

Trabajo Fin de Grado

Aproximación paleohistológica de los
dinosaurios hadrosaurios de la formación
Trempe (Maastrichtense, Huesca).

Autora

Ana Mayayo Lainez

Director/es

José Ignacio Canudo Sanagustín
Blanca Bauluz Lázaro

Facultad de Ciencias
2019

Contenido:

Abstract:	2
Planteamiento y objetivos:	2
Metodología:	3
Contexto geológico:	4
Resultados:	6
Estudio paleohistológico.	6
→ BLA 2A-20:	8
→ BLA 2A-85:	10
→ BLA 2A-31:	12
→ BLA 2A-67:	13
→ BLA 2A-5:	14
→ BLA 2A-23:	15
Estudio por microscopía electrónica de barrido (FESEM).	16
→ BLA 2A-20:	16
→ BLA 2A-85:	17
→ BLA 2A-31:	18
Trabajo de campo:	19
Discusión:	20
Conclusions:	22
Bibliografía:	23
Anexos:	25

Abstract:

In this work a paleohistological approach of indeterminate hadrosaurs is made. The fossils come from Tremp Formation (Maastrichtian) in the surroundings of Arén (Huesca). By means of optical microscopy, the histological characteristics of eleven samples from six bone elements have been described. Two femurs, two ribs and two vertebrae were analysed. These observations let us to determine the ontogenetic stage of the hadrosaurs at the moment of their death. The data indicate that BLA 2A-20, BLA 2A-31 and BLA 2A-23 were adult specimens, BLA 2A-67 and BLA 2A-5 correspond to infantile specimens, and BLA 2A-85 was a juvenile individual. In some samples, part of the spongiosa appears fragmented because of the compaction during the diagenetic processes.

The field emission scanning microscopy study performed on three of the bone elements has shown that the hydroxylapatite that composed the bone is nowadays fluorapatite in the three samples. The images also display that the vascular channels are filled by micritic and sparitic calcite. The presence of other authigenic minerals in these cavities such as iron oxides and barite has been also detected. All these data suggest that the mineralogy of the bone elements is not significantly modified, and the rests are relatively well preserved.

Planteamiento y objetivos:

Esta memoria corresponde a la asignatura denominada “Trabajo fin de grado” del Grado en Geología de la Universidad de Zaragoza.

En el desarrollo de este proyecto se han utilizado los conocimientos y competencias adquiridas durante el grado.

El objetivo principal de este trabajo es realizar una caracterización paleohistológica de los dinosaurios hadrosaurios de edad Maastrichtiense de la Fm. Tremp, así como analizar las posibles modificaciones tafonómicas que hayan sufrido. Para alcanzar este objetivo se han planteado los siguientes objetivos concretos:

- Revisión bibliográfica sobre paleohistología de vertebrados y los materiales en los que se encuentran los restos investigados.
- Descripción paleohistológica por microscopía de luz transmitida de las muestras fósiles seleccionadas y análisis tafonómico.
- Descripción de la textura y composición química en el microscopio electrónico de barrido de ejemplares seleccionados así como de las fases formadas posteriormente.
- Determinación de los aspectos paleobiológicos de la población de hadrosaurios a partir de las características paleohistológicas.

Metodología:

1. Revisión bibliográfica.

Esta revisión se ha centrado en aprender los aspectos más importantes de la paleohistología de vertebrados para realizar las descripciones de las muestras y las conclusiones posteriores. También se han revisado artículos de la geología de la zona de la que proceden las muestras, en concreto aquellos que hablan sobre los yacimientos localizados en la Fm. Tremp.

2. Materiales estudiados.

Para realizar el análisis paleohistológico se realizó una selección de 6 huesos de la colección del Museo de Ciencias Naturales de la Universidad de Zaragoza. Dado que las técnicas utilizadas para este estudio suponen la destrucción de las muestras originales, se han elegido muestras con menor interés para otro tipo de estudios, como son fragmentos de huesos, pero en ningún caso se han seleccionado muestras erosionadas ya que, para el análisis histológico, se requiere que estén preservadas todas las capas del hueso.

3. Preparación de muestras.

Todas las muestras fueron procesadas en el Servicio de Preparación de Rocas y Materiales Duros del Servicio de Apoyo a la Investigación (SAI) de la Universidad de Zaragoza. Se realizaron 11 láminas delgadas, 3 grandes (52x76x1,5 mm) y 8 pequeñas (28x48x1,5 mm) con un grosor de 100 μm , que es el apropiado para el estudio histológico en microscopía óptica.

4. Estudio por microscopía óptica de luz transmitida.

La descripción paleohistológica a partir de las láminas delgadas se realizó con un microscopio petrográfico Olympus Cx41, situado en el área de Cristalografía y Mineralogía (Dpto de Ciencias de la Tierra, Universidad de Zaragoza). Con este fin también se utilizó el microscopio petrográfico de polarización Olympus AX-70 del Servicio de Microscopía Óptica e Imagen (SAI), que tiene acoplada una cámara Olympus E-330 de 7,5 megapíxeles.

5. Estudio por microscopía electrónica de emisión de campo (FESEM).

De estas 11 láminas, se seleccionaron 3 para el análisis mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FSEM). El estudio se llevó a cabo en el FESEM Carl Zeiss MERLIN™ del SAI, Universidad de Zaragoza. Estas muestras se pulieron y cubrieron con una película de carbono para hacerlas conductoras de los electrones.

Se realizaron imágenes de electrones retrodispersados, que muestran en tonos grises, las diferentes composiciones químicas de las fases que forman la muestra. Las fases que tienen pesos moleculares ligeros se observan en colores grises oscuros y las que tienen pesos moleculares altos en grises claros o blancos.

El microscopio se calibró con cobalto para hacer los análisis químicos (EDS) tanto puntuales como mapas composicionales. Se trabajó con 15 kV, que es el voltaje mínimo para que los elementos presentes en la muestra emitan rayos X. Los elementos detectados fueron O, F, Na, Mg, P, S, Ca, Mn, Ba, Fe y Al.

Los análisis químicos se exportaron en porcentaje en peso y en proporción atómica.

6. Trabajo de campo.

Se realizó una salida al campo para reconocer la geología de la zona. En esta salida se realizó una prospección en el yacimiento Blasi 2A para caracterizar la macrofauna presente, y se recogió un saco con 5 kg de sedimento para determinar los microfósiles de la zona y, con ellos, hacer un estudio paleoecológico. También se tomó una muestra de sedimento para hacer una calcimetría y reconocer la litología del mismo.

7. Estudio de microfósiles.

Los 5 kg de sedimento recogidos se dejaron 48 horas en inmersos en agua para posteriormente tamizarlos con un tamiz de luz de malla de 0,5 mm. El sedimento recogido se secó en un horno con una temperatura inferior a 50°C. Una vez obtenida la fracción de sedimento deseada se separaron los fósiles con la ayuda de una lupa binocular del laboratorio de vertebrados del área de Paleontología (Dpto de Ciencias de la Tierra, Universidad de Zaragoza). De los microfósiles obtenidos se separaron los más interesantes para realizar fotografías en el microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM 6400, para lo cual, previamente, se limpiaron en una cubeta de ultrasonidos.

8. Determinación del contenido en carbonato cálcico.

Para hacer la calcimetría se molió el sedimento en un mortero de ágata y se hizo pasar por un tamiz de 100 µm hasta tener un gramo de muestra. En primer lugar se realizó la calcimetría con un gramo de carbonato puro que se utilizó como referencia en el posterior análisis. Tras éste, se analizó el gramo de sedimento recogido en Blasi 2A.

Contexto geológico:

El yacimiento Blasi 2A, del que proceden las muestras, se encuentra en el valle de Serraduy, a 2 km al oeste de Arén, en la provincia de Huesca (NE de España) (Fig. 1). Geológicamente se encuentra en la rama occidental del sinclinal de Tremp en la cuenca de Tremp, en el Pirineo meridional (Riera et al., 2009), o en la cuenca de Tremp-Graus (Pujalte y Schmidt, 2005).

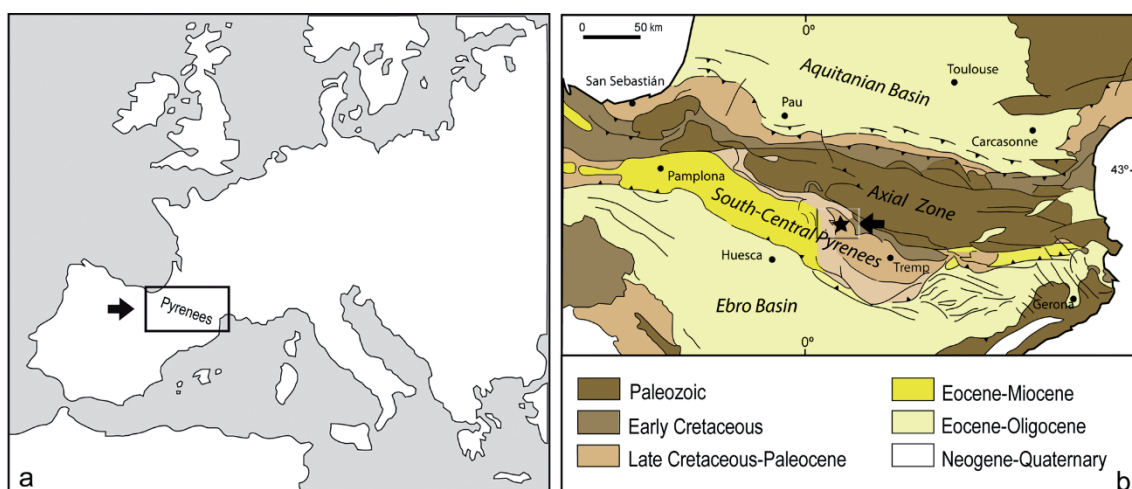


Figura 1. Situación geográfica y geológica de los yacimientos Blasi tomada de Company et al. (2015). a) Localización de los Pirineos en la Península Ibérica. b) Mapa geológico de la región del Pirineo en el que se indica la zona de estudio.

