

SZERVES NÖVÉNYI MIKROFOSSZILIÁK BIOPOLIMER ORGANIZÁCIÓJA

Kedves Miklós^x

A szerves növényi anyag átalakulása az üledékképződés folyamán régóta ismert. A növényi mikroszkópos maradványok összetételét meghatározó tényezőiként a következőket emelték ki a szerzők: produkció, diszperzió, selektív fosszilizáció. Ily módon a mikrofosziliák értékelését megfelelő kritikával, illetve korrekciókkal lehet csak elvégezni. Ez a recens analógiák párhuzamos tanulmányozásának a szükségességét vetette fel, amely a levél, termés és a sporomorfák esetében általánosan elterjedtnek tekinthető. Ez az elsődlegesen interdiszciplináris jelleg határozta meg a szerves növényi maradványok biopolimer organizációjának a tanulmányozását, amely később szükségszerűen multidiszciplinárisrá vált.

A növényi sejttel biopolimer organizációs szintjeinek vizsgálata során metodikai szempontból két fő szintet célszerű elkülöníteni:

1. A kémiai módszerekkel tanulmányozható komponensek.

2. A transzmissziós elektronmikroszkópos módszer által észlelhető organizációs egységek. Ez utóbbi vizsgálatok eredményeire alapozva már eddig is további több szint különíthető el.

Annak ellenére, hogy a növényvilág minden fontos sejttel típusa képezi vizsgálatunk tárgyát, több ok miatt a sporopollenin típusú sejtfalakokkal kapcsolatos problémákat érintjük. A spórák, illetve pollenszemek falának ellenálló volta miatt, a kémiai összetételük régóta képezte a vizsgálatok tárgyát. Az első adatok John-tól származnak 1814-ből. Azóta különböző módszerekkel számos eredmény került közlésre, ennek ellenére még ma sem rendelkezünk minden szempontból kielégítő kémiai jellegű

x

József Attila Tudományegyetem Növénytan Tanszék, H-6701 Szeged, Pf. 657.

modellel. A legfontosabbnak tartott nézetek, röviden az alábbiakban foglalhatók össze:

1. Az ugynevezett svájci iskola, Zetzsche és munkatársai, a 30-as években alapvető megállapításokat tettek a sporopollenin kémiai jellegével kapcsolatban. Ezek közül az autoxidáció különösen jelentős, amely fény hatására indukált reakció.

2. Frey-Wissling (1953) szerint lipid származékok képezik a sporopollenint.

3. 1960-ban Tomsovic foglalta össze a klasszikusnak tekinthető ismereteket, ennek értelmében a sporopollenin magasan polimerizált terpén származék, amely hasonló a kutinhoz.

4. Traverse (1968) nyomán a poliszaharid jelleg került előtérbe.

5. Az angol iskola, Brooks, Shaw és Yeadon, a 60-as évek végén, illetve a 70-es évek elején a béta karotín, illetve annak oxidatív észtereknek a jelentőségét állapította meg a sporopollenin kialakulásánál és eléggé általánosan elterjedt voltát hangoztatta. A karotín mellett, stabilizátor funkcióval aromás lignin származékok jelenlétét állapították meg; Markaya, Kodina és Generalova (1968), Correira (1971), stb. Az ilyen módon kialakult kettős biopolimer koncepcióra alapozva több problémában sikerült előrehaladást elérni. Pigment maradványokat, geokémiai módszerekkel különböző korú üledékekből mutattak ki, ezek közül a prekambriumi adatok különösen nagy feltűnést keltettek többek között a fotoszintetikus pigmentek filogenezise szempontjából.

6. Potonié és Rehnelt (1971) nyomán, a sporopollenin szenesedése folyamán az alifás komponensek egyre inkább aromatiszálódnak.

7. Ford (1971), recens anyagon, a virágpór falának három, kémiai összetételét tekintve eltérő jellegű rétegeivel kapcsolatban az alábbiakat állapította meg: Az ektexine sporopollenin, az endexine lignin tartalmú. Az intine kémiailag cellulóz jellegű.

8. Dungworth (1971) ismét a pollenfal lipid frakcióit vette vizsgálat alá. Szénhidrátokat, alkoholokat és egyéb zsírsav komponenseket mutatott ki.

