

Évolution (Paléobiologie) / Evolution

Données microanatomiques sur la conquête de l'environnement terrestre par les vertébrés

Michel Laurin ^{a,*}, Damien Germain ^a, Jean-Sébastien Steyer ^b, Marc Girondot ^c

^a FRE CNRS 2696, case 7077, université Paris-7, 75005 Paris, France

^b Département « Histoire de la Terre », UMR CNRS 5143, Muséum national d'histoire naturelle, bât. Paléontologie, 8, rue Buffon, 75005 Paris, France

^c Équipe de conservation des populations et des communautés, laboratoire « Écologie, Systématique et Évolution », CNRS et université Paris-Sud, UMR 8079, bât. 362, 91405 Orsay cedex, France

Reçu le 5 avril 2005 ; accepté après révision le 27 septembre 2005

Disponible sur internet le 03 mars 2006

Rédigé à l'invitation du Comité éditorial

Résumé

Des sections transversales du fémur de 46 espèces de lissamphibiens ont été étudiées pour déterminer la relation entre mode de vie (aquatique, amphibie ou terrestre) et profil de compacité osseuse. Deux tests statistiques, qui incorporent la phylogénie, démontrent que le retour à un mode de vie aquatique chez les lissamphibiens s'accompagne d'une augmentation de la compacité fémorale et d'une augmentation de la taille corporelle. Cependant, les espèces d'amphibiens ne peuvent être distinguées de leurs proches parents terrestres uniquement sur la base de leur compacité fémorale ou de leur taille corporelle. Un modèle mathématique obtenu en utilisant des régressions logistiques qui incorporent une pondération phylogénétique nous a permis d'inférer le mode de vie de quatre stégocéphales du Permien et du Trias. Les résultats sont cohérents avec les interprétations précédentes. De plus, ils suggèrent que cette méthode pourrait fournir de précieuses données sur le mode de vie des premiers stégocéphales. *Pour citer cet article : M. Laurin et al., C. R. Palevol 5 (2006).*

© 2006 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Microanatomical data and the conquest of land by vertebrates. The compactness profile of femoral cross-sections and body size of 46 species of lissamphibians was studied to assess the relationship between lifestyle (aquatic, amphibious or terrestrial) and bone compactness. Two tests that incorporate phylogenetic information (permutational multiple linear regression incorporating phylogenetic distances and concentrated changes tests) show that the return to an aquatic lifestyle is associated with an increase in the compactness of the femur and an increase in body size. However, amphibious taxa cannot be distinguished from terrestrial ones on the only basis of size or compactness. Mathematical equations obtained from our data using logistic regression with phylogenetic weighting are used to infer the lifestyle of four early stegocephalians from the Permian and the Triassic. The results are generally congruent with prevailing palaeontological interpretations, which suggests that this method

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laurin@ccr.jussieu.fr (M. Laurin).

could be applied to infer the lifestyle of early taxa whose lifestyle is poorly understood. **To cite this article: M. Laurin et al., C. R. Palevol 5 (2006).**

© 2006 Académie des sciences. Publié par Elsevier SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Microstructure osseuse ; Compacité ; Lissamphibiens ; Paléocéologie ; Tétrapodes

Keywords: Bone microstructure; Compactness; Lissamphibians; Palaeoecology; Tetrapods

Abridged English version

Introduction

We now know that the appearance of the limb does not signal the conquest of land by vertebrates, because the first stegocephalians (i.e. limbed vertebrates) were probably aquatic. This idea is not new because Romer [45,46] thought that the first stegocephalians were largely aquatic (see the glossary for the phylogenetic definitions of the taxon names adopted here [9,16,17,24,26]). However, it received a spectacular confirmation with the discovery of osteological characters that strongly suggest the presence of internal gills in the Devonian stegocephalians *Ichthyostega* and *Acanthostega* [12,13]. The shape of the stapes of *Ichthyostega*, apparently optimized for underwater hearing, corroborates this idea [12]. The presence of grooves for the cephalic portion of the lateral-line organ in numerous Carboniferous and Permian limbed vertebrates suggests that several stegocephalians remained aquatic a few dozen million years after the appearance of the limb [35,48]. Thus, the limb probably appeared in aquatic vertebrates and may have been used for walking on dry land much later. Its initial function remains unknown, but it may have been used for locomotion in an aquatic environment, like the fins of lungfishes, that are used in an underwater walk ([21], and personal observation).

It is difficult to determine when some stegocephalians became terrestrial because the absence of grooves for the lateral-line organ does not prove that this organ was absent. Indeed, several aquatic lissamphibians (*Siren*, proteids, *Amphiuma*, pipids, *Telmatobius*, etc.) possess this organ (in the form of superficial neuromasts), but this organ leaves no trace on their skull ([14], personal observation). The morphology of Palaeozoic stegocephalians seldom gives unambiguous proofs about their lifestyle because it includes few forms that are clearly adapted only to an aquatic lifestyle, contrary to amniotes, in which a return to an aquatic lifestyle is often associated with a transformation of epipodials into swimming paddles (e.g. ichthyosaurs, plesiosaurs,

mosasaurs, pinnipeds, cetaceans, etc.) The degree of ossification has been used to infer the lifestyle of extinct vertebrates [53] because the epiphyses of long bones, hands and feet are often poorly ossified in aquatic forms, whereas terrestrial tetrapods have a well-ossified endoskeleton. However, this criterion is not always sufficient because young individuals of terrestrial vertebrates also have a poorly ossified skeleton. Histological characters, such as the presence of calcified cartilage, are often associated with an aquatic lifestyle, but they may also reflect neoteny. Indeed, neoteny is often associated with an aquatic lifestyle and with the presence of calcified cartilage in lissamphibians.

For these reasons, we chose to work on bone microanatomy. Several studies have suggested that the return to an aquatic lifestyle in tetrapods is often accompanied by microanatomical changes in the skeleton. In tetrapods that live in shallow water and that recently returned to an aquatic lifestyle, the long bones (Fig. 1A and B) are generally more compact than those of their terrestrial relatives [36,43]. In tetrapods that live in deep water and that swim actively, the skeleton tends to become lighter, but the medullar region is often occupied by spongy bone (Fig. 1D). This adaptation is found in Neogene cetaceans [6], in most ichthyosaurs [4,38], in plesiosaurs [52], etc. In contrast, long bones of terrestrial vertebrates usually have compact cortical bone and a large medullar cavity (Fig. 1C). Thus, microanatomical data are among the potentially most useful to infer the lifestyle of early stegocephalians [43].

Most previous studies that used bone microanatomical data to assess the lifestyle of extinct vertebrates have relied on a visual comparison of cross-sections. This technique works when there are obvious adaptations to an aquatic lifestyle, but in numerous other cases, it is difficult to use and requires a thorough knowledge of the diversity and distribution of osteological characters. This technique was used to infer the lifestyle of early stegocephalians [43], sauropsids [42], synapsids [41], but it gave better results in Mesozoic amniotes, such as champsosaurs [8], ichthyosaurs [6], placodonts [5], plesiosaurs [52], and crocodylians [22], in which the adaptations to an aquatic lifestyle are more

obvious. Since the bone structure of early stegocephalians is difficult to interpret, we have developed quantitative methods that should enable us to extract as much palaeoecological information from long-bone microstructure as possible.

Material and methods

Girondot and Laurin [19] have developed a mathematical model and software (named Bone Profiler) that can express the quantity and distribution of bone tissue in a cross-section of a long bone. It may be useful to summarize this model here: it includes four parameters (Fig. 2) that correspond approximately to the compactness in the medulla (*Min*), in the superficial portion of the cortex (*Max*), the relative size of the medullar region (*P*), and the width of the transition zone between the cortical and medullar regions (*S*). The compactness of the bone *C* can be expressed as a function of the distance *d* from the centre of the section:

$$C(d) = \frac{1}{1 + e^{\frac{1}{S}(P-d)}} (Max - Min) + Min$$

where *P* is the relative distance between the centre of the bone and the inflexion point, where the compactness gradient is the highest. Thus, *P* is the distance between the centre and the inflexion point divided by the radius of the bone. *P* has a simple relationship with the cordico-diaphyseal index (CDI) that has often been used in comparative osteology [11]; it is 1-CDI. *S* is the slope⁻¹ at point *P*. *Max* is the upper asymptote. *Min* is the lower asymptote. It is usually 0 in terrestrial vertebrates that have a free medullar cavity (Fig. 1C), but it may be positive in aquatic taxa that possess a medullar spongiosa (Fig. 1A, B, and D).

To gather these data, we developed the software Bone Profiler [19], which can read an image (picture or drawing) of a bone section and gather data on the compactness in 51 concentric zones and 60 sectors (each of which measures 6° in width), which together delimit 3060 areas on which the compactness is measured (Fig. 3). These data are used to establish 60 compactness profiles on a complete section, but incomplete sections can also be used, and this is particularly useful to analyse fossil bones, which are often fragmentary or damaged. Average and standard deviation of each variable are calculated, outliers (i.e. profiles for which at least one parameter is more than four standard deviations from the average) are removed and this procedure is repeated as many times as necessary. Thus, data on the average and variability of the parameters are gathered.

We are currently gathering data on a large number of extant tetrapods to produce a model to infer the lifestyle of early stegocephalians. The analysis summarized here bears on the femora of 105 individuals belonging to 46 lissamphibian species (23 anuran species and 23 urodele species). Lissamphibians are particularly suitable for such an analysis, because they encompass a broad range of lifestyles; from an initially amphibious lifestyle [51], several taxa became terrestrial or aquatic (Fig. 4). A tree that incorporates divergence times between all included species has been produced from formerly published phylogenies [30]. Divergence times were estimated from the geological age of the oldest fossil that belongs to each clade and from molecular studies (Fig. 4).

