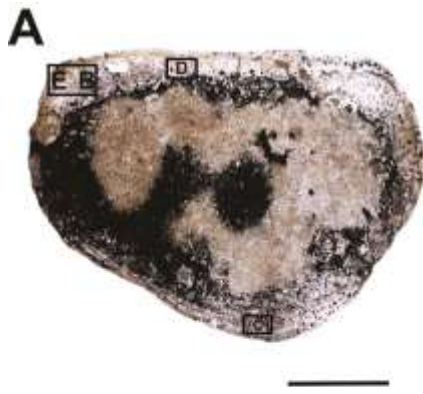
Figure 3. Osteohistology of tibia and fibula of UFRGS-PV-0233-P *Provelosaurus americanus*. A. Cross-section of a tibia. B. Detail of the cortex showing poorly vascularized, cyclical parallel-fibered bone tissue. C. Region of the outer cortex showing remodeling almost to the bone periphery. Note some LAGs below and some primary osteons. D. Outer cortex showing very poorly vascularized parallel-fibered bone and some patches of lamellar bone around the vascular canals. F. Cross-section of the fibula. G. Detail of the cortex with evident cancellous bone in the innermost region. H. Remodeled inner cortex with remnants of primary bone. H. Record of LAGs of the fibula. Poor vascularized outer cortex composed of alternating lamellar-zonal and parallel-fibered bone. Red arrows: LAGs; white arrows: primary osteons; yellow arrows: secondary osteons. Abbreviations: Lb - lamellar bone; Pbf - parallel-fibered bone. Lzb - lamellar-zonal bone Scale bars: A and F: 1 cm; B, C, D, E, G, H, I, J: 200 μm .

