

Biomineralizacija ljuštore školjkaša

Kuščević, Nika

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:226:000106>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of University Department of Marine Studies](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ BIOLOGIJA I TEHNOLOGIJA MORA

Nika Kušćević

BIOMINERALIZACIJA LJUŠTURE ŠKOLJKAŠA

Završni rad

Split, lipanj 2024.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
SVEUČILIŠNI ODJEL ZA STUDIJE MORA
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ BIOLOGIJA I TEHNOLOGIJA MORA

Nika Kušćević

BIOMINERALIZACIJA LJUŠTURE ŠKOLJKAŠA

Završni rad

Predmet: Fiziologija morskih organizama

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Josipa Ferri

Student:

Nika Kušćević

Split, lipanj 2024.

Sveučilište u Splitu
Sveučilišni odjel za studije mora
Sveučilišni prijediplomski studij Biologija i tehnologija mora

Završni rad

BIOMINERALIZACIJA LJUŠTURE ŠKOLJKAŠA

Nika Kuščević

Sažetak

Biom mineralizacija je rasprostranjen i raznolik proces, a odnosi se na skup procesa kojima organizmi otopljene ione iz okoliša pretvaraju u čvrste minerale. Više od 60 minerala sudjeluje u procesu mineralizacije, a sudjeluju gotovo svi eukarioti. U ovom radu detaljnije su obrađeni školjkaši koji su temeljito istraženi zbog njihove komercijalne upotrebe. Uočeno je da linije rasta ljuštura uglavnom proizlaze iz periodičnih odnosno sezonskih, dnevnih ili plimnih procesa, iako se mogu pojaviti nasumične anomalije rasta koje mogu biti izazvane stresnim događajima. Uzorak rasta na ljušturi je vidljiv i prvenstveno odražava promjene okolišnih čimbenika, i zbog toga se školjkaši smatraju biološkim arhivarima, školjkaši se zbog toga smatraju biološkim arhivarima. Iako dolazi do sinkronizacija s varijablama okoliša, točno podrijetlo povećanja rasta ljuštura se još uvijek raspravlja u literaturi. Informacije o biosferi ili kemijskom sastavu oceana možemo dobiti zahvaljujući ljušturama školjkaša koje služe kao arhive okolišnih promjena. Neke od metoda za istraživanje ljuštura školjkaša kao bioloških arhiva su: LA-ICP-MS metoda, Mg/Ca termometrija, onečišćenje olovom odnosno koncentracija Pb u prirastu ljuštura i promatranje promjena u bazi karbonata u ljušturama školjkaša.

(17 stranica, 4 slike, 59 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: biom mineralizacija, školjkaši, ljuštura, minerali, rast

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Josipa Ferri

Ocjenjivači: 1. Izv. prof. dr. sc. Vedran Poljak
2. Izv. prof. dr. sc. Vedrana Nerlović
3. Izv. prof. dr. sc. Josipa Ferri

University of Split
Department of Marine Studies
Undergraduate study Marine Biology and Technology

BSc Thesis

BIOMINERALIZATION OF BIVALVE VALVES

Nika Kušević

Abstract

Biom mineralization is a widespread and diverse process, and it refers to a set of processes by which organisms convert dissolved ions from the environment into solid minerals. More than 60 minerals participate in the mineralization process, and almost all eukaryotes participate. This paper deals in more detail with bivalves that have been extensively researched due to their use for commercial purposes. It has been observed that the growth lines of the valves result mainly from periodic or seasonal, daily or tidal processes, although random growth anomalies can also occur which can be triggered by stressful events. Therefore, the growth pattern on the valve of the individual is visible and primarily reflects changes in its environment. For this reason bivalves are regarded as biological archives. Information about the biosphere or the chemical composition of the ocean can be obtained thanks to the valve of bivalves, which serve as archives of the environment surrounding the individual. Although it is not yet known how organisms form minerals, we do know how they control their formation. Some of the methods for researching bivalve shells as biological archives are LA-CP-MS method, Mg/Ca thermometry, lead pollution or Pb concentration in the shell growth and observation of changes in the carbonate base in bivalve valves.

(17 pages, 4 figures, 59 references, original in: Croatian)

Keywords: biomineralization, bivalve, valve, minerals, growth

Supervisor: Josipa Ferri, PhD / Associate Professor

Reviewers:

1. Vedran Poljak, PhD / Associate Professor
2. Vedrana Nerlović PhD / Associate Professor
3. Josipa Ferri, PhD / Associate Professor

SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. RAZRADA TEME.....	3
2.1. Nastajanje ljuštore školjkaša.....	3
2.2. Školjkaši kao biološki arhivari.....	7
2.3. Metode istraživanja ljuštura školjkaša kao bioloških arhivara.....	9
3. ZAKLJUČAK.....	11
4. LITERATURA.....	13

1. UVOD

Pojam biomineralizacije odnosi se na skup procesa kojima organizmi otopljene ione iz okoliša pretvaraju u čvrste minerale. Više od 60 minerala sudjeluje u procesu mineralizacije, a većinu čine kalcij i željezo, kao najučestaliji metali, dok su najbrojniji biominerali fosfati, oksidi i karbonati. Proces je rezultat unutarstanične aktivnosti koja omogućuje potrebne fizikalne i kemijske promjene za formiranje minerala. Proizvodi biomineralizacije imaju snažan utjecaj na ekološke sustave. Primjerice kalcijev karbonat koji proizvode morski organizmi poput nektonskih puževa, kokolitoforida i foraminifera, značajno utječu na raspodjelu kalcijevih i bikarbonatnih iona, kao i raznih elemenata u tragovima. Skupine tih organizama uvelike doprinose sedimentaciji kalcijeva karbonata u morima, stvarajući specifične sedimente. Stoga, na sve geokemijske cikluse ugljika utječe stopa mineralizacije morskih organizama (Lowenstam i Weiner, 1989).

Kod organizama postoje dvije vrste procesa, oni koji nisu evoluirali u svrhu mineralizacije, ali ipak rezultiraju nastankom minerala te oni koji su usmjereni ka stvaranju minerala. Kako bismo ih razlikovali uvedeni su pojmovi: „biološki inducirana“ mineralizacija za prvi tip procesa i „organskim matriksom posredovana“ mineralizacija za drugi tip procesa (Lowenstam, 1981), odnosno „biološki kontrolirana“ mineralizacija (Mann, 1983). Organizmi koji posjeduju proces biomineralizacije imaju veliku prednost nad svojim predatorima zbog čvrstoće i trajnosti svojih skeleta a primjer toga su školjkaši. Puževi, glavonošci, koponošci i jednoljušturaši su razredi mekušaca koji kao i školjkaši stvaraju ljušturu. Mnogoljušturaši stvaraju niz pločica nalik ljušturama, a ostatak tijela im je prekriven spikulama, dok razred bezljušturaša ne sadržava ljušturu. Pored stvaranja ljuštura, mekušci sudjeluju u brojnim procesima koji uključuju biogene minerale. Osim uobičajenih uloga, poput zaštite od isušivanja i predacije, mekušci koriste minerale u različite svrhe, uključujući ljubavne strelice, ljuske jaja, zamke i skladišta kalcijevih iona (Marin i sur., 2012).

