

8. PREMIERS RÉSULTATS DU SYSTÈME DE BIOPOLYMÈRE STABILISATEUR DU SQUELETTE QUASI-CRISTALLOÏDE DE L'EXINE

M. KEDVES et A. TÓTH

*Laboratoire de Biologie cellulaire et de Micropaléontologie évolutive de l'Institut Botanique de l'Université
J. A. de Szeged, H-6701, B. P. 657, Hongrie*

Sommaire

Le système biopolymère du sporoderme peut être classé en deux composants principaux: 1. Le squelette quasi-cristalloïde qui est un système metastable. 2. Le système des biopolymères stabilisateurs. Ces molécules ou associations des molécules remplissent les cavités et les frustrations – sensu NELSON – du squelette quasi-cristalloïde et empêchent la désintégration spontanée de ce système de biopolymère. Parallèlement avec l'étude du système de biopolymères quasi-cristalloïdes nous avons commencé des recherches pour éliminer le squelette quasi-cristalloïde afin d'obtenir des documents directs par MeT du système stabilisateur. Sur les photos au MeT de l'intine partiellement dégradée des pollens biaillés de *gymnosperme* (*Pinus griffithii* MCCLELL.) on a obtenu pour la première fois des informations directes sur le système de biopolymères stabilisateurs de l'unité de PENROSE-I type squelette quasi-cristalloïde. On a établi l'hétérogénéité du système biopolymère des stabilisateurs qui sont selon nos connaissances jusqu'à présent les suivants:

1. Stabilisateur central de forme globulaire au milieu de l'unité centrale (pentagone-dodécaèdre) du squelette de PENROSE-I. Le système du squelette qui entoure le pentagone-dodécaèdre a aussi un stabilisateur central. Mais les relations entre ces deux stabilisateurs centraux ne sont pas encore bien connues.
2. Les frustrations et les autres cavités du squelette quasi-cristalloïde sont remplies par des systèmes de biopolymères, lamellaires ou fibrillaires. Pour mettre en évidence ce système de biopolymère stabilisateur dans les cadres du squelette quasi-cristalloïde nous venons d'élaborer une méthode. Les premiers résultats dans ce sujet présentés dans cette contribution.

Mots clés: Palynologie, actuel, structure biopolymère, stabilisateur.

Introduction

L'étude multidisciplinaire du paroi extrêmement résistant des spores et de grains de pollen a été le sujet depuis longtemps de plusieurs études. Une énorme quantité de publications ont paru avec des conceptions différentes. Vue l'état actuel de nos connaissances dans ce sujet, il nous semble important de distinguer très nettement deux sortes d'études suivant les méthodes fondamentales de la recherche: 1. Les recherches des précurseurs ou en général des composants chimiques, en utilisant les méthodes de la chimie et de la chimico-physique. 2. Le système des biopolymères ou des sous-unités de l'exine, qui peuvent être étudiés par la microscopie électronique à transmission après le processus de la dégradation partielle. Suivant la mesure de la

