



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

SCIENCE @ DIRECT®

C. R. Palevol 4 (2005) 67–77



<http://france.elsevier.com/direct/PALEVO/>

Palaeoclimatology (Palaeobotany)

## Xeromorphic adaptations of some Mesozoic gymnosperms. A review with palaeoclimatological implications

Frédéric Thévenard <sup>a,\*</sup>, Bernard Gomez <sup>b</sup>, Véronique Daviero-Gomez <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Paléobotanique et UMR 5125, université Lyon-1, 7, rue Dubois, 69622 Villeurbanne cedex, France

<sup>b</sup> Géosciences Rennes, UMR CNRS 6118, université Rennes-1, campus de Beaulieu, bât. 15, 263, avenue du Général-Leclerc, 35042 Rennes cedex, France

Received 27 July 2004; accepted 9 November 2004

Available online 30 December 2004

Written on invitation of the Editorial Board

### Abstract

Plant cuticles have proved to be a high-resolution proxy of palaeo- $p_{CO_2}$  variation. Mesozoic gymnosperms, however, show a wider range of xeromorphic adaptations than their living relatives, and these may explain stomatal density/stomatal index differences between taxa within the same fossil assemblage. Four main adaptive responses to water loss are pointed out: reduction of solar radiation, reduction of drought-air circulation, reduction of evapotranspiration, and trapping of surface external water. In conclusion, we recommend supplementing quantitative estimates of stomatal density and index by qualitative observations of cuticular adaptive macro- and microstructures. **To cite this article:** F. Thévenard *et al.*, *C. R. Palevol* 4 (2005).

© 2004 Académie des sciences. Published by Elsevier SAS. All rights reserved.

### Résumé

**Adaptations xéromorphes chez des Gymnospermes du Mésozoïque. Une revue avec des implications paléoclimatiques.** La cuticule des plantes s'est révélée être un *proxy* à haute résolution des paléo-variations de la  $p_{CO_2}$ . Toutefois, la gamme des adaptations xéromorphes est plus large chez les Gymnospermes mésozoïques que chez leurs représentants actuels et ceci pourrait expliquer les différences de DS et IS entre les différents taxa d'un même assemblage fossile. Quatre principales réponses adaptatives aux pertes hydriques sont connues : réduction du rayonnement solaire, des circulations d'air asséchantes, de l'évapotranspiration et piégeage de l'eau de surface. Nous suggérons de compléter les mesures de la densité et de l'indice stomatique par des observations qualitatives des adaptations des microstructures cuticulaires. **Pour citer cet article :** F. Thévenard *et al.*, *C. R. Palevol* 4 (2005).

© 2004 Académie des sciences. Published by Elsevier SAS. All rights reserved.

\* Corresponding author.

E-mail address: [thevenar@univ-lyon1.fr](mailto:thevenar@univ-lyon1.fr) (F. Thévenard).

*Keywords:* Cuticles; Gymnosperms; Mesozoic; Adaptations; Palaeoclimatology

*Mots clés :* Cuticules ; Gymnospermes ; Mésozoïque ; Adaptations ; Paléoclimatologie

## Version française abrégée

### Introduction

Les plantes, et plus particulièrement les feuilles, sont en équilibre étroit avec les environnements dans lesquels elles se développent. Elles répondent morphologiquement, anatomiquement et physiologiquement à des conditions atmosphériques, climatiques édaphiques et altitudinales particulières [18,24] ou à des variations catastrophiques [1]. De plus, les plantes terrestres sont fortement tributaires de leur milieu de vie, en raison de leur nature sédentaire [7]. Pour toutes ces raisons, les paléobotanistes ont depuis longtemps essayé d'interpréter les paléoenvironnements à partir des plantes fossiles (par exemple, [32]), soit quantitativement, soit qualitativement.

La cuticule des feuilles fossiles (secrétée par les cellules épidermiques et stomatiques), ainsi que les adaptations stomatiques et les mesures de densité stomatique (DS, nombre d'appareils stomatiques par unité de surface) et d'indice stomatique (IS, proportion d'appareils stomatiques, exprimée en pourcentage de cellules épidermiques), paraissent être un *proxy* à haute résolution permettant d'évaluer les changements de concentrations de CO<sub>2</sub> atmosphérique au cours des temps géologiques [38]. Durant la dernière décennie, les travaux à ce sujet se sont renforcés, en relation avec les prévisions de réchauffement global résultant d'un accroissement de l'effet de serre (voir revue par [28]). Cependant, toutes ces analyses considèrent la cuticule comme une couche homogène et l'appareil stomatique comme un simple pore. En réalité, de nombreuses adaptations macro- et micromorphologiques existent à l'échelle de la feuille, de la cuticule des cellules épidermiques et stomatiques et de la configuration de l'appareil stomatique.

Dans le but d'améliorer la connaissance des causes de variations de DS/IS des cuticules collectées au sein d'un même assemblage floristique fossile et d'encourager les recherches pour affiner les méthodes utilisant des *proxies* stomatiques pour les analyses climatiques du passé, nous passons ici en revue la diversité des

caractères xéromorphes des cuticules de Gymnospermes du Mésozoïque.

### *Adaptations de la cuticule des cellules épidermiques et stomatiques contre la dessiccation*

Durant la différenciation cellulaire, l'épiderme au sens large (constitué des cellules épidermiques et des cellules stomatiques, ces dernières elles-mêmes séparées en cellules subsidiaires et cellules de garde) sécrète sur sa face en contact avec le milieu environnant, généralement l'atmosphère, un revêtement contenant des dérivés lipidiques hydrophobes, appelé cuticule. En particulier, les cires épicuticulaires forment une multitude de projections cristallines et amorphes, qui imperméabilisent plus ou moins la surface externe, en fonction de leur épaisseur. L'épaisseur des cuticules actuelles est constituée par un réseau de cutine, associé à des strates de cires. La cutine est essentiellement composée de polyesters hydroxyacides associés à des polysaccharides, de constituants typiques des cires (acides gras, alcools), et de composés phénoliques [19,26]. En atmosphère humide, la cuticule est hydratée, le réseau de cutine et de cires est lâche, et la diffusion de vapeur d'eau est possible [6]. En revanche, sous atmosphère sèche, le réseau de cutine se resserre, la cuticule devient imperméable et forme une barrière efficace contre les pertes hydriques. Les échanges gazeux entre la plante et le milieu extérieur sont effectués essentiellement au niveau des appareils stomatiques [15,32] et la cuticule des cellules épidermiques ne joue qu'un rôle modéré dans ces échanges [11].

