

## **Biom mineralización: cuando los organismos crean minerales**

Ismael Coronado

Área de Paleontología. Departamento de Geografía y Geología. Universidad de León. Facultad de Ciencias Biológicas. Campus de Vegazana s/n, 24071, León. ([icorv@unileon.es](mailto:icorv@unileon.es))

### **Resumen**

Los sistemas bióticos y abióticos se entrelazan, en su máxima expresión, durante la formación de biom minerales. Estos son minerales producidos por los organismos, ayudados de macromoléculas orgánicas, los cuales forman esqueletos y estructuras esqueléticas (como dientes, huesos, conchas, espículas...) de una manera precisa, que involucra una maquinaria celular sincronizada y que tienen una función biológica muy específica. El estudio de la biom mineralización es multidisciplinar y tiene un enfoque diverso: ingeniería, biología, química, paleontología. Este artículo resume qué es la biom mineralización, cuándo aparece en la historia de la Tierra, tipos de biom mineralización, el papel de la matriz orgánica en la biom mineralización, los controles (genéticos y ambientales) de la biom mineralización, así como el papel de los estudios sobre biom mineralización empleando fósiles.

### **Palabras clave**

biocristalización, crecimiento cristalino, diagénesis, esqueletos, fósiles, matriz orgánica.

### **Un enfoque multidisciplinar**

Es habitual en ciencia y también en educación diferenciar los objetos naturales en dos mundos separados: el biológico y el geológico. Pero esta no es más que una visión antrópica del mundo natural, como muchas otras, que intenta de alguna manera catalogar nuestro entorno simplificando los procesos y relaciones que se producen. Hoy en día se sabe que estos dos mundos o sistemas, el biótico y abiótico, se entrelazan desde el origen de la historia de la Tierra hasta niveles insospechados, formando intrincados ciclos biogeoquímicos (Bashkin y Howarth, 2003) y registrando información muy valiosa que nos ayuda a reconstruir el clima, los cambios ambientales y evolutivos que acontecen y han acontecido en la historia de nuestro planeta (Cuif et al., 2011; Pérez-Huerta et al., 2018). Uno de los exponentes de esta interacción, y que tiene un alto impacto en los ciclos biogeoquímicos, son los minerales producidos por los seres vivos, es decir, los biom minerales.

Tanto los procesos de biom mineralización como las estructuras mineralizadas son y han sido motivo de interés para científicos de disciplinas diversas: paleontología, sedimentología, medicina, odontología, ciencia de materiales, acuicultura, biotecnología, ciencias ambientales, biología, química, etc. Los datos que proporciona su estudio son variados, aunque las propiedades estructurales y mecánicas son sin duda el mayor atractivo para la industria biomédica (implantes) y tecnológica (fibra óptica, lentes), así como los datos geoquímicos aportados por conchas y esqueletos (paleoclimatología y ciclos biogeoquímicos) lo son para las Ciencias de la Tierra. Se puede resumir el interés en la biom mineralización en tres ámbitos de estudio: 1) la compren-

sión de los mecanismos que controlan la síntesis de biominerales (biocristalización), tanto de organismos actuales como de fósiles; 2) la síntesis *in vitro* de materiales bioinspirados con el fin de replicar (i.e., biomimesis) las propiedades cristalo-químicas o físicas de biominerales naturales para su posterior empleo en ciencias de la salud, biotecnología o ingeniería; y 3) la extracción de información paleoclimática, paleoambiental y evolutiva, con el objetivo de reconstruir el pasado de la Tierra, una información clave para comprender nuestro presente.

Actualmente, diferentes disciplinas trabajan sinérgicamente con el fin de ampliar el conocimiento sobre los procesos y patrones que controlan la formación de biominerales desde el punto de vista biótico y abiótico (Cuif et al., 2011; Pérez-Huerta et al., 2018) y los resultados de éstas soportan nuevas hipótesis y arrojan luz sobre estos procesos vagamente conocidos de biocristalización.

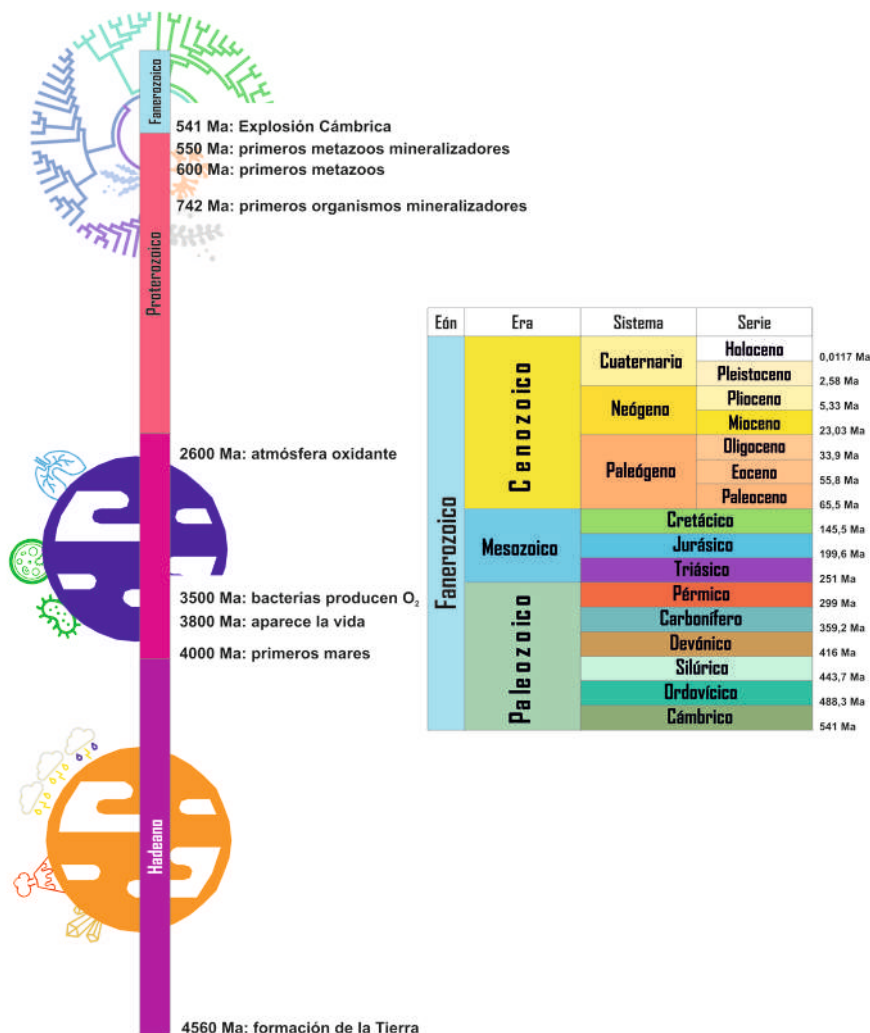
### **Minerales y seres vivos en la historia de la Tierra**

La Tierra tiene una historia llena de emocionantes capítulos que transcurren a lo largo de unos 4560 millones de años (Ma en lo sucesivo). Sin duda, uno de los más interesantes es la aparición de la vida, y con ella, de los innumerables cambios que los seres vivos producen en el planeta. La vida surge hace, aproximadamente, entre 4000 - 3800 Ma y hace ~3500 Ma las bacterias comenzaron a exhalar oxígeno a la atmósfera (**Fig. 1**). El oxígeno libre en la atmósfera e hidrosfera comenzó a combinarse con ciertos minerales y elementos químicos, formando nuevos minerales y tornando la atmósfera en oxidante hace 2600 Ma (**Fig. 1**). Así, la Tierra pasó de estar formada por unos pocos cientos de especies minerales durante el Arqueano a incrementar gradualmente su número a partir del Proterozoico (Viedma y Soutullo, 2018). Actualmente se conocen 5300 especies minerales, y se descubren más año tras año.

Otro de los grandes hitos de la historia de la vida se produjo cuando los organismos primitivos marinos fueron capaces de biomineralizar (Lowenstam y Weiner, 1989; Pérez-Huerta et al., 2018). La formación de minerales es una reacción compleja que, por regla general en el mundo inorgánico, requiere de altas energías de activación, rangos de temperatura y presión determinados, y alcanzar unas concentraciones químicas en solución adecuadas para que la “magia” de la cristalización tenga lugar (Veis, 2008). Pero los organismos son capaces de eludir estos requisitos en la síntesis de minerales gracias al uso de biopolímeros (*i. e.*, macromoléculas orgánicas) que alteran los patrones de cristalización.

Se cree que, en un primer momento, la mineralización se produjo de manera “fortuita” a partir de la interacción de elementos del metabolismo (excreción, respiración, nutrición, etc.) de las bacterias primitivas con los iones disueltos en el medio. Pero, una vez establecido el proceso y con millones de años de tiempo por delante, los seres vivos perfeccionaron el mecanismo desarrollando tejidos y estructuras biológicas capaces de cristalizar minerales a partir de iones y moléculas del medio. La capacidad de mineralizar agregados cristalinos en forma de esqueletos de manera controlada supuso una revolución evolutiva, su origen en la historia de la Tierra es difícil de precisar. Los relojes moleculares centran la aparición de muchos grupos mineralizadores hace aproximadamente

800 Ma, en el Proterozoico (Fortey et al., 2004), pero no hay evidencias fósiles de estructuras biominerales hasta hace aproximadamente 742 Ma (**Fig. 1**), cuando se encuentran los primeros ejemplos de protocistas mineralizadores en pizarras negras del Grupo Chuarm en el Gran Cañón (Arizona, EE. UU., Porter y Knoll, 2000), preservados en las rocas como moldes calcáreos y silíceos con envueltas orgánicas. Estos primeros organismos unicelulares pertenecen al grupo de las amebas con concha o testa (Testacea) cuyo esqueleto puede ser orgánico, silíceo o carbonático. Coetáneamente aparecieron las primeras “algas” calcificadoras, que se han encontrado en dolomías silicificadas del Grupo Pahrump en la cordillera Kingston (California, EE. UU., Horodyski y Mankiewicz, 1990). Estos fósiles se han agrupado en ese pequeño “cajón de sastre” que la ciencia ha creado para las cosas inciertas (*Incertae sedis*), puesto que no se conoce bien si son afines a cianobacterias o algas eucariotas.