En esta zona afloran las formaciones Arenisca de Arén y Tresp (Mey et al., 1968), así como las calizas con alveolinas (Fig. 2).

La formación Arenisca de Arén está compuesta por areniscas de grano medio de color blanquecino, marrón o rojizo. A techo de esta formación se encuentra el yacimiento Blasi 1. El límite superior de esta formación lo constituye un paleosuelo que se caracteriza por una fuerte coloración rojiza, debido a la acumulación de óxidos de hierro, y por una intensa bioturbación (Rosell et al., 2001).

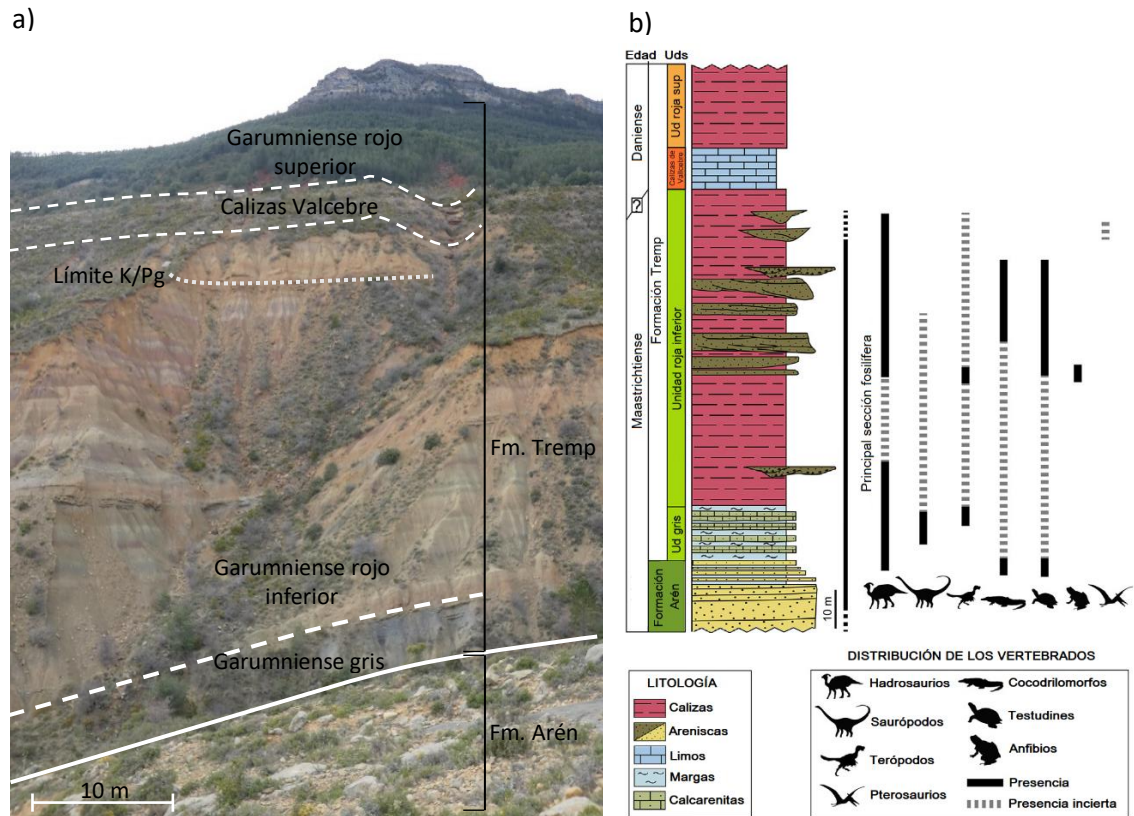
La formación Tresp es el nombre que se le da a las facies garumnienses que afloran en esta zona. Los materiales de esta formación se depositaron siguiendo una regresión marina general en el Pirineo Central que empezó cerca del límite Campaniense-Maastrichtiense y dejó la parte oriental de la cuenca bajo condiciones continentales de sedimentación (Rosell et al., 2001). Esta formación se puede dividir en cuatro unidades litológicas menores, definidas por Rosell et al. (2001):

El Garumniense gris: está constituido por lutitas (Anexo I) grises con algunas capas de areniscas y calizas intercaladas. Esta unidad se depositó en áreas protegidas amplias y poco profundas de salinidad variable que se interpretan como ambientes de llanura mareal, lagoons y estuarios ubicados lateral y proximalmente a una isla barrera o a los depósitos deltaicos de la Fm. Arén (Puértolas–Pascual et al., 2018). En esta unidad se sitúan los yacimientos Blasi 2A, Blasi 2B y Blasi 3. El material estudiado en este trabajo procede de la base de esta unidad, del yacimiento Blasi 2A.

El Garumniense rojo inferior: está formado por lutitas rojas, marrones, ocre, violáceas o verdosas con un alto grado de bioturbación con intercalaciones de areniscas ocre lenticulares. También pueden aparecer margas grises y microconglomerados. En esta unidad se encuentran los yacimientos Blasi 4 y Blasi 5. Entre esta unidad y las calizas de Valcebre hay una unidad transicional compuesta por depósitos lutíticos-margosos donde la presencia de fósiles es prácticamente nula. Es en esta unidad donde se sitúa el límite K/Pg, asociado con un cambio en las condiciones de sedimentación de depósitos detríticos a químicos (López-Martínez et al., 2006).

Calizas de Valcebre y equivalentes laterales: están compuestas por un único tramo de calizas micríticas con carofíceas. Se encuentran usualmente recristalizadas. El contenido fósil de esta unidad es muy escaso, aunque pueden aparecer carófitas, foraminíferos, ostrácodos y moluscos. Esta unidad se ha asociado a ambientes lacustres de salinidad variable cercanos a la costa (Rosell et al., 2001).

El Garumniense rojo superior: esta unidad es de edad paleocena y está compuesta por una sucesión de lutitas, areniscas, carbonatos y yesos. A base la serie se compone de lutitas de color rojo intenso y a techo aparecen conglomerados y depósitos evaporíticos ocasionales, lo que indica un tránsito a condiciones más áridas (Puértolas–Pascual et al., 2018). En esta unidad es común la presencia de *Microcodium*, oncolitos y estromatolitos.



Resultados:

Se han estudiado seis fragmentos de huesos fósiles, todos ellos pertenecientes a hadrosaurios indeterminados. En la tabla 1 se han indicado los elementos estudiados, el taxón y su sigla correspondiente.

Tabla 1.- Resumen de los elementos óseos estudiados histológicamente en este trabajo.

Sigla	Taxón	Elemento
BLA 2A-20	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Fémur
BLA 2A-85	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Fémur
BLA 2A-31	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Costilla
BLA 2A-67	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Costilla
BLA 2A-5	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Vértebra
BLA 2A-23	<i>Hadrosaurio indet.</i>	Vértebra

Estudio paleohistológico.

Este apartado en el que se explica la nomenclatura de la paleohistología se ha tomado de Blanco y Gázquez (2004), Nacarino Meneses (2011) y Padian y Lamm (2013).

Las observaciones paleohistológicas se han realizado sobre restos de huesos fosilizados de hadrosaurios. El hueso es un tejido conjuntivo compuesto por células vivas rodeadas por una matriz intercelular mineralizada. El esqueleto de los vertebrados tiene distintas funciones, por un lado sirve de soporte y protección para los organismos, y por otro interviene en el metabolismo actuando como depósito de calcio (Ca^{2+}) y fosfato (PO_4^{3-}).

El tejido óseo presenta una estructura jerárquica a diversas escalas (Fig. 3). En el nivel macroestructural se diferencian el hueso compacto y el esponjoso o trabecular. Las observaciones histológicas se centran en el nivel microestructural.

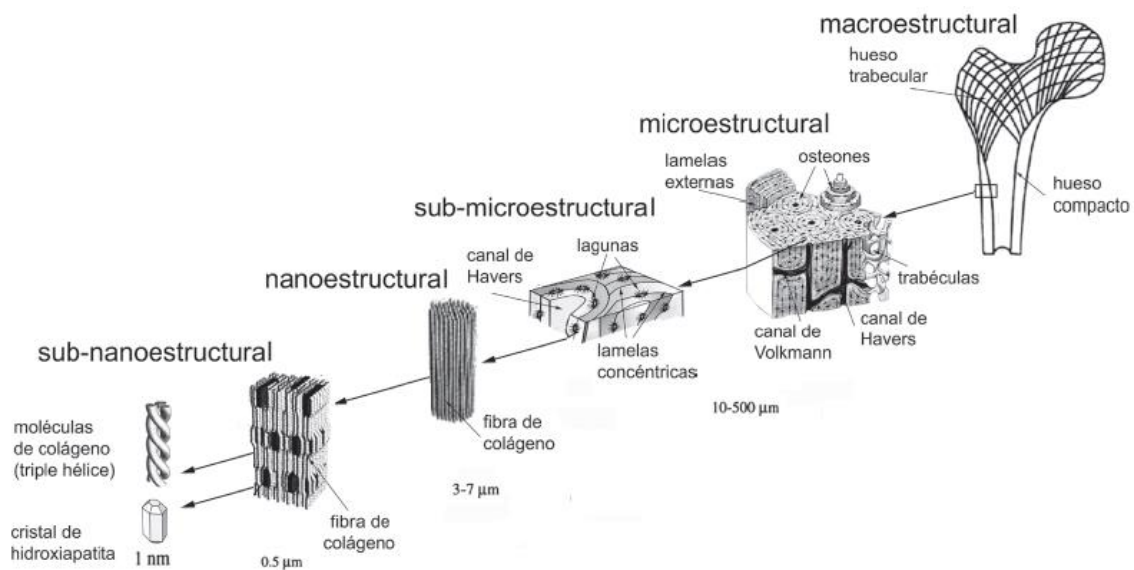


Figura 3. Niveles jerárquicos de la estructura ósea (Barrientos et al., 2016).