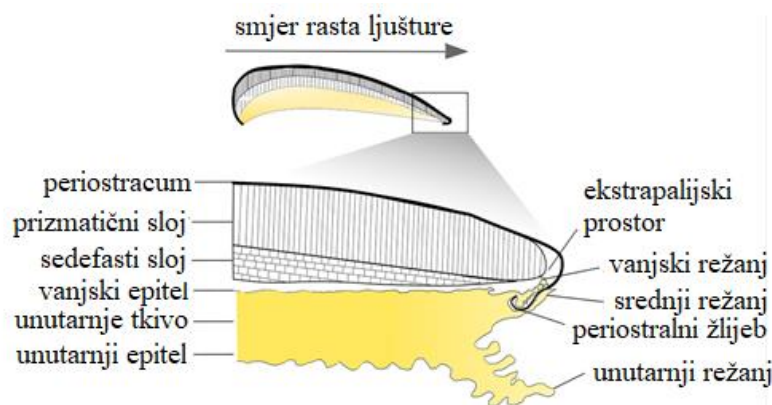
Razred školjkaša (Bivalvia) jedan je od sedam razreda koljena mekušaca (Mollusca). Školjkaši su vodene, pretežito morske životinje i obuhvaćaju oko 25 000 vrsta. Njihovo spljošteno tijelo obavijeno je mekim plaštom koji biomineralizira lijevu i desnu vapnenastu ljušturu. Elastična veza ili ligament je spoj između dvije ljušture školjkaša. Morfologija ligamenta i brave, uključujući sustav zubića koji se nalazi ispod ligamenta, predstavlja važan kriterij za određivanje vrsta (Lowenstam i Weiner, 1989). Na presjeku ljušture mogu se uočiti tri sloja: tanki vanjski sloj *periostracum*, sastavljen od organske tvari konhiolina, ispod njega

se nalazi deblji sloj oostrakum (prizmatični sloj), pretežito sastavljen od kalcijeva karbonata i unutrašnji, sedefasti sloj koji pokazuje interferenciju svjetla, što uzrokuje prelijevanje sedefa u različitim bojama. Vanjska leđna strana tijela obavijena je plaštom koji izlučuje kalcijeve soli, koje izgrađuju ljušturu. Neke vrste školjkaša imaju mogućnost formiranja bisera, a biseri su proizvod lučenja plašta. Plaštana šupljina je prostor s unutarnje strane plašta u kojoj su smještene škrge, usni lapovi i stopalo, iznad kojeg se nalazi utroba (Matoničkin, 1981; Titlow, 2007). Školjkaši se često koriste u komercijalne svrhe, kao hrana ili u proizvodnji bisera za industriju nakita. Uzimajući u obzir navedeno ljušturu školjkaša su vrlo bitni faktori u istraživanju biomineralizacije.

2. RAZRADA TEME

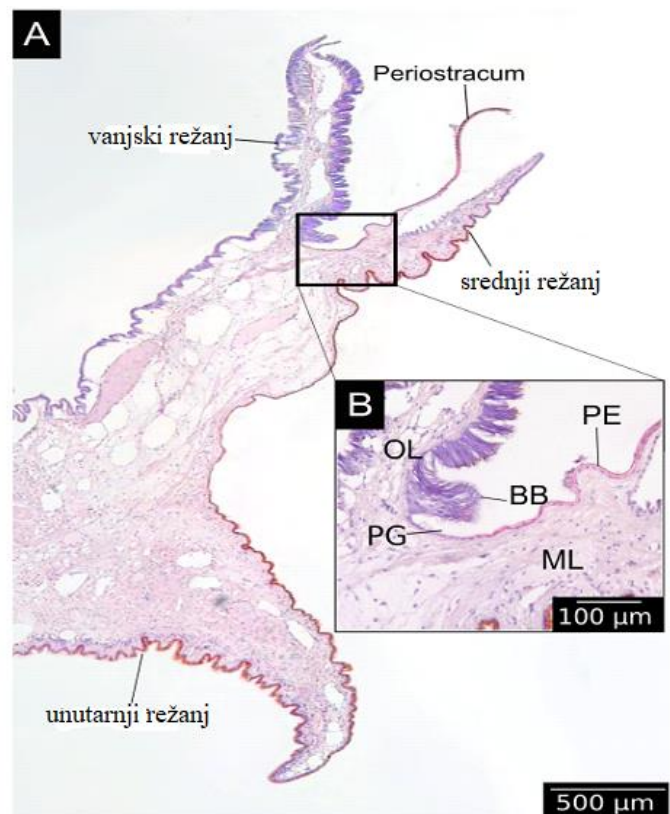
2.1 Nastajanje ljuštore školjkaša

Tvrda tkiva koja tvore mnogi organizmi mogu imati različite funkcije, kao što je zaštita mekog tkiva kod školjkaša, struktura kostiju ili ravnoteža kod otolita. Proces kojim nastaju tvrda tkiva naziva se biomineralizacija i odnosi se na aktivne procese taloženja minerala u organizmu. Organizmi proizvode razne minerale, uključujući silicij, bioapatit, željezne okside i hidrokside, ali glavna proizvedena komponenta je kalcijev karbonat kroz tri polimorfa: kalcit, aragonit i manje često, vaterit (Skinner i Jahren, 2003). Mineralne jedinice se same okupljaju unutar intrakristalnih organskih okvira. Kod školjkaša organski matriks predstavlja do 5% težine, a sastoji se od niza proteina, peptida, slobodnih aminokiselina, lipida, polisaharida i pigmentata (Marin i sur., 2012). Organski dio se nalazi ispod netopljive hidrofobne faze koja je glavna komponenta za rast kristala i bogata topljivom kiselom fazom u asparaginskoj kiselini te utječe na vezivanje organskih spojeva iona kalcija (Marin i sur., 2007). Takvi organski spojevi kontroliraju mineralizaciju ljuštore i oblik rasta (Marin i Luquet, 2004). Ljuštura školjkaša sastoji se od slojeva koji se međusobno nadovezuju. Vanjski sloj, nazvan *periostracum*, bogat je organskim spojevima. Većina školjkaša ima dva subperiostrakalna sloja koji mogu biti izrađeni ili samo od kalcita, ili samo od aragonita, ili oboje. Područje umetanja mišića sastoji se od aragonita. Kalcit i kristali aragonita mogu slijediti različite osi rasta, što dovodi do formiranja raznolikih morfologija i rasporeda, tzv. mikrostruktura (Checa, 2018) (Slika 1).



Slika 1. Prikaz strukturne organizacije školjkaša između ljuštore i donjeg plašta (izvor: Louis i sur., 2022).

