

# ARTÍCULO

## DILUCIDANDO PROCESOS EVOLUTIVOS A NIVELES SUBATÓMICOS EMPLEANDO TÉCNICAS DE SINCROTRÓN. EL CASO DE TLAYÚA, EL “SOLENHOFEN MEXICANO”

Javiera Cervini-Silva, Jesús Alvarado Ortega y Matthew Marcus

## Dilucidando Procesos Evolutivos a Niveles Subatómicos empleando Técnicas de Sincrotrón. El Caso de Tlayúa, el “Solenhofen Mexicano”.

### Resumen:

La cantera de Tlayúa, Tepexi de Rodríguez, Puebla, constituye el depósito fósil que data del Periodo Cretácico temprano más importante de America del Norte y es también el primer Konservat-Lagestätten descubierto en México. Debido a que la mayoría de los especímenes recuperados en Tlayúa muestran un alto grado de preservación en los detalles, en impresiones de plumas y de la piel, y que constituye un suceso sin precedente a nivel mundial, Tlayúa es considerada patrimonio de la humanidad. Este artículo se avoca a dilucidar la naturaleza de interacciones existentes entre el material orgánico y superficies minerales, en aras de obtener información para descifrar mecanismos de preservación prevalentes en Tlayúa. El objetivo de este artículo es presentar una investigación acerca de la estructura química de restos fósiles procedentes de Tlayúa. Se estudian la composición de restos óseos de peces, con la finalidad de entender algunos de los procesos químicos de origen natural característicos. Se emplean técnicas espectroscópicas y microscópicas convencionales y de alta resolución; en particular, microdifracción de Rayos X ( $\mu$ XRD); microdifracción de Rayos X acoplada a fluorescencia ( $\mu$ XRF), y microespectroscopía de absorción de Rayos X ( $\mu$ XAS). Nuestros resultados muestran que la proporción de Sr/Ca ratio es cerca de 0.2-1.0 % en peso, mientras que la proporción de As/Ca puede llegar a ser hasta de 4 %. Muestras de huesos ricos en apatita se encuentran asociadas con Sr, mientras que aquellas ricas en As se encuentran compuestas primordialmente por calcita. La identificación de calcita sugiere que este mineral pudiese estar relacionado con procesos de preservación de especímenes, aunque no necesariamente mediante los mismos mecanismos reportados para el fosfato de calcio o la pirita. Los datos presentados aquí indican la incorporación de As a la superficie ósea, la presencia de compuestos orgánicos que contienen As. Los resultados presentados para la cantera de Tlayúa sugieren posibles mecanismos de intoxicación en especímenes por As de origen natural hace más de 200 millones de años.

### Palabras Clave:

Konservat-Lagestätten; Arsénico; sustitución de  $\text{AsO}_4^{3-}$  por  $\text{PO}_4^{3-}$ ; incorporación de As en hueso; compuestos organoarsenicales; intoxicación por As.

## Deciphering Evolutionary Processes at Subatomic Levels using Synchrotron Techniques. Case of Study: Tlayua, the "Mexican Solenhofen").

### Abstract:

The Tlayúa quarry is the most important Early-Cretaceous (Albian) fossil locality in North America and the first Konservat-Lagestätten discovered in México, near Tepexi de Rodríguez, Puebla (97°54'W, 18°35'N). Remarkably, in Tlayúa, most of the fossils belong to fish bearing an exceptionally-detailed preservation characterized by feathers and skin impressions. Because of this fact is unprecedented worldwide, Tlayúa is nowadays considered a world-heritage site. Underpinning the nature of existing interactions between the organic material and mineral surfaces constitutes, therefore, a key factor for deciphering fossil preservation. The goal of the present work is to provide the first information of the chemical composition of fossilized bones from the Tlayúa quarry. This paper faces the challenge to understand the history of the chemical and physical condition to allow excellent state of preservation using synchrotron-based microscopic and spectroscopic techniques (micro X-Ray Fluorescence ( $\mu$ XRF), micro X-ray Diffraction ( $\mu$ XRD), micro Ca- and As- X-ray Absorption Spectroscopy ( $\mu$ XAS)). We discuss plausible mechanisms that may have contributed to fossil preservation in this locality. Obtained results show that the Sr/Ca ratio is ca.0.2-1.0 wt. %, whereas As/Ca ratio values were found to be as high as ca. 4 %. Bone samples rich in apatite are associated with Sr, whereas bone samples rich in calcite are associated with As. The characterization of calcite interactions further suggest that this mineral could be related to the preservation of specimens, although the mechanisms of preservation may differ from those reported for calcium phosphate or pyrite. Data presented herein indicate the incorporation of As to the bone surface and the presence of organo-As compounds. The results presented herein for Tlayua suggest the prevalence of possible intoxication mechanisms caused by As of natural origin more than 200 millions years ago.