Les plantes transpirent de la vapeur d'eau, ce qui accompagne l'entrée de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dans le mésophylle au travers des appareils stomatiques. Cependant, les plantes doivent ajuster leur efficacité à utiliser l'eau (E.U.E., c'est-à-dire le nombre de molécules de dioxyde de carbone acquis de l'atmosphère par unité de molécules d'eau transpirées par unité de temps) pour prévenir la déshydratation. Pour certains végétaux adaptés à la sécheresse (xérophytes), des particularités ultrastructurales ont été notées, comme par exemple la présence de canalicules permettant la circulation des précurseurs des cires [23].

### Facteurs prépondérants dans le développement des caractères xéromorphes des végétaux

Certains facteurs xériques suggèrent des conditions extrêmes de sécheresse, mais n'impliquent pas forcément des températures élevées. Parce que la sécheresse correspond à un manque d'eau disponible pour la plante, elle peut donc résulter de plusieurs causes :

- des températures élevées augmentent l'évapotranspiration, en particulier à travers les appareils stomatiques ;
- une forte irradiation élève la température foliaire (par exemple, [17,25]) ;
- les circulations d'air à la surface des feuilles amplifient les pertes hydriques ;
- des températures basses, inférieures à 0 °C, transforment l'eau en glace solide, non assimilable par les plantes ;
- une eau sursaturée en sels empêche l'osmose et rend difficile l'absorption de l'eau externe par la plante ;
- des conditions édaphiques (par exemple, sols très drainants) ou topographiques (par exemple, pente abrupte) créent des environnements localement secs, même si les précipitations sont abondantes.

### Adaptations xéromorphiques des Gymnospermes mésozoïques (Figs. 1–15)

Les caractères adaptatifs macro- et micromorphologiques observés pour les Gymnospermes du Mésozoïque sont résumés sur la Fig. 16 et Tableau 1.

Le rayonnement solaire est principalement réduit par les adaptations foliaires. Il s'agit essentiellement de la forme losangique, en écailles se chevauchant et se protégeant plus ou moins partiellement les unes les autres (Fig. 2), de l'angle d'insertion foliaire aigu plaquant les feuilles le long de l'axe (Figs. 1–3) et offrant ainsi moins de surface au rayonnement solaire. Les feuilles ne reçoivent plus les rayons solaires orthogonalement, mais de manière tangentielle, ce qui limite leur pouvoir asséchant. En revanche, les circulations d'air sont surtout limitées par les poils (Figs. 8–9), les papilles (Fig. 6), les dépressions au niveau des murs anticlinaux (Fig. 7), les arrangements spatiaux des appareils stomatiques qui créent des environnements confinés (Figs. 9–11), ou encore la présence d'une marge révo-lute (Fig. 4). Les configurations morphologiques particulières des appareils stomatiques, comme la présence

de bourrelets (Figs. 12–13, 15), de papilles (un niveau – Fig. 13 – ou deux niveaux interne et externe – Fig. 14) sur les cellules subsidiaires, les cellules de garde plus ou moins enfoncées, vont essentiellement jouer un rôle dans la limitation de l'évapotranspiration stomatique. De plus, l'épaississement de la cuticule limite plus ou moins l'évapotranspiration cuticulaire (Fig. 5).

### Discussion

Les conifères fossiles, comme les actuels, montrent plusieurs combinaisons des caractères listés dans le Tableau 1. Chez les conifères, les feuilles s'étendent longitudinalement à partir d'un centre de croissance unique situé à la base de la feuille [8]. Les cellules épidermiques se positionnent en files longitudinales, avec les cellules apicales de la feuille atteignant leur maturité les premières. Les appareils stomatiques sont différenciés très tôt dans le développement foliaire. Ils se développent en rangées longitudinales durant la croissance foliaire et deviennent matures lorsque la feuille atteint 10–60% de sa taille finale [8,35]. Par exemple, les cellules de garde de *Pseudotsuga menziesii* ne deviennent pas apparentes avant que la feuille ait atteint les deux tiers de sa taille finale [27]. Quand les cellules à l'origine des appareils stomatiques se forment en files spécifiques, les cellules épidermiques des files adjacentes se divisent asymétriquement pour produire des cellules subsidiaires, qui se disposent directement autour des cellules précurseurs stomatiques [9,22]. Chez de nombreuses espèces de conifères, les cellules épidermiques continuent à se diviser un certain nombre de fois, ce nombre fixe de divisions du « complexe stomato-épidermique » étant caractéristique de l'espèce [36]. Chaque complexe peut contenir entre 4 et 12 cellules épidermiques, selon l'espèce [10]. Des facteurs tels que le rayonnement solaire [12,31], l'humidité [30], et la  $p_{CO_2}$  [2,4,37,39] contrôleraient l'initiation des appareils stomatiques. Un gène de contrôle du développement stomatique,  $CO_2$ -dépendant, a récemment été identifié chez *Arabidopsis thaliana* [16]. Cependant, il resterait encore à démontrer si ce gène intervient dans le contrôle des microstructures très complexes des Gymnospermes xéromorphes.