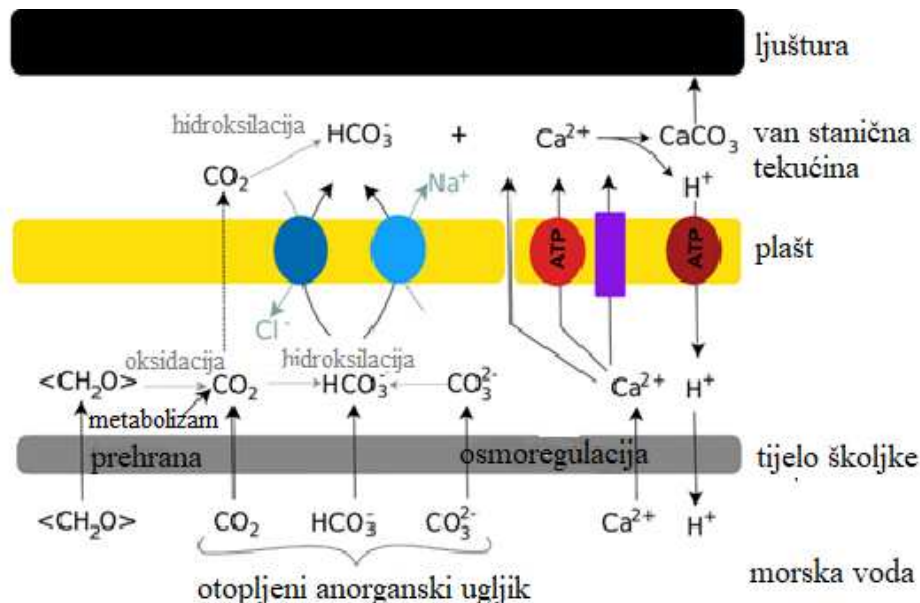
Postoje različiti oblici mikrostruktura kod školjkaša. Na primjer, Mytilidae imaju fibrozni prizmatični kalcit u vanjskom dijelu ostrakuma, a u unutarnjem dijelu sadrže aragonit koji je sedefast. Plašt ima vrlo važnu funkciju u izlučivanju kalcijeva karbonata za formiranje same ljuštire školjkaša. Ljuštura se sastoji od polariziranog tkiva koje se na temelju funkcionalne heterogenosti i morfološke razlike dijeli na tri sloja: rubni, submarginalni i središnji (Hickman i sur., 2003; Fougrouse i sur., 2008) (Slika 2).



Slika 2. Uzdužni histološki presjek ruba plašta *Mytilus galloprovincialis*. (A) Histološki pregled na dio *periostracuma* vezan za plašt, u području podijeljenom na tri režnja: vanjski režanj, srednji režanj i unutarnji režanj. (B) Detalj periostrakalnog žlijeba (PG), između vanjskog (OL) i srednjeg (ML) reznja. Bazalna lukovica (BB) je skupina stanica koje luče *periostracum* (PE) (izvor: Louis i sur., 2022).

Vanjski epitel ili rubni dio plašta naziva se i kalcificirajući epitel. Rubna zona plašta dalje se dijeli na vanjski nabor, srednji nabor i unutarnji nabor (Gerdol i sur., 2018). Svaki navedeni nabor ima različite vrste stanica s različitim funkcijama. Vanjski nabor izlučuje ljušturu, središnji nabor se koristi u osjetilno funkcionalne svrhe, a unutarnji nabor sadrži mišiće (Yonge, 1957; 1983). Rub plašta školjkaša ima nekoliko adaptivnih osobina povezanih s

različitim stilovima života (Audino i sur., 2015). Skupine stanica smještene u bazi vanjskog i srednjeg nabora proizvode periostrakum koji prekriva vanjski dio ljušture te izolira prostor između plašta i ljuske od vanjske okoline, naziva se vanstanični prostor. Vanstanični prostor ispunjen je vanstaničnom tekućinom, prezasićenom tekućinom za zadržavanje komponenti ljuske u otopini prije njihove ugradnje u matriks (Richardson i sur., 1981; Marin i sur., 2012). Anorganski dio vanstanične tekućine sastoji se od prekursora iona kalcijeva karbonata i također drugih iona kao što su Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- i SO_4 . Koncentracije bikarbonatnih i kloridnih iona su veće u vanstaničnoj tekućini nego u morskoj vodi, dok su ostali ioni prisutni u približno istoj koncentraciji u obje tekućine (Wilbur i Saleuddin, 1983). Epitelne stanice plašta proizvode komponente organskog matriksa ljušture (Marin i sur., 2005; Marie i sur., 2012) i uvijek su bili povezani s biomineralizacijom zbog svoje blizine s površinom ljušture i sposobnosti održavanja taloženja ljušture *ex vivo* (Wilbur i Jodrey, 1955). Unos kalcija kod školjkaša javlja se na različitim mjestima. Apsorpcija kalcija iz vode događa se u škrgama, a iz hrane u probavnom sustavu. Ioni mogu doći do vanstaničnog prostora pasivno difuzijom kroz Ca_2^+ kanala, aktivno Ca_2^+ -ATPazom, ali i u međustanični prostor (Carré i sur., 2006) (Slika 3).



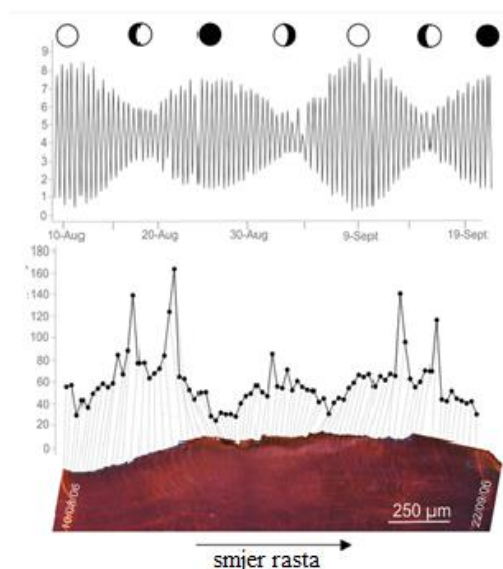
Slika 3. Shematski prikaz kalcifikacije ljušture školjkaša (izvor: Louis i sur., 2022).

Otopljeni anorganski ugljik iz morske vode je izvor HCO_3^- . Metabolizam također oslobađa CO_2 , koji se može pretvoriti u ugljik anhidraze u HCO_3^- . Karboanhidraza također stvara vodikove ione, zakiseljavajući vanstanični prostor. Stoga, aktivno pumpanje regulira pH vanstanične tekućine (Marin i sur., 2012).