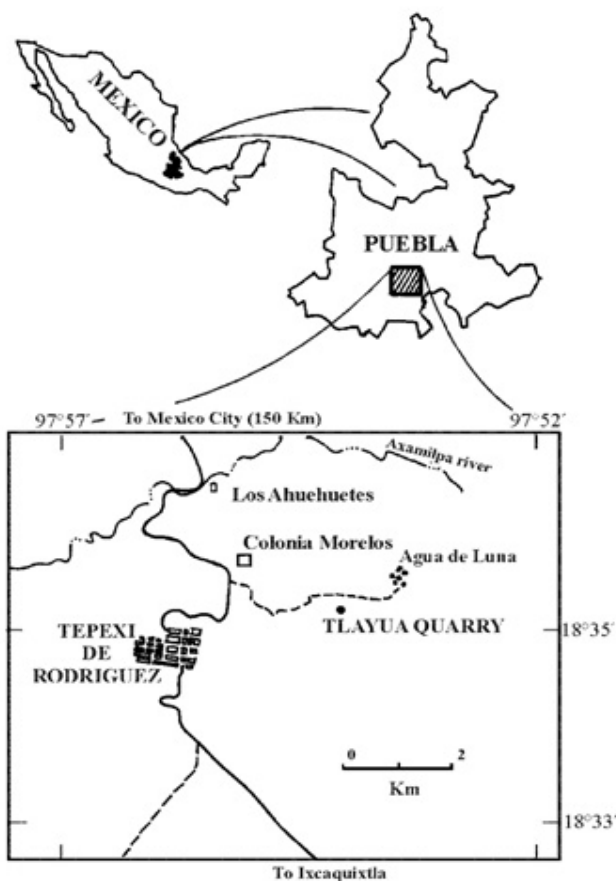
### Keywords:

Konservat-Lagestätten; arsenic  $\text{AsO}_4^{3-}$  for  $\text{PO}_4^{3-}$  substitution; As incorporation into the bone surface; organo As compounds; As intoxication.

### Introducción

La cantera de Tlayúa (Tepexi de Rodríguez en Puebla, 97°54'W, 18°35'N; [figura 1](#)) constituye el depósito fósil que data del Periodo Cretácico temprano (Era Albiano; 100 - 110 Mybp) más importante de América del Norte (Applegate *et al.*, 2006; Alvarado-Ortega *et al.*, 2007). Tlayúa es también el primer Konservat-Lagestätten descubierto en México. Las localidades Lagestätten son excepcionales debido a que presentan abundancia en especímenes en excelente estado

de conservación (Seilacher, 1970; Seilacher *et al.*, 1985; Allison *et al.*, 2008). Las localidades Lagerstätten muy frecuentemente se encuentran enclavadas en ambientes lacustres (Allison and Briggs, 1991a, 1991b, 1993). Algunos ejemplos de ambientes lacustres son Messel y Willershausen, en Alemania (Wüttke, 1992; Briggs, 2003), Shanwang en China (Yang and Yang, 1994); Bes-Konak en Turquía (Paicheler *et al.*, 1978), o la Formación Barstow y Florissant en Estados Unidos (Park and Downing, 2001; Harding and Chant, 2000). Sin embargo, las localidades Lagerstätten pueden también generarse en ambientes marinos o transicionales.



**Figura 1. Mapa con la Ubicación de Tlayúa, Tepexi de Rodríguez, Puebla (después de Applegate *et al.*, 1982).**

La formación de Tlayúa ha recibido especial atención debido a que, entre los restos encontrados, aquellos que pertenecen a la familia de los vertebrados muestran una preservación excepcional. El ensamblaje fósil incluye especímenes articulados completos que, muy frecuentemente, contiene tejido blando fosfatizado con material extracelular (Alvarado-Ortega *et al.*, 2007). Estudios bioestratigráficos (Seibertz and Buitron, 1987; Seibertz and Spaeth, 2000) y paleomagnéticos

(Benammi *et al.*, 2006) realizados en cantera de Tlayúa muestran datos correspondientes a la edad del Cretácico temprano, Albiano tardío (ca. 100 - 110 Mybp; Seibertz and Buitron, 1987; Seibertz and Spaeth, 2002; Benammi *et al.*, 2006). Tlayúa se asemeja a otros sitios fósiles localizados en Solenhofen, Alemania, o bien en Cerin, Francia (Applegate *et al.*, 2006; Alvarado-Ortega *et al.*, 2007). Debido a estas similitudes, Solenhofen ha sido adoptado como sistema modelo para explicar la preservación fósil y la litología característica de Tlayúa. Por este motivo, a Tlayúa se le conoce también como el "Solenhofen mexicano".

La recuperación de especímenes fósiles en Tlayúa ha sido notable. Por ejemplo, los el sitio Solenhofen han sido explotados por más de 200 años, y un total de aproximadamente 500 especies han sido recuperadas. Por el contrario, Tlayúa ha sido explotado durante los últimos 25 años, y más de 6,000 especímenes fósiles (macrofósiles), que representan a más de 200 especies, han sido recuperadas hasta el momento. Resulta notable el hecho de que la mayoría de los especímenes recuperados en Tlayúa muestran un alto grado de preservación en los detalles, en impresiones de plumas y de la piel (figura 2). Debido a que este suceso no tiene precedente a nivel mundial, Tlayúa es considerada patrimonio de la humanidad.



**Figura 2. Ejemplo de pez Pachyrhizodontide (Michin scernai).**

La caracterización química de los depósitos fósiles constituye un paso importante para entender los orígenes y la historia tafonómica de una localidad. Dilucidar la naturaleza de interacciones existentes entre el material orgánico y superficies minerales constituye, pues, un factor clave en aras de descifrar los mecanismos de preservación prevalentes en Tlayúa. La preservación de material suave es comúnmente precedido por una mineralización diagenética temprana; esto es, la mineralización que ocurre durante las etapas iniciales de diagénesis poco tiempo después de una deposición inicial de material particulado (Allison 1988a, 1988b; Briggs, 2003). Por otra parte, los mecanismos de preservación dependen de la naturaleza de la materia orgánica que hubiese

constituido originalmente al espécimen, así como a la matriz. Por ejemplo, los restos orgánicos (e.g., cutículas) pueden ser preservados como residuos orgánicos que, subsecuentemente, son alterados químicamente. Como resultado se tiene la formación de biopolímeros que resultan más resistentes a los procesos diagenéticos. Por otra parte, la preservación de residuos más lábiles (e.g., piel, músculo) a menudo participan en la permineralización (la permineralización ocurre cuando existen espacios vacíos en un organismo, que son susceptibles a ser llenados con agua rica en minerales después de la sedimentación; Allison and Briggs, 1993; Briggs, 2003).

