Ultrastructure et nature chimique des fossiles du plus ancien bois au monde

Résumé Les niveaux géologiques du Dévonien inférieur contenant des plantes fossiles sont relativement rares au monde. Un de ces niveaux se trouve dans le Massif armoricain (Ouest de la France). Il renferme *Armoricaphyton chateaupannense*, datant de 407 millions d'années, qui est la plus ancienne plante ligneuse au monde. Les méthodes traditionnelles de paléobotanique et la microtomographie à rayonnement X synchrotron en contraste de phase de propagation (PPC-SRµCT) ont été utilisées pour étudier l'ultrastructure du bois et pour évaluer ses propriétés hydrauliques. La microspectroscopie d'absorption X par rayonnement synchrotron (STXM-XANES) a permis de caractériser la nature chimique de la matière organique résiduelle des fossiles préservés en 2D et en 3D. Ces études ont montré que la rigidité chez les premières plantes ligneuses aurait été acquise par la mise en place d'un bois de faible densité et que la matière organique résiduelle des fossiles du bois a une composition chimique plutôt caractéristique de composés pyrobitumineux.

Mots-clés Bois, lignine, Dévonien, microtomographie synchrotron aux rayons X à contraste de phase (PPC-SRµCT), microscopie synchrotron à balayage à rayons X faibles (STXM), spectroscopie XANES.

Abstract Ultrastructure and chemical composition of the fossils of the world's oldest wood

Lower Devonian plant bearing deposits are relatively rare in the world. One of these deposits occurs in the Armorican Massif (West of France). It bears the 407 million-years-old plant, *Armoricaphyton chateaupannense*, which is the world's oldest woody plant. Palaeobotanical methods and propagation phase contrast X-ray synchrotron microtomography (PPC-SRµCT) were used to document the ultrastructure of the wood and to evaluate its hydraulics properties. Data obtained using scanning transmission electron microscopy and synchrotron-based scanning transmission X-ray microscopy coupled with X-ray absorption near edge structure spectroscopy (STXM-XANES) provided information on the chemical composition of the remaining organic matter of the fossils preserved in 2D and 3D. These studies showed that axis rigidity in the earliest woody plants initially evolved through the development of low-density woods and that the remaining organic matter has a chemical composition rather typical of pyrobitumen compounds.

Keywords Wood, lignin, Devonian, propagation phase contrast synchrotron X-ray microtomography (PPC-SRµCT), synchrotron-based scanning transmission X-ray microscopy (STXM), XANES spectroscopy.

a Terre s'est formée il y a environ 4,6 milliards d'années et la vie est apparue environ un milliard d'années plus tard. Les bactéries, dominent la Terre au cours de la plus grande partie du Précambrien (3,8 milliards à 538 millions d'années). Parmi elles, les cyanobactéries ont la particularité de réaliser un type de photosynthèse complexe, qui produit de l'oxygène. Il y a environ 2,4 milliards d'années ces cyanobactéries ont initié « la grande oxygénation de l'atmosphère ». Eoentophysalis belcherensis est le plus ancien fossile de cyanobactéries reconnu avec certitude. Il date de 1,89-1,84 milliards d'années [1]. Au cours du temps, la photosynthèse oxygénique s'est ensuite répandue dans certains clades eucaryotes, donnant naissance à divers types d'algues et plus tard aux plantes. Cette importante avancée évolutive a pu se réaliser grâce à une endosymbiose (internalisation d'un organisme dans un autre) primaire entre une cyanobactérie et une cellule eucaryote, suivie d'autres évènements endosymbiotiques.

Entre 800 et 500 millions d'importants changements se produisent dont le fractionnement d'un supercontinent (le supercontinent Rodinia il y a environ 750 millions d'années), au moins deux glaciations (il y a 750 et 600 millions d'années) et une diversification majeure des eucaryotes (vers 650 millions d'années), conduisant à l'explosion cambrienne où la vie animale a rempli les mers (entre 541 et 485 millions d'années) [2]. Un évènement, tout aussi important, est la colonisation de la surface terrestre. La lignée des plantes terrestres (embryophytes) s'est individualisée au sein d'organismes photosynthétiques aquatiques. Les études phylogénétiques privilégient une origine unique à partir d'algues vertes d'eau douce [3]. Les datations moléculaires proposent un intervalle 510-480 millions d'années pour l'émergence des plantes terrestres [4].