U procesu transporta minerala za biomineralizaciju uključeni su i hemociti; međutim, profil ekspresije gena navodnih biomineralizirajućih hemocita pokazuje da i oni igraju ulogu u stvaranju vanstaničnog matriksa (Ivanina i sur., 2017). Hemociti čine sastavni dio hemolimfe, ali također borave i na drugim mjestima kao što su epitelno i vezivno tkivo (Loker, 2010). Hemociti su prvenstveno uključene u fagocitozu, inkapsulaciju i stvaranje citotoksičnih molekula (dušikov oksid i vodik peroksid) za ubijanje i eliminaciju patogena. Međutim, oni također sudjeluju u drugim vitalnim procesima kao što su zacjeljivanje rana, popravak živčanih stanica i stvaranje ljušture (Pila i sur., 2016). Hemocite možemo podijeliti u dvije vrste: stanice koje sudjeluju u biomineralizaciji i stanice koje reagiraju na imunološki podražaj (Johnstone i sur., 2015; Huang i sur., 2018). Hemociti mogu unositi Ca_2^+ i CO_3^{2-} i transportirati ih unutarstanično u obliku kalcijevog karbonata do mjesta mineralizacije ljuske (Johnstone i sur., 2015). Hemociti u školjkaša se klasificiraju kao granulociti (veliki i mali) i hijanociti (Pila i sur., 2016). Pacifička kamenica *Crassostrea gigas*, sada prihvaćena kao *Magallana gigas*, pokazuje značajnu funkcionalnu specijalizaciju između biomineralizirajućih tkiva i hemocita, koji su uključeni u proizvodnju ljušture i imunološki odgovor (Ivanina i sur., 2017). Mineralizacija kristala kalcijevog karbonata počinje s nukleacijom, koja se sastoji od visoko termodinamički nestabilne jezgre $CaCO_3$ regulirane lokalnom prezasićenošću organskog materijala. Navedeni korak je posebno pogodan za diferencijalnu ekspresiju polisaharida i proteina koji imaju različitu gustoću naboja kroz vrijeme (Giuffre i sur., 2013). Rast i organizacija kristala su biološki i fizički kontrolirani (Checa, 2018). Opisana su dva mehanizma fizičke kontrole. Prvi je kristalno natjecanje, gdje najbrža osovina rasta nadmašuje drugu osovina rasta, ovaj tip fizičkog procesa uočava se u slučaju lisnatih kalcitnih mikrostruktura i sinteze sedefa školjkaša (Checa i sur., 2006; Checa i sur., 2007). Drugi fizički proces je samoorganizacija organskog matriksa, koja djeluje kao predložak za rast kristala (Checa, 2018). Preteča organskih šablona je tekućina koja je samoorganizirana površinskom napetosti (Checa i sur., 2005; Checa i sur., 2016). Navedena pojava je opisana u slatkovodnoj dagnji *Cristaris plicate*, gdje predložak organskog saća određuje smjer i veličinu rasta kristala (Tong i sur., 2002). Postupak samoorganizacije je povezan s biološkom kontrolom subcelularnog prepoznavanja izvanstaničnog matriksa putem njegovih fizikalno-kemijskih svojstava (Checa i sur., 2005; Checa, 2018). Odnos između stanica plašta i izvanstaničnog matriksa dovodi do izlučivanja stanica vanjskog epitela bilo organskih (tekući prekursor) ili mineralnih materijala.

2.2 Školjkaši kao biološki arhivari

Molekularni putevi uključeni u proces biomineralizacije se neprestano aktiviraju tijekom života školjkaša. To bi značilo da stvaranje ljušture treba biti kontinuirano. Međutim, brzina rasta ljušture školjkaša nije konstantna od ličinke do odrasle jedinke (Schöne, 2008). Rast se može opisati Von Bertalanffyjevim modelom rasta, gdje juvenilni primjerci imaju eksponencijalni rast dok se stopa rasta kod starijih jedinki usporava i stabilizira. Na višoj vremenskoj razlučivosti, rast se redovito usporava ili zaustavlja (Lutz i Rhoads, 1977; Karney i sur., 2012). Tijekom usporenog rasta prati se niže taloženje karbonata dok se organski matriks i dalje proizvodi, izazivajući promjenu u omjeru između mineralnog i organskog materijala, te formiranje linije rasta. Linija rasta razdvaja formaciju ljuške u male jedinice vremena, takozvano povećanje prirasta ili prstenovi. Stoga se povećanje prirasta mora razlikovati od mikrostruktura ljušture, jer se ovo odnosi samo na oblik kristala. Linije rasta uočavaju se vrlo rano tijekom razvoja školjkaša. Tako je primjećeno da se kod vrste *Mytilus galloprovincialis* prva linija nakupljanja uočava nakon 32 sata od oplodnje ličinke (Miglioli i sur., 2019) (Slika 4). Opisano odgovara velikoj promjeni organizacije tijela tijekom planktonske faze kada se ličinka pretvara iz slobodno plivajućeg planktonskog oblika ličinke s trepetljikama, nazvanog trohofora, u D-veliger ličinku, što znači slobodno živuća planktonska ličinka s valvom. Nakon toga prirasti se na ljušturama proizvodi tijekom cijelog života organizma.



Slika 4. Povećanje rasta kod vrste *Magallana gigas* u odnosu na uvjete u okolišu (izvor: Louis i sur., 2022).

Uočeno je da linije rasta ljuštore uglavnom proizlaze iz periodičnih (npr. sezonski, dnevni, plimni) procesa, iako se mogu pojaviti nasumične anomalije rasta izazvane stresnim događajima kao što su predatorstvo, oluja, zagađenje (Schöne, 2008). Stoga, uzorak rasta je vidljiv na ljušturi jedinke i prvenstveno odražava promjene u njenom okruženju. S obzirom da školjkaši u svojim ljušturama stvaraju trajni zapis uvjeta koji vladaju u okolišu koji ih okružuje, mogu se smatrati biološkim arhivarima. Godišnje linije rasta su najčešće promatrani obrasci u literaturi (>60% školjkaša), osobito kod vrsta iz srednjih i visokih geografskih širina, a uglavnom su povezani sa zimskim niskim temperaturama koje usporavaju ili čak zaustavljaju rast (Schöne, 2013; Killam i Clapham, 2018). Također mogu biti posljedica mriještenja, pod pretpostavkom da navedeni fiziološki događaj troši puno energije i tako ograničava kalcifikaciju (Jones, 1980). Podaci o uvjetima u prošlosti u umjerenim i arktičkim vodama bili bi vrlo korisni u istraživanju klime, pa je stoga ispitano mogu li takve informacije osigurati ljuštore školjkaša (Schöne i sur., 2005). Dugovječne vrste mogu osigurati zapise s godišnjom rezolucijom koja se proteže kroz nekoliko stotina godina, dok kratkotrajne, brzorastuće vrste mogu pružiti sezonsku ili u nekim slučajevima dnevnu rezoluciju tijekom razdoblja od nekoliko godina. Većina školjkaša su sjedilački organizmi, a jedinke se obično očuvaju kao fosili. Međutim, postoji niz izazova povezanih s korištenjem školjkaša kao predstavnika arhivara: (1) mnogi predstavnici pokazuju ponašanje specifično za vrstu (Seed, 1980); (2) samo nekoliko predstavnika ovisi o jednoj varijabli (Wefer i sur., 1999); i (3) učinak biologije i ontogeneze na usvajanje elemenata u tragovima i frakcioniranje stabilnog izotopa u karbonatnoj ljušturi je u velikoj mjeri nepoznato i moraju se empirijski procijeniti. Stoga, svaki potencijalni predstavnik mora biti kalibriran pojedinačno za svaku vrstu od interesa prije nego što se počne koristiti. Potreban je veliki broj kemijskih analiza za kalibraciju svakog predstavnika. Brojanje godišnjih linija rasta kod dugovječnih vrsta može otkriti promjene stope rasta na nižim segmentima života organizma, poput višegodišnjih dinamika okoliša. *Arctica islandica* i slatkovodna dagnja bisernica *Margaritifera falcata* prikazuju dugotrajna razdoblja rasta vezana za oscilacije sjevernog Atlantika (NAO), kojeg karakteriziraju hladnije zime svakih 5 do 30 godina (Schöne i sur., 2003; Schöne i sur., 2007). U kraćim vremenskim razmacima bilježi se jedan ili dva prirasta dnevno (Schöne i sur., 2005). Zanimljivo, bibliografska baza podataka otkriva da se u ljušturama školjkaša češće opaža dnevni prirast nego poludnevni prirast. Poludnevni prirast je usko povezan s izmjenom plime i oseke u područjima koja pokazuju dvije plime tijekom 24 sata, dnevni prirast može odgovarati cirkadijskoj (24h) promjeni brzine rasta (Hallmann i sur., 2009.; Schwartzmann i sur., 2011). Broj linija rasta također ukazuju na čest rast u razdobljima blizu 14,8 i zatim 29,5 dana, to se odnosi na semi-cirkalunarne i cirkalunarne fluktuacije.

