

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Doroty Kołbuk pt. „Wpływ geochemicznych parametrów środowiska (Mg/Ca) oraz diety na biomineralizację szkieletu szkarłupni” (*“The effect of geochemical parameters of the environment (Mg/Ca) and diet on the biomineralization of the echinoderm skeleton”*)

Rozprawa doktorska mgr Doroty Kołbuk poświęcona jest istotnemu problemowi badawczemu jakim jest określenie wpływu zmiennych stosunków Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej i diety na procesy biomineralizacji oraz skład chemiczny szkieletów współczesnych jeżowców, rozgwiazd i wężowideł, a dodatkowo także próbie zastosowania danych uzyskanych z dobrze zachowanych, kopalnych szkarłupni do rekonstrukcji stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} dawnej wody morskiej. Rozprawa składa się z trzech współautorskich prac naukowych w języku angielskim, które zostały w ostatnich latach opublikowane w czasopismach: *Marine and Environmental Research*, *Geobiology* i *Chemical Geology* wraz z materiałami uzupełniającymi. Do rozprawy dołączono streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp w języku angielskim poświęcony budowie szkieletów szkarłupni, ich procesom biomineralizacji oraz zastosowaniu w badaniach paleośrodowiskowych, a także krótkie podsumowanie i wyszczególnienie perspektywicznych badań, które są możliwe do wykonania w przyszłości. Do rozprawy dołączono ponadto oświadczenia współautorów o wkładzie w prace częściowe. Rozprawa została oprawiona w postaci zbiorczego dzieła o objętości 115 stron.

We wstępie rozprawy doktorskiej omówiono budowę i typy szkieletów badanych grup szkarłupni tj. jeżowców, rozgwiazd i wężowideł, procesy ich tworzenia i aktualną wiedzę o ich skomplikowanym chemizmie, a także podstawowe informacje o zmianach stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej w historii Ziemi, w powiązaniu z kwestią istnienia tzw. „mórz kalcytowych” i „mórz aragonitowych”, oraz dotychczasowe próby i problemy związane z wykorzystaniem stosunku Mg/Ca kopalnych szkarłupni do jego rekonstrukcji. Wstęp stanowi dobre wprowadzenie do rozprawy, przedstawiając aktualny stan wiedzy odnośnie jej tematyki badawczej. Z nielicznych jego niedoróbek należy wymienić brak informacji, iż Fig. 6, przedstawiająca zmiany chemizmu wody morskiej w historii geologicznej Ziemi, została zapożyczona z pracy Gorzelaka i in. 2012 pt. „*Micro- to nanostructure and geochemistry of extant crinoidal echinoderm skeletons*” *Geobiology* 11, 29–43, gdzie podobny schemat przedstawiono na figurze o tym samym numerze.

Pierwszy rozdział rozprawy stanowi praca Kołbuk, D., Dubois, P., Stolarski, J., Gorzelak, P., pt. „*Effects of seawater chemistry (Mg^{2+}/Ca^{2+} ratio) and diet on the skeletal Mg/Ca ratio in the common*

sea urchin Paracentrotus lividus” opublikowana w czasopiśmie *Marine and Environmental Research* (2019, tom 145, str. 22–26). W pracy omówiono wyniki przeprowadzonego w Laboratorium Biologii Morskiej Wolnego Uniwersytetu Brukselskiego, eksperymentu polegającego na regeneracji kolców jeżowca *Paracentrotus lividus* w wodzie o różnym stosunku jonowym Mg^{2+}/Ca^{2+} , uzyskanym przez dodanie do wody chlorku wapnia i przy zastosowaniu pokarmu o różnej zawartości magnezu. Wyniki eksperymentu wskazują na wzrost stosunku Mg/Ca kolców jeżowców wraz ze wzrostem tego stosunku w wodzie oraz zawartości magnezu w pokarmie, przy czym ten ostatni czynnik ma istotne znaczenie przy niskim stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody wynoszącym 1,9 (mol/mol), który jest analogiczny dla stosunku przyjmowanego dla tzw. „mórz kalcytowych” występujących w dawnych okresach geologicznych. Należy podkreślić, iż chociaż nie jest to pierwsza praca poświęcona wpływowi chemizmu wody i diety na skład szkieletów szkarłupni (por. Ries, 2004; Asnaghi i in. 2014), autorzy wykazali istotny wpływ składu pokarmu na stosunek Mg/Ca szkieletu jeżowców w przypadku niskiego stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody, co może utrudniać rekonstrukcję tego ostatniego czynnika dla dawnych epok geologicznych. Według deklaracji współautorów autorka rozprawy była odpowiedzialna za analizę danych, interpretację wyników, przygotowanie ilustracji i wczesnej wersji manuskryptu, co odpowiada 55% powstania manuskryptu.