Les premières plantes terrestres

Des spores retrouvées dans des sédiments australiens, attribuées à des plantes terrestres, attesteraient de leur existence il y a environ 480 millions d'années, mais il pourrait s'agir de spores d'algues [5]. Des cryptospores (spores de plantes non vasculaires, de type mousses) et des restes fragmentaires de plantes trouvés dans des sédiments continentaux prouvent leur existence vers 470 Ma [6, 7]. À la fin de l'Ordovicien (450 Ma), la présence de nouveaux types de spores montre que les plantes vasculaires (les plantes pourvues d'éléments conducteurs, les trachéides) ont commencé à se développer. Les macro-restes sont présents dans le registre fossile à partir du milieu du Silurien. Cooksonia barrandei, formée d'axes nus dichotomiques et dont la partie terminale est constituée par un sporange, représente la plus ancienne plante vasculaire connue [8]. Les plantes vont se diversifier durant le Dévonien (419-358 millions d'années), période qualifiée « d'âge d'or » pour leur évolution.

Pour coloniser le milieu terrestre, les premières plantes ont développé des structures leur permettant de survivre hors de l'eau. Elles ont mis en place une cuticule, sorte de revêtement



Figure 1 - Principaux types de trachéides chez les premières plantes terrestres. *Rhynia gwynne-vaughanii* [9], trachéides de type S. *Asteroxylon mackiei* [10], trachéides de type G. *Psilophyton dawsonii* [9], trachéides de type P (pour chaque type : à gauche, section longitudinale médiane, à droite, détails des parois). Images utilisées avec permission, d'après [11], Fig. 3 modifiée.

cireux étanche, des éléments de conduction, les trachéides, constituant le xylème, et des spores pour leur dispersion. Au début, elles ne possèdent ni feuilles, ni racines. Les trachéides sont caractérisées par la présence d'épaississements au niveau de la paroi secondaire des cellules. Trois types principaux ont été décrits chez les plantes du Dévonien [9] (*figure 1*) :

- Des trachéides de type G montrant des épaississements en hélice et un intérieur spongieux.

- Des trachéides de type S présentant des épaississements annelés ou en hélice, avec parfois des connexions croisées.

- Des trachéides de type P montrant des ponctuations aréolées, majoritairement scalariformes et une fine membrane perforée additionnelle.

Le plus ancien bois

Le Massif armoricain renferme des roches du Dévonien inférieur (419-393 Ma), contenant des plantes ; celles provenant de la carrière de Châteaupanne à Montjean-sur-Loire (Maine-et-Loire) ont été datées grâce à une étude palynologique. Un âge fiable a été donné grâce aux spores contenues dans la roche. La présence de *Dibolisporites wetteldorfensis* – le composant majeur – les caractéristiques de l'assemblage (forme et taille des spores) et l'absence de spores caractéristiques d'intervalles plus jeunes ont permis de donner à l'assemblage (et donc à la roche) un âge de 407 millions d'années. C'est aussi l'âge de la plante qu'elle renferme [12]. Cette plante a été récoltée sous forme de compressions/impressions charbonneuses (préservation en 2D) et sous forme de fragments pyritisés préservés en volume (préservation en 3D) (*figures 2A, D*). Ces deux types de préservation ont permis de faire des études anatomiques et des études chimiques des fossiles de la plante qui a été nommée *Armoricaphyton chateaupannense* [13].

Étude anatomique

Armoricaphyton chateaupannense a d'abord été étudiée par les techniques classiques utilisées en paléobotanique. Les compressions ont permis de montrer les ramifications des axes (*figure 2A*) ; leur diamètre varie entre 1 mm et 2.5 mm et leur longueur maximale est de 15 cm. Ces axes présentent une striation longitudinale. Des sporanges, trouvés à proximité des axes ont une longueur d'environ 6 mm (*figure 2B*) ; ils sont enroulés et disposés par paires et ressemblent à ceux de *Psilophyton* spp.