Several tests were performed to determine which characters included ecological information. The best known is the concentrated changes test described by Maddison [37]. This test rests on the premise that if no correlation exists between two characters, the distribution of the dependent character has no impact on the frequency or direction of changes in the dependent character. It requires a completely resolved phylogeny, does not use branch length information, and can be used only for discrete data. Thus, it was necessary to convert our continuous variables into discrete ones, and this was the least satisfactory part of this test.

Permuted multiple linear regressions are more appropriate for our purpose because this test can be used on datasets that include a mix of continuous and discrete characters. This test was described by Legendre et al. [34], who used it to determine which characters were correlated with brain evolution in marsupials. Legendre et al. [34] used a simple taxonomy in which marsupials were classified into three orders, and that amounts to using a poorly resolved phylogeny that includes three polytomies and no branch length data. However, a completely resolved phylogeny incorporating branch-length information can be used, as we have done. The variables are then converted into distance matrices, character by character. For quantitative characters, the distance is simply the absolute value of the difference between taxa (the Euclidean distance), taken pair by pair (Fig. 5). For discrete, binary characters (such as lifestyle, that was coded as 0 for aquatic taxa and 1 for amphibious or terrestrial taxa), the difference was 1 when the lifestyles differed, and 0 when they were identical. Finally, the phylogenetic distance between taxa is simply the time that has elapsed since their lineages diverged (Fig. 5). A multiple linear regression is then performed on all the matrices, and this yields regression coefficients between the dependent variable (lifestyle) and each independent variable (axial

length, femoral compactness, phylogenetic position). The values of the dependent variable are then randomly permuted and the multiple regression analysis is repeated. This yields a new set of regression coefficients. A large number of analyses on randomized data sets is performed (typically, at least 999, but in our study, we have performed 9999) to generate a null distribution of regression coefficients. The relationship is deemed to be statistically significant if the initial regression coefficient between two variables is greater than at least 95% of the regression coefficients obtained from randomized datasets. This test does not require the data to be normally distributed, and this is critical here because the lifestyle was coded as a binary character. In classical regressions, the dependent variable must have a normal distribution (and must therefore be continuous or possess enough states to approximate a normal distribution). The permutations remove this constraint. This method is less known than the phylogenetically independent contrasts [15], but it is flexible and has recently been used to study trends in body size evolution in early stegocephalians [25].

Using phylogenetically weighted logistic regressions, we have produced inference models for the lifestyle of stegocephalians that require only data on body size and the compactness profile. The phylogenetic weight attributes equal weights to two sister-taxa, even if they are represented by very uneven numbers of species. These models were produced by minimizing the difference between the observed lifestyle (on extant amphibians) and the lifestyle inferred by the model on the basis of compactness profile (parameters bc_i with i ranging from 1 to 4), section diameter (parameter bc_5) and log-transformed body length data, used as a covariable.

$$h = \frac{1}{1 + e^{\left(C_0 + \sum_{i=1}^5 (C_{1i} bc_i C_{2i} \ln \text{presacral length}) \right)}}$$

Eleven parameters (C_0 , C_{1i} and C_{2i} with i from 1 to 5) were estimated to minimize the weighted least-square sum (SSQ) of the difference between observed and inferred habitat over all individuals. This model was simplified by removing some constants.

One of the resulting models was then used to infer the lifestyle of four stegocephalians (Fig. 6) that represent four major clades (Temnospondyli, Embolomeri, Amphibia, and Amniota).

Results

The concentrated changes test shows that the femoral compactness and axial length (measured from the

atlas to the sacral vertebrae in urodeles, and between the atlas and the posterior end of the urostyle in anurans) contain ecological information [30]. Compared to terrestrial or amphibious lissamphibians, aquatic amphibians are on average larger ($p = 0.01$) and their femur is more compact ($p = 0.042$).

The permuted multiple regressions confirm that axial length ($p = 0.0026$) and compactness profile parameter P ($p = 0.0225$) are correlated with the habitat.

Two inference models were produced using phylogenetically weighted logistic regressions [30]. Both yield inferences comprised between 0 and 1 (0 for aquatic and 1 for amphibious, since the differences between terrestrial and amphibious species was not statistically significant). The first model is based on 46 species; it requires estimating 11 constants and yields a correct lifestyle in 85% of the 105 individuals and 82% of the 46 species. We suspected that the relatively high error rate resulted from great differences in proportions (and perhaps, in the mode of locomotion) between anurans and urodeles. Furthermore, we believed that anurans could mislead us because their body proportions are very different from those of the early stegocephalians whose lifestyle we wanted to infer. Thus, we produced a second model based on the 23 species of urodeles included in this study. This model requires estimating only four constants and requires information on compactness profile parameter P, maximal diameter of the bone section, and axial length. It estimates correctly the lifestyle of 39 of the 41 individuals and of 21 of the 23 species.

Applying the second model to four early stegocephalians yields results generally congruent with the lifestyle that had previously been attributed to these taxa.

The small temnospondyl *Doleserpeton* from the Lower Permian of North America has generally been considered to be closely related to lissamphibians [2,3,47], but most recent phylogenetic analyses suggest that it is a stem-tetrapod [1,23,28,29,51]. *Doleserpeton* is usually considered terrestrial [3]; this interpretation is confirmed by the logistic inference model.

Chroniosaurus is an Upper Permian embolomere from Russia [20]. It is one of the last embolomeres, since that group appeared in the Lower Carboniferous, was most diverse in the Upper Carboniferous, and became extinct in the Triassic. Golubev [20] suggested that *Chroniosaurus* was aquatic. Our logistic model infers an amphibious or terrestrial lifestyle. This is not necessarily a mistake because *Chroniosaurus* possessed well-ossified dorsal scutes that were articulated to each other and to the neural spines [20]. This may be an

adaptation to strengthen the axial skeleton to better support the weight of the animal on dry land, and this suggests an amphibious or a terrestrial lifestyle.

The Lower Permian amphibian *Cardiocephalus* is generally considered terrestrial because of its morphology and of its presence in the fossiliferous locality of Fort Sill, that seems to preserve a terrestrial community [39,50]. The inference model yields an amphibious to terrestrial lifestyle for this taxon.

The small parareptile *Phaanthosaurus*, from the Triassic of Russia, is probably closely related to turtles, like all parareptiles [27,32,33,40]. Our model confirms the terrestrial lifestyle usually attributed to *Phaanthosaurus* [32].

Discussion

The greater compactness of the femur of aquatic lissamphibians confirms results of several previous studies on various stegocephalian taxa [5,8,22,36,38,42,44,52], but seems to conflict with the results of the two other studies on the relationship between skeletal mass and compactness and lifestyle in anurans [10,31]. Indeed, Castanet and Caetano [10] found that two amphibious ranid species (*Rana perezi* et *Rana esculenta*) have a lower relative skeletal mass and a smaller cortico-diaphyseal index (i.e., a greater parameter P and a lower compactness) than two more terrestrial congeneric species (*Rana temporaria* et *Rana dalmatina*). Leclair et al. [31] found that in seven species of anurans (*Bufo americanus*, five species of *Rana* and *Xenopus laevis*), the proportion of the corporal mass represented by the skeleton is lower in aquatic to amphibious taxa than in terrestrial taxa. This contradiction is more apparent than real, because we have not studied the relative mass of the skeleton, that is not necessarily tightly correlated with skeletal compactness. The observed difference in the cortico-diaphyseal index [10] may be partly explained by a size effect, because there is an interaction between parameter P (and hence, the cortico-diaphyseal index) and body size [30 (table 3)], and the amphibious ranids studied by Castanet and Caetano [10] were larger than the terrestrial ones [10 (table 1)]. However, there is no real contradiction with our results because we have found no statistically significant differences between amphibious and terrestrial lissamphibian species, but only between aquatic and other (amphibian and terrestrial) species. The sample studied by Castanet and Caetano [10] included no aquatic species. Hence, their study [10] found a difference where we found none, perhaps because they had a greater intraspecific sample (from 31

to 48 individuals per species, whereas ours included only one to 21 individuals per species, with an average of only 2.3 individuals per species).

The results obtained on the femur of lissamphibians suggest that bone microstructural data can be used to reconstruct the history of the conquest of land by vertebrates. The inference models that we produced cannot be used to infer the lifestyle of mid-sized to large stegocephalians because they are based on lissamphibians, that are relatively small animals, and body size includes ecological information. Thus, bone microstructural data on extant taxa of larger body size have to be gathered to complete this research program [18]. We are also studying the bone microstructure of *Eusthenopteron*, a primitively aquatic sarcopterygian from the Devonian, that will provide a valuable basis for comparison with potentially primitively aquatic stegocephalians, and that will be used to produce better inference models. Finally, other bones (e.g., humerus, radius and tibia) are being studied [18], because we do not know which will yield the most reliable ecological signal.

Glossary

Stegocephali (stegocephalians): the most inclusive clade which includes *Eryops megacephalus*, but not *Panderichthys rhombolepis*. Definition modified from Laurin [23]. This taxon includes all limbed vertebrates and perhaps a few that possessed paired fins.

Tetrapoda (tetrapods): the least inclusive clade that includes *Ascaphus truei* and *Homo sapiens*. Definition modified from Gauthier et al. [17] to make it conform to the PhyloCode [9]. This taxon is the smallest clade that includes lissamphibians and amniotes. It excludes several limbed vertebrates, contrary to the established use of this name in paleontology, but has the advantage of referring to the clade that is usually described under that name in the neontological literature [26].

Amphibia (amphibians): the most inclusive clade that includes *Ascaphus truei*, but not *Homo sapiens*. Definition modified from Gauthier et al. [16] to make it conform to the PhyloCode [9]. Contrary to the traditional use of this term in paleontology, this taxon does not contain all anamniotic limbed vertebrates.

For more information on the nomenclature of stegocephalians, see Laurin [24].