El hueso presenta tres tipos de células principales:

Osteoblastos: se encargan de formar la matriz orgánica.

Osteocitos: se encargan de mantener el hueso y controlar las concentraciones de calcio y fósforo. Son las células más abundantes en el hueso maduro.

Osteoclastos: reabsorben el hueso.

La matriz se compone por una fase orgánica de fibras de colágeno y una fase inorgánica de hidroxiapatito. Según su estructura se divide en dos tipos:

El hueso compacto está formado por una estructura maciza, que no presenta espacios. Este tipo de tejido se sitúa en la porción periférica de los huesos. La matriz extracelular se dispone en laminillas que pueden ordenarse paralelas o concéntricas alrededor de los canales de Havers, formando las osteonas. Los canales de Havers en vida son canales vasculares, por los que pasan vasos sanguíneos y nervios. Estos canales se conectan mediante los canales de Volkmann, que se disponen transversales a la dirección principal del hueso. Las osteonas pueden ser de dos tipos: primarias o secundarias. Las osteonas primarias se forman en las cavidades haversianas en los huesos de los individuos juveniles. Las osteonas secundarias se generan en los huecos generados por la reabsorción del hueso alrededor de un canal vascular, por lo que cortan el tejido óseo preexistente. Estas osteonas presentan una capa externa de cemento. Ambos tipos de osteonas presentan pequeños huecos entre las laminillas que las forman en los que se sitúan

los osteocitos en vida. Si las osteonas secundarias se presentan superpuestas se denomina tejido Haversiano denso y si se puede observar la matriz intersticial se denomina tejido Haversiano laxo.

Los canales vasculares pueden presentar distintas orientaciones en el hueso compacto (Fig. 4). Si se colocan paralelos al eje mayor del hueso presentan una orientación longitudinal. Si presentan una orientación en circunferencias, esta es laminar. Si los canales se encuentran oblicuos en sección, presentan orientación reticular (Padian y Lamm, 2013).

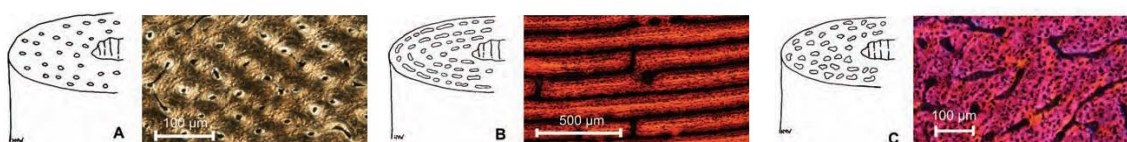


Figura 4: Diagramas esquemáticos y micrografías adjuntas que ilustran las orientaciones de los canales vasculares en el hueso compacto. A) Canales longitudinales en a tibia de un dinosaurio terópodo triásico. B) Canales laminares en la tibia de un terópodo jurásico. C) canales reticulares en la falange de un pterosaurio jurásico. Modificada de Padian y Lamm (2013).

El hueso esponjoso o trabecular está compuesto por un sistema tridimensional de trabéculas interconectadas y se sitúa en el centro del hueso, rodeado por el compacto. Este tipo de hueso presenta grandes cavidades en las que se sitúan los vasos sanguíneos en vida.

Las abreviaturas utilizadas en este apartado han sido las siguientes: HC: hueso compacto, HE: hueso esponjoso, CV: cavidades vasculares, Tr: trabécula, OS: osteona secundaria, OP: osteona primaria, CLo: canales vasculares en orientación longitudinal, CLa: canales vasculares en orientación laminar, CRe: canales vasculares en orientación reticular, Lam: laminación, Fra: fragmentación.

→ BLA 2A-20:

Esta muestra corresponde con el fragmento de un fémur de hadrosaurio (Fig. 5). Se han realizado dos láminas delgadas a partir de esta muestra, una en corte perpendicular y otra en corte paralelo.

a)



b)

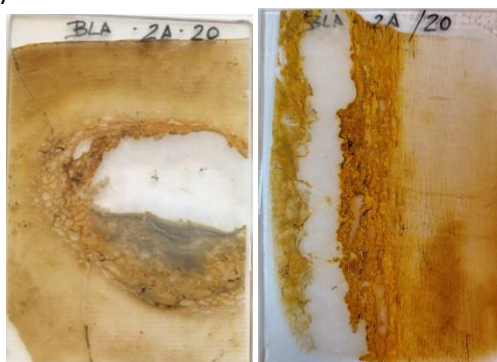


Figura 5. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-20, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Láminas delgadas obtenidas a partir de esta muestra. El lado corto de las láminas es de 52 mm.

Sección transversal: Se conserva tanto el tejido compacto como el esponjoso. En el tejido compacto se observan dos zonas diferenciadas. El tejido esponjoso se encuentra muy reducido.

En la zona más externa del tejido compacto los canales vasculares presentan una orientación laminar (Fig. 6a). En esta zona hay grietas que se acomodan a la estructura orgánica rellenas de calcita. Hay óxidos de hierro rellendo los canales vasculares y sobre el apatito, formando pátinas. Se han observado annulis en este tejido (Fig. 6a).

La zona más interna, la que está con contacto con el esponjoso, se encuentra muy reducida con respecto a la anterior. Presenta abundantes osteonas secundarias superpuestas indicando remodelación. El patrón vascular de esta zona es de longitudinal a reticular. Presenta un elevado grado de fracturación, pero las grietas no presentan una orientación predominante. En esta zona los óxidos de hierro se sitúan predominantemente en los canales vasculares.

El tejido compacto está compuesto por tejido haversiano denso. El límite entre ambas zonas no es una línea neta, sino que se intercalan en algunas zonas (Fig. 6b).

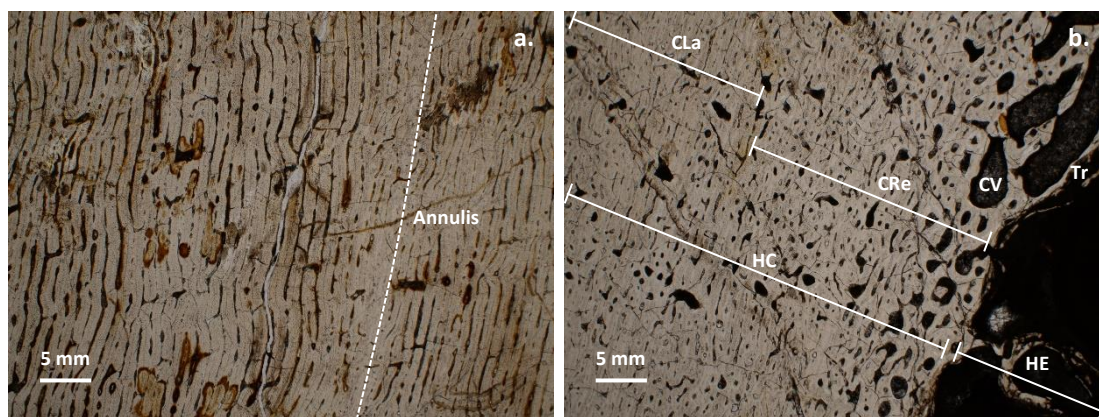


Figura 6. BLA 2A-20. a) Tejido compacto con canales vasculares en ordenación laminar, se observa un annulis. b) Tejido compacto con canales vasculares en ordenación laminar y reticular, y tejido esponjoso.

El tejido esponjoso se encuentra muy reducido y presenta cavidades medulares de gran tamaño rellenas de calcita micrítica en los bordes y esparítica en el centro. Hay presencia de óxidos de hierro tapizando las paredes de las cavidades (Fig. 7).

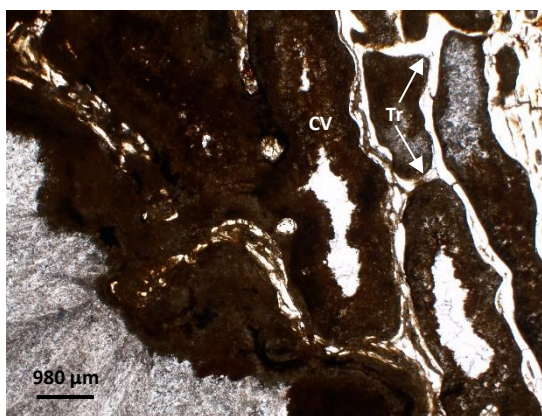


Figura 7. BLA 2A-20. Detalle del tejido esponjoso donde se pueden ver los óxidos tapizando cavidades vasculares.

El canal medular presenta dos rellenos, ambos de calcita. En la zona inferior de la Fig. 5b) se observa un relleno de calcita de color grisáceo. En esta calcita no se han podido observar

estructuras. El resto del canal está relleno de calcita incolora de tamaño esparítico en cuyos cristales se observa exfoliación romboédrica.

Sección paralela: Se observan las mismas zonas y estructuras que en la sección transversal.

En el hueso compacto externo se reconocen dos familias de grietas, unas que se acomodan a la estructura orgánica y otras que la atraviesan transversalmente rellenas de calcita.

→ BLA 2A-85:

Esta muestra corresponde con el fragmento distal de un fémur de pequeño tamaño (Fig. 8). Se han realizado dos láminas delgadas a partir de esta muestra, ambas en corte perpendicular, uno pasando por la caña y otro por las epífisis.