**Figura 1.** Tabla cronoestratigráfica sintética mostrando los principales hitos de la evolución de la biomineralización.

Pero los primeros metazoos mineralizadores se toman su tiempo en aparecer en el registro fósil. Estos no surgen hasta el Ediacárico (Neoproterozoico, 550 Ma), con *Cloudina* y otros taxones asociados (Marin et al., 2014), organismos tubulares sinuosos de afinidades inciertas, que algunos autores consideran que podrían ser cnidarios, algas o anélidos (Shore, 2021). Unos millones de años después, hace 541 Ma (**Fig. 1**), casi en un abrir y cerrar de ojos geológico, se produce una revolución esquelética y aparecen los “verdaderos” metazoos mineralizadores. Esto ocurre en la llamada “Explosión Cámbrica”, momento en el cual surgen muchos filos conocidos, con estructuras mineralizadas (esqueletos o partes esqueléticas) y mineralogías diversas. Estos filos son: poríferos, equinodermos, braquiópodos, artrópodos, moluscos, cordados y los ancestros de los cnidarios (Lowenstam y Weiner, 1989). La capacidad de generar biominerales trajo consigo la aparición de una gran variedad de estructuras esqueléticas como espinas, espículas, placas, conchas, lentes y dientes, que proporcionan al organismo una determinada función biológica, por lo que la formación de esqueletos mineralizados otorgó muchas ventajas adaptativas a varios filos que han sido capaces de diversificarse y prosperar durante más de 500 Ma.

Pero no toda biomineralización supone un beneficio para los seres vivos. Existe también una biomineralización patológica, que se produce por enfermedades genéticas, o trastornos causados por estrés ambiental, y que puede ser perjudicial. De hecho, la falta de mineralización, o su exceso, pueden incluso producir la muerte del organismo. Ejemplos de biomineralización patológica serían: la exostosis múltiple hereditaria y formación de osteocondromas (Pannier y Legeai-Mallet, 2008) y los cálculos en humanos (Wesson y Ward, 2007), o el sobrecrecimiento de otolitos, que afecta a la natación de los peces (Reimer et al., 2016), como se verá más adelante.

### **Biomíneralización**

El término biomineralización se refiere a los procesos, fisiológicos y moleculares, por los cuales los sistemas vivos sintetizan minerales cristalinos o amorfos a partir de soluciones acuosas que contienen iones inorgánicos (“precursores”) y una gran cantidad de macromoléculas y metabolitos (Marin et al., 2014). Este es un proceso habitual en la naturaleza que acompaña a organismos de todos los dominios biológicos (Archaea, Bacteria y Eukaryota). Como se avanzaba anteriormente, los procesos de formación de minerales mediados por organismos son diferentes a aquellos que ocurren en el sistema abiótico (inorgánico). Esto es debido a que los organismos son capaces de modificar las condiciones de equilibrio y las fases minerales locales, así como la cinética de las reacciones. Para ello, incluso cuando las condiciones son desfavorables, crean activamente “microambientes” a partir de la secreción de biopolímeros (Mann, 2001). Se estima que los sistemas biológicos usan más de 60 fases minerales diferentes (Tabla 1), distribuidas en 12 grupos aniónicos (Lowenstam y Weiner, 1989), de los cuales el 20 % son fases amorfas (**Tabla 1**). Aun siendo amorfas, y contradiciendo la definición de mineral (sustancia natural sólida con una estructura cristalina y una composición química definida), la IMA (*International Mineralogical Association*) las

ha aceptado como minerales. Además, muchas de estas especies minerales son polimorfas: tienen la misma composición química pero diferente estructura cristalina. Un ejemplo clásico sería el carbonato cálcico ( $\text{CaCO}_3$ ) cuyos polimorfos y variaciones son: calcita (trigonal), vaterita (hexagonal), aragonito (ortorrómbico) y carbonato cálcico amorfo, entre otros (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Ejemplos de los principales grupos biominerales producidos por organismos.

	Mineral	Composición	Organismo y parte esquelética
Carbonatos	Calcita	$\text{CaCO}_3$	Conchas de braquiópodos, esqueletos de briozoos, huevos de aves, cutículas y ojos de crustáceos, lentes de ofiuroides, conchas de foraminíferos, placas de cocolitofóridos, conchas de moluscos.
	Calcita magnesiánica	$(\text{Mg}_x \text{Ca}_{1-x})\text{CO}_3$	Esqueletos y dientes de equinodermos, espículas de poríferos y cnidarios.
	Aragonito	$\text{CaCO}_3$	Conchas de moluscos, esqueletos de hidrozooos, briozoos y escleractinios, conchas de foraminíferos, y otolitos.
	Vaterita	$\text{CaCO}_3$	Ascidios, perlas, conchas de gasterópodos larvarios y otolitos.
	Protodolomita	$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$	Núcleo de dientes de equinodermos.
	Carbonato cálcico amorfo (al menos 5 fases)	$\text{CaCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ o $\text{CaCO}_3$	Cutícula de crustáceos y fase precursora de calcita o aragonito en moluscos, braquiópodos y equinodermos.
Fosfatos	Francolita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	Huesos y dientes de vertebrados.
	Hidroxiapatito carbonático (Dallita)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{CO}_3)(\text{OH})$	Huesos y dientes de vertebrados.
	Fosfato cálcico amorfo (al menos 6 fases)	Variable y no estequiométrico	Fase precursora en moluscos y vertebrados.
Sulfatos	Yeso	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Estatolitos de cnidarios.
	Barita	$\text{BaSO}_4$	Zona intermedia entre la concha y el manto de algunos bivalvos.
Sílice	Sílice amorfa	$\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	Espículas de esponjas, frústulas de diatomeas, rádula en gasterópodos, conchas de foraminíferos, esqueletos de radiolarios y teca de dinoflagelados.

### Tipos de biomineralización

Usando el control que ejercen los organismos sobre el proceso de mineralización se han diferenciado dos categorías: biomineralización inducida (Lowenstam y Weiner, 1989) y biomineralización controlada (Mann, 2001).

La biomineralización inducida es aquella en la que los minerales son depositados debido a una cristalización “fortuita”, la cual surge derivada de las inte-

racciones secundarias entre los procesos metabólicos del organismo y el ambiente circundante (Mann, 2001). Una vez nucleado el mineral (es decir, cuando ya se ha producido la formación de las primeras partículas minerales o cristalitos) éste adopta un hábito cristalino concreto (tamaño, forma y estructura), que puede ser similar al formado en el medio inorgánico (Weiner y Dove, 2003), y su orientación es aleatoria respecto al sitio de nucleación (Berman, 2008). Una particularidad de este proceso es que la fase mineral está controlada por las condiciones físico-químicas del medio en el que habita el organismo y por sus procesos metabólicos. Un cambio en las condiciones ambientales del medio puede derivar en que se formen diferentes fases minerales. De esta manera, la biomineralización tiene lugar en ambientes abiertos y sin un espacio diferenciado a escala celular o macromolecular específico para este propósito (Lowenstam y Weiner, 1989). Aquellos grupos que generan principalmente minerales bioinducidos son: Bacteria (por ejemplo, cianobacterias en estromatolitos, microbialitas y montículos microbianos que precipitan  $\text{CaCO}_3$  como parte de la respiración celular (Marin et al., 2014; Hoffmann et al., 2021); Archaea y algunos Protistas (por ejemplo, algunas algas verdes y rojas, que mantienen mineralizaciones bioinducidas y biocontroladas, Lowenstam y Weiner, 1989). Ocasionalmente, este proceso tiene lugar también en animales como, por ejemplo, las indeseadas mineralizaciones renales o pancreáticas en vertebrados (Kontoyannis y Vagenas, 2000). Es interesante señalar aquí, que la biomineralización inducida por bacterias tiene un impacto importante en los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre de la Tierra (Hoffmann et al., 2021).