1. Introduction

Il a été démontré que l'apparition du membre chirodien ne coïncide pas avec le début de la conquête de

l'environnement terrestre par les vertébrés, puisque les premiers stégocéphales (vertébrés munis d'un membre chiridien) étaient probablement aquatiques. Cette idée n'est pas réellement nouvelle, puisque Romer [45,46] envisageait déjà un mode de vie largement aquatique pour les premiers stégocéphales (dans cet article, les définitions phylogénétiques des noms de taxons correspondent généralement aux premières définitions formulées et sont résumées dans le glossaire). Cependant, cette hypothèse reçut une confirmation supplémentaire : des indices ostéologiques suggèrent la présence de branchies internes chez le stégocéphale du Dévonien *Acanthostega* [12,13]. De même, la forme du stapes (os de l'oreille moyenne) d'*Ichthyostega* indique que la réception du son s'effectuait en milieu aquatique [12]. La présence de sillons qui abritaient la portion céphalique de l'organe acoustico-latéral chez de nombreux stégocéphales du Carbonifère et du Permien suggère également que, plusieurs dizaines de millions d'années après l'apparition du membre chiridien, de nombreux stégocéphales étaient encore aquatiques [35, 48]. Le membre chiridien semble donc être apparu chez des animaux surtout, ou même exclusivement, aquatiques, et il n'a probablement servi à la marche sur terre ferme que bien plus tard. Sa fonction initiale n'est pas connue, mais on peut envisager qu'il assistait la locomotion dans un environnement aquatique, comme les nageoires du dipneuste actuel *Protopterus*, qui participent parfois à la marche sur un substrat submergé ([21] et observation personnelle de M.L.).

Le mode de vie terrestre chez des stégocéphales anciens est plus difficile à mettre en évidence, puisque l'absence de sillons sur le crâne de stégocéphales ne prouve pas que cet organe fût absent. En effet, de nombreux lissamphibiens aquatiques actuels (*Siren*, protéidés, *Amphiuma*, pipidés, *Telmatobius*, etc.) possèdent cet organe, mais ce dernier ne laisse jamais de trace sur le crâne ([14] et observation personnelle de M.L.). La morphologie des stégocéphales du Paléozoïque est difficile à utiliser pour déterminer leur mode de vie, car elle est peu spécialisée par rapport aux amniotes, chez qui le retour à un mode de vie aquatique s'est souvent traduit par une transformation du membre chiridien en palette natatoire (plésiosaures, ichthyosaures, mosasaures, pinnipèdes, cétacés, etc.). Le degré d'ossification a été utilisé pour inférer le mode de vie de vertébrés éteints [53], car les épiphyses (extrémités) des os longs ainsi que les éléments du carpe et du tarse sont souvent peu ossifiés chez les vertébrés aquatiques, ce qui constitue une régression de l'ossification enchondrale. Cependant, ce critère doit être utilisé prudemment, car les

jeunes individus de taxons terrestres (entre autres) ont un squelette peu ossifié. Des caractères histologiques, comme la présence de cartilage calcifié dans des stades ontogénétiques avancés, sont également souvent associés à un mode de vie aquatique, mais peuvent également refléter la néoténie. La présence de grandes quantités de cartilage calcifié est connue surtout dans certains lissamphibiens à la fois néoténiques et aquatiques. Il n'est donc pas certain que la présence de ce caractère chez des vertébrés éteints indique une néoténie, un mode de vie aquatique, ou les deux.

Nous avons choisi de travailler sur la microanatomie osseuse. En effet, de nombreuses études antérieures ont montré que le retour à un mode de vie aquatique chez les tétrapodes s'accompagne de modifications microstructurales des os [4–8,22,30,36,38,43,44,52]. Chez les tétrapodes qui vivent en eau peu profonde ou qui sont récemment retournés à la vie aquatique (ce qui peut être déterminé par une optimisation du mode de vie sur une phylogénie incorporant une estimation des temps de cladogenèses et incorporant les taxons éteints pertinents), les os (Fig. 1A et B) sont généralement plus compacts que chez leurs proches parents terrestres [36, 44]. Chez les vertébrés qui plongent profondément et qui nagent activement, le squelette tend plutôt à s'alléger, mais la région médullaire est généralement remplie d'os spongieux (Fig. 1D). Cette adaptation existe chez les cétacés du Néogène [6], chez la plupart des ichthyosaures [4,38], les plésiosaures [52], etc. En revanche, les tétrapodes terrestres ont généralement un cortex compact et une grande cavité médullaire (Fig. 1C). Les données microanatomiques figurent donc parmi les sources d'informations potentiellement les plus utiles pour déterminer le mode de vie des stégocéphales anciens [43].

La plupart des études antérieures qui ont tenté d'utiliser la microanatomie osseuse pour inférer le mode de vie ont utilisé une méthode d'analyse visuelle qualitative, consistant à inférer le mode de vie à partir de l'aspect de l'os. Cette technique peut être appliquée avec succès lorsque des adaptations évidentes indiquent un mode de vie aquatique, mais, dans de nombreux autres cas, elle est difficile à exploiter et demande une grande expérience de l'ostéologie comparée. Ainsi, elle a été appliquée à certains vertébrés du Paléozoïque, tels des stégocéphales [43], des sauropsidés [42] et des synapsidés [41], mais elle a donné des résultats plus probants chez des amniotes du Mésozoïque, tels les champsosaures [8], les ichthyosaures [7], les placodontes [5], les plésiosaures [52] et les crocodiliens [22], chez qui les adaptations à un mode de vie aquatique étaient plus

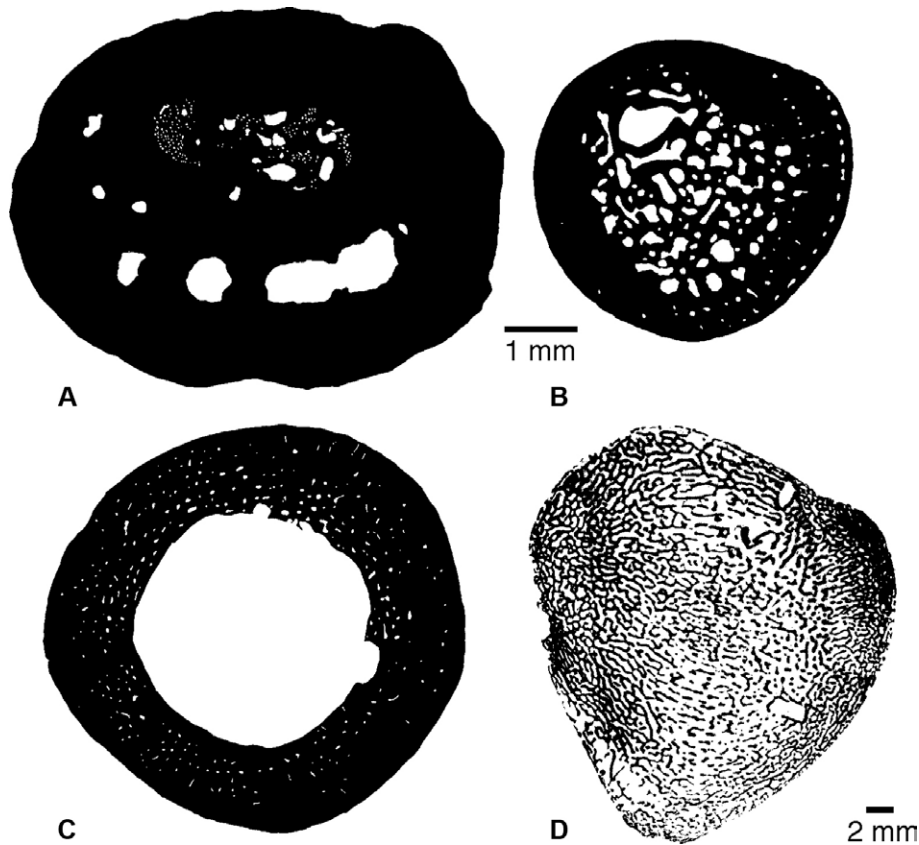


Fig. 1. Sections transversales diaphysaires d'os longs de tétrapodes actuels aquatiques (A,B,D) ou terrestres (C). (A) Humérus de l'urodèle aquatique *Andrias japonicus*, montrant une ostéosclérose poussée, qui résulte en une grande compacité ; (B) fémur de la tortue palustre (surtout aquatique) *Pelodiscus sinensis*, relativement compact et possédant une spongiosa médullaire bien développée ; (C) fémur de l'anouère terrestre *Bufo marinus*, montrant une grande cavité médullaire et une compacité globale relativement faible ; (D) humérus du cétacé *Delphinus delphis* montrant une spongiosa très développée et l'absence de compacta, souvent caractéristique de vertébrés aquatiques plongeant en eau profonde et à nage très active. À cause de sa grande taille, l'humérus de *D. delphis* a été reproduit à une échelle différente de celle utilisée pour les trois autres os.

Fig. 1. Diaphyseal cross-sections of long bones of extant aquatic (A, B, D) or terrestrial (C) tetrapods. (A) Humerus of the aquatic urodele *Andrias japonicus*, showing extreme osteosclerosis that results in great compactness; (B) femur of the aquatic turtle *Pelodiscus sinensis*, showing an extensive medullary spongiosa and great compactness; (C) femur of the terrestrial anuran *Bufo marinus* showing a great medullary cavity and a low overall compactness; (D) humerus of the cetacean *Delphinus delphis*, showing an extensive spongiosa and the absence of a cortical compacta characteristic of fully aquatic tetrapods that live in deep water and swim actively. Because of its large size, the humerus of *D. delphis* is reproduced with a different scale.

évidentes. Puisque les stégocéphales du Paléozoïque ont une microstructure souvent difficile à interpréter, nous avons développé une série de méthodes d'analyses quantitatives. Nous espérons ainsi pouvoir inférer le mode de vie de taxons pour lesquels un examen visuel de lames minces ne permettrait pas d'obtenir d'interprétations bien étayées.

