

Streszczenie

Szkarłupnie posiadają szkielet pochodzenia mezodermalnego, składający się z wielu płytek o charakterystycznej beleczkowej (trabekularnej) strukturze (tzw. stereom). Szkielet ten zbudowany jest z kalcytu o wysokiej zawartości magnezu oraz z niewielkiej ilości związków organicznych, amorficznego węglanu wapnia (ACC) oraz wody. Powstaje on na drodze biologicznie kontrolowanej mineralizacji.

Dotychczas uważano, że jony wapnia i magnezu niezbędne do tworzenia szkieletu szkarłupni pochodzą wyłącznie z wody morskiej, a stosunek Mg/Ca w szkielecie stanowi dobre odzwierciedlenie okresowych różnic w koncentracji tych pierwiastków w środowisku. Dzięki temu na podstawie danych geochemicznych (stosunku Mg/Ca) zawartych w szkieletach szkarłupni można obliczyć stosunek molowy Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej, w której zwierzęta te wzrastały. Potencjał takich rekonstrukcji został dostrzeżony przez badaczy, którzy wykorzystywali dobrze zachowane kopalne szkarłupnie do odtwarzania parametrów geochemicznych dawnych oceanów. Niemniej w ostatnich latach ukazało się kilka prac sugerujących, że na stosunek Mg/Ca w szkielecie mogą wpływać również inne czynniki środowiskowe (temperatura i zasolenie) oraz biologiczne, wynikające z fizjologii organizmu (tzw. efekt witalny, ang. *vital effect*), co oznacza, że stopień kontroli biomineralizacji przez szkarłupnie jest większy, niż dotychczas uważano. Co więcej, brak jest wiarygodnych danych eksperymentalnych na dzisiejszych szkarłupniach sugerujących związek między Mg/Ca w ich szkielecie a Mg^{2+}/Ca^{2+} w wodzie morskiej. Celem pracy doktorskiej było przeprowadzenie serii eksperymentów biomineralizacyjnych na dzisiejszych szkarłupniach, które miały wykazać jaki wpływ na skład chemiczny ich szkieletu mają zmiany Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej oraz diety.

W ramach pracy doktorskiej zaplanowano trzy eksperymenty biomineralizacyjne na różnych, niespokrewnionych gatunkach szkarłupni, których wyniki podsumowano w trzech rozdziałach/artykułach:

- 1) krótkoterminowy (14-dniowy) eksperyment dotyczący wpływu podwyższonej koncentracji Ca^{2+} w wodzie morskiej oraz diety wzbogaconej w $MgCO_3$ na skład chemiczny regenerujących kolców dorosłych osobników jeżowców euechinoida *Paracentrotus lividus*;
- 2) rozszerzony (21-dniowy) eksperyment dotyczący wpływu obniżonego stosunku molowego Mg^{2+}/Ca^{2+} w wodzie morskiej (uzyskanego poprzez podwyższanie koncentracji Ca^{2+} oraz obniżanie Mg^{2+}) oraz diety wzbogaconej w MgO na tempo wzrostu i respiracji oraz skład chemiczny nowo wzrastających płytek pancerza, zębów,

demipiramid oraz kolców dwóch gatunków jeżowców (cidaroida *Prionocidaris baculosa* i euechinoida *Psammechinus miliaris*);

- 3) rozszerzony (21-dniowy) eksperyment dotyczący wpływu obniżonego stosunku molowego Mg^{2+}/Ca^{2+} w wodzie morskiej (uzyskanego poprzez podwyższanie koncentracji Ca^{2+} oraz obniżanie Mg^{2+}) na skład chemiczny nowo wzrastających płytek rozgwiazd (*Asterias rubens*) i węzowideł (*Ophiocomina nigra*).