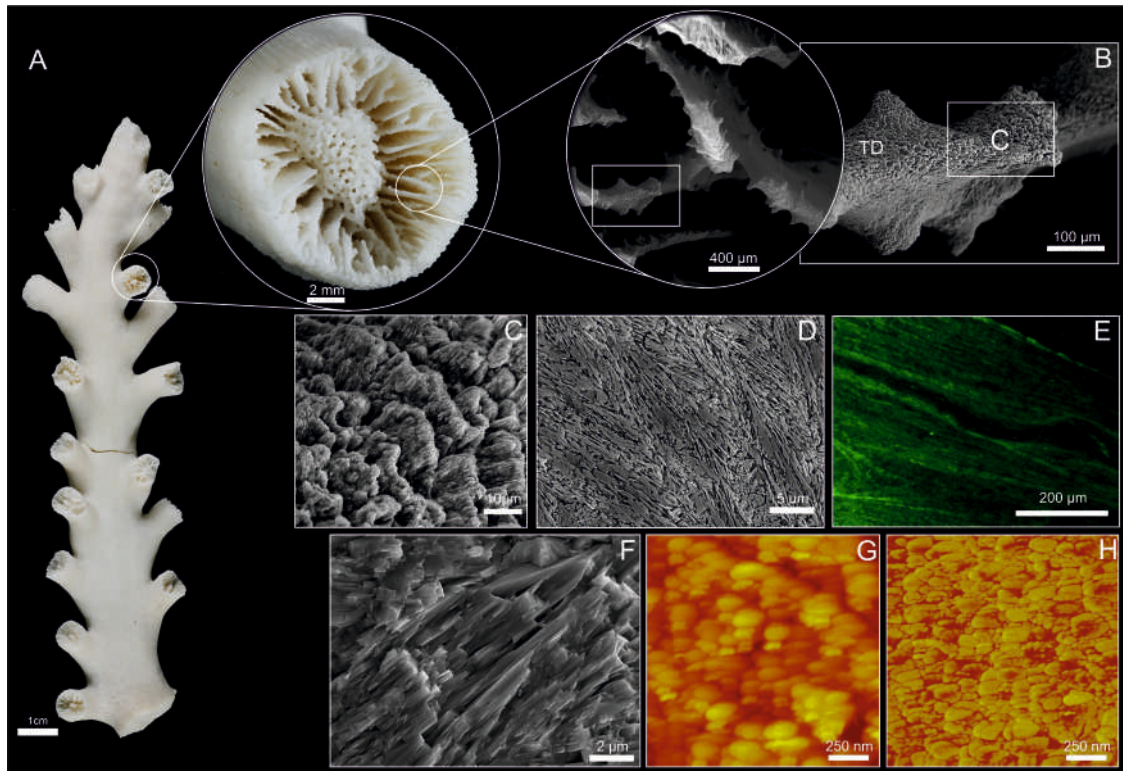
Por otra parte, la biomineralización controlada (**Fig. 2**) es regulada por el organismo y es la más habitual en el dominio Eukaryota, tanto en organismos pluricelulares como unicelulares (por ejemplo, metazoos, cocolitofóridos, foraminíferos). El resultado de este proceso es la formación de elementos esqueléticos, conchas o esqueletos masivos que sirven de protección (conchas y espinas en bivalvos, cáscaras de huevo en aves), soporte estructural (esqueletos en cnidarios), sensores espaciales (otolitos en vertebrados, estatolitos en medusas), sensores ópticos (lentes de quitones y ofiuroideos), sensores magnéticos (magnetosomas en aves), alimentación (dientes en vertebrados, quitones y equinodermos), flotabilidad (conchas de cefalópodos), almacén de elementos (gastrolitos de algunos crustáceos decápodos y gránulos de lombrices de tierra) y movilidad (huesos de vertebrados) (Lowenstam y Weiner, 1989; Mann, 2001; Cuif et al., 2011; Pérez-Huerta et al., 2018). Estas estructuras están formadas por biominerales que tienen unas propiedades cristalino-químicas específicas (Mann, 2001): tamaño uniforme de partículas que forman estructuras con altos niveles de organización espacial y composiciones químicas bien definidas. Los cristales se agregan en texturas (también llamadas ultra- y microestructura) y morfologías complejas con orientaciones cristalográficas preferentes y estructuras jerárquicas altamente organizadas. Es interesante remarcar que cada grupo de organismos tiene unas características únicas a nivel microestructural, mineralógico y geoquímico que por regla general son específicas de cada especie.



**Figura 2.** Ejemplos de biominerales controlados. De izquierda a derecha y arriba abajo: Quitón verde (*Chiton glaucus*, Mollusca), Coral azul (*Heliopora coerulea*, Cnidaria), cocolitóforo (*Emiliana huxleyi*, Haptophyta), foraminíferos (*Elphidium crispum*, Foraminifera), coral órgano (*Tubipora musica*, Cnidaria), oreja de mar con perla (*Haliotis fulgens*, Mollusca), diente de tiburón tigre del Oligoceno (*Galeocерdo aduncus*, Chordata), gránulo de lombriz de tierra (*Lumbricus terrestris*, Annelida), cefalón de trilobites con ojo esquizocroal del Devónico (*Phacops rana*, Arthropoda), cáscaras de huevo de faisán (*Phasianus colchicus*, Chordata). Imágenes de quitón, cocolitóforo, foraminífero, oreja de mar, diente de tiburón tigre y cáscara de huevo han sido tomadas de *Wikimedia Commons*.

Un ejemplo del control que ejercen ciertos organismos en la mineralización se puede ver en la **Figura 3**. En ella se representa una colonia de un coral actual (*Dendrophyllia ramea*) que habita en zonas no muy profundas del mar Mediterráneo (hasta 150 metros). Su esqueleto está formado por cristales de aragonito, un polimorfo del  $\text{CaCO}_3$  que el coral ha sintetizado a partir del bombeo de agua de mar desde el exterior al epitelio. A pesar de la simpleza de los tejidos del coral, este es capaz de formar aragonito, un mineral metaestable a presión y temperatura ambiental. Por regla general, el aragonito cristaliza a altas presiones y temperaturas durante el metamorfismo de rocas previas, y también en medios sedimentarios de zonas muy enriquecidas en ciertos elementos disueltos, como el Mg y sulfatos, lo que puede ocurrir en cuevas y zonas con yesos. Su esqueleto de aragonito implica que el epitelio de *Dendrophyllia* ha sido capaz de bombear agua, concentrarla en puntos concretos donde mineralizar, sobresaturar el medio (concentrar la mayor cantidad de  $\text{CaCO}_3$ ) e inducir la cristalización de pequeñas (micrométricas) agujas de aragonito. Pero no solo eso, los microcristales han cre-

cido formando paquetes que se orientan a lo largo de las estructuras de la colonia y de los pequeños tubos o coralitas que la forman. Por ejemplo, radialmente a lo largo de los septos (tabiques radiales que compartimentan la coralita) y, a su vez, las agujas de aragonito se orientan hacia el exterior, manteniendo el punto más resistente, la punta, hacia afuera (**Fig. 3**). De esta manera crean más adherencia con el epitelio del pólipo, generando esqueletos más resistentes ante, por ejemplo, el embate del oleaje, las corrientes o los predadores.



**Figura 3.** A) Fragmento de colonia de coral escleractinio, *Dendrophyllia ramea*, con un detalle de una de sus coralitas. B-D, F) Imágenes de microscopio electrónico de barrido. B) Detalle de uno de los septos en los que los cristales se agrupan en paquetes (C), con los cristales orientados hacia el exterior. D) Detalle de los paquetes en sección longitudinal donde se ve que los cristales en forma de aguja se orientan radialmente. E) Imagen de microscopía confocal donde se observa la autofluorescencia producida por la matriz orgánica localizada entre los paquetes de cristales. F) Detalle de los cristales de aragonito en forma de aguja. G-H) Imágenes de microscopio de fuerza atómica, en el que se observa la nanotextura (G) y las diferencias composicionales debido a la localización de matriz orgánica (tonos más oscuros) entre cada nanocristal (H). Imagen de elaboración propia.

Si observamos el esqueleto aún más cerca, a escala nanométrica (1 nm es una milmillonésima parte de un metro), podemos ver que las agujas están formadas por pequeños “ladrillos”, los nanocristales, que se orientan en la misma



dirección. Tanto la microestructura como la nanoestructura presentan una estructura jerárquica de cristales de aragonito que, a primera vista, puede parecer desordenada pero que demuestra un control exquisito por parte del coral durante su fabricación.

### **El papel de la matriz orgánica en la formación de minerales**

Al contrario que ocurre en la inducida, la biomineralización controlada no se produce como un producto de la actividad metabólica, sino que necesita de una compleja “maquinaria” o estructura orgánica, formada por biomoléculas funcionales (proteínas, lípidos y carbohidratos), que es moderada por la genética del organismo mineralizador.

La biomineralización debe tener lugar en un medio confinado y aislado del ambiente externo, con lo cual ésta puede darse en cuatro espacios biológicos distintos que dependen de cada grupo de organismos: epicelular (en la pared de la célula); intercelular (en el espacio entre células próximas); intracelular (dentro de un compartimento de la célula, por ejemplo, vesículas); extracelular (en un entramado macromolecular insoluble fuera de la célula). En el caso del ejemplo anterior (**Fig. 3**), la biomineralización en *Dendrophyllia ramea* ocurre de manera extracelular entre el sustrato duro y el epitelio a partir de una trama macromolecular de composición diversa.

Esta “maquinaria” tiene unas funciones específicas, dependientes del grupo u organismo mineralizador. Es posible conocer las funciones de las diferentes macromoléculas a partir de experimentos de cristalización in vitro dopando el medio de cristalización con macromoléculas específicas, aminoácidos o matrices orgánicas extraídas de organismos mineralizadores, por ejemplo, de equinodermos, corales u otolitos (Falini et al., 2011; Rózycka et al., 2019).

Las funciones de las macromoléculas en la biomineralización son:

1. Limitación de la difusión de iones, creando un espacio confinado en el cual los iones “precursores minerales” se acumulan y no fluyen libremente, sobresaturando la solución, delimitando y controlando el espacio de nucleación, por ejemplo, mediante vesículas en los coccolitofóridos y octocorales (Berman, 2008), o tramas macromoleculares en vertebrados, cnidarios y moluscos (Lowenstam y Weiner, 1989; Cuif et al., 2011).
2. Regulación química a partir del bombeo de iones desde el exterior (ya que es necesario mantener la concentración de iones estable en el medio de cristalización); formación de superficies orgánicas que actúan como andamiaje para la nucleación; y control en el crecimiento cristalino y en su morfología final.
3. Estabilización de minerales o “precursores” de los mismos, evitando la disolución o las transformaciones de fase (quiero decir, el paso de un polimorfo a otro), un proceso muy común durante el crecimiento cristalino. Las moléculas se transportan en estado de desequilibrio para favorecer su cristalización en el lugar deseado, como fases metaestables

o amorfas. Por tanto, ciertas macromoléculas hidrófobas pueden crear pequeños ambientes que eviten su transformación hasta que la partícula llega al sitio de cristalización. Un ejemplo de estas partículas es el carbonato cálcico amorfo (ACC, por sus siglas en inglés). Esta fase hidratada es metaestable en el medio de cristalización y se transforma rápidamente a fases estables solo por estar expuesto a la humedad. Para evitar la transformación del ACC muchos organismos emplean membranas formadas por fosfolípidos. Los grupos fosfato de los fosfolípidos inhiben la cristalización del ACC ya que se forman nanopartículas encapsuladas, tipo liposomas, de carbonato amorfo que favorecen su transporte a los lugares de nucleación o crecimiento (Tester y Joester, 2013).