Promatraju se i manje konvencionalni ciklusi rasta (tj. 60 dana, pet dana), ali njihov odnos s okolinom je loše opisan ili odgovara specifičnim lokalnim uvjetima. Uočen je uzorak rasta od 60 dana kod jedinki dubokomorske vrste *Bathymodiolus thermophilus* koji bi mogao odražavati promjene brzine struje u hidrotermalnim staništima induciranih mlazovima na grebenu (Nedoncelle i sur., 2014; Nedoncelle i sur., 2015). Petodnevni i trodnevni obrasci kod dagnje *M. galloprovincialis* uočeni u sredozemnoj laguni Salses-Leucate (Francuska) mogli bi biti posljedica redovitih pojava vjetra koji se javljaju na ovom području (Andrisoa i sur., 2019). Dvodnevna periodičnost zabilježena u ljušturi tropske vrste *Comptopallium radula* se može sinkronizirati s temperaturom ili tlakom na razini mora, jer oba navedena parametra prikazuju dvodnevne cikluse (Thébault i sur., 2006). Iako se pokazuje sinkronizacija s varijablama okoline, točno podrijetlo povećanja rasta se još uvijek raspravlja u literaturi. Dok je integracija ekoloških varijabli u ljušturama školjkaša temeljno pitanje za zajednicu sklerokronologa (Trofimova i sur., 2020), predložene su dvije hipoteze da se objasni formiranje prirasta: 1. izravno kontrolirano parametrima okoliša ili 2. posredovanje biološkim satovima.

2.3 Metode istraživanja ljuštura školjkaša kao bioloških arhivara

LA-ICP-MS je metoda istraživanja s kojom se, uz pomoć lasera, na poprečnom presjeku školjke školjkaša može iščitati relativna starost jedinke i pratiti promjene u okolišu danas i u prošlosti (Pearce i sur., 1997). Puno vrsta formira godišnje priraste koji se mogu koristiti za pretpostavljanje relativne starosti jedinke. Nadalje, sve vrste pokazuju mikropriraste koji su vidljivi mikroskopom. Uski pojasevi rasta nisu uvijek pravilni, već u određenom broju vrsta prirast pokazuje periodičnost povezanu s fazom mjeseca ili dnevnog ili plimnog pomaka. Koristeći ovu metodu periodičnost stvaranja prirasta, kod analiziranih vrsta, može se dodijeliti relativna starost kemijskim analizama i izračunati približne stope rasta za analiziranu ljušturu.

Promjene u bazi karbonata ljuštura školjkaša mogu se koristiti za današnje praćenje okolišnih čimbenika, te za rekonstrukcije uvjeta u okolišu iz fosiliziranih jedinki. Školjkaši iz muzejskih zbirki i školjkaši pronađene u arheološkim sredinama mogu dati informacije o povijesnim i pretpovijesnim uvjetima okoliša (Carrell i sur., 1987). Fosili školjakaša se mogu koristiti kao arhivari parametara okoliša na geološkim vremenskim skalama (Hendry i sur., 2001). Mineralizacija ljuštura školjkaša sastoji se uglavnom od kalcijevog karbonata s im – čistoćom u obliku raznih elemenata koji zamjenjuju kalcij u kristalnoj strukturi. Kalcijev karbonat predstavlja 95–99% težine ljuštura, preostalih 1–5% je organski matriks, u kojem

dominiraju proteini (Marin i Luquet, 2004). Materijali ljuštore se talože uzastopno s prirastom i često su vidljivi u poliranim dijelovima, a proučavaju se računalno, kontroliranim skenirajućim elektronskim mikroskopom (CC-SEM). Kao posljedica obrasca rasta, vidljiva povećanja na ljušturi se događaju kronološkim redoslijedom i u relativnom vremenu se može uspostaviti linija za kemijske analize. Elementi potrebni za mineralizaciju ljuštore potječu iz vode ili od čestica koje se filtracijom uđu u jedinku školjkaša. Kako bi elementi bili uključeni u ljušturu moraju prijeći dvije biološke membrane, vanjski i unutarnji epitel plašta. Navedene membrane aktivno diskriminiraju određene elemente, ali za neke elemente na ovu diskriminaciju utječu vanjski podražaji (Klein i sur., 1996).

Mg/Ca termometrija je kemijski test u kojem se iz omjera Mg/Ca, na ljušturama školjkaša, mogu iščitati promjene u temperaturi okoliša u određenom periodu. Najrelevantniji podaci temperature se iščitavaju na ljušturama iz ljetnih razdoblja (Henderson, 2002).