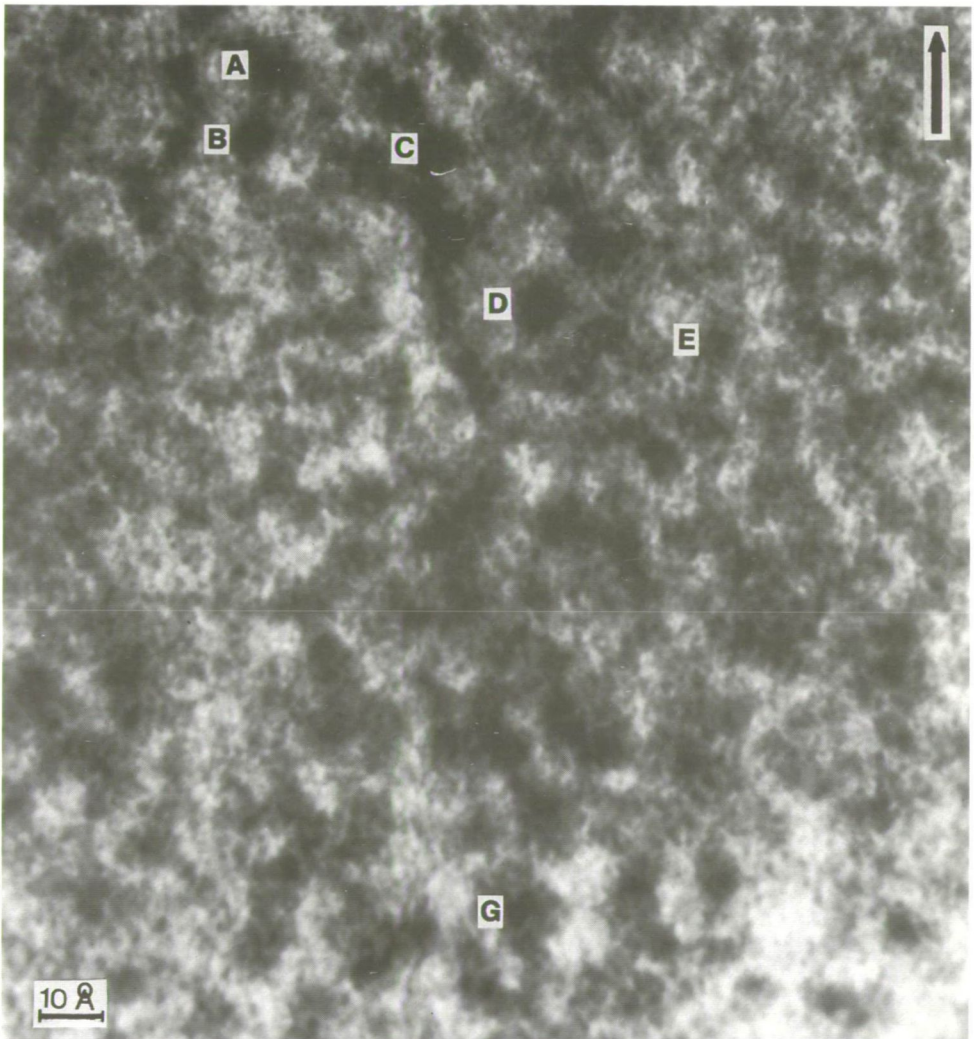


Planche 8.1.

Pinus griffithii McCLELL.

Détail du système de biopolymère de l'intine partiellement dégradée, par expérience no: 681. No du négative: 430. Plusieurs sortes d'unités de biopolymères sont illustrées. Les globules de diamètre de 6 à 8 Å sont probablement les stabilisateurs centraux d'un pentagone dodécaèdre du PENROSE-I type squelette quasi-cristalloïde. Il y a encore de deux sorte supplémentaires de biopolymères globulaires, les plus petites représentent les "ombres" des atoms. Le système de biopolymères de forme circulaire autour du stabilisateur central remplissent les cavités des "frustrations" concentriques internes. La diamètre de ces cercles est de 32,4 à 33,2 Å. Ce système est particulièrement net autour du stabilisateur central "D". Toutes les unités centrales qui ont été utilisées pour des études supplémentaires sont indiquées par des lettres de "A" à "I".

dégradation partielle, on a pu établir des degrés différents dans l'organisation du système de biopolymère, cf. KEDVES (1989a). La base est l'unité de biopolymère de forme de pentagone régulier dans la dimension des angstroms (8–20 Å environ). Ces éléments composent le squelette quasi-cristalloïde qui est le sujet de plusieurs études (cf. GÉVAY et KEDVES, 1989, KEDVES 1989a,b, 1990, 1992, KEDVES, TÓTH et FARKAS, 1992). Ces composants constituent sur un degré supérieur des "sous-unités" comme les structures hélicoïdales ou tubulaires (ABADIE, HIDEUX et ROWLEY, 1986–1987, FLYNN et ROWLEY, 1971, ROWLEY, 1990, ROWLEY, DAHL et ROWLEY, 1981, ROWLEY, DAHL, SENGUPTA et ROWLEY, 1981, ROWLEY, EL-GHAZALY et ROWLEY, 1987), les polygones irréguliers (SOUTHWORTH, 1985a,b, 198a,b) et les éléments globulaires de HESSE (1985). Les structures qui sont similaires aux cristaux colloïdaux publiés par HEMSLEY, COLLINSON et BRAIN (1992) peuvent être classées aussi sur ce niveau.