Des morceaux de roches contenant des fragments d'axes pyritisés ont été inclus dans une résine polyester (GTS) à laquelle ont été ajoutées quelques gouttes de durcisseur. Après durcissement, des sections de 1 à 1,5 mm d'épaisseur ont été réalisées en série à l'aide d'un microscie diamantée. Chaque section a ensuite été collée sur une lame de verre avec de la résine époxy et leur épaisseur a été réduite par polissage. Pour réduire l'opacité des structures pyritisées, les lames ont été plongées dans une succession d'acides et de bases. Les observations ont été réalisées en microscopie. En section transversale, la plante montre un cylindre central important avec une partie centrale de forme ronde à allongée, entourée de trachéides disposées au hasard, eux-mêmes entourées par des trachéides alignées radialement (figure 2C). La partie centrale peut ne pas être préservée et les trachéides alignées occupent la plus grande surface de l'axe (figure 2E).



Figure 2 - Armoricaphyton chateaupannense. A : compressions/adpressions carbonacées. B : Sporanges enroulés et disposés par paires. C, E : Coupes transervales d'axes pyritisés observées sous loupe. D : Axe pyritisé préservé en volume observé en microscopie électronique à balayage. Barres d'échelle : A = 9 mm, B = 2,2 mm, C = 14 µm, D = 1mm, E = 300 µm. Images utilisées avec permission, B et D d'après [12]; A et E d'après [18].

Pour aller plus loin dans l'étude anatomique, une méthode d'investigation novatrice pour la paléobotanique à l'époque (en 2008) a été utilisée, à savoir l'analyse d'un échantillon en microtomographie à rayonnement X synchrotron, en contraste de phase de propagation. Cette étude a été faite sur un fragment d'axe pyritisé à l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) de Grenoble, sur la ligne de lumière ID19. L'utilisation d'un synchrotron et de l'imagerie de phase permettent de descendre à des résolutions spatiales très fines et à une sensibilité bien supérieure à ce que peuvent fournir les machines conventionnelles sur ce type de spécimens. L'échantillon a été scanné avec une taille de pixel de 0.55 µm en utilisant un faisceau monochromatique, à une énergie de 30 keV avec 20 mm de propagation entre l'échantillon et le détecteur. Ce type de tomographie est basé sur une série de 4000 radiographies en contraste de phase prises pendant la rotation de l'échantillon sur 360 degrés. Un algorithme de reconstruction est ensuite utilisé pour générer un volume 3D sous la forme d'une pile de coupes virtuelles séparées de 055 µm (voxel isotrope) (figure 3A). Le volume a ensuite été segmenté afin de générer les vues 3D et coupes histologiques 3D virtuelles (figures 3B-H).

En coupe transversale, en plusieurs endroits, les files de trachéides alignées se dédoublent en deux rangées (dédoublement) (figures 3B, C). En sections transversale et longitudinale radiale des espaces vides sont présents parmi ces files de trachéides alignées, ce n'est pas le cas au niveau des trachéides disposées au hasard. Ces espaces représentent les rayons ligneux (figures 3D, E). Le cylindre vasculaire est entouré d'une étroite zone où les cellules ne sont pas préservées et qui pourrait correspondre aux restes de l'assise cambiale. Les trachéides montrent quatre côtés et des parois épaisses (figure 3H). Elles ont un diamètre qui varie de 10 à 50 µm. Les ponctuations sont essentiellement scalariformes et de fines couches, perforées de trous circulaires et fermant les ponctuations, sont présentes; ce sont des trachéides de type P (voir ci-dessus) et (figures 3F-H).

Sur la base de la présence de dédoublements et de rayons parmi les trachéides alignées, le tissu vasculaire de la plante de Châteaupanne est interprété comme un type primitif de bois. Il s'agit du plus ancien bois connu à ce jour [13-15]. D'autres bois ont été trouvés au Canada [15, 16] ; ils datent de 400-395 millions d'années. L'utilisation de la technologie synchrotron a permis la visualisation de la structure anatomique des trachéides avec des détails des parois jamais atteints précédemment, révélant une structure similaire à celle des cellules lignifiées actuelles.