4. Modificación de las propiedades físicas, tales como la fuerza y la resistencia que demandan las estructuras biogénicas (Mann, 2001).

La composición bioquímica de las matrices orgánicas (contenido y composición de proteínas, lípidos y carbohidratos) es dependiente del grupo mineralizador. Al ser diferente en, por ejemplo, corales, moluscos, crustáceos, poríferos, braquiópodos o vertebrados, su funcionalidad a la hora de mineralizar puede ser diferente. Hoy en día se han reconocido más de 200 tipos de proteínas asociadas con la biomineralización en moluscos, unas pocas decenas en los esqueletos de equinodermos y unas 40 en corales escleractinios (Marin et al., 2014). Por otro lado, se han identificado numerosos lípidos relacionados con procesos de biomineralización como ácidos grasos, esteroides, ceramidas, ésteres de esteroides, fosfoglicéridos –que son el constituyente primario de biomembranas, como ocurre en los cocolitofóridos (Berman, 2008)– y fosfolípidos en matrices orgánicas (Isa y Okazaki, 1987), entre otros. Por último, y aunque no menos importante, se han encontrado numerosos carbohidratos asociados a proteínas y lípidos, y también aislados. Estas biomoléculas han recibido poca atención en los estudios de biomineralización porque no se conoce con certeza su papel, pero están muy presentes en las matrices orgánicas, siendo en ocasiones el componente orgánico mayoritario. Los más comunes son: glicosaminoglicanos (mucopolisacáridos) presentes en matrices orgánicas de invertebrados y vertebrados (Lowenstam y Weiner, 1989); polisacáridos con enlaces O-sulfato presentes en las matrices orgánicas ácidas (como polisacáridos ácidos sulfatados) de muchos grupos como equinodermos, foraminíferos, braquiópodos, cnidarios y moluscos (Cuif et al., 2011); y por último el carbohidrato más común en las matrices orgánicas, la quitina.

La quitina es un constituyente común tanto en procesos de biocalcificación (producción de carbonatos en corales, hidrozoos, briozoos, ostrácodos, cangrejos), como en procesos de biosilicificación (mineralización de esqueletos silíceos, como en esponjas, diatomeas, dientes de lapas...). Enlazada a otras macromoléculas (proteínas y lípidos) es capaz de endurecer las matrices orgánicas, dando rigidez a la estructura. Por ejemplo, en crustáceos decápodos (Malacostraca) que mineralizan cutículas y gastrolitos de carbonato cálcico, la quitina es un componente mayoritario, envolviendo los cristales de carbonato (calcita, por ejemplo) y permitiendo que sea un material duro pero flexible.

### Bicompuestos: un éxito evolutivo

Como se ha mencionado anteriormente, el binomio (mineral + biomolécula) es lo que confiere propiedades físicas inimaginables a estas estructuras biominerales y, por ende, a los organismos. La combinación de una matriz orgánica (biopolimérica) y una fase mineral es lo que se denominada bicompuesto (Mann, 2001). Un ejemplo de bicompuesto se puede ver en la **Figura 3**, en el ejemplo del coral *Dendrophyllia ramea*, donde la matriz orgánica se encuentra distribuida alrededor de los paquetes de agujas, pero también alrededor de los nanocristales.

Pero, ¿qué propiedades físicas confieren las biomoléculas a los minerales? Para entenderlo nos tenemos que desplazar a la arquitectura. Los materiales bicompuestos son muy comunes en obras arquitectónicas y de ingeniería civil debido a sus propiedades mecánicas. Por ejemplo, para que un rascacielos pueda ser alto, sus materiales deben ser duros pero flexibles; deben resistir la carga (el peso del edificio y cada una de sus plantas), pero al mismo tiempo deben poder moverse en caso de necesidad, por ejemplo, por terremotos, subsidencia del suelo o el azote del viento (**Fig. 4**). Aunque puedan parecer movimientos sutiles, la fuerza del viento, por ejemplo, puede producir daños estructurales en un rascacielos si no es flexible. Los arquitectos e ingenieros de materiales atenúan los posibles daños mezclando el hormigón que edifica los pilares del edificio con acero, es lo que se conoce como hormigón armado. Y también se puede incluir fibra de vidrio o algún tipo de material plástico. Seguramente, a estas alturas cabe preguntarse por qué se habla de hormigón en un artículo sobre biominerales. El hormigón es la fracción mineral del bicompuesto, mientras que el material dúctil (flexible) es el acero, similar a lo que ocurre en el binomio (mineral + biomolécula) de los biominerales.



**Figura 4.** A) Torre de Shanghái. B) Entramado de acero del hormigón armado y matriz de fibras de colágeno de un hueso de rata desmineralizado. Imágenes de *Wikimedia Commons*.

Un ejemplo de este proceso se puede observar en el colágeno de los huesos (**Fig. 4**), una proteína estructural de los vertebrados que está mezclada con cristales micrométricos de hidroxapatito, lo que les aporta la capacidad de flexión, amortiguación de golpes, resistencia a grandes presiones mandibulares o hidrostáticas (por ejemplo, las soportadas por una ballena a grandes profundidades). Para comprobar la importancia de este colágeno, podemos comparar los huesos

de un ciervo y de una vaca. Un fémur del primero contiene aproximadamente un 20 % más de colágeno que el fémur de una vaca (Mann, 2001), sencillamente porque su función está ligada a saltar y correr a grandes velocidades y este colágeno le confiere mayor capacidad de flexión, al igual que el acero al hormigón de un rascacielos.

### **Tipos de matrices orgánicas**

Como se detallaba anteriormente, las zonas mineralizadoras necesitan de un espacio confinado, el cual puede estar compuesto por una trama semiporosa de macromoléculas orgánicas (matriz orgánica), que previene que la estructura mineral se degrade en ambientes acuosos (por ejemplo, gracias a macromoléculas hidrófobas). Este componente insoluble se denomina matriz orgánica intercrystalina y puede proporcionar el control necesario para el crecimiento del cristal, así como el soporte mecánico, alrededor de un elemento mineralizado, el cual influye sobre la estructura final (Weiner y Traub, 1984). Además, la matriz orgánica puede estar ocluida en los cristales, lo que se conoce como matriz intracrystalina (Addadi et al., 1994). Sin embargo, la superficie hidrófoba de la matriz insoluble no es favorable para la fijación y la organización de iones y precursores hidratados que son necesarios para la cristalización (Mann, 2001). Por ello, a esta fracción insoluble se asocia una componente soluble. Esta se encuentra enriquecida en macromoléculas ácidas, principalmente proteínas con altos contenidos en aminoácidos ácidos (como el ácido aspártico y el ácido glutámico), cuyas estructuras favorecen lugares de enlace con cationes metálicos como el calcio o el magnesio, esenciales en la construcción de la mayoría de los biominerales (Lowenstam y Weiner, 1989; Samata, 1990). La fase soluble, principalmente proteica, juega un papel importante en la nucleación ya que controla el inicio e inhibición del proceso de biocrystalización, así como la elección de la fase polimórfica y el hábito crystalino, o lo que es lo mismo, la forma de los cristales (Falini et al., 1996; Rózycka et al., 2019).

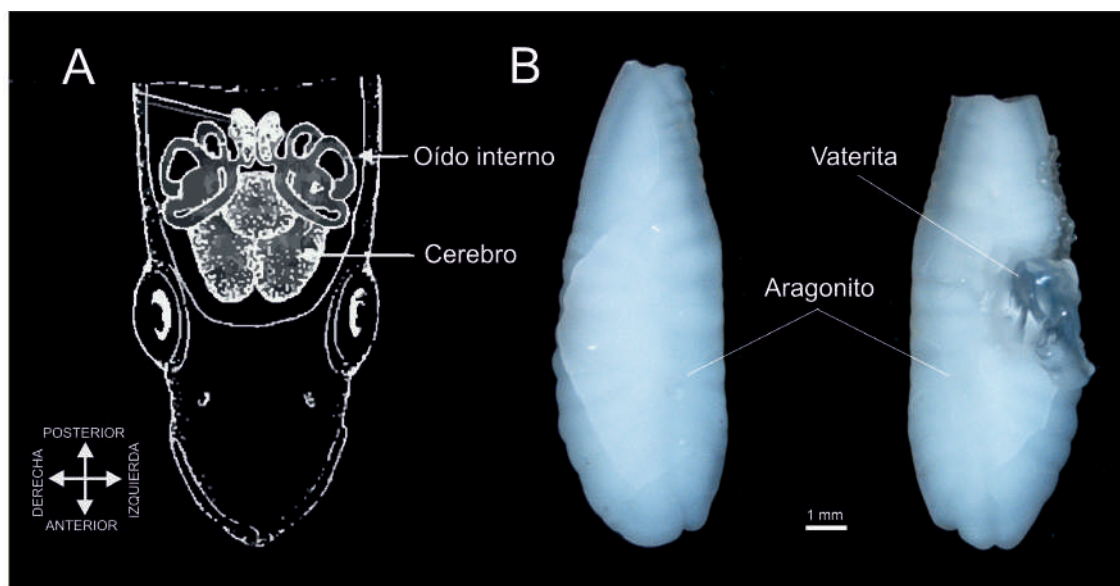
Las matrices orgánicas son esenciales en la protección de los biominerales, sobre todo porque evitan su disolución. Aunque para la percepción humana los minerales son entes eternos, es común que estos se vuelvan inestables y se disuelvan cuando están en ambientes termodinámicamente desfavorables. Por ejemplo, los minerales del grupo de los carbonatos (calcita y aragonito) son estables en agua de mar dependiendo de la temperatura y la profundidad a la que se encuentren. Obviamente, este hecho condiciona los hábitats que los organismos mineralizadores pueden ocupar.