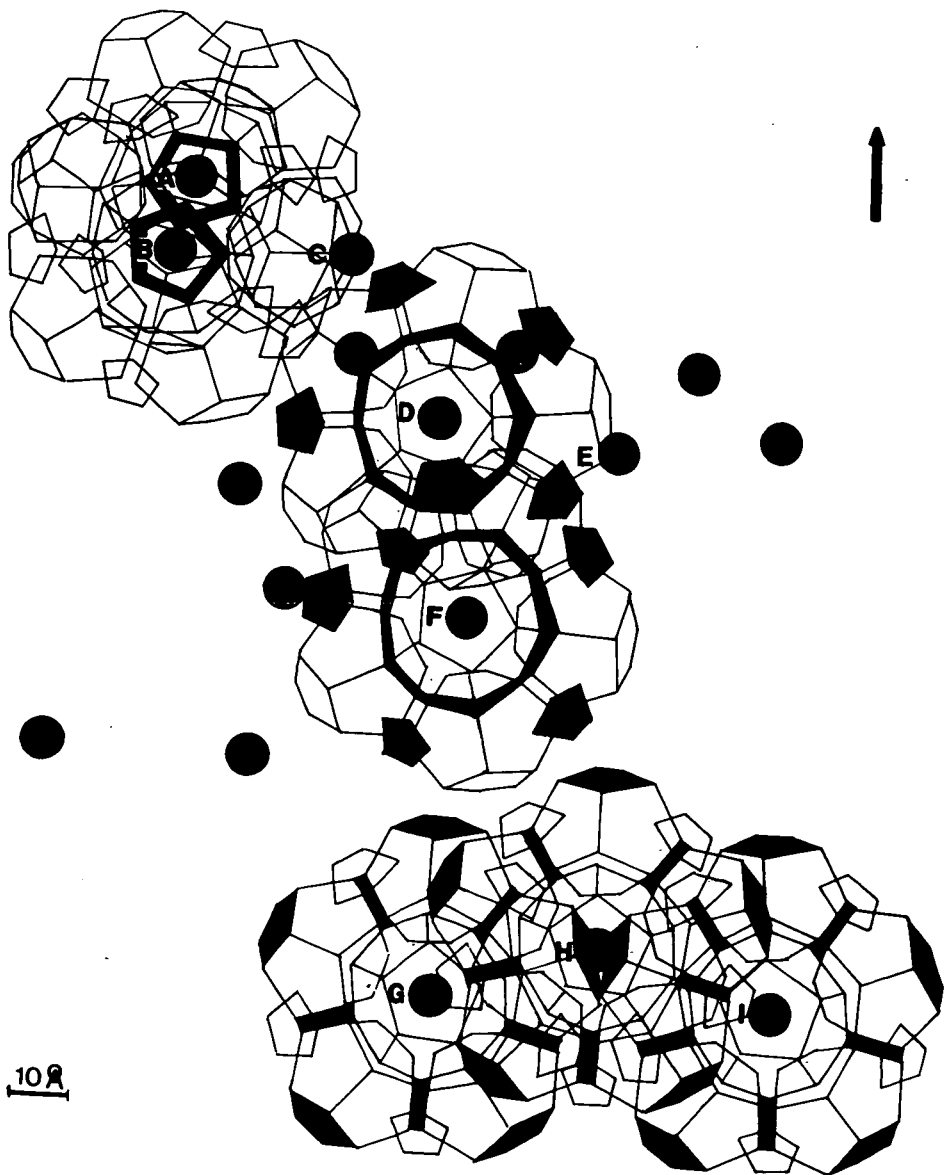
Du point de vue du sujet de notre étude, les structures quasi-cristalloïdes sont les plus importantes. Suivant les résultats les plus récents, cette organisation peut se rencontrer sur le niveau des molécules aussi (cf. KEDVES, TÓTH et FARKAS, 1992), mais elle n'est jamais connue sur le niveau des sous-unités de l'exine de dimension de nanomètre.