2. Matériel et méthodes

Comme ces méthodes ont été présentées en détail par ailleurs [19,30], cette section ne présentera que l'essentiel et tentera d'apporter quelques précisions supplé-

mentaires sur le traitement statistique des données. Nous avons développé un modèle mathématique permettant d'exprimer non seulement la quantité de tissu osseux contenu sur une coupe transversale (ici, des lames minces non décalcifiées de la région mi-diaphysaire, mais n'importe quel type de préparation histologique peut être modélisé) d'os long, mais également sa distribution. Ce modèle comporte quatre paramètres qui correspondent approximativement à la compacité dans la région médullaire (*Min*), dans la portion superficielle de la corticale (*Max*), à la taille relative de la région médullaire (*P*) et à la largeur de la zone de transition (*S*) entre compacta et cavité ou spongiosa médullaire

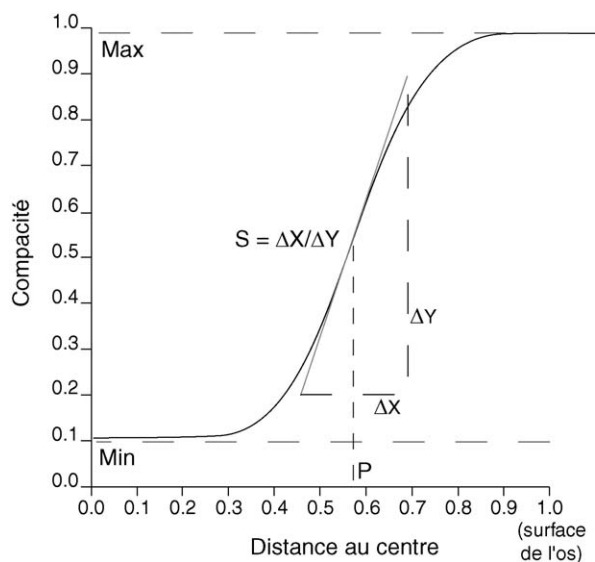


Fig. 2. Modèle mathématique du profil de compacité. Les quatre paramètres sont illustrés. Un tel profil, avec un *Min* nettement supérieur à 0 et un *Max* nettement plus élevé que le *Min*, correspond généralement à un os possédant une spongiosa médullaire bien développée et avec une compacta corticale bien différenciée, comme le fémur de *Pelodiscus sinensis* (Fig. 1B). Adapté de Laurin et al. [30] ; reproduit avec la permission de la Paleontological Society.

Fig. 2. Mathematical model of the compactness profile. The four parameters are shown. The profile shown, with a positive *Min* and a much greater *Max* indicates a bone with an extensive medullary spongiosa and a well-differentiated cortical compacta, like the femur of *Pelodiscus sinensis* (Fig. 1B). Modified from Laurin et al. [30]; reproduced with permission from the Paleontological Society.

(Fig. 2). Ce modèle a été décrit par Girondot et Laurin [19], mais il peut être utile de le résumer ici en français. La compacité de l'os C en fonction de la distance d par rapport au centre de la coupe est exprimée par la fonction sigmoïdale suivante :

$$C(d) = \frac{1}{1 + e^{\frac{P-d}{S}}} (Max - Min) + Min$$

où P est la distance relative entre le centre de croissance de l'os et le point d'inflexion, soit le point où le gradient de compacité est le plus élevé. P est donc la distance entre le point d'inflexion et le centre, divisée par le rayon de l'os. Il existe une relation simple avec l'indice cortico-diaphysaire (ICD), souvent utilisé en ostéologie comparée [11] ; il correspond à $1 - ICD$. S est l'inverse de la pente au point P . *Max* est l'asymptote supérieure. *Min* est l'asymptote inférieure. *Min* est généralement nulle chez les vertébrés terrestres qui ont une cavité médullaire libre de travées (Fig. 1C), mais ce paramètre peut prendre des valeurs positives chez de

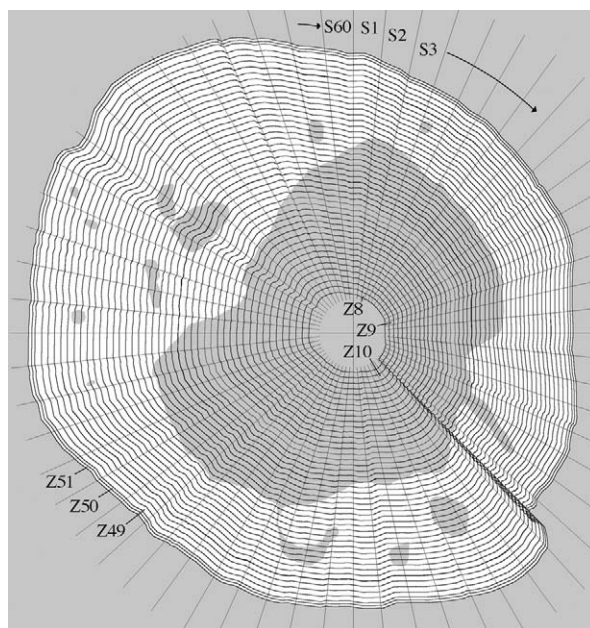


Fig. 3. Modalité d'échantillonnage de la compacité sur une section utilisée par Bone Profiler. La compacité est évaluée sur 60 secteurs de 6° chacun (S 1–60); seuls quelques-uns sont identifiés ici, subdivisés en 51 zones (les zones 1–7, près du centre de croissance, n'ont pas été dessinées, faute d'espace). Les 3060 valeurs de compacité résultantes sont ensuite utilisées pour établir 60 profils de compacité qui interviennent dans le calcul du profil global de la section. Adapté de Laurin et al. [30] ; reproduit avec la permission de la Paleontological Society.

Fig. 3. Sampling method used by Bone Profiler. The compactness is evaluated in 60 sectors measuring 6° each (1–60; only a few are identified), each of which is subdivided into 51 zones (zones 1–7, near the centre, were not drawn). The resulting 3060 compactness values are used to calculate 60 compactness profiles that are used to produce the global compactness profile of the section. Reproduced from Laurin et al. [30]; reproduced with permission from the Paleontological Society.

nombreux tétrapodes aquatiques possédant une spongiosa médullaire (Fig. 1A, B et D).

Pour recueillir ces données, nous avons développé le logiciel Bone Profiler [19], qui peut analyser une image et recueillir des données sur la compacité osseuse sur 51 zones concentriques et 60 secteurs de 6°, dont l'intersection délimite 3060 surfaces (Fig. 3). Ces données permettent d'établir 60 profils de compacité sur une coupe complète, mais une coupe incomplète peut également être utilisée, ce qui est particulièrement utile pour le matériel fossile, souvent fragmentaire ou endommagé. Les moyennes et écarts-types de chaque variable sont calculées, les valeurs aberrantes (situées à plus de quatre écarts-types de la moyenne) sont retirées et la procédure est répétée autant de fois que nécessaire. Cette procédure permet donc d'obtenir non seulement

de l'information sur la moyenne de chaque paramètre, mais également de sa variabilité.

L'analyse sur laquelle cet article est fondé concerne le fémur de 105 individus [30 (annexe 2)] appartenant à 46 espèces de lissamphibiens (23 d'urodèles et 23 d'anoures). Les lissamphibiens se prêtent très bien à une telle analyse, car leur mode de vie est très variable ; à partir d'un mode de vie initialement amphibie [51], de nombreux groupes sont devenus terrestres ou aquatiques (Fig. 4). Un arbre évolutif incorporant les temps de divergence entre toutes les espèces incluses a été produit à partir de phylogénies publiées précédemment [30]. Les temps de divergence ont été estimés à partir de l'âge géologique du plus ancien fossile faisant partie de chaque clade et à l'aide d'estimations d'âges de divergence, obtenues par des analyses moléculaires (Fig. 4).

L'étape suivante consiste en une analyse pour déterminer quels caractères renferment de l'information écologique. Plusieurs techniques d'analyse ont été utilisées. La plus connue est l'analyse de concentration des changements (*concentrated changes test*) décrite par Maddison [37]. Ce test repose sur le fait que, si aucune corrélation n'existe entre deux caractères, la distribution d'un caractère indépendant n'aura pas d'influence sur la fréquence ou la direction des changements du caractère dépendant. Il requiert une phylogénie complètement résolue, ignore la longueur des branches et ne peut être utilisé que pour des données discrètes. Il a donc fallu discrétiser les variables qui étaient pour la plupart continues (sauf le mode de vie), ce qui n'est pas entièrement satisfaisant.