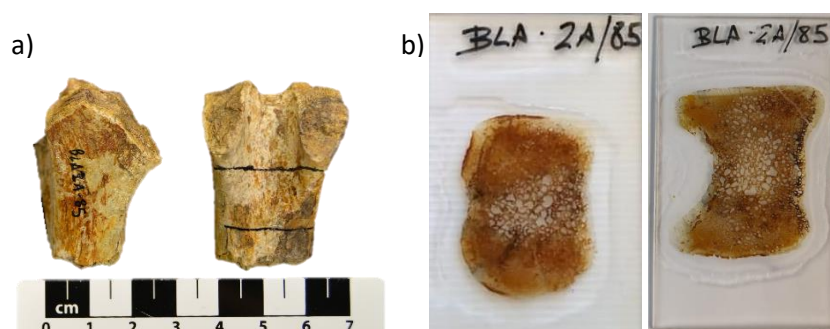


Figura 8. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-85, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Láminas delgadas obtenidas a partir de esta muestra. El ancho de las láminas es de 28 mm.

Sección diáfisis: Se conserva tanto el tejido esponjoso como el compacto.

En el tejido compacto se observan osteonas, canales de Havers y de Volkman formando tejido haversiano denso. Las osteonas secundarias, aunque abundantes, no se presentan superpuestas entre ellas (Fig. 9a), y se observa matriz intersticial. Las osteonas están compuestas por apatito y los canales se encuentran rellenos por calcita de dos tipos, en unos casos se trata de calcita gris y en otros, menos abundantes, presenta un color amarillento. En la corteza externa las osteonas presentan un tamaño más reducido que en el interior del hueso (Fig. 9b). El patrón vascular es longitudinal.

El tejido compacto presenta un elevado grado de fracturación, con grietas en disposición aleatoria.

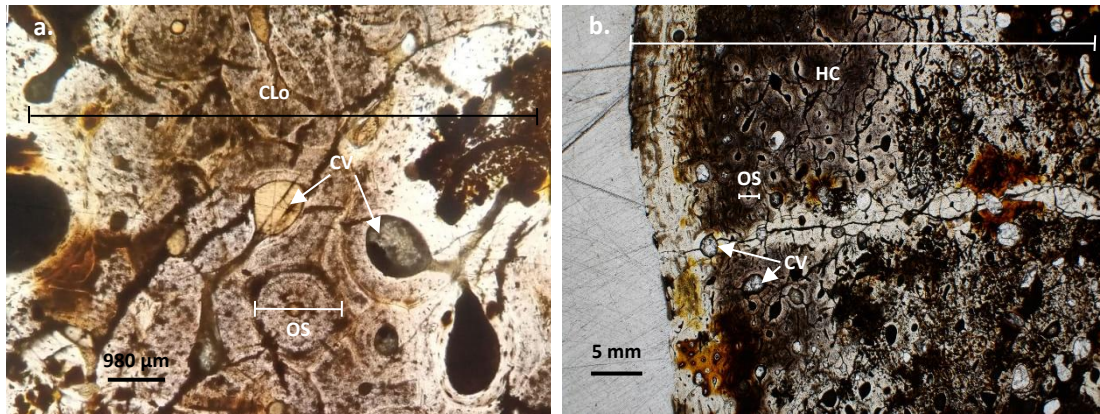


Figura 9. BLA 2A-85. a) Tejido compacto con canales vasculares en ordenación longitudinal, se observa rellenos calcíticos de dos colores en los canales vasculares. b) Tejido compacto en el que se observa una corteza más compacta.

En el tejido esponjoso los óxidos se sitúan en las trabéculas (Fig. 10). Las cavidades medulares se encuentran rellenas de calcita de tamaño esparítico.

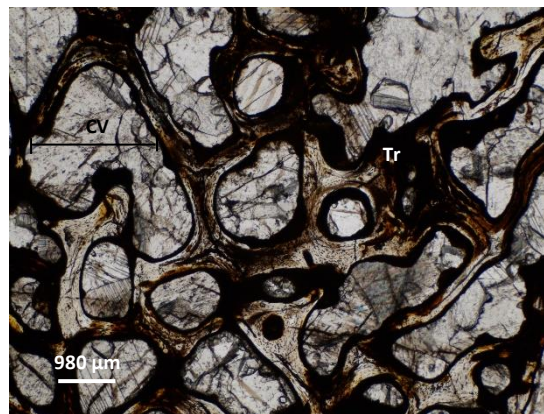


Figura 10. BLA 2A-85. Tejido esponjoso.

Sección epífisis: En esta sección el tejido compacto presenta una mayor cantidad de óxidos de hierro. Una de las epífisis presenta una fractura que la atraviesa y está rellena de calcita. En general, el hueso presenta un grado de agrietamiento mayor que el de la sección anterior (Fig. 11).

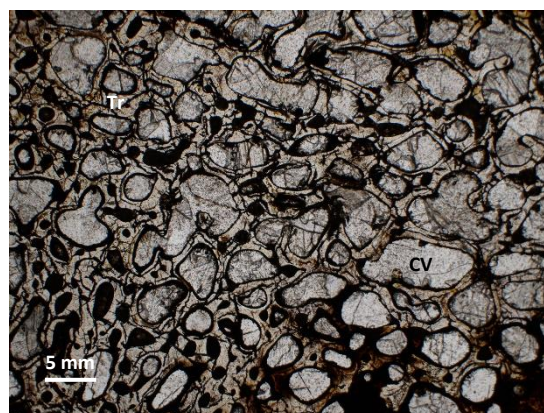


Figura 11. BLA 2A-85 Tejido esponjoso. Se observa un elevado grado de agrietamiento.

→ BLA 2A-31:

Esta muestra corresponde con el fragmento de una costilla de hadrosaurio (Fig. 12). Se han realizado dos láminas delgadas a partir de esta muestra, una en corte perpendicular y otra en corte paralelo.

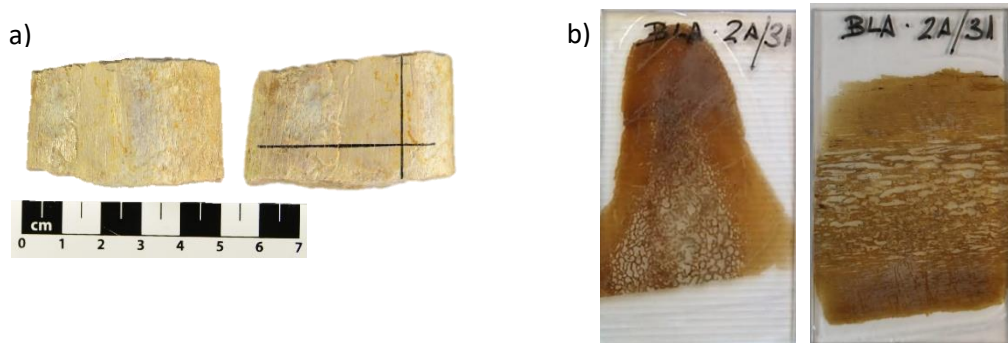


Figura 12. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-31, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Láminas delgadas obtenidas a partir de esta muestra. El ancho de las láminas es de 28 mm.

Corte transversal: Se conserva tanto el hueso compacto como el hueso esponjoso (Fig. 13a).

En el hueso compacto encontramos abundantes osteonas secundarias formando tejido Haversiano denso. En las osteonas se puede identificar el canal de Havers, canales de Volkmann, lamelas y osteocitos. Las cavidades vasculares se encuentran rellenas por calcita. En algunos casos los cristales esparíticos son lo suficientemente grandes como para poder observar la exfoliación. En algunas zonas del hueso compacto se observa apatito de un color más oscuro, pero hay continuidad en las estructuras entre ambos (Fig. 13b). El patrón vascular es longitudinal.

En el hueso compacto encontramos grietas que se acomodan a las estructuras orgánicas y se disponen con una orientación preferentemente radial a la estructura ósea.

En el hueso esponjoso hay una zona en la que las trabéculas se encuentran muy fragmentadas, que corresponde con la zona más estrecha de la sección, observable en la Fig. 13c.

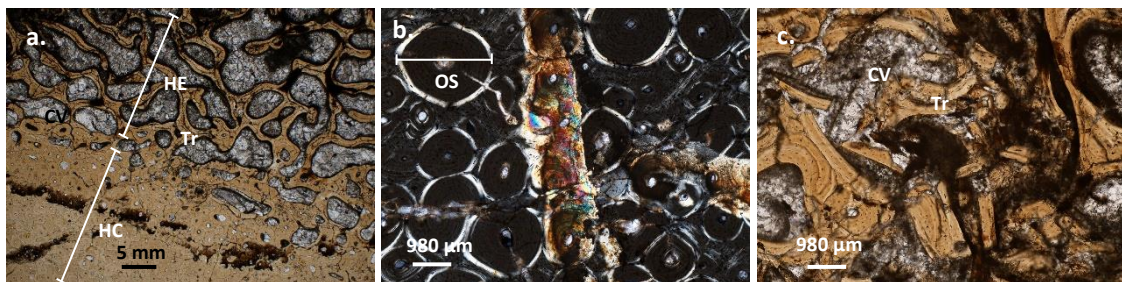


Figura 13. BLA 2A-31. A) Tejidos esponjoso y compacto. b) Fotografía tomada con nicoles cruzados. Tejido compacto con canales vasculares en ordenación longitudinal, se observa en la zona central una sección con apatito con otro color de interferencia. c) Tejido esponjoso con las trabéculas muy fracturadas.

Corte paralelo: en este corte, en el tejido compacto se pueden observar abundantes grietas que cortan a estructura ósea de manera transversal. También se reconoce la fracturación de las trabéculas en el tejido esponjoso.

→ BLA 2A-67:

Esta muestra corresponde con el fragmento de una costilla de hadrosaurio (Fig. 14). Se han realizado dos láminas delgadas a partir de esta muestra, una en corte perpendicular y otra en corte paralelo.