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, le squelette de biopolymères quasi-cristalloïdes représente une structure metastable, et par la désintégration de ce système une énergie remarquable peut être libérée. Une complexité des biopolymères remplissent les cavités du squelette quasi-cristalloïde, en assurant la stabilisation relative du paroi sporal. Nous les appelons stabilisateurs. Pour avoir des documents directs de ce système des associations des molécules il est nécessaire de dissoudre le squelette quasi-cristalloïde. Plusieurs essais ont été faits et, en se basant aux résultats de nos expériences jusqu'à maintenant, il nous semble que c'est plus difficile que la dissolution des biopolymères stabilisateurs.

Ce travail va présenter pour la première fois les données directes par la méthode de la microscopie électronique à transmission des stabilisateurs du système quasi-cristalloïde de PENROSE-I type de système biopolymère. Ensuite on a commencé à élaborer une méthode pour l'étude et l'interprétation de l'arrangement des unités stabilisateurs de biopolymères. Il y a lieu de souligner qu'il y a encore beaucoup de choses à faire dans ce sujet, en ajoutant que même le système quasi-cristalloïde n'est pas encore suffisamment connu en tous les détails.

Matière et Méthode

Les grains de pollen de *Pinus griffithii* McCLELL ont été le sujet de ces études, par expérience No 681. La dégradation partielle a été effectuée par diéthylether, la méthode en détail a été publiée précédemment, cf. KEDVES et PÁRDUTZ (1992). Comme on a déjà fait remarquer, les négatives ont été prise par un appareil de MeT Opton EM-902 dans le Laboratoire de Microscopie Electronique de l'Institut de Biophysique du Centre de Biologie de l'Académie des Sciences de Hongrie. La négative (No: 430) a été prise au grossissement de 400.000 de l'intine de grain de pollen partiellement dégradée. Il y a lieu de remarquer que sur cette négative on a observé l'image des molécules, et parmi celles-ci une de forme de pentagone a été le sujet des opérations de symétrie, cf. KEDVES, TÓTH et FARKAS (1992).



Résultats

Pour avoir une aspect général, on a préparé des photos au grossissement de 5 Million de la négative entière. Sur cette grande photo laquelle a été composée de plusieurs parties on a pu observer très clairement des unités globulaires de plusieurs dimensions. Pour la publication nous avons utilisé des photos à 1 Million (Planche 8.1.). Certaines, mais en particulier une ("D") est entourée d'un système de biopolymère de forme circulaire. Un système biopolymère similaire, mais pas tellement complet a été encore observé ("B, F, G, H"). Nous avons pensé que les unités globulaires grandes, de taille de 6 à 8 Å, sont les unités stabilisatrices centrales, qui se placent au milieu du pentagon-dodécaèdre central d'un PENROSE-I type squelette de biopolymère.

Pour étudier la disposition de ces unités de biopolymères dans le système entière, comme premier essai pour la méthode de recherche nous avons effectué les démarches ci-dessous:

1. En tenant compte des unités de biopolymères représentées sur la Planche 8.1., et les schémas (Fig. 8.1. et 8.2.), ensuite en se basant sur nos résultats antérieurs concernant le squelette quasi-cristalloïde en deux mais en particulier en trois dimensions, nous avons pris pour base la photo prise du modèle de PENROSE-I type quasi-cristalloïde squelette à trois dimensions. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, nos modèles à trois dimensions ont été préparés dans l'échelle des unités de biopolymères observées sur les premières photos de MeT. De la photo, prise en face du modèle à trois dimensions de PENROSE-I type squelette, nous avons préparé des schémas dans la mesure de 5 et de 1 million. Voir ce dernier sur la figure 8.1. et 8.2.
2. Ce schéma pensons-nous représente le squelette quasi-cristalloïde de PENROSE-I type unité en deux dimensions.
3. Ensuite nous avons placé ce schéma au milieu d'un biopolymère globulaire (qui est selon notre hypothèse le stabilisateur central du PENROSE-I unité), et ensuite tourné jusqu'à la position où le maximum des unités voisines soit en symétrie avec le schéma du squelette (Fig. 8.1. et 8.2.).