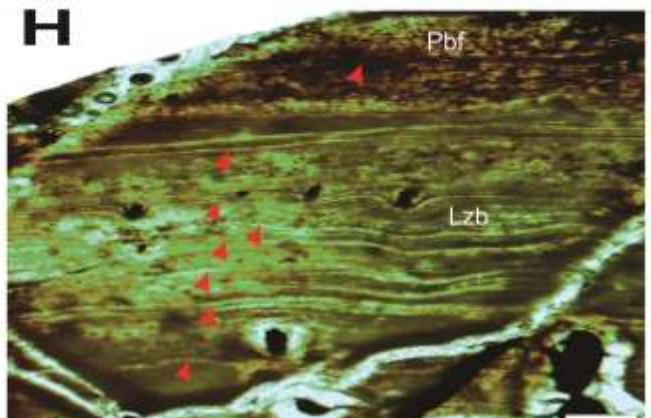
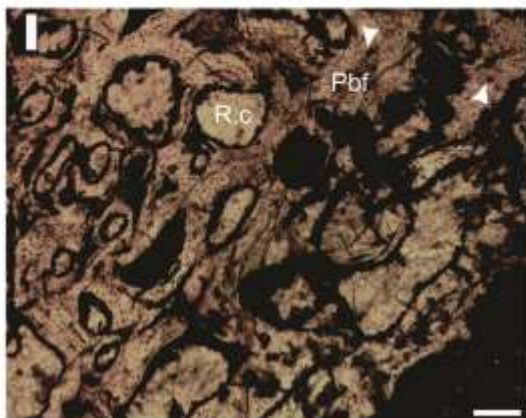
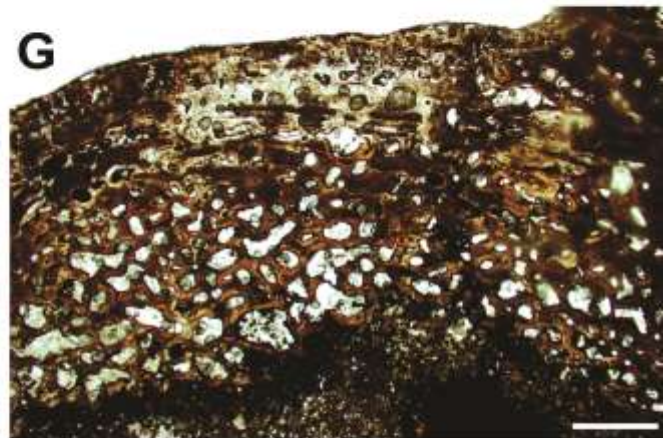
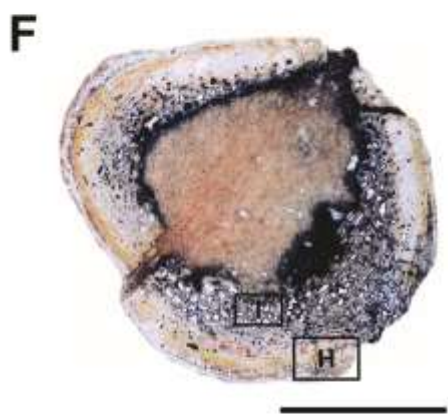
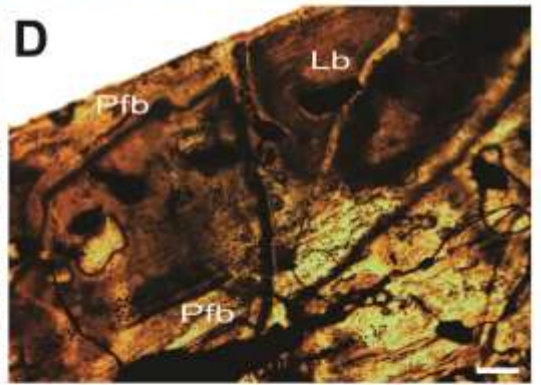
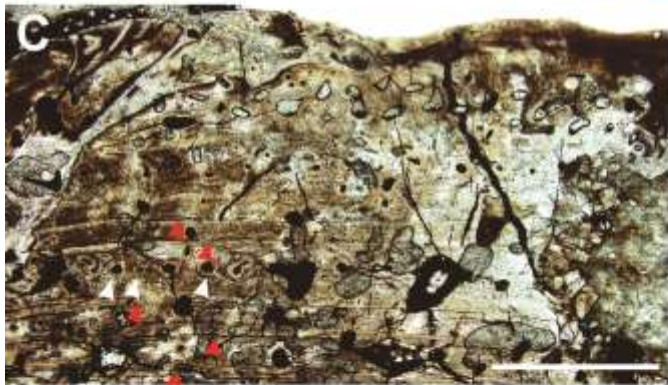
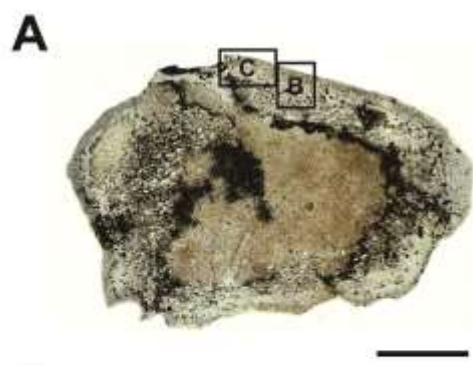
Figure 4. Osteohistology of metatarsal of UFRGS-PV-0233-P *P. americanus*. A. Cross-section of a metatarsal. B. Detail of the narrow cortex showing almost avascular lamellar-zonal bone. Five annuli can be seen. Many resorption spaces, some forming secondary osteons, are present in the inner cortex. C. Detail of the inner cortex with many secondary osteons and rare primary osteons. Some patches of parallel-fibered bone are found in the remnants of primary bone. D. Detail of another region of the cortex presenting the inner cortex with some anostomosed secondary osteons. Toward the outer cortex prevails lamellar-zonal bone. The annuli are not well preserved in this region. Red arrows: Annuli ; white arrows: primary osteons; yellow arrows: secondary osteons. Abbreviations: Lzb-lamellar-zonal bone. Pfb – Parallel-fibered bone. Scale bars: A: 1 cm; B, C, D: 200 μm .