Différentes études tendent à montrer que les caractères adaptatifs et xéromorphes sont impliqués dans les relations structure–fonction de nombreuses plantes mésozoïques (par exemple, [13,14,33,40]). En consé-

quence, les adaptations cuticulaires particulières permettent de définir qualitativement les conditions paléoenvironnementales sous lesquelles les plantes fossiles poussaient. Lorsque les restes de plantes fossiles provenant d'un même assemblage portent un pourcentage majoritaire de caractères cuticulaires xéromorphes, c'est qu'elles vivaient, selon toute vraisemblance, en conditions de sécheresse. Néanmoins, cette inférence n'implique pas nécessairement que ces plantes aient poussé dans un environnement aride ou désertique, mais simplement qu'elles aient été capables de se développer, de supporter et/ou de survivre dans un environnement carencé en eau, au moins pendant une certaine période de l'année. Les origines des carences hydriques peuvent être multiples et des études ont démontré que les microstructures de la cuticule des feuilles enregistrent certains paramètres environnementaux, tels que le rayonnement solaire [17], la salinité ou les contraintes hydriques [13,33]. Bien évidemment, une telle interprétation peut se révéler hasardeuse quand elle est basée sur un unique caractère ou une seule plante, mais devient beaucoup plus robuste quand le nombre de caractères ou de taxa augmentent.

Les Gymnospermes mésozoïques avaient développé un large éventail de modifications morphologiques et structurales, dans le but d'optimiser leur efficacité à utiliser l'eau. Les pertes hydriques se produisent normalement à travers la cuticule foliaire [20], et les nombreuses adaptations cuticulaires (non stomatiques) permettent de restreindre ces pertes hydriques. Des adaptations supplémentaires sont mises en place au niveau de l'appareil stomatique, affinant le contrôle de la transpiration, en régulant l'ouverture et la fermeture stomatique et en cloisonnant les circulations d'air à l'intérieur du stomate (par exemple, présence/absence de chambres sus et sous-stomatiques à volumes variables). De ce fait, la réduction de la taille et celle du nombre de stomates pour conserver l'eau interne tout en maximisant la prise de  $\text{CO}_2$  atmosphérique (par exemple, [5,38]) sont probablement deux réponses externes, parmi les nombreuses réponses de la plante. Ce point de vue peut expliquer les grandes variations de DS/IS existant chez différentes espèces de plantes actuelles poussant dans le même environnement ou chez des taxa fossiles d'un même assemblage floristique. Il met en évidence la nécessité de travailler à l'échelle systématique la plus basse (c'est-à-dire, genre ou espèce) avec les analogues modernes les plus proches pour comparaison [3].

Les Gymnospermes ont évolué en général vers des valeurs faibles de IS durant des temps de  $p_{\text{CO}_2}$  élevés [29]. Plusieurs espèces de conifères répondent encore à une augmentation en  $\text{CO}_2$  au-dessus de la limite de réponse des Angiospermes. Les conifères sont donc des modèles intéressants pour les estimations des  $p_{\text{CO}_2}$  atmosphériques durant des périodes de l'histoire de la Terre pendant lesquelles les concentrations en gaz à effet de serre étaient bien au-dessus des niveaux actuels (comme au cours du Crétacé) [21,29].

### Conclusions

Face aux nombreuses et complexes adaptations xéromorphes des appareils stomatiques, il devient évident que les *proxies* basés sur les stomates, tels qu'ils ont été utilisés jusqu'à présent, requièrent des paramètres complémentaires pour affiner la méthode. La géométrie stomatique sensu lato a clairement une influence sur les échanges gazeux, étant donné que les plantes répondent par différentes combinaisons d'adaptations cuticulaires à un même environnement. De tels caractères stomatiques ne doivent pas être ignorés plus longtemps lors des analyses de DS/IS au cours des temps géologiques. Pareillement, il faudrait étudier et prendre en considération d'autres processus physiologiques entraînant les mêmes conséquences, tels que la mise en place de bouchons de cires obturant partiellement ou complètement l'aperture stomatique durant des contraintes de sécheresse extrême, mais qui, au contraire des microstructures cuticulaires, ont pu être un caractère labile et disparaître à la reprise de la croissance de l'organe ou durant les processus diagénétiques.

### 1. Introduction

Plants, and especially the leaves, are in close equilibrium with the environments under which they grow, and respond morphologically, anatomically and physiologically to particular atmospheric, climatic, edaphic and altitudinal conditions [18–24] or to catastrophic variations [1]. In addition, terrestrial plants are dependent on the environment owing to their sedentary nature [7]. For these reasons, palaeobotanists try to interpret palaeoenvironments from fossil plants (e.g. [32]) either qualitatively or quantitatively.

Fossil leaf cuticle (secreted by the epidermal and stomatal cells), as well as the stomatal adaptations and the measurements of the stomatal density (SD, number of stomata per surface area unit) and stomatal index (SI, proportion of stomata expressed as the percentage of epidermal cells), appear to be a high-resolution proxy for assessing changes in atmospheric CO<sub>2</sub> concentrations through geological time [38]. During the last decade, the volume of stomatal data has increased in relation to predicted global warming produced by an enhanced greenhouse effect (see review by [28]). However, these analyses consider the stomatal complex as a simple pore and the stomata-bearing cuticle as a homogeneous lamina. In contrast, robust, macro- and micro-morphological adaptations occur in relation to leaf, cuticle of the epidermal and stomatal cells and stomatal configuration.

In order to improve the knowledge of the causes of the SD/SI variations between plant cuticles collected from the same fossil assemblage, and to encourage further refinements in methods using stomatal proxies for past climate analyses, we propose herein a review of the wide range of xeromorphic characters in the cuticle of Mesozoic gymnosperms.

## 2. Adaptive features of plant cuticles to resist drought

During cellular differentiation, the epidermis sensu lato (composed of the epidermal and stomatal cells, the latter divided into subsidiary and guard cells) secretes on its surface (in contact with the surrounding environment, generally the atmosphere) a covering that contains hydrophobic lipid derivatives, named cuticle. These components form a multitude of crystalline or amorphous projections that waterproof the external surface. The thickness of living cuticle consists of a cutin net associated with layers of wax. Cutin is composed of hydroxyacid polyesters mixed with polysaccharides, waxes composed of fatty acids and alcohols, and phenolic components [19,26]. In a moist environment, the cuticle is hydrated, the net of cutin and waxes are loosened, and water-vapour diffusion is possible [6]. In contrast, in a dry environment, the net is tightened, the cuticle becomes waterproof, which forms an efficient barrier against water loss. Although the cuticle of the epidermal cells plays a moderate role in gas ex-

changes between the plant interior and the external environment [11], exchanges essentially occur through the stomatal apparatus [15,34].