Drugi rozdział rozprawy stanowi praca Kołbuk, D., Di Giglio, S., M’Zoudi, S., Dubois, P., Stolarski, J., Gorzelak, P., pt. „*Effects of seawater Mg^{2+}/Ca^{2+} ratio and diet on the biomineralization and growth of sea urchins and the relevance of fossil echinoderms to palaeoenvironmental reconstructions*” opublikowana w czasopiśmie *Geobiology* (2020, tom. 18, str. 710–724). Praca ta, podobnie jak pierwsza, poświęcona jest eksperymentowi, przeprowadzonemu w Laboratorium Biologii Morskiej Wolnego Uniwersytetu Brukselskiego, służącemu ocenie wpływu stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody i zawartości magnezu w pokarmie na skład i tempo metabolizmu oraz wzrostu szkieletów jeżowców. Autorzy badali różne regenerowane elementy szkieletowe, w tym elementy aparatu szczękowego, płytki i kolce, dwu odmiennych gatunków jeżowców (*Psammechinus miliaris* i *Prionocidaris baculosa*), przy trzech różnych stosunkach Mg^{2+}/Ca^{2+} wody, uzyskanych przez zmianę stężenia obydwu jonów oraz dwóch różnych dietach. Dodatkowo w pracy przedstawiono próbę rekonstrukcji stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} dawnej wody morskiej w oparciu o wyniki analiz szkieletów dobrze zachowanych jurajskich i neogeńskich jeżowców i opublikowane dane odnośnie frakcjonowania magnezu w szkieletach szkarłupni. Praca wskazuje na zmienność frakcjonowania magnezu w szkieletach jeżowców, w zależności od czynników fizjologicznych, częściowo powiązanych z taksonomią, które różnie wpływają na poszczególne elementy szkieletu, a także na istotny wpływ diety i stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} otaczającej wody na frakcjonowanie tego pierwiastka. Ostatni czynnik ma również istotny wpływ na tempo wzrostu elementów szkieletu jeżowców, które jest najniższe przy niskim stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody. Wszystkie wymienione czynniki poważnie utrudniają rekonstrukcję stosunki Mg^{2+}/Ca^{2+} dawnej wody

morskiej, do czego można również dodać lokalną zmienność jej chemizmu, pewną zależność stosunku Mg/Ca szkieletu szkarłupni od temperatury i jego podatność na zmiany diagenetyczne. Autorzy dowiedli niemniej, że możliwa jest orientacyjna analiza znacznych różnic stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej występujących w historii geologicznej Ziemi w oparciu o materiał kopalny szkarłupni. Doktorantka, zgodnie z załączonymi oświadczeniami, odpowiadała za koncepcję badań, przeprowadzenie eksperymentów, analizę i interpretację danych oraz projekt manuskryptu i przygotowanie ilustracji, a jej udział oceniany jest na 60%.

Kolejnym rozdziałem rozprawy jest praca Kołbuk, D., Dubois, P., Stolarski, J., Gorzelak, P., pt. „*Impact of seawater Mg^{2+}/Ca^{2+} on Mg/Ca of asterozoan skeleton – evidence from culturing and the fossil record*” opublikowana w czasopiśmie *Chemical Geology* (2021, tom. 584, nr artykułu 120557). Praca poświęcona jest wpływie stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody, uzyskanych przez zmianę stężenia obydwu jonów, na skład szkieletów i tempo metabolizmu współczesnych rozgwiazd i wężowideł, a także badaniom materiału kopalnego szkarłupni z tej grupy pochodzących z jury i neogenu. Eksperymentalne badania przeprowadzone, podobnie jak te wcześniejsze, w Laboratorium Biologii Morskiej Wolnego Uniwersytetu Brukselskiego wykazały zależność stosunku Mg/Ca rozgwiazd od chemizmu wody oraz znaczną śmiertelność wężowideł przy niskim stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody, co uniemożliwiło dokładne rozpoznanie zmienności frakcjonowania magnezu w ich szkieletach. Przeprowadzone przez autorów porównanie opublikowanych danych odnośnie frakcjonowania magnezu w szkieletach szkarłupni, oparte, po części, na danych pochodzących z wcześniejszych prac doktorantki, będących częściami jej doktoratu, wykazało zauważalną zmienność współczynnika frakcjonowania magnezu w płytkach kostnych różnych grup jeżowców i rozgwiazd. Autorzy dowiedli, że, pomimo tego, ostrożna rekonstrukcja znacznych wahań stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} dawnej wody morskiej jest możliwa w oparciu o materiał kopalny tej grupy organizmów. Zgodnie z oświadczeniami współautorów doktorantka odpowiadała za przygotowanie 70% pracy, w tym stworzenie jej koncepcji, przeprowadzenie eksperymentu, analizę i interpretację danych oraz projekt manuskryptu i przygotowanie ilustracji.