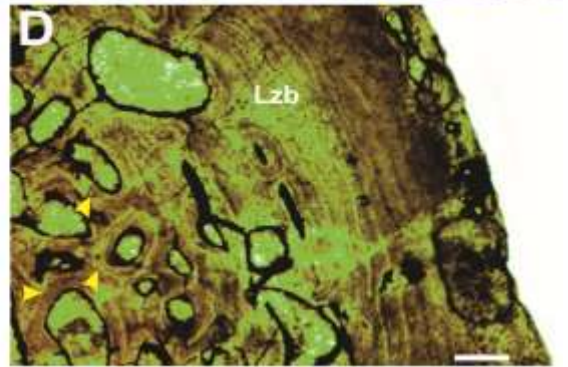
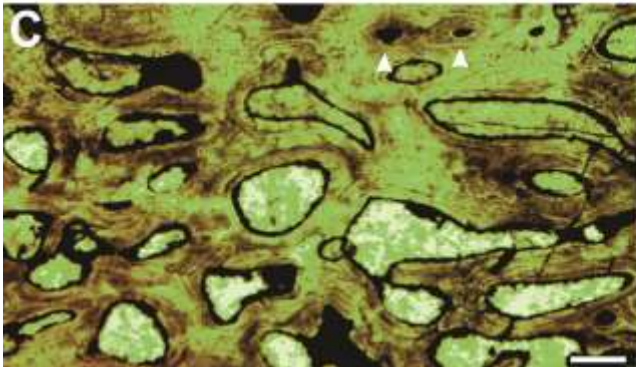
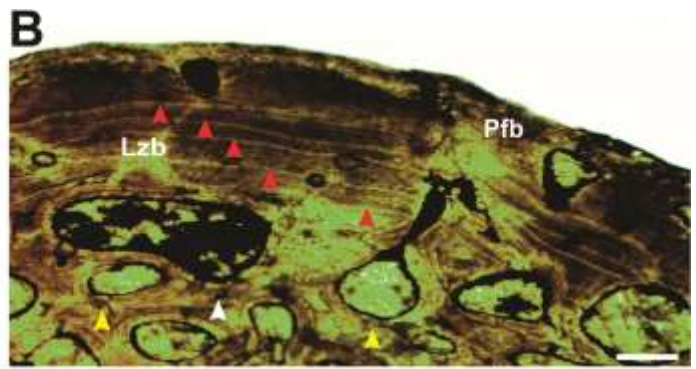
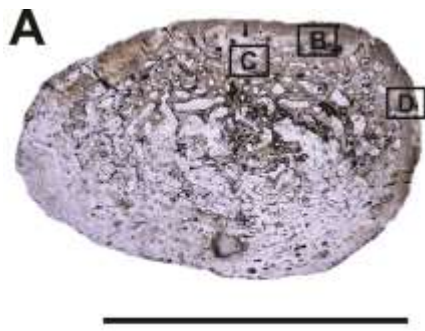
Figure 5. Osteohistology of rib fragment of UFRGS-PV-0233-P *P. americanus*. A. Cross-section of the rib fragment. B. Overall detail of the thick cortex with a total count of fourteen LAGs. C: Inner cortex in polarized light. D. Mid cortex showing a longitudinal arrangement of vascular canals and primary osteons. Note the multiple LAGs (branch of black arrows) above and below the longitudinal row of primary osteons. E. Poorly vascularized outer cortex formed by parallel-fibered bone. Red arrows: LAGs; white arrows: primary osteons; yellow arrows: secondary osteons. Abbreviations: Pfb-parallel-fibered bone. Scale bars: A: 1 cm; B: 1mm; C, D, E: 200 μ m.