El objetivo de este artículo es presentar una investigación acerca de la estructura química de restos fósiles procedentes de Tlayúa. Se estudia la composición de restos óseos de peces, con la finalidad de entender algunos de los procesos químicos de origen natural característicos. Se emplean técnicas espectroscópicas y microscópicas convencionales y de alta resolución; en particular, la microdifracción de Rayos X ( $\mu$ XRD); la microdifracción de Rayos X acoplada a fluorescencia ( $\mu$ XRF), y la microespectroscopía de absorción de Rayos X ( $\mu$ XAS). Los datos presentados fueron obtenidos en la Fuente de Luz Avanzada del Laboratorio Nacional Lawrence Berkeley del Departamento de Energía de los Estados Unidos en la línea 10.3.2.

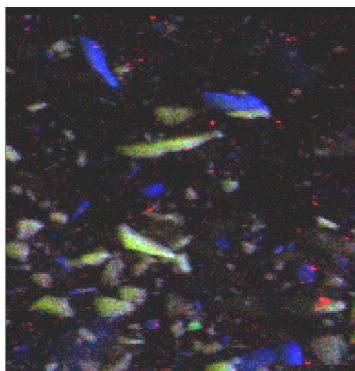
## Método Experimental

Los especímenes de trabajo muestran buena preservación y esqueletos articulados, lo cual sirve como evidencia del proceso de transportación suave antes o poco después de la muerte. Se estudiaron restos pequeños de hueso, que posteriormente fueron triturados para su análisis. A continuación se presentan resultados de análisis obtenidos para muestras de hueso triturado, así como muestras de huevo empleando las técnicas de  $\mu$ XRF,  $\mu$ XAS y  $\mu$ IR.

Microespectroscopía de absorción de Rayos X ( $\mu$ XAS). Determinaciones espectroscópicas de absorción por NEXAFS para Ca- y C-K en las muestras, se obtuvieron en la Fuente de Luz Avanzada del Departamento de Energía de los Estados Unidos en la línea 10.3.2. Para efectos de comparación, se obtuvieron también espectros de apatita, hidroxiapatita, y calcita.

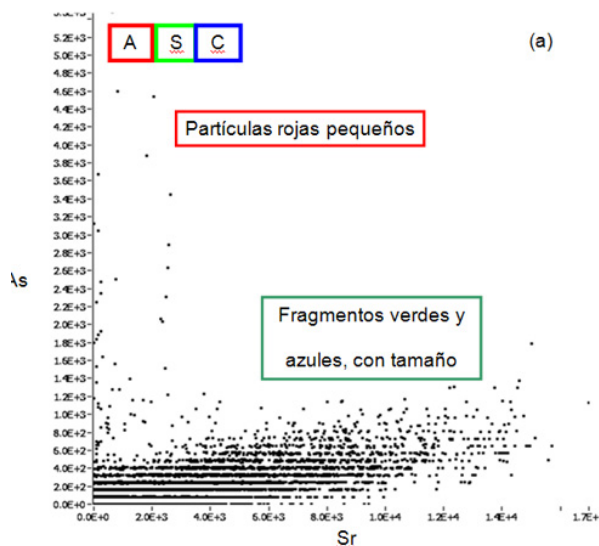
## Resultados y discusión

Microdifracción de rayos X acoplada a fluorescencia ( $\mu$ XRF). Las técnicas de microdifracción permiten obtener, con alto grado de precisión, información acerca de especiación elemental, así como asociaciones entre fases minerales. Como ejemplo se encuentran los resultados ilustrados en las figuras 3 y 4.



**Figura 3. Mapa de fluorescencia acoplada a microdifracción de Rayos X ( $\mu$ XRF) para muestra característica de restos óseos encontrados en Tlayúa. El mapa corresponde a 2 mm cuadrados, con 10 mm pixels, 50 ms de tiempo de contacto y 16 keV de incidencia. La incidencia de haz es de 16 x 7mm.**

Las figuras 3 y 4 ilustran mapas de fluorescencia obtenidos para muestras de hueso triturado. Los mapas se encuentran coloreados para indicar composición. Los pixeles color azul, verde y rojo, ilustran acumulación de i) Ca, ii) Sr, y iii) As. Los resultados muestran que la proporción de Sr/Ca ratio es cerca de 1% en peso para regiones marcadas en verde, y cerca de 0.2% en peso para regiones marcadas en azul y rojo. Los resultados también muestran que la proporción de As/Ca puede llegar a ser hasta de 4%. Las concentraciones más altas de As se encuentran en partículas rojas de tamaño pequeño, mientras que las cantidades más pequeña (cerca de 0.2% en peso) se encuentra en las regiones azules y verdes.



**Figura 4. Gráficas de distribución elemental con conteos relativos para los canales de Ca, As, y Sr para cada pixel del mapa.**

La figura 5 muestra datos de microdifracción para dos muestras referidas como A y B. La muestra A es rica en Sr y denota la presencia de apatita como componente dominante. Por el contrario, la muestra B contiene bajas cantidades de Sr, altas cantidades de As y denota la presencia de calcita como componente dominante. Sin embargo, los mapas de  $\mu$ XRF correspondientes muestran que ambas muestras tienen altas cantidades de calcita. De acuerdo a datos obtenidos con Ca  $\mu$ XANES, i) Las muestras están compuestas por una mezcla de calcita y de apatita, y ii) Las regiones de apatita se encuentran bien cristalizadas. Los datos obtenidos para las muestras de hueso indican que la composición es predominantemente apatita.