Plants transpire water vapour, which accompanies the entrance of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) into the mesophyll through the stomatal apparatus. However, plants must adjust their water use efficiency (WUE, i.e., the number of carbon molecules acquired from the atmosphere per unit of water molecules lost by transpiration per unit of time) to prevent dehydration. For some drought-adapted plants (xerophytes), ultrastructural particularities were observed, such as for example the presence of canals allowing the circulation of wax precursors [23].

## 3. Climatic factors resulting in plant xeromorphism

Xeric factors suggest extreme drought conditions, but do not necessarily imply high temperatures. Because drought corresponds to the unavailability of water to plants, this can be due to:

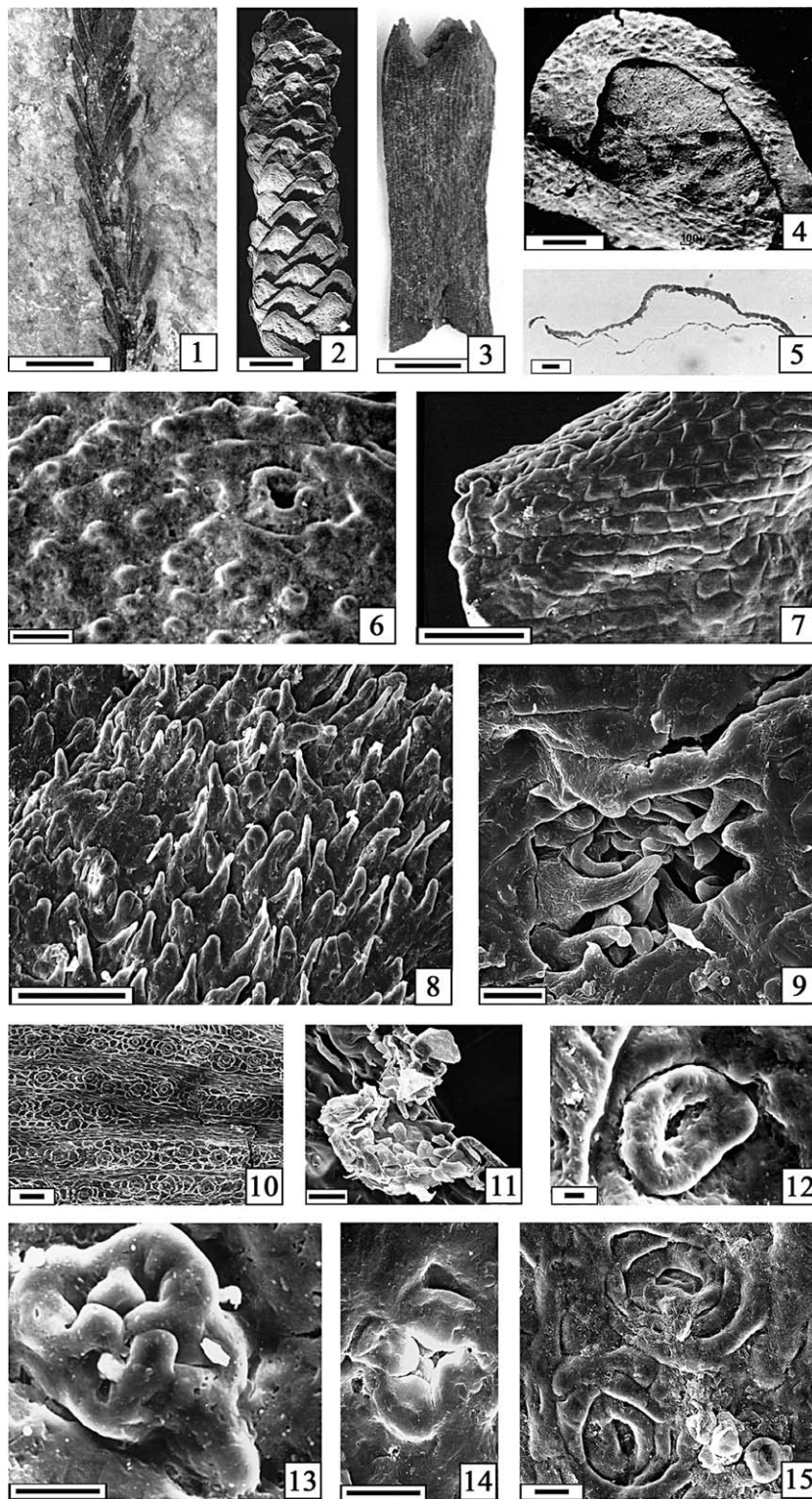
- high temperatures increase evapotranspiration, especially through the stomata;
- high irradiance raises leaf temperatures (e.g., [17,25]);
- air circulations along the leaf surface amplify water loss;
- low temperatures, down to frost, convert water into solid ice, inassimilable by the plants;
- salt-saturated water impedes osmosis, making it difficult for the plant to absorb external water;
- edaphic (e.g., well drained soils) or topographic conditions (e.g., steep slope) create local drought environments, even if precipitation is abundant.

## 4. Xeromorphic adaptations of Mesozoic gymnosperms (Figs. 1–15)

Macro- and micromorphological characters observed for Mesozoic gymnosperms are summarised in Fig. 16 and Table 1.