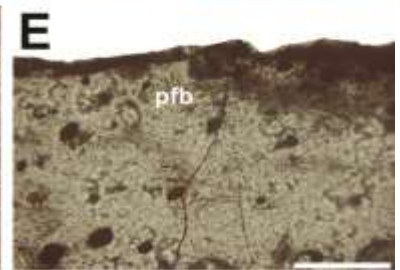
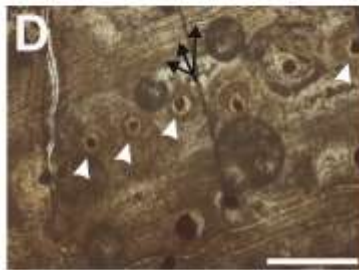
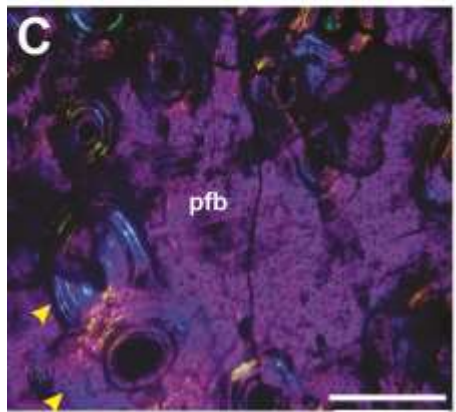
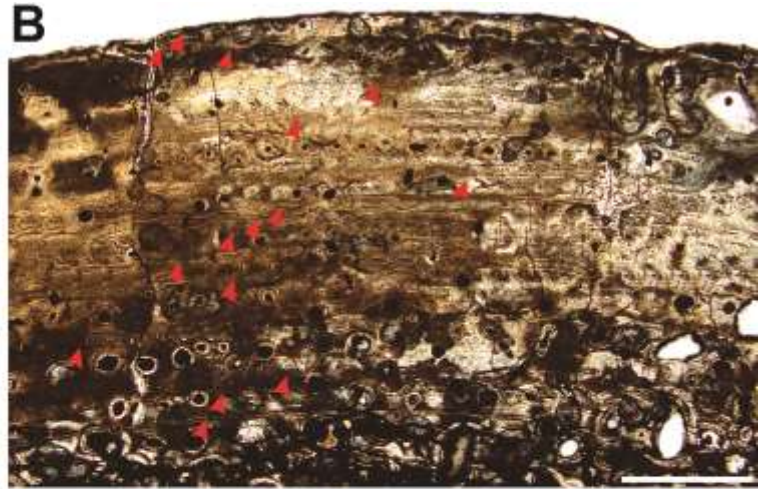
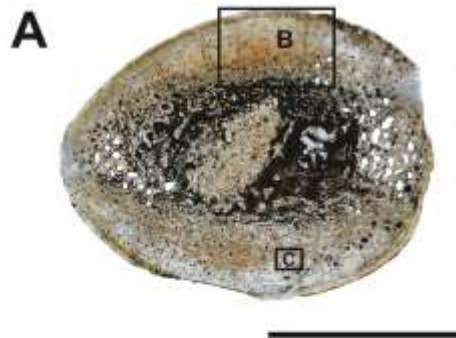
Figure 6. Osteohistology of two osteoderms from UFRGS-PV-0233-P *P. americanus*. A. Cross-section of osteoderm 1. B. Poorly vascularized external cortex. C. Detail of the core showing some patches of primary bone with scarce primary osteons. D. Region of the internal cortex in A show some vascularization. E. Cross-section of osteoderm 2. F: External cortex with four LAGs. G: Internal cortex confirming the diploe-like structure. Abbreviations: Pfb-parallel-fibered bone. Lzb-lamellar-zonal bone Scale bars: A and E: 1 cm; B, C, D, F, G: 200 μ m.

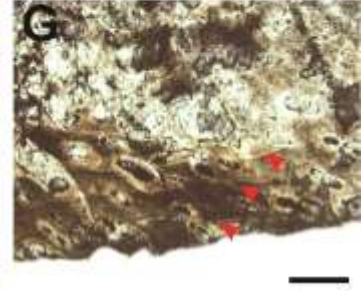
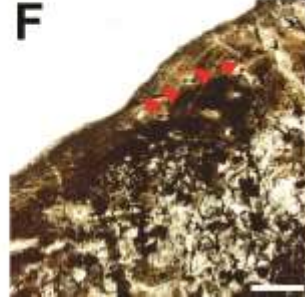
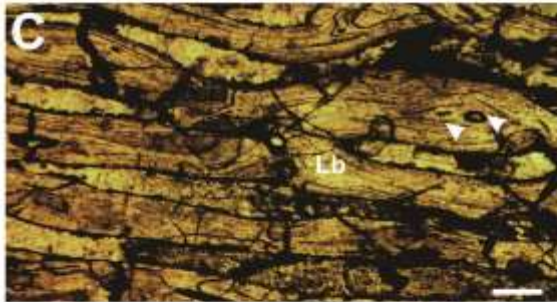
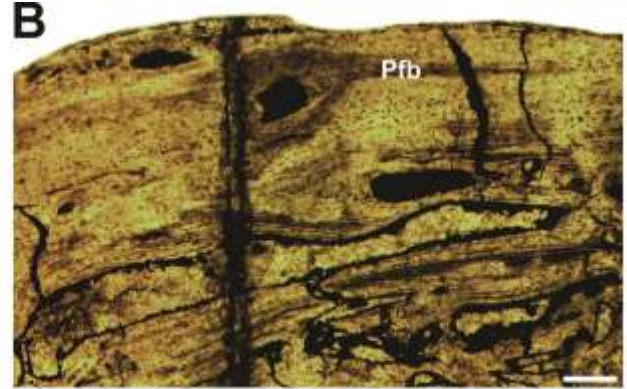