◀ Fig. 8.1.

Pinus griffithii MCCLELL.

Schéma préparé de la photo de la planche 8.1., indiquant l'emplacement du système biopolymère des stabilisateurs centraux. Un autre type de schéma qui a été préparé d'une photo pris d'un modèle à trois dimensions d'une unité de type PENROSE-I squelette dans la même échelle de la photo; au grossissement d'1 Million Plusieurs sortes de connexions du squelette quasi-cristalloïde avec les stabilisateurs sont représentées.

Connexion de type I.: Exemple: Biopolymères "A" et "B". C'est la connexion la plus enchainée. Les stabilisateurs centraux des unités connectées du PENROSE-I type squelette se placent sur les systèmes de biopolymères circulaires. Voir encore deux unités globulaires autour du biopolymère "D".

Connexion de type II.: Exemple: Biopolymères "G", "H" et "I". Dans ce cas-là, le contour extérieur du squelette de type PENROSE-I touche le centre (le pentagone ou le stabilisateur central) du squelette voisin.

Connexion de type III.: Exemple: Biopolymère "B" et "D". Les contours extérieures sont en connexion de deux squelettes de PENROSE-I type voisin.

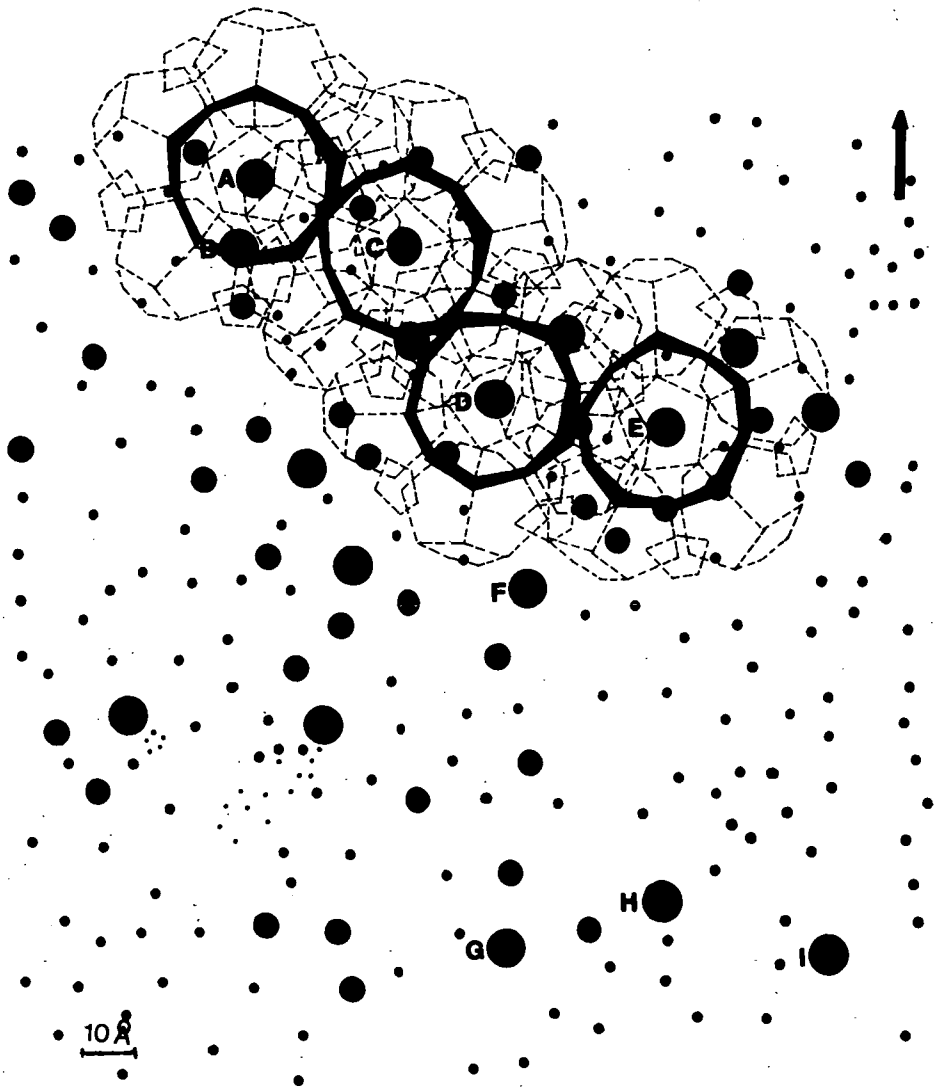


Fig. 8.2.

Pinus griffithii McCLELL.

Schéma préparé de la photo de la planche 8.1., indiquant tous les points de symétrie importants. Les squelettes de type PENROSE-I des biopolymères stabilisateurs centraux "A", "C", "D" et "E" sont indiqués. Il est à remarquer que suivant ces schémas les stabilisateurs circulaires sont en connexion.

4. Suivant cette méthode, nous avons pu distinguer pour le moment trois positions principales des unités de PENROSE-I type squelette y compris leur stabilisateur central.

4.1. Connection de type I (Fig. 8.1. "A" et "B")

C'est la connection la plus proche entre deux unités. Il est à remarquer que les pentagones centraux avec les unités "A" et "B" sont en position particulière. Un sommet de tous les deux pentagones atteint le stabilisateur central voisin. En analysant cette partie de schéma ("A" et "B", fig. 8.1.) on peut établir encore des symétries intéressantes supplémentaires.

4.2. Connection de type II (Fig. 8.1., "G", "H" et "I", et fig. 8.2., "A", "C", "D" et "E")