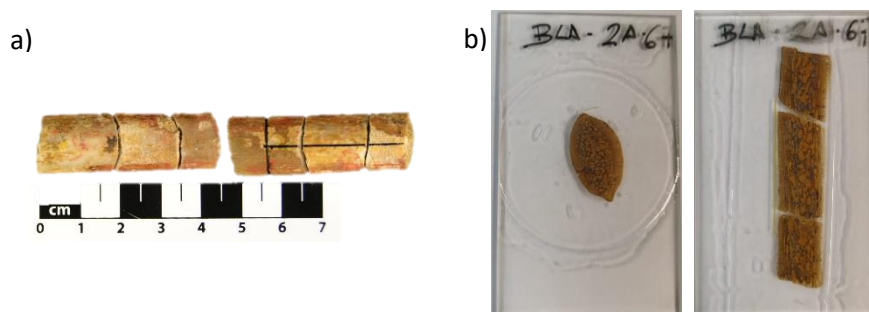


Figura 14. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-67, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Láminas delgadas obtenidas a partir de esta muestra. El ancho de las láminas es de 28 mm.

Sección transversal: Se conserva tanto el tejido esponjoso como el compacto.

En el tejido compacto no se observan osteonas secundarias solo osteonas primarias formando tejido Haversiano laxo, y la organización vascular es muy baja en patrón longitudinal. En las capas más externas del tejido compacto se observa una laminación dada por la coloración del apatito (Fig. 15a). Hay abundantes óxidos de hierro, tanto en los canales vasculares como en el apatito.

En el tejido esponjoso se observan trabéculas de gran tamaño rellenas de calcita micrítica (Fig. 15b). Esta muestra no presenta fracturación ni agrietamiento.

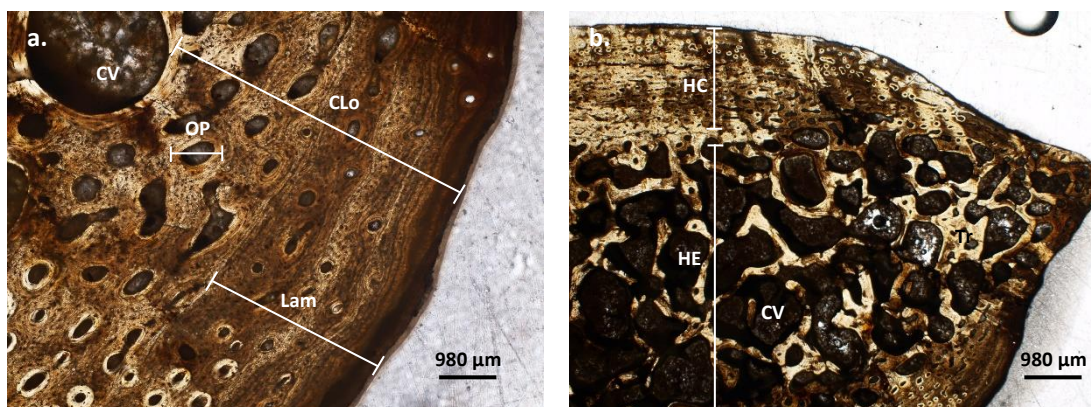


Figura 15. BLA 2A-67. a) Tejido compacto con canales vasculares en ordenación longitudinal, se observa laminación en las capas más externas. b) Sección en la que se observan tanto el tejido compacto como el esponjoso.

Sección longitudinal: En esta sección se distinguen las mismas zonas que en la anterior. Se observa una familia de grietas que atraviesan la estructura ósea transversalmente, tanto en el tejido compacto como en el esponjoso.

→ BLA 2A-5:

Esta muestra corresponde con el fragmento de una vértebra de hadrosaurio (Fig. 16). Se ha realizado una lámina delgada a partir de esta muestra, que corresponde con la línea trazada a la izquierda en la Fig. 16a.

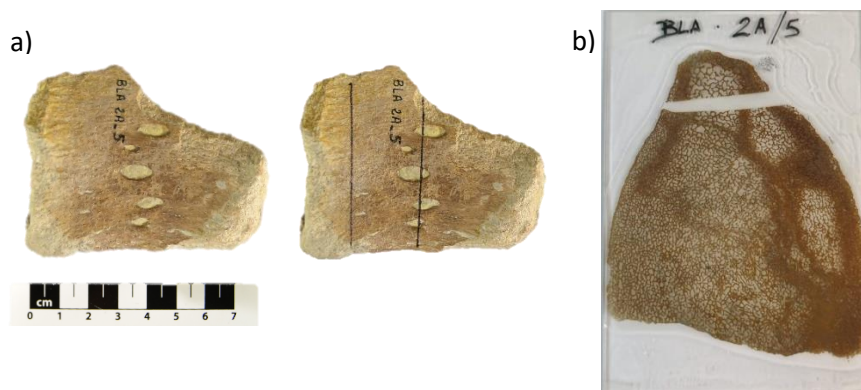


Figura 16. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-5, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Lámina delgada obtenida a partir de esta muestra. El ancho de la lámina es de 52 mm.

Se conserva tanto tejido compacto como esponjoso. En esta muestra el tejido esponjoso es muy abundante, mientras que el compacto se encuentra reducido (Fig. 17a). El tejido compacto no presenta osteonas secundarias y los canales vasculares presentan una orientación longitudinal.

El tejido esponjoso presenta grandes trabéculas. Se encuentra fracturado en algunas zonas (Fig. 17c), pero en las más céntricas mantiene su estructura original. En esta muestra los óxidos de hierro se encuentran predominantemente en el apatito (Fig. 17b). Los rellenos de las cavidades son de calcita esparítica.

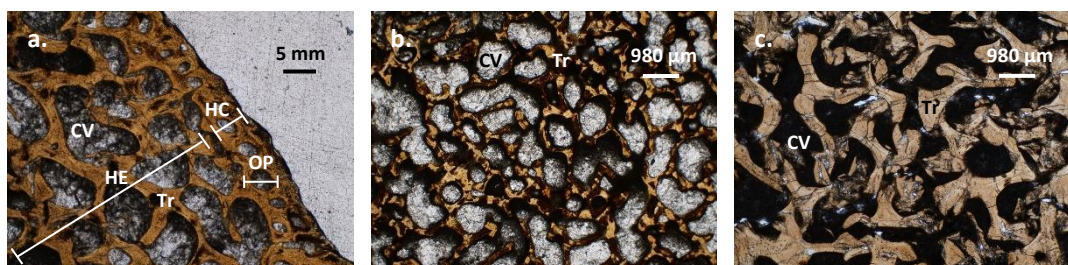


Figura 17. BLA 2A-5. a) Tejidos compacto y esponjoso. b) Tejido esponjoso con la estructura original intacta. c) Tejido esponjoso con un elevado grado de fracturación.

→ BLA 2A-23:

Esta muestra corresponde con un fragmento de una vértebra de hadrosaurio (Fig. 18). Se han realizado dos láminas delgadas a partir de esta muestra, en cortes perpendiculares entre sí.

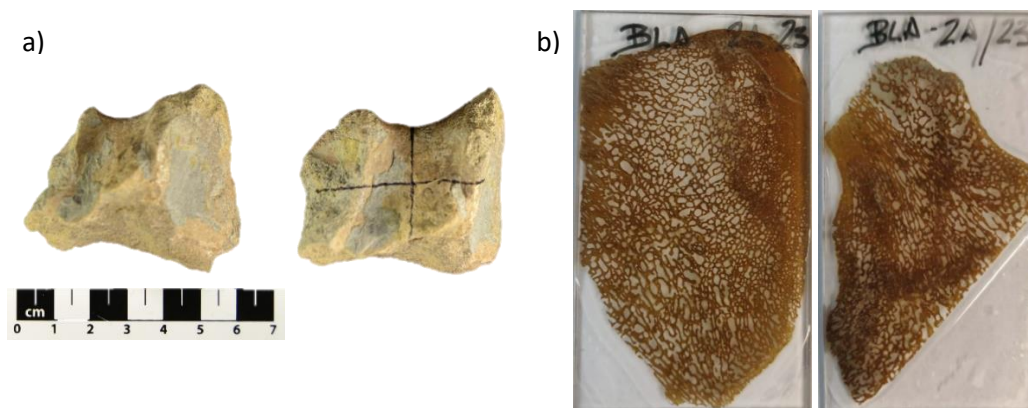


Figura 18. a) Fotografías de visu en dos vistas de la muestra BLA 2A-23, con los cortes realizados indicados en una de ellas. b) Láminas delgadas obtenidas a partir de esta muestra. El ancho de las láminas es de 28 mm.

Sección 1: Se observa tanto tejido compacto como esponjoso. El tejido compacto se encuentra muy reducido en algunas zonas. En el tejido compacto se observan osteonas secundarias con reemplazamiento formando tejido Haversiano denso (Fig. 19a), y abundantes lagunas osteocíticas. Los canales vasculares se disponen de manera longitudinal.

El tejido esponjoso presenta cavidades con tamaño creciente hacia el centro del hueso. Las cavidades medulares se encuentran rellenas de calcita en mosaico. Esto es, con cristales micríticos en los bordes de las cavidades y de tamaño esparítico cada vez más grandes hacia el centro. Se observan zonas con una dirección preferente en las que la estructura ósea se encuentra muy fragmentada (Fig. 19b).