The solar radiations are mainly reduced by leaf adaptations. They consist of diamond-shaped, scale-like leaves more or less covering and protecting one another (Fig. 2), and inserted at acute angle and adpressed





against the axis (Figs. 1–3), and thus offering less surface exposure to the solar radiations. The leaves do not receive the solar radiations orthogonally, but tangentially, which limits the drying action. In contrast, the air circulations are almost avoided by hairs (Figs. 8–9), papillae (Fig. 6), grooves on the external surface at the level of the anticlinal walls (Fig. 7), spatial distribution of the stomatal apparatus that creates confined environments (Figs. 9–11), or the presence/absence of a revolute margin (Fig. 4). The particular morphological configurations of the stomatal apparatus such as the presence of rims (Figs. 12–13,15), papillae (one level (Fig. 13) or two levels – inner and outer (Fig. 14) – on the subsidiary cells, and the more or less sunken transpiration. Moreover, the cuticle thickening limits the cuticular transpiration (Fig. 5).

## 5. Discussion

Fossil and modern gymnosperms (essentially conifers) show various combinations of features listed in Table 1. In conifers, leaves extend longitudinally from

a single growth centre located at the leaf base [8]. Epidermal cells appear in longitudinal rows, with the cells at the tip of the leaf maturing first. Stomata are formed early in leaf development, develop henceforth in longitudinal rows during the leaf growth, and become mature by the time the leaf reaches 10–60% of its final size [8,35]. Guard cells of *Pseudotsuga menziesii*, for example, do not become apparent until the leaf has reached two thirds of its final size [27]. When the stomatal precursor cells form in specific rows, the epidermal cells in the adjacent rows divide asymmetrically to produce subsidiary cells lying directly next to the stomatal precursor and epidermal cells [9,22]. In many conifer species, the later epidermal cells can continue to divide a specific number of times, creating a species-specific number of epidermal cells in the ‘stomatal–epidermal complex’ [36]. These complexes can contain between four and twelve epidermal cells each, depending on the species [10]. Factors such as irradiance [12,31], humidity [30], and  $p_{\text{CO}_2}$  [2,4,37,39] were suggested to control stomatal initiation. A  $\text{CO}_2$ -sensitive gene involved in the control of stomatal development was recently identified in *Arabidopsis thaliana* [16].

Figs. 1–15. (1–5) *Leaf adaptation*. 1. Needle-like leaves of *Elatocladus veronensis*, scale bar = 10 mm. 2. Microphylls and spiral arrangement of the leaves that cover and protect more or less one another. Leafy axis of *Brachyphyllum papareli*, scale bar = 5 mm. 3. ‘Sheathed’ leaves of *Frenelopsis alata* (whorl of three leaves and slightly striated internode), scale bar = 1 mm. 4. Pinnule of *Cycadopteris moretiana* (photo G. Barale), detail of the marginal fold along the lobe of a pinnule under SEM, scale bar = 6 mm. (5–8) *Adaptations of the cuticular surfaces*. 5. *Frenelopsis turolensis*, semi-fine section showing the strong difference in thickness between the abaxial (top) and the adaxial (bottom) surfaces, LM, scale bar = 50  $\mu\text{m}$ . 6. Cuticle of *Hirmeriella airelensis*, SEM, epidermal cells bearing papillae, scale bar = 10  $\mu\text{m}$ . 7. *Hirmeriella muensteri*, SEM, grooves perfectly limit the anticlinal walls, scale bar = 15  $\mu\text{m}$ . 8. *Frenelopsis turolensis*, SEM, hairs arranged in wide bands, scale bar = 15  $\mu\text{m}$ . (9–15) *Stomatal adaptations*. 9. *Glenrosa* sp. Charente, SEM, external view of the opening of a hairy stomatal crypt, scale bar = 10  $\mu\text{m}$ . 10. Stomata arranged in rows in *Pagiophyllum peregrinum*, SEM internal view, scale bar = 10  $\mu\text{m}$ . 11. *Glenrosa* sp. Charente, SEM, transversal section through a stomatal crypt, scale bar = 10  $\mu\text{m}$ . 12. *Pagiophyllum peregrinum*, SEM, rim around the stomatal opening, scale bar = 2  $\mu\text{m}$ . 13. Papillate stomata, *Pagiophyllum araucarinum*, SEM, very well individualised rims bearing club-like papillae that can totally close the stomatal opening, scale bar = 5  $\mu\text{m}$ . 14. *Frenelopsis turolensis*, SEM external view showing both the outer (foreground) and two inner (background) papillae, scale bar = 5  $\mu\text{m}$ . 15. *Hirmeriella muensteri*, SEM, double or triple rims in the case of more or less poly-amphicyclic stomata, scale bar = 5  $\mu\text{m}$ .

Figs. 1–15. (1–5) *Adaptation foliaire*. 1. Feuilles en aiguilles d’*Elatocladus veronensis*, échelle = 10 mm. 2. Microphylls et arrangement en spirale des feuilles qui se recouvrent ainsi plus ou moins partiellement et se protègent. Rameau feuillé de *Brachyphyllum papareli*, échelle = 5 mm. 3. Feuilles engainantes de *Frenelopsis alata* (trois feuilles et gaine foliaire légèrement striée), échelle = 1 mm. 4. Pinnule de *Cycadopteris moretiana* (photo G. Barale), détail du repli marginal sur le lobe d’une pinnule en MEB, échelle = 6 mm. (5–8) *Adaptations des surfaces cuticulaires*. 5. *Frenelopsis turolensis*, coupe semi-fine montrant la forte différence d’épaisseur entre la face abaxiale (en haut) et la face adaxiale (en bas), LM, échelle = 50  $\mu\text{m}$ . 6. Cuticule d’*Hirmeriella airelensis*, MEB, cellules épidermiques portant des papilles, échelle = 10  $\mu\text{m}$ . 7. *Hirmeriella muensteri*, MEB, des sillons délimitent parfaitement les murs anticlinaux, échelle = 15  $\mu\text{m}$ . 8. *Frenelopsis turolensis*, MEB, poils disposés en larges bandes, échelle = 15  $\mu\text{m}$ . (9–15) *Adaptations stomatiques*. 9. *Glenrosa* sp. Charente, MEB, vue externe de l’ouverture de la crypte stomatifère poilue, échelle = 10  $\mu\text{m}$ . 10. Stomates disposés en bandes chez *Pagiophyllum peregrinum*, MEB vue interne, échelle = 10  $\mu\text{m}$ . 11. *Glenrosa* sp. Charente, MEB, coupe transversale dans une crypte stomatifère, échelle = 10  $\mu\text{m}$ . 12. *Pagiophyllum peregrinum*, MEB, bourrelet saillant autour de l’ouverture stomatique, échelle = 2  $\mu\text{m}$ . 13. Stomates à papilles, *Pagiophyllum araucarinum*, MEB, bourrelets très bien individualisés portant des papilles en masse qui peuvent totalement obturer l’ouverture stomatique, échelle = 5  $\mu\text{m}$ . 14. *Frenelopsis turolensis*, MEB vue externe visualisant la fois les papilles externes au premier plan et deux papilles internes au second plan, échelle = 15  $\mu\text{m}$ . 15. *Hirmeriella muensteri*, MEB, bourrelet double, voire triple dans le cas de stomates plus ou moins poly-amphicycliques, échelle = 5  $\mu\text{m}$ .