Puesto que en el océano profundo el agua está subsaturada en carbonato, los esqueletos carbonáticos se van a disolver fácilmente. Entonces, ¿cómo es posible que puedan vivir corales con esqueleto carbonático en la Fosa oceánica de las Kuriles? El pequeño coral solitario *Fungiacyathus* es capaz de vivir a unos 6100 m de profundidad (Keller et al., 2007), muy por debajo de la estabilidad del carbonato cálcico. Este coral tiene un esqueleto formado por aragonito que está recubierto totalmente por su pólipo y su esqueleto está enriquecido en matriz orgánica. Un coral, ya sea hermatípico (coral formador de arrecifes, que

suele vivir a poca profundidad) o ahermatípico (no formador de arrecifes, que puede vivir a grandes profundidades), tiene una media de un 3 % en peso de matriz orgánica en su esqueleto (incluyendo a otras especies de *Fungiacyathus* que habitan entre 500 – 800 m de profundidad). Mientras que los *Fungiacyathus* que viven a unos 6100 m presentan aproximadamente un 7 % en peso de matriz orgánica (Coronado y Stolarski, 2019), lo que nos indica que este coral invierte parte de su metabolismo en enriquecer ese esqueleto en matriz orgánica. Ésta juega un papel doble para *Fungiacyathus*: 1) estabiliza el mineral, ralentizando su disolución; 2) favorece el crecimiento, a pesar de que a esas profundidades el medio está subsaturado en carbonato y, por tanto, el coral debe concentrarlo muy lentamente en el lugar de cristalización.

### **Biocristalización anormal: cuando algo falla**

En aquellas situaciones en las que se produce un trastorno genético que genera un mal funcionamiento de las proteínas o una combinación diferente de las mismas, se puede producir una biomineralización patológica. Puesto que la proteína encargada de la activación o la inhibición de la nucleación puede desaparecer, se puede producir un sobrecrecimiento, o una disolución del material mineral (Wesson y Ward, 2007; Dorozhkin, 2011). Complementariamente, si se producen cambios en la composición de la matriz orgánica, en cualquiera de sus niveles, se puede empezar a producir una fase mineral diferente a la habitual (Falini et al., 1996), un proceso que ocurre, por ejemplo, en otolitos de peces.

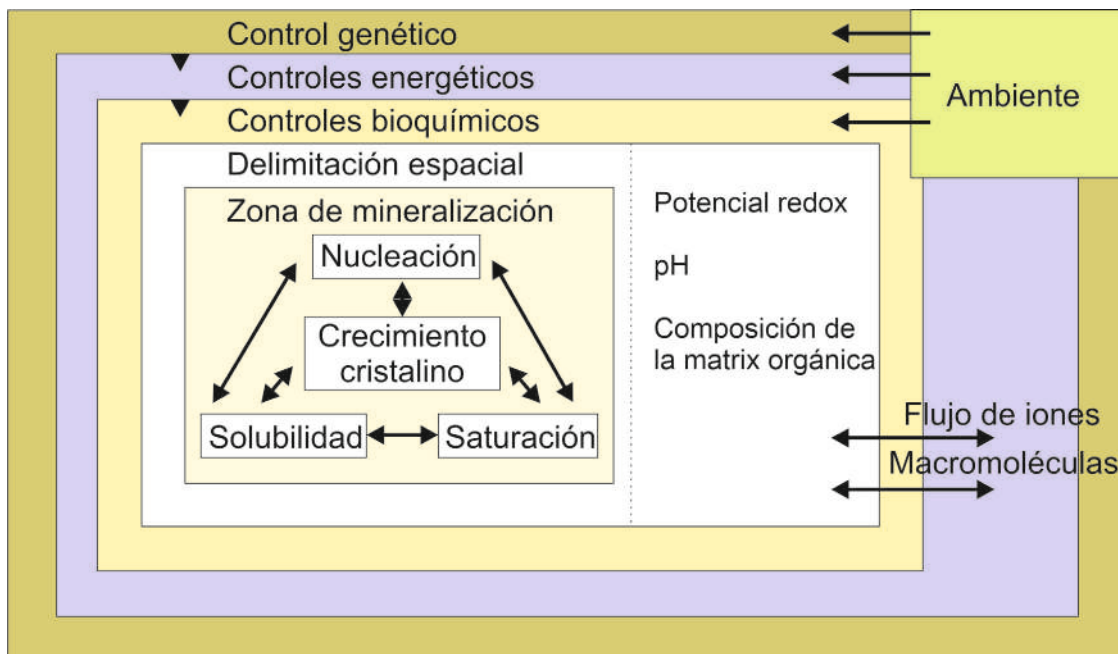


**Figura 5.** A) Representación gráfica del oído interno de un teleosteo. (Modificado de Secor, 1992). B) Otolitos derecho e izquierdo de *Micromesistius poutassou* del Atlántico norte, nótese que el otolito izquierdo presenta una mineralización anormal de vaterita que interrumpe el crecimiento de aragonito y mineraliza descontroladamente.

Los otolitos, o estatolitos, son parte del sistema vestibular del oído interno de los vertebrados, también llamados otoconias o estatoconias (**Fig. 5**). En el caso de los peces, tres pares de partículas cristalizan íntegramente por vaterita, aragonito y, en ocasiones, pequeñas porciones de calcita en su centro, pero en determinadas ocasiones se encuentran otolitos bimineralicos (por ejemplo, crecimiento aragonito y vaterita anormal, Reimer et al., 2016; Stolarski et al., 2017). Puesto que la vaterita ocupa un volumen molar diferente al aragonito, 37,710 vs 35,366 cm<sup>3</sup>/mol, respectivamente, se forman sobrecrecimientos y por tanto otolitos más grandes o aberrantes (**Fig. 5**). Estos otolitos generan un mal funcionamiento del oído interno que conlleva una pérdida severa de audición que afecta a la natación de los peces (Reimer et al., 2016, Stolarski et al., 2017).

### Controles genéticos de la biomineralización

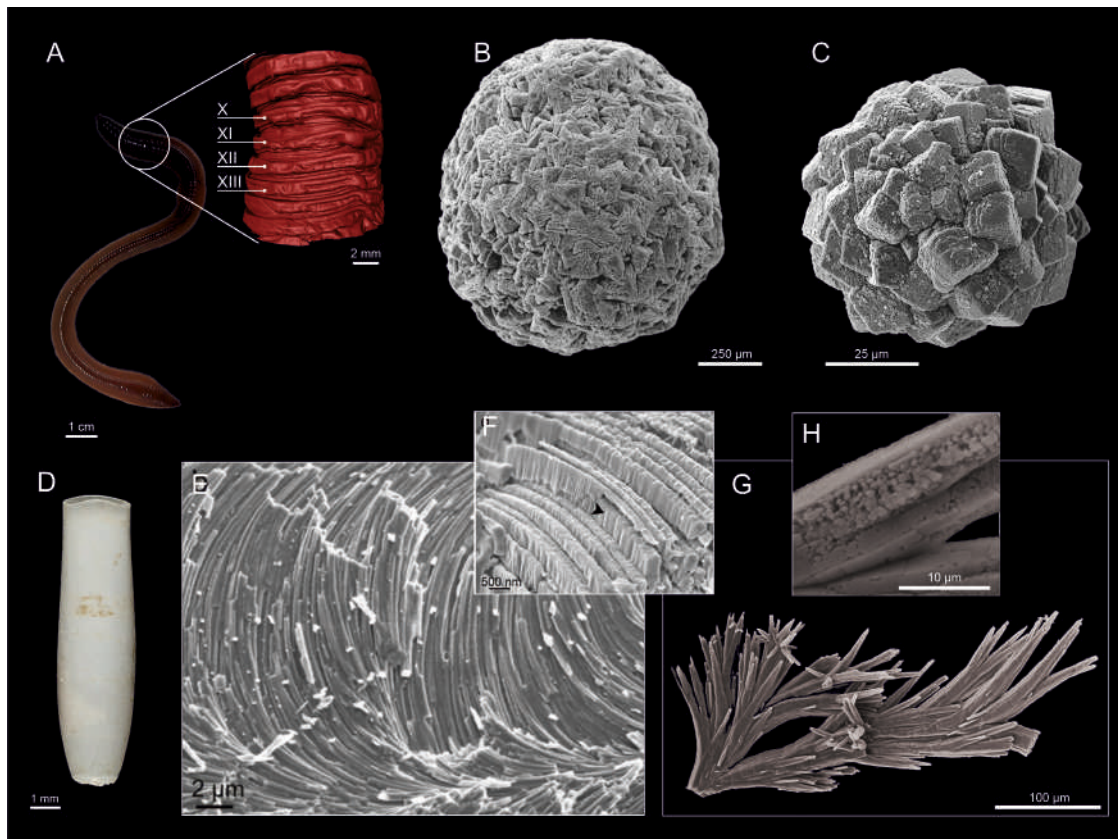
Los procesos de biomineralización controlados están gobernados por la genética de los organismos; a su vez, esta se encuentra condicionada por un coste energético y adaptada a influencias ambientales como cambios de temperatura, variaciones en el quimismo (pH) o fluctuaciones en el contenido en nutrientes. Los diferentes niveles de regulación en la biomineralización controlada se resumen mediante un diagrama iterativo en la **Figura 6**. Los mecanismos de control que constriñen la biomineralización controlada son: la regulación química, el espacio de mineralización, la organización estructural, la morfología cristalina y la construcción (biocristalización).