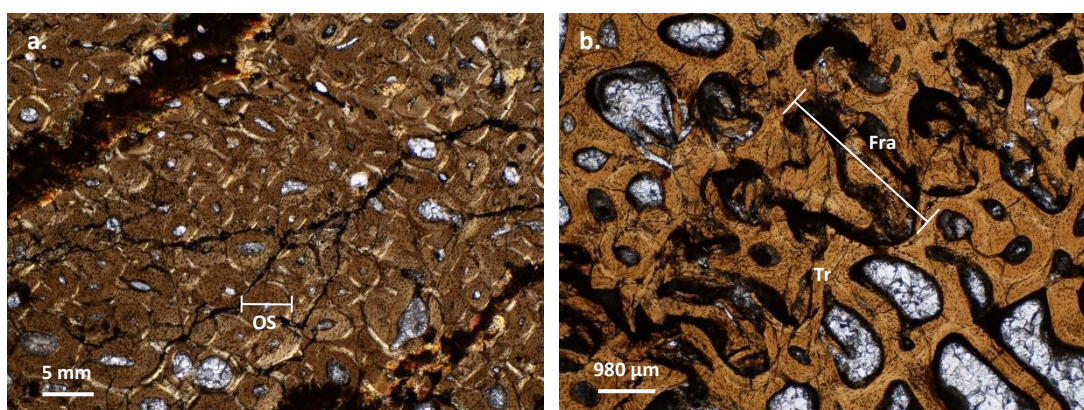


Figura 19. BLA 2A-23. a) Tejidos compacto con abundantes osteonas secundarias en nícoles cruzados. b) Tejido esponjoso con una zona fracturada siguiendo una dirección preferente.

No se observan abundantes óxidos de hierro el hueso y los que aparecen se sitúan preferentemente en las zonas más externas del hueso.

Sección 2: Se observan las mismas características que en la sección 1.

Estudio por microscopía electrónica de barrido (FESEM).

Tras la observación de las muestras con microscopio petrográfico se han seleccionado las tres láminas más interesantes para su estudio en FESEM. Estas láminas corresponden a los cortes transversales de las muestras BLA 2A-20, BLA 2A-85 y BLA 2A-31.

Las abreviaturas utilizadas en este apartado han sido las siguientes: Ap: apatito, Ca: calcita, FeOx: óxidos de hierro, Ba: barita, Qz: cuarzo, Ms: moscovita, Zr: circón.

→ BLA 2A-20:

El hueso conservado está compuesto por apatito con una composición de calcio (46,05%Wt), oxígeno (31,96%Wt), fósforo (18,8%Wt) y flúor (2,72%Wt), por lo que se trataría de fluorapatito. Adicionalmente también contiene sodio (0,38%Wt) y azufre (0,09%Wt) (ANEXO I). En algunas zonas del hueso compacto aparece, en las imágenes de electrones retrodispersados, un apatito de un color más claro que el resto, pero esta variación de tono no se debe a una distinta composición de los apatitos.

Los rellenos de las cavidades vasculares son de calcita de tamaño micrítico a esparítico. La cavidad medular está rellena de cristales de calcita de tamaño esparítico. La composición de esta calcita es de calcio en un 58,87%, oxígeno en un 36,05%, hierro en un 4,27% y manganeso en un 0,81%. Como en el estudio por microscopio petrográfico, se han observado dos rellenos calcíticos en la cavidad medular. No se han encontrado variaciones en la composición de la calcita en esta zona.

En el hueso compacto aparece barita rellenoando cavidades (Fig. 20 a y c), que es fácilmente distinguible en las imágenes de electrones retrodispersados por presentar colores blancos debido a su elevado peso molecular. Muchas de las lagunas se encuentran rellenas por óxidos de hierro. También aparecen óxidos de hierro rellenoando algunas cavidades vasculares y grietas. Estos óxidos se presentan como cristales lenticulares (Fig. 20 a y b), lo que sugiere que se han formado *in situ*. Algunas de las grietas del hueso compacto están rellenas por granos detríticos de cuarzo, moscovita y ocasionalmente se han encontrado circones (Fig. 20 f).

El apatito del hueso esponjoso se encuentra parcialmente reemplazado por calcita (Fig. 20 d y e).

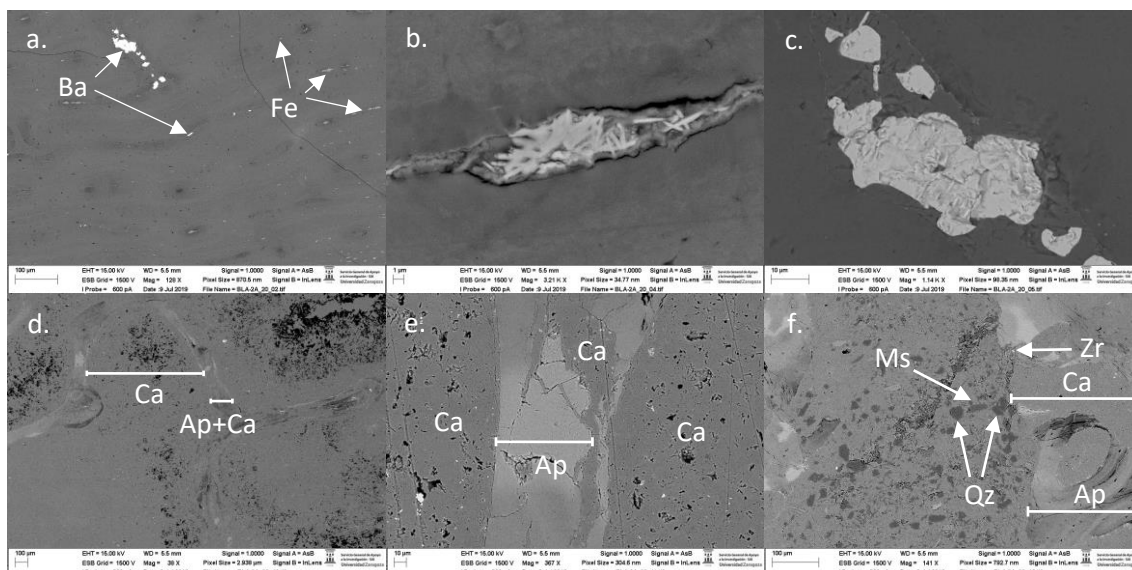


Figura 20: Fotografías realizadas con microscopio electrónico de barrido de la lámina BLA 2A-20. a. Fotografía del hueso compacto. b. Imagen detalle de la fotografía a en la que se observan cristales lenticulares de óxidos de hierro. c. Imagen detalle de la fotografía a en la que se observan cristales de barita. d. Fotografía del hueso compacto. e. Imagen detalle de la fotografía d. f. Fotografía de una grieta rellena de granos detríticos en el hueso compacto.

→ BLA 2A-85:

El hueso conservado está compuesto por apatito y los rellenos de las cavidades vasculares por calcita. También se han encontrado óxidos de hierro en cavidades vasculares y en grietas. Las lagunas se encuentran en su mayoría sin rellenar, salvo en algunos casos que se encuentran rellenas por óxidos de hierro.

La composición del apatito del hueso conservado es de calcio (47,63%Wt), oxígeno (28,99%Wt), fósforo (18,64%Wt), flúor (2,65%Wt) y hierro (1,32%Wt), por lo que se trata de fluorapatito. Adicionalmente también contiene sodio (0,15%Wt) y azufre (0,26%Wt) (ANEXO II).

En el hueso compacto hay numerosas osteonas secundarias. El apatito se presenta en unas zonas con tonos más claros que en otras. Como en la muestra anterior, esta diferencia de color en las imágenes de electrones retrodispersados no se debe a variaciones composicionales (Fig. 21a).

En esta zona, en los canales de Havers se encuentran óxidos de hierro con textura framboidal (Fig. 21b). En el apatito aparecen en ocasiones óxidos de hierro con tamaños muy finos, posiblemente coloidales, que precipitan formando pátinas. En la corteza externa aparecen las osteonas más compactas. En esta zona las lagunas y cavidades vasculares se encuentran mayoritariamente sin rellenar.

Las diferencias en los tonos de grises de los óxidos de hierro, es probablemente debido a la presencia de hematites y goethita que tienen diferente peso molecular.

En el tejido esponjoso se observa que los óxidos han crecido tapizando las cavidades ahora rellenas de calcita (Fig. 21c). En este tejido se observa una fractura que se acomoda a las estructuras orgánicas, llegando a cortarlas en ocasiones. Esta fractura está rellena de apatito y contiene en su parte central óxidos de hierro (Fig. 21d).

En el análisis de las calcitas se observa que hay calcitas composicionalmente puras y otras presentan trazas de magnesio, manganeso y hierro.