Badania przeprowadzone przez doktorantkę z racji szerokiego spektrum czasochłonnych analiz (poboru i hodowli żywych organizmów, ustalenia i kontroli chemizmu wody i pokarmu, badań natlenienia, znakowania regenerowanych części manganem, badań katodoluminescencyjnym, analiz chemicznym za pomocą mikrosondy elektronowej, obserwacji przy użyciu mikroskopu skaningowego i analiz statystycznych) należy ocenić wysoko. Umożliwiły one uzyskanie odpowiedzi na postawione pytania badawcze dotyczące ilościowej oceny wpływu chemizmu wody i pokarmu na skład szkieletów współczesnych szkarłupni. Istotnym osiągnięciem naukowym jest ponadto udowodnienie, iż pomimo istnienia szeregu czynników zaburzających stosunek Mg/Ca elementów szkieletowych szkarłupni, dane pochodzące z dobrze zachowanych skamieniałości tych zwierząt mogą zostać wykorzystane do szacunkowej analizy silnych zmian stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej w przeszłości geologicznej, co

ma bezpośrednie przełożenie na chemizm osadów różnego wieku geologicznego i dominację określonego typu szkieletów organizmów zbudowanych bądź to z wysokomagnezowego kalcytu i aragonitu bądź z niskomagnezowego kalcytu. Udział doktorantki w pracach stanowiących części jej doktoratu jest bezsprzecznie wiodący, co zostało potwierdzone oświadczeniami współautorów, a pośrednio poprzez pierwsze miejsce jej nazwiska na listach autorów wszystkich prac częściowych.

Ponieważ prace będące częściami doktoratu przeszły, jak należy przypuszczać, restrykcyjne recenzje wydawnicze, recenzent nie znalazł w nich merytorycznych błędów, czy większych niejasności. Pewne uwagi dotyczą (i to chyba głównie na przyszłość) potrzeby bardziej wyczerpującego opisu przedmiotu badań, szczególnie na figurach, które we współczesnej nauce, pełnią często pierwszoplanową rolę w przekazywaniu informacji. Przykładowo w pierwszej pracy w opisie Figury 1 (str. 36) zabrakło oczywistej informacji, że podane wartości stosunku Mg/Ca zostały zmierzone w regenerowanych kolcach jeżowców, brak jest również jakiegokolwiek zdjęcia badanego okazu lub fragmentów jego regenerowanych kolców; w pracy drugiej, w opisie Figury 2 (str. 53) zabrakło informacji, że zobrazowane fragmenty kopalnych okazów to wyłącznie elementy szkieletowe jeżowców. W pracy trzeciej w opisie Figury 3 (str. 89) zabrakło informacji, że badane kopalne elementy szkieletowe należą do rozgwiazd, a w opisie Figury 4 (str. 91) informacji, że przedstawione na niej dane pochodzą wyłącznie z płytek kostnych („ossicles”) ramion badanej rozgwiazdy *Asterias rubens*. Ponadto, w opisie metodologii analiz za pomocą mikrosondy elektronowej w pierwszych dwu pracach brak jest informacji o wykorzystywanym wzorcu; brak jest również informacji, czy wyniki pomiarów stosunku Mg/Ca szkieletów szkarłupni tą metodą były porównywane do wyników uzyskanych klasycznymi metodami chemicznymi i czy obserwuje się jakieś odchylenie instrumentalne. Pewne wątpliwości budzi również zbiorczy tytuł rozprawy doktorskiej, w którym mowa jest o geochemicznych parametrach środowiska i diety w liczbie mnogiej, podczas gdy badany był jedynie jeden parametr tj. stosunek Mg/Ca wody i diety.

Pomimo, iż doktorantka w ostatniej części rozprawy wymienia perspektywiczne badania, które należałoby przeprowadzić w przyszłości, obejmujące m. in. długoterminowe eksperymenty biomineralizacyjne, badania innych grup szkarłupni, czy analizę wewnątrzkomórkowego transportu magnezu należałoby się zastanowić, czy wyczerpują one, wraz z danymi z rozprawy, zakres przyczyn i możliwej zmienności frakcjonowania tego pierwiastka w szkieletach szkarłupni. Wydaje się, że kompletnie pominiętą sprawą jest tutaj wpływ zmian stężenia CO₂ w atmosferze ziemskiej na pH wody morskiej i rozpuszczalność węglanu wapnia. Czynniki ten jak wykazali Asnaghi i in. (2014) może być odpowiedzialny za część obserwowanej zmienności stosunku Mg/Ca szkieletów jeżowców. Przy wyższym stężeniu CO₂, niż obecnie, i niższym pH wody, podobnie jak przy niskim stosunku Mg²⁺/Ca²⁺ wody, łatwiej dochodzi ponadto do zaburzenia wzrostu, a nawet częściowego rozpuszczania się szkieletu szkarłupni i zwiększonej ich śmiertelności. Z drugiej strony wiadomo, że szkarłupnie istniały i