Un second test, plus intéressant dans ce contexte, car applicable à des données continues ou à un jeu de données comprenant à la fois des caractères discrets et continus, est la régression linéaire multiple permutée. Ce test fut utilisé par Legendre et al. [34] pour étudier les caractères corrélés avec l'évolution du cerveau des marsupiaux. Legendre et al. [34] avaient choisi d'utiliser une taxonomie simple dans laquelle les marsupiaux étaient classés en trois ordres, ce qui équivaut à utiliser une phylogénie très peu résolue, avec trois clades, et sans information sur la longueur des branches. Cependant, une phylogénie complètement résolue incorporant la longueur des branches peut également être utilisée, ce que nous avons fait. Les variables sont ensuite converties, caractère par caractère, en matrices de distances. Pour les caractères quantitatifs, nous avons simplement utilisé la valeur absolue de la différence entre les taxons, pris par paires (Fig. 5). Pour les caractères discrets binaires (comme

le mode de vie, qui était codé 0 pour les taxons aquatiques et 1 pour les taxons amphibies ou terrestres), la distance entre deux taxons est simplement 1 lorsque leurs états diffèrent et 0 lorsqu'ils sont identiques. Finalement, la distance phylogénétique entre les taxons est simplement le temps évolutif qui les sépare (Fig. 5). Une régression linéaire multiple est ensuite faite sur l'ensemble des matrices, ce qui permet d'obtenir des coefficients de régression entre chaque variable indépendante (longueur axiale, compacité du fémur, position phylogénétique) et la variable dépendante (mode de vie). Les valeurs de la variable dépendante sont ensuite permutées aléatoirement et l'analyse de régression multiple est répétée, ce qui résulte en un nouvel ensemble de coefficients de régression. Un grand nombre de permutations aléatoires (typiquement, au moins 999, mais dans cette étude, nous en avons fait 9999) permet de générer une distribution nulle de coefficients de régression. La relation sera jugée significative, si la valeur initiale du coefficient de régression, pour une variable indépendante donnée, est supérieure à au moins 95% des valeurs de coefficient de régression, obtenues sur les données permutées. Cette procédure de permutation offre l'avantage de ne pas requérir la normalité de la distribution des données. Cet avantage est critique, car nous cherchions à déterminer quelles variables permettaient de déterminer le mode de vie. Ce dernier était codé comme une variable discrète (0,1) et devait être la variable dépendante. Or, dans des régressions classiques, la variable dépendante doit avoir une distribution normale (elle doit donc être continue, ou au moins posséder suffisamment d'états pour que cette approximation soit valable). Les permutations permettent de s'affranchir de cette contrainte. Cette méthode est moins connue que celle des contrastes phylogénétiques indépendants [15], mais elle est flexible et a été récemment utilisée pour étudier l'évolution de la taille corporelle chez les stégocéphales [25].

Nous avons établi des modèles mathématiques permettant d'inférer le mode de vie de stégocéphales éteints à partir de données sur la taille corporelle et le profil de compacité. Les modèles ont été établis à l'aide de régressions logistiques incorporant une pondération phylogénétique (cette pondération attribue un poids égal à deux groupes frères, même si le nombre d'espèces ou d'individus présents dans ces deux clades est très inégal). Ces modèles ont été produits en minimisant la différence entre le mode de vie observé (chez les lissamphibiens actuels) et le mode de vie inféré par le modèle à partir de l'information sur la microstructure

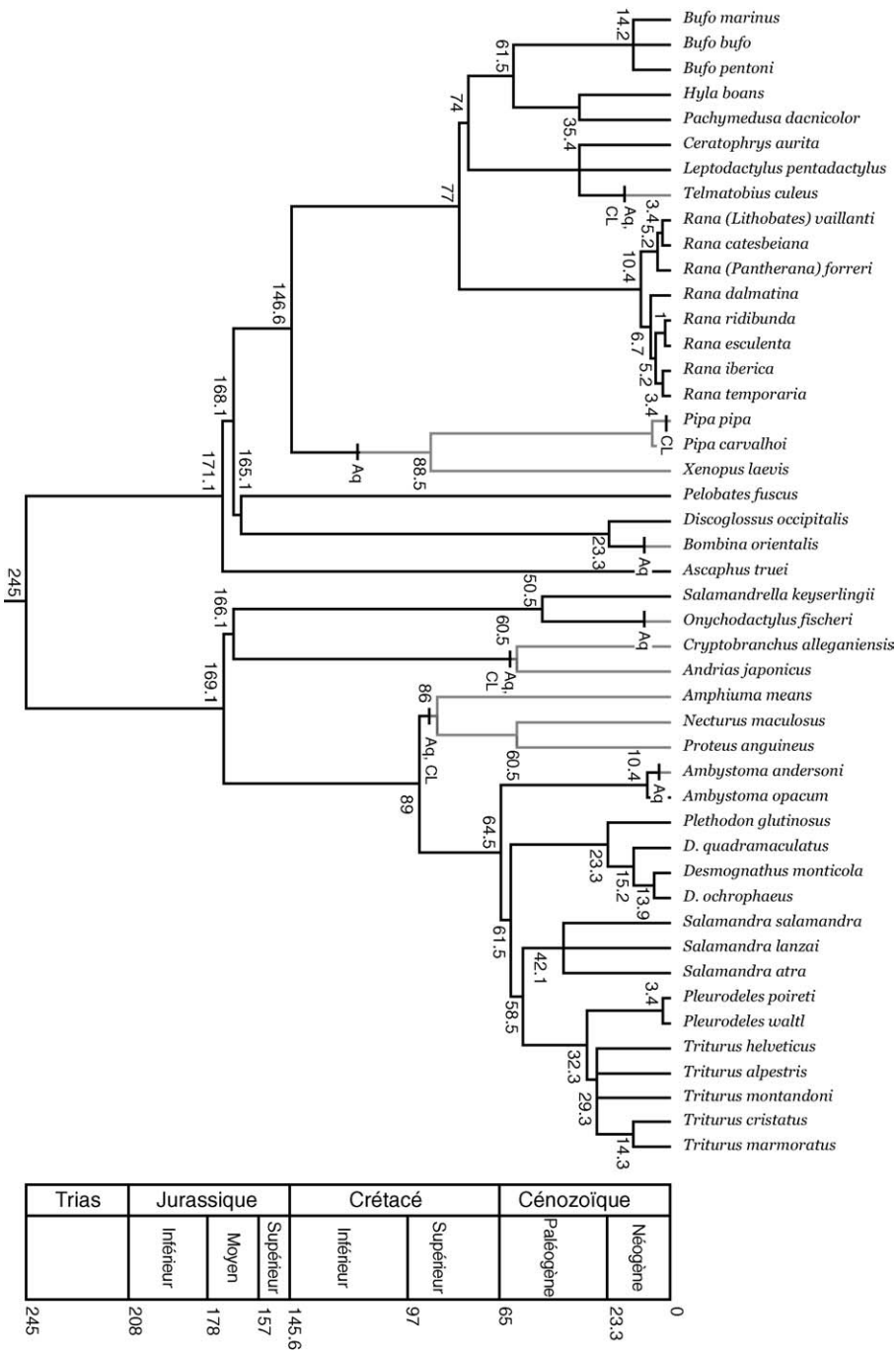
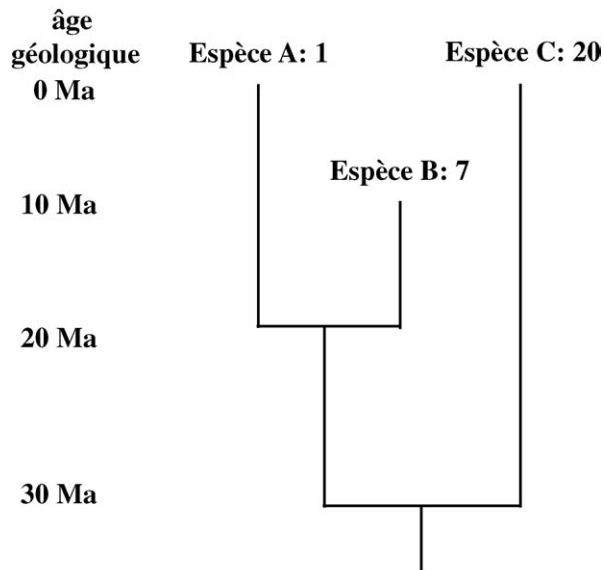


Fig. 4. Phylogénie des lissamphibiens inclus dans l’analyse. Les chiffres situés à la base des branches indiquent l’âge minimum des divergences. L’évolution du mode de vie et celle du produit de la compacité osseuse et de la longueur axiale sont tracées sur l’arbre afin de montrer la corrélation entre les deux. Les branches grisées représentent des taxons aquatiques ; les branches noires représentent des taxons amphibiens ou terrestres. Les temps géologiques et âges de divergence sont exprimés en millions d’années avant le présent. Légende : CL, augmentation du produit de la compacité fémorale et du logarithme naturel (ln) de la longueur axiale (cm) au-dessus de 1.8 ; Aq, acquisition d’un mode de vie aquatique. Aucune différence n’est faite entre les taxons amphibiens et terrestres, car les différences entre ces deux catégories écologiques ne sont pas statistiquement significatives. Adapté de Laurin et al. [30] ; reproduit avec la permission de la Paleontological Society.



Matrice de distances phénotypique

Taxons	A	B	C
A	-	6	19
B		-	13
C			-

Matrice de distances phylogénétiques

Taxons	A	B	C
A	-	30	60
B		-	50
C			-

Fig. 5. Exemple montrant comment les matrices de distances phénotypiques et phylogénétiques nécessaires au test de régressions multiples permutées peuvent être calculées. Dans cet exemple, un seul caractère phénotypique est illustré, ainsi que la phylogénie. Les matrices de distances correspondantes sont données (en bas). Notez que comme ces matrices sont symétriques et que la distance entre un taxon et lui-même est toujours nulle, seule une moitié de la matrice (ici, la supérieure) sans la diagonale doit être codée.

Fig. 5. Example showing how to compute the phenotypic and phylogenetic distance matrices required to perform permuted multiple linear regressions. In this example, a single phenotypic character and the phylogeny are shown. The corresponding distance matrices are given below. Note that since these matrices are symmetrical, and that the distance between a taxon and itself is always 0, only half of the matrix (here, the upper one) without the diagonal needs to be coded.