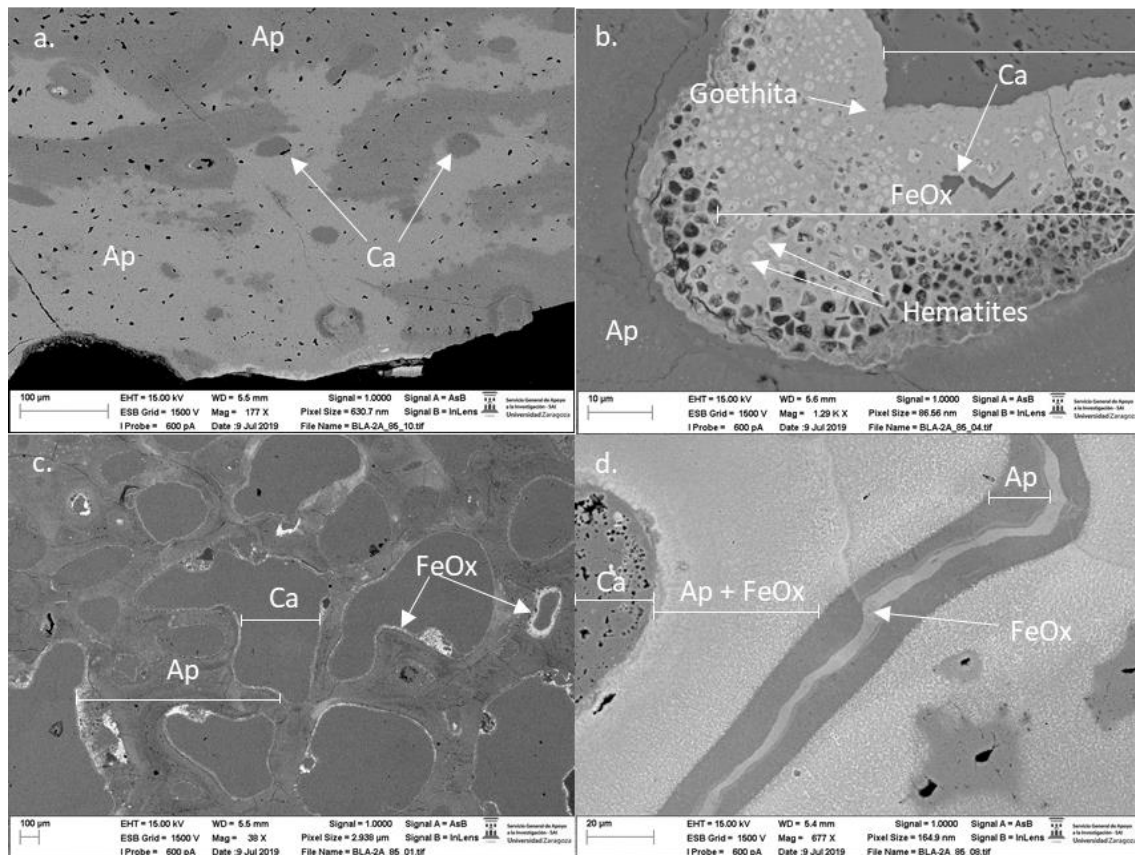


Figura 21: Fotografías realizadas con FESEM de la lámina BLA 2A-85. a. Fotografía del hueso compacto. b. Fotografía del relleno del canal de Havers de una osteona en el hueso compacto. c. Fotografía del hueso esponjoso en la que se observan óxidos de hierro tapizando las cavidades vasculares. d. Fotografía de una grieta rellena de óxidos de hierro en el hueso compacto.

→ BLA 2A-31:

El hueso conservado está compuesto por apatito con una composición de calcio (46,80%Wt), oxígeno (30,88%Wt), fósforo (18,62%Wt), flúor (3,10%Wt) y, por lo que se trata de fluorapatito. Adicionalmente también contiene sodio (0,33%Wt), azufre (0,17%Wt) y hierro (0,10%Wt) (ANEXO III).

Los rellenos de las cavidades vasculares están compuestos por calcita esparítica. La mayoría de las lagunas se encuentran sin rellenar. También se han encontrado cristales de barita de tamaño micrométrico y óxidos de hierro.

En el hueso compacto se observan numerosas osteonas secundarias. En las osteonas se pueden diferenciar las lamelas por las variaciones de tono del apatito (Fig. 22b). También encontramos zonas con un apatito más claro (Fig. 22a). Este apatito presenta composiciones iguales a las del resto de apatitos, por lo que este cambio de color en las imágenes de electrones retrodispersados se debe a otras razones.

La barita se forma con tendencia a tapizar las cavidades vasculares y algunas lagunas (Fig. 22c), sobre todo en el hueso esponjoso. En el hueso compacto llega a rellenar algunas cavidades vasculares casi por completo.

En el hueso compacto hay zonas en las que la estructura ósea se encuentra predominantemente fracturada (Fig. 22d).

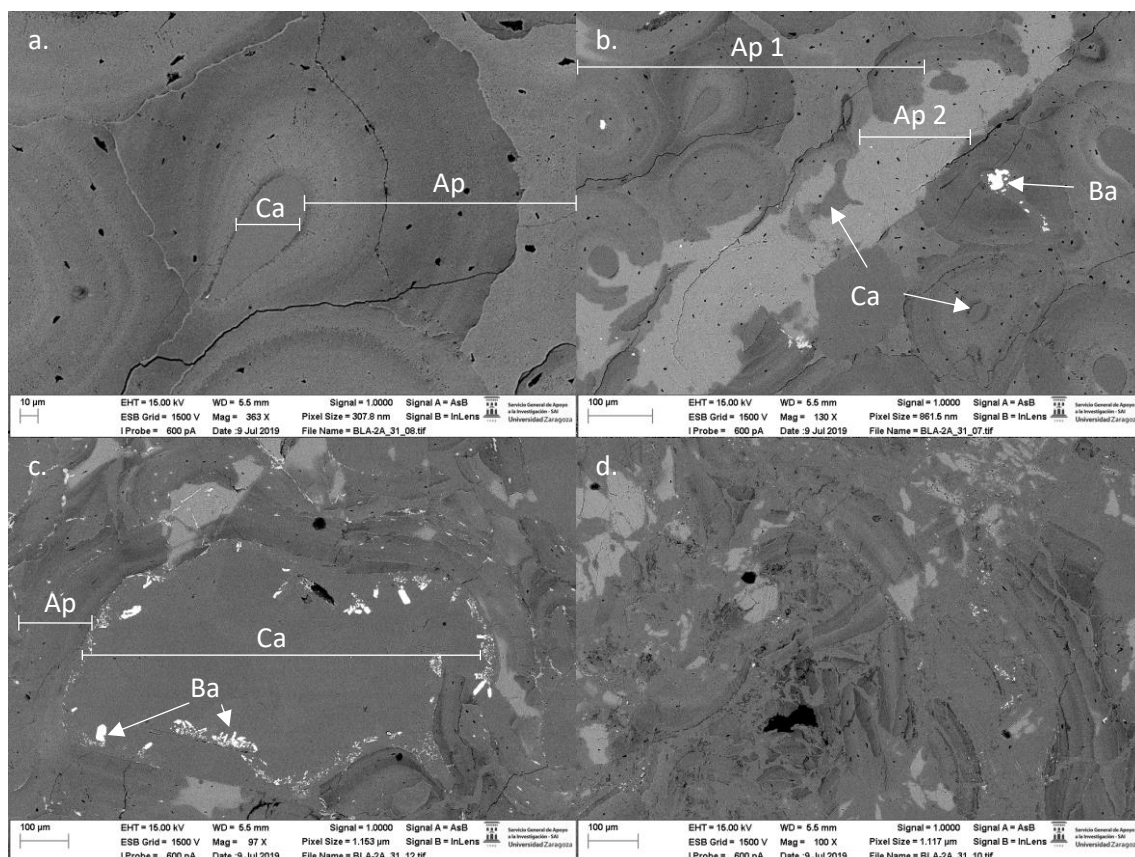


Figura 22: Fotografías realizadas con FESEM de la lámina BLA 2A-31. a. Fotografía detalle de una osteona secundaria en hueso compacto. b. Fotografía del hueso compacto en la que se ven dos tipos de apatito. c. Fotografía del hueso esponjoso en la que se observan cristales de barita tapizando las cavidades vasculares. Se observa cierta fracturación en la estructura ósea. d. Fotografía del hueso esponjoso en la que se observa una fracturación total de la estructura ósea.

Trabajo de campo:

En la campaña de campo se ha realizado una campaña de prospección en el yacimiento Blasi 2A, se ha recogido sedimento para la extracción de microfósiles y para realizar una calcimetría.

El material encontrado durante la campaña de prospección han sido gasterópodos (molde interno y concha), un diente de cocodrilo, galerías de artrópodos, esquirlas de huesos, coprolitos, dientes de hadrosaurios y una gran cantidad de nódulos pedogenéticos (Anexo IV).

En el análisis de los microfósiles del yacimiento Blasi 2 se han encontrado gasterópodos, opérculos de gasterópodos, carófitas, semillas, ostrácodos, escamas y dientes de pez, fragmentos de cáscaras de huevo, restos vegetales y esquirlas de huesos rodadas (Anexo V).

En la calcimetría realizada con el sedimento de Blasi 2A se ha obtenido una cantidad de carbonato inferior al 15%, por lo que se trata de lutitas (Anexo VI).

Discusión:

Inferir datos paleobiológicos, como la ontogenia, de los organismos del pasado a través de sus fósiles no es sencillo. Si bien las observaciones de los fósiles en *visu* pueden aportar algún dato, se requieren otro tipo de análisis para obtener información más fiable y completa. La paleohistología permite conocer la ontogenia de los individuos mediante la observación de las estructuras que forman el tejido óseo.

Para la interpretación paleohistológica se ha tomado como referencia el artículo de Padian y Lamm (2013).

En la muestra BLA 2A-20 encontramos tejido compacto con orientación vascular laminar en la que aparecen annulis. En el tejido compacto más interno, con orientación vascular reticular a longitudinal, aparecen osteonas secundarias superpuestas. El tejido trabecular se encuentra reducido y presenta una gran cavidad medular en el centro. Todas estas características indican una etapa muy avanzada en el crecimiento del hueso, por lo que el individuo que produjo este resto fósil debía ser de adulto a senil.

En el tejido compacto de la muestra BLA 2A-85 aparecen abundantes osteonas pero no hay indicios de remodelación avanzada ya que estas no se encuentran superpuestas y se observa matriz intersticial. Estas características indican que el individuo era juvenil, ya que el proceso de remodelación ha comenzado (no se encuentran osteonas primarias), pero no es lo suficientemente avanzado como para que las osteonas se superpongan. Este resultado es coherente con las observaciones realizadas en *visu*, ya que, como puede observarse en la Fig. 7a, las epífisis del fémur no se encuentran en la muestra. Esto es debido a que aún no se han fusionado.

En la muestra BLA 2A-31 aparecen osteonas secundarias superpuestas. Esto indica que el estado de la remodelación ósea es avanzado. Con esta característica podemos deducir que se trata de un ejemplar adulto.

La muestra BLA 2A-67 presenta únicamente osteonas primarias formando tejido Haversiano laxo. El tejido compacto se encuentra reducido en comparación con el esponjoso, que presenta grandes cavidades vasculares. Se trata de un individuo infantil temprano, en el que la remodelación ósea todavía no había comenzado. Este resultado es coherente con el pequeño tamaño que presenta la muestra.

La muestra BLA 2A-5 presenta el tejido compacto muy reducido. No tiene osteonas secundarias, lo que indica que la remodelación no ha comenzado y se trata de un individuo infantil.