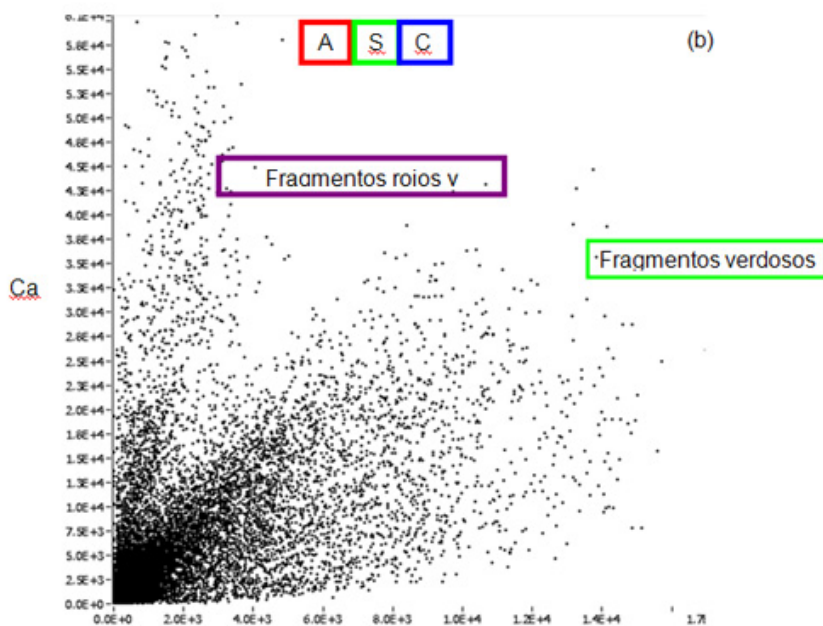


Figura 5. Ajuste de datos para las muestras A y B vs estándares obtenidos para apatita y calcita.

La presencia de la mezcla de apatita e hidroxiapatita en la muestra A (figura 6) indica transformación mineral que, probablemente, se deba a procesos diagenéticos. Sin embargo, por otra parte, datos tomados en 11 regiones de la muestra A (a 3960–4330 eV; figura 7) denotan energías de absorción características para calcita. En primera instancia, estos resultados sugieren que la calcita, y no la apatita o la aragonita, está asociada a la preservación de especímenes fósiles. Además del fosfato de calcio o de la pirita (Allison *et al.*, 2008), la calcita pudiese fungir como otro mineral primario asociado con la preservación de especímenes fósiles. El mecanismo de preservación se encuentra aún bajo estudio.



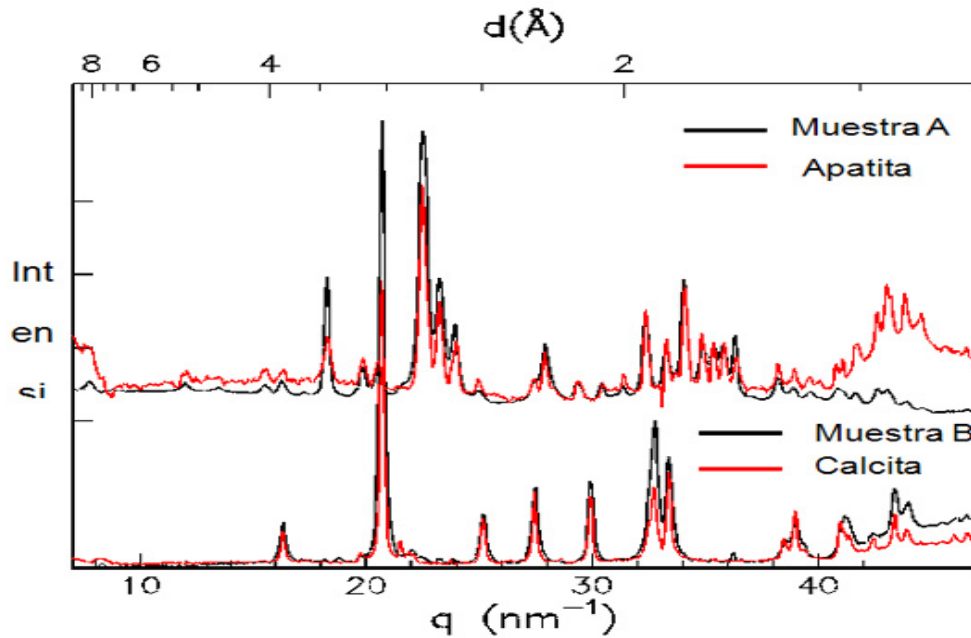


Figura 6. Ajuste de datos para la muestra A vs estándares obtenidos para apatita e hidroxiapatita.