Ces connections dans les cas typiques peuvent être caractérisées avec les traits ci-dessous:

Les systèmes de biopolymères stabilisateurs circulaires voisins sont en connexion tangentielle (Fig. 8.2.).

D'autre part, le contour avec un losange périphérique du schéma du squelette PENROSE-I touche le stabilisateur voisin.

Il y a deux sortes de conditions pour ce type de connexion:

1. Une distance convenable entre les deux stabilisateurs centraux; $A - C = 29 \text{ \AA}$, $C - D = 33 \text{ \AA}$, $D - E = 31 \text{ \AA}$, $G - H = 28 \text{ \AA}$, $H - I = 32 \text{ \AA}$.

2. L'angle de trois stabilisateurs voisins semblait aussi important; $AC - CD = 144^\circ$, $CD - DE = 130^\circ$, $GH - HI = 145^\circ$.

Nous avons trouvé une connexion pas typique, voir D et F, fig. 8.1. Les systèmes de biopolymères stabilisateurs circulaires ne se touchent pas, mais les angles extérieurs du schéma sont en connexion avec le pentagone central voisin.

4.3. Connection de type III (Fig. 8.1., "B" et "D")

Dans ce cas-là les contours extérieurs sont en connexion tangentielle.

5. Pour avoir des aspects plus amples concernant la complexité du système biopolymère du paroi pollinique, nous avons mis en évidence certains éléments de la symétrie, en particulier sur la fig. 8.1.

Discussion et Conclusions

1. Comme nous avons déjà fait remarquer c'est le premier document direct concernant le système de biopolymère stabilisateur du squelette quasi-cristalloïde. Suivant nos résultats précédents sur le squelette quasi-cristalloïde, il est évident que le système stabilisateur est beaucoup plus complexe que nous n'avons pu le mettre en évidence jusqu'ici. En effet nous avons des informations de deux sortes de stabilisateurs seulement.

2. La méthode présentée ici est aussi pour une sorte de système biopolymère. Par exemple pour les éléments lamellaires ou en particulier le système biopolymère de la surface il faut élaborer une autre méthode.

Remerciements

Le texte français a été corrigé par Mme. Zs. GÉCSEG, nous venons lui exprimer nos remerciements les plus sincères pour son aide cordiale. Ces recherches ont été effectuées avec le concours du OTKA 1/3 - 104.