La muestra BLA 2A-23 presenta el tejido compacto muy reducido en algunas zonas. Presenta abundantes osteonas secundarias superpuestas, lo que indica un estado de remodelación muy avanzado. Esto supone que el individuo productor era adulto.

Los resultados de la interpretación paleohistológica muestran que la población de hadrosaurios era variada ontogenéticamente. Esto, junto a los restos de cáscaras de huevo encontradas, indica que se trata de una zona de acumulación en la que habitaba esta población.

Es común que el hidroxiapatito original del hueso, tras la diagénesis, sea sustituido por francolita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_{2.5}(\text{CO}_3)_{0.5}\text{F}$) (Elorza et al., 1999; Merino y Morales, 2006). Tras los análisis químicos realizados en FESEM se ha determinado que el mineral que compone el hueso es fluorapatito, ya que contiene los elementos Ca, P, O y F. Es posible que también presentara carbono, pero al cubrir las muestras con este elemento para su estudio por FESEM, no se pudo determinar si el C detectado venía del recubrimiento o del apatito, por tanto, se eliminó de los resultados. En el caso de que el carbono estuviera presente en el hueso, el mineral que lo compondría sería francolita, pero para poder determinarlo serían necesarios otro tipo de análisis.

El reemplazamiento del hidroxiapatito por otras fases minerales en el medio sedimentario es relativamente sencillo, ya que este mineral es termodinámicamente inestable, y el ion hidroxilo suele ser sustituido por otros iones mediante reemplazamientos isomórficos (Merino y Morales, 2008).

En la composición del hueso preservado también se encuentran cantidades bajas de sodio y azufre (Anexos IV, V y VI). El azufre puede entrar en la estructura del apatito sustituyendo al fósforo, y, para mantener el balance de cargas, el sodio entra sustituyendo al calcio (Bauluz et al., 2013).

En las imágenes de electrones retrodispersados (FESEM) de las muestras BLA 2A-31 y BLA 2A-85 se observan apatitos con dos tonalidades de grises distintas. Tras la realización de análisis químicos, no se ha podido determinar que este cambio de color se deba a cambios composicionales, por lo que su origen es otro, como una distinta orientación de los cristales de apatito en las zonas de diferente color.

En la lámina BLA 2A-85 aparecen óxidos de hierro con textura framboidal. Estos se pueden interpretar como el producto de la oxidación de un sulfuro de hierro inicial, tipo pirita. Las condiciones reductoras generadas por la presencia de materia orgánica tras la muerte del organismo pudieron favorecer la formación de este sulfuro inicial.

En las muestras 20 y 31 aparece barita. Esta barita no da información sobre las condiciones diagenéticas ya que para su formación no necesita ninguna condición geoquímica concreta al ser un mineral común y con una amplia distribución tanto en ambientes continentales como en marinos (Berreteaga et al., 2008).

En la lámina BLA 2A-20 la cavidad medular presenta dos rellenos, ambos calcícticos, pero con diferentes características. El relleno que primero se depositó se encuentra en un extremo de la cavidad medular y presenta un color grisáceo y cristales tamaño micrítico. Posteriormente precipitó el segundo relleno calcítico, compuesto por cristales esparíticos incoloros de gran tamaño, que rellenó toda la cavidad.

También en esta muestra, pero en el tejido compacto, encontramos una grieta rellena de material detrítico y un cemento calcítico. Esta grieta se produjo tras la muerte del organismo y se rellenó con el material detrítico para posteriormente ser rellenada por la calcita.

La muestra BLA 2A-31 presenta un elevado grado de fracturación del tejido esponjoso únicamente en una mitad del hueso, lo que modifica sus proporciones haciéndolo más estrecho en esta zona. Esta fracturación del hueso tuvo lugar durante la diagénesis, y este aplastamiento diferencial puede deberse a una diferencia de carga sobre la muestra.

En la muestra BLA 2A-23 encontramos fracturación en el tejido esponjoso siguiendo una dirección preferente. Esto nos podría dar la posición de enterramiento del fósil, ya que esta fracturación tiene origen diagenético, provocado por la carga de sedimentos suprayacentes.

Varias de las muestras presentan en las cavidades medulares calcita de tamaño micrítico tapizando las paredes con tamaño creciente hacia el centro de la cavidad. Esto se puede interpretar como dos fases de cristalización. En la primera, el fósil se encontraría en un medio con escasa agua y/o elevada concentración de los elementos necesarios para que precipite la calcita. En este caso se produce una abundante nucleación que no da paso al crecimiento de cristales de gran tamaño. En la segunda fase el fósil se encontraría en un medio en el que no se produciría tanta nucleación, por lo que los cristales podrían desarrollarse y alcanzar tamaños esparíticos.

Conclusions:

The objective of this work was to study the paleohistology of several hadrosaurs in the province of Huesca. By doing this their ontogenetic stages at the moment of death have been inferred:

- BLA 2A-20, BLA 2A-31 and BLA 2A-23 were adult specimens.
- BLA 2A-67 and BLA 2A-5 were infantile specimens.
- BLA 2A-85 was a juvenile specimen.

The results of the paleohistological interpretation show that the population of hadrosaurs was ontogenetically varied. This, together with the remains of egg shells found, indicates that this is an area of accumulation in which this population lived.

Several diagenetic conclusions have been made:

- The hydroxylapatite original from the bone has turned into fluorapatite.
- The secondary minerals found (oxides and barite) came from direct precipitation.
- Micritic calcite has precipitated in low water and high salinity conditions, and esparitic calcite has precipitated in high water with lower salinity.
- In some samples, fragmented spongiosa zones have been found, which indicates compression during the diagenesis.

Bibliografía:

Barrientos, G., Sarmiento, P.L., y Galligani, P.E. (2016): Evaluación de la diagénesis ósea mediante el uso de microscopía electrónica de barrido (MEB): aproximaciones analíticas aplicables a muestras arqueológicas. *Revista argentina de antropología biológica*, 18 (2): 1-13.

Bauluz, B., Gasca, J.M., Moreno-Azanza, M. y Canudo, J.I. (2013): Unusual replacement of biogenic apatite by aluminium phosphate phases in dinosaur teeth from the Early Cretaceous of Spain. *Lethaia*, 47 (4): 556-566.

Berreteaga, A., Pereda-Suberbiola, X., Floquet, M., Olivares, M., Etxebarria, N., Iriarte, E., Badiola, A., Elorza, J. y Astibia, H. (2008): Datos sedimentológicos y tafonómicos de enclaves finicretácicos con fósiles de vertebrados de la Formación Sobrepeña (Burgos, Región Vasco-Cantábrica): *Geo. Temas*, 10: 1277-1280.

Blanco, A. y Gázquez, A. (2004): *Tratado de histología veterinaria*. Masson, Barcelona, 462p.

Company, J., Cruzado Caballero, P. y Canudo, J.I. (2015): Presence of diminutive hadrosaurids (Dinosauria: Ornithomimidae) in the Maastrichtian of the south-central Pyrenees (Spain). *Journal of Iberian Geology*, 41 (1): 71-81.

Elorza, J., Astibia, H., Murelaga, X. y Pereda-Suberbiola, X. (1999): Francolite as a diagenetic mineral in dinosaur and other Upper Cretaceous reptile bones (Laño, Iberian Peninsula): microstructural, petrological and geochemical features. *Cretaceous Research*, 20: 169-187.

López-Martínez, N., Arribas, M.E., Robador, A., Vicens, E., y Ardévol, L. (2006): Los carbonatos danienses (Unidad 3) de la FM Tremp (Pirineos Sur-Centrales): paleogeografía y relación con el límite Cretácico-Terciario. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 19: 233-255.

Merino, L. y Morales, J. (2006): Mineralogía y geoquímica del esqueleto de los mastodontes de los yacimientos de Batallones 1, 2 y 5. Implicaciones tafonómicas. *Estudios Geológicos*, 62: 53-63.

Merino, L., y Morales, J. (2008): Relación del índice de cristalinidad (IC) con la edad y el contenido de iones F y CO₃ en muestras de vertebrados fósiles. *Estudios Geológicos*, 64(1): 75-87.

Mey, P.H.W., Nagtegaal, P.J.C., Roberti, K.J., y Hartevelt, J.J.A. (1968): Lithostratigraphic subdivision of post-Hercynian deposits in the south-central Pyrenees, Spain. *Leidse geologische mededelingen*, 41(1): 221-228.

Nacarino Meneses, C. (2011): *El conocimiento de las poblaciones del pasado a través de los restos óseos: análisis paleohistológico sobre huesos largos arqueológicos*. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Madrid, 31 p.

Padian, K. y Lamm, E.T. (2013): *Bone histology of fossil tetrapods: Advancing methods, analysis and interpretation*. University of California Press, Berkeley, Los Angeles y Londres, 285 p.

Puértolas, E., Arenillas, I., Arz, J.A., Calvin, P., Ezquerro, L., García Vicente, C., Sánchez Moreno, E.M., Villalaín, J. y Canudo, J.I. (2018): Chronostratigraphy and new vertebrate sites from the upper Maastrichtian of Huesca (Spain), and its relation with the K/ Pg boundary, *Cretaceous Research*, 89: 36-59.

Pujalte, V., y Schmitz, B. (2005): Revisión de la estratigrafía del Grupo Tremp ("Garumniense", Cuenca de Tremp-Graus, Pirineos meridionales). *Geogaceta* 38: 79-82.

Riera, V., Oms, O., Gaete, R., y Galobart, A. (2009): The end-Cretaceous dinosaur succession in Europe: the Tremp Basin record (Spain). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 283 (3-4): 160-171.

Rosell, J., Linares, R., y Llopart, C. (2001): El "Garumniense" prepirenaico. *Revista de la Sociedad Geológica de España*, 14: 47-56.