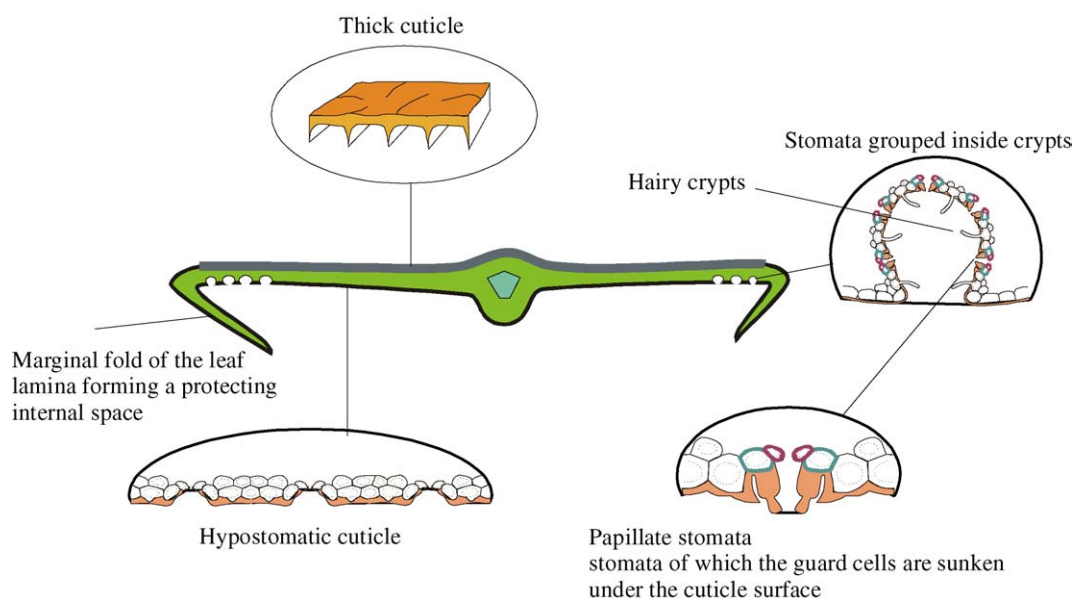


Fig. 16. Schéma résumant les principaux caractères xéromorphes de la cuticule des feuilles.

Fig. 16. Scheme summarising the main xeromorphic features of the leaf cuticles.

However, questions remain on whether that gene is involved in the highly complex microstructure of xeric gymnosperms.

Different studies show that the xeromorphic and adaptive features are implied in the structure-function relationships in numerous Mesozoic plants (e.g., [13,14,33,40]). As a consequence, particular cuticular adaptations of fossil plants may reflect the palaeoenvironment in which they grew. Thus, when fossil plants collected from the same assemblage bear a high percentage of xeromorphic cuticular features, one may assume that they lived under drought conditions. However, this inference does not necessarily imply that the plants grew in an arid (i.e., desert) environment, but only that they were able to develop, endure and/or survive in a water-deficient environment for at least part of the year. While the origin of the water deficiency may be diverse, case studies have shown that certain environmental factors, such as irradiance [17], salinity and water constraints [13,33], are recorded in the microstructure of leaf cuticle. Nonetheless, such an interpretation can be hazardous when based on a single feature or a single plant, but becomes more and more robust as the number of features or taxa increases.

The wide range of morphological and structural modifications displayed by Mesozoic gymnosperms

may have been developed to optimise their water-use efficiency. Water loss normally occurs through the leaf cuticle [20], and the many cuticular (non-stomatal) adaptations favour restricting water loss. Additional adaptations occur at the stomatal level, refining the transpirational control by regulating the stomatal opening and closing and partitioning air diffusion through the stomata. As a result, plants respond in numerous ways to conserve water, such as in reducing the size and number of stomata while maximising  $\text{CO}_2$  uptake (e.g., [5,38]). This view may explain the high degree of SD/SI variations between living plants of different species growing in the same location or between fossil taxa of the same fossil assemblage, and point to a clear need to study fossils at the genus or species level and with close modern analogues [3].

Gymnosperm lineages evolved during times of high  $p_{\text{CO}_2}$  and in general have low SI values [29]. Several conifer species still respond to increases in  $\text{CO}_2$  above the response limits for angiosperm species, making them very suitable for the reconstruction of palaeo-atmospheric  $\text{CO}_2$  estimates during those times in the Earth's history when greenhouse gas concentrations were well above present levels (such as during the Cretaceous) [21,29].



Table 1

Diverse xeromorphic adaptations of Mesozoic gymnosperms (mainly conifers). Solar radiations are mainly reduced by leaf adaptations, while air circulations are mostly limited by hairs, papillae, and stomatal arrangements that create confined environments (e.g. evapotranspiration depends on stomatal geometry)

Tableau 1. Diverses adaptations xéromorphes des Gymnospermes (principalement Coniférales) mésozoïques. Le rayonnement solaire est principalement réduit par les adaptations foliaires, tandis que les circulations d'air sont surtout limitées par les poils, les papilles et les arrangements des appareils stomatiques, qui créent des environnements confinés (par exemple, l'évapotranspiration dépend de la géométrie stomatique).