9. Szilikonok és más kationok, valószínűleg szerves kötésben vannak a sporodermisben, Rowley 1971-ben a tórium akkumulációját állapította meg a felszínen.

10. Rowley 1975-ben lipopoliszaharid filamentumokat írt le az exinéből.

11. A fenilalanin prekursor szerepét a sporopollenin kialakulásában Rittscher és mtsa. (1987) állapította meg, a Tulipa pollenszemeinél. Schulze és mtsa. (1987) strukturálisan integrált fenol származékokat mutatott ki a Pinus nemzetség pollenszemeiből.

Végezetül, Guilford és mtsa. (1988) nyomán a sporopollenin biopolimerek csoportja, és nem egy homogén makromolekula. Zsírsav prekuzort tételeznek fel hosszú alifás, alacsony olefin intenzitással, mint karotenoid prekuzort.

Különösen a kísérletes vizsgálatoknál nyomatékosan figyelembe kell venni azt, hogy a sejtfal kémiai szerkezete dinamikusan változik. Eddigi eredményeink alapján a frissen gyűjtött anyag -20°C -on való befagyasztása sem kielégítő a sporopollenin diagenézisének a megállapítására. A gyűjtési időpontnak, mint fontos tényezőnek a kísérletes munkában Southworth (1986) közleményében is szerepelt.

A sejtfal biopolimer organizációjának közvetlen tanulmányozására az adja meg az alapot, hogy komponensei eltérő módon reagálnak a szolvensekre illetve az oxidáló ágensekre (Southworth, 1986). Így a lépészetesen degradált sejtfal különböző szintű biopolimer strukturájának tanulmányozására van lehetőség. A degradáció természetes, mesterséges (kísérletes) és kombinált lehet. A kísérletes degradáció során a Helix enzim, szolvens, oxidációs, hidratálás különböző módszereit használtuk elsősorban. Az eddig elért eredményeink közül a legfontosabbakat az alábbi csoportosításban foglaljuk össze: a. Metodikai, B. Recens, illetve c. Fosztilis sporomorfákon elért eredmények.

a. Metodikai eredmények

1. Elsődlegesen alap-biopolimer egységek és azok elemi organizációjának feltárása.

Recens és fosztilis sporomorfák falának transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálata során először gömbszimmetrikus biopolimer egységeket sikerült megfigyelni, illetve ezek magasabb szintű rendezettségét. Alapvető új irányt ezeknél a vizsgálatoknál a Taxus baccata L. exinéjének 2-aminoetanol + KMnO_4 oldattal való kezelése után készített transzmissziós elektronmikroszkópos eredmények hoztak (Kedves, 1987c). Az

eredetileg lamelláris ultrastruktúrájú endexinéből ötszög szimmetriájú egységekből álló, hálózatos biopolimer váz maradt. Az ötszögű alap biopolimer egység szimmetriájának a tanulmányozása kezdeményezte a 80-as évek közepén, hirtelen lehűtött alumínium-mangán ötvözetekben felfedezett kvázikristályos szerkezet élő rendszerben való előfordulásának a bizonyítási folyamatát, amely jelenleg is folyamatban van. 1988a-ban, szerzőtől jelent meg az első közlemény biológiai kvázi krisztalloidokról, az alábbi megállapításokkal:

1. A sporopollenin alap biopolimer struktúrája kvázi krisztalloid pentagon, 8-12 Å átmérővel.
2. Ennek a struktúrának a modellezése arra utal, hogy a sporoderm legalább három kémiaiilag eltérő komponensből áll; gömb vagy fonál alakú egységekből.
3. Az alap biopolimer váz felszíne nem teljesen zárt, ez a struktúra a sporoderm molekuláris szűrő jellegére és a felszín további különleges sajátságaira is magyarázatot ad.
4. Az alap biopolimer egységek magasabb biopolimer alkotókká szervezettek, amelyeknek a morfológiája változó; nagyobb és nyitott poligonok, globuláris, lamelláris és helikális egységek, nanométer dimenzióban.
5. A magasabban organizált egységeknek rendszertani vagy filogenetikai jelentősége van.
6. Recens taxonok exinájében kísérletes módszerekkel ősi sajátságok is előállíthatók. Az *Abies concolor* ektexine alap rétegében (foot layer) lamelláris struktúrák jelentek meg kísérletes körülmények következtében, amelyek hasonlóak az ősi karbon kori légzsákos pollenszemekére.
7. A kvázi krisztalloid váz labilis (metastabil).