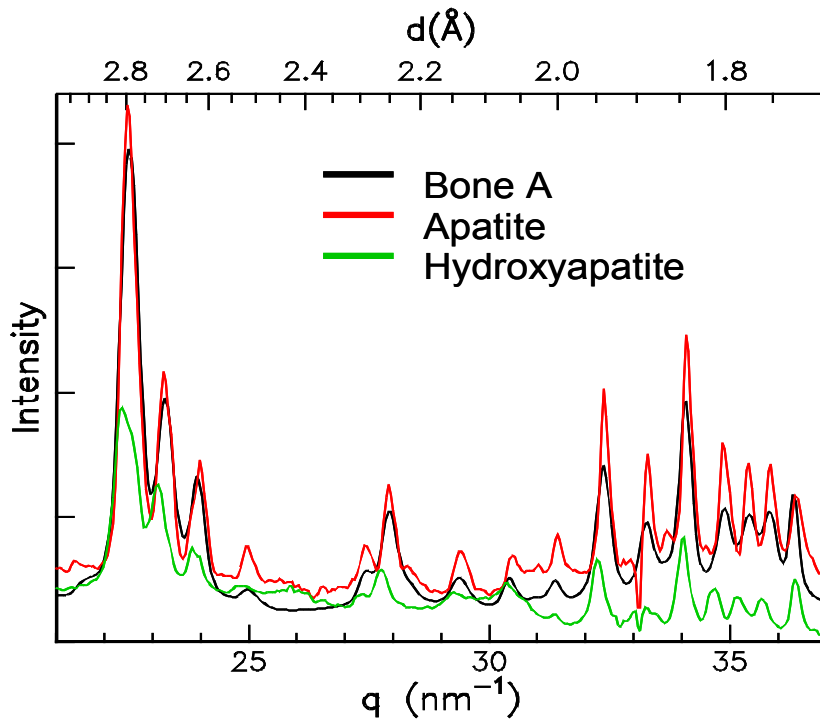
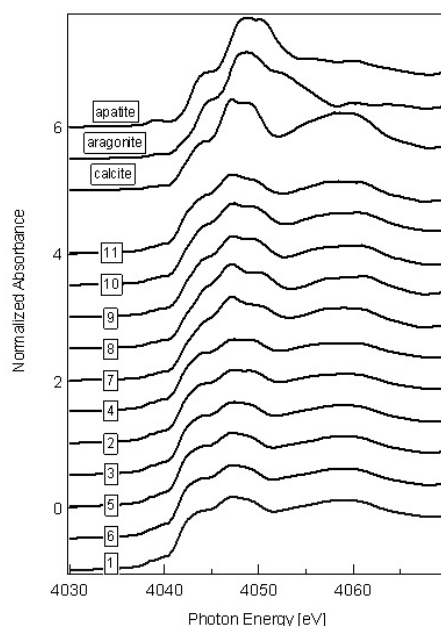


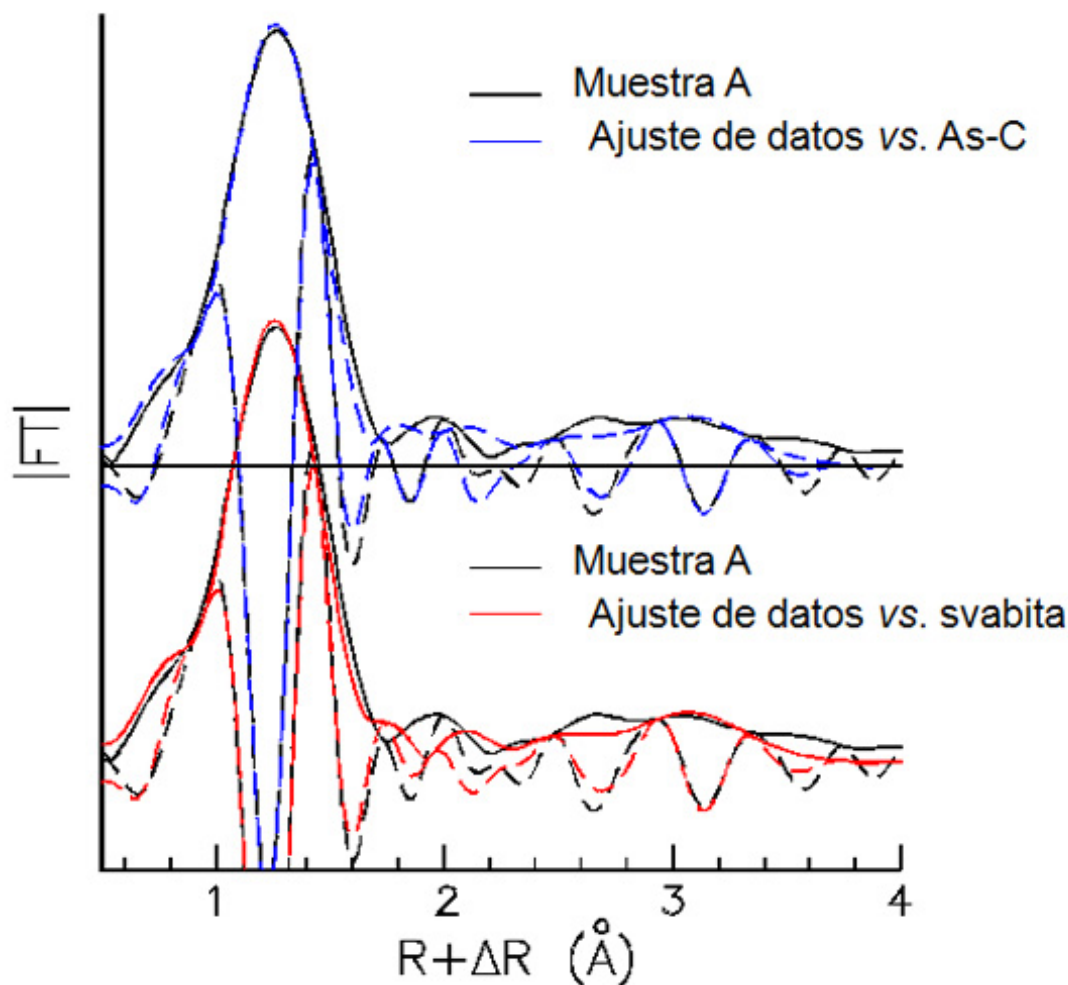
Figura 7. Energías de absorción registradas para 11 regiones de la muestra A a 1 3960-4330 eV.