Koncentracija olova u prirastu ljuštore školjkaša kod vrste *Mya arenaria* je koncentracija Pb u vodi, stoga se prijašnja koncentracija Pb u vodi može izračunati iz koncentracije olova u ljušturama *M. arenaria* (Pitts i Wallace, 1994). Navedeni autori su 2005. godine sakupili četverogodišnje primjerke jedinke školjkaša iz Limfjordena, Danska, te ih analizirali. Rezultati su pokazali da je koncentracija Pb u Limfjordenu varirala od 20 do 280 pmol/kg vode tijekom vremena uzorkovanja. Stoga analiza pojedinačnog uzorka vode može dati pogrešnu sliku o razini Pb-a. Koncentracija Pb u Limfjordenu je usporediva s onom pronađenom u relativno nezagađenom Cape Codu Bay-u, na istoku SAD-a, to je do deset puta više od predindustrijskih razina u području Bostona, kako je izračunato iz sadržaja Pb u subfosilnim ljušturama iz središta školjki, i deset puta niža nego u Bostonskoj luci (Pitts i Wallace, 1994). Pb predstavnik je također primijenjen na podatke iz jedinke *Arktike islandica* koja je prenesena iz Baltičkog mora u nizozemsku luku. Primijećeno je da se koncentracija Pb u materijalu ljuštore izlučenom nakon presađivanja u luku znatno povećala od one izlučene u Baltiku. Ovi rezultati pokazuju da se ljuštura *A. islandica* može koristiti za praćenje kontaminacije morske vode olovom.

3. ZAKLJUČAK

Biom mineralizacija je vrlo važan proces stvaranja tvrdih struktura kod organizama. Organizmi uz pomoć procesa biom mineralizacije stvaraju tvrde strukture van mekih dijelova tijela poput oklopa i ljuštura koje im služe za zaštitu od vanjskog okoliša, predatora i isušivanja, a mogu stvoriti i potporne skelete unutar tijela. Proces biom mineralizacija se uglavnom obavlja uz pomoć minerala koji se nalaze u okolini gdje jedinka obitava. Zbog navedenog fenomena organizmi koji koriste minerale iz okoliša i biom mineraliziraju ih u svoje skelete ili ljuštore na tijelu imaju trajni zapis o uvjetima koji su bili prisutni na području gdje su jedinke boravile.. Primjer memoriranja okolišnih promijena u ljušturama imaju školjkaši. Unatoč tome što je poznat mehanizam kontrole nastanka minerala, način na koji ih organizmi stvaraju nam i dalje nije poznat. Važno je imati na umu da su dosadašnje teorijske podjele stvorene kako bi olakšale naše razumijevanje procesa biom mineralizacije, a u stvarnosti granice između tih podjela nisu uvijek jasne. U posljednjih deset godina područje istraživanja biom mineralizacije školjkaša doživjelo je značajan napredak. Istraživanja su fokusirana na proučavanje struktura minerala i identifikaciji proteina u matriksu ljuštura. Nukleacija kristala i inhibicija rasta kristala su se donedavno smatrale jednim procesima koji reguliraju biom mineralizaciju. Danas znamo da proteini, iako su prisutni u maloj količini, imaju važnu ulogu u upravljanju sinteze biom minerala. Današnja istraživanja imaju za cilj da se uz pomoć ljuštura školjkaša istraže kolebanje okolišnih parametara koji su bili u prošlosti. Naime ljuštore pronađene u arheološkim sredinama mogu dati informacije o povijesnim i pretpovijesnim uvjetima okoliša, a fosili ljuštura se mogu koristiti kao arhivari parametara okoliša na geološkim vremenskim skalama.

No, kada je riječ o biom mineralizaciji postoje brojni izazovi povezani s istraživanjem školjkaša: mnogi predstavnici pokazuju ponašanje specifično za vrstu, samo nekoliko predstavnika ovisi o jednoj varijabli i učinak biologije i ontogeneze na usvajanje elemenata u tragovima i frakcioniranje stabilnog izotopa u karbonatnoj ljusci je u velikoj mjeri nepoznato. U budućim istraživanjima želja je napraviti arhivu svih vrsta te odrediti koji parametri su najrelevantniji za iščitavanje ovisno kod koje vrste. Postoji više metoda za istraživanje ljuštore školjkaša kao bioloških arhivara, a neke od njih su: LA-ICP-MS metoda u kojoj se uz pomoć lasera, na poprečnom presjeku školjkaša može iščitati relativna starost jedinke i pratiti promjene u okolišu danas i u prošlosti. Mg/Ca termometrija je kemijski test u kojem se iz omjera Mg/Ca, na ljušturama školjkaša, mogu iščitati promjene u temperaturi okoliša organizma u određenom periodu. Promatranje promjena u bazi karbonata u ljušturama školjkaša mogu se koristiti za današnje praćenje okolišnih uvjeta, te za rekonstrukciju istih iz fosiliziranih školjkaša.

4. LITERATURA

- Andrisoa A, Lartaud F, Rodellas V, Neveu I. 2019. Enhanced Growth Rates of the Mediterranean Mussel in a Coastal Lagoon Driven by Groundwater Inflow. *Frontiers in Marine Science*, 6. Dostupno sa: <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00753>.
- Audino J, Marian JEAR, Wanninger A i Lopes SGBC 2015. Mantle margin morphogenesis in *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia): new insights into the development and the roles of bivalve pallial folds. *BMC Developmental Biology*, 15: 22. Dostupno sa: <https://bmcdevbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12861-015-0074-9>.
- Carell B, Forberg S, Grundelius E, Henrikson L, Johnels A, Lindh U, Mutvei H, Olsson M, Svärtström K, Westermark T. 1987. Can mussel shells reveal environmental history. *Ambio*, 16: 2–10. Dostupno sa: <https://doi.org/10.34194/geusb.v15.5052>.
- Carré M, Bentaleb I, Bruguier O, Ordinola E, Barrett NT, Fontugne M. 2006. Calcification Rate Influence on Trace Element Concentrations in Aragonitic Bivalve Shells: Evidences and Mechanisms. *Geochimica et Cosmochimica*, 70: 4906–4920. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.gca.2006.07.019>.
- Checa AG. 2018. Physical and Biological Determinants of the Fabrication of Molluscan Shell Microstructures. *Frontiers in Marine Science*, 5. Dostupno sa: <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00353>.
- Checa AG, Rodríguez-Navarro AB, Esteban-Delgado FJ. 2005. The Nature and Formation of Calcitic Columnar Prismatic Shell Layers in Pteriomorphia Bivalves. *Biomaterials*, 26: 6404–6414. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.04.016>.
- Checa AG, Okamoto T, Ramírez J. 2006. Organization Pattern of Nacre in Pteriidae (Bivalvia: Mollusca) Explained by Crystal Competition. *Proceedings of the Royal Society B. Biological Science* 273: 1329–1337. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.346>.
- Checa AG, Esteban-Delgado FJ, Rodríguez-Navarro AB. 2007. Crystallographic Structure of the Foliated Calcite of Bivalves. *Journal of Structural Biology*, 157: 393–402. Dostupno sa: [10.1016/j.jsb.2006.09.005](https://doi.org/10.1016/j.jsb.2006.09.005).
- Checa AG, Macías-Sánchez E, Harper EM, Cartwright JHE. 2016. Organic Membranes Determine the Pattern of the Columnar Prismatic Layer of Mollusc Shells. *Proceedings*