A további, összefoglaló jellegű munkák közül a szerző által 1989b-ben publikált emelhető ki a kvázi krisztalloid váz és a biopolimer struktúrák organizációs szintjeire.

A módosított Markham-féle rotációban nyert másodlagos szimmetriapontok további vizsgálata számos újabb adatot eredményezett (Kedves, 1989a). Eddig primer, szekunder és terciér rotációs típus elkülönítése történt meg. Szekunder rotációval a biológiai eredetű Penrose-modellt sikerült igazolni. A terciér rotáció, több Penrose-egység kimutatására, illetve azok kapcsolatára biztosított lehetőséget. Újabbban a TICOS mo-

dell biopolimer struktúrákra való alkalmazása, továbbá az ötszög szimmetriájú alap biopolimer egység valamennyi szimmetria szerinti és az úgynevezett inkomplet rotációjának a módszere van előkészületben, illetve folyamatban.

Röviden érintenünk kell még két további módszertani lehetőséget:

1. Szolvens és oxidációs úton elvégzett parciális degradáció után fragmentáció alá vetjük a növényi sejtfalat. Így a biopolimer egység több szintje együttesen tanulmányozható a transzmissziós elektronmikroszkópos módszerekkel.

2. A növényi sejtfalakat meghatározott ideig és hőmérsékleten tartjuk és ezután degradáljuk parciálisan. Előzetes eredményeink alapján ilymódon a nanométer dimenziójú biopolimer egységek tanulmányozhatók.

b. Recens sporomorfák biopolimer organizációja

A *Corylus avellana* L. pollenszemein fény- és transzmissziós elektronmikroszkópos módszerrel megállapítást nyert, hogy a protoplaszt előállítására kidolgozott Helix enzimátikus módszer alkalmas a pollenfal parciális degradálására. Alapvetően globuláris egységeket sikerült megfigyelni, amelyek magasabb szintű rendezettségére (filamentum, helikális struktúrák) is vannak előzetes adatok (Kedves 1986a). A *Taxus baccata* L. pollenszemein végrehajtott, lényegében a *Corylus avellana* L. pollenszemeinél alkalmazott kísérleti módszerek eltérő eredményre vezettek. (Kedves 1987a). Ennek magyarázata a két típusú pollenfal eltérő kémiai összetételében keresendő. Kedves és Winter (1988) részletes vizsgálat alá vette az *Equisetum arvense* L. spóráját. Megállapítást nyert, hogy az elaterák, a perisporium és az exosporium biopolimer organizáció szempontjából azonos. Globuláris egységekből áll, amelyek pentagonális poligonokká rendezettek. Az első rotációs képek a *Pinus griffithii* McClell parciálisan degradált exinéjének bázis biopolimer egységéről (Kedves, 1988b) valamint az *Abies concolor* Hoopes exine molekuláris organizációjáról (Kedves, 1988c) új megvilágításba helyezte a korábbi ismereteket. Később Kedves és Rojik (1989) az *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. parciálisan degradált exinéjét fragmentáció után vizsgálta transzmissziós elektronmikroszkópos módszerrel. Az alap biopolimer egység és annak különböző szintű magasabb organizációját sikerült ilymódon tanulmányozni. Jelenleg számos kísérleti eredmény van kiértékelés vagy munka alatt.

c. Fosszilis sporomorfák biopolimer organizációja

Mississippi alsó eocén zárwatermő pollenszemein végzett transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal indult el ez a kutatás (Kedves, Stanley és Rojik, 1974). Az üledékképződés és a preparálás során feltárt biopolimer rendszerből gömbszimmetrikus egységeket sikerült kimutatni. Az eredeti felvételek alapján a *Restioniidites hungaricus* és a *Thomsonipollis magnificus* alap biopolimer egységeinek a módosított Markham-féle rotációs módszerrel való tanulmányozása még további vizsgálatokat igényel.