Espectroscopia de rayos X para Arsénico. Las figuras 8 y 9 ilustran datos de  $\mu$ XRD para As de las muestras de hueso. En todos los puntos de muestreo estudiados, As fue encontrado en su forma As(V). Por otra parte, nuestros resultados muestran que la composición de hueso cambia homogéneamente en ambas fases mineralógicas, apatita y calcita. Además, los datos permiten la identificación de dos tipos de partículas: i) Aquellas ricas en apatita (figura 8), y ii) Aquellas ricas en calcita y As (figura 9):

- i) Los resultados espectroscópicos para las partículas ricas en apatita (figura 8) muestran la presencia de svabita (recuadro inferior). La presencia de svabita puede ser explicada por la sustitución de  $\text{AsO}_4^{3-}$  por  $\text{PO}_4^{3-}$  en la red cristalina de apatita. Por otra parte, los resultados (pico ca.  $2\text{\AA}$ ) también denotan la posible presencia de compuestos orgánicos que contienen As (recuadro superior).
- ii) Ahora bien, los datos espectrales obtenidos para aquellas partículas ricas en calcita y As (figura 9) muestran un alto grado de desorden en los sitios tetrahédricos  $\text{AsO}_4$ , si se compara con los datos espectrales obtenidos para aquellas partículas ricas en apatita (figura 8). Por otra parte, los datos espectrales obtenidos para partículas ricas en calcita y en As (figura 9), en su conjunto, denotan la presencia de distancias cortas As-Ca y de compuestos orgánicos. Sin embargo, los datos espectrales que corresponden a interacciones As-Ca difieren de datos espectrales reportados referentes a la sorción de As en calcita (Harries et al., 1988; Peters et al., 2000).



**Figura 8. Datos de  $\mu$ XRD obtenidos para la especiación de As en las muestras A y B para partículas ricas en apatita.**



**Figura 9. Datos de  $\mu$ XRD obtenidos para la especiación de As en las muestras A y B para partículas ricas en calcita y As.**

Los datos espectrales obtenidos muestran que tanto el Sr como As se adsorben en la superficie del hueso y pueden explicarse debido a la sustitución de  $\text{AsO}_4^{3-}$  por  $\text{PO}_4^{3-}$  en apatita, y de  $\text{Sr}^{2+}$  por  $\text{Ca}^{2+}$  en las superficies de calcita o apatita. Si bien es cierto que este escenario explica la presencia de partículas que contienen altos contenidos de apatita, Sr y As, no explica la presencia de partículas ricas en calcita que contienen As.

La presencia de As en restos óseos colectados en Tlayúa puede explicarse debido a la sustitución iónica en la red cristalina del fosfato de calcio (Lambert et al., 1984; Pate et al., 1989). En este sentido, la adición de  $\text{CaCO}_3$  a residuos industriales que contienen As ha sido comprobada como una técnica eficiente para reducir la movilidad de As disuelto por la formación de  $\text{Ca}_4(\text{OH})_2(\text{AsO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,

$\text{Ca}_5(\text{AsO}_4)_3\text{OH}$ , o de  $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2 \cdot 3^{2/3}\text{H}_2\text{O}$ , que conlleva como resultado una reducción de As soluble a concentraciones tan bajas como ca. 0.01 and 0.5 mg/L, respectivamente (Bothe and Brown, 1999).

El As se acumula en la estructura ósea como resultado primordial de exposición respiratoria (Lindh *et al.*, 1980; Rhoads and Sanders, 1985; Tsiashala *et al.*, 1990). Sin embargo, algunos eventos naturales como sedimentación pueden también causar la incorporación de As en los huesos. Por ejemplo, un estudio que reporta el análisis por activación de neutrones de incorporación de As en la estructura ósea, indica que muestras pertenecientes a fémures de trabajadores de una fundidora localizada en Suecia, presentan concentraciones de As de hasta 210 ppm (Lindh *et al.*, 1980). El grupo control muestra concentraciones de tan sólo 7 ppb (Lindh *et al.*, 1980). En otro estudio realizado en muestras óseas procedentes de Shiqmim, Israel (Siglos IV y V A.C.) y expuestas a procesos diagenéticos, pero no a fuentes de contaminación antropogénicas, muestran concentraciones de As muy inferiores, entre 1 y 8.41 ppb (Oakberg, *et al.*, 2000).