PARTE III - ANEXO

Brodsky Dantas Macedo de Farias

Trabalhos realizados durante o Curso de Mestrado

Resumos publicados em anais de eventos científicos

- 1. FARIAS, B. D. M.;** SOARES, M. B. HISTOLOGY OF LIMB BONES OF PROVELOSAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA/PAREIASAURIA) FROM RIO DO RASTO FORMATION, BRAZIL. In: XI Simpósio Brasileiro de Paleontologia dos Vertebrados, 2018, Teresina. Paleontologia em Destaque, Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Paleontologia, Edição Especial - Julho, 2018, 2018. p. 46-46.
- 2. FARIAS, B. D. M.;** DESOJO, J. B.; FERIGOLO, J. ; RIBEIRO, A. M. ; FRANCA, M. A. G. ; SOARES, M. B. . LIMB BONE HISTOLOGY OF DECURIASUCHUS QUARTACOLONIA (ARCHOSAURIA: PARACROCODYLOMORPHA) FROM SANTA MARIA FORMATION, SOUTHERN OF BRAZIL. In: XI Simpósio Brasileiro de Paleontologia dos Vertebrados, 2018, Teresina. Paleontologia em Destaque, Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Paleontologia, Edição Especial - Julho, 2018, 2018. p. 47-47.
- 3. ARAUJO, C. S. ; FARIAS, B. D. M.;** PAES NETO, V. D. ; SOARES, M. B. PRIMEIRO REGISTRO DE INTERAÇÃO CARNÍVOROS VERSUS HERBÍVOROS TERRESTRES PARA O PERMIANO DO RS, BRASIL. In: XI Simpósio Brasileiro de Paleontologia dos Vertebrados, 2018, Teresina. Paleontologia em Destaque, Boletim Informativo da Sociedade Brasileira de Paleontologia, Edição Especial - Julho, 2018, 2018. p. 23-23.
- 4. FANTI, M. F.;** STRAPASSON, A.; **FARIAS, B. D. M.;** SOARES, M. B. . ANÁLISES PETROGRÁFICAS E GEOQUÍMICAS DE OSSOS FÓSSEIS E ROCHAS DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (MEMBRO MORRO PELADO), PERMIANO DO RIO GRANDE DO SUL. In: Reunião Anual de Paleontologia PALEO-RS, 2018, São Leopoldo. Boletim de Resumos, 2018.
- 5. FARIAS, B. D. M.;** BARROS, A. T.; SOARES, M. B. . QUADRO ATUAL DO ENSINO DA PALEONTOLOGIA NAS UNIVERSIDADES PÚBLICAS DA PARAÍBA, BRASIL: LEVANTAMENTO DE PROBLEMAS. In: XXV Congresso Brasileiro de Paleontologia, 2017, Ribeirão Preto. Paleontologia em Destaque Boletim de Resumos XXV CBP - Edição Especial. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Paleontologia, 2017. p. 100-100.
- 6. FARIAS, B. D. M.;** VEIGA, F. H.; SOARES, M. B. . ANÁLISE PRELIMINAR DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DO PERMIANO DO RS, BRASIL. In: XXV

Congresso Brasileiro de Paleontologia, 2017, Ribeirão Preto. Paleontologia em Destaque Boletim de Resumos XXV CBP - Edição Especial. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Paleontologia, 2017. p. 101-101.

7. FARIAS, B. D. M.; SOARES, M. B.; SCHULTZ, C. L. . MICROESTRUTURA DE OSTEODERMAS DE PROVELOSAURUS AMERICANUS (PAREIASAURIA/PARAREPTILIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO, RS, BRASIL. In: Paleo RS 2017, 2017, Rio Grande. Paleo RS 2017 - Boletim de Resumos, 2017. p. 29-29.