Jelenleg a fosszilis növényi sejtfalak biopolimer organizációjával eddig elért eredmények három csoportba oszthatók:

1. A fosszilis spórák és pollenszemek biopolimer struktúrájának vizsgálata meghatározott példányokon.
2. A homogén szénpor biopolimer egységeinek kísérletes vizsgálata, különös tekintettel a robbanásveszélyes aknák mintáira.
3. Fosszilis xylem maradványok ultrastruktúrája. Ez a téma az aromás ligninszármazékokhoz kapcsolt radioaktív elemek transzportjának a témakörébe is tartozik.

Valamennyi fosszilis szerves maradvány transzmissziós elektronmikroszkópos eredménye újabb jellegű információt nyújt az üledékképződés körülményeit befolyásoló tényezők vizsgálatához. Az említett kutatási irányok legfontosabb eredményei az alábbiakban foglalhatók össze:

1. Több eredmény került közlésre fosszilis planktonszervezetek transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálati eredményeiről, beleértve a degradált fal biopolimer organizációját is.

1.1. Olajpala rétegekből izolált *Bortyococcus braunii* Kütz telepe számos vizsgálat tárgyát képezte különböző módszerekkel, és képezi továbbra is. Helix enzimátikus bontással (Kedves 1986b) gömbszimmetrikus egységeket sikerült kimutatni. Majd megállapítást nyert (Kedves 1986c), hogy a KMnO_4 oldattal való kezelés alkalmas a molekuláris struktúra feltárására. Lényegében azonos eredményre vezetett mint az enzimes és a merkaptó etalonos módszer. Jelenleg, a parciálisan degradált telepek fragmentációval való vizsgálata van folyamatban.

1.2. Az úrkuti mangánérc üledékképződési folyamata parciálisan degradálja a növényi mikrofossziliákat. Transzmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal több típusú fosszilis biopolimer struktúra megállapítása

történt meg tranmissziós elektronmikroszkópos vizsgálatokkal (Kedves, 1987b). Ezek közül a fosszilis helikális struktúra emelhető ki.

1.3. A fosszilis sporomorfiák üledékképződése során végbement parciális degradációjával kapcsolatban Kedves és Kincses (1989) az alábbi általános megállapításokat közölte:

A Pteridophyta spórák fala rendkívül ellenálló.

A Gymnospermatophyta pollenszemek exinéje heterogén ebből a szempontból. Az eddigiek szerint a légzsákos pollenszemek fala tekinthető a legellenállóbbnak. Az inaperturat pollenszemek és a különleges morfológiájú "Classopollis típus" biopolimer struktúrája az üledékképződés körülményeire aránylag könnyen feltáródik.

(Balmeiopsis limbatus, taxodioid pollenszemek, stb.)

Legújabb adataink alapján a fosszilis Angiospermatophyta pollenszemek sokkal komplikáltabbak, mint ahogy azt korábban gondoltuk. Általában a Longaxones exinék ellenállóbbak, a Brevaxones-el szemben.

2. A homogén szénpor biopolimer egységeinek kísérletes vizsgálata, különös tekintettel a robbanásveszélyes aknák mintáira.

A Mecsek hegység alsóliász kőszén mintái kerültek kísérletes vizsgálat alá (Kedves, közlés alatt). A tranmissziós elektronmikroszkópos felvételeket a szénpor minták szolvans kezelése előzte meg. A robbanásveszélyes akna mintájában fosszilis biopolimer struktúráját sikerült kimutatni. A módosított Markham-féle rotációs módszer a szénpor kvázi krisztalloid biopolimer organizációját is igazolta. A szénpor robbanására az alábbi folyamat a legvalószínűbb: A korábban Szirtes (1969) által megállapított gázcsatornák jelentősek. A szikra által iniciált gáz robbanás energiája hatására a metastabil kvázi krisztalloid biopolimer váz szétesik és ilyen módon nagy energia szabadul fel. Mivel a kvázi krisztalloid váz nedves közegben nem bomlékony az aknák párásítása az ilyen jellegű robbanás veszélyt csökkentheti. Továbbá, bázisos közeg roncsolja a sporopollenin struktúrákat.