	Reduction of solar radiations	Reduction of drying air circulations	Reduction of evapotranspiration	Trapping of external water	Examples
Reduced leaves or needles (Fig. 1)	+++				<i>Brachyphyllum</i> <i>Elatocladus</i>
Leaves arranged in spiral (Fig. 2)	++	(+)			<i>Pagiophyllum</i>
Margin of the lamina folded (Fig. 4)	+	++	?(+)	+	<i>Cycadopteris</i>
Sheathing leaves (Fig. 3)	++				<i>Frenelopsis Pseudofrenelopsis</i>
Thick cuticle (Fig. 5)	(+)		(+)		<i>Frenelopsis harrisii</i>
Hypostomatic cuticle	+++		(+)		<i>Nehvizdya pelnaveri</i>
Grooved epidermal cells (Fig. 7)		++		++	<i>Frenelopsis alata</i>
Papillate epidermal cells (Fig. 6)		++		++	<i>Hirmeriella airelensis</i>
Epidermal hairs (Fig. 8)	(+)	++		++	<i>Frenelopsis ramosissima</i> <i>Frenelopsis ugunaensis</i>
Hairs arranged in fringes		+	(+)	+	<i>Frenelopsis alata</i>
Hairs arranged in bands		+	(+)	+	<i>Frenelopsis turolensis</i>
Hairs in grooves		+	(+)	(+)	<i>Mirovia gothani</i>
Hairs in crypts (Fig. 9)		(+)		+	<i>Glenrosa</i>
Stomata isolated and sunken		+			<i>Tarphyderma</i>
Stomata in sunken lines (Fig. 10)		+			<i>Frenelopsis</i>
Stomata in sunken bands		+			<i>Pagiophyllum peregrinum</i>
Stomata in grooves		+			<i>Mirovia</i>
Stomata in crypts (Fig. 11)		+	(+)		<i>Glenrosa</i>
Stomata with a single rim (Fig. 12)		+	++		<i>Hirmeriella muensteri</i>
Stomata with two rims (Fig. 15)		+	++		<i>Brachyphyllum crucis</i>
Stomata with papillae (Fig. 13)		+	++		<i>Pagiophyllum araucarinum</i>
Stomata with two levels of papillae (Fig. 14)		+	+++		<i>Frenelopsis hoheneggeri</i>

## 6. Conclusions

Faced with the numerous and complex xeromorphic adaptations at the stomatal level, the use of stomatal proxies appear to require further refinements. Stomatal geometry sensu lato clearly has an influence in gas exchange, given that different plants respond with different combinations of cuticular adaptation, although they grow in the same environment through geological times. Such stomatal characters should no longer be ignored in SD/SI analyses. Similarly, additional processes such as stomatal plug production during extreme xeric constraints (sealing of the stomatal aperture), and during unstable processes such as growing seasons and diagenetic processes remain to be investigated.

## Acknowledgements

This publication is a contribution to projects ECLIPSE of the French CNRS *Interactions Climat/Écosystèmes de l'Aptien au Paléocène* and *Ultrastructure et géochimie de cuticules de gymnospermes crétacées : marqueurs paléoclimatiques et paléatmosphériques* and the project *Biodiversité et Changement global* of the 'Institut français de biodiversité' entitled *Interactions biodiversité végétale-changements globaux à la transition Crétacé inférieur-supérieur d'Europe occidentale*. Our research has received financial supports from a Marie-Curie fellowship of the European Community (HPMF-CT-2002-01584), UMR 5125 of the CNRS, projects BTE2001-0185-C02-01 and B052001-0173 of the Spanish

government and project 2001SGR-75 of the Catalan government. The authors thank the two referees, Dr Carles Martín-Closas and Brigitte Meyer-Berthaud for comments during the peer review process that lead to improvement of the manuscript.