Dada la evidencia reportada de procesos diagenéticos que influyen en la incorporación de As en la estructura ósea, a continuación se estima la concentración actual de As en la interfase de poro (pore water;  $\text{As}_{\text{pw}}$ ). Se emplean datos reportados del coeficiente de partición de As y concentración mineral de la estructura ósea. Se asume que la isoterma de Freundlich para sorción de As por hueso carbonizado ( $200 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ; Bothe and Brown, 1999), pudiera servir como proxy para predecir el comportamiento de sorción de As en muestras arqueológicas de hueso ( $84 - 170 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ; Lowerstein and Weiner, 1989). Los valores reportados de las constantes de sorción correspondientes,  $K_f$  and  $n$ , después de 24 horas de tiempo de equilibración, son ca. 83.9 y  $n$  1.30, respectivamente. Las unidades de  $\text{As}_{\text{pw}}$  y de sorción son ppm. En este escenario, los valores de las concentraciones de As en hueso carbonizado ( $\text{As}_{\text{bc}}$ ) corresponden a ca.  $0.41 < \text{As}_{\text{bc}} < 2.43$  ppm (Bothe and Brown, 1999), para los casos cuando  $0.001 < \text{As}_{\text{pw}} < 0.01$  ppm y  $14.28 < \text{As}_{\text{bc}} < 83.9$  ppm, para los casos cuando  $0.1 < \text{As}_{\text{pw}} < 1$  ppm. Nuestros estimados indican que las muestras óseas en Tlayúa contienen concentraciones de As de hasta 38.4 ppm As (que corresponde a valores de As/Ca ca. 4%; Fig. 4). Un ejercicio de interpolación de datos muestra que los valores de  $\text{As}_{\text{pw}}$  en muestras óseas de Tlayúa pudiesen llegar a ser tan altos como ca. 0.5 ppm. Probablemente las fuentes de As se tratan de depósitos piríticos encontrados en los Estados de Oaxaca y Puebla (Galván-Villarreal and Martínez-Vera, 1995; Castillo-Nieto and Rodríguez-Luna, 1996).

Los límites de As para agua potable recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) corresponden a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ . Por otro lado, se tiene reportado que especies marinas, incluyendo al camarón, mejillones y peces, pueden contener concentraciones de As tan altas, de entre 1 a 100 mg As  $\text{kg}^{-1}$  de peso húmedo. Sin embargo, es bien sabido que la toxicidad de compuestos de As

es función de su esfera de coordinación. Por ejemplo, la toxicidad aguda (referida como  $LD_{50}$ , mg  $kg^{-1}$  peso) para arsenuro de sodio, trióxido de arsénico, arsenato de calcio, y arsenobetaína (compuesto de As análogo a la trimetilglicina (betaína) es de 15 a 40, 34, 20 a 800, y  $>10,000$  mg  $kg^{-1}$ , respectivamente (Chappell *et al.*, 1999). De esta serie de compuestos, la arsenobetaína es el compuesto organoarsenical que constituye la fuente de As más importante encontrada en peces (ca. 80% del total de As). Esto puede deberse a que los sistemas biológicos marinos comúnmente producen arsenobetaína, como un mecanismo de [detoxificación](#).

Los datos presentados de  $\mu$ XRD obtenidos para muestras de hueso de Tlayúa, sugieren la presencia de complejos organoarsenicales (figuras 8 y 9). En primera instancia, suponiendo que existiesen similitudes entre rutas metabólicas de detoxificación de As de aquellas que fuesen características de especies de peces encontradas en la cantera de Tlayúa y de especies de peces modernos, en principio se esperaría que las primeras hubiesen sido capaces de producir compuestos organoarsenales análogos en funcionalidad, ergo en estructura molecular, a la de la arsenobetaína. Este aspecto se estudia al momento.

Finalmente, se tiene evidencia de sofocación de peces en la cantera de Tlayúa (resultados no mostrados), lo cual implica una falta de transporte de oxígeno a través de vesículos sanguíneos. Este escenario coincide con las altas concentraciones de As encontradas en los restos óseos en la cantera, y el de una posible intoxicación de especímenes por As de origen natural hace más de 200 millones de años.

## Conclusión

En este artículo se presentó la investigación de la estructura química de restos fósiles procedentes de Tlayúa. Se estudió la composición de restos óseos de peces, empleando microdifracción de Rayos X ( $\mu$ XRD), microdifracción de Rayos X acoplada a fluorescencia ( $\mu$ XRF) y microespectroscopía de absorción de Rayos X ( $\mu$ XAS). Se observó una elevada acumulación de As, con una proporción de As/Ca de hasta el 4%. La identificación de calcita se vinculó con la posible asociación de mineral con procesos de preservación de especímenes, aunque no necesariamente mediante los mismos mecanismos reportados para el fosfato de calcio o la piritita. Los datos aquí presentados indicaron la incorporación de As a la superficie ósea, así como la presencia de compuestos orgánicos que contienen As, que sugieren posibles mecanismos de intoxicación en especímenes por As de origen natural prevalentes hace más de 200 millones de años.

## Agradecimientos

Javiera Cervini-Silva agradece el apoyo recibido para este proyecto de investigación por parte de la Academia Mexicana de Ciencias y la Fundación México-Estados Unidos para la Ciencia,

a través del Programa de Becas de Verano para Investigadores Jóvenes 2006 (AMC-FUMEC). Jesús Alvarado Ortega agradece el financiamiento a través del Proyecto PAPIIT No. IN225008, UNAM. Los autores agradecen al M. en C. Luis Espinosa-Arruberena, Director del Museo de Geología, UNAM, el apoyo técnico y su valiosa retroalimentación.

## Bibliografía

Allison P.A. (1988) The role of anoxia in the decay and mineralization of proteinaceous macrofossils. *Paleobiology*. 14, 139-154.

Allison P.A. (1988) Konservat-Lagerstätten: Cause and classification. *Paleobiology*. 14, 331-344.

Allison P.A., Maeda H., Tuzino T. and Maeda Y. (2008) Exceptional preservation within pleistocene lacustrine sediments of Shiobara, Japan. *Palaaios*. 23, 260-266.

Allison P.A. and Briggs D.E.G. (1991) *The taphonomy of soft-bodied animals. In The Processes of Fossilization*. (ed. S.K. Donovan). Behaven Press: London.