W pierwszym eksperymencie jeżowcom odcięto końcówki kolców w celu zainicjowania ich regeneracji. Następnie szkarłupnie przetrzymywane były w wodzie o kontrolnym (~ 5.2 mol/mol) i obniżonym (~ 1.9 mol/mol) stosunku molowym Mg^{2+}/Ca^{2+} oraz karmione dietą o standardowej (~ 0.3 wt%) i podwyższonej zawartości magnezu (~ 11 wt%). Po zakończeniu eksperymentu pobrano kolce, a zregenerowane końcówki poddano badaniom składu chemicznego (stosunku Mg/Ca). Kolce wzrastające w wodzie o obniżonym stosunku molowym Mg^{2+}/Ca^{2+} cechował niższy stosunek Mg/Ca w zregenerowanych końcówkach, co potwierdziło hipotezę o wpływie wody morskiej na skład chemiczny szkieletu szkarłupni. Jednakże u osobników karmionych dietą wzbogaconą w magnez stwierdzono wyższy stosunek Mg/Ca w szkielecie. Oznacza to, że woda morska nie jest jedynym źródłem jonów w procesie biomineralizacji (część jonów magnezu może pochodzić również z diety). Ponadto wyniki badań sugerują, że ścieżka transportu magnezu w procesie biomineralizacji regenerujących się kolców jeżowców jest bardziej złożona niż sądzono. Dotychczas uważano, że transport magnezu z wody morskiej do sklerocytów (komórek tworzących szkielet) mediowany jest wyłącznie przez epidermę okalającą kolce. Wyniki eksperymentu sugerują jednak, że magnez pochodzący z diety mógłby być transportowany do stref wzrostu w kolcach przez fagocyty i sferulocyty (jedyne typy komórek o zdolnościach migracyjnych z jamy ciała). Badania te mogą mieć znaczenie w kontekście wiarygodności wykorzystywania kopalnych szkarłupni w rekonstrukcjach paleośrodowiskowych. Okazuje się bowiem, że rodzaj diety może wpływać na skład chemiczny szkieletu szkarłupni, co może skutkować błędami w rekonstrukcji Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej na podstawie danych geochemicznych uzyskanych ze szkieletów szkarłupni.

W powyższym eksperymencie obniżanie stosunku molowego Mg^{2+}/Ca^{2+} w wodzie morskiej odbywało się poprzez dodanie soli zawierającej wapń ($CaCl_2$), jednakże w przeszłości geologicznej zmiany stosunku molowego Mg^{2+}/Ca^{2+} w wodzie morskiej związane były ze zmianami stężenia obu jonów (Mg^{2+} oraz Ca^{2+}). Z tego powodu w kolejnym eksperymencie stosunek molowy Mg^{2+}/Ca^{2+} obniżany był poprzez dodawanie chlorku wapnia i wody bezmagnezowej (sporządzonej poprzez rozpuszczenie soli NaCl, Na_2SO_4 , KCl, KBr, $SrCl_2$,