3. Fosszilis xylem maradványok ultrastruktúrája.

A Vadkerti tó rádióaktív elemeket transzportáló xylem marad-

ványainak tranmissziós elektronmikroszkópos vizsgálata során (Kedves és Szederkényi, 1988) az alábbi eredmények születtek:

1. A rádióaktív elemeket transzportáló xylem maradványok szubmikroszkópos struktúrája több minta ultravékony metszetein jól tanulmányozható.
2. A szubmikroszkópos szerkezet ugyanannak az iszap mintának eltérő xylem maradványain nem minden esetben azonos. Ez eltérő szénülési fokozatot, illetve tafonómiai proceszust jelez. Az ultrastruktúra tendenciája, a lamelláris szerkezettől a homogén, struktúra nélküli szénig tart.
3. Recens taxonok másodlagos fatestéből leírt lamelláris struktúrát némely esetben sikerült csak a fosszilis anyagon megfigyelni.
4. Erős elektronaffinitású szemcsék is előfordultak, főleg az erősen degradált szerves közegben.

IRODALOM /REFERENCES/

- BROOKS, J. and SHAW, G. (1968): The post-tetrad ontogeny of the pollen wall and the chemical structure of the sporoderm of *Lilium henryi*. - *Grana Palynologica* 8: 2-3, 227-234.
- CORREIRA, M. (1971): Diagenesis of sporopollenin and other comparable organic substances: Application to hydrocarbon research. In: Brooks, J., Grant, P. R., Muir, M., van Gijzel, P. and Shaw, G.: *Sporopollenin*. Academic Press, London, New York, 569-620.
- DUNGWORTH, G., McCORMICK, A., POWELL, T. G. and DOUGLAS, A. G. (1971): Lipid components in fresh and fossil pollen and spores. In: Brooks, J., Grant, P. R., Muir, M., van Gijzel, P. and Shaw, G.: *Sporopollenin*. Academic Press, London, New York, 512-544.
- FORD, J. (1971): Ultrastructural and chemical studies of pollen wall development in the Epacridaceae. In: Brooks, J., Grant, P. R., Muir, M., van Gijzel, P. and Shaw, G.: *Sporopollenin*. Academic Press, London, New York, 130-173.
- FREY-WYSSLING, A. (1953): *Submicroscopic Morphology of Protoplasm*. 2. Aufl. Amsterdam/ Houston/ London/ N. Y.
- GUILFORD, W. J., SCHNEIDER, D. M., LABOVITZ, J. and OPELLA, S. J. (1988): High resolution solid state ^{13}C NMR spectroscopy of sporopollenins from different plant taxa. - *Plant Physiol.* 86, 134-136.
- JOHN, J. F. (1814): Über Befruchtenstaube nebst eine Analyse des Tulpen Pollens. - *J. Chem. Physik* 12, 244-261.
- KEDVES, M. (1986a): In vitro destruction of the exine of recent palynomorphs I. - *Acta Biol. Szeged* 32, 49-60.
- KEDVES, M. (1986b): Dégradation expérimentale des colonies du genre *Botryococcus* des schistes pétrolifères du Tertiaire supérieur de Hongrie. - *Acta Biol. Szeged* 32, 39-48.
- KEDVES, M. (1986c): Komplex (LM, TEM és vékonyréteg kromatográfiás) vizsgálatok olajpala növényi mikrofosszilián. - *Bot. Közlem.* 73: 1-2, 26-32.