Allison P.A. and Briggs D.E.G. (1991) Taphonomy of non-mineralized tissues. In *Taphonomy: Releasing the Data Locked in the Fossil Record*. (eds. P.A. Allison, D.E.G. Briggs). Plenum Press: New York.

Allison P.A. and Briggs D.E.G. (1993) Exceptional fossil record: Distribution of soft-tissue preservation through the Phanerozoic. *Geology*, 21, 605—608.

Alvarado-Ortega J., Espinosa-Arrubarrena L., Blanco-Piñón A., Vega F., Benammi M. and Briggs, D.G. (2007) Exceptional preservation of the soft tissues in fishes from Tlayúa Quarry, Central Mexico. *Palaaios* 22, 682-685.

Applegate S.P., Espinosa-Arrubarrena L., Alvarado-Ortega J. and Benammi M. (2006) Revision of Recent Investigations in the Tlayúa Quarry. In *Studies on Mexican Paleontology* (eds. F. J. Vega, T. G. Nyborg, M. C. Perrilliat, M. Montellano-Ballesteros, S. R. S. Cevallos-Ferriz, S. A. Quiroz-Barroso). *Topics on Geobiology* 24. Springer: Dordrecht, pp. 276–304.

Benammi M., Alvarado-Ortega J. and Urrutia-Fucugauchi J. (2006) Magnetostratigraphy of the Lower Cretaceous strata in Tlayúa Quarry, Tepexi de Rodríguez, State of Puebla, Mexico. *Earth Planets & Space*. 58, 1295-1302.

Bothe J.V. and Brown P.W. (1999) Arsenic immobilization by calcium arsenate formation *Environ. Sci. Technol.* 33, 3806-3811.

Briggs D.E.G. (2003) The role of decay and mineralization in the preservation of soft-bodied fossils.

Ann. Rev. Earth Planet Sci. 31, 275—301.

Castillo-Nieto F. and Rodríguez-Luna E. (1996) Monografía geológico-minero del Estado de Oaxaca. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Coordinación General de Minería, Hidalgo, México (M-17e).

Chappell W.R., Abernathy C.O. and Calderon R.L. (1999) Arsenic exposure and health effects. In Proceedings of the Third International Conference of Arsenic Exposure and Health Effects. Elsevier Science: San Diego.

Galván-Villarreal F. and Martínez-Vera A. (1995) Monografía geológico-minero del Estado de Puebla. Secretaria de Comercio y Fomento Industrial. Coordinación General de Minería, Hidalgo, México (M-16e).

Harries J.E., Hukins D.W.L. and Hasnain S.S. (1988) Calcium environment in bone mineral determined by EXAFS spectroscopy. *Calc Tiss Intl.* 43, 250-253.

Lambert J.B., Simpson S.V., Szpunar C.B. and Buikstra J.E. (1984) Copper and barium as dietary discriminants: the effects of diagenesis. *Archaeometry.* 26, 131-138.

Lindh U., Brune D., Nordberg G. and Wester P.O. (1980) Levels of antimony, arsenic, cadmium, copper, lead, mercury, selenium, silver, tin and zinc in bone tissue of industrially exposed workers. *Sci. Tot. Environ.* 16, 109-116.

Oakberg K., Levy T. and Smith P. (2000) A method for skeletal arsenic analysis, applied to the Chalcolithic copper smelting site of Shiqmim, Israel. *J. Arch Sci.* 27(10), 895-901.

Paicheler J.-C., de Broin F., Gudant J., Mourer-Chauvire C., Rage J.-C. and Vergnaud-Grazzini C. (1978) Le bassin lacustre Miocene de Bes-Konak (Anatolie-Turquie): Géologie et introduction à la paléontology des vertebres. *Gèobios.* 11, 43-65.

Pate D.F., Hutton J.T. and Norrish K. (1989) Ionic exchange between soil solution and bone: toward a predictive model. *Appl. Geochem.* 4, 303-316.

Peters F., Schwarz K. and Epple M. (2000) The structure of bone studied with synchrotron X-ray diffraction, X-ray absorption spectroscopy and thermal analysis. *Thermochim. Acta.* 361, 131-138.

Pike A.W.G., Nielsen-Marsh C.M. and Hedges R.E.M. (2001) Modeling bone dissolution under different hydrological regimes. *Archaeol. Sci. Durham, BAR Intl. Ser.* 939, 127-132.

- Rhoads K. and Sanders C.L. (1985) Lung clearance, translocation, and acute toxicity of arsenic, beryllium, cadmium, cobalt, lead, selenium, vanadium, and ytterbium oxides following deposition in rat lung. *Environ. Res.* 36, 359-378.
- Seilacher A. (1970) Begriff and Bedeutung der Fossil Lagerstätten. *Neu. Jar. Geol. Paläe. Abhan.* 223, 34-39.
- Seilacher A., Reif W.-E. and Westphall F. (1985) Sedimentological, ecological and temporal patterns of fossil Lagerstätten. *Royal Soc. Lond. Philos. Trans. ser. B.* 311, 5-23.
- Tsiashala M.D., Kabengle D. and Lumu B.M. (1990) Trace element determination in scalp hair of people working at a copper smelter. *Biol. Trace Element Res.* 26-27, 287-294.
- Wüttke M. (1992) Conservation-dissolution-transformation: on the behavior of biogenic minerals during fossilization. In *Messel-An Insight into the History of Life and of the Earth.* (eds. S. Schall and W. Ziegler), Clarendon: Oxford, pp. 265-275.
- Yang H. and Yang S. (1994) The Shanwang fossil biota in eastern China: a Miocene Konservat-Lagerstätten in lacustrine deposits. *Kethania.* 27, 345-354.