rozwijały się w okresach „mórz kalcytowych”, przy niskim stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej, współwystępujących z okresami wysokiego stężenia CO_2 w atmosferze i gorącego (ang. „greenhouse”) klimatu (por. Hardie, 1996; Horita et al. 2002; Berner, 2006; Royer, 2006), co może dowodzić przystosowania ewolucyjnego przynajmniej części ich gatunków. Istnienie zjawiska przystosowania ewolucyjnego, w szczególności w przypadku wymarłych gatunków, jest jednakże trudne lub wręcz niemożliwe do udowodnienia, chociaż pewna zmienność ekspresji genów może być widoczna przy długoterminowych eksperymentach biomineralizacyjnych zgodnie z sugestią doktorantki zawartą w perspektywach dalszych prac badawczych.

W zakresie przedstawionych interpretacji składu kopalnych szkieletów szkarłupni zabrakło również, zdaniem recenzenta, szerszej dyskusji opublikowanych danych odnośnie rekonstrukcji zmian stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} dawnej wody morskiej, które oparte są nie tylko o badania szkieletu szkarłupni lecz również o badania składu ewaporatów, skorupiek otwornic, żyłek kalcytowych występujących w bazaltach den oceanicznych, czy też modele globalnej cyrkulacji magnezu. Ponieważ, uzyskane różnymi metodami wyniki są często bardzo rozbieżne (por. Broecker i Yu, 2011), krytyczna wydaje się ocena wiarygodności danych uzyskanych ze szkieletów kopalnych szkarłupni i ich porównanie do wyników uzyskanych innymi metodami. Brak takiej analizy mógł być podyktowany ograniczeniami redakcyjnymi odnośnie długości prac naukowych stanowiących części rozprawy doktorskiej; wydaje się jednak, że mogłaby zostać ona uzupełniona o dodatkowy podrozdział (np. w obrębie wstępu) obejmujący krótką dyskusję tego zagadnienia.

Pomimo pewnych uwag krytycznych, recenzent wysoko ocenia rozprawę doktorską mgr Doroty Kołbuk. Spełnia ona w pełni wymogi art. 187. ust. 1. i 2. Ustawy z dn. 20.07.2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.) w zakresie szerokiej wiedzy ogólnej doktoranta, umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej, jak również przedmiotu rozprawy, którym jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego przy zastosowaniu wyników własnych badań. Warto, przy okazji zauważyć, iż doktorantka spełnia, z nawiązką, również art. 186. ust. 1. tejże ustawy mówiący o konieczności posiadania przynajmniej 1 artykułu opublikowanego w czasopiśmie z wykazu MNiSW, gdyż jest współautorką czterech innych artykułów, nie włączonych w obręb rozprawy doktorskiej, które zostały opublikowane w ostatnich latach w czasopismach indeksowanych w bazie „Web of Science”.

Hubert Wierzbowski

Literatura
cytowana w recenzji

- Asnaghi, V., Mangialajo, L., Gattuso, J.-P., Francour, P., Privitera, D., Chiantore, M., 2014. Effects of ocean acidification and diet on thickness and carbonate elemental composition of the test of juvenile sea urchins. *Marine Environmental Research* 93, 78–84.
- Berner, R.A., 2006. GEOCARBSULF: A combined model for Phanerozoic atmospheric O₂ and CO₂. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 5653–5664.
- Broecker, W., Yu, J., 2011. What do we know about the evolution of Mg and Ca ratios in seawater? *Paleoceanography* 26, PA 3203.
- Hardie, L.A., 1996. Secular variations in seawater chemistry: An explanation for the coupled secular variation in the mineralogies of marine limestones and potash evaporites over the past 600 m.y. *Geology* 24, 279–283.
- Horita, J., Zimmermann, H., Holland, H.D., 2002. Chemical evolution of seawater during the Phanerozoic: Implications from the record of marine evaporites. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 66, 3733–3756.
- Ries, J.B., 2004. Effect of ambient Mg/Ca ratio on Mg fractionation in calcareous marine invertebrates: A record of the oceanic Mg/Ca ratio over Phanerozoic. *Geology* 32, 981–984.
- Royer, D.L., 2006. CO₂-forced climate thresholds during the Phanerozoic. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 5665–5675.