Fig. 4. Phylogeny of the lissamphibians included in this analysis. The numbers near the base of the branches indicate the minimal age of divergence. The evolution of lifestyle and that of the product of femoral compactness and axial length are optimized to show their correlation. Grey branches represent aquatic taxa; black branches represent amphibious or terrestrial taxa. The geological ages and divergence times are expressed in million years before present. Legend: CL, increase in the product of femoral compactness and logarithm (ln) of axial length (cm) to a value greater than 1.8; Aq, acquisition of an aquatic lifestyle. No difference is drawn between amphibious and terrestrial taxa because the differences between these two ecological categories are not statistically significant. Redrawn from Laurin et al. [30]; reproduced with permission from the Paleontological Society.

osseuse (paramètres bc_i , avec i de 1 à 4), le diamètre de la coupe (paramètre bc_5) et sur le logarithme de la taille de l'individu utilisée comme covariable.

$$h = \frac{1}{1 + e^{\left(C_0 + \sum_{i=1}^5 (C_{1i} bc_i^{C_{2i}} \ln \text{longueur précréé}) \right)}}$$

Onze paramètres (C_0 , C_{1i} et C_{2i} , avec i de 1 à 5) sont estimés par la méthode des moindres carrés, de façon à ce que l'habitat calculé par ce modèle, nommé h , soit le plus proche de l'habitat observé pour l'espèce considérée. Ce modèle peut être simplifié en posant $C_{1i} = 0$, ce qui implique une absence d'information de la caractéristique osseuse i sur l'habitat de vie de l'espèce.

Un de ces modèles a ensuite été utilisé pour inférer le mode de vie de quatre stégocéphales (Fig. 6) représentant quatre grands clades (Temnospondyli, Embolomeri, Amphibia et Amniota).

3. Résultats

Le test de concentration des changements montre que la compacité observée du fémur, le paramètre P (qui lui est fortement corrélé) et la longueur axiale (mesurée entre atlas et vertèbre sacrée chez les urodèles, entre l'atlas et l'extrémité postérieure de l'urostyle chez les anoures) renferment de l'information écologique [30]. Les lissamphibiens aquatiques ont en moyenne une plus grande taille corporelle ($p = 0,01$) et un fémur plus compact ($p = 0,042$) que leurs plus proches parents terrestres ou amphibiens. Il semble d'ailleurs y avoir une interaction entre tous ces caractères, car le produit de la compacité fémorale et du logarithme naturel (\ln) de la longueur axiale est encore plus étroitement corrélée au mode de vie ($p = 0,001$).

Le test de régressions multiples permutées confirme que la longueur axiale ($p = 0,0026$) et le paramètre P du profil de compacité ($p = 0,0225$) sont corrélés à l'habitat [30 (tableau 4)] ; le sens de la relation ne peut pas être établi à l'aide de ce test, car il a été effectué sur des matrices de distances.

Deux modèles permettant d'inférer le mode de vie ont été produits par régression logistique avec pondération phylogénétique [30 (tableau 6)]. Les deux modèles donnent des inférences comprises entre 0 et 1 (0, aquatique ; 1, amphibie ou terrestre, puisque nous n'avons pas trouvé de différences statistiquement significatives entre les lissamphibiens amphibiens et terrestres). Le premier modèle est fondé sur les 46 espèces

de lissamphibiens ; il requiert l'estimation de 11 constantes et estime correctement le mode de vie de 85% des 105 individus ou 82% des 46 espèces. Nous pensons que le taux d'erreur, relativement élevé, résulte en partie des différences de proportions (et peut-être de modes de locomotion) importantes entre les anoures et les urodèles. De plus, pour inférer le mode de vie des stégocéphales anciens, nous pensons que les anoures risqueraient de nous induire en erreur, car les stégocéphales avaient des proportions corporelles se rapprochant davantage de celle des urodèles. Nous avons donc produit un second modèle fondé sur les 23 espèces d'urodèles. Il ne requiert l'estimation que de quatre constantes et nécessite de l'information sur la valeur du paramètre P du profil de compacité, le diamètre maximal de la section osseuse et la longueur axiale. Il estime correctement le mode de vie de 39 des 41 individus et de 21 des 23 espèces d'urodèles.

L'application du modèle fondé sur les urodèles à quatre stégocéphales anciens donne des résultats généralement cohérents avec le mode de vie attribué à ces taxons dans la littérature [30 (tableau 7)].

Le petit temnospondyle *Doleserpeton* du Permien inférieur d'Amérique du Nord est généralement considéré comme ayant été le plus proche parent connu des lissamphibiens [2,3,47], mais la plupart des analyses phylogénétiques récentes en font plutôt un tétrapode-souche [1,23,28,29,51]. On considère généralement que *Doleserpeton* était terrestre [3] ; cette interprétation est confirmée par le modèle d'inférence logistique.

Chroniosaurus est un embolomère du Permien supérieur de Russie [20]. C'est un des derniers représentants de ce groupe, qui est apparu au Carbonifère inférieur, a connu son apogée au Carbonifère supérieur et s'est finalement éteint pendant le Trias. Golubev [20] a suggéré que *Chroniosaurus* était aquatique. Notre modèle logistique infère pourtant un mode de vie amphibie ou terrestre. Ceci n'est pas forcément une erreur, puisque *Chroniosaurus* possédait des ostéodermes massifs articulés les uns aux autres et aux épines neurales [20]. Ceci pourrait correspondre à une adaptation pour renforcer le squelette axial et mieux soutenir le poids de l'animal hors de l'eau, ce qui impliquerait un mode de vie amphibie ou terrestre.

L'amphibien du Permien d'Amérique du Nord, *Cardiocephalus*, est généralement considéré comme ayant été terrestre, à cause de sa morphologie et de sa présence dans le site fossilifère de Fort Sill, qui semble préserver une communauté terrestre [39,50]. Le modèle attribue également un mode de vie amphibie ou terrestre à ce taxon.

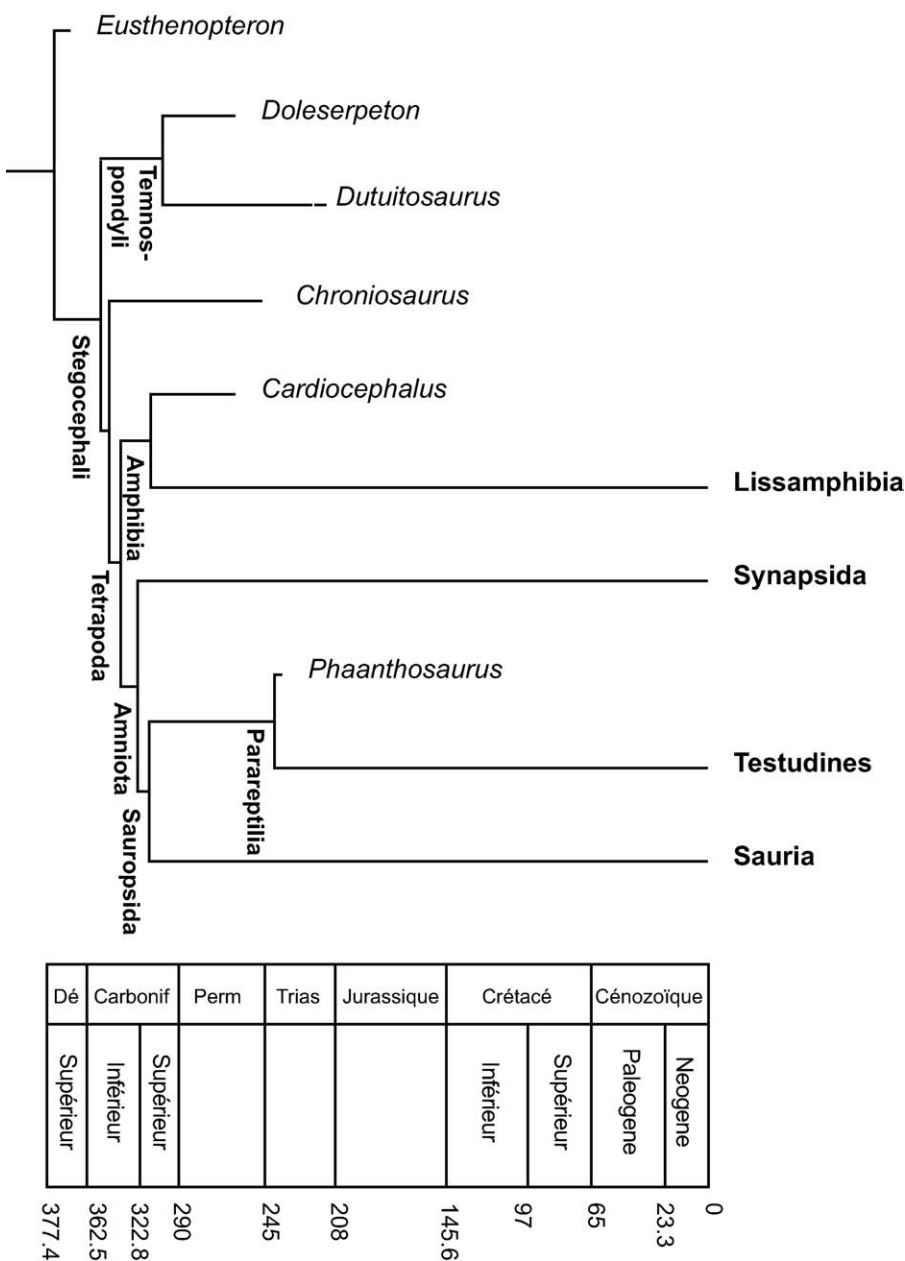


Fig. 6. Phylogénie de quatre stégocéphales anciens, dont le mode de vie a été inféré à l'aide du modèle logistique [30], montrant leurs liens de parenté avec les grands groupes de tétrapodes actuels et avec le sarcoptérygien ancien *Eusthenopteron*. Le temnospondyle *Dutuitosaurus*, dont le mode de vie a été déterminé à l'aide de comparaisons qualitatives de profils de compacité [49], est également inclus. La phylogénie a été prise de Laurin [23] et Laurin et Reisz [27]. Abréviations : Carbonif, Carbonifère ; Dé, Dévonien ; Perm, Permien. Adapté de Laurin et al. [28] ; reproduit avec la permission de la Paleontological Society.