Étude des propriétés conductrices du bois. Pour évaluer les performances conductrices du bois, une étude a été réalisée sur une coupe histologique virtuelle obtenue à partir de la segmentation du volume acquis par microtomographie synchrotron [13]. Elle a permis de cartographier les dimensions cellulaires des trachéides. Les paramètres géométriques (zone, diamètre, périmètre) de chaque trachéide ont ainsi été mesurés pour évaluer la conductivité hydraulique individuelle ; au total 319 trachéides ont été isolées et mesurées. La modélisation des capacités hydrauliques d'A. chateaupannense a démontré une conductivité hydraulique individuelle de valeur élevée, pouvant être attribuée aux nombreuses trachéides de grand diamètre. Ces trachéides ont une conductivité plutôt typique de celle des vaisseaux de certaines angiospermes [17]. Qualitativement cependant la structure hydraulique d'A. chateaupannense ressemble davantage à celle



Figure 3 - Ultrastructure du bois d'Armoricaphyton chateaupannense. A : Modélisation 3D d'un axe pyritisé. B : Coupe histologique transversale 3D virtuelle. C : Détail de B : L'astérisque montre le dédoublement et la flèche le rayon. D : Segmentation du volume pour retirer la pyrite. Le xylème (astérisque) apparait en coupe longitudinale radiale. E : Détail de D montrant un rayon (flèche). F-H : Trachéide de type P. Barres d'échelle : B = 0, 3 mm ; D = 150 µm ; C, E, F, G = 50 µm ; H = 25 µm). Images A à E utilisées avec permission d'après [13] ; F à H, d'après [18].

du bois jeune de gymnospermes actuelles, excepté le fait que les trachéides du bois fossile (type P) ont des lumens plus larges et des parois plus fines que celles des trachéides des bois actuels [13].

Cette étude a montré que le bois fossile possède une haute performance conductrice mais une faible résistance à la tension hydraulique ; c'est un bois de faible densité.

Étude chimique

Une étude sur la nature chimique de ce bois fossile a été entreprise dans le but de rechercher la présence de lignine, qui est l'un des constituant principaux du bois actuel [18]. Des lames ultraminces (20 µm x 5 µm x 80 nm) ont été extraites des échantillons préservés en 2D et 3D à l'aide d'un FIB (Focused

Ion Beam: faisceau d'ions focalisés permettant un microusinage de l'échantillon) à l'Institut de Physique du Globe de Paris. Les observations en microscopie électronique en transmission en mode balayage (STEM) ont été réalisées à l'Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (Paris).

La composition des éléments chimiques a été obtenue par spectroscopie des rayons X à dispersion d'énergie (EDXS). La matrice rocheuse qui entoure les spécimens fossiles comprend principalement, à l'échelle submicrométrique, des aluminosilicates riches en fer et en potassium, localement concentrés sous forme de veines (*figure 4*). Du quartz (SiO₂), du rutile ou de l'anastase (TiO₂) et des phosphates d'aluminium contenant des traces de cérium sont aussi présents (figure 4).



Figure 4 - Composition de la matrice minérale contenant les fossiles d'Armoricaphyton chateaupannense, qu'ils soient préservés en 2D ou 3D. Image STEM de la matrice minérale et cartes EDXS correspondantes montrant la distribution spatiale du silicium, de l'aluminium, du fer, du phosphore et du titane. Spectres EDX des oxides de titane, silicates de fer, silicates de potassium, phosphates d'aluminium et quartz.



Figure 5 - A : Spectres C-XANES du carbone organique des specimens fossiles d'*Armoricaphyton chateaupannense* préservés en 3D (rouge) et 2D (bleu), spectres C-XANES du pyrobitume et de la lignine montrés à titre de comparaison. B : Image STEM en haute résolution du carbone organique (noir) du spécimen préservé en 3D et nanominéraux de titane (gris) ; échelle = 200 nm. Image avec informations en français, d'après [18], figures 4A, B.

De la pyrite est présente en grande quantité dans le spécimen préservé en 3D. Les deux spécimens présentent un composant organique.