**Figura 6.** Niveles de regulación y control de la biomineralización controlada. Modificado de Mann (2001).

La biomineralización controlada es producida por los organismos en ciertos momentos de su desarrollo, por ejemplo, tras la fijación de una fase larvaria

en un estadio sésil, así como durante procesos de crecimiento diurnos y/u ontogénicos. Para poder gobernar este proceso el organismo debe controlar cuatro factores fisicoquímicos fundamentales en el espacio de mineralización: solubilidad, sobresaturación, nucleación y crecimiento cristalino.



**Figura 7.** Ejemplos de morfologías complejas en biominerales y precipitados *in vitro* (biomimética). A) La lombriz de tierra, *Lumbricus terrestris*, produce gránulos calcáreos entre los segmentos X a XIII. Estos son agregados policristalinos formados por romboedros de calcita (B) de morfología compleja. C) Ejemplo de agregado policristalino formado por romboedros de calcita precipitados *in vitro* en agarosa en presencia de grupos sulfato y Mn. D) *Cuvierina* es un género de gasterópodos planctónicos que crean su concha con fibras curvas de aragonito (Checa et al., 2016), describiendo un crecimiento helicoidal (E). Además, internamente (F) estas fibras están formadas por subunidades asemejando un mesocristal. G) Formación de fibras curvas de aragonito (G) con un desarrollo mesocristalino (H) empleando un medio con agarosa en baja densidad. D) Imagen de *Cuvierina pacifica* de *Wikimedia Commons*. E-F) Imágenes tomadas de Checa et al. (2016).

El control estructural es uno de los aspectos más fascinantes de la biomineralización. En ciertos grupos de organismos, los cristales no solo están asociados específicamente con matrices orgánicas, sino que están alineados prefe-

rentemente respecto a la superficie macromolecular. Esto es observable, tanto a nanoescala como a microescala, en muchos grupos que mineralizan  $\text{CaCO}_3$ : moluscos, braquiópodos, corales y equinodermos entre otros (Cuif et al., 2011; Pérez-Huerta et al., 2018). En estos organismos, la nucleación sobre la superficie orgánica resulta en un alineamiento de los ejes morfológicos y cristalográficos de los cristales. Un ejemplo se observa en las agujas de *Dendrophyllia ramea* (**Fig. 3E, H**), cuya disposición indica un control estructural preciso sobre la precipitación mineral y las superficies orgánicas.

Como se ha descrito anteriormente, los biominerales tienen morfologías complejas que, por regla general, no se encuentran en sus equivalentes inorgánicos (Mann, 2001), aunque se pueden replicar *in vitro* (**Fig. 7**). Existe una alta variedad de morfologías en el mundo natural, destacando aquellas geometrías bien definidas (como los prismas de nácar o pseudonácar en moluscos y braquiópodos) o, por el contrario, aquellos cristales con caras curvas y morfologías irregulares (fibras curvas en gasterópodos, estereomas de equinodermos, agregados cristalinos en lombrices) (**Fig. 7**). Aparte del confinamiento producido por las matrices orgánicas macromoleculares (Berman, 2008), algunos cristales también presentan morfologías condicionadas por su formación en orgánulos celulares como vesículas en octocorales, diatomeas o radiolarios (Mann, 2001). Por otro lado, otros cristales presentan morfologías características derivadas del modo de crecimiento, como ocurre en el crecimiento competitivo de las capas prismáticas de moluscos y cáscaras de huevo (Dalbeck et al., 2006).

Pero el mayor control en la morfología parece estar condicionado por la genética del organismo en cuestión, ya que muchas morfologías se mantienen a lo largo del registro geológico, transitando entre diferentes familias de un mismo clado (Stolarski, 2000), entre géneros (Mateos-Carralafuente et al., 2022) o entre especies (Coronado et al., 2015) y, por tanto, albergando mucha información evolutiva.

### Controles ambientales de la biomineralización

Teniendo todo esto en cuenta, y que la genética controla el proceso, parecería difícil que el medio ambiente pudiera condicionar el producto de la biomineralización. Un estudio de cómo los cambios ambientales pueden alterar la biomineralización se llevó a cabo de manera experimental, con el fin de comprobar si la acidificación de los océanos podría modificar los esqueletos de coral (Coronado et al., 2019). Para ello se mantuvieron durante un largo periodo de tiempo varias colonias del coral arrecifal (hermatípico) *Stylophora pistillata* en tanques con diferentes pH (8,2, 7,6 y 7,3). Los esqueletos formados en condiciones de alta presión parcial de  $\text{CO}_2$ , y por tanto en medios más ácidos, mostraron cambios cristalográficos sistemáticos, y una orientación cristalina más restringida derivada de bajas tasas de calcificación (más baja en medios ácidos), aumento de la porosidad y reducción de la densidad esquelética. Al igual que ocurre con *Fungiacyathus*, las colonias de *Stylophora* produjeron una mayor cantidad de matriz orgánica intracristalina, lo que propició cambios microestructurales.

Por lo tanto, parece evidente que el estrés ambiental puede modificar la biomineralización y, con ella, el producto final, aunque no de igual manera en todos



los organismos. En el caso de *Stylophora*, las colonias de coral menos densas, más porosas y con su orientación cristalográfica afectada, son más susceptibles de romperse en situaciones de alta energía, como una tormenta (Coronado et al., 2019).



**Figura 8.** Acantilados de los Seven Sisters en la costa de Sussex (Inglaterra) compuestos por una caliza blanca (creta) que se formó a partir de la acumulación de innumerables placas de coccolitofóridos. Imagen cedida por Esperanza Fernández Martínez.

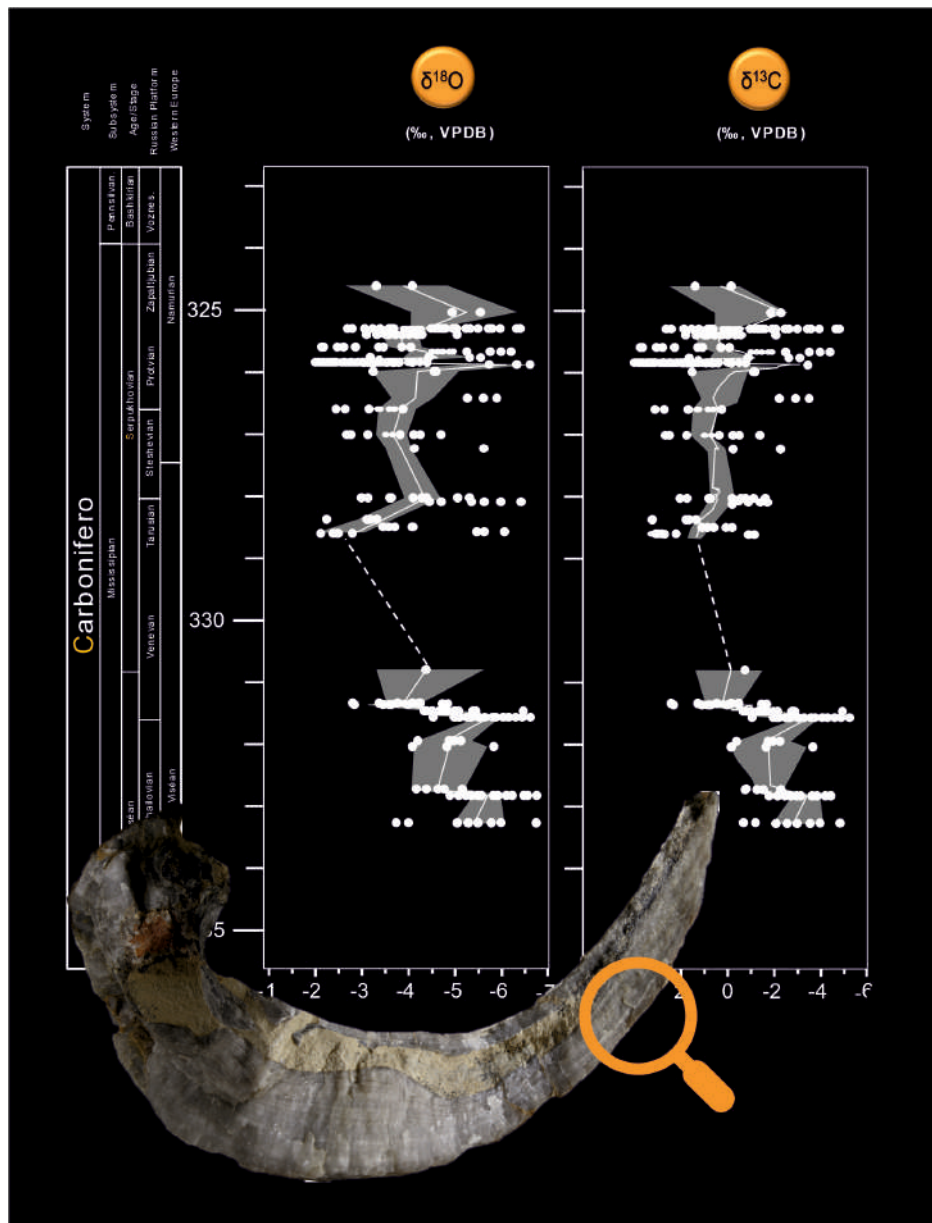
### **De biominerales a partículas sedimentarias**

Tomando como testigo la frase anterior, cuando una colonia de coral de un arrecife se rompe, se convierte inmediatamente en una potencial partícula sedimentaria. Con toda probabilidad, en un *hotspot* de diversidad como son los arrecifes de coral, algún organismo se alimentará de la materia orgánica de los pólipos, mientras que la parte biomineral pasará, en la mayoría de los casos, a formar parte de los sedimentos. En tal caso, los biominerales son susceptibles de pasar al registro sedimentario, ser enterrados y conservarse,

es decir, de fosilizar con mayor o menor cantidad de cambios. Puesto que los biominerales son componentes esqueléticos, estos pueden quedar enterrados junto con sedimentos inorgánicos y experimentar diferentes procesos (diagénesis) durante su transformación a roca. El resultado final es muy amplio y depende de muchos factores, pero, si “todo va bien”, se conservarán, es decir, formarán fósiles. Un ejemplo de esto se observa en los acantilados de los Seven Sisters en la costa de Sussex (Inglaterra), donde las calizas blancas (cretas, **Fig. 8**) están formadas principalmente por incontables placas de esqueletos de coccolitofóridos, algas unicelulares calcáreas, además de diatomeas, algo de barro calcáreo (seguramente producto de la bioerosión de otros biominerales) y algún ammonoideo, equinoideo y bivalvos, que habitaron los mares del Cretácico Superior hace aproximadamente 85 Ma, pero cuyos esqueletos pasaron, posteriormente, a formar partículas sedimentarias.