- of the Royal Society B, Biological Science: 283. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0032>.
- Fougerouse A, Rousseau M, Lucas JS. 2008. Soft tissue anatomy, shell structure and biomineralization. U: The Pearl Oyster. Amsterdam: Elsevier, 77–102. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52976-3.00003-6>.
- Gerdol M, Gomez-Chiarri M, Castillo MG i Figueras A. 2018. Immunity in molluscs: recognition and effector mechanisms, with a focus on Bivalvia. U: Cooper EL (ur.), Advances in Comparative Immunology. Cham: Springer International Publishing, str. 225–341.
- Giuffre AJ, Hamm LM, Han N, De Yoreo JJ and Dove PM. 2013. Polysaccharide Chemistry Regulates Kinetics of Calcite Nucleation Through Competition of Interfacial Energies. Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A, 110: 9261– 9266. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1073/pnas.1222162110>.
- Hallmann N, Burchell M, Schöne BR, Irvine GV, Maxwell D. 2009. High-Resolution Sclerochronological Analysis of the Bivalve Mollusk *Saxidomus Gigantea* From Alaska and British Columbia: Techniques for Revealing Environmental Archives and Archaeological Seasonality. Journal of Archaeological Science, 36: 2353–2364.
- Henderson GM. 2002. New oceanic proxies for paleoclimate. Earth and Planetary Science Letters, 203: 1–13. Dostupno sa: [https://doi.org/10.1016/S0012-821X\(02\)00809-9](https://doi.org/10.1016/S0012-821X(02)00809-9).
- Hendry JP, Perkins WT, Bane T. 2001. Short-term environmental change in a Jurassic lagoon deduced from geochemical trends in aragonite bivalve shells. Geological Society of America Bulletin, 113: 790–798. Dostupno sa: [https://doi.org/10.1130/0016-7606\(2001\)113<0790:STECIA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1130/0016-7606(2001)113<0790:STECIA>2.0.CO;2).
- Hickman CP, Roberts IS, Larson A. 2003. Animal Diversity. Boston: McGraw– Hill, 447. str.
- Huang J, Li S, Liu Y, Liu C, Xie L, Zhang R. 2018. Hemocytes in the extrapallial space of *Pinctada fucata* are involved in immunity and biomineralization. Scientific Reports, 8: 1–11. Dostupno sa: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22961-y>.
- Ivanina AV, Falfushynska HI, Beniash E, Piontkivska H, Sokolova IM. 2017. Biomineralization-related specialization of hemocytes and mantle tissues of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. Journal of Experimental Biology, 220: 3209–21. Dostupno sa [10.1242/jeb.160861](https://doi.org/10.1242/jeb.160861).
- Johnstone MB, Gohad NV, Falwell EP, Hansen DC, Hansen KM, Mount AS. 2015. Cellular orchestrated biomineralization of crystalline composites on implant surfaces by the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791). Journal of Experimental Marine

- Biology and Ecology, 463: 8–16. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.10.014>.
- Jones DS. 1980. Annual Cycle of Shell Growth Increment Formation in Two Continental Shelf Bivalves and its Paleocological Significance. *Paleobiology*, 3: 331–340. Dostupno sa: <https://journals.ku.edu/treatiseonline/article/view/4297>.
- Karney GB, Butler PG, Speller SC, Scours J, Richardson CA, Schroder M, Hughes GM, Czernuszka JT, Grovenor CRM. 2012. Characterizing the Microstructure of *Arctica Islandica* Shells Using NanoSIMS and EBSD. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 13. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1029/2011GC003742>.
- Killam DE, Clapham ME. 2018. Identifying the Ticks of Bivalve Shell Clocks: Seasonal Growth in Relation to Temperature and Food Supply. *Palaios*, 33: 228–236. Dostupno sa: <https://doi.org/10.2110/palo.2017.072>.
- Klein RT, Lohmann KC, Thayer CW. 1996. Bivalve skeletons record sea-surface temperature and $\delta^{18}\text{O}$ via Mg/Ca and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratios. *Geology*, 24: 415–418. Dostupno sa: [https://doi.org/10.1130/0091-7613\(1996\)024<0415:BSRSST>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1130/0091-7613(1996)024<0415:BSRSST>2.3.CO;2).
- Loker ES. 2010. Gastropod immunobiology. U: Söderhäll K (ur.), *Advances in Experimental Medicine and Biology. Invertebrate Immunity*. Boston, MA, Springer US: 17–43.
- Louis V, Besseau L, Artaud F. 2022. Step in Time: Biomineralisation of Bivalve's Shell. *Frontiers in Marine Science*, 9. Dostupno sa: <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.906085>.
- Lowenstam HA. 1981. Minerals formed by organisms. *Science*, 211(4487): 1126–1131. Dostupno sa: [DOI: 10.1126/science.7008198](https://doi.org/10.1126/science.7008198).
- Lowenstam HA, Stephen W. 1989. *On biomineralization*. Oxford University Press on Demand, str. 336.
- Lutz RA, Rhoads DC. 1977. Anaerobiosis and a Theory of Growth Line Formation. *Science*, (80). 198: 1222–1227. Dostupno sa: [DOI: 10.1126/science.198.4323.1222](https://doi.org/10.1126/science.198.4323.1222).
- Mann St. 1983. Mineralization in biological systems. *Inorganic elements in biochemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg, str. 125–174.
- Marie B, Joubert C, Tayalé A i Montagnani C. 2012. Different secretory repertoires control the biomineralization processes of prism and nacre deposition of the pearl oyster shell. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109: 20986–91. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1073/pnas.1210552109>.
- Marin F, Amons R, Guichard N, Stigter M, Hecker A, Luquet G, Layrolle P, Alcaraz G, Riondet C i Westbrook P. 2005. Caspartin and calprismin, two proteins of the shell calcitic