Fig. 6. Phylogeny showing the four early stegocephalians whose lifestyle has been inferred using a logistic model [30], *Eusthenopteron*, and major clades of extant tetrapods. The temnospondyl *Dutuitosaurus*, whose lifestyle has been determined using qualitative comparisons of compactness profiles [49], is also shown. The phylogeny is taken from Laurin [23] and Laurin et Reisz [27]. Abbreviations: Carbonif, Carboniferous; Dé, Devonian; Perm, Permian; Trias, Triassic. Redrawn from Laurin et al. [28]; reproduced with permission from the Paleontological Society.

On attribue généralement un mode de vie terrestre au petit parareptile *Phaanthosaurus*, du Trias de Russie. Cet animal est probablement apparenté aux tortues, comme l'ensemble des parareptiles [27,32,33,40]. Cette interprétation est confirmée par notre étude, qui indique un mode de vie amphibie ou terrestre pour ce petit procolophonidé.

4. Discussion

L'augmentation de compacité du fémur des lissamphibiens aquatiques confirme les résultats de nombreuses études précédentes sur divers groupes de stégocéphales [5,8,22,36,38,42,44,52], mais semble contredire les résultats des deux seules études précédentes, portant sur la relation entre masse et compacité squelettique et mode de vie chez les anoures [10,31]. En effet, Castanet et Caetano [10] ont trouvé que deux espèces de ranidés amphibies (*Rana perezi* et *Rana esculenta*) ont une masse squelettique proportionnellement plus faible et un indice cortico-diaphysaire plus faible (donc un paramètre P plus élevé et une compacité plus faible) que deux congénères plus terrestres (*Rana temporaria* et *Rana dalmatina*). Leclair et al. [31] ont trouvé que, chez sept espèces d'anoures (*Bufo americanus*, cinq espèces du taxon *Rana* et *Xenopus laevis*), la proportion de la masse corporelle représentée par le squelette est plus faible chez les taxons aquatiques que chez les taxons terrestres. Cette contradiction est plus apparente que réelle, car nous n'avons pas étudié la masse relative du squelette, qui n'est pas forcément étroitement dépendante de sa compacité. La différence observée dans l'indice cortico-diaphysaire [10] pourrait s'expliquer en partie par un effet de la taille corporelle, car il y a une interaction entre le paramètre P (et donc l'indice cortico-diaphysaire) et la taille corporelle [30 (tableau 3)]; or, les ranidés amphibies étudiés étaient plus grands que les ranidés terrestres [10 (tableau 1a)]. Cependant, il n'y a pas véritablement de contradiction avec nos résultats, car nous n'avons pas trouvé de différence statistiquement significatives entre espèces amphibies et terrestres, mais seulement entre les espèces aquatiques et les autres (amphibies et terrestres); or, l'étude de Castanet et Caetano [10] n'incluait aucune espèce aquatique. Cette dernière étude a donc trouvé une différence où nous n'en avons pas trouvée, peut-être grâce à des effectifs importants (de 31 à 48 individus par espèce) à l'intérieur de chaque espèce (alors que la nôtre n'incluait que de 1 à 21 individus par espèce, avec une moyenne de seulement 2,3 individus par espèce).

Les résultats obtenus sur le fémur des lissamphibiens laissent présager la grande utilité des données microanatomiques pour reconstituer l'histoire de la conquête de l'environnement terrestre par les vertébrés. En plus des quatre stégocéphales anciens discutés ci-dessus, le mode de vie du grand temnospondyle du Trias marocain *Dutuitosaurus* a été inféré, grâce à des comparaisons qualitatives de profils de compacité osseuse de 24 espèces de tétrapodes actuels [49]. Cette étude suggère que *Dutuitosaurus* était aquatique, au moins pendant la partie de l'ontogenèse représentée par les spécimens étudiés, ce qui est conforme aux études précédentes. Le mode de vie de trois amniotes (les synapsides *Ophiacodon* et *Lystrosaurus* et le diapside *Pachypleurosaurus*) a été inféré [18] à partir de données sur le profil de compacité de leur radius et de leur taille corporelle.

La petite taille corporelle de la plupart des lissamphibiens rend les modèles que nous avons développés inutilisables pour déterminer le mode de vie de nombreux stégocéphales anciens, qui étaient de taille souvent nettement plus grande. En effet, la taille des individus est une variable ayant une grande importance pour l'inférence de l'habitat des individus. Pour pouvoir reconstituer l'histoire de la conquête de l'environnement terrestre par les vertébrés, il faut donc étudier la relation entre microstructure osseuse et mode de vie chez des taxons de plus grande taille corporelle, comme les amniotes [18]. Il est également souhaitable d'étudier d'autres os que le fémur, car il n'est pas certain que ce dernier renferme le plus d'informations sur le mode de vie; des études comparables sur d'autres os longs (humérus, radius et tibia) ont donc été entreprises. L'étude sur le radius des amniotes [18] indique la présence, dans cet os, d'un signal important sur l'habitat, ce qui permet des inférences de mode de vie plus fines (à trois états : aquatique, amphibie et terrestre) que celles obtenues avec le fémur des lissamphibiens. L'étude du radius permet également d'incorporer à l'analyse, des taxons dont le membre postérieur est vestigial ou absent, comme les cétacés et les lamantins. Finalement, l'étude d'amniotes permet de produire des inférences de mode de vie plus fiables pour les reptiliomorphes éteints.

Un doute subsiste quant à la validité de l'application d'un modèle fondé sur les urodèles pour inférer le mode de vie de stégocéphales qui se situent à l'extérieur de ce clade (Fig. 6). En effet, cette procédure serait plus rigoureuse si elle n'était appliquée qu'à l'intérieur du clade (ici les urodèles ou Caudata) dans lequel la corrélation entre microstructure osseuse et

mode de vie a été étudiée ; c'est le concept *extant phylogenetic bracket* de Witmer [54], que nous traduisons librement par l'expression « clade d'inférence justifiée ». Les études en cours sur les amniotes élargiront ce clade à l'ensemble des tétrapodes (Fig. 6), mais les embolomères comme *Chroniosaurus* et les temnospondyles comme *Doleserpeton* resteront à l'extérieur du clade d'inférence justifié. Il est impossible d'élargir ce clade davantage en étudiant la nature actuelle, car l'endosquelette appendiculaire des plus proches parents actuels des tétrapodes (les dipneustes) est cartilagineux et les deux éléments du zeugopode (radius et ulna ou tibia et fibula) sont fusionnés l'un à l'autre. Pour surmonter cette difficulté, nous étudions la microstructure des nageoires d'*Eusthenopteron*, un sarcoptérygien du Dévonien supérieur qui était aquatique, puisqu'il possédait des nageoires paires, des branchies internes, un organe latéral bien développé et des lépidotriches. Avec l'ensemble de ces données, nous espérons pouvoir développer des modèles d'inférences fiables pour reconstituer le mode de vie de l'ensemble des stégocéphales du Paléozoïque.

Remerciements

Nous remercions Sabine Renous (MNHN) et Armand de Ricqlès (Collège de France) pour nous avoir invités à présenter ce travail dans le cadre du congrès *Aspects de la morphologie fonctionnelle aujourd'hui ; hommage à Jules-Étienne Marey*, Louise Zylberberg (CNRS) pour avoir corrigé le texte, Vivian de Buffrénil pour nous avoir permis d'utiliser une de ses lames histologiques (Fig. 1D), ainsi que deux lecteurs anonymes, pour diverses suggestions ayant permis d'améliorer le texte.