Si los biominerales no se han transformado notablemente durante la diagénesis pueden preservar mucha información ambiental del momento en el que se produjo la biocristalización. A mediados de los años 50 los nuevos métodos desarrollados en química analítica dieron pie a innovadoras aplicaciones empleando fósiles. Muchas de ellas estaban basadas en el registro biogeoquímico preservado en biominerales controlados, como conchas y esqueletos, que reflejaban las condiciones físico-químicas de los ambientes en los que habitaron los organismos pretéritos (como la temperatura, la contaminación ambiental, la batimetría, turbidez...). La primera aplicación de estas metodologías fue realizada por el premio Nobel de química Urey y sus colaboradores (Urey et al., 1951), quienes reconstruyeron la variación anual de la temperatura de mares Jurásicos (150 Ma) a partir de la señal isotópica de oxígeno y carbono del esqueleto interno calcítico de un belemnite. Esta publicación generó un antes y un después en las reconstrucciones paleoclimáticas (**Fig. 9**), estableciendo nuevas metodologías y relaciones que han favorecido las reconstrucciones geológicas y paleontológicas en los últimos años (Kostrova et al., 2014).

La idea original de estos trabajos, basada en proxies biogeoquímicos, representaba a los organismos como registros pasivos del ambiente, pero los procesos de biomineralización controlada, como se ha señalado anteriormente, tienen una influencia muy importante en estas señales, y se denominan “efecto vital” (Urey et al., 1951; Lowenstam y Weiner, 1989; Weiner y Dove, 2003). Desde su descripción, este término se ha empleado para explicar cualquier desviación de los resultados geoquímicos teóricos esperados por factores ambientales (*e. g.* temperatura del agua del mar). Algunas de estas desviaciones pueden atribuirse a efectos relacionados con la actividad biológica, tales como el metabolismo (Meibom et al., 2003), o la fisiología (Pérez-Huerta et al., 2010). Sin embargo, estas desviaciones también pueden estar relacionadas con los procesos de nucleación, crecimiento o emplazamiento de las fases minerales, como por ejemplo por el empleo de fases amorfas precursoras (ACC) o el rol de la matriz orgánica en el proceso de biocristalización (Cusack et al., 2008; Pérez-Huerta et al., 2018).



**Figura 9.** Reconstrucción paleoclimática de un intervalo del periodo Carbonífero a partir del registro isotópico de conchas de braquiópodos gigantoprodúctidos. Gracias a esta reconstrucción se ha indagado en el inicio de la glaciación Carbonífera, momento en el cual se genera un casquete de hielo en el hemisferio sur. Imagen cedida por Ricardo Mateos-Carralafuente.

Los estudios de biomineralización son vanguardistas en este sentido; estudian a escala mineral y biológica los procesos de formación de biominaerales arrojando luz sobre la información química que puede o no ser derivada de los procesos ambientales (Pérez-Huerta et al., 2018) y que pueden ser extrapolados al registro fósil. Por este motivo, los patrones de biomineralización nos ayudan a entender las relaciones evolutivas entre grupos de organismos

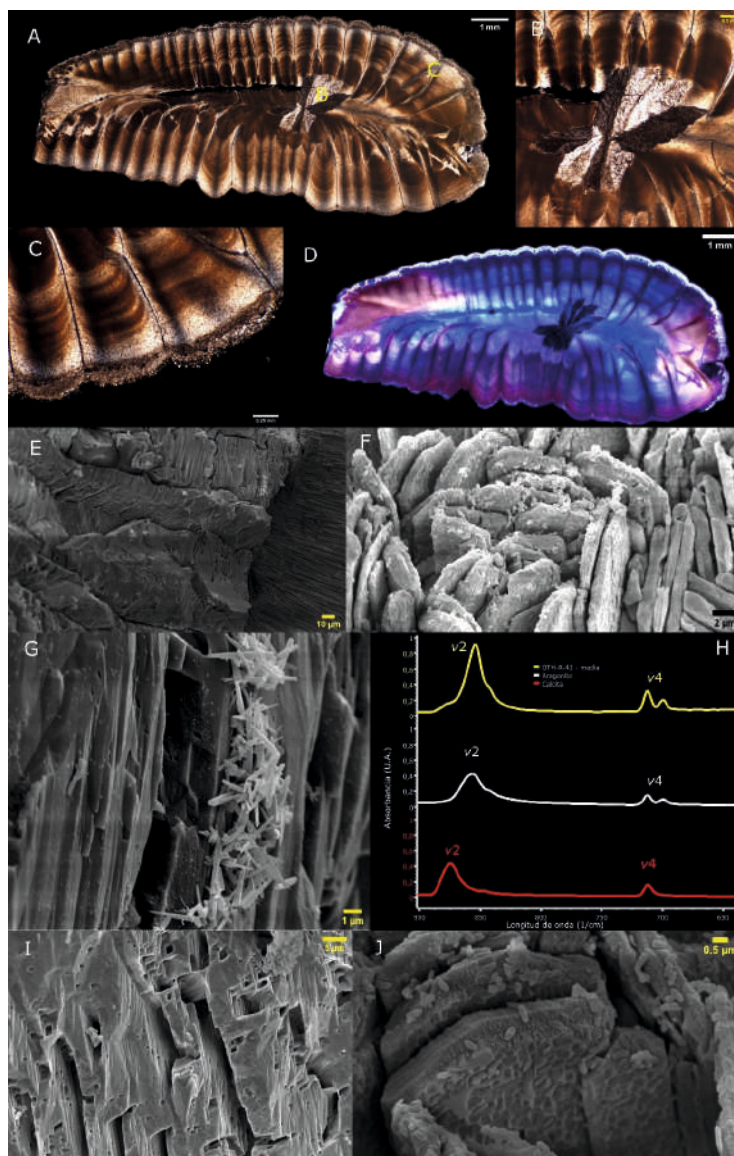
de los que solamente nos han llegado unos pocos vestigios de su vida (como las conchas). Pero también, ayudan a reconstruir el clima y ambiente del pasado, y a desentrañar los procesos de fosilización que nos han permitido conocerlos y estudiarlos.

### ¿Qué investigo en la ULE?

Antes de comenzar este apartado quiero agradecer al equipo editorial de la revista la oportunidad que me otorga al presentarme con este artículo. Como paleontólogo que se dedica, entre otras cosas, a un proceso multidisciplinar como es la biomineralización, muchas veces me preguntan: pero, exactamente, ¿qué investigas?

Mi investigación se centra en los tres ámbitos de estudio de la biomineralización en organismos con esqueletos carbonáticos como corales, otolitos de peces, crustáceos, lombrices de tierra y braquiópodos, en colaboración con la Universidad Complutense de Madrid (áreas de Paleontología y Cristalografía y Mineralogía), así como con el Institute of Paleobiology (de la Polish Academy of Sciences, Varsovia, Polonia):

1. Dentro de la comprensión de los mecanismos que controlan la síntesis de biominerales, nos centramos en entender los procesos de biocristalización, desde la producción de partículas precursoras hasta que se emplazan y cristalizan en el esqueleto (**Fig. 3**), y cómo afecta esta transformación a las señales biogeoquímicas que registran los biominerales. Además, analizamos la interacción de los elementos traza disueltos en el medio, que pueden ser contaminantes o no, en las fases minerales resultantes.
2. Para comprender la biocristalización en otolitos, crustáceos y lombrices, sintetizamos *in vitro* materiales bioinspirados con el fin de replicar sus propiedades cristalo-químicas o físicas (**Fig. 7**). En este punto estamos centrados en la formación de carbonatos a partir de proteínas de otolitos, formación de ACC y de vaterita a partir de matrices orgánicas de crustáceos y lombrices, así como en la síntesis de aragonito a partir de carbohidratos, como la agarosa, en presencia de elementos trazas.
3. Por último extraemos información paleoclimática, paleoambiental y evolutiva a partir de biominerales fósiles (corales, otolitos y braquiópodos), con el objetivo de reconstruir el paleoclima (**Fig. 9**) y las afinidades taxonómicas de los fósiles a partir de sus esqueletos. Para ello realizamos estudios diagenéticos de los fósiles, en los que observamos su estado de preservación y replicamos las posibles transformaciones a partir de estudios de diagénesis experimental realizados en el laboratorio (**Fig. 10**). De esta manera entendemos qué minerales son susceptibles de fosilizar, cómo lo hacen y qué características tendrán, comparando todo esto con las que presentan diversos fósiles, por ejemplo, del Carbonífero (hace más de 300 Ma) o del Cretácico (hace más de 90 Ma).