8. FIGUEIREDO, J. L.; MELO, T. P.; **FARIAS, B. D. M.;** SOARES, M. B. ; PINHEIRO, F. L. . ANÁLISE PRELIMINAR DA MICROESTRUTURA DENTÁRIA DE EXAERETODON RIOGRANDENSIS (THERAPSIDA, CYNODONTIA). In: Paleo RS 2017, 2017, Rio Grande. Paleo RS 2017 - Boletim de Resumos, 2017. p. 32-32.

9. FARIAS, B. D. M.; SOARES, M. B.; SCHULTZ, C. L. . ESTÁGIO ONTOGENÉTICO DE PROVELOSAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL, COM BASE NA MICROESTRUTURA DE UM METATARSAL. In: II SAPIGEO – Semana Acadêmica dos Pós-Graduandos do Instituto de Geociências da UFRGS, 2017, Porto Alegre. II SAPIGEO – Semana Acadêmica dos Pós-Graduandos do Instituto de Geociências da UFRGS, 2017.

ANEXO I
Título da Dissertação:
“ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (PERMIANO MÉDIO/SUPERIOR) DO RIO GRANDE DO SUL”
Área de Concentração: Paleontologia
Autor: Brodsky Dantas Macedo De Farias
Orientadora: Profa. Dra. Marina Bento Soares
Examinador: Dr. Ignacio Cerda
Data: 5 de febrero 2019
Conceito: A (sobressaliente)
PARECER (mi carta esta en inglés, dado que es básicamente la misma que presente a la revista Historical Biology por este mismo trabajo)
<p>I have reviewed the manuscript entitled “Bone microstructure of the pareiasaur <i>Provelosaurus americanus</i> from the Middle Permian of Brazil” by Brodsky Dantas Macedo de Farias and colleagues. The present manuscript provides new data on the long bone histology of pareiasaur from Brazil. As such, this is a welcome contribution to our knowledge, particularly the information on growth dynamics and histological variation in the different parts of the skeleton. It is also very important that the authors included data on both appendicular bones and osteoderms, which is not much common in paleohistological studies of tetrapods.</p> <p>On my opinion, the main issues that must be modified in the manuscript are related with: 1-terminology used; 2-interpretation of bone tissues types; 3-organization of the manuscript; and 4-objectives and discussion of the provided data. In the first point, the most important problem is related with the usage of the term “lamellar zonal” bone (LZB from here and elsewhere). The authors use this term in reference to a tissue different than parallel fibered bone (PFB from here and elsewhere). This is actually incorrect. Following Francillon Vieillot et al 1990 (the text that the authors employ in the manuscript), LZB is a complex tissue that can be formed by lamellar bone (LB) or PFB. I think that LZB is a misleading term, since other authors (e.g. Padian and Lamm 2013, page 8) consider that such term is synonym of PFB. Such incoherence in the bibliography (and the mistake that Farias et al. commit in the manuscript) reinforces my idea that LZB is misleading and must be avoided. I think that the authors possibly confuse the concept of LZB with LB. Actually, the description has much more sense if LZB is changed for LB. The second point is directly related with the incorrect usage of the term LZB. In this sense, in the pictures (e.g. Figure 2E and D) there is not any apparent variation between the PFB and the “LZB”. All the primary tissue from the picture appears to be PFB. If the authors actually found real variation in the primary bone (e.g. PFB alternating with LB), they must show that properly. Remember that the difference between PFB and LB consist in that the last is more organized, formed by lamellae of tissue (in some cases the orientation between successive lamellae exhibits</p>

different orientation, providing a particular appearance of the tissue under polarized light). Note that if the authors actually found alternating layers PFB and LB, it can be argued that these correspond with zones and annuli, respectively. Regarding the organization of the manuscript, I found that the authors make interpretations about their results in several parts of the description. I think that is actually incorrect. The Results must include only the histological description of the sampled bones, not interpretations from those descriptions. I have marked several of these parts in the attached pdf.