NaF, H₃BO₃ i NaHCO₃). Tym razem do badań wykorzystano dwa gatunki jeżowców o różnych preferencjach środowiskowych: chłodnolubny *Psammechinus miliaris* i tropikalny *Prionocidaris baculosa*. Osobnikom *P. miliaris* przycięto kolce celem wzbudzenia regeneracji (u cidaroida *P. baculosa* regeneracja kolców nie występuje). Dodatkowo u obydwu gatunków przeprowadzono znakowanie manganem (1 mg/L), a następnie obrazowanie przy użyciu mikroskopu katodoluminescencyjnego. Zaletą tej metody, oprócz łatwego i taniego przygotowania oraz braku zauważalnego negatywnego wpływu (przy niskim stężeniu Mn) na fizjologię zwierząt, jest wysoka rozdzielczość umożliwiająca precyzyjne wyznaczenie znakowanych stref wzrostu. Po znakowaniu jeżowce były przetrzymywane w wodzie o stosunku molowym Mg²⁺/Ca²⁺: ~5.2, ~2.5, ~1.5 (mol/mol) i karmione dietą o standardowej (~0.3 wt%) lub podwyższonej (~20 wt%) zawartości magnezu. Po zakończonym eksperymencie od każdego z osobników pobrano różne elementy szkieletu tj kolce, zęby, demipiramidy i płytki ambitalne. Przygotowany materiał poddano obserwacjom pod mikroskopem katodoluminescencyjnym celem wyznaczenia nowopowstałych stref szkieletu i skalibrowania tempa wzrostu, a następnie badaniom składu chemicznego (Mg/Ca). Wyniki badań pokazały, że jeżowce inkubowane w wodzie morskiej o niskim stosunku molowym Mg²⁺/Ca²⁺ rosły wolniej i wytwarzały szkielet o obniżonym stosunku Mg/Ca. Z drugiej strony, szkielety osobników karmionych dietą wzbogaconą w magnez charakteryzowały się wyższym stosunkiem molowym Mg/Ca niż szkielety osobników karmionych dietą zubożoną w magnez. Dane te potwierdzają wnioski z pierwszego eksperymentu sugerujące, że część jonów w procesie biomineralizacji może pochodzić z diety, co może mieć wpływ na stosunek Mg/Ca w szkielecie. Co istotne, stosunek Mg/Ca w kalcycie budującym szkielet jeżowców może być niejednorodny w obrębie jednego osobnika (między różnymi typami płytek), a nawet w obrębie pojedynczej płytki (między różnymi typami stereomu). Oznacza to, że rekonstrukcje stosunku molowego Mg²⁺/Ca²⁺ wody morskiej na podstawie danych geochemicznych (Mg/Ca) pochodzących ze szkieletu szkarłupni mogą być obarczone błędami wynikającymi nie tylko z efektu diety, ale także z wewnątrzosobniczego zróżnicowania wynikającego z efektów witalnych. W rozdziale omówiono błędy wynikające z takich rekonstrukcji, obliczone na podstawie danych eksperymentalnych. Omówiono także wyniki badań geochemicznych (Mg/Ca) dobrze zachowanych jurajskich i miocénskich jeżowców, które zostały wykorzystane do rekonstrukcji stosunku Mg²⁺/Ca²⁺ ówczesnych mórz. Jurajskie jeżowce przeważnie wykazują niższy, a miocénskie wyższy stosunek Mg/Ca w szkielecie, co jest zgodne z typem ówczesnych mórz („kalcytowe” morza w jurze i „aragonitowe” morza w miocenie), niemniej

zróźnicowanie geochemiczne jest na tyle duże, że utrudnia precyzyjne odtworzenie zmian Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej w fanerozoiku.

W trzeciej części rozprawy omówiono wpływ zmian składu chemicznego wody morskiej na tworzenie szkieletu dwóch rzadziej wykorzystywanych do badań biomineralizacyjnych grup szkarłupni, tj. rozgwiazd i wężowideł. W ramach eksperymentu osobniki dwóch gatunków (rozwiazdy *Asterias rubens* i wężowidła *Ophiocomina nigra*) najpierw znakowano manganem, a następnie umieszczono w akwariach zawierających wodę o stosunku molowym ~ 5.2 , ~ 2.5 i ~ 1.5 (mol/mol). W przypadku wężowideł w ciągu tygodnia zaobserwowano wysoką śmiertelność, autotomię oraz zahamowanie wzrostu, co uniemożliwiło pozyskanie danych z większości osobników (niemniej z nielicznych wężowideł uzyskano dane wskazujące na obniżony stosunek Mg/Ca w szkielecie). W przypadku rozgwiazd wszystkie zbadane osobniki trzymane przez 21 dni w wodzie o obniżonym stosunku molowym Mg^{2+}/Ca^{2+} wytwarzały szkielet o obniżonym stosunku Mg/Ca. Wartości stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} zastosowane w eksperymencie na dzisiejszych rozgwiazdach zostały zestawione z wartościami stosunku Mg^{2+}/Ca^{2+} wody morskiej odtworzonymi na podstawie danych geochemicznych z kopalnych rozgwiazd. Rekonstrukcje bazujące na dobrze zachowanych kopalnych jurajskich i miocenkich rozgwiazdach są zgodne z danymi geologicznymi, wskazującymi na niski stosunek Mg^{2+}/Ca^{2+} w morzu jurajskim i wysoki w morzu miocenkim. Należy pamiętać jednocześnie, że dokładność rekonstrukcji jest ograniczona różnym stopniem frakcjonowania magnezu u różnych gatunków szkarłupni oraz lokalnymi parametrami środowiska, które mogą dodatkowo wpływać na końcowy stosunek szkieletowego Mg/Ca.