Bibliographie

- ABADIE, M., HIDEUX, M. and ROWLEY, J. R. (1986–1987): Ultrastructural cytology of the anther. II. Proposal for a model of exine considering a dynamic connection between cytoskeleton, glycolemma and sporopollenin – synthesis. – *Ann. Sci. Nat. Bot. Paris* 8, 1–16.
- FLYNN, J. J. and ROWLEY, J. R. (1971): Wall microtubules in pollen grains. – *Zeiss Inform.* 76, 40–45.
- GÉVAY, G. and KEDVES, M. (1989): A structural model of the sporopollenin based on dodecahedrane units. – *Acta Biol. Szeged.* 35, 53–57.
- HEMSLEY, A. R., COLLINSON, M. E. and BRAIN, A. P. R. (1992): Colloidal crystal-like structures of sporopollenin in the megaspore walls of Recent *Selaginella* and fossil spores. – *Bot. J. Linnean Soc.* 108, 307–320.
- HESSE, M. (1985): Hemispheric surface processes of exine and orbicules in *Calluna* (*Ericaceae*). – *Grana* 24, 93–98.
- KEDVES, M. (1989a): Quasi-crystalloid biopolymer structures of the sporoderm and its highly organized degrees. – *Acta Biol. Szeged.* 35, 59–70.
- KEDVES, M. (1989b): Méthode d'étude des biopolymères de la paroi pollinique à structure quasi-crystalloïde. A method of investigation of the quasi-crystalloid structure of the pollen wall biopolymers. – *Rev. de Micropaléont.* 32, 226–234.
- KEDVES, M. (1990): Quasi-crystalloid basic molecular structure of the sporoderm. – *Rev. Palaeobot. Palynol.* 64, 181–186.
- KEDVES, M. (1992): Three dimensional modelling of the biopolymer structure of the plant cell wall. II. In: *Plant Cell Biology and Development* 3, ed.: M. KEDVES, 67–87, Szeged.
- KEDVES, M. and PÁRDUTZ, Á. (1992): Transmission electron microscopy of partially dissolved exines of different bisaccate *gymnosperm* pollen grains. In: *Plant Cell Biology and Development* 3, ed.: M. KEDVES, 38–66, Szeged.
- KEDVES, M., TÓTH, A. and FARKAS, E. (1992): Experimental investigation of the biopolymer organization of the sporoderm (recent and fossil). – 8th I. P. C. Aix-en-Provence, Program and Abstracts, 75.
- NELSON, D. R. (1986): Quasicrystals. – *Scientific American* 254, 43–51.
- ROWLEY, J. R. (1990): The fundamental structure of the pollen exine. – *Pl. Syst. Evol.* (Suppl. 5), 13–29.
- ROWLEY, J. R., DAHL, A. O. and ROWLEY, J. S. (1981): Substructure in exines of *Artemisia vulgaris* (*Asteraceae*). – *Rev. Palaeobot., Palynol.* 25, 1–38.
- ROWLEY, J. R., DAHL, A. O., SENGUPTA, A. S. and ROWLEY, J. S. (1981): A model of exine substructure based on dissection of pollen and spore exines. – *Palynology* 5, 107–152.
- ROWLEY, J. R., EL-GHAZALY, G. and ROWLEY, J. A. (1987): Microchannels in the pollen grain exine. – *Palynology* 11, 1–21.
- SOUTHWORTH, D. (1985a): Pollen exine substructure. I. *Lilium longiflorum*. – *Amer. J. Bot.* 72, 1274–1283.
- SOUTHWORTH, D. (1985b): Pollen exine substructure. II. *Fagus sylvatica*. – *Grana* 24, 161–166.
- SOUTHWORTH, D. (1986a): Pollen exine substructure. III. *Juniperus communis*. – *Can. J. Bot.* 64, 983–987.
- SOUTHWORTH, D. (1986b): Substructural organization of pollen exines. In: *Pollen and Spores: Form and Function*, 61–69.