Finally, the importance of the study is better appreciated if the author can provide the main questions about the paleobiology of Provelosaurus that can be addressed by bone histology (e.g. what is the ontogenetic stage of the sampled individual? Is such inferred stage congruent with anatomical data related with size and degree of neurocentral sutures? was the growth rate of Provelosaurus faster or slower than other studied pareiasaurs?, which are the better elements for growth mark counting? If a determinate growth is assumed for Provelosaurus, is this taxon larger, equal or smaller than other pareiasaurs? etc.). Note that the objective included in the current version of the manuscript (i.e. "...provides new life history information on a pareiasaur from Brazil and adds to the knowledge on pareiasaur biology in general...") is too general. Particular objectives of the current studies (based on the questions about Provelosaurus paleobiology) must be clearly presented. Note that it is not necessary increase the sample or make a more extensive description, all the paleobiological/methodological issues that can be discussed with the current data provided by the authors. Moreover, some of the particular objectives that I mention have been clearly addressed by the authors (e.g. ontogenetic stage of the sampled individual).

I have included these and other comments in the attached pdf.

Al margen de lo expuesto en la carta a los editores, considero que el trabajo de tesis esta muy bien realizado. Si bien se señalan errores, estos tienen más que ver con una incorrecta interpretación de algunos textos, sobre conceptos que siempre están bien explicados en los mismos. Se hace evidente, al leer la tesis y el manuscrito, que el disertante ha efectuado un minucioso trabajo de investigación en un tema muy poco abordado. Felicito tanto al disertante como a sus directores por la labor realizada y abogando por que se continúe con la misma.

Assinatura:



Data: 05/02/2019

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno:

ANEXO I
Título da Dissertação:
“ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOS SAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (PERMIANO MÉDIO/SUPERIOR) DO RIO GRANDE DO SUL”
Área de Concentração: Paleontologia
Autor: Brodsky Dantas Macedo De Farias
Orientadora: Profa. Dra. Marina Bento Soares
Examinadora: Dra. Juliana Manso Sayão
Data: 25/02/2019
Conceito: Excelente
PARECER:
<p>A dissertação submetida a análise pela banca examinadora se utilizou da osteohistologia como base para interpretações de padrão de crescimento, determinação do estágio ontogenético dos exemplares e fisiologia de uma espécie de Pareiasauria exclusivo da América do Sul. Trata-se de um trabalho pioneiro e inovador, duas condições cada vez mais raras em dissertações de mestrado. Apenas pelo desafio de seu tema já seria considerado um trabalho de excelência, no entanto agrega-se valor acadêmico em suas interpretações bastante coerentes, escrita bem desenvolvida, que culminam com uma discussão e conclusões bem embasadas.</p> <p>Através do seu levantamento bibliográfico é possível verificar que o universo de deste grupo foi pouco explorado do ponto de vista osteohistológico, o que faz com que seu artigo traga relevância ainda maior ao tema.</p> <p>Gostaria de salientar apenas que existe um filão a ser melhor explorado referente a presença das linhas de pausa de crescimento (LAGs) nos ossos aqui analisados. Estas foram atribuídas por outros autores a sazonalidades e seguida aqui neste trabalho. Existe, no entanto, uma enorme discussão acerca de sua origem nos tecidos ósseos, com correntes cada vez mais fortes que dissociam sua presença a fatores exógenos ambientais. Cada vez mais estudos defendem que sua presença está mais relacionada a pulsos endógenos do que a exógenos, baseadas em observações de animais de cativeiro, que possuem condições externas constantes e controladas e ainda assim depositam LAGs. Entendo a controvérsia relacionada ao hábito de vida desse grupo e sugiro para o futuro que trabalhos, caso sigam estudando este grupo explorem outras possibilidades que não apenas a apresentada aqui.</p> <p>No que diz respeito as figuras, entendo das limitações impostas pelas editoras porém a organização em pranchas com muitas imagens dificultam a visualização de estruturas tão pequenas (ex: págs 86 -C; 90 – D-E; 91 -F,G). Sugiro que num próximo</p>

artigo as fotomicrografias apareçam maiores. Outras (poucas) podiam estar com melhor foco. No entanto nenhuma dessas observações diminui o potencial do trabalho!

Mais uma vez parabenido o trabalho do aluno e sua orientadora e espero que mais trabalhos paleohistológicos com essa qualidade sejam apresentados pelo grupo, reforçando o que já vem sendo feito. Só assim poderemos estabelecer no Brasil grupos de excelência nessa área da Paleontologia, ainda muito pouco explorada em nosso país.