- prisms of the Mediterranean fan mussel *Pinna nobilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 33895–908. Dostupno sa: [10.1074/jbc.M506526200](https://doi.org/10.1074/jbc.M506526200).
- Marin F, Luquet G. 2004. Molluscan shell proteins. *Comptes Rendus Palevol*, 3: 469–492. dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.crpv.2004.07.009>.
- Marin F, Luquet G, Marie B, Medaković D. 2007. Molluscan Shell Proteins: Primary Structure, Origin, and Evolution. *Current Topics in Developmental Biology*, 80: 209–276. dostupno sa: [https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(07\)80006-8](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(07)80006-8).
- Marin F, Nathalie LR, Benjamin M. 2012. The formation and mineralization of mollusk shell. *Frontiers in Bioscience*, 4: 1099-125. Dostupno sa: [10.2741/s321](https://doi.org/10.2741/s321).
- Matoničkin I. 1981. Beskralješnjaci- biologija viših avertebrata. Školska knjiga, Zagreb, 642 str.
- Miglioli A, Dumollard R, Balbi T, Besnardeau L, Canesi L. 2019. Characterization of the Main Steps in First Shell Formation in *Mytilus Galloprovincialis*: Possible Role of Tyrosinase. *Proceedings in the Royal Society B. Biological Science*, 286. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2043>.
- Nedoncelle K, Le Bris N, de Rafélis M, Labourdette N, Artaud F. 2014. Non-Equilibrium Fractionation of Stable Carbon Isotopes in Chemosynthetic Mussels. *Chemical Geology*, 387: 35–46. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2014.08.002>.
- Nedoncelle K, Lartaud F, Pereira LC, Yücel M, Thurnherr AM, Mullineaux L, i Le Bris N. 2015. Deep-Sea Research I Bathymodiolus Growth Dynamics in Relation to Environmental Fluctuations in Vent Habitats. *Deep Sea Research Part I*, 106: 183–193. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2015.10.003>.
- Pearce NJG, Perkins WT, Westgate JA, Gorton MP, Jackson SE, Neal CR, Chenery SP. 1997. A compilation of new and published major and trace element data for NIST SRM 610 and NIST SRM 612 glass reference materials. *Geostandards Newsletter*, 21: 115–144. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1111/j.1751-908X.1997.tb00538.x>.
- Pila EA, Sullivan JT, Wu XZ, Fang J, Rudko SP, Gordy MA i Hanington PC. 2016. Haematopoiesis in molluscs: a review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. *Developmental & Comparative Immunology*, 58: 119–28. Dostupno sa <https://doi.org/10.1016/j.dci.2015.11.010>.
- Pitts LC, Wallace GT. 1994. Lead deposition in the shell of the bivalve *Mya arenaria*: an indicator of dissolved lead in seawater. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 39: 93–104. Dostupno sa: <https://www.int-res.com/abstracts/meps/v370/p155-169/>.

- Richardson CA, Runham NW, Crisp DJ. 1981. A Histological and Ultrastructural Study of the Cells of the Mantle Edge of a Marine Bivalve, *Cerastoderma Edule*. *Tissue Cell*, 13: 715–730. Dostupno sa: [10.1016/s0040-8166\(81\)80008-0](https://doi.org/10.1016/s0040-8166(81)80008-0).
- Schöne BR. 2008. The Curse of Physiology; Challenges and Opportunities in the Interpretation of Geochemical Data From Mollusk Shells. *Geo-Marine Letters*, 28: 269–285. Dostupno sa: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00367-008-0114-6>.
- Schöne BR. 2013. *Arctica Islandica* (Bivalvia): A Unique Paleoenvironmental Archive of the Northern North Atlantic Ocean. *Global and Planetary Change*, 111: 199–225. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2013.09.013>.
- Schöne BR, Oschmann W, Rössler J, Freyre Castro AD, Houk SD, Kröncke I, Dreyer W, Janssen R, Rumohr H i Dunca E. 2003. North Atlantic Oscillation Dynamics Recorded in Shells of a Long-Lived Bivalve Mollusk. *Geology*, 31: 1037–1040. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1130/G20013.1>.
- Schöne BR, Page NA, Rodland DL, Fiebig J, Baier S, Helama SO, i Oschmann W. 2007. ENSO-Coupled Precipitation Records, (1959-2004) Based on Shells of Freshwater Bivalve Mollusks (*Margaritifera Falcata*) From British Columbia. *International Journal of Earth Science*, 96: 525–540. Dostupno sa: [10.1007/s00531-006-0109-3](https://doi.org/10.1007/s00531-006-0109-3).
- Schöne BR, Pfeiffer M, Pohlmann T, Siegismund F. 2005. A Seasonally Resolved Bottom-Water Temperature Record for the Period AD 1866-2002 Based on Shells of *Arctica Islandica* (Mollusca, North Sea). *International Journal Climatology*, 25: 947–962. Dostupno sa <https://doi.org/10.1002/joc.1174>.
- Schwartzmann C, Durrieu G, Sow M, Ciret P, Lazareth CE, Massabuau JC. 2011. In Situ Giant Clam Growth Rate Behavior in Relation to Temperature: A One-Year Coupled Study of High-Frequency Non invasive Valvotomy and Sclerochronology. *Limnology and Oceanography*, 56: 1940–1951. Dostupno sa: <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.5.1940>.
- Seed R. 1980. Shell growth and form in the bivalvia. In: Rhoads, D.C. & Lutz, R.A. (ur): *Skeletal growth of aquatic organisms, biological records of environmental change*, New York: Plenum Press, str. 23–67.
- Skinner HC, Jahren AH. 2003. Biomineralization, in *Treatise on Geochemistry* (Elsevier Ltd), 117–184. Dostupno sa: [:10.1007/s10347-008-0143-7](https://doi.org/10.1007/s10347-008-0143-7).
- Thébault J, Chauvaud L, Clavier J, Fichez R. i Morize E. 2006. Evidence of a 2-Day Periodicity of Striae Formation in the Tropical Scallop *Comptopallium Radula* Using Calcein Marking. *Marine Biology*, 149: 257–267. Dostupno sa: [:10.13140/RG.2.1.3697.1687](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3697.1687).

- Titlow B. 2007. Seashells: Jewels from the ocean. Voyageur press, 112 str.
- Tong H, Hu J, Ma W, Zhong G, Yao S, Cao N. 2002. In Situ Analysis of the Organic Framework in the Prismatic Layer of Mollusc Shell. *Biomaterials*. 23: 2593–2598. Dostupno sa: [10.1016/s0142-9612\(01\)00397-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(01)00397-0).
- Trofimova T, Alexandroff SJ, Mette MJ, Tray E, Butler PG, Campana SE, Harper EM, Johnson ALA, Morrongiello JR, Peharda M, Schone BR, Andresson C, Andrus CFT, Black BA, Burchell M, Carroll ML, DeLong KL, Gillandres BM, Gronkjaer P, Killam D, Prendergast AL, Reynolds DJ, Scourse JD, Shirai K, Thebault J, Trueman C i De Winter N. 2020. Fundamental Questions and Applications of Sclerochronology: Community-Defined Research Priorities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 245. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2020.106977>.
- Wefer G, Berger WH, Bijma J, Fischer G. 1999. Clues to ocean history: a brief overview of proxies. U: Fischer, G. & Wefer, G. (ur.): Use of proxies in paleoceanography: examples from the South Atlantic, Berlin: Springer, str. 1–68.
- Wilbur KM, Jodrey LH. 1955. Studies on shell formation. V The inhibition of shell formation by carbonic anhydrase inhibitors. *The Biological Bulletin*, 108: 359–65. Dostupno sa: <https://doi.org/10.2307/1538521>.
- Wilbur KM, Saleuddin ASM. 1983. Shell Formation, *The Mollusca: Physiology Part. 1*. (New York: Academic Press Inc.): 235–287. Dostupno sa: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.11.081>.
- Yonge CM. 1957. Mantle fusion in the *Lamellibranchia*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, Napoli, 29: 151–71. Dostupno sa: <https://www.jstor.org/stable/2396551>.
- Yonge CM. 1983. Symmetries and the role of the mantle margins in the bivalve Mollusca. *Malacological Review*, 16: 1–10. Dostupno sa: [10.4003/006.034.0212](https://doi.org/10.4003/006.034.0212).