**Figura 10.** Estudio de diagénesis experimental de otolitos de *Micromesistius poutassou* en condiciones hidrotermales. Se ha recreado una solución que simularía un agua de enterramiento donde se han sumergido los otolitos durante 14 días a 175 °C. El fin de este experimento es ver los cambios en la microestructura, las fases minerales y la matriz orgánica. Gracias a este estudio se han comprobado transformaciones que se producen en fósiles: incremento de porosidad, transformación de aragonito a calcita, recristalización de aragonito y transformación de la matriz orgánica. Imágenes del Trabajo Fin de Grado de Miguel Sáenz Navajas.

### Referencias

- Addadi, L., Aizenberg, J., Albeck, S., Berman, A., Leiserowitz, L. y Weiner, S. 1994. Controlled occlusion of proteins: a tool for modulating the properties of skeletal elements. *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology*. Section

- A. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, 248(1):185–198.
- Bashkin, V. N. 2003. *Modern Biogeochemistry*. Dordrecht : Kluwer, New York, Estados Unidos.
- Berman, A. 2008. Biomineralization of calcium carbonate. The interplay with biosubstrates. En *Biomineralization: from nature to application*, Volume 4 (Eds. Sigel, A., Sigel, H. y Sigel R. K.), pp. 167–205, John Wiley y Sons, Ltd., Londres, Reino Unido.
- Checa, A. G., Macías-Sánchez, E., Harper, E. M. y Cartwright, J. H. E. 2016. Organic membranes determine the pattern of the columnar prismatic layer of mollusc shells. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 283:1830.
- Coronado, I., Fine, M., Bosellini, F. R. y Stolarski, J. 2019. Impact of ocean acidification on crystallographic vital effect of the coral skeleton. *Nature Communications*. 10(1):1–9.
- Coronado, I., Pérez-Huerta, A. y Rodríguez, S. 2015. Crystallographic orientations of structural elements in skeletons of *Syringoporidae* (tabulate corals, Carboniferous): Implications for biomineralization processes in Palaeozoic corals. *Palaeontology*. 58(1):111–132.
- Coronado, I. y Stolarski, J. 2019. Anisotropic lattice distortions caused by photosymbiosis in scleractinian corals. En *Biomin XV, 15th International Symposium on Biomineralization* (Schmahl, W. y Griesshaber, E.), pp. 61. Ludwig Maximilians University, Munich, Alemania.
- Cusack, M., Dauphin, Y., Cuif, J. P., Salome, M., Freer, A. y Yin, H. 2008. Micro-XANES mapping of sulphur and its association with magnesium and phosphorus in the shell of the brachiopod, *Terebratulina retusa*. *Chemical Geology*. 253(3–4):172–179.
- Dalbeck, P., England, J., Cusack, M., Lee, M. R. y Fallick, A. E. 2006. Crystallography and chemistry of the calcium carbonate polymorph switch in *M. edulis* shells. *European Journal of Mineralogy*. 18(5):601–609.
- Dorozhkin, S. V. 2011. Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. *Biomatter*. 1(2):121–164.
- Falini, G., Albeck, S., Weiner, S. y Addadi, L. 1996. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. *Science*. 271(5245):67–69.
- Falini, G., Sartor, G., Fabbri, D., Vergni, P., Fermani, S. et al. 2011. The interstitial crystal-nucleating sheet in molluscan *Haliotis rufescens* shell: A bio-polymeric composite. *Journal of Structural Biology*. 173(1):128–137.
- Fortey, R. A., Jackson, J. y Strugnell, J. 2004. Phylogenetic fuses and evolutionary explosions: conflicting evidence and critical tests. *Systematics Association*. 66:41–65.
- Hoffmann, T. D., Reeksting, B. J. y Gebhard, S. 2021. Bacteria-induced mineral precipitation: a mechanistic review. *Microbiology*. 167(4):001049.
- Horodyski, R. J., y Mankiewicz, C. 1990. Possible Late Proterozoic skeletal algae from the Pahrump-Group, Kingston Range, Southeastern California. *American Journal of Science*. 290A:149–169.
- Isa, Y. y Okazaki, M. 1987. Some observations on the Ca<sup>2+</sup>-binding phospholipid from scleractinian coral skeletons. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*:

- Comparative Biochemistry. 87(3):507–512.
- Keller, N. B., Demina, L. L. y Os'kina, N. S. 2007. Variations in the chemical composition of the skeletons of non-zooxanthellate scleractinian (Anthozoa: Scleractinia) corals. *Geochemistry International*. 45(8):832–839.
- Kontoyannis, C. G. y Vagenas, N. V. 2000. Calcium carbonate phase analysis using XRD and FT-Raman spectroscopy. *Analyst*. 125(2):251–255.
- Kostrova, S. S., Meyer, H., Chaplign, B., Tarasov, P. E. y Bezrukova, E. V. 2014. The last glacial maximum and late glacial environmental and climate dynamics in the Baikal region inferred from an oxygen isotope record of lacustrine diatom silica. *Quaternary International*. 348:25–36.
- Lowenstam, H. y Weiner, S. 1989. *On biomineralization*. pp. 324, Oxford University Press, New York, Estados Unidos.
- Mann, S. 2001. *Biom mineralization: Principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*. pp. 198, Oxford University Press. New York, Estados Unidos.
- Marin, F., Le Roy, N., Marie, B., Ramos-Silva, P., Bundeleva, I. et al. 2014. Metazoan calcium carbonate biomineralizations: macroevolutionary trends – challenges for the coming decade. *Bulletin de La Societe Geologique de France*. 185(4):217–232.
- Mateos-Carralafuente, J. R., Coronado, I., Cózar, P. y Rodríguez, S. 2022. Gigantoproductid shell spiral and microstructure of tertiary layer: evaluation as taxonomical characters. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*. 1–17. doi.org/10.1017/S1755691022000196.
- Meibom, A., Stage, M., Wooden, J., Constantz, B. R., Dunbar, R. B. et al. 2003. Monthly Strontium/Calcium oscillations in symbiotic coral aragonite: Biological effects limiting the precision of the paleotemperature proxy. *Geophysical Research Letters*. 30(7):1418.
- Müller, W. E. G. 2011. *Molecular biomineralization: aquatic organisms forming extraordinary materials*. pp. 404, Springer, Heidelberg, Alemania.
- Pannier, S., y Legeai-Mallet, L. 2008. Hereditary multiple exostoses and enchondromatosis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 22(1):45–54.
- Pérez-Huerta, A. y Andrus C. F. T. 2010. Vital effects in the context of biomineralization. En *Workshop on Biominerals and Biomineralization Processes*, Vol. 7, Seminarios de la Sociedad Española de Mineralogía. (Ed. Fernández-Díaz, L. y Astilleros, J. M.), pp. 35–45. Sociedad Española de Mineralogía, Madrid, España.
- Pérez-Huerta, A., Coronado, I. y Hegna, T. A. 2018. Understanding biomineralization in the fossil record. *Earth-Science Reviews*. 179:95–122.
- Porter, S. M. y Knoll, A. H. 2000. Testate amoebae in the Neoproterozoic Era: evidence from vase-shaped microfossils in the Chuar Group, Grand Canyon. *Paleobiology*. 26(3):360–385.
- Reimer, T., Dempster, T., Warren-Myers, F., Jensen, A. J. y Swearer, S. 2016. High prevalence of vaterite in sagittal otoliths causes hearing impairment in farmed fish. *Scientific Reports*. 6(1):1–8.
- Rózycka, M., Coronado, I., Brach, K., Olesiak-Bañska, J., Samoć, M. et al. (2019). Lattice shrinkage by incorporation of recombinant starmaker-like protein within bioinspired calcium carbonate crystals. *Chemistry - A European Journal*. 25(55):12740–12750

- Samata, T. 1990. Ca-binding glycoproteins in molluscan shells with different types of ultrastructure. *Veliger*. 33(2):190–201.
- Secor, D. H., Dean, J. M. y Laban, E. H. 1992. Otolith removal and preparation for microstructural examination. En *Otolith Microstructure Examination and Analysis* (Stevenson, D. K. y Campana, S. E.). Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, 117:19–57.
- Shore, A. J. 2021. Affinity of Ediacaran skeletal fauna and their environmental context. Tesis Doctoral, The University of Edinburgh, Reino Unido.
- Stolarski, J. 2000. Origin and phylogeny of Guyniidae (Scleractinia) in the light of microstructural data. *Lethaia*. 33(1):13–38.
- Stolarski, J. Coronado, I., Lampart-Kaluzniacka, M., Mazur, M. y Meibom, A. 2017. Calcium carbonate polymorphism in salmonid fish otoliths: Crystallography and biogeochemistry. En *The 14th International Symposium on Biomineralization (BIOMIN XIV) from molecular and nano-structural analyses to environmental science*, Tsukuba, Japón.
- Tester, C. C. y Joester, D. 2013. Precipitation in liposomes as a model for intracellular biomineralization. *Methods in Enzymology*. 532:257–276.
- Urey, H. C., Lowenstam, H. A. Epstein, S. y McKinney, C. R. 1951. Measurement of paleotemperatures and temperatures and the Southeastern United States. *Bulletin of the Geological Society of America*. 62:399–416.
- Veis, A. 2008. Crystals and Life: an introduction. En *Biomineralization* (Eds. Sigel, A., Sigel, H. y Sigel, R. K.), pp. 1–35. John Wiley & Sons, Ltd. Londres, Reino Unido.
- Viedma, C. y Soutullo, B. 2018. Minerales, vida y evolución. *Enseñanza de Las Ciencias de La Tierra*. 26(3):274–280.
- Weiner, S. y Dove, P. M. 2003. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 54(1):1–29.
- Weiner, S. y Traub, W. 1984. Macromolecules in mollusc shells and their functions in biomineralization. *Philosophical Transactions B*. 304:421–438.
- Wesson, J. A. y Ward, M. D. 2007. Pathological biomineralization of kidney stones. *Elements*. 3(6):415–421.