## References

- [1] A. Archangelsky, R. Andreis, S. Archangelsky, A. Artabe, Cuticular characters adapted to volcanic stress in a new Cretaceous cycad leaf from Patagonia, Argentina, *Rev. Palaeobot. Palynol.* 89 (1995) 213–233.
- [2] D.J. Beerling, W.G. Chaloner, Stomatal density as an indicator of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, *Holocene* 2 (1992) 71–78.
- [3] D.J. Beerling, D.L. Royer, Reading a CO<sub>2</sub> signal from fossil stomata, *New Phytol.* 153 (2002) 387–397.
- [4] D.J. Beerling, F.I. Woodward, Palaeo-ecophysiological perspectives on plant responses to global change, *Trends Ecol. Evol.* 11 (1996) 20–23.
- [5] I. Bettarini, F.P. Vaccari, F. Mighietta, Elevated CO<sub>2</sub> concentrations and stomatal density: observations from 17 plant species growing in a CO<sub>2</sub> spring in central Italy, *Glob. Change Biol.* 4 (1998) 17–22.
- [6] J.S. Boyer, S. Chin Wong, G.D. Farquhar, CO<sub>2</sub> and water vapor exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials, *Plant Physiol.* 114 (1997) 185–191.
- [7] W.G. Chaloner, J. McElwain, The fossil plant record and global climatic change, *Rev. Palaeobot. Palynol.* 95 (1997) 73–82.
- [8] J.L. Croxdale, Stomatal patterning in angiosperms, *Am. J. Bot.* 87 (2000) 1069–1080.
- [9] J. Croxdale, B. Johnson, J. Smith, B. Yandell, Stomatal patterning in *Tradescantia*: an evaluation of the cell lineage theory, *Dev. Biol.* 93 (1992) 1078–1082.
- [10] R. Florin, Untersuchungen zur Stammesgeschichte der Coniferales und Cordaitales, *Kungl. Svenska Vet. Akad. Handl.* 10 (1931) 1–588.
- [11] J.-P. Garrec, C. Kerfourn, Des pluies acides et de l’ozone sur la perméabilité à l’eau et aux ions de cuticules isolées. Implication dans le phénomène de dépérissement des forêts, *Environ. Exp. Bot.* 29 (1989) 215–228.
- [12] A.P. Gay, R.G. Hurd, The influence of light on stomatal density in the tomato, *New Phytol.* 75 (1975) 37–46.
- [13] B. Gomez, C. Martín-Closas, G. Barale, N. Solé de Porta, F. Thévenard, G. Guignard, *Frenelopsis* (Coniferales: Cheirolepidiaceae) and related male organ genera from the Lower Cretaceous of Spain, *Palaeontology* 45 (2002) 997–1036.
- [14] B. Gomez, F. Thévenard, M. Fantin, L. Giusberti, Late Cretaceous fossil plants from the Bonarelli level in the Venetian (Southern) Alps, *Cretaceous Res.* 23 (2002) 671–685.
- [15] A. Grabov, M.R. Blatt, Co-ordination of signaling elements in guard cell ion channel control, *J. Exp. Bot.* 49 (1998) 351–360.
- [16] J.E. Gray, G.H. Holroyd, F. Van der Lee, P.C. Simons, F.I. Woodward, W. Schuch, A.M. Hetherington, The HIC signaling pathway links CO<sub>2</sub> perception to stomatal development, *Nature* 408 (2000) 713–715.
- [17] G. Guignard, K. Bóka, M. Barbacka, Sun and shade leaves? Cuticle ultrastructure of Jurassic *Komlopteris nordenskiöldii* (Nathorst) Barbacka, *Rev. Palaeobot. Palynol.* 114 (2001) 192–208.
- [18] A.M. Hetherington, F.I. Woodward, The role of stomata in sensing and driving environmental change, *Nature* 424 (2003) 901–908.
- [19] P.J. Holloway, The chemical constitution of plant cutins, in: D.F. Cutler, K.L. Alvin, C.E. Price (Eds.), *The plant cuticle*, Linnean Society symposium series 10, Academic Press, London, 1982, pp. 261–265.
- [20] H.G. Jones, *Plants and microclimate*, Cambridge University Press, Cambridge, 1992.
- [21] L.L.R. Kouwenberg, J.C. McElwain, W.M. Kürchner, F. Wagner, D.J. Beerling, F.E. Mayle, H. Visscher, Stomatal frequency adjustment of four conifer species to historical changes in atmospheric CO<sub>2</sub>, *Am. J. Bot.* 90 (2003) 610–619.
- [22] J.C. Larkin, D.M. Marks, J. Nadeau, F. Sack, Epidermal cell fate and patterning in leaves, *Plant Cell* 9 (1997) 1109–1120.
- [23] O.B. Lyshede, Structure of the outer epidermal wall in xerophytes, in: D.F. Cutler, K.L. Alvin, C.E. Price (Eds.), *The plant cuticle*, Linnean Society symposium series 10, Academic Press, London, 1982, pp. 87–98.
- [24] J. McElwain, W.G. Chaloner, Stomatal density and index of fossil plants track atmospheric carbon dioxide in the Palaeozoic, *Ann. Bot. (Lond.)* 76 (1995) 389–395.
- [25] J.C. McElwain, D.J. Beerling, F.I. Woodward, Fossil plants and global warming at the Triassic–Jurassic boundary, *Science* 285 (1999) 1386–1390.
- [26] B. Mösle, M.E. Collinson, P. Finch, A. Stankiewicz, A.C. Scott, R. Wilson, Factors influencing the preservation of plant cuticles: a comparison of morphology and chemical composition of modern and fossil examples, *Org. Geochem.* 20 (1998) 1369–1380.
- [27] J.N. Owens, Initiation and development of leaves in Douglas fir, *Can. J. Bot.* 46 (1968) 271–278.
- [28] D.L. Royer, Stomatal density and stomatal index as indicators of atmospheric CO<sub>2</sub> concentration, *Rev. Palaeobot. Palynol.* 114 (2001) 1–28.
- [29] D.L. Royer, R.A. Berner, D.J. Beerling, Phanerozoic atmospheric CO<sub>2</sub> change: evaluating geochemical and palaeobiological approaches, *Earth-Sci. Rev.* 54 (2001) 349–392.
- [30] E.J. Salisbury, On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 216 (1927) 1–65.
- [31] P.G. Schoch, C. Zinsou, M. Sibi, Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L. I. Effect of light intensity, *J. Exp. Bot.* 31 (1980) 1211–1216.
- [32] A.C. Seward, *Fossil Plants as Tests of Climate*, Clay, London, 1892, 151 p.

- [33] F. Thévenard, G. Guignard, B. Gomez, Zhiyan Zhou, Genre *Glenrosa*, exemple de plantes xérophytes ou accommodation physiologique ?, Monogr. Acad. Cienc. Exact. Fís. Quím. Nat. Zaragoza 16 (2000) 45–51.
- [34] D.S. Thomas, D. Eamus, D. Bell, Optimisation theory of stomatal behaviour. II, J. Exp. Bot. 50 (1999) 393–400.
- [35] I. Tichá, Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomatal density and sizes, Photosynthetica 16 (1982) 375–471.
- [36] P.B. Tomlinson, Development of the stomatal complex as a taxonomic character in the monocotyledons, Taxon 23 (1974) 109–128.
- [37] F.I. Woodward, Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* L. taken from a wide altitudinal range, Oecologia 70 (1986) 580–586.
- [38] F.I. Woodward, Stomatal numbers are sensitive to increases in CO<sub>2</sub> from pre-industrial levels, Nature 327 (1987) 617–618.
- [39] F.I. Woodward, C.K. Kelly, The influence of CO<sub>2</sub> concentration on stomatal density, New Phytol. 131 (1995) 311–327.
- [40] Z. Zhou, F. Thévenard, G. Barale, G. Guignard, A xeromorphic conifer from the Cretaceous of East China, Palaeontology 43 (2000) 561–572.