La microspectroscopie d'absorption X par rayonnement synchrotron (STXM-XANES) a été utilisée pour caractériser la nature chimique de la matière organique résiduelle des deux types de spécimens fossiles. Les données XANES ont été collectées sur la ligne de lumière 10ID-1 du synchrotron CLS (Canadian Light Source) et sur la ligne HERMES du synchrotron SOLEIL. Des données hyperspectrales ont été collectées au seuil du carbone (270–350 eV) avec une résolution spatiale de 20 nm et une résolution spectrale de 100 meV. Le temps d'exposition a été fixé à moins d'une milliseconde par énergie et par pixel pour éviter tout dommage d'irradiation. Les résultats ont montré que la spéciation des molécules organiques était la même dans les deux types de spécimens (*figure 5A*). Le spectre XANES du carbone organique montre un pic d'absorption relativement large à environ 285 eV, indiquant la présence de carbones aromatique ou oléfinique, un pic à 286.3 eV pouvant être attribué à des liaisons carbone-oxygène ou carbone-soufre, et un pic à c. 288.5 eV, correspondant probablement à la présence de groupements esters ou carboxyliques [19]. Un épaulement supplémentaire à 287.3 eV pouvant être attribué à la présence de phénols ou de cétones a été observé chez le spécimen préservé en 3D. Toutes ces caractéristiques sont typiques des pyrobitumes (résidus solides de craquage thermique de composés organiques solubles).

La présence de nanominéraux de titane a été observée au sein des composés organiques dans les deux types d'échantillons (*figure 5B*). Ceci a été rapporté chez d'autres plantes fossiles et interprété comme une caractéristique diagénétique. Dans le cas présent, la forme en aiguilles, des nanominéraux, leur distribution et l'absence de processus d'altération soutiennent l'hypothèse d'un développement authigénique (formé sur place, *in situ*) plutôt qu'une origine détritique. La biodégradation des tissus organiques enfouis dans le sédiment a probablement produit des acides organiques qui ont permis la solubilisation du titane et le transport sous la forme de complexes organiques. Ces complexes, piégés au sein des trachéides, ont ensuite produit les pyrobitumes et les nanominéraux de titane au cours de leur craquage thermique.

La composition chimique de la matière organique résiduelle des fossiles ne permet donc pas de prouver que le bois contenait de la lignine, mais l'absence initiale de lignine n'est pas non plus démontrée. Les phénols de la lignine se dégradent en alkylbenzènes, qui servent aussi à identifier les composants bitumineux [20]. L'étude d'autres bois de cette période serait intéressante à réaliser pour comparer leur nature chimique à celle du bois d'*Armoricaphyton chateaupannense*.

Les auteurs remercient Paul Tafforeau (Synchrotron, Grenoble), Alan RT Spencer (Imperial College, Londres), Paul Kenrick (Natural History Museum, Londres), Hervé Cochard et Eric Badel (INRAe Clermont-Ferrand, France), Laurent Remusat (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris) pour leur collaboration à ces études. Ils remercient également le journal Palaeontology pour la permission de traduire en français une partie de l'article Strullu-Derrien et al., 2019.

[1] H.J. Hofmann, Precambrian Microflora, Belcher Islands, Canada: Significance and Systematics, *J. Paleontol.*, **1976**, *5*, p. 1040-1073.

[2] D.H. Erwin, J.W. Valentine, The Cambrian Explosion: the construction of animal biodiversity, Roberts & Company Publishers, Greenwood Village, **2013**.

[3] A.M.C. Bowles, C.J. Williamson, T.A. Williams, T.M. Lenton, P.C.J. Donoghue, The origin and early evolution of plants, *Trends in Plant Science*, **2023**, *28*(*3*), p. 312-329.

[4] J.L. Morris, M.N. Puttick, J.W. Clark, D. Edwards, P. Kenrick *et al.*, The timescale of early land plant evolution, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, **2018**, *115(10)*, p. E2274-E2283.

[5] P.K. Strother, C. Foster, A fossil record of land plant origins from charophyte algae, *Science*, **2021**, *373*(6556), p. 792-796.

[6] C.H. Wellman, J. Gray, The Microfossil Record of Early Land Plants, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, **2000**, *355*, p. 717-732.

[7] C.V. Rubinstein, P. Gerrienne, G.S. de la Puente, R.A. Astini, P. Steemans, Early Middle Ordovician evidence for land plants in Argentina (eastern Gondwana), *New Phytologist*, **2010**, *188*, p. 365-369.