Références

- [1] J.S. Anderson, The phylogenetic trunk: maximal inclusion of taxa with missing data in an analysis of the Lepospondyli (Vertebrata, Tetrapoda), *Syst. Biol.* 50 (2) (2001) 170–193.
- [2] J.R. Bolt, Lissamphibian origins: possible protolissamphibian from the Lower Permian of Oklahoma, *Science* 166 (1969) 888–891.
- [3] J.R. Bolt, Dissorophoid relationships and ontogeny, and the origin of the Lissamphibia, *J. Paleontol.* 51 (1977) 235–249.
- [4] V. de Buffrénil, J.-M. Mazin, Bone histology of the ichthyosaurs: comparative data and functional interpretation, *Paleobiology* 16 (1990) 435–447.
- [5] V. de Buffrénil, J.-M. Mazin, Contribution de l'histologie osseuse à l'interprétation paléobiologique du genre *Placodus* Agassiz, 1833 (Reptilia, Placodontia), *Rev. Paléobiol.* 11 (1992) 397–407.
- [6] V. de Buffrénil, D. Schoevaert, On how the periosteal bone of the delphinid humerus becomes cancellous: ontogeny of a histological specialization, *J. Morphol.* 198 (1988) 149–164.
- [7] V. de Buffrénil, J.-M. Mazin, A. de Ricqlès, Caractères structuraux et mode de croissance du fémur d'*Omphalosaurus niseri*, ichthyosaurien du Trias moyen de Spitsberg, *Ann. Paléontol.* 73 (1987) 195–216.
- [8] V. de Buffrénil, A. de Ricqlès, D. Sigogneau-Russell, E. Bufretaut, L'histologie osseuse des champsosauridés : données descriptives et interprétation fonctionnelle, *Ann. Paléontol.* 76 (1990) 255–275.
- [9] P.D. Cantino, K. de Queiroz, PhyloCode: a phylogenetic code of biological nomenclature. Version 2b, <http://www.ohio.edu/phylocode>, 2004.
- [10] J. Castanet, M.-H. Caetano, Influence du mode de vie sur les caractéristiques pondérales et structurales du squelette chez les amphibiens anoures, *Can. J. Zool.* 73 (1995) 234–242.
- [11] J. Castanet, K. Curry Rogers, J. Cubo, J.-J. Boisard, Periosteal bone growth rates in extant ratites (ostrich and emeu). Implications for assessing growth in dinosaurs, *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. III* 323 (2000) 543–550.
- [12] J.A. Clack, P.E. Ahlberg, S.M. Finney, D.P. Alonso, J.D. Robinson, R.A. Ketcham, A uniquely specialized ear in a very early tetrapod, *Nature* 425 (2003) 65–69.
- [13] M.I. Coates, J.A. Clack, Fish-like gills and breathing in the earliest known tetrapod, *Nature* 352 (1991) 234–236.
- [14] W.E. Duellman, L. Trueb, *Biology of Amphibians*, McGraw-Hill, New York, 1986 (670 p).
- [15] J. Felsenstein, Phylogenies and the comparative method, *Am. Nat.* 125 (1985) 1–15.
- [16] J. Gauthier, D.C. Cannatella, K. de Queiroz, A.G. Kluge, T. Rowe, Tetrapod phylogeny, in: B. Fernholm, K. Bremer, H. Jornvall (Eds.), *The Hierarchy of Life*, Elsevier Science Publishers B.V., Biomedical Division, New York, 1989, pp. 337–353.
- [17] J. Gauthier, A.G. Kluge, T. Rowe, The early evolution of the Amniota, in: M.J. Benton (Ed.), *The Phylogeny and Classification of the Tetrapods, Volume 1, Amphibians, Reptiles, Birds*, Clarendon Press, Oxford, UK, 1988, pp. 103–155.
- [18] D. Germain, M. Laurin, Microanatomy of the radius and lifestyle in amniotes (Vertebrata, Tetrapoda), *Zool. Scr.* 34 (2005) 335–350.
- [19] M. Girondot, M. Laurin, Bone profiler: A tool to quantify, model and statistically compare bone section compactness profiles, *J. Vertebr. Paleontol.* 23 (2003) 458–461.
- [20] V.K. Golubev, Narrow-armored chroniosuchians (Amphibia, Anthracosauromorpha) from the Late Permian of Eastern Europe, *Paleontol. J.* 32 (1998) 278–287.
- [21] P.H. Greenwood, The natural history of African lungfishes, in: W.E. Bemis, W.W. Burggren, N.E. Kemp (Eds.), *The Biology and Evolution of Lungfishes*, Alan R. Liss, New York, 1986, pp. 163–180.
- [22] S. Hua, V. de Buffrénil, Bone histology as a clue in the interpretation of functional adaptations in the Thalattosuchia (Reptilia, Crocodylia), *J. Vertebr. Paleontol.* 16 (1996) 703–717.
- [23] M. Laurin, The importance of global parsimony and historical bias in understanding tetrapod evolution. Part I – Systematics, middle ear evolution, and jaw suspension, *Ann. Sci. Nat., Zool.*, 13 Ser. 19 (1998) 1–42.
- [24] M. Laurin, Travaux récents sur l'évolution et la paléocologie des stégocéphales, *Bull. Soc. Herpetol. Fr.* 96 (2000) 25–37.

- [25] M. Laurin, The evolution of body size, Cope's rule and the origin of amniotes, *Syst. Biol.* 53 (2004) 594–622.
- [26] M. Laurin, J. Anderson, Meaning of the name Tetrapoda in the scientific literature: an exchange, *Syst. Biol.* 53 (2004) 68–80.
- [27] M. Laurin, R.R. Reisz, A reevaluation of early amniote phylogeny, *Zool. J. Linn. Soc.* 113 (1995) 165–223.
- [28] M. Laurin, R.R. Reisz, A new perspective on tetrapod phylogeny, in: S. Sumida, K. Martin (Eds.), *Amniote Origins – Completing the Transition to Land*, Academic Press, London, 1997, pp. 9–59.
- [29] M. Laurin, R.R. Reisz, A new study of *Solenodonsaurus janenschii*, and a reconsideration of amniote origins and stegocephalian evolution, *Can. J. Earth Sci.* 36 (1999) 1239–1255.
- [30] M. Laurin, M. Girondot, M.-M. Loth, The evolution of long bone microstructure and lifestyle in lissamphibians, *Paleobiology* 30 (2004) 589–613.
- [31] R. Leclair Jr., C. Lamontagne, A. Aubin, Allométrie de la masse du squelette chez des amphibiens anoures, *Can. J. Zool.* 71 (1993) 352–357.
- [32] M.S.Y. Lee, Historical burden in systematics and the interrelationships of 'Parareptiles', *Biol. Rev.* 70 (1995) 459–547.
- [33] M.S.Y. Lee, Molecules, morphology, and the monophyly of diapsid reptiles, *Contrib. Zool.* 70 (2001) 1–18.
- [34] P. Legendre, F.-J. Lapointe, P. Casgrain, Modeling brain evolution from behavior: a permutational regression approach, *Evolution* 48 (1994) 1487–1499.
- [35] J.-P. Lehman, Rachitomi, in: J. Piveteau (Ed.), *Traité de Paléontologie*, Vol. 5, Masson, Paris, 1955, pp. 67–125.
- [36] S.I. Madar, Structural adaptations of early archaeocete long bones, in: J.G.M. Thewissen (Ed.), *The Emergence of Whales – Evolutionary Patterns in the Origin of Cetacea*, Vol. 1, Plenum Press, New York, 1998, pp. 353–378.
- [37] W.P. Maddison, A method for testing the correlated evolution of two binary characters: are gains or losses concentrated on certain branches of a phylogenetic tree?, *Evolution* 44 (1990) 539–557.
- [38] F.B. Nopsca, Vorläufige Notiz über die Pachyostose und Osteosklerose einiger mariner Wirbeltiere, *Anat. Anz.* 56 (1923) 353–359.
- [39] E.C. Olson, Early Permian Vertebrates, *Circ. Okla. Geol. Surv.* 74 (1967) 1–111.
- [40] R.R. Reisz, M. Laurin, *Owenetta* and the origin of turtles, *Nature* 349 (1991) 324–326.
- [41] A. de Ricqlès, Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes. IV. – Eothériodontes et pélycosaures, *Ann. Paléontol.* 60 (1974) 1–39.
- [42] A. de Ricqlès, Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes V. – Cotylosaures et mésosaures, *Ann. Paléontol.* 60 (1974) 171–216.
- [43] A. de Ricqlès, Recherches paléohistologiques sur les os longs des tétrapodes. VI. – Stégocéphales, *Ann. Paléontol.* 67 (1981) 141–160.
- [44] A. de Ricqlès, V. de Buffrénil, Bone histology, heterochronies and the return of tetrapods to life in water: were we?, in: J.-M. Mazin, V. de Buffrénil (Eds.), *Secondary adaptation of tetrapods to life in water*, Vol. 1, Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, 2001, pp. 289–310.
- [45] A.S. Romer, in: *Origin of the amniote egg*, *The Scientific Monthly*, 1957, pp. 57–63.
- [46] A.S. Romer, Tetrapod limbs and early tetrapod life, *Evolution* 12 (1958) 365–369.
- [47] M. Ruta, M.I. Coates, D.L.J. Quicke, Early tetrapod relationships revisited, *Biol. Rev.* 78 (2003) 251–345.
- [48] J.S. Steyer, Conquest of land by temnospondyls, *J. Morphol.* 260 (2004) 331–332.
- [49] J.S. Steyer, M. Laurin, J. Castanet, A. de Ricqlès, First histological and skeletochronological data on temnospondyl growth; palaeoecological and palaeoclimatological implications, *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 206 (2004) 193–201.
- [50] C. Sullivan, R.R. Reisz, First record of *Seymouria* (Vertebrata: Seymouriamorpha) from Early Permian fissure fills at Richards Spur, Oklahoma, *Can. J. Earth Sci.* 36 (1999) 1257–1266.
- [51] G. Vallin, M. Laurin, Cranial morphology and affinities of *Microbrachis*, and a reappraisal of the phylogeny and lifestyle of the first amphibians, *J. Vertebr. Paleontol.* 24 (2004) 56–72.
- [52] J. Wiffen, V. de Buffrénil, A. de Ricqlès, J.-M. Mazin, Ontogenetic evolution of bone structure in Late Cretaceous Plesiosauria from New Zealand, *Geobios* 28 (1995) 625–640.
- [53] S.W. Williston, A new family of reptiles from the Permian of New Mexico, *Am. J. Sci.* 31 (1911) 378–398.
- [54] L.M. Witmer, The extant phylogenetic bracket and the importance of reconstructing soft tissues in fossils, in: J.J. Thomason (Ed.), *Functional morphology in vertebrate paleontology*, Vol. 1, Cambridge University Press, New York, 1995, pp. 19–33.

Glossaire

Stegocephali (stégocéphales) le plus grand clade qui inclut *Eryops megacephalus* mais pas *Panderichthys rhombolepis*. Définition adaptée de Laurin [23]. Ce taxon inclut tous les vertébrés munis d'un membre chirodien, et peut-être quelques-uns qui possédaient des nageoires paires.

Tetrapoda (tétrapodes) le plus petit clade, qui inclut *Ascapus truei* et *Homo sapiens*. Définition adaptée de Gauthier et al. [17] pour la rendre plus conforme au PhyloCode [9]. Ce taxon correspond au plus petit clade qui inclut les amniotes et les lissamphibiens. Il exclut donc plusieurs vertébrés munis d'un membre chirodien, contrairement à l'acception traditionnelle de ce terme. Cette définition présente le désavantage de n'être pas conforme au sens paléontologique et étymologique du terme, mais elle est plus cohérente avec le sens qui est réellement attribué au nom *Tetrapoda* dans la plus grande partie des études néontologiques [26].

Amphibia (amphibiens) le plus grand clade qui inclut *Ascapus truei*, mais pas *Homo sapiens*. Définition adaptée de Gauthier et al. [16] pour la rendre plus conforme au PhyloCode [9]. Contrairement à l'acception traditionnelle de ce terme, il ne regroupe pas tous les stégocéphales, à l'exclusion des amniotes. Pour plus d'information sur la nomenclature des stégocéphales anciens, voir Laurin [24].