- KEDVES, M. (1987a): In vitro destruction of the exine of recent palynomorphs II. - *Acta Biol. Szeged* 33, 49-56.
- KEDVES, M. (1987b): Molecular structures from the organic remnants of the carbonate manganese ore layers of the III. shaft of Úrktut, Hungary. - *Acta Biol. Szeged* 33, 57-62.
- KEDVES, M. (1987c): Higher organized sporopollenin biopolymer structures and the explosion of the pollen grains under scanning effect. - *Acta Biol. Szeged* 33, 163-165.
- KEDVES, M. (1988a): Quasi-crystalloid basic molecular structure of the sporoderm. - 7 Int. Palynol. Congr., Brisbane, abstr., 82.
- KEDVES, M. (1988b): About the symmetry of the pentagonal basic biopolymer units of the pollen wall. - *Acta Biol. Szeged* 34, 157-159.
- KEDVES, M. (1988c): First observation on the higher organized biopolymer structures of the exine of bisaccate gymnosperm pollen grains. - *Acta Biol. Szeged* 34, 161-163.
- KEDVES, M. (1989a): Méthode d'étude des biopolymères de la paroi pollinique à structure quasi-cristalloïde. - *Revue de Micropaléontologia* 32: 3, 226-234, Paris.
- KEDVES, M. (1989b): Quasi-crystalloid biopolymer structure of the sporoderm and its highly organized degrees. - *Acta Biol. Szeged* 35, 59-70.
- KEDVES, M. (in press): Quasi-crystalloid biopolymer structures from the explosive dangerous coal pulver from Hungary (a preliminary report). - *Ann. Univ. Sci. Budap. Rolando Eötvös Nominatae*.
- KEDVES, M. és KINCSEK, I. (1989): Quasi-crystalloid biopolymer organization of the fossil spore and pollen wall. - II. European Palaeobot. Conf., Madrid, abstr., 16.
- KEDVES, M. and ROJIK, I. (1989): Investigation of the biopolymer organization of partially degraded exines with the fragmentation method. - *Acta Biol. Szeged* 35, 71-80.
- KEDVES, M., STANLEY, E. A. and ROJIK, I. (1974): Observations nouvelles sur l'ectexine des pollens fossiles des Angiospermes de l'Eccène inférieur. - *Pollen et Spores* 26, 425-437.

- KEDVES, M. and SZEDERKÉNYI, T. (1988): Transmission electron microscopical investigation of xylem remains transporting radioactive elements in the mud of Lake Vadkert. - Acta Biol. Szeged 34, 71-81.
- KEDVES, M. and WINTER, J. (1988): Higher organized spoderm biopolymer units of Equisetum arvense L. - Acta Bot. Hung. 34: 3-4, 361-374.
- MANSKAYA, S. M., KODINA, L. A. and GENERALOVA, V. N. (1973): Chemical investigation of pollen and spore walls. - Palynology in Medicine, 71-75 (Russian).
- POTONIÉ, R. and REHNELT, K. (1971): On the aromatisation of sporin of carboniferous Lycopside. In: Brooks, J., Grant, P. R., Muir, M., van Gijzel, P. and Shaw, G.: Sporopollenin. Academic Press, London, New York, 130-173.
- RITTSCHER, M., GUBATZ, S. and WIERMANN, R. (1987): Phenylalanin a precursor of sporopollenin in Tulipa co. Apeldoorn. - XIV. Internat. Bot. Congr., Berlin (West), Germany, abstr. 51.
- ROWLEY, J. R. (1971): Implications on the nature of sporopollenin based upon pollen development. In: Brooks, J., Grant, P. R., Muir, M., van Gijzel, P. and Shaw, G.: Sporopollenin. Academic Press, London, New York, 174-219.
- ROWLEY, J. R. (1975): Lipopolysaccharide embedded within the exine of pollen grains. - 33rd Ann. Procc. Electron Microscopy Soc. Amer., Las Vegas, Nevada, 572-573.
- SCHULZE OSTHOFF, K. and WIERMANN, R. (1987): Phenolics - important constituents of sporopollenin from Pinus pollen. - XIV. Internat. Bot. Congr., Berlin (West), Germany, abstr. 52.
- SHAW, G. and YEADON, A. (1964): Chemical studies on the constitution of some pollen and spore membrane. - Grana Palynol. 5, 247-252.
- SOUTHWORTH, D. (1966): Exine structure in pollen extracted with 2-aminoethanol. - Palynology 10, 258-259.
- SZIRTES, L. (1969): A gázkitöréssel foglalkozó IV. Nemzetközi Kollokvium tanulságai. - Bányászat 102, 73-79.

- TOMSOVIC, P. (1960): Bemerkungen zum Feinbau des Sporoderms und seiner Terminologie. - Preslia 32, 163-173.
- TRAVERSE, A. (1968): What is sporopollenin? - Amer. J. Bot. 55, 722.
- ZETZSCHE, F. and KALIN, O. (1931): Untersuchungen über die Membran der Sporen und Pollen. V. 4. Zur Autooxydation der Sporopollenine. - Helv. Chim. Acta 14, 517-519.