[8] M. Libertín, J. Kvaček, J. Bek *et al.*, Sporophytes of polysporangiate land plants from the early Silurian period may have been photosynthetically autonomous, *Nature Plants*, **2018**, *4*, p. 269-271.

[9] P. Kenrick, P.R. Crane, The origin and early diversification of land plants: a cladistic study. Smithsonian Institution Press, Washington & London, **1997**.

[10] R. Kidston, W.H. Lang, On old red sandstone plants showing structure, from the rhynie chert bed, aberdeenshire Part III *Asteroxylon Mackiei*, Kidston and Lang, *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, **1920**, *52*, p. 643-680.

[11] C. Strullu-Derrien, P. Kenrick, E. Badel, H. Cochard, P. Tafforeau, An overview of the hydraulic systems in early land plants, *IAWA Journal*, **2013**, *34*(*4*), p. 333-351.

[12] C. Strullu-Derrien, C. Ducassou, M. Ballèvre, M.P. Dabard, P. Gerrienne, H. Lardeux, A. Le Hérissé, C. Robin, P. Steemans, D.G. Strullu, The early land plants from the Armorican Massif: sedimentological and palynological considerations on age and environment, *Geological Magazine*, **2010**, *147*(6), p. 830-843.

[13] C. Strullu-Derrien, P. Kenrick, P. Tafforeau, H. Cochard, J.L. Bonnemain, A. Le Hérissé, H. Lardeux, E. Badel, The earliest wood and its hydraulic properties documented in ca 407 million year-old fossils using synchrotron microtomography, *Botanical Journal of the Linnean Society*, **2014**, *175*, p. 423-437.

[14] C. Strullu-Derrien, Recherches sur la colonisation du milieu terrestre par les plantes au cours du Dévonien inférieur et sur les interactions plantes/microorganismes durant les périodes Dévonien-Carbonifère, PhD Thesis, Université d'Angers, France, **2010**.

[15] P. Gerrienne, P. Gensel, C. Strullu-Derrien, H. Lardeux, P. Steemans, C. Prestiani, A simple type of wood in two Early Devonian plants, *Science*, **2011**, *333(6044)*, p. 837.

[16] L.A. Hoffman, M.F. Tomescu, An early origin of second- ary growth: Franhueberia gerriennei gen. et sp. nov. from the Lower Devonian of Gaspé (Quebec, Canada), *American Journal of Botany*, **2013**, *100*, p. 754-763.

[17] J.S. Sperry, U.G. Hacke, J. Pittermann, Size and Function in Conifer Tracheids and Angiosperm Vessels, *American Journal of Botany*, **2006**, *93*, p. 1490-1500.

[18] C. Strullu-Derrien, S. Bernard, A.R.T. Spencer, L. Remusat, P. Kenrick, D. Derrien, On the structure and chemistry of fossils of the earliest woody plant, *Palaeontology*, **2019**, *62(6)*, p. 1015-1026.

[19] C. Le Guillou, S. Bernard, F. De La Pena, Y. Le Brech, XANES-based quantification of carbon functional group concentrations, *Anal. Chem.*, **2018**, *90*, p. 8379-8386.

[20] C.H. Vane, G.D. Abbott, Proxies for land plant biomass: closed system pyrolysis of some methoxyphenols, *Geochemistry*, **1999**, *30*(*12*), p. 1535-1541.

Christine STRULLU-DERRIEN^{1,2*}, Delphine DERRIEN³, Sylvain BERNARD⁴.

¹Science Group, The Natural History Museum, London, United Kingdom.

²Institut Systématique Évolution Biodiversité, UMR 7205, Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, 57 rue Cuvier, 75005 Paris.

³Biogéochimie des Écosystèmes Forestiers, INRAE Nancy Grand Est, 54280 Champenoux.

⁴Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie, UMR 7590, Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, 61 rue Buffon, 75005 Paris.

*c.strullu-derrien@nhm.ac.uk



Les Journées d'Électrochimie 2024

17

Saint-Malo, France, Palais du Grand Large

Du 1er au 5 juillet 2024

https://je2024.sciencesconf.org