Assinatura:

quiana Yane Jay

Data: 25/02/2019

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno:

ANEXO I

Título da Dissertação:

“ANÁLISE DA MICROESTRUTURA ÓSSEA DE PROVELOSAURUS AMERICANUS (PARAREPTILIA, PAREIASAURIA) DA FORMAÇÃO RIO DO RASTO (PERMIANO MÉDIO/SUPERIOR) DO RIO GRANDE DO SUL”

Área de Concentração: Paleontologia

Autor: **Brodsky Dantas Macedo De Farias**

Orientadora: Profa. Dra. Marina Bento Soares

Examinador: Dr. Flávio Augusto Pretto

Data: 22/02/2019

Conceito: A (excelente)

PARECER:

O candidato apresentou, como tema de sua dissertação, um enfoque inédito envolvendo *Provelosaurus americanus*, um pareiassauro do Permiano do Brasil, ao investigar sua paleohistologia. Tal trabalho é muito bem-vindo, uma vez que o táxon, apesar de possuir um razoável número de espécimes (em comparação a outros táxons da mesma unidade), ainda é pouco explorado academicamente. Ademais, como adequadamente apontado pelo candidato em sua dissertação, pareiassauros em geral foram alvo de poucos estudos histológicos, e dessa maneira este trabalho ajuda a preencher uma lacuna importante. O texto da dissertação está muito bem organizado. Destaco o cuidado em prover, junto ao referencial teórico, capítulos que discutem os principais pontos abordados no artigo que compõe a dissertação, de maneira bem sumarizada e organizada, o que permite fácil acesso. A título de sugestão, alguns pontos poderiam ser melhor ilustrados. Destaco especialmente a carência de imagens tomadas com auxílio de luz polarizada, tanto na seção 5.4, quanto no manuscrito apresentado. Como discutido pelo candidato, tal ferramenta é crucial para identificar adequadamente as diferentes matrizes ósseas. Portanto, o uso de tais imagens facilitaria a observação, por parte do leitor, das estruturas apontadas e discutidas no texto. A amostragem empregada pelo candidato em seu estudo é excelente, englobando distintos elementos, incluindo ossos dérmicos e endocondrais de diferentes partes do esqueleto. Aplaudo também o cuidado dispensado pelos autores em produzir réplicas do espécime seccionado, uma vez que ainda há poucos espécimes de *Provelosaurus* disponíveis para estudos anatômicos. Sugiro, nesse sentido, que sejam produzidas réplicas em resina (que é mais durável que o gesso), se possível. Uma alternativa interessante também seria a digitalização dos espécimes, ou de suas réplicas, neste caso (por exemplo, usando de escaneamento a laser), uma vez que os moldes têm vida útil reduzida. O manuscrito científico, tal qual o restante da dissertação, está bem redigido, e as interpretações se mostraram adequadas. É interessante observar a variabilidade entre os diferentes elementos ósseos do indivíduo, sobretudo referente ao grau de ossificação secundária e ao número de LAGs. A observação desses aspectos só

se fez possível graças à amostragem adequada. As interpretações estão a meu ver bem embasadas, e concordo com a inferência feita pelos autores, de que o animal represente um adulto jovem, ainda possuindo potencial crescimento somático. O manuscrito necessita de revisão em alguns pontos isolados, contudo: há diversos pontos em que os gêneros são grafados sem itálico (no final da discussão, por exemplo); há alguns pequenos deslizes na ortografia, de fácil correção; algumas figuras necessitam de revisão, sobretudo das legendas que indicam os pontos em que a imagem foi ampliada em figuras subsequentes. Apesar desses detalhes menores, o trabalho está bem escrito, é de fácil leitura e apresenta um problema interessante. A metodologia escolhida, bem como sua aplicação foram adequadas, e as conclusões são bem suportadas pelos dados obtidos. Ademais, o trabalho traz novos questionamentos (a exemplo do padrão incomum de crescimento dos osteodermos de *Provelosaurus*) e abre precedente para investigações subsequentes. Desse modo, o trabalho apresentado permite concluir que o candidato está, a meu ver, plenamente apto a receber o título de Mestre, e sua dissertação de Mestrado merece o conceito "A" (excelente).

Assinatura: Flávio A. Petto

Data: 22/02/2019

Ciente do Orientador:

Ciente do Aluno: