



HAL
open science

Nitrogen distribution within wheat plants (*Triticum aestivum* L.) after flowering: a dynamic model based on a functional-structural approach

Jessica Bertheloot

► **To cite this version:**

Jessica Bertheloot. Nitrogen distribution within wheat plants (*Triticum aestivum* L.) after flowering: a dynamic model based on a functional-structural approach. Mathematics [math]. AgroParisTech, 2009. English. NNT: 2009AGPT0007 . pastel-00005134

HAL Id: pastel-00005134

<https://pastel.hal.science/pastel-00005134>

Submitted on 24 Jul 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Ecole Doctorale ABIES



*UMR Environnement Grandes Cultures
INRA Grignon*

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'AGROPARISTECH

Présentée par :

Jessica Bertheloot

**Distribution de l'azote chez le blé (*Triticum aestivum* L.)
après la floraison :
un modèle dynamique fondé sur
une approche structure-fonction**

Soutenue le 30 janvier 2009 devant le jury composé de :

B. Ney	Professeur, AgroParisTech	Président
M. Dingkuhn	Directeur de Recherche, CIRAD	Rapporteur
H. Schnyder	Professeur, Technische Universität München	Rapporteur
J.F. Morot-Gaudry	Directeur de Recherche, INRA Versailles	Examineur
P. Gate	Ingénieur Arvalis	Examineur
B. Andrieu	Directeur de Recherche, INRA-Grignon	Directeur de thèse
P. Martre	Chargé de Recherche, INRA Clermont-Ferrand	Co-Directeur

REMERCIEMENTS

Le travail de thèse présenté dans ce mémoire a été financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et a été réalisé au sein de l'UMR Environnement et Grandes Cultures de l'INRA de Grignon. Je tiens tout d'abord à remercier F. Launay et C. Fiers de l'Ecole Doctorale ABIES qui m'ont apporté une aide rapide quand j'en avais besoin, que ce soit financière (merci pour le colloque FSPM07) ou administrative. Je remercie également les membres de mon jury, en particulier H. Schnyder et M. Dingkuhn pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail.

Merci également à Bertrand Ney: en tant qu'enseignant responsable de mes stages, c'est lui qui m'a orienté dans le choix de cette thèse riche en enseignements, qui m'a permis de trouver ma voie. Collectionneur de couvre-chefs, il a également été mon chef d'équipe et mon président de jury.

Je tiens évidemment à remercier très chaleureusement mon directeur de thèse, Bruno Andrieu, qui m'a accompagné quotidiennement dans la réalisation de ce travail: il s'est toujours montré disponible pour me conseiller tout en me laissant une large part d'autonomie ; il m'a fait profiter avec enthousiasme de ses larges connaissances. Certes, cela n'a pas toujours été facile mais les efforts que nous avons fournis ont porté leurs fruits. Merci Bruno !

Merci également à mon co-directeur de thèse, Pierre Martre, qui, malgré la distance, a toujours été là pour m'aider quand j'en avais besoin et a clairement été de bon conseil pour la difficile tâche de l'écriture des premiers papiers.

Je remercie Christian Fournier qui m'a fait partager ses compétences en modélisation, sans lesquelles l'implémentation de mon modèle aurait été difficile. J'ai aussi découvert à ses côtés les méandres de la programmation... Je le remercie enfin grandement pour ses accueils très chaleureux à Montpellier.

Un grand merci à Emmanuel Fovart pour ses compétences en agronomie et mesures expérimentales : il a effectué un travail considérable et de qualité ; la réussite des expérimentations lui est en grande partie due. Je remercie également Fabrice Duhamel pour son aide plus que nécessaire dans la réalisation des expérimentations au champ et au laboratoire. Merci à Florence Lafouge pour les nombreux dosages d'azote qu'elle a gentiment réalisés, à Pierre Belluomo pour la mise au point d'un programme d'analyse d'images et à Alain Fortineau pour les mesures des propriétés optiques des feuilles et la gestion des fichiers météo. Enfin, je remercie Claudine pour les nombreuses commandes d'articles qu'elle a faites et son aide pour l'impression du manuscrit de thèse.

Merci aussi aux différents stagiaires qui ont participé au travail de thèse : Amandine Dusserre pour la caractérisation de la sénescence, Johann Müller pour les mesures de photosynthèse ainsi que Martin Vigan pour son autonomie et son dynamisme dans la réalisation de l'expérimentation photosynthèse et l'excellent rapport qu'il a su fournir.

Merci aussi aux chercheurs de l'équipe plante qui ont pris le temps de discuter avec moi : Michael Chelle, Céline Richard-Molard, Alexandra Jullien, Jean-Michel Allirand, Marie-Odile Bancal, Pierre Bancal. La bonne ambiance régnant dans le bâtiment haut d'EGC a également certainement contribué au bon déroulement du travail. Merci tout particulièrement à mes compagnons de cantine.

Et enfin je remercie de tout mon cœur mes proches qui m'ont aidé pendant les périodes difficiles, et tout particulièrement Alexis.

RESUME – L'azote est une ressource importante pour la croissance des plantes, et pour les pathogènes des cultures. L'objectif de cette thèse est de proposer une modélisation mécaniste des dynamiques d'azote dans une plante de blé en post-floraison. Pour cela, une approche structure-fonction a été mise en oeuvre. Des expérimentations ont permis de caractériser les dynamiques spatio-temporelles d'azote dans la tige feuillée. La masse d'azote surfacique des limbes et des gaines diminuait avec la distance depuis le sommet du couvert, mais elle était homogène le long d'un limbe ou d'une gaine. Les dynamiques temporelles étaient identiques pour les gaines et les limbes suggérant que ces deux entités répondent de la même manière à la lumière interceptée et à l'état azoté de la plante. De plus, les dynamiques étaient synchrones pour tous les phytomères et identiques à un facteur d'échelle près. En période d'absence d'absorption d'azote racinaire, ces dynamiques suivaient une cinétique d'ordre un. Ces résultats ont permis de développer un modèle structure-fonction des dynamiques d'azote au sein de la structure botanique d'une tige feuillée. Les principales hypothèses de ce modèle sont: (i) la teneur en azote d'un limbe est déterminée par le turnover des protéines de l'appareil photosynthétique; (ii) les différentes entités de la tige feuillée partagent un pool commun d'azote mobile. Ce modèle a été validé sur une gamme contrastée de conditions environnementales avec un jeu unique de six paramètres. Les relations azote-éclairage sont une propriété émergente des processus décrits à l'échelle locale. Ce travail ouvre des perspectives pour simuler la régulation des dynamiques d'azote dans des modèles individus-centrés de peuplements végétaux.

Mots-clés : azote, distribution de l'azote, gradient de lumière, architecture de la plante, turnover des protéines de l'appareil photosynthétique, sénescence foliaire, propriété émergente, modèle de plante structure-fonction, L-system

ABSTRACT – Nitrogen is an important resource for plant growth and crop pathogens. The objective of this study is to propose a process-based modelling of N dynamics within a wheat plant after anthesis. To achieve that, a functional-structural approach was used. Experiments were performed to quantify the spatio-temporal nitrogen dynamics within a wheat culm after anthesis. Nitrogen mass per unit surface area of laminae and sheaths decreased with canopy depth, but was homogeneously distributed across lamina and sheath surfaces. In addition, nitrogen dynamics were synchronous for each phytomer and similar except for a scale factor. In the period of no root nitrogen uptake, those dynamics followed first order kinetics. Based on these results, a functional-structural model of nitrogen dynamics within the culm botanical structure has been developed. Model main assumptions are: (i) the lamina nitrogen content is determined by the turnover of the proteins of the photosynthetic apparatus; (ii) the different entities of the culm share a common pool of mobile nitrogen. The model has been validated for a contrasted range of experimental conditions with a unique set of six parameters. The nitrogen – light relationships are an emerging property of processes described at a local scale. This work paves the way for simulating the regulation of nitrogen dynamics in individual-based models of plant population.

Keywords : nitrogen, nitrogen distribution, light gradient, plant architecture, turnover of the proteins of the photosynthetic apparatus, leaf senescence, emerging property, functional-structural plant model, L-system

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I. LA PLANTE DE BLE ET L'ELABORATION DU RENDEMENT ET DE LA QUALITE DES GRAINS	6
I.1. La structure d'une plante de blé à floraison	6
a. La tige feuillée.....	6
b. L'épi	7
I.2. La dynamique de la structure végétative.....	8
a. Le développement et l'extension d'un brin.....	8
b. La croissance et la sénescence.....	9
I.3. Les phases de développement de la culture en lien avec l'élaboration du rendement et de la teneur en protéines des grains.....	11
a. Le développement apparent de la plante et les stades agronomiques.....	12
b. Le développement et la croissance de l'épi	12
c. L'élaboration du rendement et de la qualité des grains.....	12
I.4. Les phases préfloraison et post-floraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains.....	14
a. La préfloraison et la post-floraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains .	14
b. Les possibilités offertes par la phase post-floraison pour augmenter les rendements	15
II. LES DYNAMIQUES DE L'AZOTE DANS LA PLANTE	17
II.1. Vue générale de l'économie de l'azote dans la plante	17
a. Assimilation des nitrates du sol	17
b. L'azote de structure et les protéines foliaires.....	17
c. Le remplissage en azote des grains	18
II.2. Un cycle permanent de l'azote dans la plante	20
a. Quantification du recyclage de N.....	20
b. Les voies de transport intervenant dans le recyclage de N	21
c. Peut-on considérer que tous les organes de la plante partagent un pool commun d'azote mobile ?	22
II.3. Implication de l'azote dans la photosynthèse	22
a. La fonction de l'azote dans la photosynthèse.....	22
b. Contribution de l'azote foliaire à l'appareil photosynthétique.....	23
II.4. La sénescence foliaire.....	24
a. Les processus associés à la phase de sénescence	24
b. Les mécanismes responsables de la sénescence et de la mort des tissus.....	24
II.5. L'azote dans la plante: sa distribution entre les différentes entités botaniques, leur contribution à la production de carbone par la plante et au remplissage en carbone et azote des grains.....	25
a. Distribution de N entre les différentes entités de la plante.....	25
b. La contribution du N des autres entités que les limbes foliaires à l'activité photosynthétique de la plante et au remplissage en C et N des grains	26
III. EFFET DES FACTEURS ENDOGENES ET EXOGENES SUR LES DYNAMIQUES DE L'AZOTE DANS LA PLANTE.....	27
III.1. La lumière.....	27
a. Les rôles de la quantité de la lumière, du rapport rouge clair : rouge sombre et de l'âge des feuilles dans la formation des gradients verticaux de N au sein des couverts végétatifs	28
b. Les mécanismes impliqués dans l'établissement des gradients verticaux de N	29
c. L'échelle spatiale de réponse de la plante à la quantité de lumière.....	31
d. Les gradients d'azote entre limbes foliaires pendant la croissance des grains.....	32
e. Les gradients d'azote entre les autres entités que les limbes foliaires.....	33
III.2. La nutrition azotée.....	33
a. Effet de la nutrition azotée sur la sénescence foliaire	33
b. Effet sur le remplissage en azote des grains	34
c. Effet sur la teneur en N des tissus verts au moment de la mort des tissus et sur le N résiduel dans les tissus morts	35
d. Effet sur les gradients verticaux de N.....	36
III.3. Le génotype.....	36
III.4. Les stress: des accélérateurs de la sénescence.....	38
IV. LES MODELES, LEURS LIMITES ET LES PERSPECTIVES	40
IV.1. Les théories d'optimisation et de coordination.....	40

a. La théorie d'optimisation pour la modélisation des distributions verticales d'N dans les couverts	40
b. La théorie d'optimisation pour la modélisation de la durée de vie des feuilles	42
c. Les principales limites conceptuelles des théories d'optimisation	43
d. La théorie de coordination	44
IV.2. <i>Les modèles compartimentaux</i>	45
a. Principe général	45
b. Les modèles Sirius et <i>Siriusquality1</i>	47
c. Les principales limites	48
IV.3. <i>L'approche structure-fonction</i>	49
a. Présentation générale	49
b. Les modèles de turnover de l'appareil photosynthétique: une base pour la modélisation des dynamiques de N en utilisant une approche structure-fonction	52
V. PROPOSITION D'UN SCHEMA DE MODELISATION	55
REFERENCES	57

CHAPITRE II : NITROGEN GRADIENTS WITHIN AND BETWEEN LAMINAE , SHEATHS, INTERNODES OF WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.) CULMS AROUND ANTHESIS.....68

ABSTRACT	69
INTRODUCTION	69
MATERIAL AND METHODS	71
<i>Plant material and growing conditions</i>	71
<i>Plant and entity samplings</i>	72
<i>Determination of leaf lamina stature, surface areas, lengths, and distance from the top of the canopy</i>	72
<i>Determination of dry mass and N concentration, and calculation of specific N and dry mass</i>	73
<i>Statistics</i>	73
RESULTS	75
<i>The four experimental treatments generated four contrasted canopies in terms of canopy structure and N content</i>	75
<i>Specific N mass was homogeneous along individual laminae and sheaths despite a significant gradient of specific dry mass</i>	76
<i>Mean specific N mass of individual laminae and sheaths were linearly related to their distance from the top of the canopy</i>	79
DISCUSSION	80
<i>Mean specific N mass of individual laminae and sheaths decreased with the depth in the canopy</i>	80
<i>The specific N mass was homogeneous along individual laminae and sheaths</i>	80
<i>The specific N mass of laminae and sheaths was linearly related to the distance from the top of the canopy</i>	82
CONCLUSION.....	82
ACKNOWLEDGEMENTS.....	82
REFERENCES	83

CHAPITRE III : DYNAMICS OF LIGHT AND NITROGEN DISTRIBUTION DURING GRAIN FILLING WITHIN WHEAT CANOPY..... 86

ABSTRACT	87
INTRODUCTION	87
RESULTS	88
<i>Apache and Isengrain Had Different Patterns of Apparent Root N uptake and Translocation during the Grain-Filling period</i>	88
<i>The Distribution of Light with Canopy Depth Did Not Change during the Postanthesis Period</i>	90
<i>Below the Level of Flag Leaf Collar, N Vertical Distribution in Green Lamina Tissues followed the Light Gradient from Anthesis until the Onset of the Rapid GAI Decrease</i>	90
<i>During the Reproductive Stage, the Dynamics of N Concentration Were Similar for all Laminae and Sheaths But Were Unlike the Dynamics in Stem Internodes, Ear Peduncles, and Chaff</i>	90
<i>A Single First-Order Kinetics Described N Depletion for Laminae Independent of Leaf Age, Genotype or N Nutrition</i>	91
DISCUSSION	92
<i>The Vertical Leaf N Distribution during the Grain-Filling Period Is Related to Light Distribution, But the Light Signal Appears Integrated at the Leaf Level</i>	92
<i>The Time Course of N Mass per Unit Dry Mass during Grain Filling Is Highly Coordinated among the Different Phytomers</i>	94

<i>N Depletion in the Different Vegetative Organs Follows a Unique First-Order Kinetics</i>	96
CONCLUSION.....	96
MATERIAL AND METHODS.....	97
<i>Plant Material and Growing Conditions</i>	97
<i>Plant Sampling</i>	97
<i>Canopy and Plant Structure</i>	97
<i>Dry Mass, N Concentration Determinations, and SLN and SLM Calculations</i>	97
<i>Light Measurements</i>	98
<i>Calculation of Light and N Extinction Coefficients</i>	98
<i>Rescaling of the N Concentration Patterns for Individual Organs during the Reproductive Stage</i>	98
<i>Modeling of N Depletion Kinetics</i>	98
<i>Statistics</i>	98
ACKNOWLEDGEMENTS.....	98
LITERATURE CITED.....	98
CHAPITRE IV : A PROCESS-BASED MODEL TO SIMULATE NITROGEN DISTRIBUTION IN WHEAT (<i>TRITICUM AESTIVUM</i>) DURING GRAIN-FILLING	101
ABSTRACT.....	102
INTRODUCTION.....	102
MATERIAL AND METHODS.....	103
<i>Model Description</i>	103
<i>Experimental Data</i>	106
MODEL CALIBRATION.....	107
<i>Model initialisation at anthesis</i>	107
<i>Light environment characterisation</i>	107
<i>Adjustement of the forced variables to the experimental data</i>	107
<i>Threshold for tissue death modelling</i>	107
<i>Parameterisation of the models of N dynamics in individual laminae and grains</i>	107
MODEL EVALUATION.....	108
<i>Nitrogen dynamics in the laminae and grains for the different genotypes grown with contrasted N supplies</i>	108
<i>Nitrogen dynamics within the culm in four contrasted treatments</i>	108
<i>Light – N relationships</i>	110
DISCUSSION.....	110
<i>Model performance and the pertinence of modelling choices</i>	111
<i>Calculation of the model parameters</i>	112
<i>Insights on wheat culm N functioning</i>	112
<i>Possible developments</i>	113
CONCLUSION.....	114
ACKNOWLEDGEMENTS.....	114
REFERENCES.....	114
DISCUSSION	118
RAPPEL DU CONTEXTE, DE L'OBJECTIF AINSI QUE DE L'APPROCHE ET DE LA DEMARCHE UTILISEES.....	119
ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE ET EXPERIMENTATIONS : RESULTATS ET DISCUSSION.....	120
<i>L'analyse bibliographique: construction du schéma général de modélisation</i>	120
<i>Expérimentation de Grignon: définition du « grain » du modèle</i>	121
<i>Expérimentation de Clermont-ferrand : caractérisation des dynamiques d'azote entre différentes entités pendant la phase post-floraison</i>	122
LE MODELE: BILAN CRITIQUE.....	122
<i>Réponse à l'objectif initial, prédictibilité du modèle et extrapolation à d'autres espèces</i>	122
<i>Interprétation biologique et application</i>	125
LES NOUVELLES QUESTIONS EMERGEANT DE CE TRAVAIL.....	126
<i>La dépendance des paramètres au génotype</i>	126
<i>Le déterminisme du déclenchement de la mort des tissus des limbes</i>	126
<i>Obtention d'un modèle prédictif en post-floraison</i>	127
LES PERSPECTIVES A PLUS LONG TERME.....	129
<i>Extension de l'approche de modélisation à la phase préfloraison</i>	129
<i>Le modèle de dynamique d'azote: un outil pour comprendre le développement des maladies foliaires</i> ... 130	

<i>CONCLUSION</i>	131
<i>RÉFÉRENCES</i>	132

Introduction

Au cours de la seconde moitié du XX^e siècle, la production agricole alimentaire mondiale a été multipliée par 2,6 principalement grâce à l'augmentation du rendement des cultures telles que le riz, le blé et le maïs dans les pays industrialisés (2003; Mazoyer, 2007). En France, les rendements du blé sont passés de 2 t ha⁻¹ en 1950 à 7.4 t ha⁻¹ en 1999 (Brancourt-Hulmel et al., 2003). Cette augmentation a été permise grâce au progrès génétique, à l'utilisation d'engrais et de pesticides ainsi qu'à l'irrigation.

Jusque dans les années 1980, le progrès génétique a surtout consisté à sélectionner des cultivars allouant aux grains une fraction croissante de la masse sèche totale de la plante. Toutefois depuis une dizaine d'années, cette fraction ou « harvest index » (HI) n'augmente plus de manière significative (Shearman et al., 2005). Certains auteurs ont d'ailleurs calculé que le HI des variétés modernes est proche d'un maximum théorique (Austin, 1999). Les possibilités d'augmenter le rendement via une augmentation de l'HI semblent donc très limitées. Durant les dernières décennies, la sélection a également consisté à améliorer la qualité boulangère des grains, étroitement liée à leur teneur en protéines.

Le doublement de la production alimentaire mondiale du siècle dernier s'est accompagné d'une multiplication par sept de la nutrition azotée (Tilman, 1999; Cassman et al., 2003; Hirel et al., 2007). L'utilisation massive de fertilisants azotés a un impact environnemental négatif sur la diversité et le fonctionnement des écosystèmes non-agricoles voisins, bactériens, animaux et végétaux (Wallsgrave et al., 1983; Cassman et al., 2003; Hirel et al., 2007). Par exemple, le lessivage de l'azote à la suite de forts taux de fertilisants azotés appliqués sur les champs (Tilman, 1999) a entraîné une eutrophisation de l'eau douce (Giles, 2005) et des écosystèmes marins (Beman et al., 2005). La sur-fertilisation entraîne également des émissions gazeuses d'ammoniac et d'oxydes d'azote, responsables d'une pollution de l'air (Stulen et al., 1998). De plus, l'azote est une ressource partagée par les pathogènes et leur plante hôte. Des teneurs en azote foliaires élevées favorisent le développement de certaines maladies, comme la rouille brune (*Puccinia triticina*) ou la septoriose (*Septoria tritici*; Leitch and Jenkins, 1995) chez le blé d'hiver. La sur-fertilisation entraîne donc une augmentation de l'usage des pesticides.

Depuis une dizaine d'années, les rendements des céréales stagnent malgré un progrès génétique continu (Peltonen-Sainio et al., 2008; études du CTPS -Comité Technique Permanent de la Sélection- et d'Arvalis). Cela résulte en partie d'une réduction de l'utilisation des intrants (fertilisants azotés, pesticides) en lien avec la recherche d'une diminution des coûts pour l'agriculteur et avec une nouvelle politique agricole, visant à une agriculture durable et favorisant pour cela des pratiques plus respectueuses de l'environnement. Néanmoins, les rendements doivent encore augmenter de manière à satisfaire une demande alimentaire croissante: la population mondiale devrait augmenter de 50% d'ici 2050 (Mazoyer, 2007). La nécessité d'augmenter les rendements est d'autant plus forte que les matières premières agricoles doivent également fournir une demande croissante en biocarburants.

Dans ce nouveau contexte, les acteurs du monde agricole doivent trouver des solutions pour augmenter la production tout en diminuant les quantités d'intrants. Il s'agit par exemple de sélectionner des cultivars productifs et ayant une forte efficacité d'utilisation de l'azote, c'est-à-dire une plus grande capacité à produire de la biomasse par unité d'azote disponible dans le sol (Hirel et al., 2007). Durant le siècle dernier, la sélection variétale a été très empirique et n'a pas essayé de comprendre les changements métaboliques accompagnant l'augmentation du HI ou de la teneur en protéines des grains. Aujourd'hui, il existe un consensus sur le fait que l'orientation de la sélection doit s'appuyer sur la compréhension des

mécanismes biologiques régissant la productivité et l'utilisation de l'azote par les plantes (Lawlor, 2002). Des efforts importants sont réalisés pour associer différentes disciplines scientifiques comme la génétique, l'écophysiologie et la modélisation pour comprendre ce qui détermine le rendement, l'efficacité d'utilisation de l'azote et la teneur en protéines.

A travers une meilleure compréhension des mécanismes régissant les dynamiques de l'azote dans la plante, on espère ouvrir de nouvelles perspectives pour améliorer les itinéraires techniques et sélectionner des cultivars plus productifs. En effet, l'azote est un nutriment essentiel au développement de la plante et à sa productivité. La nutrition azotée régule tout d'abord l'établissement de la surface foliaire de la culture. Elle détermine également la masse d'azote par unité de surface foliaire et ainsi l'activité photosynthétique puisque l'essentiel de l'azote foliaire est utilisé dans l'appareil photosynthétique (Evans, 1989). Les dynamiques d'azote dans la plante conditionnent également la qualité des grains (propriétés rhéologiques, teneur en gluten qui est essentielle à la fabrication du pain) déterminée par leur teneur en protéines. Après la floraison, l'azote des tissus végétatifs est en effet remobilisé vers les grains en croissance (Triboï and Triboï-Blondel, 2002).

Une des stratégies proposées pour augmenter la production est d'augmenter la masse sèche végétale globale par unité de surface de sol (Shearman et al., 2005). Cela peut passer par une augmentation du prélèvement racinaire d'azote et de son stockage, qui permet de retarder la sénescence des plantes au cours du remplissage des grains (Hirel et al., 2007). Par exemple, les cultivars présentant le caractère « stay-green », c'est-à-dire une augmentation de la durée de vie verte (et photosynthétique) après la floraison, se caractérisent souvent par une augmentation du prélèvement racinaire d'azote et une augmentation de la capacité de stockage d'azote dans les feuilles (Borrell and Hammer, 2000; Borrell et al., 2001). Ce phénotype conduit généralement à des rendements plus élevés que ceux des cultivars normaux, en particulier en cas de stress hydrique (Borrell et al., 2000; Thomas and Howarth, 2000; Spano et al., 2003). Une autre possibilité pour augmenter la masse sèche des plantes serait d'optimiser la distribution de l'azote entre les organes photosynthétiques, en relation avec la distribution de la lumière dans le couvert, de manière à maximiser l'assimilation du carbone (Mooney and Gulmon, 1979; Field, 1983). Du fait des fonctions multiples de l'azote dans la plante, chaque stratégie implique des effets multiples, en partie antagonistes, ce qui limite l'efficacité de raisonnements purement qualitatifs.

Les modèles écophysiologiques peuvent être des outils efficaces pour la conception de nouvelles stratégies. Ces modèles simulent de façon quantitative les effets de conditions environnementales et/ou de génotypes sur des variables d'intérêt comme le rendement ou la qualité des grains. Ils permettent ainsi à la fois de gagner du temps par rapport aux expérimentations et de tester une plus large gamme de conditions que celles accessibles par expérimentation. Ces modèles reposent sur la recherche d'un compromis entre une description des processus et une faible complexité. La représentation des processus doit être suffisamment simple pour que les variables d'entrée soient facilement accessibles. Aujourd'hui, la diversification des questions à résoudre, l'accroissement des connaissances sur le fonctionnement des plantes, le renouvellement des concepts en modélisation comme en biologie, le développement des capacités de calcul numérique font que les termes de ce compromis sont bouleversés.

Les modèles agronomiques usuels (Brisson et al., 1998; Jamieson et al., 1998; Gabrielle et al., 1998a; Jamieson and Semenov, 2000; Martre et al., 2006) ont été conçus à une époque où la question de simuler de façon précise les conséquences attendues de nouveaux traits variétaux, de nouvelles pratiques ou d'un changement de climat ne se posait pas avec l'acuité actuelle. Ils se situent à une échelle de description trop agrégée et insuffisamment mécaniste pour simuler le fonctionnement d'un génotype particulier dans une gamme de conditions de

cultures et de conditions climatiques. Les paramètres de ces modèles ne sont en effet pas spécifiques au génotype mais traduisent le résultat d'interactions entre le génotype et l'environnement. L'intérêt de ces modèles est néanmoins de pouvoir prédire ce qui se passe à l'échelle de la culture qui est l'échelle d'intérêt pour la production végétale. En cela, ils diffèrent des approches physiologiques qui se focalisent sur les processus biologiques au niveau des tissus mais qui ne peuvent prendre en compte toutes les interactions se produisant au sein du système plante ainsi qu'entre les plantes constituant le peuplement.

L'approche structure-fonction se pose en médiatrice possible entre l'échelle de la physiologie et celle du peuplement végétal. Elle consiste à modéliser le fonctionnement de la plante (comme les transferts de carbone et d'azote) dans une structure botaniquement réaliste. Elle permet ainsi de prendre en compte le microenvironnement au sein duquel se développe et vit chaque entité botanique de la plante et qui conditionne son fonctionnement. Dans cette approche, la plante est traditionnellement perçue comme un ensemble d'entités semi-autonomes, fonctionnant selon leur microenvironnement, et non comme un système centralisé. Le micro-environnement de chaque entité correspond à la fois au microclimat externe à l'entité, comme la lumière ou la température, et à l'environnement interne de la plante (disponibilité en carbone et azote) auquel elle est en contact et qui dépend du fonctionnement des autres entités de la plante. Cette approche diffère ainsi des approches agronomiques usuelles qui raisonnent à l'échelle d'un peuplement végétal homogène soumis à un environnement homogène. Jusqu'à aujourd'hui, cette approche a surtout été utilisée pour étudier la réponse de la plante à son environnement externe (prospection des ressources), mais peu de travaux ont exploité ses possibilités en terme d'étude des régulations et des transferts internes à la plante.

Ce projet de thèse consiste à proposer et évaluer une modélisation dite « mécaniste » des dynamiques d'azote au sein des parties aériennes d'une plante de blé cultivée en peuplement en réponse à des modifications dans l'environnement climatique de la plante et de sa nutrition azotée. L'approche adoptée est l'approche structure-fonction. Il s'agit de prendre en compte des processus de fonctionnement décrits à l'échelle locale et de les intégrer au sein d'une représentation botaniquement réaliste de la plante entière. Le modèle doit être fondé sur l'explicitation de processus physiologiques mais doit rester suffisamment simple pour ne pas multiplier le nombre de paramètres et de variables.

Nous avons choisi de nous focaliser sur la phase post-floraison. C'est la phase au cours de laquelle ont effectivement lieu les transferts de carbone et d'azote vers les grains. De plus, la structure végétative de la plante est acquise à la floraison, ce qui évite d'avoir à prendre en compte l'allocation de l'azote aux structures végétatives en croissance. Le travail de thèse permettra également d'évaluer la pertinence de l'approche structure-fonction pour le développement de modèles mécanistes « simples » de transferts d'azote dans la plante.

Ce manuscrit s'organise en cinq chapitres. Le premier est une analyse bibliographique dans les domaines de la physiologie et de l'écophysiologie, qui précise les enjeux et l'état des connaissances. A l'issue de ce chapitre, un schéma de modélisation de la dynamique de l'azote au sein d'une plante a été proposé. Les chapitres deux et trois présentent les résultats obtenus au cours de deux expérimentations qui comblent certaines lacunes de la littérature en approfondissant respectivement les aspects spatiaux et temporels de cette dynamique chez le blé en post-floraison. Le modèle lui-même est présenté et évalué dans le chapitre quatre. Le chapitre cinq est une discussion générale de la démarche et des résultats, et dresse les principales perspectives. La conclusion fait un bilan de l'approche structure-fonction pour la simulation de la régulation des dynamiques d'azote dans des modèles individus-centrés de peuplements végétaux.

CHAPITRE I

Analyse bibliographique

Analyse bibliographique

Ce chapitre est organisé en cinq parties :

(i) La première partie présente le développement d'une culture de blé et l'élaboration du rendement et de la qualité des grains. Cette partie permet d'introduire la structure de la plante dans laquelle a lieu les dynamiques d'azote (N) et de souligner l'importance de la phase post-floraison dans la production. Nous avons choisi tout d'abord de présenter la structure d'une plante de blé, de manière à introduire les définitions, puis de donner un rappel sur la façon dont cette structure s'est élaborée et sur sa « régression » au cours de la période de remplissage des grains. Nous détaillerons ensuite l'élaboration du rendement et de la teneur en protéines des grains en lien avec la croissance visible des plantes, et enfin, l'importance des phases pré- et post-floraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains.

(ii) La deuxième partie présente les principaux processus physiologiques qui régissent les dynamiques de N au sein de la plante et qu'il faut prendre en compte dans un modèle. Nous présenterons d'abord une vue générale de l'économie de N dans la plante. Ensuite, nous en détaillerons trois aspects essentiels:

- l'existence d'un cycle permanent de N au sein de la plante,
- l'implication du N foliaire dans la photosynthèse,
- le processus de sénescence au niveau d'une feuille.

Enfin, la distribution de N entre les différentes entités de la plante, leur contribution à la production de carbone (C) de la plante et au remplissage en C et N des grains seront quantifiées. Les processus présentés existent chez la plupart des espèces. Cependant, nous nous focaliserons sur les céréales pour ne pas aborder les processus spécifiques à d'autres familles, comme la réduction du N₂ atmosphérique chez les légumineuses.

(iii) La troisième partie traite de la variabilité des teneurs en N des tissus végétatifs, de la sénescence foliaire et du remplissage en N des grains résultant des facteurs de l'environnement ou internes à la plante. Des facteurs exogènes sont considérés, principalement la lumière, la nutrition azotée et des stress divers (hydriques, maladies), ainsi que des facteurs endogènes principalement liés au génotype considéré.

(iv) La quatrième partie présente le principe de quelques grands types de modèles qui ont été développés jusqu'à aujourd'hui, leurs possibilités et leurs limites vis-à-vis de leur prise en compte des processus et facteurs régissant les dynamiques de N dans la plante. Nous présenterons tout d'abord les modèles basés sur les théories d'optimisation et de coordination, puis les modèles compartimentaux conçus pour les cultures annuelles. Enfin, nous introduirons les modèles dits de « plantes virtuelles », basés sur une approche structure-fonction, ainsi que les premiers modèles de dynamique de N développés dans le cadre de cette approche.

(v) Une dernière partie présente le schéma conceptuel du modèle que nous avons établi à partir de cette analyse bibliographique.

I. LA PLANTE DE BLE ET L'ELABORATION DU RENDEMENT ET DE LA QUALITE DES GRAINS

I.1. La structure d'une plante de blé à floraison

Une plante de blé est constituée d'un ensemble de brins (ou axes, ou talles) qui comportent chacun une partie végétative, la tige feuillée, une partie reproductrice, l'épi et un système racinaire. Le premier brin formé est appelé brin maître, et existe déjà à l'état embryonnaire dans la graine. Les autres brins sont des ramifications issues du brin maître.

Je présente ici uniquement la structure de la partie arienne de la plante, car les dynamiques de N au sein du système racinaire ne sont pas explicitement prises en compte dans mon travail. La structure est présentée à floraison (ou anthèse), c'est-à-dire au moment où les anthères viennent d'apparaître et à l'issue duquel le pollen est libéré. La floraison précède immédiatement le développement des grains, et marque la fin de la croissance des entités végétatives: seul le pédoncule de l'épi poursuit son extension durant encore quelques jours. A ce moment, la structure végétative présente une proportion maximale de tissus vivants. Tous les brins sont indépendants les uns des autres sur le plan trophique.

a. La tige feuillée

La figure 1 représente la structure d'une tige feuillée après la floraison d'une talle de blé.

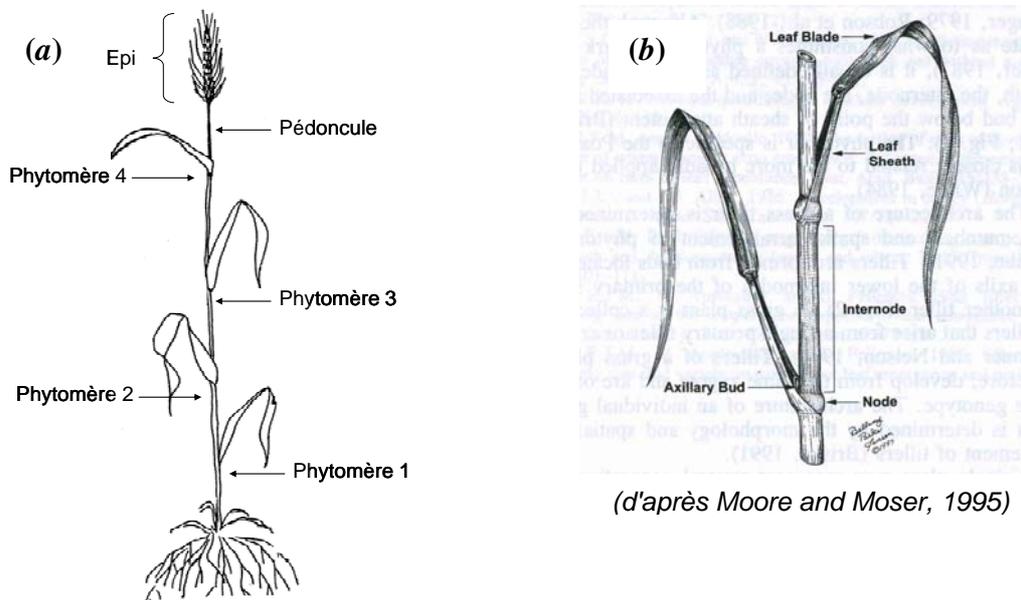


Figure 1. Représentation d'une talle de blé après la floraison. Une talle est constituée d'un assemblage d'unités morphologiques similaires, les phytomères, surmonté du pédoncule de l'épi et de l'épi (a). Chaque phytomère est potentiellement constitué, du bas vers le haut, d'un nœud portant un bourgeon axillaire et des racines nodales, d'un entre-nœud, d'une gaine foliaire et d'un limbe foliaire (b). Les phytomères inférieurs n'ont pas d'entre-nœuds allongés et les nœuds exposés à la lumière ne portent pas de racines

La partie végétative est un assemblage d'unités morphologiques similaires, les phytomères, surmontés à la floraison par le pédoncule de l'épi et l'épi (Fig. 1a). Un phytomère est constitué de plusieurs entités botaniques, qui sont, du bas vers le haut: le nœud, portant éventuellement un bourgeon axillaire et des racines nodales, l'entre-nœud, la gaine et le limbe (Fig. 1b). L'ensemble limbe plus gaine correspond à la feuille. Limbe et gaine sont séparés par la ligule. Seuls les 3 ou 4 entre-nœuds supérieurs s'allongent. Ils forment la tige. Les entre-nœuds inférieurs restent très courts et la base de la tige est formée d'un empilement de nœuds peu distinguables, à partir desquels se développent les racines dites nodales. Les racines ne se développent pas sur les nœuds des phytomères situés au dessus du sol, car leur développement est inhibé par la lumière. Seul le dernier entre-nœud et le pédoncule présentent généralement une partie visible, les autres entre-nœuds de la tige sont entièrement entourés par les gaines foliaires.

b. L'épi

L'épi de blé présente, tout comme la tige feuillée, une structure modulaire qui s'organise le long d'un axe central, le rachis. Le rachis est l'homologue de la tige (Fig. 2 ; Soltner, 1998): des épillets se succèdent de part et d'autre du rachis, chacun entouré par deux écailles symétriques, les glumes (Fig. 2a,b); chaque épillet contient des fleurs (2 à 8 généralement) qui comportent chacune une enveloppe constituée de deux glumelles (Fig. 2c) renfermant l'ovaire, le stigmate et les étamines portant les anthères. Après fécondation, la chambre formée par les deux glumelles protège le grain en croissance. A la récolte, glumes et glumelles ainsi que le rachis de l'épi sont appelés balles.

Les glumes de certaines variétés dites barbues, se terminent par une pointe allongée appelée barbe. C'est le cas par exemple chez la variété Soissons (Fig. 2a) utilisée dans nos expérimentations; au contraire la variété CapHorn (Fig. 2b), que nous avons également utilisée, est « non barbue ».



Soissons **CapHorn**
(données personnelles
non publiées)

Structure d'un épillet
(glumes et glumelles écartées; Soltner, 1998)

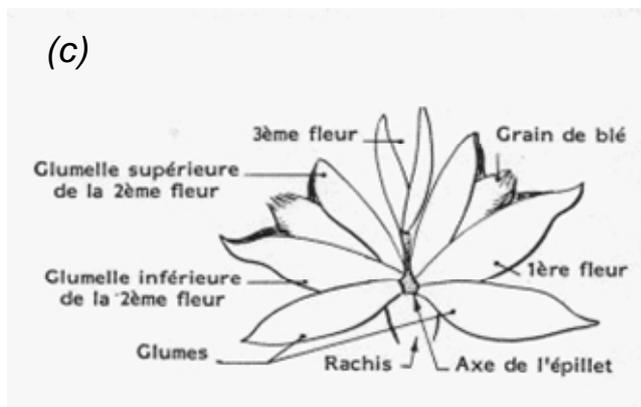


Figure 2. Structure d'un épi de blé. L'épi est formé d'une succession d'épillets, Un épillet est constitué de deux glumes qui portent (a) ou non (b) des barbes et renferment plusieurs fleurs, constituées chacune de deux glumelles renfermant un grain après fécondation (c).

I.2. La dynamique de la structure végétative

Le développement et l'extension d'une entité botanique s'accompagnent de sa croissance en masse. Celle-ci se prolonge au moins quelque temps après la fin de l'extension. Dans une phase suivante, import et export de constituants s'équilibrent approximativement et l'entité a une masse et une composition à peu près stable ; enfin a lieu une remobilisation des constituants vers les nouveaux organes en croissance (nouvelles entités végétatives avant la floraison ou grains après la floraison) au cours d'un processus appelé sénescence et qui aboutit à la mort des tissus. Compte tenu des processus concomitants de développement, d'extension et de sénescence, un brin maître de blé à floraison présente 3 ou 4 feuilles totalement vertes alors que 11 ou 12 feuilles ont généralement été formées. Après la floraison, la sénescence foliaire se poursuit en lien avec le remplissage des grains et aboutit à la mort quasi-complète des structures végétatives à la récolte.

a. Le développement et l'extension d'un brin

Dans l'embryon, il existe déjà une ébauche du brin maître, comprenant 3 phytomères et un apex. Après la levée, l'apex génère les phytomères suivants. Au cours du développement et de l'extension d'un brin, plusieurs processus se déroulent en parallèle (Sharman, 1942) et génèrent la construction acropétale du brin:

- (i) au niveau de l'apex, des primordiums, qui donneront naissance aux différents phytomères, se forment successivement ;
- (ii) au niveau de chaque primordium, feuille, bourgeon et disque nodal se différencient successivement ; chaque feuille se différencie successivement en limbe et gaine, et chaque disque nodal se différencie en entre-noeud, noeud et méristème racinaire ;
- (iii) au niveau de chaque phytomère, limbe et gaine s'allongent successivement ainsi qu'éventuellement entre-noeud, bourgeon axillaire et racines adventices.

Le bourgeon axillaire présent sur chaque phytomère peut donner naissance à une talle qui émerge de la gaine du phytomère précédent. Les talles ont le même schéma de développement et d'extension que le brin maître (Masle and Sebillotte, 1981; Klepper et al., 1982). Ainsi, toutes les talles portent des bourgeons axillaires qui donneront naissance à des talles d'ordre supérieur. Les talles issues des bourgeons du brin maître sont qualifiées de primaires, celles issues des talles primaires de secondaires, et ainsi de suite. Pour une plante de blé cultivée en champs, la majorité des talles formées régresse si bien qu'à la floraison, la plante présente usuellement deux à trois talles.

La figure 3 représente la structure d'une plante de blé au stade végétatif dont la cinquième feuille et trois talles sont apparues.

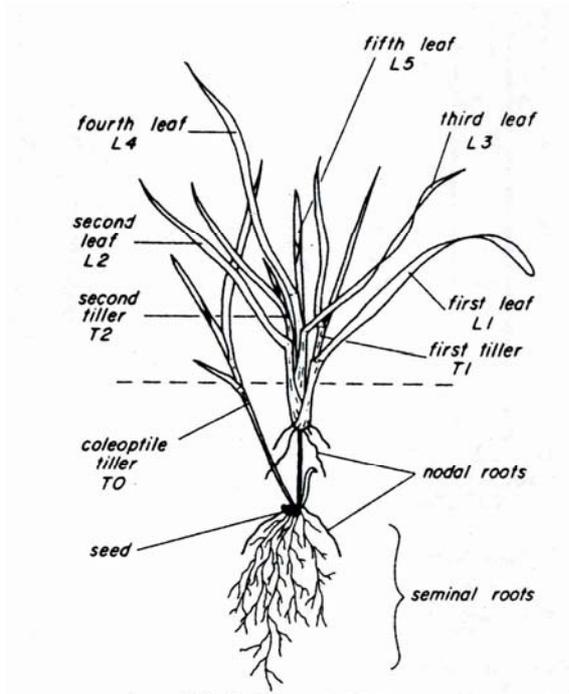


Figure 3. Agencement des talles chez une plante de blé. Les feuilles du brin maître (L) sont ici numérotées selon leur ordre d'apparition et les talles (T) selon le numéro de la gaine foliaire de laquelle ils sortent. T0 est la talle sortant d'une première feuille très courte, le coléoptile (Klepper et al., 1982).

L'extension des trois ou quatre derniers entre-nœuds formés ainsi que du pédoncule de l'épi provoque la montée et finalement l'émergence de l'épi. La sortie de l'épi de la gaine de la dernière feuille (c'est l'épiaison) a lieu peu après la ligulation de la dernière feuille et s'accompagne, peu de temps après, de l'anthesis.

b. La croissance et la sénescence

La croissance et la sénescence d'une feuille sont étroitement liées à son activité importatrice et exportatrice de C et N. Thomas et Smart (1993) l'ont illustré par la figure 4 qui représente les différentes phases la vie de la feuille.

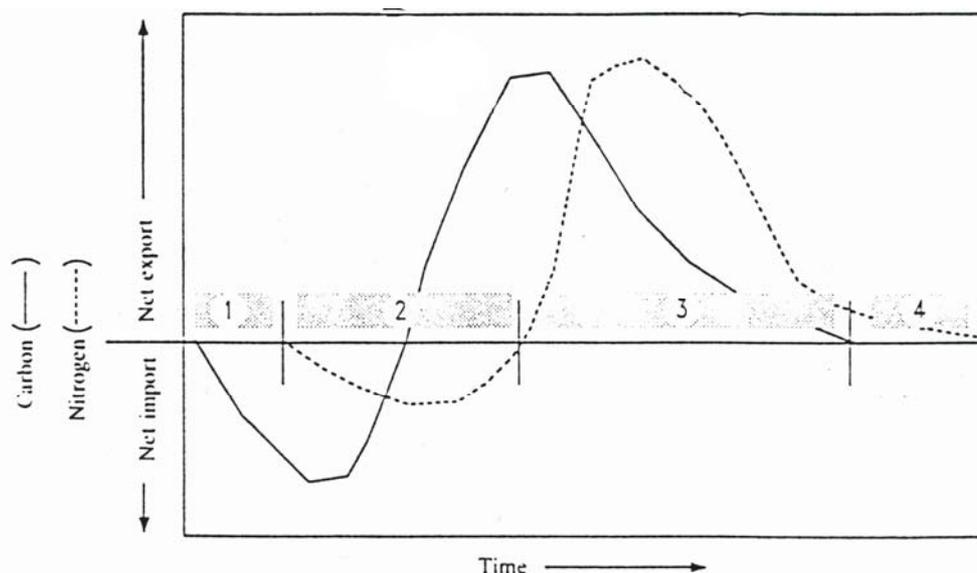


Figure 4. Import et export de C et N depuis l'initiation d'une feuille jusqu'à sa mort. Les phases 1 à 4 correspondent respectivement aux phases juvéniles, photosynthétiques, de sénescence réversible et de sénescence non réversible du développement de la feuille (Thomas et Smart, 1993).

Au début de la vie de la feuille, celle-ci est cachée au sein de la gaine de la feuille précédente et croît grâce au C et au N provenant du reste de la plante (*phase 1*). Une fois exposée à la lumière, la feuille devient progressivement autotrophe vis-à-vis du C et, une fois ligulée, exporte celui-ci vers le reste de la plante (*phase 2*). L'import de N peut se poursuivre un peu de temps après la ligulation de la feuille, mais finalement celle-ci devient majoritairement exportatrice de N au cours du processus de sénescence (*phases 3 et 4*). L'intégrité physiologique est tout d'abord maintenue (*phase 3*) puis les tissus meurent (*phase 4*). Le N exporté est utilisé pour la croissance des jeunes feuilles ou des entrenœuds avant la floraison, et la croissance des grains après la floraison.

Au cours de la première phase de sénescence, les tissus foliaires se caractérisent par une diminution de l'intensité de leur couleur verte et l'apparition d'une couleur jaune. Au cours de la deuxième phase, ils deviennent nécrotiques. Cette zone nécrotique progresse de la pointe vers la base des limbes (Fig. 5) Au niveau d'un brin, la mort des feuilles a lieu séquentiellement et de façon acropétale avant la floraison, et la sénescence est qualifiée de séquentielle. Après la floraison, la mort des feuilles n'a pas forcément lieu de manière séquentielle et la sénescence est qualifiée de monocarpique, en lien avec la croissance des grains. Nous n'avons pas trouvé de description de la progression de la sénescence pour les autres entités que les limbes foliaires, comme les gaines ou les entre-nœuds. Néanmoins, à maturité, la majorité des tissus de la plante sont nécrotiques.



Figure 5. Progression de la sénescence sur le limbe de la septième feuille de blé (*données personnelles non publiées*)

I.3. Les phases de développement de la culture en lien avec l'élaboration du rendement et de la teneur en protéines des grains

La transition florale (stade double ride) marque le début de la formation de l'épi et la fin de la formation de nouveaux phytomères végétatifs. Cette transition se produit tôt au cours de la vie de la plante (au cours du tallage). A ce stade, la plante présente 5 à 6 feuilles visibles. Le nombre final de feuilles est défini, mais les structures végétatives continuent à croître jusqu'à la floraison. Ainsi, au cours de la vie de la plante deux processus se déroulent en parallèle:

- (i) la formation et la croissance des structures végétatives ;
- (ii) le développement et la croissance de l'épi (ou inflorescence) qui reste caché par les structures végétatives jusqu'à l'épiaison (Slafer and Rawson, 1994; Soltner, 1998).

Ces deux processus conditionnent l'élaboration du rendement et de la qualité des grains en réponse aux conditions environnementales. Le cycle entier de la culture est impliqué: à la fois la phase avant la floraison et la phase post-floraison.

La figure 6 présente, en parallèle, la croissance visible de nouveaux organes au niveau d'une plante de blé, le développement et la croissance interne à la plante de l'épi ainsi que l'élaboration progressive du rendement en grains.

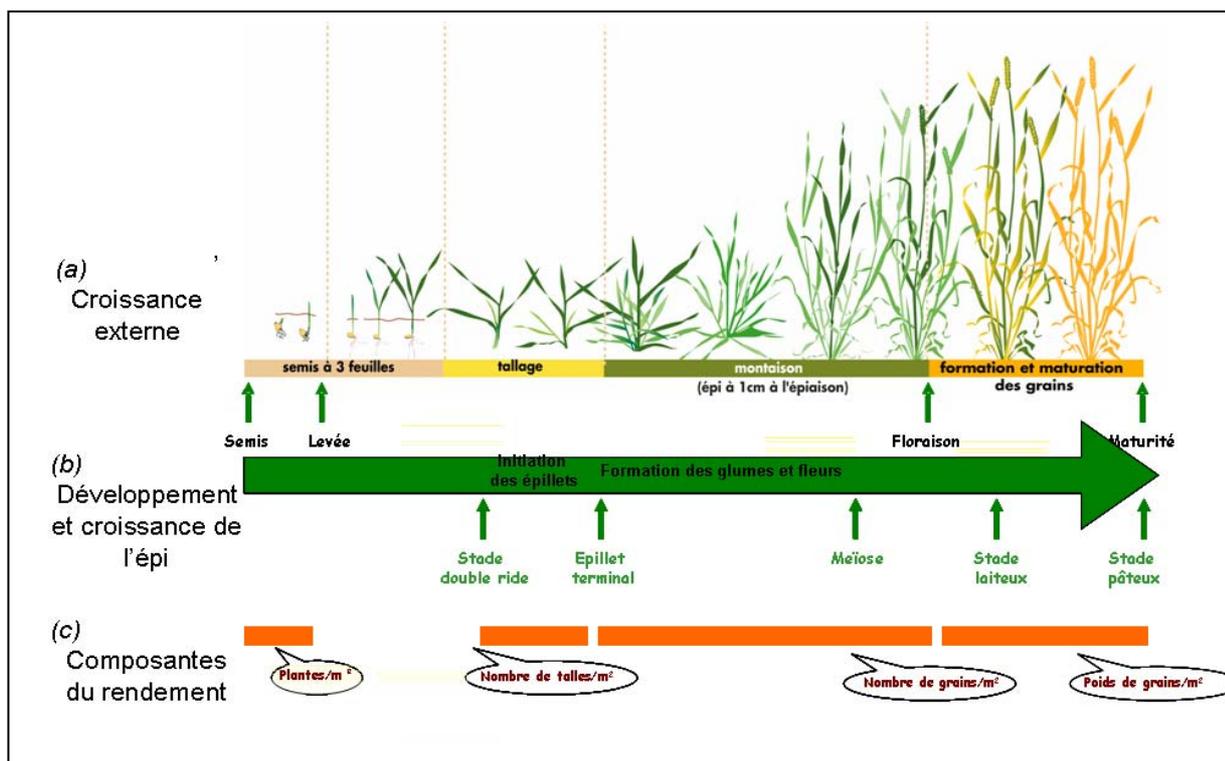


Figure 6. Croissance externe des organes d'une plante de blé, développement et croissance internes à la plante de l'épi et élaboration du rendement en grains. (d'après Slafer et Rawson, 1994 ; Soltner, 1998).

a. Le développement apparent de la plante et les stades agronomiques

Les stades agronomiques se fondent sur des différenciations facilement observables de la structure de la plante. Quatre périodes se distinguent clairement (Fig. 6a) :

- (i) après le semis, la première feuille apparaît à la surface du sol et le brin maître commence à croître, c'est la levée;
- (ii) à partir de trois ou quatre feuilles visibles, des talles commencent à apparaître ; c'est la période de tallage ;
- (iii) les derniers entre-nœuds formés s'allongent et la culture acquiert de la hauteur ; c'est la montaison
- (iv) la floraison a lieu, suivie de la formation, du remplissage et de la maturation des grains.

b. Le développement et la croissance de l'épi

De manière interne à la plante, l'initiation florale provoque la formation, au niveau de l'apex, des ébauches d'épillets, puis la différenciation et la croissance des glumes, des glumelles, et des ébauches d'étamines et de stigmates, et enfin la méiose. Cela se produit en parallèle de la croissance des structures végétatives (Kirby, 1985; Soltner, 1998 ; Fig. 6b): la formation des ébauches d'épillets a lieu dès le tallage, la différenciation des glumes, des glumelles, étamines et stigmates a lieu au cours de la montaison et, enfin, la méiose se produit au moment de la ligulation de la dernière feuille.

Après la floraison, l'ovule fécondé subit, dans un premier temps, une phase de multiplication cellulaire intense au cours de laquelle il accroît sa masse d'eau et de matière sèche. Cette phase dure environ 250 degrés jours (Gleadow et al., 1982; Singh and Jenner, 1982) et aboutit au stade laiteux. Dans un deuxième temps, les grains formés s'enrichissent en glucides et protéines tandis que le poids d'eau dans le grain demeure constant. Cette phase de croissance rapide en masse aboutit au stade pâteux. Enfin, les grains se déshydratent et la récolte a généralement lieu lorsque les grains ont atteint une teneur en eau d'environ 15%.

c. L'élaboration du rendement et de la qualité des grains

Les quatre périodes de croissance mentionnées plus haut définissent une série d'étapes simples, utiles pour comprendre et modéliser l'élaboration du rendement. A partir d'une densité de semis initiale, la masse sèche finale de grains par m² ($MS_{\text{grains}} \text{ m}^{-2}$) peut se décomposer de la manière suivante:

$$MS_{\text{grains}} \text{ m}^{-2} = NB_{\text{plantes}} \text{ m}^{-2} \times NB_{\text{talles}} \text{ plante}^{-1} \times (NB_{\text{épi}} \text{ talle}^{-1} \times NB_{\text{grains}} \text{ épi}^{-1}) \times MS_{\text{1grain}} \quad (1)$$

Les quatre premières composantes s'élaborent pendant la phase végétative (Fig. 6c):

- (i) le nombre de plantes levées par m² ($NB_{\text{plantes}} \text{ m}^{-2}$) ;
- (ii) le nombre de talles formées par plante ($NB_{\text{talles}} \text{ plante}^{-1}$) au cours du tallage, reflétant le nombre d'épis formés (portant des épillets) ;
- (iii) le nombre de talles qui survivent au cours de la montaison : il est défini, dans l'équation, par le nombre d'épis formés par talle apparue ($NB_{\text{épi}} \text{ talle}^{-1}$) ; cela reflète le nombre d'épis portant des épillets ayant formé des ébauches de fleurs ;

- (iv) le nombre de grains formés par épi ($NB_{\text{grains}} \text{ épi}^{-1}$) au cours de la montaison, qui reflète le nombre de fleurs fertiles par épi.

Le déroulement de la phase préfloraison détermine un certain nombre de grains par m^2 ainsi qu'une certaine quantité de tissus photosynthétiques pour remplir ces grains en C et en N (via le processus de sénescence) au cours de la phase post-floraison.

La masse sèche d'un grain (MS_{grain}) est la seule composante du rendement à s'élaborer après la floraison. Durant cette dernière phase, la croissance en masse des grains est étroitement liée à leur accumulation en C, stocké sous forme d'amidon. En effet, les glucides peuvent représenter plus de 80% de la masse en grains, tandis que les protéines des grains (qui contiennent également du C) ne représentent que 9 à 18% chez le blé. L'essentiel du C des grains provient directement de la photosynthèse des organes de la plante, et non de la remobilisation des substances carbonées déjà présentes dans les organes (Wardlaw, 1990).

La période après la floraison détermine également le contenu en N des grains. A la différence du C, le N des grains provient de la remobilisation du N des parties végétatives en cours de sénescence ou directement de l'absorption racinaire (Masclaux et al., 2001; Triboï and Triboï-Blondel, 2002). L'absorption de N en post-floraison contribue de 0 à 60% au N contenu dans les grains à maturité. Cette fraction varie en fonction (1) de l'état nutritionnel de la plante à floraison, (2) de la disponibilité en N et en eau dans le sol au cours du remplissage des grains (Martre P., communication personnelle). Le N est stocké dans les grains sous forme de protéines. Les protéines de réserve (gliadines et gluténines) représentent environ 80% des protéines du grain (Shewry, 2007).

La concentration en protéines des grains est étroitement liée à l'accumulation de masse sèche par les grains et une relation négative est généralement observée entre la concentration en protéines et la masse d'un grain (Triboï and Triboï-Blondel, 2002). Cette relation négative est illustrée par la figure 7 qui établit la masse d'un grain de blé en fonction de sa concentration en protéines pour la variété Thésée dans différentes conditions de température et d'irrigation (expérimentations décrites dans Triboï et al., 2006). Cette variabilité peut s'expliquer de la manière suivante. De fortes températures ou un stress hydrique diminuent la durée de la phase post-floraison et donc la quantité de C assimilée par la plante et disponible pour les grains. Mais, la quantité de N transférée vers les grains n'est pas affectée par la diminution de la durée de la phase post-floraison car la vitesse de remobilisation de N depuis les tissus végétatifs est plus rapide (Dupont et al., 2006). Ainsi, la teneur en protéines d'un grain augmente.

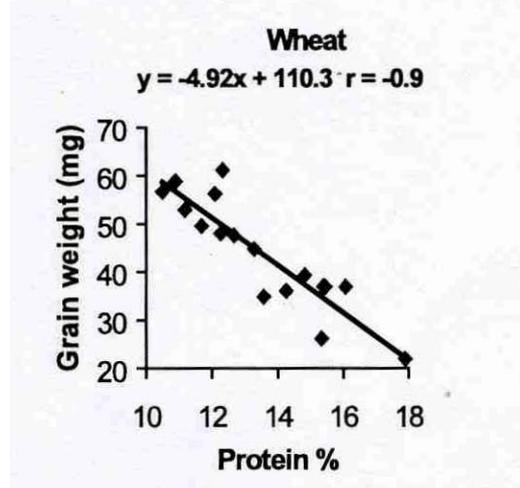


Figure 7. Relation négative entre les teneurs en composés azotés et carbonés dans les grains de blé en réponse à différentes conditions de température et d'irrigation (Triboï et Triboï-Blondel, 2002).

I.4. Les phases préfloraison et post-floraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains

Comme détaillé précédemment, la phase préfloraison détermine le nombre de grains formés par m² ainsi que la quantité de tissus assimilateurs de C et contenant du N qui vont remplir les grains après la floraison. Les deux variables, nombre de grains et masse sèche à floraison dans les structures végétatives sont étroitement corrélées. Les deux causes suivantes peuvent être avancées : (i) elles sont élaborées en même temps si bien que leur élaboration est soumise aux mêmes conditions environnementales ; (ii) la quantité de tissus photosynthétiques dans la plante détermine la quantité de C disponible pour la formation des organes reproducteurs.

La phase préfloraison a généralement été considérée comme déterminante dans l'élaboration du rendement en grains. En effet, le rendement est souvent très bien corrélé au nombre de grains formés qui se détermine avant la floraison alors qu'il est mal corrélé au poids individuel d'un grain qui se détermine après la floraison (Fischer, 1985; Kirby, 1988; Siddique et al., 1989; Savin and Slafer, 1991; Abbate et al., 1995; Sinclair and Jamieson, 2006). D'ailleurs, durant le siècle dernier, le progrès génétique, qui a abouti à une augmentation du HI, a surtout consisté à augmenter le nombre de grains par m² alors que la masse sèche d'un grain est restée stable ou a même légèrement diminué (Austin et al., 1989; Siddique et al., 1989).

Néanmoins, les relations observées entre nombre de grains et rendement sont empiriques et le nombre de grains n'est pas le facteur déterminant de leur masse sèche (Sinclair and Jamieson, 2006). La relation entre nombre de grains et rendement est vraisemblablement le résultat indirect de leur détermination commune par la quantité de tissus formés à floraison. Il en résulte que la phase post-floraison est tout aussi importante que la phase préfloraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains.

Voici comment le rendement et la teneur en protéines des grains sont affectés par les conditions environnementales en pré- et post-floraison, et comment la phase post-floraison ouvre des possibilités pour augmenter les rendements.

a. La préfloraison et la post-floraison dans la détermination du rendement et de la teneur en protéines des grains

L'environnement affecte le rendement et la teneur en protéines des grains en modifiant la durée des phases préfloraison et post-floraison ainsi que la disponibilité en ressources nécessaires à la croissance de la plante pendant ces deux phases. Ainsi, la durée de la phase préfloraison est diminuée par une longue vernalisation (températures basses avant la transition florale) ou l'allongement de la photopériode ou l'augmentation de la température. Cela affecte le nombre de grains par m² à floraison (Abbate et al., 1995; Gonzalez et al., 2005). Une augmentation de la température diminue également la durée de la phase post-floraison. Cela engendre une variabilité dans le poids moyen d'un grain. Par exemple, à maturité, le poids moyen d'un grain de blé est plus élevé sous le climat froid de Nouvelle-Zélande (>50 mg) que sous le climat chaud d'Australie (<35 mg) (Sinclair and Jamieson, 2006). Triboï et Triboï-Blondel (2002) ont quantifié une diminution du rendement chez le blé de 27% en lien avec une augmentation de la température d'environ 10°C après la floraison. En revanche, la quantité de protéines par grain diminue uniquement de 9% pour le même écart de température. Cela engendre une augmentation de la teneur en protéines des grains de 25%.

La compétition pour les ressources avant la floraison détermine le nombre de talles produits par plante et, pendant la période de montaison, la quantité de talles et de fleurs qui meurent et ainsi le nombre de grains à la floraison (Austin, 1980; Masle and Sebillotte, 1981; Fischer and

Stockman, 1986; Kirby, 1988; Sinclair and Jamieson, 2006; Fischer, 2008). Après la floraison, un stress hydrique ou un faible niveau de rayonnement provoque une diminution de la masse sèche des grains (Jamieson et al., 1995; Gooding et al., 2003) mais n'affecte pas la quantité de protéines (Triboï and Triboï-Blondel, 2002). Enfin, la nutrition azotée après floraison a un effet positif sur la quantité de protéines par grain (Triboï and Triboï-Blondel, 2002), alors qu'elle affecte très peu la masse sèche d'un grain.

En conséquence, des conditions défavorables en post-floraison comme des fortes températures, une faible nutrition azotée, un stress hydrique ou un ombrage ont pour conséquence de diminuer le rendement, et la relation empirique usuelle entre nombre de grains et rendement se trouve alors en défaut. Par exemple, des expérimentations avec des déficits en eau montrent clairement l'incapacité d'un nombre de grains élevés à maintenir un rendement élevé (Jamieson et al., 1995; Gooding et al., 2003).

Les maladies tardives comme la rouille (*Puccinia triticina*) ou la septoriose (*Septoria tritici*) perturbent également le remplissage des grains en diminuant le HI et l'acquisition de N par la plante (Bancal et al., 2007). Leitch et Jenkins (1995) ont observé une perte de rendement liée à la sévérité de la maladie engendrée par *Septoria tritici* pendant le remplissage des grains, qu'ils expliquent par la sénescence prématurée de la feuille drapeau. Une réduction du poids moyen d'un grain était la principale cause de la diminution du rendement.

b. Les possibilités offertes par la phase post-floraison pour augmenter les rendements

Aujourd'hui, certains auteurs considèrent que l'augmentation des rendements doit passer par une augmentation de la masse sèche globale de la plante via une augmentation de la production d'assimilats carbonés (Shearman et al., 2005). Une possibilité pour obtenir cette augmentation de la biomasse produite est d'augmenter la durée de l'activité photosynthétique après la floraison (Hay, 1995; Triboï and Triboï-Blondel, 2002), en particulier en retardant la sénescence (Spano et al., 2003). Les plantes qui maintiennent des tissus verts plus longtemps sont considérées comme présentant le caractère « stay-green ». Pour des plantes comme *Lolium temulentum*, il a été calculé qu'un retard dans le début de la sénescence de deux jours pourrait résulter en une augmentation d'environ 11% de la quantité de C fixé par la plante (Thomas and Howarth, 2000; Spano et al., 2003). Verma et al. (2004) ont montré que le QTL « stay-green » et le rendement co-localisaient chez le blé, et que ces caractères étaient positivement corrélés. Une aptitude à retarder la sénescence peut être particulièrement avantageuse sous des conditions de stress telles que les fortes températures ou le déficit hydrique qui accélèrent la sénescence et ainsi diminuent l'offre en assimilats vers les grains. Ainsi, l'extension de la vie verte des feuilles chez les stay-green de sorgho (*Sorghum bicolor* L. ; Borrell et al., 2000) et de blé dur (*Triticum durum* L. ; Benbella and Paulsen, 1998; Hafsi et al., 2000) était associée avec une augmentation de rendements sous des conditions en eau limitantes.

Une plante de blé est constituée d'un ensemble de brins (ou talles) qui sont indépendants après la floraison et se forment tous suivant un même schéma. Avant la floraison, la formation de chaque brin résulte du développement et de l'extension de phytomères successifs. Chaque phytomère est constitué d'un bourgeon axillaire, d'un nœud, d'un entre-nœud, d'une gaine et d'un limbe. Gaine et limbe sont les deux constituants d'une feuille. La formation de nouvelles feuilles se fait en parallèle de la mort séquentielle des feuilles les plus vieilles. Après la floraison, l'extension de la structure végétative de la plante est achevée mais les feuilles continuent à mourir. La mort des feuilles provient d'un processus de sénescence durant lequel les feuilles remobilisent leur N vers les grains en croissance qui le stocke sous forme de protéines. Cela aboutit à la mort quasi-complète de la plante à la récolte. Les grains acquièrent leur C, stocké sous forme d'amidon, principalement à partir de la photosynthèse courante des organes végétatifs. L'acquisition de C par les grains détermine leur masse sèche.

Le rendement en grains d'une culture de blé s'élabore progressivement au cours des phases pré- et post-floraison. La phase préfloraison a souvent été considérée comme déterminante dans l'élaboration du rendement. Néanmoins, la phase post-floraison est tout aussi importante pour l'élaboration du rendement et de la teneur en protéines des grains que la phase préfloraison. C'est en effet la phase ultime de l'élaboration du rendement en grains qui peut être affectée par tout stress (maladies, sécheresse, ...). De plus, dans un contexte où le HI apparaît proche de son maximum théorique, la compréhension des mécanismes régulant les transferts de C et N pendant cette phase pourrait apporter des solutions pour augmenter le rendement en augmentant la durée de vie des feuilles.

II. LES DYNAMIQUES DE L'AZOTE DANS LA PLANTE

II.1. Vue générale de l'économie de l'azote dans la plante

Nitrate (NO_3^-) et ammonium (NH_4^+) sont les deux principales formes de N assimilées par les espèces non légumineuses (von Wiren et al., 2001). Le nitrate (NO_3^-) est la principale source de N pour des plantes cultivées sur des sols agricoles bien aérés, tandis que le NH_4^+ est la principale source de N dans le cas de sols acides ou imbibés d'eau (comme pour la culture inondée du riz), ou sous des climats froids dans lesquels la nitrification est inhibée. Dans le cas du blé, c'est donc le NO_3^- qui est absorbé majoritairement par les plantes. Cette absorption est un processus actif, qui fait intervenir des transporteurs spécifiques situés dans la membrane plasmique des cellules racinaires (Maillard et al., 1998; Touraine et al., 2001) et nécessite de l'énergie. Je ne le détaillerai pas plus en détail ici.

Les ions NO_3^- sont absorbés par les racines puis assimilés par la plante. L'assimilation consiste en la réduction du N issu des molécules minérales en N intégré dans des acides aminés. Ces acides aminés sont ensuite utilisés pour la formation de macromolécules, comme l'ADN, l'ARN, le NADH ou les protéines. Ils participent à la formation des tissus et sont stockés sous forme de protéines dans les tissus végétatifs ou dans les grains après la floraison. Les principaux aspects de l'économie générale de N dans la plante sont présentés dans ce qui suit et synthétisés dans la figure 8.

a. Assimilation des nitrates du sol

Chez les plantes herbacées, l'assimilation des NO_3^- a essentiellement lieu dans les parties aériennes, même si une partie des NO_3^- peut directement être assimilée dans les racines (Gojon et al., 1994). Pour de jeunes plantes de maïs (10 jours), la contribution des parties aériennes à l'assimilation des nitrates a été quantifiée à 65%, et, pour des jeunes plantes d'orge (<15 jours), entre 70 et 90% (Gojon et al., 1986; Oji et al., 1989). Le nitrate absorbé par les racines, est véhiculé vers les parties aériennes dans les vaisseaux du xylème (Maillard et al., 1998) par le flux transpiratoire (le jour) ou par la pression racinaire (de nuit). Le flux dans le xylème se fait suivant le gradient de potentiel hydrique, c'est-à-dire majoritairement du bas vers le haut de la plante.

L'assimilation du nitrate se fait en trois étapes majeures (Maillard et al., 1998; Masclaux et al., 2001; Morot-Gaudry and Lea, 2001). La première réaction est la réduction des ions nitrate en ions nitrite, qui est catalysée par l'enzyme nitrate-réductase. Les ions nitrite sont alors réduits en ammonium au cours d'une réaction catalysée par l'enzyme nitrite-réductase. L'ammonium est incorporé dans des squelettes carbonés via, notamment, les enzymes glutamine-synthétase (GS) et glutamate-synthétase (GOGAT) pour former les acides aminés glutamine (Gln) et glutamate (Glu). Gln et Glu peuvent alors donner naissance à d'autres acides aminés, comme l'asparagine dont la proportion est élevée chez le blé.

b. L'azote de structure et les protéines foliaires

Les acides aminés sont utilisés pour la formation des tissus ou stockés sous forme de macromolécules, en particulier des protéines (Lawlor et al., 2001). Le N impliqué dans la

structure des tissus est généralement considéré comme stable et sa quantité constante après que le tissu ait achevé sa croissance. Par contre, ce n'est pas le cas du N des protéines: en effet, les protéines ont un temps de vie plus court que celui des cellules (Davies, 1982; Brouquisse et al., 2001: demi-vie moyenne des protéines chez les jeunes feuilles de *Lemna minor* estimée à 7 jours). Les protéines, et ainsi le N qui les constitue, sont soumises à un turnover permanent (Mae et al., 1983; Gallais et al., 2006) résultant de processus parallèles de synthèse et de dégradation. La quantité intracellulaire de N reflète l'équilibre entre ces deux taux. Les déplacements de cet équilibre permettent d'interpréter les variations de la quantité de N au cours de la vie d'une feuille (exposées dans I.2.b): celle-ci est majoritairement importatrice de N quand elle est en train de se former, mais majoritairement exportatrice de N pendant la phase de sénescence (Thomas and Smart, 1993).

Les acides aminés issus de la dégradation des protéines sont transportés dans le phloème, suivant le flux de masse généré par les gradients de pression osmotique (Münch, 1930) engendrés par les gradients de saccharose (la principale forme de C mobile dans la plante). Ces gradients de saccharose proviennent de l'enrichissement du phloème en sucres au niveau des organes photosynthétiques actifs, et de l'appauvrissement en sucres du phloème au niveau d'organes importateurs de C. Le transport de N dans le phloème suit ainsi le transport du C ce qui permet d'alimenter en acides aminés les puits de C, comme les feuilles et les racines en croissance avant la floraison ainsi que les grains après la floraison. Des acides aminés sont également présents dans le xylème mais à des concentrations plus faibles que dans le phloème (Delrot et al., 2001).

c. Le remplissage en azote des grains

Après la floraison, la croissance des grains représente un puits majeur de C qui va orienter les flux de N transportés par le phloème. Les acides aminés des grains proviennent de la dégradation des protéines des organes végétatifs aériens (Patrick and Offler, 2001) mais aussi du compartiment racinaire (Ta and Weiland, 1992; Masclaux et al., 2001). Ces acides aminés permettent la formation des protéines de structure et métaboliques pendant la phase de division cellulaire des grains, puis la formation de protéines de réserve pendant le remplissage des grains (Martre et al., 2003). La teneur en protéines des grains dépend donc de la richesse du phloème en acides aminés durant la période post-floraison.

Le remplissage des grains en C est donc à l'origine d'une rupture majeure dans l'économie de N: avant floraison, l'existence d'un turnover des protéines dans la majorité des tissus de la plante lui permet de maintenir une certaine quantité de N et donc une certaine quantité de tissus vivants dans les structures végétatives; après la floraison, les grains stockent le N de manière définitive, sans le remettre dans le système, ce qui engendre un changement d'équilibre du turnover des protéines des tissus végétatifs vers la dégradation et, ainsi, la mort des tissus de la plante.

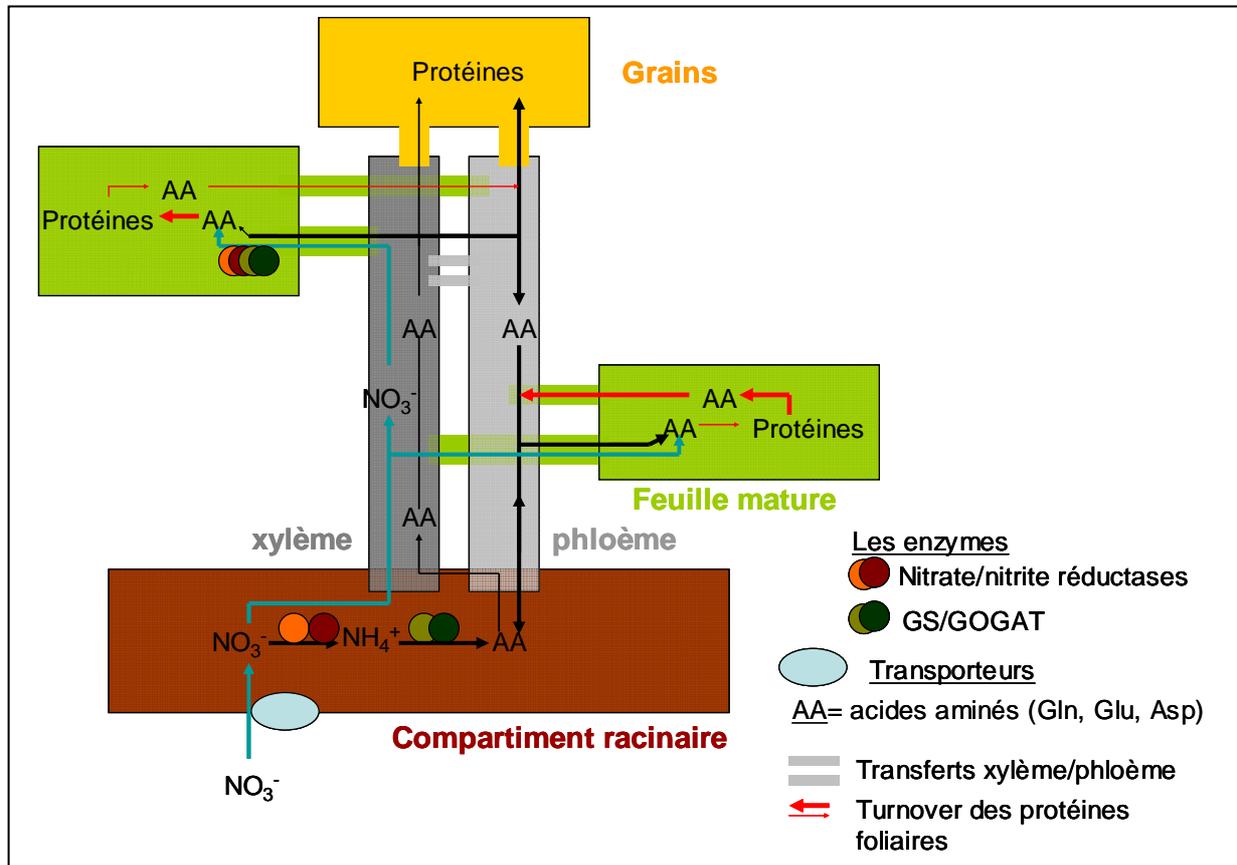


Figure 8. Les principaux transferts de N et ses principales formes chez une plante de blé après la floraison. Deux types de feuilles sont représentés: des feuilles en croissance important massivement du N et des feuilles matures. Le nitrate (NO_3^-) absorbé par les racines est assimilé par la plante en acides aminés (AA) dans le compartiment racinaire ou dans les feuilles via les enzymes nitrate et nitrite réductase ainsi que glutamine et glutamate synthétase (GS/GOGAT). Les acides aminés sont utilisés pour la formation de protéines qui permettent le stockage de N dans les feuilles ou les grains. Les protéines foliaires sont soumises à un turnover permanent (flèches rouges). Le flux de synthèse est prépondérant pour les jeunes feuilles, tandis que le flux de dégradation est prépondérant chez les feuilles en sénescence (d'après Touraine et al., 1994 ; Lawlor et al., 2002 ; Oury et al., 2001 ; Maillard et al., 1998).

II.2. Un cycle permanent de l'azote dans la plante

Le turnover des protéines engendre un recyclage de N dans la plante. Ce recyclage est indispensable à la survie de la plante. Il constitue en effet le seul moyen de recevoir du N pour des tissus n'ayant pas accès directement au N absorbé du sol ou n'ayant pas la possibilité de l'assimiler.

Par exemple, les jeunes organes en croissance qui ont une faible activité transpiratoire, ne peuvent recevoir le N nécessaire à leur formation directement depuis les racines, contrairement aux feuilles matures ayant une forte activité transpiratoire. Ainsi, les acides aminés du phloème provenant de la dégradation des protéines et transportés suivant le gradient de pression osmotique sont une source de N indispensable à la morphogénèse (Maillard et al., 1998).

Le recyclage permet également aux racines de recevoir des acides aminés dont la synthèse se fait uniquement dans les chloroplastes (comme la lysine, thréonine, cystathionine, homocystéine, d'après la revue de Wallsgrave et al., 1983), et donc dans les tissus photosynthétiques. Les racines situées dans des régions pauvres en N dépendent de ce processus pour la totalité de leurs besoins en acides aminés (Simpson et al., 1982). Il est indispensable pour les espèces qui ont une faible capacité de réduction des nitrates dans leurs racines (ex : *Xanthium* ; Maillard et al., 1998).

Enfin, le recyclage du N dans la plante permet aux grains d'accumuler du N dans des conditions agronomiques « standards » : 80% en moyenne du N du grain provient de la remobilisation du N des organes végétatifs (racinaires et aériens), résultant de la dégradation des protéines. Van Sanford et Mackown (1987) ont quantifié que la contribution de la sénescence foliaire au remplissage en N de l'épi pour neuf cultivars de blé d'hiver était comprise entre 50 et 90%.

a. Quantification du recyclage de N

Différentes méthodes ont été développées pour quantifier le recyclage de N dans la plante. Elles montrent que les quantités de N participant au recyclage au sein de la plante sont importantes. Simpson et al. (1982), par exemple, ont quantifié ce recyclage chez le blé d'hiver, via des mesures de la quantité de N transportée dans le xylème (via le flux transpiratoire et la concentration en N dans le xylème) et l'incrément net de N dans les parties aériennes et racinaires. Ils ont calculé que plus de 79% du N absorbé par les racines étaient recyclés dans la plante, c'est-à-dire transportés vers les feuilles, recyclés vers les racines via le phloème, puis transportés à nouveau vers les feuilles (Fig. 9).

Cooper et al. (1986) et Cooper et Clarkson (1989) ont eux utilisés un système de « split-root » dans lequel une partie des racines était alimentée avec du ^{15}N : ils ont ainsi calculé que, pour des jeunes plantules de blé et de seigle, environ 60% du flux d'acides aminés dans le xylème avaient pour origine du N recyclé.

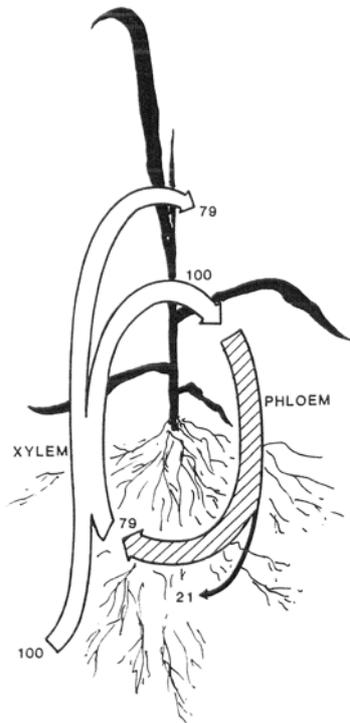


Figure 9. Quantification du recyclage de N entre la tige feuillée et les racines pour des plantes de blé âgées de 22 jours. Les quantités de N sont exprimées relativement à un prélèvement net de 100 unités de N en masse (Simpson et al., 1982).

b. Les voies de transport intervenant dans le recyclage de N

Les deux voies de transport de N, xylème et phloème, arrangées dans des faisceaux criblovasculaires (Delrot et al., 2001), assurent non seulement le transport d'un organe à un autre de la plante mais sont également impliqués directement dans le recyclage de N. Il existe en effet tout au long du système vasculaire des transferts d'acides aminés du xylème vers le phloème (pour une revue: Feller and Fischer, 1994; Delrot et al., 2001): en utilisant des marquages au ^{14}C , Dickson et al. (1985) ont montré chez des plants de peupliers (*Populus deltoides* Bartr. ex Marsh) que la glutamine provenant des racines, et donc transportée via le xylème par le flux transpiratoire, était transférée, dans la partie supérieure de la tige, du xylème vers le phloème des jeunes tissus se développant ; Urquhart et Joy (1982) ont montré, chez le pois (*Pisum sativum* L.), que l'asparagine entrant dans les feuilles matures était directement exportée vers les jeunes feuilles, avec relativement peu de changement métabolique. Chez les céréales, les transferts peuvent se produire plus facilement au niveau des faisceaux criblovasculaires des entre-noeuds (Kuppelwieser and Feller, 1991). Le mécanisme précis de ces échanges n'est pas encore connu, mais des mesures quantitatives réalisées chez le soja indiquent que les échanges xylème/phloème sont impliqués dans 35 à 52% de l'N arrivant aux fruits (Layzell and Larue, 1982). Ce transfert des acides aminés du xylème vers le phloème permet de rediriger les assimilats azotés des racines vers les jeunes feuilles en croissance à faible activité transpiratoire (Maillard et al., 1998).

c. Peut-on considérer que tous les organes de la plante partagent un pool commun d'azote mobile ?

La partie précédente nous a montré que le N de la plante est soumis à de multiples échanges. Il apparaît difficile de pouvoir les formaliser explicitement dans un modèle. Une solution alternative est de considérer que le N circulant peut être représenté par un pool commun partagé par les différents organes de la plante, (Fig. 10, Cooper et al., 1986; Cooper and Clarkson, 1989; Kull and Kruijt, 1999; Thornley, 2004). Cette solution est séduisante mais suppose que les temps de transport et les résistances au transport peuvent être négligés.

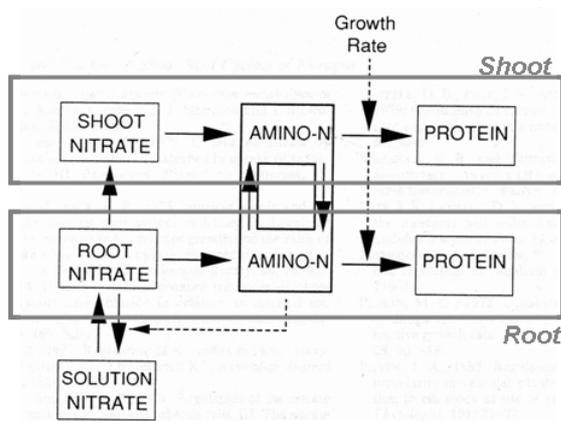


Figure 10. Un pool commun d'acides aminés partagés par la tige feuillée et les racines. Les acides aminés sont retirés de ce pool via la synthèse protéique et l'enrichissent via le prélèvement et la réduction des nitrates (Cooper et Clarkson, 1989).

II.3. Implication de l'azote dans la photosynthèse

a. La fonction de l'azote dans la photosynthèse

La fonction principale d'une feuille mature est d'assimiler le CO₂ atmosphérique via le processus de photosynthèse pour produire des sucres ensuite exportés vers le reste de la plante. Le N est un constituant essentiel de l'appareil photosynthétique, et pour les plantes en C₃, jusqu'à 75% du N réduit des feuilles entre dans la composition des protéines des chloroplastes (Evans, 1989).

Il en résulte une relation étroite entre la teneur en N des feuilles et leur activité photosynthétique (Grindlay, 1997a). Par exemple, une relation linéaire existe entre l'assimilation nette de C sous des conditions de lumière saturantes (P_m , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) et la masse de N par unité de surface

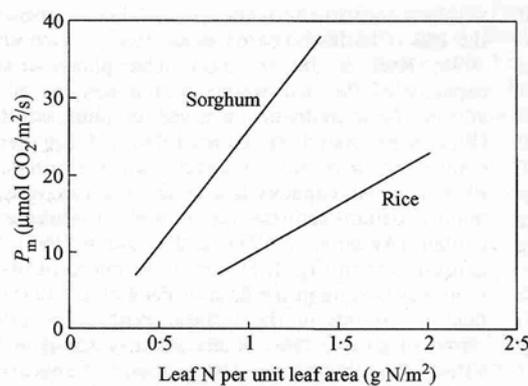


Figure 11. Relation linéaire entre le taux de photosynthèse à lumière saturante (P_m) et la quantité de N par unité de surface pour une espèce en C₃, le riz (*Oryza sativa*), et une espèce en C₄, le sorgho (*Sorghum bicolor*) (d'après Grindlay, 1997)

de feuille verte. La figure 11 présente cette relation pour une espèce en C₃ et une espèce en C₄, cette dernière étant plus efficace en termes d'utilisation de N. P_m atteint un plateau au-delà d'une certaine teneur en N (qui n'est pas montré sur la figure).

Le N associé aux protéines de l'appareil photosynthétique peut se décomposer en deux principaux pools (Evans and Seemann, 1989). L'un comprend les protéines impliquées dans les réactions avec la lumière : récolte de la lumière, transport électronique et photophosphorylation, ce qui aboutit à la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique. L'autre pool comprend les protéines associées avec le cycle de réduction du C, ou cycle de Calvin (assimilation du CO₂, photorespiration, régénération du RuBP, et synthèse d'amidon et de saccharose). Ce deuxième pool comprend notamment la ribulose 1,5-biphosphate carboxylase oxygénase (Rubisco) qui est l'enzyme qui catalyse la réduction du CO₂ en C organique.

La Rubisco a une faible activité catalytique vis-à-vis du CO₂ qui résulte de l'inhibition compétitive par la fixation du dioxygène (Field and Mooney, 1986). Il existe une variabilité génétique pour cette activité catalytique, si bien que certaines recherches s'orientent vers l'augmentation de l'efficacité de la Rubisco pour la fixation du CO₂ pour finalement augmenter les rendements.

b. Contribution de l'azote foliaire à l'appareil photosynthétique

La figure 12 représente la répartition du N d'une feuille d'une plante en C₃ acclimatée à la lumière entre ses différents constituants, photosynthétiques ou non (Evans and Seemann, 1989). Le N associé aux protéines de l'appareil photosynthétique impliquées dans les réactions avec la lumière représente environ 25% du N de la feuille, celui associé à la Rubisco, 23%, et celui associé aux autres enzymes du cycle de Calvin que la Rubisco, environ 8%. Le N non-associé aux protéines de l'appareil photosynthétique est associé aux constituants nécessaires à la biosynthèse (environ 21%) et aux structures (environ 23%, Lawlor et al., 2001). Chez les feuilles de blé, la Rubisco constitue jusqu'à 30% de l'N total (Lawlor et al., 1989).

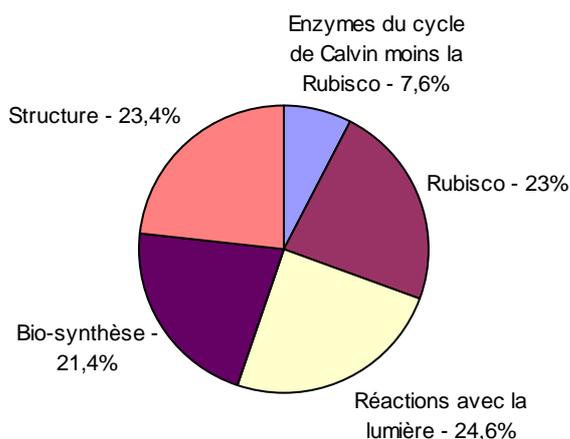


Figure 12. Pourcentage de l'azote total des feuilles en C₃ dans les principaux groupes de composés contenant du N (d'après Evans et Seemann, 1989 ; Lawlor et al., 2001).

II.4. La sénescence foliaire

Dans la première partie, la sénescence foliaire a été définie comme le passage d'une activité majoritairement importatrice de N à une activité majoritairement exportatrice de N, qui s'achève par la mort des tissus. Je vais tout d'abord présenter les principaux processus associés à la sénescence, puis je détaillerai les principales hypothèses proposées dans la littérature quant aux mécanismes responsables du déclenchement de la sénescence et de la mort des tissus.

a. Les processus associés à la phase de sénescence

La phase de sénescence est caractérisée par une augmentation de l'activité protéolytique normalement impliquée dans la maintenance des cellules mais également par des activités protéolytiques nouvelles, comme celles liées à la cystéine protéase (Hortensteiner and Feller, 2002), ainsi que par l'induction de gènes spécifiques (Masclaux-Daubresse et al., 2008), comme ceux de la cytosolic glutamine synthetase (GS1, Hirel et al., 2001; Martin et al., 2006) et de la glutamate déshydrogénase (GDH) (Masclaux et al., 2001).

Le jaunissement des tissus foliaires est dû à la dégradation des chlorophylles. Il s'accompagne de la dégradation des protéines du chloroplaste et d'un démantèlement de l'appareil photosynthétique. Pendant le jaunissement, la feuille reste turgescence et viable, les chloroplastes restent intacts ainsi que la machinerie métabolique de la cellule (mitochondries, peroxyosomes et vacuoles ; Feller and Fischer, 1994; Smart, 1994), ce qui permet la régulation et la forte coordination des processus métaboliques nécessaires au bon déroulement de cette première phase de sénescence (Thomas and Smart, 1993). Cette phase est réversible: par exemple, un apport de N peut déplacer l'équilibre du turnover en faveur de la synthèse des protéines. La sénescence est ainsi un processus fortement organisé et non un déclin de la feuille. Après cette première phase, les tissus perdent leur viabilité, deviennent nécrotiques et subissent des détériorations non réversibles (Thomas et al., 2003).

b. Les mécanismes responsables de la sénescence et de la mort des tissus

Deux hypothèses opposées existent quant aux mécanismes déclenchant l'entrée en sénescence des feuilles (Thomas et al., 2003). Certains auteurs considèrent qu'il s'agit d'un processus faisant partie du développement de la feuille, qui est génétiquement programmé et qui s'accompagne d'une modification du fonctionnement métabolique de la feuille (Masclaux et al., 2001). L'induction de gènes spécifiques et l'existence de nouvelles activités protéolytiques lors de la sénescence vont dans ce sens.

D'autres auteurs pensent qu'il s'agit plutôt d'une évolution de la feuille de type quantitatif traduisant le passage d'un état importateur à un état exportateur de N et qu'on est loin d'une mort programmée des cellules (Thomas and Smart, 1993; Lee and Chen, 2002; Thomas et al., 2003). La réversibilité de la première phase de sénescence va dans ce sens ainsi que l'augmentation de l'activité protéolytique normalement impliquée dans la maintenance des cellules. De plus, la sénescence est sujette à une forte régulation post-transcriptionnelle et post-translationnelle (Thomas et al., 2003). Dans cette deuxième hypothèse, l'induction de gènes ou de protéines spécifiques serait simplement la conséquence de l'augmentation de l'exportation de N en lien avec certaines conditions environnementales, plutôt que la cause. Les principaux

effets de l'environnement sur la sénescence sont détaillés dans le paragraphe III. Il est vraisemblable que les deux hypothèses soient vraies, et que l'un ou l'autre des mécanismes soit prépondérant selon les conditions.

Les mécanismes déclenchant l'entrée des tissus dans leur phase irréversible de sénescence, ce qui les conduit à la mort, sont inconnus. Néanmoins, il est souvent considéré que cela se produit quand la feuille n'est plus capable d'assurer son maintien, c'est-à-dire au moment où les pertes de CO₂ par respiration sont égales à l'acquisition de C et au moment où l'assimilation nette est nulle (Ackerly and Bazzaz, 1995; Ackerly, 1999).

II.5. L'azote dans la plante: sa distribution entre les différentes entités botaniques, leur contribution à la production de carbone par la plante et au remplissage en carbone et azote des grains

a. Distribution de N entre les différentes entités de la plante

Toutes les structures végétatives ainsi que les balles contiennent du N: dans un peuplement de blé au début du remplissage des grains, la masse de N dans les limbes foliaires ne représente qu'environ 35% de la masse de N de la tige feuillée (Grindlay, 1997b). On rencontre des pourcentages similaires chez d'autres espèces: Lemaire et al. (1992) ont mesuré que les feuilles contenaient 53% de N de la tige feuillée chez la lucerne.

La répartition de N entre les différentes entités botaniques a été quantifiée chez le blé d'hiver par Wilhelm et al. (2002) pendant la montaison et par Simpson et al. (1983) à la floraison (Fig.13): on voit que les glumes contiennent une quantité de N sensiblement égale à celle de l'ensemble des limbes. Lopes et al. (2006) trouvent au cours du remplissage des grains un rapport de 1 à 2 entre la masse de N contenue dans la feuille drapeau et celle contenue dans les glumes, c'est-à-dire un résultat proche de celui présenté figure 13.

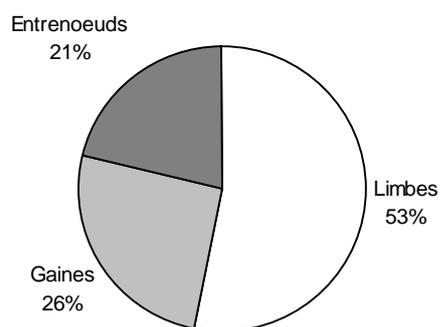


Fig. 13a. Masse d'azote dans les limbes, gaines et entre-nœuds par rapport à la masse cumulée d'azote total dans ces trois compartiments pour des plantes de blé d'hiver en cours de montaison (issu des données de Wilhelm et al., 2002).

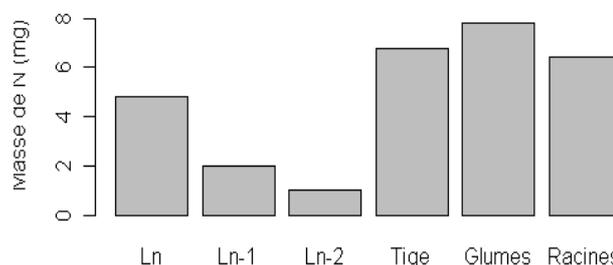


Fig. 13b. Masses d'azote des trois limbes supérieurs (Ln, Ln-1, Ln-2 ; numérotés selon l'apparition, n étant le numéro de la feuille drapeau), de l'ensemble des entre-nœuds et des gaines (nommé « tige »), des glumes et des racines d'un brin maître de blé d'hiver à la floraison (d'après des données de Simpson et al., 1983).

b. La contribution du N des autres entités que les limbes foliaires à l'activité photosynthétique de la plante et au remplissage en C et N des grains

Tout comme pour les limbes, le N protéique des autres entités botaniques est principalement associé à l'appareil photosynthétique. Toutes les parties de l'épi sont photosynthétiques et contribuent à l'assimilation globale de la plante. De même, les gaines foliaires ont une photosynthèse par unité de surface qui représente environ 80 à 100% de celle du limbe du même phytomère (Thorne, 1959). Enfin, la partie exposée à la lumière des entrenœuds est également autotrophe vis-à-vis du C (Wardlaw, 1965). Ces entités participent au remplissage en C des grains : la contribution de l'épi a été quantifiée à 14-21% chez le blé et une perte de 35% de rendement a été observée en ombrant l'épi (Thorne, 1965). Elles participent également à la remobilisation de N vers les grains : Simpson et al. (1983) ont mesuré, à mi-remplissage, une contribution des feuilles, glumes, tiges et racines à l'accumulation journalière de N par les grains de 40%, 23%, 23% et 16%, respectivement.

Chez le blé il n'existe pas de stockage de N sous forme de VSP (Vegetative Storage Proteins ; MacKown et al., 1992; Ourry et al., 2001). De plus, le N circulant ne représente qu'un faible pourcentage du N total de la plante: les acides aminés et l'ammonium ne représentaient que 6% du N total des limbes pour le maïs à la floraison dans les expérimentations de Hirel et al. (2005). Ainsi, la majorité du N non photosynthétique est impliquée dans les structures et dans l'activité de biosynthèse (Cf. Fig. 12). La proportion de N impliquée dans les structures varie en fonction de l'entité considérée.

Le N est transporté dans la plante majoritairement sous forme de nitrates dans le xylème et sous forme d'acides aminés dans le phloème. Il est stocké dans les tissus essentiellement sous forme de protéines. La majeure partie des protéines est associée à l'appareil photosynthétique. Toutes les entités de la plante sauf les grains contiennent du N et contribuent significativement à l'activité photosynthétique de la plante ainsi qu'au remplissage en C et N des grains après la floraison.

Le turnover permanent des protéines assure un recyclage permanent du N au sein de la plante depuis les vieux organes vers les nouveaux organes en croissance. Après la floraison, le N accumulé par les grains provient à la fois de la dégradation des protéines des tissus végétatifs (tige feuillée et racines) et du prélèvement de N par les racines. A la différence des tissus végétatifs, les grains en croissance représentent un puits définitif pour N ce qui aboutit à la mort quasi-complète de la plante à l'issue du remplissage des grains. Le turnover permanent des protéines et l'existence d'échanges de N entre xylème et phloème suggèrent que les différentes entités de la plante peuvent être considérées, dans un modèle, comme partageant un pool commun de N mobile.

Deux écoles existent quant aux processus impliqués dans le déclenchement de la sénescence des feuilles: certains pensent que la sénescence est contrôlée génétiquement et résulte d'un changement dans le métabolisme de la feuille, d'autres qu'il correspond simplement à un changement quantitatif dans lequel l'activité importatrice de N devient inférieure à son activité exportatrice.

III. EFFET DES FACTEURS ENDOGENES ET EXOGENES SUR LES DYNAMIQUES DE L'AZOTE DANS LA PLANTE

III.1. La lumière

Le rayonnement peut être exprimé soit en flu énergétique ($W m^{-2}$) soit en densité de flux de photons ($\mu m c$ photons $m^{-2} s^{-1}$). La densité de flux de photons dans le domaine spectral photosynthétiquement actif (*i.e.*, le PAR entre 400 et 700 nm) est appelée PPF (photosynthetic photon flux density). En physiologie végétale, le PPF est souvent utilisé de préférence au flux énergétique pour quantifier le PAR, car l'activité photosynthétique d'une feuille est fonction du nombre de photons reçus et non de leur énergie. C'est aussi souvent le PPF qui est mesuré dans les études de gradients de lumière au sein des couverts végétatifs. Au sein d'un couvert végétal, la quantité de lumière dans le PAR diminue progressivement avec la distance depuis le sommet du couvert. La loi de Beer Lambert exprime que, pour un couvert homogène, le rayonnement s'atténue de façon approximativement exponentielle avec l'indice foliaire présent au dessus du niveau considéré (voir Monsi and Saeki, 2005 pour une revue). De nombreuses études (citées dans la revue de Grindlay, 1997a) ont montré que, pour des couverts végétatifs (végétation herbacée, arbres, cultures, ...), la distribution du N foliaire suivait la distribution de la quantité de lumière. L'étude des relations N-PPF se fait généralement en exprimant la quantité de N par unité de surface foliaire (Specific Leaf Nitrogen: SLN), puisque l'interception de la lumière se fait par unité de surface de feuille.

La figure 14 représente les relations linéaires observées par Dreccer et al. (2000) entre le SLN et le PPF absorbé (en relatif par rapport au PPF incident au dessus du couvert) par unité de surface foliaire au cours du développement végétatif de deux couverts de blé qui diffèrent par la nutrition azotée et par la densité de semis. La quantité de lumière absorbée par les tissus foliaires à chaque hauteur dans le couvert a été calculée suivant le modèle décrit dans Thornley et Johnson (1990).

De nombreuses variables microclimatiques ont une valeur qui diminue avec la profondeur dans le couvert. La vitesse du vent, la température foliaire ou encore la composition spectrale du rayonnement (appelée aussi qualité de la lumière). En particulier le rapport rouge clair (660 nm) : rouge sombre (725 nm) (R/FR pour red/far-red) diminue du sommet vers la base du couvert (Kull and Jarvis, 1995) du fait de l'absorption préférentielle par la chlorophylle du

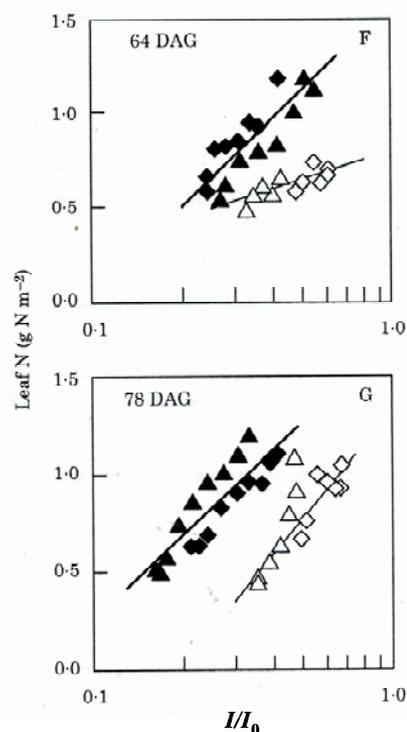


Figure 14. Relation entre la quantité d'azote et le logarithme de la quantité relative de PAR absorbée par unité de surface foliaire à deux dates (64 et 78 jours après germination) chez le blé d'hiver cultivé sous deux densités (165 plantes m^{-2} : losange ; 330 plantes m^{-2} : triangle) et deux niveaux de nutrition azotée: symboles noirs et blancs, respectivement). Chaque mesure concerne une couche horizontale de couvert de 5 cm d'épaisseur. La quantité de PAR est exprimée relativement à celle reçue au sommet du couvert (d'après Dreccer et al., 2000).

rouge clair par rapport au rouge sombre. L'âge des feuilles augmente également avec la profondeur dans le couvert puisque les premières feuilles apparues sont les plus basses dans le couvert.

Parmi ces variables, est-ce que le PPFD a un rôle prédominant pour la formation des gradients de N ? Ce point est abordé dans la section suivante. Dans une deuxième partie, je préciserai les mécanismes en jeu dans la formation des gradients verticaux. Enfin, une troisième partie présentera les rares travaux concernant les distributions de N après la floraison ou abordant les distributions de N entre les entités autres que les limbes foliaires.

a. Les rôles de la quantité de la lumière, du rapport rouge clair : rouge sombre et de l'âge des feuilles dans la formation des gradients verticaux de N au sein des couverts végétatifs

Le rapport rouge clair : rouge sombre

Le rapport R/FR, perçu par des pigments spécialisés, les phytochromes, est bien connu pour être impliqué dans un certain nombre de processus régulateurs de l'extension des organes et du développement de la plante. Il intervient comme un signal précoce, permettant d'anticiper la compétition pour les ressources : Ballaré et al. (1990) ont démontré, par exemple, son rôle dans l'élongation de la tige de plants de *Datura ferox* et de *Sinapis alba* en réponse à une augmentation de la densité ; Evers et al. (2006) ont montré son rôle dans l'arrêt du tallage.

Le rapport R/FR intervient également dans la régulation du métabolisme azoté des feuilles et de leur quantité de N. Il affecte les dynamiques de nombreux composés foliaires riches en N, comme la teneur en chlorophylle (montré sur le pois par Barreiro et al., 1992), la teneur en protéines (montré sur le soja par Guiamet et al., 1989), l'activité de la nitrate réductase (Rousseaux et al., 1997) et l'expression de nombreuses protéines impliquées dans la photosynthèse (Thomas, 1997, pour revue). En particulier, Okada et al. (1992) ont observé un effet antagoniste du rouge clair sur la dégradation de la chlorophylle à l'obscurité, et Rousseaux et al. (1996) ont observé au cours d'une expérimentation en champs avec des couverts denses de tournesol (*Helianthus annuus* L.) que la durée de vie des feuilles diminuait en rajoutant du rouge sombre dans le couvert.

Néanmoins, de nombreux auteurs montrent que, dans des conditions standards, le rôle du gradient de quantité de lumière est prépondérant sur celui du gradient de qualité pour la formation des gradients verticaux de N au sein des couverts (Ono et al., 2001, pour revue). Par exemple, Pons et de Jong-van Berkel (2004) ont démontré qu'un supplément de rouge sombre sur une feuille diminuait la quantité de N par unité de surface foliaire pour cinq espèces étudiées (sur six), mais que la diminution était moindre que sous un ombrage neutre, c'est-à-dire sans modification de la qualité de la lumière. D'autre part, il a été montré que des mutants déficients en phytochrome, et donc ne pouvant percevoir le rapport R/FR, avait toujours la capacité d'adapter leur capacité photosynthétique (caractérisée par la valeur du plateau de photosynthèse à lumière saturante) et leurs teneurs en Rubisco et en chlorophylle à l'environnement lumineux dans lequel a eu lieu leur croissance (Terashima et al., 2005, pour revue).

L'âge des feuilles

Le rôle de l'âge des feuilles dans l'établissement des distributions verticales de N a été démontré par Mooney et al. (1981). Pour cela, ils ont utilisé plusieurs espèces d'annuelles sauvages, dont l'écotype naturel est le peuplement dense, mais dont les feuilles du bas n'étaient pas ombrées. Ils ont observé, pour ces feuilles, un déclin de la quantité de N et de la capacité

photosynthétique, qu'ils ont attribué à leur âge en relation avec l'expression de gènes de développement.

Néanmoins, tout comme pour la qualité de la lumière, le rôle de l'âge est mineur comparé à celui de la quantité de lumière, du moins pour les plantes à croissance rapide (Hikosaka, 2005). Cela a été démontré par des expériences dans lesquelles l'environnement lumineux a été altéré. Drouet et Bonhomme (1999) ont observé, chez des plantes de maïs cultivées initialement en peuplement de densité agronomique puis fortement éclairci, une homogénéisation de la quantité de N par unité de surface foliaire entre niveaux foliaires. Hikosaka et al. (1994) ont observé, en retournant les plantes de vignes et obtenant ainsi un gradient inverse de PPFD à celui observé naturellement, un gradient inverse de SLN avec un plus fort SLN dans les feuilles les plus vieilles. Les résultats d'Hikosaka et al. (1994) sont présentés figure 15.

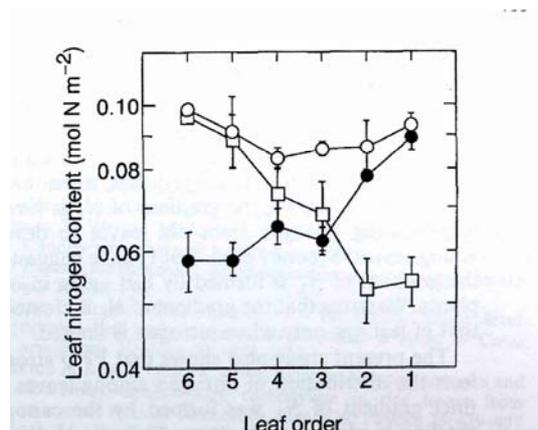


Figure 15. Effets de l'absence d'ombrage (cercles vides), d'un ombrage de type couvert végétal (carrés vides) et d'un ombrage inverse à celui d'un couvert (cercles pleins) sur la distribution de N entre feuilles d'un plant de vigne 32 jours après le repiquage. Les feuilles sont numérotées (en abscisse) du bas vers le haut, et les feuilles les plus âgées sont en bas du couvert (d'après Hikosaka et al., 1994).

Finalement, la littérature montre que les trois variables, PPFD, R/FR et âge de la feuille, jouent un rôle dans la formation des gradients verticaux de N au sein des couverts végétaux. Mais dans de nombreux cas, et chez le blé en particulier, la forte prépondérance du rôle du PPFD dans la formation des gradients verticaux de N paraît bien établie.

b. Les mécanismes impliqués dans l'établissement des gradients verticaux de N

Une acclimatation fonctionnelle et structurelle de l'appareil photosynthétique à l'environnement lumineux

L'intensité lumineuse expérimentée par la plante engendre une acclimatation fonctionnelle et structurelle de l'anatomie de la feuille et de son appareil photosynthétique (Bjorkman, 1981; Grindlay, 1997a; Terashima et al., 2005, pour revues). Des plantes acclimatées à de faibles intensités lumineuses ont des feuilles moins épaisses avec une quantité de masse sèche par unité de surface (Specific Leaf Mass : SLM) plus faible que des plantes acclimatées à de fortes intensités lumineuses. Ces feuilles ont aussi une capacité photosynthétique plus faible et une proportion importante de composants impliqués dans la récolte de la lumière par rapport aux autres fonctions de l'appareil photosynthétique. L'acclimatation de l'appareil photosynthétique à la lumière est largement réversible au bout d'environ 5 à 15 jours (Prioul et al., 1980b; Grindlay, 1997b). L'acclimatation de la capacité photosynthétique des tissus foliaires à la lumière se manifeste à la fois avant et après la maturité des tissus (Prioul et al., 1980a, 1980b).

La question se pose de savoir quel est le rôle de la plante entière et celui propre à la feuille dans l'acclimatation de la feuille à la lumière. Prioul et al. (1980a) ont étudié les modifications structurales et fonctionnelles liées à l'acclimatation à la lumière et suggèrent que les deux interviennent mais la manipulation de plantes entières ne leur a pas permis de distinguer le rôle de la plante de celui de la feuille individuelle. D'autres études ont modifié l'environnement local de la feuille (exposé dans le paragraphe III.2.c.), mais ne permettent pas de conclure car, à la différence de Prioul et al. (1980a), elles n'ont pas étudié les processus impliqués dans l'acclimatation.

Cette acclimatation à la fois fonctionnelle et structurelle explique qu'au sein d'un couvert végétal, il y ait un gradient vertical de quantité de N par unité de surface foliaire, mais aussi un gradient vertical de SLM. Le gradient de SLN n'est pas une simple conséquence du gradient de SLM: la littérature montre en effet qu'il existe un gradient de masse de N par unité de masse sèche de tissus (*i.e.*, concentration en N), qui s'ajoute au gradient de SLM pour produire le gradient de SLN (Gastal and Lemaire, 2002).

Le rôle du flux transpiratoire et des cytokinines

Les feuilles ombrées sont caractérisées par des flux transpiratoires réduits par rapport à des feuilles exposées à la lumière et plus hautes dans le couvert. Cela résulte de leur plus faible conductance stomatique et d'une température foliaire plus basse ainsi que, souvent, d'un microclimat local caractérisé par une plus forte humidité de l'air et une plus faible turbulence (Pons et al., 2001).

Des études expérimentales suggèrent que le gradient de lumière agit indirectement, via les changements dans le flux transpiratoire (Pons and Bergkotte, 1996; Pons et al., 2001). En effet, une réduction du flux transpiratoire sans modification de la lumière reçue par la feuille (chambre transparente enfermant la feuille avec de l'air humide) provoque une diminution de la quantité de N par unité de surface foliaire et de l'activité photosynthétique (Pons et Bergkotte, 1996, chez le haricot [*Phaseolus vulgaris* L.]; Boonman et al., 2007, chez *Arabidopsis* [*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.] et le tabac [*Nicotiana tabacum* L.]). Boonman et al. (2007) ont également observé qu'une réduction du flux transpiratoire, sans modification de la quantité de lumière, était accompagnée d'une réduction du niveau de transcrits du gène de la petite sous-unité de la Rubisco chez *Arabidopsis*.

Le flux transpiratoire détermine le flux de nitrates arrivant dans les feuilles et ainsi la disponibilité en N de substrat pour la synthèse des protéines des feuilles. De plus, les cytokinines transportées depuis les racines vers les feuilles via le flux transpiratoire sont impliquées dans la formation des gradients verticaux de N dans les couverts (Aloni et al., 2005). En effet, les cytokinines stimulent la synthèse de protéines de l'appareil photosynthétique (Chory et al., 1994; Kusnetsov et al., 1994) et sont impliquées dans l'expression de gènes régulant le métabolisme azoté (Takei et al., 2002). L'implication directe des cytokinines dans la détermination de la quantité de N d'une feuille a été démontrée par Boonman et al. (2007) chez des plants de tabac et chez *Arabidopsis*. Après avoir réduit l'activité transpiratoire des feuilles chez les deux espèces, ils ont observé une plus faible capacité photosynthétique et, chez *Arabidopsis*, un plus faible niveau de transcrits du gène de la petite sous-unité de la Rubisco ; ils ont ensuite montré que ces effets étaient annulés par l'application externe de cytokinines chez *Arabidopsis* ou par l'induction d'une surproduction de cytokinines chez des plantes de tabac transgéniques.

Le rôle des cytokinines dans le retard de la sénescence foliaire n'est pas clair. En effet, on aurait pu supposer que l'augmentation de la quantité de nitrates dans les feuilles était suffisante pour augmenter le SLN des feuilles en réponse à une augmentation de leur éclaircissement. Deux

hypothèses quant au rôle des cytokinines peuvent être émises: ou bien, elles engendrent un changement dans le métabolisme de la feuille, ou bien elles accompagnent simplement l'augmentation de l'activité normale de synthèse de la feuille.

Le rôle des sucres

Des concentrations élevées en sucres répriment l'expression de gènes codant la synthèse de protéines de l'appareil photosynthétique (Ono et al., 2001; Terashima et al., 2005): des concentrations en sucres faibles sont donc nécessaires pour maintenir un taux de photosynthèse élevé et retarder la sénescence. L'ablation de l'épi est un moyen d'accumuler des sucres dans les feuilles. Sadras et al. (2000) ont observé que cela accélérerait la sénescence chez le maïs en lien avec l'accumulation de sucres dans les feuilles et au contraire, que cela retardait la sénescence chez le tournesol en lien avec l'absence de puits pour le N. Il existe donc une variabilité quant à l'effet des manipulations source/puits sur la sénescence foliaire.

c. L'échelle spatiale de réponse de la plante à la quantité de lumière

Une feuille s'acclimate structurellement et fonctionnellement à la quantité de lumière qu'elle intercepte. Néanmoins, l'environnement lumineux du reste de la plante joue également un rôle: Weaver et Amasino (2001) ont montré qu'en plaçant des plantes végétaives entières d'*Arabidopsis* à l'obscurité, aucun jaunissement n'était observé au bout de 5 jours à la différence d'une feuille individuelle ombrée qui était jaunissante au bout de 5 jours. De plus, l'ombrage de plantes entières a provoqué une diminution beaucoup plus faible des quantités de protéines et de chlorophylle dans les feuilles qu'en cas d'ombrage d'une seule feuille. L'explication probable est que l'ombrage de la plante entière limite la croissance des nouveaux organes. Ainsi, la moindre demande de N par les puits compense la baisse de capacité d'assimilation de N dans les feuilles adultes.

L'extinction de la quantité de la lumière dans le couvert étant bien reliée à la profondeur depuis le sommet du couvert, la distribution verticale de N est souvent étudiée entre tissus foliaires appartenant à différentes couches horizontales de couvert. Cela suppose qu'une feuille qui traverse différentes couches horizontales de couverts voit sa quantité de N surfacique augmenter depuis sa base vers sa pointe en lien avec un gradient positif de la quantité de lumière (Pons et al., 1993). Néanmoins, les résultats sont contradictoires quant à l'existence de gradient de SLN le long de feuilles individuelles soumises à un environnement lumineux hétérogène.

Par exemple, Drouet et Bonhomme (1999) n'ont pas observé de tendances claires dans les distributions de N au sein des longs limbes individuels de plantes de maïs cultivées en champs après la sortie des soies. De même, Pons et al. (1993) n'ont pas observé de gradient de SLN le long des feuilles érigées d'un mélange de monocotylédones de *Brachypodium pinnatum* en phase reproductrice et végétative en champs et en chambre de culture alors que ces feuilles traversaient jusqu'à 20 cm de hauteur de couvert. En revanche, ces mêmes auteurs ont observé des gradients de SLN positifs depuis la base vers la pointe des feuilles individuelles pendant la phase végétative de plantes de maïs (Drouet and Bonhomme, 1999) et de monocotylédones de *Carex acutiformis* (Pons et al., 1993). De même, pour la troisième feuille mature de ray-grass italien (*Lolium multiflorum*) dont le port est fortement érigé, Prioul et al. (1980b) ont observé des diminutions de la quantité de Rubisco et de chlorophylle par unité de surface foliaire ainsi qu'une diminution de la photosynthèse nette à lumière saturante depuis la pointe vers la base de la feuille.

Ces études nous suggèrent qu'avant la floraison, il existe un gradient au sein des limbes individuels mais que ce gradient n'existe plus durant la période post-floraison. Mais, il faudrait le confirmer par des études complémentaires et pouvoir proposer une hypothèse de mécanismes pour cela. D'autre part, Weaver et Amasino (2001) ont montré une réponse fortement localisée d'une feuille d'*Arabidopsis* à un ombrage partiel: comme le montre les photos de la figure 16, le jaunissement (perte des chlorophylles) lié à un recouvrement partiel de la feuille a eu lieu uniquement pour les portions couvertes mais pas pour le petit cercle non couvert. Ce traitement, qui consiste à recouvrir une portion de la feuille, est toutefois beaucoup plus radical que le gradient naturel de la quantité de lumière au sein des couverts végétaux. Il a pu entraîner la modification d'autres variables que la quantité de lumière.

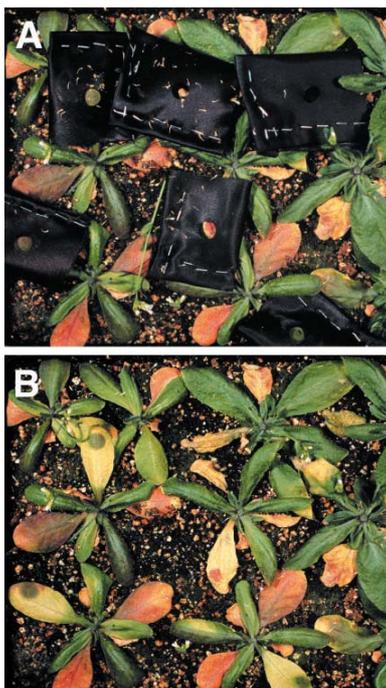


Figure 16. Localisation de la perte de la couleur verte (sénescence) en réponse à l'obscurité chez *Arabidopsis*. Les feuilles ont été couvertes par une surface noire avec un trou qui laisse passer la lumière (A). Les résultats après 5 jours sont montrés en (B) (Weaver et Amasino, 2001).

d. Les gradients d'azote entre limbes foliaires pendant la croissance des grains

Les distributions de N pendant le remplissage des grains chez les espèces à sénescence monocarpique ont fait l'objet de peu d'études. Comme pour la phase préfloraison, il existe un gradient vertical de SLN au sein des couverts (Dreccer et al., 2000 chez le blé en début de remplissage des grains ; Drouet and Bonhomme, 1999 chez le maïs à la fin de la floraison). Sadras et al. (1993) ont caractérisé l'évolution du gradient de concentration de N au cours de la phase post-floraison pour un couvert de tournesol (*Helianthus annuus* L.). Ils ont observé que la différence de teneur en N des feuilles entre le haut et le bas du couvert diminuait au cours de la phase post-floraison, alors que le gradient de lumière était stable. Ils ont proposé deux interprétations à cette diminution du gradient. La première est que la vitesse de remobilisation de N serait plus rapide pour les organes les plus riches en N, situés en haut du couvert, que pour les organes les plus pauvres en N, situés en bas du couvert. La deuxième interprétation est qu'il y aurait un mécanisme dépendant de la position de la feuille par rapport à l'épi par lequel le N serait remobilisé plus rapidement pour les feuilles les plus proches de l'épi.

Tout au long de la phase post-floraison, les gradients verticaux observés par Sadras et al. (1993) permettaient de maximiser l'assimilation de C à l'échelle du couvert (Connor et al.,

1995). Le gradient de lumière étant stable, cela suggère que l'assimilation de C par le couvert était peu affectée par des modifications du gradient vertical de %N.

e. Les gradients d'azote entre les autres entités que les limbes foliaires

Parmi le peu d'études concernant les entités autres que les limbes, Wilhelm et al. (2002) ont montré chez le blé d'hiver, d'une part, qu'au niveau d'un brin, la concentration en N par unité de masse sèche des phytomères augmente de façon acropétale et d'autre part que cette concentration était plus forte pour les limbes que pour les gaines et pour les gaines que pour les entre-nœuds.

Wang et al. (2003), chez le blé d'hiver également, ont analysé les concentrations en N dans les limbes et les tiges (gainnes et entre-nœuds poolés) appartenant à trois couches horizontales de couvert différentes : ils ont observé un gradient positif selon la hauteur de la couche considérée et, au sein de chaque couche, une concentration en N plus forte pour les limbes que pour les tiges.

III.2. La nutrition azotée

Dans cette partie, les effets de la nutrition azotée avant et après floraison sur les dynamiques de N après la floraison sont exposés en détails. Les aspects considérés sont (i) la sénescence foliaire (ou remobilisation de N), (ii) le remplissage en N des grains, (iii) la mort des tissus et (iv) les gradients verticaux de N. La nutrition azotée avant floraison détermine d'autres aspects qui ne seront pas présentés ici, comme l'acquisition de la surface foliaire, la quantité de N par unité de surface foliaire, ainsi que le nombre de chloroplastes (Terashima et al., 2005).

a. Effet de la nutrition azotée sur la sénescence foliaire

En appliquant une forte fertilisation azotée à la floraison, la sénescence est retardée, c'est-à-dire une certaine quantité de N est maintenue dans les feuilles, par rapport à une situation où aucune fertilisation n'est apportée (Triboï et Triboï-Blondel, 2002, pour une interprétation des dynamiques de N dans les grandes cultures, en particulier le blé). Par exemple, Guitman et al. (1991) ont observé, après un apport de N à la floraison pour des plantes de blé d'hiver cultivées en serre, un retard dans la diminution des concentrations en chlorophylle et en protéines solubles de la feuille drapeau ainsi qu'un plus faible pourcentage de remobilisation du N présent à la floraison, par rapport à une situation où aucune fertilisation azotée n'a été apportée à la floraison. De même, Ta et Weiland (1992) ont observé pour des plantes de maïs cultivées en champs sous faibles ou fortes conditions de fertilisations azotées, après un apport de N marqué (^{15}N) identique dans les deux cas peu avant la floraison, que le pic d'efflux de N depuis les feuilles était plus précoce pour des plants cultivés sous faible fertilisation azotée que sous forte fertilisation azotée.

Hikosaka (2005) ont interprété les observations faites dans le paragraphe précédent via une analyse source-puits qu'ils ont représentée schématiquement dans la figure 17. L'accumulation de N dans les grains (puits) provient de deux sources de N principales, l'absorption racinaire (Source 1 dans la Fig. 17) et la sénescence (Source 2). En cas de faible fertilisation azotée à la floraison (Fig. 17b) comparée à une forte fertilisation azotée (Fig. 17a), le prélèvement

racinaire de N est diminué ce qui entraîne une plus forte contribution de la remobilisation de N depuis les feuilles vers les organes puits (Fig. 17b).

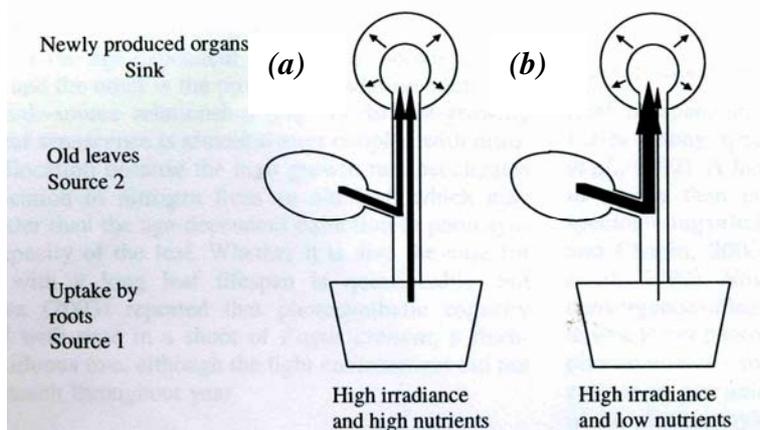


Figure 17. Représentation schématique des relations source-puits régissant les dynamiques de N dans la plante. Les organes en croissance acquièrent du N, fourni soit par le prélèvement racinaire soit par la sénescence des feuilles les plus vieilles. Sous fortes disponibilités en nutriments et en lumière (a), les deux sources fournissent du N ; (b) en cas de faible disponibilité en assimilats, la sénescence est accélérée (Hikosaka, 2005).

b. Effet sur le remplissage en azote des grains

Le remplissage en N des grains est également affecté par la fertilisation azotée. La figure 18 présente les résultats exposés par Triboï et Triboï-Blondel (2002) pour la variété Thésée cultivée sous quatre niveaux de fertilisation azotée avant floraison et pour laquelle soit aucune fertilisation n'a été apportée à la floraison soit 150 kg ha⁻¹.

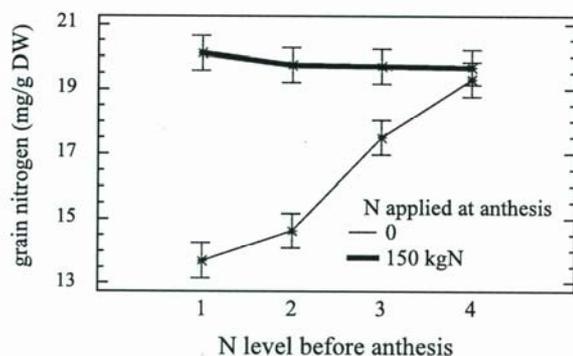


Figure 18. Effet de la nutrition azotée à l'anthèse, pour des plantes de blé (cultivar Thésée) ayant eu différentes nutrition azotées (axe des x) avant l'anthèse, sur le pourcentage en azote des grains. Quatre niveaux de nutrition azotées ont été appliqués avant l'anthèse ; après l'anthèse, soit aucun azote n'a été apporté, soit 150 kg ha⁻¹ ont été apportés (d'après Triboï et Triboï-Blondel, 2002).

En absence de fertilisation azotée à la floraison, ils ont observés que la concentration en N des grains à maturité dépendait étroitement de la fertilisation azotée avant la floraison. Nous pouvons l'interpréter par le fait que la fertilisation azotée avant la floraison détermine la quantité de N disponible dans les tissus végétatifs qui pourra être remobilisée vers les grains en croissance et, qu'en cas de faible fertilisation azotée avant la floraison, le N disponible dans la plante ne permet pas de maintenir une concentration élevée en N dans les grains.

En revanche, Triboï et Triboï-Blondel (2002) ont observés qu'en cas de forte fertilisation azotée à la floraison, la concentration en N des grains à maturité atteignait toujours une valeur maximum de 20%. Il ne s'agit vraisemblablement pas d'un potentiel puisque des expériences ont montré que, pour des grains isolés, la concentration en N pouvait largement dépassée 20% (Donovan and Lee, 1978). Cette concentration maximum doit plutôt être le résultat d'une régulation par la plante. La capacité intrinsèque des racines à prélever le N du sol est généralement non limitante (Oscarson et al., 1995) mais le prélèvement réel de N est régulé négativement par la concentration en acides aminés circulant (Touraine et al., 2001). Triboï et

Triboï-Blondel (2002) ont donc suggéré que le prélèvement de N racinaire était régulé par la demande des grains via la quantité d'acides aminés présents dans le phloème.

En réalité, c'est plutôt le flux de C vers les grains qui détermine leur remplissage en N. Pour augmenter le flux de N vers les grains, il faut donc augmenter la concentration en acides aminés circulant. Nous supposons que c'est le feedback négatif engendré par cette augmentation sur le prélèvement racinaire qui empêche d'aller au-delà d'un certain seuil de pourcentage de N dans les grains.

c. Effet sur la teneur en N des tissus verts au moment de la mort des tissus et sur le N résiduel dans les tissus morts

Pour un limbe de maïs axillant l'épi et ayant une partie de ses tissus nécrotiques, Hirel et al. (2005) ont observé une concentration en N dans les tissus verts plus forte pour des plantes cultivées sous forte fertilisation azotée que sous faible fertilisation azotée. Cela a été observé bien que l'environnement lumineux de la feuille ait été similaire dans les deux traitements azotés. D'autre part, la quantité de N restante dans les tissus morts, appelé N résiduel, présente également une grande variabilité selon les conditions environnementales (Killingbeck, 1996). Hikosaka (2005) dans sa revue souligne que les résultats sont contradictoires quant à l'existence de relations entre disponibilités en nutriments et efficacité de résorption de N (pourcentage de N de la feuille résorbé à la fin de sa vie). A partir d'une analyse bibliographique, Aerts (1996) conclut qu'il n'y a pas de tendance significative de l'efficacité de résorption de N en relation avec la disponibilité en N.

Les mécanismes précis en jeu ne sont pas connus. En ce qui concerne la variabilité du seuil de teneur en N auquel les tissus verts deviennent nécrotiques, un élément de compréhension peut cependant être donné: il est souvent considéré que l'abscission des feuilles d'un arbre se produit quand l'assimilation nette devient inférieure à zéro (Ackerly and Bazzaz, 1995; Ackerly, 1999). Or, l'activité photosynthétique dépend à la fois de la quantité de lumière interceptée par la feuille et de sa quantité de N par unité de surface. La respiration augmente également avec la teneur en N de la feuille. Pour un niveau d'éclairement donné, il existe donc une quantité de N minimum pour laquelle l'assimilation nette est nulle. Néanmoins, aucun modèle n'a jusqu'à présent été développé pour prédire ce seuil. Compte tenu que, pour des conditions identiques d'éclairement, la mortalité se produit pour des valeurs de teneur en N dépendant de la fertilisation azotée, il nous paraît possible que ce seuil dépende des conditions d'alimentation azotée de la feuille au cours de sa vie.

En ce qui concerne le déterminisme de la quantité de N résiduel, deux types de variabilité selon les conditions environnementales pourraient être mis en jeu: soit des résorptions plus ou moins complètes, soit une variabilité de la quantité de N résiduel.

d. Effet sur les gradients verticaux de N

Peu d'études expérimentales ont été faites sur l'évolution des relations SLN-lumière en préfloraison en fonction de la fertilisation azotée. En effet, chez beaucoup d'espèces, la fertilisation azotée joue essentiellement sur l'indice foliaire mais peu sur le SLN (Grindlay, 1997a pour une revue). Gastal et Lemaire (2002), dans une revue, concluent que le déclin du SLN en fonction du LAI (Leaf Area Index: surface foliaire par unité de surface de sol) cumulé depuis le sommet du couvert ou de la fraction de lumière transmise par rapport au sommet du couvert, tend à être plus fort en cas de faible fertilisation azotée. De même, Hikosaka et al. (1994) ont trouvé chez des plantes de vignes (*Ipomea tricolor* Cav.) que le gradient de SLN entre le haut et le bas du couvert, exprimé en fonction du LAI cumulé depuis le sommet du couvert, diminuait avec l'augmentation de la fertilisation azotée. Néanmoins, ces résultats dépendent étroitement des méthodes de calcul (par exemple, si les auteurs ont considérés ou non le N des tissus morts en bas du couvert). D'autre part, Dreccer et al. (2000) n'ont pas toujours observé des gradients de SLN plus forts entre le haut et le bas du couvert pour des conditions de forte fertilisation azotée par rapport à des conditions de faible fertilisation azotée (Cf. figure 14). Pendant le remplissage des grains qui engendre une diminution du statut azoté des parties végétatives, Sadras et al. (1993) ont observé, chez le tournesol, une diminution du gradient de SLN entre le haut et le bas du couvert.

III.3. Le génotype

La régulation des dynamiques de N dans la plante diffère selon les génotypes: par exemple, Van Sanford et Mackown (1987) ont quantifié que la contribution de la sénescence foliaire au remplissage en N de l'épi pour neuf cultivars de blé d'hiver variait entre 50 et 90%. Cette variabilité offre des possibilités en terme de sélection de nouveaux cultivars, pourvu qu'on puisse comprendre l'origine de cette variabilité. Les parties précédentes nous ont montré que la distribution du rayonnement dans le couvert et le prélèvement de N depuis le sol étaient les deux variables principales déterminant les dynamiques de N dans la plante.

La distribution du rayonnement dans le couvert est fortement affectée par l'architecture du couvert. Il s'agit par exemple de la densité du peuplement (Hirose et al., 1988 pour *Lysimachia vulgaris*, une herbe pérenne; Schieving et al., 1992 pour *Carex acutiformis*, une monocotylédone pérenne) mais aussi de variables intrinsèques au génotype comme le port foliaire (Grindlay, 1997a). Anten et al. (1995a) ont par exemple montré que les dicotylédones, qui ont des feuilles plutôt horizontales, ont un gradient de SLN, exprimé en fonction du LAI cumulé depuis le sommet du couvert, plus fort que les monocotylédones qui ont des feuilles plus verticales. Chez le blé, des ports foliaires plus érigés comme chez Caphorn permettent à la fois une plus faible extinction de la lumière dans le couvert et une plus faible interception de la lumière par unité de surface de feuille par rapport à des cultivars ayant un port plus planophile comme Soissons. Le prélèvement de N racinaire dépend de l'architecture de l'appareil racinaire mais aussi des dynamiques de N dans la plante. En effet, le prélèvement racinaire est affecté par la concentration en acides aminés circulant dans la plante (Cf. II.2.b.).

On voit ici l'intérêt de développer un modèle simulant les dynamiques de N dans une plante de blé à partir du N disponible dans le sol et de la lumière arrivant au sommet du couvert avec des paramètres propres au génotype (rendant compte de son architecture et de sa gestion des dynamiques de N): un tel modèle permettrait de prédire les conséquences d'une

modification d'un paramètre génotypique sur les dynamiques de N et ainsi d'orienter la sélection de nouveaux cultivars.

En retour, la variabilité génotypique offre également des possibilités pour mieux comprendre les dynamiques de N dans la plante et donc pour développer un modèle, en comparant les caractéristiques des différents cultivars. Les phénotypes stay-greens, qui présentent une sénescence monocarpique moindre, sont des outils de travail intéressants. Comme illustré dans figure 19, pour un cultivar non stay-green, les structures végétatives sont quasiment complètement mortes à maturité alors que des cultivars stay-green présentent une part significative de tissus encore verts.

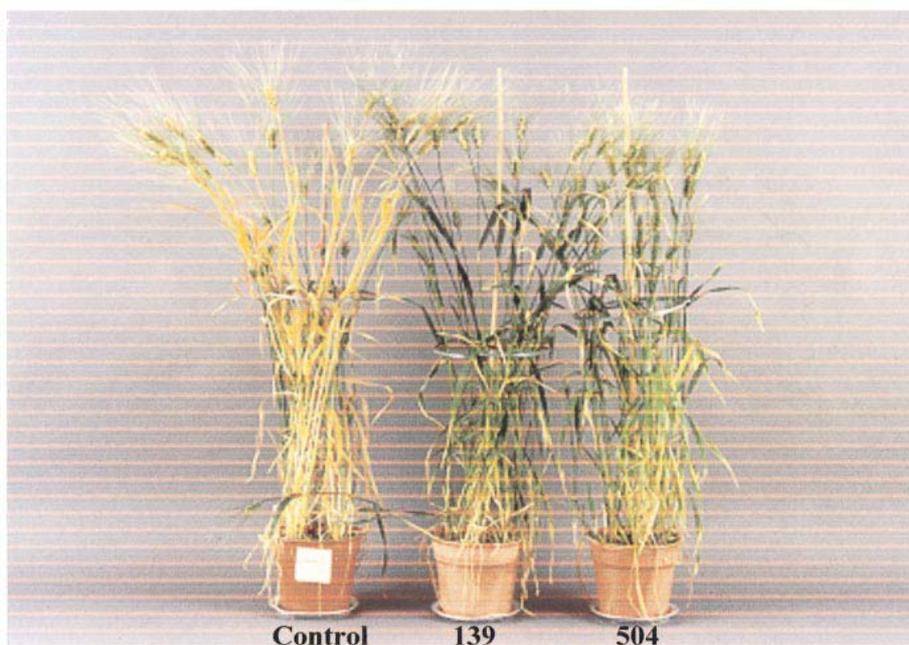


Figure 19. Le phénotype stay-green chez le blé dur. La plante témoin correspond au cultivar Trinakia. Les deux autres plantes sont des mutants (Spano et al., 2003).

Thomas et Smart (1993) ont définis quatre classes de stay-green. Deux classes sont reliées à des effets fonctionnels, correspondant soit à une sénescence différée dans le temps, soit à une vitesse de sénescence plus lente ; les autres classes correspondent à des effets cosmétiques : l'appareil photosynthétique n'est plus fonctionnel mais la feuille reste verte en lien avec l'absence de dégradation de la chlorophylle. Un cinquième type de stay-green a été introduit par Howarth (2000), dans lequel la mort des tissus est retardée simplement en lien avec une quantité initiale de N dans la feuille plus forte. Toutefois, les frontières entre ces classes ne semblent pas parfaitement délimitées: dans une étude de Borrell et Hammer (2000) sur sorgho, le stay-green KS19 présente à la fois un retard dans la sénescence et une augmentation de la vitesse de sénescence, alors que le stay-green B35 présente uniquement un retard dans la sénescence. Ces deux stay-green sont aussi du type défini par Howarth, puisqu'ils présentent des SLN plus fort à la floraison (Borrell et al., 2001).

Les mécanismes responsables du caractère stay-green ne sont qu'en partie connus (Borrell et al., 2001). Chez le sorgho, une rétention des protéines du chloroplaste jusque tardivement dans la sénescence est observée, permettant un maintien de l'activité photosynthétique sur une longue période. D'autre part, les stay-greens présentent souvent une plus forte capacité d'absorption racinaire (Rajcan and Tollenaar, 1999; Borrell and Hammer, 2000) ainsi qu'un plus fort nombre de grains par m² (Borrell and Hammer, 2000). Mais, le déterminisme génotypique qui serait à l'origine du phénotype stay-green n'est pas connu. Il pourrait s'agir

d'une plus forte capacité intrinsèque des racines à absorber du N du sol, ou alors une plus grande capacité de stockage du N dans les feuilles en lien, par exemple, avec un plus faible turnover des protéines foliaires.

III.4. Les stress: des accélérateurs de la sénescence

Les plantes sont statiques si bien que la sénescence est un moyen pour la plante de passer d'un environnement défavorable à un environnement plus favorable (Leopold, 1980). Pour des cultures en préfloraison par exemple, les feuilles les plus basses qui sont ombrées remobilisent leur N vers les feuilles du haut qui sont elles éclairées. En post-floraison, le N est remobilisé vers les grains ce qui assurent la pérennité de l'espèce d'une année sur l'autre. Tout stress peut engendrer une sénescence prématurée (Masclaux-Daubresse et al., 2008). C'est le cas des stress hydriques par exemple (Wolfe et al., 1988a, 1988b) pour lesquels des changements métaboliques similaires à ceux de la sénescence monocarpique sont observés. Je vais surtout présenter ici les stress liés à l'attaque de pathogènes foliaires puisque l'équipe dans laquelle je travaille étudie les interactions plantes - pathogènes.

Les pathogènes fongiques aériens, comme la septoriose ou la rouille brune chez le blé, provoquent l'apparition de lésions qui viennent s'ajouter aux tissus nécrotiques issus de la sénescence naturelle. Des effets directs similaires sont observés par la présence de conditions oxydantes liées, par exemple, aux UVB, à l'ozone (O₃) (Masclaux-Daubresse et al., 2008). Ces effets directs sont accompagnés d'effets indirects qui correspondent à une accélération de la mort naturelle des tissus non infectés. Cette accélération de la sénescence des tissus non infectés est due à une perturbation des dynamiques de N dans la plante par la présence de pathogènes. Tout d'abord, les pathogènes prélèvent du N pour leur sporulation (Robert et al., 2002). Les dynamiques de N sont aussi perturbées indirectement par: (i) la baisse des surfaces photosynthétiques, ce qui diminue le flux transpiratoire et ainsi le flux de N depuis les racines vers les feuilles matures ; (ii) par le prélèvement de C par les pathogènes, ce qui affecte les dynamiques de C et ainsi les flux de N dans le phloème.

La perte de rendement engendrée par les pathogènes est directement liée à la perte de surface foliaire (Bancal et al., 2007). Celle-ci reflète la mort des tissus attaqués, mais également une accélération de la sénescence induite sur les feuilles saines (van den Berg et al., 2007). Or, la sénescence induite est surtout liée à la perturbation des dynamiques de C et N par l'introduction de puits supplémentaires de C et N que représentent les pathogènes. Ainsi, comprendre la régulation des dynamiques de N et modéliser ces dynamiques dans une plante saine peut apporter des éléments de compréhension de l'effet des pathogènes sur des plantes malades. Une plante malade peut être vue comme une plante saine avec moins de surface foliaire et des puits de C et N supplémentaires. Un modèle de dynamique de N dans une plante saine, pour être couplé à un modèle de maladies, doit pouvoir être suffisamment flexible et mécaniste pour prédire l'effet de l'introduction localisée d'un puits pour N supplémentaire et à des endroits variés sur la plante.

L'atténuation du PPFD avec la profondeur dans le couvert détermine la formation de gradients verticaux de teneur en N au niveau des limbes foliaires. Néanmoins, en phase post floraison, il ne semble pas exister de gradient de N le long d'un limbe soumis à un gradient de PPFD. Le ratio rouge clair/rouge sombre et l'âge des feuilles diminuent également avec la profondeur dans le couvert et affectent le métabolisme azoté des feuilles, mais leur effet est moindre par rapport à celui du PPFD. L'effet du PPFD sur la teneur en N d'une feuille est d'augmenter son flux transpiratoire et donc la quantité de N disponible pour la synthèse des protéines foliaires ainsi que la quantité de cytokinines qui stimulent également leur synthèse. L'accumulation de sucres dans une feuille peut au contraire stimuler sa sénescence (perte de N).

Peu d'études ont été faites sur les gradients verticaux de N après la floraison et pour les autres entités que les limbes. Elles suggèrent que le gradient vertical de N entre le haut et le bas du couvert diminue au cours de la phase post-floraison, et que la teneur en N des gaines et entre-noeuds est, comme pour les limbes, distribuée verticalement.

Une forte fertilisation azotée après la floraison retarde la sénescence foliaire. Ce retard peut s'interpréter comme une augmentation de la contribution du prélèvement racinaire par rapport à celle de la sénescence à la forte demande en N des grains. Une forte fertilisation azotée augmente également le seuil de teneur en N auquel les tissus meurent. En revanche, la variabilité de la quantité de N résiduelle dans les tissus morts est inconnue. En plus, une forte fertilisation azotée avant et après floraison augmente la concentration en N finale dans les grains. Néanmoins, un seuil maximum a été observé. Il résulte d'un feedback négatif de la quantité d'acides aminés circulant dans la plante sur le prélèvement racinaire.

Un modèle mécaniste prédisant les dynamiques de N dans une plante de blé saine en peuplement en fonction de l'environnement lumineux au dessus du peuplement et du N disponible dans le sol offre des perspectives pour la sélection de nouveaux cultivars et la compréhension des interactions plantes – pathogènes.

IV. LES MODELES, LEURS LIMITES ET LES PERSPECTIVES

IV.1. Les théories d'optimisation et de coordination

Les distributions verticales de SLN dans le couvert ont souvent été modélisées en utilisant la théorie d'optimisation qui a l'avantage de la simplicité. Cette théorie est présentée dans une première partie ainsi que le principe et les résultats de quelques modèles qui l'utilisent. La théorie d'optimisation a également été utilisée pour simuler le turnover foliaire, c'est-à-dire la mort des vieilles feuilles en lien avec l'apparition de nouvelles. Ces modèles sont présentés dans une deuxième partie. Puis, une troisième partie expose les limites conceptuelles de la théorie d'optimisation. Une autre théorie, la théorie de coordination, est née pour répondre à ces limites. Son principe et ses résultats sont exposés dans une dernière partie.

a. La théorie d'optimisation pour la modélisation des distributions verticales d'N dans les couverts

La théorie

La théorie d'optimisation est issue de l'analyse théorique de Mooney et Gulmon (1979) qui cherchaient à expliquer les différences de capacité photosynthétique observées entre des plantes dont la croissance s'était faite sous des intensités lumineuses contrastées. La théorie se fonde sur le fait que la photosynthèse d'une feuille est limitée à la fois par le SLN de la feuille et par la densité de flux de photons absorbés dans le visible (PPFD). Ces auteurs ont proposé qu'un faible PPFD au niveau d'une feuille devait s'accompagner pour cette feuille d'un faible investissement dans la fabrication de protéines photosynthétiques, puisque l'investissement dans des protéines supplémentaires augmenterait d'avantage les coûts que les bénéfices en terme d'assimilation de C, celle-ci étant limitée par la lumière disponible.

A l'issue de cette analyse théorique, des modèles ont été développés pour simuler les gradients verticaux de SLN au sein des couverts, en formalisant l'hypothèse que le gradient vertical de SLN est le résultat d'une adaptation de la plante qui permet de maximiser sa photosynthèse: la plante « répartit » son N entre les feuilles de telle sorte que l'investissement du N dans l'appareil photosynthétique soit « le plus rentable possible » en terme de photosynthèse. Voici les premiers modèles utilisant cette théorie et l'évolution de sa formalisation au travers de ces modèles.

Les modèles

Field (1983) est le premier à avoir formalisé l'idée de Mooney et Gulmon (1979). Il a fait l'hypothèse que, pour une quantité donnée de N dans le couvert, l'assimilation en C de l'ensemble des feuilles est maximisée quand toute réallocation de N diminue l'assimilation en C de la feuille exportatrice autant qu'elle augmente l'assimilation en C de la feuille réceptrice. Les auteurs expriment ceci par la phrase « in every microsite, the rate of change of daily carbon gain with changing leaf nitrogen is equal » et par l'équation (1):

$$\lambda = \partial P_d / \partial n_t \quad (1)$$

où P_a est l'assimilation nette journalière de la feuille, n_L la concentration en N (masse de N par unité de masse sèche) et λ un multiplicateur Lagrangien non spécifique (λ diminue lorsque la disponibilité en N augmente ; Terashima et al., 2005).

Sur cette base, et en calculant la photosynthèse avec le modèle de Farquhar et al. (1980), Field (1983) a simulé le gradient vertical optimal de concentration en N (masse de N par unité de masse sèche) pour un arbuste à feuilles caduques (*Lepechinia calycina*). Il a montré, par simulation, que la distribution de N calculée engendrait une assimilation nette journalière de C supérieure de 1% à celle correspondant à une distribution uniforme de N (c'est-à-dire une distribution dans laquelle toutes les feuilles ont une concentration en N égale à la concentration en N moyenne du couvert). Toutefois, l'assimilation nette calculée était supérieure de 2% à celle mesurée et le gradient calculé de concentration en N était plus fort que celui observé.

Une approche opposée (qualifiée d'approche *a posteriori*) à celle de Field (1983) a été développée par Hirose et Werger (1987). Ces auteurs ont développé un modèle où la distribution du SLN dans le couvert est modélisée comme une fonction exponentielle négative du LAI cumulé depuis le sommet du couvert :

$$N_L = N_o \cdot \exp(-K_a \cdot F / F_t) \quad (2)$$

où N_o et N_L sont les teneurs en N par unité de surface foliaire pour la couche horizontale supérieure du couvert et au sein du couvert à une profondeur F ; F_t est le LAI total du couvert ; K_a est le coefficient d'allocation de N foliaire. $K_a = 0$ indique une distribution uniforme du SLN et $K_a = 1$ indique une distribution optimale.

Ces auteurs ont montré que, dans un couvert de verge d'or haute (*Solidago altissima* L.), l'assimilation de C journalière mesurée était 20% supérieure à celle simulée pour un couvert ayant une distribution de N homogène. Néanmoins, comme dans les résultats de Field (1983), l'assimilation nette journalière est surestimée par le modèle d'optimisation et les gradients verticaux de SLN calculés sont plus forts que ceux observés (les K_a respectifs sont de 1.30 et 0.798). Ils attribuent cette surestimation à la non prise en compte du fait que seule une partie du N foliaire est remobilisable.

Par la suite, Anten et al. (1995a) ont développé une solution analytique au modèle d'Hirose et Werger (1987) de manière à simplifier les calculs. De plus, ils ont rajouté l'hypothèse qui est que seul le N mobile, non associé aux structures, peut être remobilisé. Dans leur modèle, le SLN associé aux structures correspond à la valeur de SLN à laquelle la photosynthèse nette est nulle. La solution analytique proposée par ces auteurs est que la distribution de N est optimale quand K_a est égal au coefficient d'extinction pour le PPFd (K_l).

Les modèles décrits ci-dessus ont été évalués pour des espèces qui ne sont pas cultivées en grandes cultures. Mais, la théorie d'optimisation a également été utilisée pour étudier les distributions verticales de N pour les grandes cultures. Par exemple, Dreccer et al. (2000) ont montré, chez le blé d'hiver en phase végétative, que la distribution verticale de SLN était proche (1%) de l'optimum maximisant l'assimilation nette de C journalière. Connor et al. (1995) ont également montré, chez le tournesol après la floraison, que le gradient vertical observé pour le SLN permettait une photosynthèse proche de celle correspondant au gradient optimum théorique jusque quasiment la maturité physiologique.

b. La théorie d'optimisation pour la modélisation de la durée de vie des feuilles

Des modèles d'optimisation ont également été développés pour prédire la durée de vie des feuilles d'un couvert foliaire: l'idée est que la remobilisation de N engendrée par la mort d'une feuille ombrée en bas du couvert pour la formation d'une nouvelle feuille éclairée en haut du couvert permet d'augmenter l'assimilation de C du couvert (Franklin and Agren, 2002; Hikosaka, 2005).

Les modèles les plus simples (Kikuzawa, 1991; Ackerly, 1999) simulent le turnover des feuilles indépendamment des quantités de N dans le couvert (Cf. Hikosaka, 2005, pour revue). En revanche, Anten et al. (1995b) ont développé un modèle qui calcule un LAI optimal, c'est-à-dire qui maximise l'assimilation nette du couvert, avec en entrée la quantité de N dans le couvert. Ce modèle prédit ainsi le LAI correspondant à un régime permanent du système plante. Ce modèle a été utilisé par Hikosaka (2003) pour développer le modèle dynamique de turnover foliaire décrit dans la figure 20: à partir d'un état initial pour lequel l'indice foliaire du couvert et la quantité de N par m² de sol sont connus, l'assimilation nette de C du couvert est calculée. Le C produit est utilisé pour la production de nouvelles feuilles ce qui augmente l'indice foliaire du couvert. D'autre part, le prélèvement de N par les racines augmente la quantité de N dans le couvert. Alors, des calculs d'optimisation permettent d'estimer l'indice foliaire qui maximise l'assimilation nette de C du couvert. Si celui-ci est en excès par rapport à celui calculé par optimisation, les vieilles feuilles sont éliminées. Une partie du N du couvert est également perdue dans ces feuilles. En conséquence, un nouveau couvert avec un LAI optimal est obtenu. La dynamique de l'indice foliaire est obtenue en répétant ces étapes.

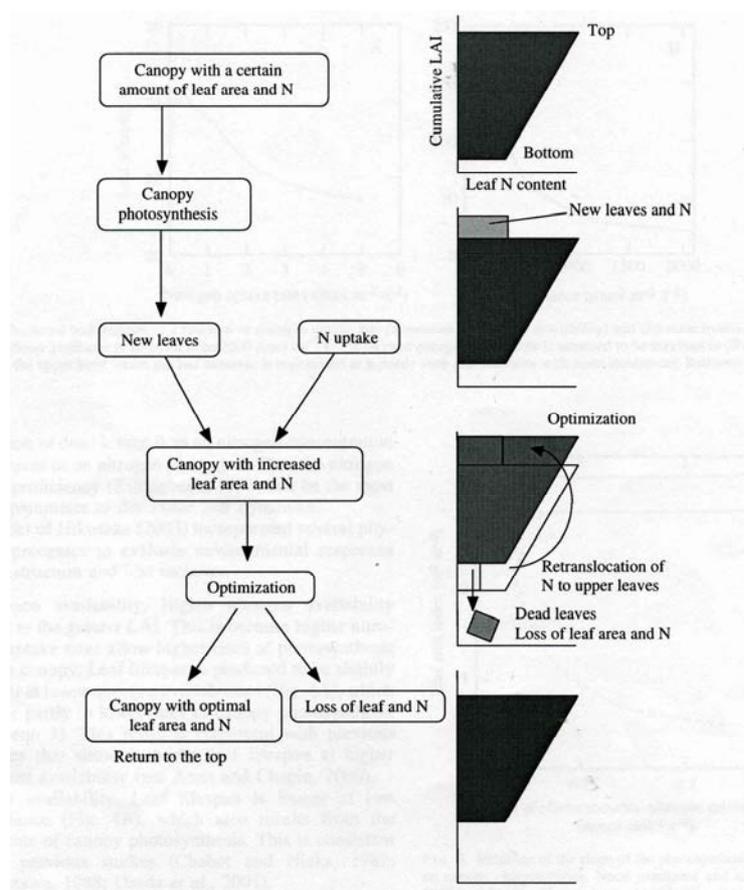


Figure 20. Représentation schématique du modèle dynamique de turnover foliaire d'Hikosaka (2003) (d'après Hikosaka, 2005)

c. Les principales limites conceptuelles des théories d'optimisation

Kull (2002) a réalisé une revue bibliographique des travaux sur la théorie d'optimisation et observe que l'assimilation nette de C du couvert prédite par optimisation est de 1 à 15% plus élevée que celle observée. De plus, des écarts existent généralement entre les gradients verticaux de N calculés par la théorie d'optimisation et ceux observés. Enfin, la surface foliaire observée est généralement plus faible que celle calculée. L'auteur conclut que la théorie d'optimisation présente des faiblesses, à la fois pratiques et conceptuelles.

Les écarts pourraient être liés à l'hypothèse que le couvert est généralement supposé être en régime permanent dans les modèles utilisant la théorie d'optimisation. La distribution de N à un moment donné est calculée en fonction de la distribution de la quantité de lumière et d'une quantité de N dans le couvert qui ont été mesurées à un instant donné. La solution trouvée est donc spécifique aux distributions de lumière mesurées et à la quantité de N du couvert mesurée ; elle suppose ainsi un certain état d'équilibre de la plante. Or, en conditions naturelles, les quantités de N dans le couvert et l'intensité lumineuse peuvent fluctuer très rapidement, et la plante a besoin de plusieurs jours pour s'acclimater aux nouvelles conditions de lumière. Ainsi, si les fluctuations sont trop rapides, la plante n'a pas le temps de s'acclimater ce qui peut expliquer qu'elle ne soit pas à l'état d'équilibre calculé par optimisation.

Une autre limite aux modèles d'optimisation concerne le choix de la variable à maximiser et le mode de calcul de cette variable (Chen et al., 1993; Reynolds and Chen, 1996). Les calculs d'optimisation nécessitent d'utiliser des fonctions simples: ceci est nécessaire pour des calculs rapides et en particulier des solutions analytiques. Par exemple, la réponse de la photosynthèse nette à la lumière interceptée a parfois été modélisée comme une hyperbole non rectangulaire, et la décroissance du SLN en fonction du LAI cumulé depuis le sommet du couvert comme une fonction exponentielle. Or, ces approximations simplificatrices sont assez inexactes dans certains cas: ainsi, le SLN ne décroît pas toujours selon une exponentielle négative du LAI cumulé (voir Dreccer et al., 1998 pour un exposé précis).

De manière plus fondamentale, c'est le principe même de la théorie d'optimisation qui est remis en cause par différents auteurs: la théorie suppose que la plante a optimisé son comportement au cours de son évolution de manière à être compétitive. Mais, il est probable qu'une plante n'est pas optimale vis-à-vis d'une seule contrainte, et que les contraintes aient changé au cours du temps en fonction des contraintes environnementales et des pressions de sélection. De plus, cette théorie adopte un point de vue anthropogénique en supposant que la plante entière est un individu avec un unique centre de décision (Chen et al., 1993). En réalité, les entités constituant une plante sont semi-autonomes fonctionnant à la fois selon l'environnement de la plante mais aussi selon leur environnement propre (Cf. IV.3.1).

d. La théorie de coordination

La théorie de coordination s'est posée comme une alternative à la théorie d'optimisation pour une modélisation plus mécaniste du SLN d'une feuille en lien avec le PPFD intercepté par la feuille (Chen et al., 1993).

Principe

La théorie de coordination propose une modélisation de la quantité de N par unité de surface foliaire en se fondant sur l'analyse des mécanismes de la photosynthèse. Le modèle mécaniste de photosynthèse de Farquhar (von Caemmerer, 2000) a servi de base à cette théorie. Dans ce modèle, la photosynthèse d'une feuille est calculée en fonction du PPFD et de la concentration en CO₂ dans l'atmosphère, en considérant que le taux de carboxylation de la Rubisco est limité:

- soit par l'activité de la Rubisco (définie par le taux de carboxylation maximum, V_{cmax}), ce qui se produit sous de fortes concentrations en CO₂,
- soit par l'activité du transport électronique (définie par la vitesse de transport des électrons, J_{max}), ce qui se produit sous des fortes lumières.

Les taux de carboxylation de la Rubisco limités respectivement par V_{cmax} et J_{max} sont notés W_c et W_j . La théorie de coordination suppose que les paramètres V_{cmax} et J_{max} dépendent du SLN (dans la pratique, une dépendance linéaire est considérée) et que les plantes allouent de N aux feuilles de manière à maintenir un équilibre entre W_c et W_j . Ainsi, pour une feuille dans un environnement lumineux donné, quand sa teneur en N excède celle nécessaire pour mettre en équilibre W_c et W_j , la feuille agit comme un fournisseur de N pour les autres feuilles, qui sont elles déficitaires en N, de manière à maintenir l'équilibre entre W_c et W_j .

Résultats et limites conceptuelles

La théorie de la coordination permet de proposer une modélisation mécaniste du SLN d'une feuille en relation avec son environnement lumineux local, et ceci définit une distribution verticale de N dans le couvert. Néanmoins, la théorie présente des limites quant au passage de l'échelle de la feuille à celle de la plante ou du couvert. En effet, il n'y a pas forcément une quantité suffisante de N dans le couvert pour que toutes les feuilles atteignent leur point d'équilibre entre W_c et W_j . Pour résoudre ce problème, les auteurs supposent que, s'il n'y a pas assez de N dans le couvert pour que les feuilles atteignent leur point d'équilibre, les plantes coordonnent le déséquilibre entre feuilles en réallouant les quantités de N jusqu'à ce que toutes les feuilles aient le même déséquilibre. Toutefois, cette seconde hypothèse n'a pas de fondement mécaniste.

Expérimentalement, il apparaît que les modèles utilisant la théorie de coordination surestiment systématiquement les gradients verticaux d'N comme c'était le cas pour les modèles utilisant la théorie d'optimisation. Cela pourrait être également relié au fait qu'elle prédit une solution correspondant à un état d'équilibre du N dans la plante alors que la plante n'est jamais à équilibre. Etant donnée sa plus grande complexité par rapport à la théorie d'optimisation mais à des prédictions identiques, la théorie de coordination n'a été que peu utilisée.

IV.2. Les modèles compartimentaux

En parallèle aux modèles fondés sur les théories d'optimisation et de coordination, surtout utilisés en écologie, des modèles ont été développés en agronomie: il s'agit de modèles compartimentaux, qui modélisent les dynamiques de C et N pour les grands compartiments de la plante. Les compartiments considérés dépendent du modèle considéré. Néanmoins, les modèles distinguent généralement un compartiment racine, un compartiment feuille, un compartiment tige (gainés + entre-noeuds) et un compartiment reproducteur, comme l'épi chez le blé.

De nombreux modèles compartimentaux ont été construits durant les dernières décennies (Jeuffroy et al., 2002). Cependant, ils sont tous basés sur le même schéma conceptuel, dans lequel la disponibilité en nutriments est comparée à la demande de la culture. Si la demande excède l'offre, il y a une déficience qui modifie la croissance de la culture, réduisant à son tour la demande en N.

Dans les parties qui suivent, je vais détailler comment ces modèles traitent: (i) de la demande en N de la culture, (ii) de la mort des tissus, (iii) des effets d'une déficience en N, (iv) du prélèvement racinaire de N et (v) du remplissage en N des grains. Une première partie décrit le principe général des modèles compartimentaux ; une deuxième partie présente en détail le modèle Sirius (Jamieson and Semenov, 2000; Martre et al., 2006) qui se différencie des modèles précédents en proposant une modélisation plus mécaniste de l'effet d'une déficience en N sur la croissance de la culture, du remplissage en N des grains et du prélèvement de N par les racines.

a. Principe général

La demande en N des compartiments

Dans les modèles compartimentaux, la teneur en N des compartiments varie entre des bornes inférieures et supérieures définies empiriquement. La borne inférieure représente le N impliqué dans les structures. La demande en N d'un compartiment est classiquement définie par une teneur en N cible à atteindre. Cette teneur en N cible est soit définie en fonction du développement ontogénique (*e.g.*, van Keulen and Seligman, 1987, pour le blé; Villalobos et al., 1996; Boote et al., 1998 pour les légumineuses à graines; Bouman and Laar, 2006 pour le riz), soit en fonction de la masse sèche du compartiment (*e.g.*, Brisson et al., 1998 pour le blé et le maïs; Gabrielle et al., 1998a; 1998b pour le colza). La relation entre la teneur en N cible et la masse sèche du compartiment a l'avantage d'être stable pour différentes conditions climatiques et pour des espèces différentes (Gastal and Lemaire, 2002, pour une revue): il s'agit de la loi de dilution de l'N (Fig. 19).

La loi de dilution de N est née de la recherche d'une loi permettant de comprendre la variation au cours du temps de la teneur en N cible. Elle a été définie à la suite de l'observation que la concentration en N diminuait au cours du cycle de culture (Lemaire and Salette, 1984a, 1984b; Justes et al., 1994 chez le blé). Dans cette loi, la concentration en N des parties aériennes, exprimée en pourcentage de la masse sèche ($N\%$), est reliée à leur masse sèche exprimée en $t\ ha^{-1}$ (W) selon la relation suivante:

$$N\% = aW^{-b} \quad (3)$$

Le $N\%$ critique ($N\%_{\text{critical}}$) est défini comme la concentration en N minimum pour atteindre le taux de croissance en masse sèche de la culture maximum (Greenwood et al., 1986). Il correspond à une situation de nutrition azotée optimale (pas de déficience ni de stockage) pour la croissance de la culture. De nombreuses études ont été menées sur des cultures variées pour déterminer les paramètres de la courbe de dilution de l’N pour des situations de nutrition azotée optimales. La valeur du paramètre b n’est pas statistiquement différente de $1/3$ pour les espèces sur lesquelles a été faite l’estimation, y compris les C_3 et C_4 . La valeur du paramètre a diffère elle seulement entre les C_3 et les C_4 (Greenwood et al., 1990).

$N\%_{\text{critical}}$ fournit un indice de l’état de nutrition azotée, l’INN: il s’agit du ratio entre le %N réel et le $N\%_{\text{critical}}$. La figure 21 représente la courbe de dilution de N pour des %N critiques ainsi que le principe de l’INN.

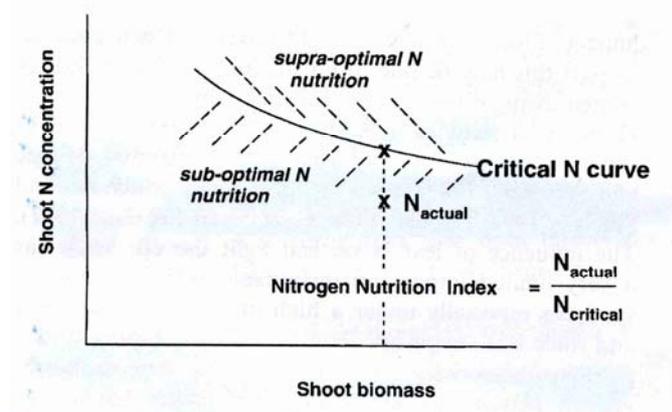


Figure 21. Représentation schématique de la courbe de dilution de N en cas de concentration en N critique dans les parties aériennes, et du principe de l’INN. Les concentrations en N correspondent à des pourcentages de masse de N par unité de masse sèche (Gastal and Lemaire, 2002)

Effet d’une pénurie en N, remobilisation de N vers les organes reproducteurs, mort des tissus et prélèvement de N racinaire

La demande en N de la culture, calculée à partir d’une teneur en N cible à atteindre, est plus ou moins satisfaite selon la quantité de N prélevée par les racines. Lorsque la quantité de N prélevée par les racines est insuffisante pour satisfaire la demande des compartiments, l’assimilation de C et la croissance de la culture sont réduites et la mort des tissus accélérée. Ces effets sont pris en compte dans les modèles via l’utilisation de facteurs de stress définis empiriquement.

Après la floraison, le N des organes reproducteurs provient de la remobilisation de l’ensemble du N des compartiments végétatifs qui n’est pas associé aux structures. La quantité de N structural est déterminée empiriquement et peut ou non, selon les modèles, prendre des valeurs différentes pour les différents compartiments.

La mort des tissus est prise en compte de manière plus ou moins mécaniste selon les modèles. Par exemple, Bouman et van Laar (2006) sur le riz utilise une vitesse de mort des feuilles définie empiriquement, mais sensible aux conditions de nutrition azotée. En revanche, Gabrielle et al. (1998) utilisent à la fois un seuil minimum de SLN sous lequel une fraction de la surface foliaire devient nécrotique et un seuil minimum de quantité de PAR pour laquelle l’assimilation brute compense exactement les pertes par respiration.

Le prélèvement racinaire est généralement pris en compte dans les modèles via l’utilisation de trois termes (Jeuffroy et al., 2002): (i) la disponibilité en N du sol, (ii) la profondeur et la densité de racines dans les différentes couches de sol, (iii) la capacité des racines à prélever du N. Néanmoins, ces modèles prennent en compte l’effet de l’état nutritionnel de la culture sur le prélèvement de N racinaire de manière très empirique. Or, nous avons montré dans le III.2. qu’en cas de forte concentration en N mobile dans la plante, le prélèvement racinaire était diminué.

b. Les modèles Sirius et *Siriusquality1*

Les dynamiques de N au cours de la période préfloraison

Quatre compartiments sont pris en compte dans le modèle *Siriusquality1*: les racines, les feuilles, les tiges (gainnes + entrenœuds + balles) et les grains (Jamieson et al., 1998; Jamieson and Semenov, 2000; Martre et al., 2006). En ce qui concerne les racines, uniquement la vitesse d'extension verticale des racines est modélisée, afin de calculer le volume de sol exploré par le système racinaire et ainsi calculer les dynamiques des pools d'eau et du N du sol disponibles pour la plante (Jamieson et al., 1998).

La croissance et la sénescence des couches de feuilles sont modélisées à l'échelle du peuplement (*i.e.*, chaque couche de feuille correspond à un rang foliaire de tiges fertiles ; Lawless et al., 2005). A chaque pas de temps, la croissance potentielle de chaque couche de feuilles est tout d'abord calculée en fonction de la température et de la disponibilité en eau dans le sol. La croissance foliaire réelle est ensuite calculée en fonction du N disponible dans le sol en considérant un SLN constant de 1.5 g N m^{-2} (Grindlay, 1997a). Ainsi, le principal effet direct d'une carence azotée est de diminuer la surface foliaire. Le compartiment tige est un compartiment de stockage de N (non photosynthétique) et de C (sucres solubles) (Martre et al., 2006). La tige peut stocker du N jusqu'à 1% de sa biomasse.

L'existence d'un compartiment de stockage de N permet à ce modèle d'être plus mécaniste que les autres. C'est dans ce compartiment que le N prélevé par les racines ou issu de la remobilisation des feuilles est temporairement stocké; c'est depuis ce compartiment que le N est prélevé pour la croissance des structures végétatives et le remplissage en N des grains. De cette manière, l'effet d'une carence en N se traduit sur la croissance et la sénescence des feuilles via la quantité de N présente dans le compartiment tige et non par l'intermédiaire de facteurs de stress. Par exemple, de nouvelles feuilles se forment uniquement si la quantité de N disponible dans le compartiment tige est suffisante pour former des feuilles avec 1.5 g N m^{-2} . Le compartiment tige dans *Siriusquality1* équivaut au pool de N soluble pour la plante suggéré dans la partie II.2.

Les dynamiques de N au cours du remplissage des grains

Le N et la matière sèche d'un grain sont considérés comme étant associés pour une part aux structures (N_{stru} et C_{stru} , mg) et pour une autre part aux réserves, *i.e.*, protéines de réserve (N_{sto} , mg) et amidon (C_{sto} , mg ; Martre et al., 2003). L'accumulation de N_{stru} et C_{stru} est modélisée en fonction de la demande des grains, tandis que l'accumulation des protéines de réserve et de l'amidon est supposée uniquement dépendante des sources de N et C. A maturité, les protéines de réserve et l'amidon représentent environ 80% et 60% du N et de la matière sèche totaux du grain. A l'opposé de la plupart des modèles compartimentaux existant, l'accumulation de N dans *SiriusQuality1* est globalement déterminée par la taille du pool de N remobilisable et est essentiellement indépendante du nombre de grains. La taille du pool de N remobilisable est calculée en considérant une concentration en N minimale, représentant le N structural, de 0.6 et 0.3% dans les feuilles et les tiges, respectivement.

Le N_{stru} représente une fraction constante de C_{stru} . L'accumulation de C_{stru} dans le grain a lieu uniquement pendant les phases de division et d'expansion cellulaire: elle est exponentielle pendant la phase de division cellulaire et proportionnelle à la quantité de C_{stru} présente à la fin de la phase de division cellulaire pendant la phase d'expansion cellulaire.

Le N_{sto} et C_{sto} commencent à s'accumuler après la fin de la phase de division cellulaire. Cette accumulation se termine lorsque soit une somme de températures donnée entre la floraison et la maturité physiologique (déterminée génétiquement) est atteinte, soit la surface

foliaire verte est nulle. La vitesse d'accumulation de N_{sto} est calculée chaque jour de manière à ce que tout le N non structural des tissus végétatifs soit transféré à la fin du remplissage des grains. La première source de N pour le grain est la tige. Si la quantité de N remobilisable dans la tige n'est pas suffisante, la sénescence des feuilles est accélérée de manière à satisfaire le flux de N vers les grains. Au cours du remplissage du grain, le compartiment tige peut stocker du N provenant de l'absorption racinaire. Ce flux d'absorption est limité 1) par la capacité de stockage de la tige, qui a une concentration maximale en N de 1% ; 2) la vitesse maximale d'absorption racinaire, qui diminue linéairement avec le temps thermique accumulé après floraison ; 3) la disponibilité en N minérale dans le sol. La première limitation permet de rendre en compte du rétrocontrôle négatif du statut nutritionnel de la culture sur le prélèvement de N racinaire (Triboi and Triboi-Blondel, 2002). La deuxième rend compte de la diminution de la capacité de prélèvement racinaire observée pendant le remplissage en N des grains (Oscarson et al., 1995). Cette diminution peut être attribuée à la diminution des surfaces photosynthétiquement actives, qui engendre à la fois une diminution de l'allocation de C pour le système racinaire, provoquant ainsi sa sénescence, et une diminution du flux transpiratoire et donc du flux de nitrates transportés depuis les racines vers les feuilles.

c. Les principales limites

Dans tous ces modèles, la teneur en N des compartiments varie entre un minimum et un maximum, définis empiriquement, et par une demande en N correspondant à une teneur en N cible à atteindre, qui peut être définie différemment selon les modèles (pour une discussion, voir Jeuffroy et al., 2002). L'existence de ces bornes, plus ou moins empiriques, rend ces modèles très dépendants des conditions dans lesquelles ils ont été calibrés. *SiriusQuality1* (Martre et al., 2006) apparaît plus mécaniste vis-à-vis de l'effet de la nutrition azotée sur la croissance de la plante et la mort des tissus, ainsi que pour la modélisation du prélèvement du N racinaire. Une modélisation mécaniste est aussi proposée pour le remplissage en N des grains.

On peut supposer que le manque de caractère mécaniste de ces modèles soit lié à leur trop grande échelle d'intégration des processus. Cette échelle, dans laquelle les entités ne sont pas distinguées selon leur position dans le couvert, ne leur permet par exemple pas de prendre en compte l'effet de l'environnement lumineux d'un limbe sur sa sénescence et donc la quantité de N remobilisée. D'autre part, ces modèles mélangent généralement des entités qui n'ont pas le même fonctionnement, en regroupant par exemple gaine et entre-noeud dans un même compartiment tige, alors que ces deux entités ont vraisemblablement des comportements différents. Ces limitations imposent à ces modèles de considérer l'allocation du N et du C entre les organes de manière encore très empirique.

Enfin, dans ces modèles, le raisonnement à l'échelle du couvert (les quantités de N sont exprimées en masse par unité de surface de sol) ne permet pas de prendre en compte les compétitions qui peuvent exister entre plantes au sein du couvert et l'hétérogénéité du peuplement. Ils sont ainsi peu adaptés pour la modélisation des couverts plurispécifiques.

IV.3. L'approche structure-fonction

a. Présentation générale

L'approche structure-fonction ou « Plante Virtuelle » (Room et al., 1996) est née il y a une quinzaine d'années (de Reffye et al., 1989; Prusinkiewicz and Lindenmayer, 1990). Elle fait l'hypothèse qu'une explicitation réaliste de la structure botanique de la plante et du peuplement peut apporter des solutions nouvelles pour modéliser et comprendre le fonctionnement des plantes et des peuplements végétaux. Cette approche est présentée à l'adresse web suivante : <http://www-egc.grignon.inra.fr/pages-fr/ressources/texte-web-andrieu.pdf>, ainsi que dans Andrieu et al. (2006). Les différents travaux qui ont été faits dans ce domaine ont notamment été publiés dans plusieurs numéros spéciaux (1999, *Agronomie*, 19:163-327 ; 2005, *New Phytol.* 166: 771-894 ; 2008, *Func. Plant Biol.* 35: 739-1090).

Caractéristiques de cette approche

Dans cette approche, l'organisation des modèles est calquée sur la structure botanique de la plante, ce qui permet d'avoir une plus grande fidélité entre la façon dont la plante fonctionne dans la réalité et celle dont on l'exprime dans les modèles. En particulier, l'explicitation de la morphologie des organes et de l'organisation de l'architecture de la plante permet de prendre en compte l'effet de la structure sur les transferts de matière interne à la plante (ex: connexion vasculaire privilégiée entre organes, effet des distances sur les transferts) et sur l'environnement (ex: modification de l'environnement lumineux en réponse à la croissance). Cette approche permet ainsi de prendre en compte l'existence d'une hétérogénéité à la fois interne (disponibilité en C et N, caractéristique des tissus voisins et des organes avec lesquels un organe est lié vasculairement) et externe (lumière, température) à la plante. La prise en compte de cette hétérogénéité est essentielle à la modélisation du fonctionnement des plantes car on sait que le fonctionnement de chaque organe dépend en partie de son environnement propre. Par exemple, la vitesse de croissance d'un organe dépend de la température de sa propre zone de croissance ; la teneur en N foliaire s'ajuste au rayonnement perçu par la feuille ; l'orientation et la croissance des feuilles et tiges (Ballare and Casal, 2000) ainsi que des racines (Doussan et al., 2003) sont aussi régulées par l'environnement local, permettant des stratégies de recherche des ressources. Néanmoins, les organes d'une même plante ne sont pas totalement indépendants et un enjeu majeur de l'approche structure-fonction est de réussir à combiner les rôles de l'environnement local à l'organe (interne et externe) et celui de la plante.

Deux caractéristiques sont souvent associées aux modèles utilisant ce type d'approche. Tout d'abord, les plantes sont généralement décrites en 3D de manière à pouvoir simuler les conditions environnementales en chaque point de la structure (Chelle, 2005 pour une revue). Les modèles les plus opérationnels concernent la distribution du rayonnement : par exemple, le modèle de distributions de la lumière de Chelle et Andrieu (1998) permet de simuler la quantité de lumière (et même sa qualité) en tout point d'une structure 3D à partir de sa géométrie, de ses propriétés optiques et du rayonnement incident. A la différence des approches traditionnelles utilisant la loi de Beer (Monsi and Saeki, 2005), cette approche de modélisation du rayonnement de type surfacique permet de simuler le rayonnement intercepté par des organes ayant n'importe quelle géométrie (organes verticaux comme les entre-noeuds, les gaines ; feuilles courbes). La figure 22 représente une reconstruction 3D d'une plante de blé après la floraison (Fig. 22a) et de plantes de maïs en peuplement avant la floraison (Fig. 22b).

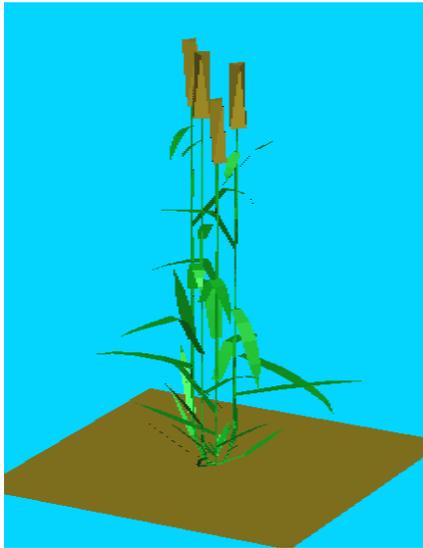


Figure 22a. Représentation 3D d'une plante de blé comprenant un brin maître et trois talles après la floraison, en utilisant les L-system (*ADEL-Blé : Fournier et al., 2003 ; visualisé sous Bvis, Andrieu B., communication personnelle*).



Figure 22b. Représentation 3D de plantes de maïs en peuplement avant la floraison, en utilisant les L-system (*Reconstruction Drouet JL, visualisé sous Bvis, Andrieu B., communication personnelle*).

Deuxièmement, la structure des plantes étant modulaire (Cf. I.1. pour la structure du blé), c'est-à-dire constituée d'un ensemble d'entités botaniques similaires, la modélisation de leur fonctionnement (développement, croissance, dynamiques C et N) dans ce type d'approche est également modulaire: le fonctionnement d'une plante est modélisé comme résultant du fonctionnement en parallèle de chaque entité qui dépend de son environnement à la fois externe et interne. Les entités de même type (ex: limbes foliaires ou gaines ou entre-noeuds) peuvent avoir des règles de fonctionnement identiques quelque soit le rang du phytomère auquel elles appartiennent, mais leur comportement diffère en raison de leur environnement local. Sur le même principe, le fonctionnement du peuplement végétal est considéré comme un ensemble de plantes dont chacune réagit selon l'environnement qu'elle perçoit et qu'elle modifie à son tour (par sa croissance par exemple) conditionnant son fonctionnement et celui des plantes voisines.

Cette approche se fonde sur l'hypothèse que des comportements de systèmes complexes peuvent être prédits à partir de lois locales simples et que cela fournit une base « mécaniste » permettant de comprendre le fonctionnement des plantes et de proposer des modèles plus génériques que les modèles compartimentaux classiques. En outre, la prise en compte des plantes individuelles au sein d'un peuplement et la modélisation de leur fonctionnement en fonction de leur environnement propre permet de prendre en compte les phénomènes de compétitions entre plantes.

Le développement des outils informatiques

La naissance de cette approche a eu lieu grâce aux avancées informatiques et à l'augmentation de la capacité de calcul des ordinateurs. Il a en effet fallu développer des outils qui permettent de reconstruire informatiquement la plante par connexion d'entités définies en référence à la botanique et représentées par des formes géométriques plongées dans un espace à trois dimensions. Pour obtenir une plante en croissance, il a aussi fallu faire évoluer ces organes selon des règles. Cela pose des problèmes informatiques particuliers que je ne détaille pas. Des plateformes informatiques ont spécialement été créées puis développées à différents endroits dans le monde : L-studio (Prusinkiewicz et Lindenmayer au Canada), GroImp (W. Kurt en Allemagne), GreenLab (de Reffye en France). Ces plateformes présentent des outils de visualisation des plantes reconstruites en 3D et permettent des échanges avec des programmes simulant l'environnement.

Parmi les langages informatiques, les L-systems (ou « Lindenmayer system », du nom du biologiste Aristid Lindenmayer qui a introduit ce formalisme) permettent de décrire le développement comme un processus émergent du fonctionnement parallèle des sous-unités qui composent cet organisme (Lindenmayer, 1968). En effet, les L-systèmes se définissent dans le cadre de grammaires formelles et sont basés sur des processus de réécriture dans lequel un module est transformé en un nouveau module à chaque pas de temps. Les réécritures se font en parallèle pour tous les modules déjà existants. Une description complète est présentée dans Prusinkiewicz et al. (1997).

Une nouvelle plateforme (libre) de programmation visuelle pour la modélisation des plantes, OpenAlea (<http://openalea.gforge.inria.fr/dokuwiki/doku.php>), a été récemment créée pour faciliter l'intégration et l'interopérabilité de modèles hétérogènes et développés dans des langages différents, issus de différentes équipes scientifiques. Le langage python est utilisé pour coupler les modèles: il présente en effet des bibliothèques pour utiliser d'autres langages comme le C, le C++, le Fortran ou R. Un travail est par exemple en cours pour coupler les modèles de structure 3D de blé, ADEL-Blé (Fournier et al., 2003) et de maïs, ADEL-Maïs (Fournier and Andrieu, 1998), au modèle de distribution de la lumière développé par Chelle et Andrieu (1998).

Les difficultés

L'échelle de description de la morphologie de la plante rend les expérimentations très lourdes et très coûteuses en temps. D'autre part, le « changement de représentation » associé à l'approche structure-fonction comparée aux approches compartimentales usuelles a des conséquences importantes sur la méthode de modélisation. En effet, le comportement de la plante est une propriété émergente de lois locales qui doivent être génériques pour chaque type d'entité. Pour la modélisation des distributions d'N entre limbes par exemple, il faudrait trouver une loi caractérisant les limbes foliaires et qui permette de rendre compte des distributions verticales de SLN en fonction de l'environnement lumineux local à chaque limbe et du statut azoté de la plante ainsi que de la croissance des grains.

La difficulté est de trouver ces lois locales, qui doivent être caractéristiques du végétal et indépendantes des conditions environnementales. Cela nécessite une caractérisation de l'environnement externe à l'organe et interne à la plante. L'environnement externe peut, avec les outils actuels, être relativement bien caractérisé. En revanche, l'environnement interne reste difficilement caractérisable.

Utilisation de l'approche structure-fonction pour la modélisation du fonctionnement des plantes

De nombreux travaux sont encore nécessaires pour exploiter toutes les possibilités que l'approche « Plante Virtuelle » offre pour mieux comprendre le fonctionnement des plantes. Jusqu'à aujourd'hui, c'est surtout la réponse de la plante à son environnement externe pour la prospection des ressources qui a été étudiée. En revanche, un travail de recherche important est encore nécessaire pour concrétiser les possibilités que cette approche ouvre dans la compréhension des régulations et des transferts internes à la plante (dynamiques de C et N).

Jusqu'à présent, l'attention s'est surtout portée sur la modélisation des dynamiques de C. On peut citer les modèles suivants avec leurs particularités: (i) GreenLab (de Reffye and Hu, 2003) qui utilise des méthodes d'optimisation pour calculer les fonctions source-puits de chaque organe de la plante, (ii) L-peach (Allen et al., 2005) qui fait intervenir des résistances au transport, (iii) GRAAL-CN (Drouet and Pagès, 2007) qui alloue le C aux organes selon le rapport source-puits, (iv) EcoMeristem (Dingkuhn et al., 2006; Luquet et al., 2006) et (v) ADEL-Maïs (Fournier and Andrieu, 1998) qui font l'hypothèse que les organes de la plante partagent un pool commun. ADEL-Maïs simule en plus la compétition entre plantes. Des modélisations différentes sont utilisées selon les modèles, témoignant de la difficulté d'identifier des lois génériques décrivant le fonctionnement des différents organes. Aucun modèle basé sur une approche structure-fonction n'a réellement traité des dynamiques de N dans la plante. GRAAL-CN traite certes des dynamiques de N, mais les mêmes lois que celles régissant les dynamiques de C sont utilisées, ce qui n'est pas vraisemblable, et le rôle de la lumière n'est pas pris en compte.

b. Les modèles de turnover de l'appareil photosynthétique: une base pour la modélisation des dynamiques de N en utilisant une approche structure-fonction

Les modèles de turnover sont basés sur l'existence d'un turnover permanent des protéines de l'appareil photosynthétique (Kull, 2002). Ils utilisent les observations qui ont été faites concernant la synthèse et la dégradation de la Rubisco.

Bases physiologiques des modèles de turnover

La synthèse de la Rubisco a été largement étudiée (*e.g.*, Smilie, 1962; Kleinkopf et al., 1970; Obendorf and Huffaker, 1970). Une dépendance avec l'âge de la feuille et la disponibilité en lumière a été mise en évidence. Moins d'études se sont focalisées sur la dégradation de la Rubisco. Néanmoins, la cinétique de dégradation a pu clairement être caractérisée: Irving et Robinson (2006) ont démontré en utilisant du marquage ^{15}N que la dégradation de la Rubisco pouvait être modélisée par une cinétique d'ordre 1.

Le modèle de Thornley

Thornley (1998; 2004) a proposé de modéliser, pour une seule feuille mature, la quantité de N constituant l'appareil photosynthétique sur la base du turnover des protéines de l'appareil photosynthétique. Dans le modèle de Thornley (1998), la feuille est connectée à un compartiment racinaire et est caractérisée par sa quantité de N photosynthétique ainsi que par une quantité de substrat azoté (acides aminés, nitrates essentiellement). La quantité de N photosynthétique d'une feuille résulte de la différence entre un taux de synthèse et de dégradation. Le taux de synthèse du N photosynthétique ($S_{\text{N}^{\text{ph}}}$, $\text{kg N}^{\text{ph}} \text{ jour}^{-1}$) dépend de

l'énergie lumineuse interceptée par la feuille ainsi que de la quantité de substrat disponible selon une double michaélienne:

$$S_{N^{ph}} = \sigma \cdot M \cdot \frac{[N]_s}{[N]_s + k_s} \cdot \frac{I}{I + k_i} \quad (4)$$

où M est la masse sèche structurale de la feuille, σ ($\text{kg } N^{ph} (\text{kg } M)^{-1} \text{ jour}^{-1}$) est un coefficient, $[N]_s$ est la concentration en N de substrat dans la feuille ($\text{kg } N_s (\text{kg } M)^{-1}$), I l'intensité lumineuse reçue par la feuille ($\text{J PAR m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), et k_s ($\text{kg } N_s (\text{kg } M)^{-1}$) et k_i ($\text{J PAR m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) les deux constantes de la double michaélienne.

Le taux de dégradation du N photosynthétique ($D_{N^{ph}}$, $\text{kg } N^{ph} \text{ jour}^{-1}$) est uniquement dépendant de la masse de N photosynthétique (N^{ph} , kg) dans la feuille et suit une cinétique d'ordre 1:

$$D_{N^{ph}} = \delta \cdot N^{ph} \quad (5)$$

où δ (jour^{-1}) est la constante de temps pour la dégradation de la Rubisco.

Le transport entre le N de substrat du compartiment racinaire vers la feuille est modélisé par l'intermédiaire de résistances au transport caractéristiques du compartiment racinaire et de la feuille.

D'autres modèles

D'autres modèles se basent également sur le turnover de l'appareil photosynthétique pour simuler à la fois les dynamiques de C et N dans un couvert, comme celui de Kull et Kruijt (1999) ou celui de Dewar et al. (1998) pour un couvert de feuilles matures avant leur entrée en sénescence. Comme pour le modèle de Thornley (1998), les feuilles se caractérisent par un pool de N photosynthétique et un pool de N mobile, qui est en relation avec un pool commun à toutes les feuilles de la plante. En revanche, dans ces modèles, la synthèse de N^{ph} ne dépend pas directement de la lumière mais plutôt de la disponibilité en substrats carbonés (issus de la photosynthèse). En ce qui concerne le transport, Kull et Kruijt (1999) supposent qu'il dépend des différences de concentrations entre pool de N mobile de la feuille et pool commun, Dewar et al. (1998) ne modélisent pas explicitement le transport.

Les limites

Tous ces modèles n'ont jamais été validés quant à leurs prédictions vis-à-vis des distributions de N au sein des couverts. En effet, les validations qui ont été faites ont surtout concerné la prédiction de l'assimilation de C nette du couvert entier.

L'approche utilisée dans ces modèles se rapproche de l'approche structure-fonction en ce qu'elle utilise des lois physiologiques à l'échelle de la feuille pour prédire la photosynthèse du couvert entier. Néanmoins, ces modèles se limitent à des couverts de feuilles sans considérer les autres organes qui jouent un rôle dans les dynamiques de N. De plus, ils ne s'appliquent que pour des feuilles matures avant leur entrée en sénescence. L'utilisation du turnover de l'appareil photosynthétique a néanmoins des potentialités pour modéliser les dynamiques de N dans des couverts de céréales comme le blé, y compris pour les feuilles en cours de sénescence, qui peut être vue comme le résultat d'une synthèse moindre de N photosynthétique résultant d'une diminution de la quantité de lumière ou de substrat azoté, ce dernier étant lié à l'absorption racinaire de N et au prélèvement de N par les racines. Reste à savoir maintenant comment modéliser la mort des tissus à partir de la remobilisation de N au niveau d'une feuille.

Différents modèles de dynamique de N ont été développés par les écologistes et les écophysiologistes :

- (i) Les modèles utilisant la théorie d'optimisation supposent que le N se distribue verticalement entre différents étages foliaires de manière à maximiser l'assimilation de C par le couvert. Ces modèles proposent une solution simple pour modéliser les distributions verticales de teneurs en N observées dans les couverts végétaux. Mais cette solution n'est pas fondée sur des processus biologiques ce qui rend difficile l'extrapolation des résultats obtenus pour les couverts végétatifs à d'autres situations, comme celles de la phase après la floraison ou de l'attaque de pathogènes foliaires, qui introduisent des puits supplémentaires pour N.*
- (ii) Les modèles compartimentaux simulent les transferts de N entre compartiments de la plante selon certaines lois qui sont le résultat de processus biologiques. Néanmoins, ils intègrent ces processus à une échelle trop grande pour pouvoir simuler le fonctionnement d'un génotype dans une gamme de conditions de cultures et de conditions climatiques si bien qu'ils ne sont pas réellement mécanistes. Ils ne rendent par exemple pas compte de la distribution verticale de N dans un couvert puisqu'ils ne différencient pas les feuilles selon leur position dans le couvert.*

L'approche structure-fonction ouvre des perspectives pour simuler de manière plus mécaniste les dynamiques de N dans une plante en représentant la structure de la plante de manière botaniquement réaliste. Elle permet entre autres de prendre en compte l'effet de l'environnement local (interne et externe) d'une entité sur son fonctionnement. Elle a également l'avantage par rapport aux autres approches de se situer à l'échelle de la plante au sein de laquelle ont lieu effectivement les transferts de N et non à l'échelle du couvert.

Le modèle de Thornley (1998, 2004) constitue une base pour modéliser les dynamiques de N dans une plante de blé de manière mécaniste en utilisant une approche structure-fonction: dans ce modèle, la quantité de N d'un limbe foliaire est modélisée à partir du turnover des protéines de l'appareil photosynthétique.

V. PROPOSITION D'UN SCHEMA DE MODELISATION

L'objectif du projet de thèse est de proposer une modélisation « mécaniste » des dynamiques de N au sein de la partie aérienne d'une plante de blé après la floraison. L'approche utilisée est l'approche structure-fonction qui ouvre des perspectives pour ce type de modélisation. L'analyse bibliographique montre que les brins de blé sont indépendants entre eux après la floraison et donc que la modélisation des dynamiques de N peut se limiter à un brin de blé.

Le modèle de turnover de l'appareil photosynthétique proposé par Thornley (1998, 2004) a été choisi comme base pour cette modélisation. L'hypothèse de ce modèle est que les dynamiques de N dans une plante constituée de feuilles matures sans tissus nécrotiques sont régulées majoritairement par le turnover des protéines de l'appareil photosynthétique au niveau de chaque feuille. La synthèse de N associé à l'appareil photosynthétique (appelé N photosynthétique) dépend de la lumière interceptée par la feuille et de la quantité de N mobile (principalement acides aminés et nitrates) disponible ; sa dégradation suit une cinétique d'ordre 1, uniquement dépendante de la quantité de N photosynthétique dans la feuille. Cette hypothèse est en accord avec les observations que, chez le blé, le N est majoritairement associé aux protéines de l'appareil photosynthétique et que ces protéines sont soumises à un turnover permanent. Il prend également en compte les deux variables environnementales qui affectent le plus les dynamiques de N dans une plante de blé: la lumière interceptée par chaque feuille ainsi que le statut azoté de la plante. Ce modèle, en considérant que les dynamiques de N au niveau de la plante résultent d'un processus local à chaque entité qui dépend de son environnement externe et interne, est en adéquation avec l'approche structure-fonction.

L'analyse bibliographique montre que le N mobile peut être considéré comme faisant partie d'un pool commun à toutes les entités de la plante. Elle suggère également que la mort des tissus d'un limbe à l'issue de la sénescence (*i.e.*, remobilisation de N) se produit quand leur masse de N surfacique devient inférieure à un certain seuil. Ce seuil varie en fonction de la nutrition azotée de la plante mais aucune quantification n'a été réalisée. Enfin, une modélisation mécaniste du remplissage en N des grains a été proposée par Martre et al. (2003, 2007): elle suppose que la masse de N finale dans les grains est essentiellement déterminée par les sources de N, qui sont le prélèvement racinaire et la remobilisation de N depuis les tissus végétatifs.

En revanche, la littérature n'est pas claire quant au déterminisme de l'entrée en sénescence d'un limbe foliaire qui correspond au passage d'une activité majoritairement importatrice de N à une activité majoritairement exportatrice. Ici, l'hypothèse est faite que ce passage n'est pas déterminé par un changement dans le métabolisme du limbe, mais simplement par le changement quantitatif du bilan entre les activités d'importation et d'exportation de N déjà observées avant l'entrée en sénescence du limbe. Les cytokinines qui sont impliquées dans le retard de la sénescence foliaire sont également supposées ne pas engendrer un changement dans le métabolisme de la feuille mais simplement accompagner l'augmentation du taux de synthèse normal des protéines foliaires.

A l'issue de l'analyse bibliographique, un schéma conceptuel peut être élaboré pour la modélisation des dynamiques de N au sein d'un brin. Dans ce schéma, les différents phytomères, le pédoncule ainsi que les balles du système brin échangent de N via un pool commun de N mobile. En plus de ces échanges, la quantité de N mobile dans le pool commun est enrichie par le N apporté par les racines (prélèvement racinaire et remobilisation) et appauvrie par le remplissage en N des grains. Les échanges entre le pool commun et un limbe sont régulés par le turnover du N photosynthétique. Ainsi, le turnover du N photosynthétique

des différents limbes diffère uniquement par la lumière qu'ils interceptent. Les tissus meurent quand leur quantité de N par unité de surface devient inférieure à un certain seuil.

Cependant, un certain nombre d'inconnues demeurent pour pouvoir implémenter un modèle de dynamique de N au sein d'un brin de blé après la floraison :

- (i) Les entités individuelles, *i.e.*, limbe, gaine, entre-nœud, pédoncule, peuvent être soumises à un fort gradient de lumière. Est-ce qu'il existe un gradient de masse de N surfacique au sein de ces entités ou la distribution du N est-elle intégrée à l'échelle des entités ? La réponse à cette question est fondamentale pour définir le grain du modèle, c'est-à-dire pour savoir si la modélisation du turnover du N photosynthétique peut se faire à l'échelle de l'entité entière ou doit se faire au niveau de fragments d'entité, chacun caractérisé par un niveau de lumière donné.
- (ii) Le modèle de turnover du N photosynthétique se justifie facilement pour les limbes foliaires. En revanche, peu d'études ont concerné les autres entités que les limbes foliaires (gainnes et entre-noeuds) si bien que les déterminismes des échanges entre le pool commun et les autres entités que les limbes ne sont pas connus. Une question majeure est donc: est-ce que les gainnes et entre-noeuds individuels répondent à la lumière qu'ils interceptent et à l'état azoté du brin de la même manière que les limbes ?
- (iii) La variabilité du seuil de mort des tissus en fonction de leur état azoté n'a jamais été quantifiée.
- (iv) Le déterminisme de la quantité de N résiduelle dans les tissus morts n'est pas compris.

Les deux chapitres qui suivent présentent des résultats d'expérimentations qui donnent des éléments de réponse aux deux premières questions. Le troisième chapitre consiste à tester la pertinence d'une approche basée sur le turnover du N photosynthétique pour simuler les dynamiques de N au sein d'un brin de blé après la floraison. Pour cela, un modèle simulant les dynamiques de N entre limbes basé sur le modèle de turnover du N photosynthétique de Thornley (1998) a été implémenté. En plus, la mort des tissus d'un limbe est supposée avoir lieu quand leur masse en N surfacique devient inférieure à un seuil minimum, dont la valeur est déterminée empiriquement. Le remplissage en N des grains est également modélisé en se basant sur le modèle de Martre et al. (2007). Les dynamiques dans les autres entités que les limbes ainsi que le N apporté par les racines sont forcées aux données expérimentales.

REFERENCES

- Abbate PE, Andrade FH, Culot JP** (1995) The effects of radiation and nitrogen on number of grains in wheat. *Journal of Agricultural Science Cambridge* **124**: 351-360
- Ackerly D** (1999) Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models. *Oecologia* **119**: 300-310
- Ackerly DD, Bazzaz FA** (1995) Leaf Dynamics, Self-Shading and Carbon Gain in Seedlings of a Tropical Pioneer Tree. *Oecologia* **101**: 289-298
- Aerts R** (1996) Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns? *Journal of Ecology (Oxford)* **84**: 597-608
- Allen MT, Prusinkiewicz P, DeJong TM** (2005) Using L-systems for modeling source-sink interactions, architecture and physiology of growing trees: the L-PEACH model. *New Phytologist* **166**: 869-880
- Aloni R, Langhans M, Aloni E, Dreieicher E, Ullrich CI** (2005) Root-synthesized cytokinin in *Arabidopsis* is distributed in the shoot by the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany* **56**: 1535-1544
- Andrieu B, Lecoeur J, Lemaire G, Ney B** (2006) Le peuplement végétal cultivé. *In* T Doré, P Martin, B Ney, J Roger-Estrade, eds, *L'agronomie aujourd'hui*. Editions Quae Versailles, pp 103-136
- Anten NPR, Schieving F, Medina E, Werger MJA, Schuffelen P** (1995b) Optimal leaf area indices in C₃ and C₄ mono- and dicotyledonous species at low and high nitrogen availability. *Physiologia Plantarum* **95**: 541-550
- Anten NPR, Schieving F, Werger MJA** (1995a) Patterns of light and nitrogen distribution in relation to whole canopy carbon gain in C₃ and C₄ mono- and dicotyledonous species. *Oecologia* **101**: 504-513
- Austin RB** (1980) Physiological limitations to cereal yields and ways of reducing them by breeding. *In* RGHe al., ed, *Opportunities for increasing crop yields* Association of Applied Biology, Pitman, Boston, pp 3-19
- Austin RB** (1999) Yield of wheat in the United Kingdom: Recent advances and prospects. *Crop Science* **39**: 1604-1610
- Austin RB, Ford MA, Morgan CL** (1989) Genetic improvement in the yield of winter wheat: a further evaluation. *Journal of Agricultural Science* **112**: 295-301
- Ballare CL, Casal JJ** (2000) Light signals perceived by crop and weed plants. *Field Crops Research* **67**: 149-160
- Ballare CL, Scopel AL, Sanchez RA** (1990) Far-red radiation reflected from adjacent leaves: an early signal of competition in plant canopies. *Science* **247**: 329-332
- Bancal MO, Robert C, Ney B** (2007) Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Annals of Botany* **100**: 777-789
- Barreiro R, Guamet JJ, Beltrano J, Montaldi ER** (1992) Regulation of the photosynthetic capacity of primary bean leaves by the red:far-red ratio and photosynthetic photon flux density of incident light. *Physiologia Plantarum* **85**: 97-101
- Beman JM, Arrigo KR, Matson PA** (2005) Agricultural runoff fuels large phytoplankton blooms in vulnerable areas of the ocean. *Nature* **434**: 211-214
- Benbella M, Paulsen GM** (1998) Efficacy of treatments for delaying senescence of wheat leaves: I. Senescence under controlled conditions. *Agronomy Journal* **90**: 329-332
- Bjorkman O** (1981) Responses to different quantum flux densities. *In* OLN Lange, P.S.; Osmond, C.B.; Ziegler, H., ed, *Physiological plant ecology I. Responses to the physical environment*, Vol 12A. *Encyclopedia of Plant Physiology. New Series.*, pp 57-107

- Boonman A, Prinsen E, Gilmer F, Schurr U, Peeters AJM, Voeselek LACJ, Pons TL** (2007) Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation to canopy light gradients. *Plant Physiology* **143**: 1841-1852
- Boote KJ, Jones JW, Hoogenboom G, Pickering NB** (1998) The CROPGRO model for grain legumes. *In* Understanding options for agricultural production., pp 99-128
- Borrell A, Hammer G** (2000) Nitrogen Dynamics and the Physiological Basis of Stay-Green in Sorghum. *Crop science* **40**: 1295-1307
- Borrell A, Hammer G, Oosterom Ev** (2001) Stay-green: a consequence of the balance between supply and demand for nitrogen during grain filling? *Annals of Applied Biology* **138**: 91-95
- Borrell AK, Hammer GL, Henzell RG** (2000) Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Science* **40**: 1037-1048
- Bouman BAM, Laar HHv** (2006) Description and evaluation of the rice growth model ORYZA2000 under nitrogen-limited conditions. *Agricultural Systems* **87**: 249-273
- Brancourt-Hulmel M, Doussinault G, Lecomte C, Bérard P, Le Buanec B, Trottet M** (2003) Genetic improvement of agronomic traits of winter wheat cultivars released in France from 1946 to 1992. *Crop Science* **43**: 37-45
- Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy MH, Ruget F, Nicoulaud B, Gate P, Devienne-Barret F, Antonioletti R, Durr C, Richard G, Beaudoin N, Recous S, Tayot X, Plenet D, Cellier P, Machet JM, Meynard JM, Delecolle R** (1998) STICS: a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balances. I. Theory and parameterization applied to wheat and corn. *Agronomie* **18**: 311-346
- Brouquisse R, Masclaux C, Feller U, Raymond P** (2001) Protein hydrolysis and nitrogen remobilization in plant life and senescence. *In* PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp 275-293
- Cassman KG, Dobermann A, Walters DT, Yang H** (2003) Meeting cereal demand while protecting natural resources and improving environmental quality Annual review of environment and resources **28**: 315-358
- Chelle M** (2005) Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *New Phytologist* **166**: 781-790
- Chelle M, Andrieu B** (1998) The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling* **111**: 75-91
- Chen JL, Reynolds JL, Harley PC, Tenhunen JD** (1993) Coordination theory of leaf nitrogen distribution in a canopy. *Oecologia* **93**: 63-69
- Chory J, Reinecke D, Sim S, Washburn T, Brenner M** (1994) A role for cytokinins in detriolation in Arabidopsis. det mutants have an altered response to cytokinins. *Plant Physiology* **104**: 339-347
- Connor DJ, Sadras VO, Hall AJ** (1995) Canopy nitrogen distribution and the photosynthetic performance of sunflower crops during grain filling - a quantitative analysis. *Oecologia* **101**: 274-281
- Cooper HD, Clarkson DT** (1989) Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoot and roots in cereals - a possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *Journal of Experimental Botany* **40**
- Cooper HD, Clarkson DT, Johnston MG, Whiteway JN, Loughman BC** (1986) Cycling of amino-nitrogen between shoots and roots in wheat seedlings. *Plant and Soil* **91**
- Davies DD** (1982) Physiological aspects of protein turnover. *In* D Boulter, B Parthier, eds, *Nucleic acids and proteins in plants. I. Structure, Biochemistry and Physiology of proteins*. Encyclopedia of Plant Physiology., Vol New series. Berlin Heidelberg New York, pp 189-228

- de Reffye P, Edelin C, Jaeger M** (1989) La modélisation de la croissance des plantes. *La Recherche* **207**: 158-168
- de Reffye P, Hu BG** (2003) Invited talk. Relevant qualitative and quantitative choices for building an efficient dynamic plant growth model: GreenLab case. *In Plant Growth Modeling and Applications, Proceedings*, pp 87-107
- Delrot S, Rochat C, Tegeder M, Frommer WB** (2001) Amino acid transport. *In* PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp 213-235
- Dewar RC, Medlyn BE, McMurtrie RE** (1998) A mechanistic analysis of light and carbon use efficiencies. *Plant, Cell and Environment* **21**: 573-588
- Dickson RE, Vogelmann TC, Larson PR** (1985) Glutamine Transfer from Xylem to Phloem and Translocation to Developing Leaves of *Populus deltoides*. *Plant Physiology* **77**: 412-417
- Dingkuhn M, Luquet D, Kim H, Tambour L, Clement-Vidal A** (2006) EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice. 2. Simulating genotype responses to phosphorus deficiency. *Functional Plant Biology* **33**: 325-337
- Donovan GR, Lee JW** (1978) Effect of the nitrogen source on grain development in detached wheat heads in liquids culture. *Australian Journal of Plant Physiology* **5**: 81-87
- Doussan C, Pages L, Pierret A** (2003) Soil exploration and resource acquisition by plant roots: an architectural and modelling point of view. *Agronomie* **23**: 419-431
- Dreccer MF, Schapendonk ACM, van Oijen M, Pot CS, Rabbinge R** (2000) Radiation and nitrogen use at the leaf and canopy level by wheat and oilseed rape during the critical period for grain number definition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 899-910
- Drouet JL, Bonhomme R** (1999) Do variations in local light irradiance explain changes to leaf nitrogen within row maize canopies ? *Annals of Botany* **84**: 61-69
- Drouet JL, Pagès L** (2007) GRAAL-CN: A model of GRowth, Architecture and ALlocation for Carbon and Nitrogen dynamics within whole plants formalised at the organ level. *Ecological Modelling* **206**: 231-249
- Dupont FM, Hurkman WJ, Vensel WH, Tanaka C, Kothari KM, Chung OK, Altenbach SB** (2006) Protein accumulation and composition in wheat grains: Effects of mineral nutrients and high temperature. *European Journal of Agronomy* **25**: 96-107
- Evans J** (1989) Photosynthesis and Nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* **78**: 9-19
- Evans JR, Seemann JR** (1989) The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. *In* W Briggs, ed, *Photosynthesis*. Alan R Liss, New York, pp 183-205
- Evers JB, Vos J, Andrieu B, Struik PC** (2006) Cessation of tillering in spring wheat in relation to light interception and red:far-red ratio. *Annals of Botany* **97**: 649-658
- Farquhar GD, Caemmerer Sv, Berry JA** (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* **149**: 78-90
- Feller U, Fischer A** (1994) Nitrogen metabolism in senescing leaves. *Critical Reviews in Plant Sciences* **13**: 241-273
- Field C** (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**: 341-347
- Field C, Mooney, H.A.** (1986) The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. *In* G TJ, ed, *On the economy of form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 25-55
- Fischer RA** (1985) Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *Journal of Agricultural Science* **105**: 447-461
- Fischer RA** (2008) The importance of grain or kernel number in wheat: a reply to Sinclair and Jamieson. *Field Crops Research* **105**: 15-21

- Fischer RA, Stockman YM** (1986) Increased kernel number in Norin-10 derived dwarf wheat: evaluation of the cause. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 767-784
- Fournier C, Andrieu B** (1998) A 3D architectural and process-based model of maize development. *Annals of Botany* **81**: 233-250
- Fournier C, Andrieu B, Ljutovac S, Saint-Jean S** (2003) ADEL-wheat: A 3D architectural model of wheat development. *In Plant Growth Modeling and Applications, Proceedings of 2003 International Symposium*, Ed B-G Hu, M Jaeger, Beijing, pp 54-63
- Franklin O, Agren GI** (2002) Leaf senescence and resorption as mechanisms of maximizing photosynthetic production during canopy development at N limitation. *Functional Ecology* **16**: 727-733
- Gabrielle B, Denoroy P, Gosse G, Justes E, Andersen MN** (1998a) Development and evaluation of a CERES-type model for winter oilseed rape. *Field Crops Research* **57**: 95-111
- Gabrielle B, Denoroy P, Gosse G, Justes E, Andersen MN** (1998b) A model of leaf area development and senescence for winter oilseed rape. *Field Crops Research* **57**: 209-222
- Gallais A, Coque M, Quillere I, Prioul JL, Hirel B** (2006) Modelling postsilking nitrogen fluxes in maize (*Zea mays*) using N-15-labelling field experiments. *New Phytologist* **172**: 696-707
- Gastal F, Lemaire G** (2002) N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany* **53**: 789-799
- Giles J** (2005) Nitrogen study fertilizes fears of pollution. *Nature* **433**: 791
- Gleadow RM, Dalling MJ, Halloran GM** (1982) Variation in endosperm characteristics and nitrogen content in six wheat lines. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**: 539-551
- Gojon A, Plassard C, Bussi C** (1994) Root/shoot distribution of NO₃⁻ assimilation in herbaceous and woody species. *In J Roy, E Garnier, eds, A whole plant perspective on carbon-nitrogen interactions*. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp 131-147
- Gojon A, Soussana JF, Passama L, Robin P** (1986) Nitrate Reduction in Roots and Shoots of Barley (*Hordeum-Vulgare-L*) and Corn (*Zea-Mays-L*) Seedlings .1. N-15 Study. *Plant Physiology* **82**: 254-260
- Gonzalez FG, Slafer GA, Miralles DJ** (2005) Photoperiod during stem elongation in wheat: is its impact on fertile floret number and grain number determination similar to that of radiation ? *Functional Plant Biology* **32**: 181-188
- Gooding MJ, Ellis RH, Shewry PR, Schofield JD** (2003) Effects of restricted water availability and increased temperature on the grain filling, drying and quality of winter wheat. *Journal of Cereal Science* **37**: 295-309
- Greenwood DJ, Lemaire G, Gosse G, Cruz P, Draycott A, Neeteson JJ** (1990) Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals of Botany* **66**: 425-436
- Greenwood DJ, Neeteson JJ, Draycott A** (1986) Quantitative relationships for the dependence of growth rate of arable crops on their nitrogen content, dry weight and aerial environment. *Plant and Soil* **91**: 281-301
- Grindlay DJC** (1997a) Towards an explanation of crop nitrogen demand based on the optimization of leaf nitrogen per unit leaf area. *Journal of Agricultural Science* **128**: 377-396
- Grindlay DJC** (1997b) The relationship between canopy green area and nitrogen in the shoot. *In G Lemaire, IG Burns, eds, Diagnostic procedures for crop N management, Vol Collection "Les colloques"*. INRA-Editions, pp 53-60
- Guiamet JJ, Willemoes JG, Montaldi ER** (1989) Modulation of progressive leaf senescence by the red:far-red ratio of incident light. *Botanical Gazette (Chicago)* **150**: 148-151

- Guitman MR, Arnozis PA, Barneix AJ** (1991) Effect of source-sink relations and nitrogen nutrition on senescence and N remobilization in the flag leaf of wheat. *Physiologia Plantarum* **82**
- Hafsi M, Mechmeche W, Bouamama L, Djekoune A, Zaharieva M, Monneveux P** (2000) Flag leaf senescence, as evaluated by numerical image analysis, and its relationship with yield under drought in durum wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* **185**: 275-280
- Hay RKM** (1995) Harvest index: a review of its use in plant breeding and crop physiology. *Annals of Applied Biology* **126**: 197-216
- Hikosaka K** (2003) A model of dynamics of leaves and nitrogen in a plant canopy: an integration of canopy photosynthesis, leaf life span, and nitrogen use efficiency. *American Naturalist* **162**: 149-164
- Hikosaka K** (2005) Leaf canopy as a dynamic system: ecophysiology and optimality in leaf turnover. *Annals of Botany* **95**: 521-533
- Hikosaka K, Terashima I, Katoh S** (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* **97**: 451-457
- Hirel B, Andrieu B, Valadier MH, Renard S, Quillere I, Chelle M, Pommel B, Fournier C, Drouet JL** (2005) Physiology of maize II: Identification of physiological markers representative of the nitrogen status of maize (*Zea mays*) leaves during grain filling. *Physiologia Plantarum* **124**: 178-188
- Hirel B, Bertin P, Quillere I, Bourdoncle W, Attagnant C, Dellay C, Gouy A, Cadiou S, Retailiau C, Falque M, Gallais A** (2001) Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiology* **125**: 1258-1270
- Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A** (2007) The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany* **58**: 2369-2387
- Hirose T, Werger MJA** (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* **75**: 520-526
- Hirose T, Werger MJA, Pons TL, van Rheenen JWA** (1988) Canopy structure and leaf nitrogen distribution in a stand of *Lysimachia vulgaris* L. as influenced by stand density. *Oecologia* **77**: 145-150
- Hortensteiner S, Feller U** (2002) Nitrogen metabolism and remobilization during senescence. *Journal of Experimental Botany* **53**: 927-937
- Irving LJ, Robinson D** (2006) A dynamic model of Rubisco turnover in cereal leaves. *New Phytologist* **169**: 493-504
- Jamieson PD, Martin RJ, Francis GS** (1995) Drought influences on grain-yield of barley, wheat, and maize. *New Zealand Journal of crop and horticultural science* **23**: 55-66
- Jamieson PD, Semenov MA** (2000) Modelling nitrogen uptake and redistribution in wheat. *Field Crops Research* **68**: 21-29
- Jamieson PD, Semenov MA, Brooking IR, Francis GS** (1998) *Sirius*: a mechanistic model of wheat response to environmental variation. *European Journal of Agronomy* **8**: 161-179
- Jeuffroy MH, Ney B, Ourry A** (2002) Integrated physiological and agronomic modelling of N capture and use within the plant. *Journal of Experimental Botany* **53**: 809-823
- Justes E, Mary B, Meynard JM, Machet JM, Thelier-Huche L** (1994) Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter wheat crops. *Annals of Botany* **74**: 397-407
- Kikuzawa K** (1991) A Cost-Benefit-Analysis of Leaf Habit and Leaf Longevity of Trees and Their Geographical Pattern. *American Naturalist* **138**: 1250-1263

- Killingbeck KT** (1996) Nutrients in senesced leaves: keys to the search for potential resorption and resorption proficiency. *Ecology* **77**: 1716-1727
- Kirby EJM** (1985) Significant stages of ear development in winter wheat. . *In* W Day, RK Atkin, eds, *Wheat Growth and Modelling*. Plenum Press, New York & London, pp 7-24
- Kirby EJM** (1988) Analysis of leaf, stem and ear growth in wheat from terminal spikelet stage to anthesis. . *Field Crops Research* **18**: 127-140
- Kleinkopf GE, Huffaker R, Matheson A** (1970) Light-induces de novo synthesis of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase in greening leaves of barley. *Plant Physiology* **46**: 416-418
- Klepper B, Rickman RW, Peterson CM** (1982) Quantitative characterization of vegetative development in small cereal grains. *Agronomy Journal* **74**: 789-792
- Kull O** (2002) Acclimation of photosynthesis in canopies : models and limitations. *Oecologia* **133**: 267-279
- Kull O, Jarvis PG** (1995) The role of nitrogen in a simple scheme to scale up photosynthesis from leaf to canopy. *Plant, Cell and Environment* **18**: 1174-1182
- Kull O, Kruijt B** (1999) Acclimation of photosynthesis to light: a mechanistic approach. *Functional Ecology* **13**: 24-36
- Kuppelwieser H, Feller U** (1991) Transport of RB and SR to the ear in mature, excised shoots of wheat - Effects of temperature and stem length on RB removal from the xylem. . *Plant and soil* **132**: 281-288
- Kusnetsov VV, Oelmuller R, Sarwat MI, Porfirova SA, Cherepneva GN, Herrmann RG, Kulaeva ON** (1994) Cytokinins, abscisic acid and light affect accumulation of chloroplast proteins in *Lupinus luteus* cotyledons without notable effect on steady-state mRNA levels. Specific protein response to light/phytohormone interaction. *Planta* **194**: 318-327
- Lawless C, Semenov MA, Jamieson PD** (2005) A wheat canopy model linking leaf area and phenology. *European Journal of Agronomy* **22**: 19-32
- Lawlor D** (2002) Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* **53**: 773-787
- Lawlor D, Lemaire G, Gastal F** (2001) Nitrogen, plant growth and crop yield. *In* PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp 343-367
- Lawlor DW, Kontturi M, Young AT** (1989) Photosynthesis by Flag Leaves of Wheat in Relation to Protein, Ribulose Bisphosphate Carboxylase Activity and Nitrogen Supply. *Journal of Experimental Botany* **40**: 43-52
- Layzell DB, Larue TA** (1982) Modeling C and N transport to developing soybean fruits. *Plant Physiology* **70**: 1290-1298
- Lee RH, Chen SCG** (2002) Programmed cell death during rice leaf senescence is nonapoptotic. *New Phytologist* **155**: 25-32
- Leitch MH, Jenkins PD** (1995) Influence of nitrogen on the development of Septoria epidemics in winter wheat. *Journal of agricultural science* **124**: 361-368
- Lemaire G, Khaity M, Onillon B, Allirand JM, Chartier M, Gosse G** (1992) Dynamics of Accumulation and Partitioning of N in Leaves, Stems and Roots of Lucerne (*Medicago sativa* L.) in a Dense Canopy. *Annals of Botany* **70**: 429-435
- Lemaire G, Salette J** (1984a) Relationship between dynamics of growth and of nitrogen uptake in a pure grass stand. I. Study of environmental effects. *Agronomie* **4**: 423-430
- Lemaire G, Salette J** (1984b) Relationship between rates of growth and of nitrogen uptake in a stand of forage grasses. II. Study of variability among genotypes. *Agronomie* **4**: 431-436
- Leopold AC** (1980) Aging and senescence in plant development. *In* *Senescence in plants.*, pp 1-12
- Lindenmayer A** (1968) Mathematical models for cellular interaction in development, I and II. *Journal of Theoretical Biology* **18**: 280-315

- Lopes MS, Cortadellas N, Kichey T, Dubois F, Habash DZ, Araus JL** (2006) Wheat nitrogen metabolism during grain filling: comparative role of glumes and the flag leaf. *Planta* **225**: 165-181
- Luquet D, Dingkuhn M, Kim H, Tambour L, Clement-Vidal A** (2006) EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice. 1. Concept, validation and sensitivity analysis. *Functional Plant Biology* **33**: 309-323
- MacKown CT, Sanford DAv, Zhang N** (1992) Wheat vegetative nitrogen compositional changes in response to reduced reproductive sink strength. *Plant Physiology* **99**: 1469-1474
- Mae T, Makino A, Ohira K** (1983) Changes in the amount of ribulose biphosphate carboxylase synthesized and degraded during the life span of rice leaf (*Oryza sativa*). *Plant Cell Physiology* **21**: 1079-1081
- Maillard P, Gojon A, Delrot S, Daudet FA** (1998) Transport du carbone et de l'azote dans la plante: éléments pour une modélisation fonctionnelle. In INRA-Editions, ed, *Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales*. Maillard, P. Bonhomme, R., Paris, pp 11-45
- Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M, Terce-Laforgue T, Quillere I, Coque M, Gallais A, Gonzalez-Moro MB, Bethencourt L, Habash DZ, Lea PJ, Charcosset A, Perez P, Murigneux A, Sakakibara H, Edwards KJ, Hirel B** (2006) Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production. *Plant Cell* **18**: 3252-3274
- Martre P, Jamieson PD, Semenov MA, Zyskowski RF, Porter JR, Triboi E** (2006) Modelling protein content and composition in relation to crop nitrogen dynamics for wheat. *European Journal of Agronomy* **25**: 138-154
- Martre P, Porter JR, Jamieson PD, E. T** (2003) Modeling Grain Nitrogen Accumulation and Protein Composition to Understand the Sink/Source Regulations of Nitrogen Remobilization for Wheat. *Plant Physiology* **133**: 1959-1967
- Masclaux-Daubresse C, Reisdorf-Cren M, Orsel M** (2008) Leaf nitrogen remobilisation for plant development and grain filling. *Plant Biology* **10**: 23-36
- Masclaux C, Quillere I, Gallais A, Hirel B** (2001) The challenge of remobilisation in plant nitrogen economy. A survey of physio-agronomic and molecular approaches. *Annals of Applied Biology* **138**: 69-81
- Masle J, Sebillotte M** (1981) Etude de l'hétérogénéité d'un peuplement de blé : origine des différentes catégories d'individus du peuplement, éléments de description de sa structure. *Agronomie* **1**: 217-223
- Mazoyer M** (2007) Pauvreté paysanne, sous-alimentation et avenir de l'humanité In Briefings sur le développement rural- Principaux défis pour le développement rural des pays ACP, Bruxelles
- Monsi M, Saeki T** (2005) On the factor light in plant communities and its importance for matter production. *Annals of Botany* **95**: 549-567
- Mooney HA, Field C, Gulmon SL, Bazzaz FA** (1981) Photosynthetic capacity in relation to leaf position in desert versus old-field annuals. *Oecologia* **50**: 109-112
- Mooney HA, Gulmon SL** (1979) Environmental and evolutionary constraints on the photosynthetic characteristics of higher plants. . *Topics in Plant Population Biology*: 316-337
- Moore KJ, Moser LE** (1995) Quantifying developmental morphology of perennial grasses. *Crop Science* **35**: 37-43
- Morot-Gaudry JF, Lea PJ** (2001) Introduction. In PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp VII-XI
- Münch E** (1930) *Die stoffbewegungen in der Pflanze*. Fisher, Jena

- Obendorf RL, Huffaker RC** (1970) Influence of age and illumination on distribution of several Calvin enzymes in greening barley leaves. *Plant Physiology* **45**: 579-582
- Oji Y, Otani Y, Hosomi Y, Wakiuchi N, Shiga H** (1989) Nitrate Reduction in Root and Shoot and Exchange of Reduced Nitrogen between Organs in 2-Row Barley Seedlings under Light-Dark Cycles. *Planta* **179**: 359-366
- Okada K, Inoue Y, Satoh K, Katoh S** (1992) Effects of light on degradation of chlorophyll and proteins during senescence of detached rice leaves. *Plant and Cell Physiology* **33**: 1183-1191
- Ono K, Nishi Y, Watanabe A, Terashima I** (2001) Possible mechanisms of adaptative leaf senescence. *Plant Biology* **3**: 234-243
- Oscarson P, Lundborg T, Larsson M, Larsson CM** (1995) Genotypic differences in nitrate uptake and nitrogen utilization for spring wheat grown hydroponically. *Crop Science* **35**: 1056-1062
- Ourry A, McDuff JH, Volenec JJ, Gaudillère JP** (2001) Nitrogen traffic during plant growth and development. *In* PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp 255-273
- Patrick JW, Offler CE** (2001) Compartmentation of transport and transfer events in developing seeds. *Journal of Experimental Botany* **52**: 551-564
- Peltonen-Sainio P, Jauhiainen L, Laurila IP** (2008) Cereal yield trends in northern European conditions: Changes in yield potential and its realisation. *Field Crops Research* **110**: 85-90
- Pons TL, Bergkotte M** (1996) Nitrogen allocation in response to partial shading of a plant: possible mechanisms. *Physiologia Plantarum* **98**: 571-577
- Pons TL, Jong-Van Berkel YEMd** (2004) Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. *Annals of Botany* **94**: 725-732
- Pons TL, Jordi W, Kuiper D** (2001) Acclimation of plants to light gradients in leaf canopies: evidence for a possible role for cytokinins transported in the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1563-1574
- Pons TL, Van Rijnbeck H, Scheurwater I, Van Der Verf A** (1993) Importance of the gradient in photosynthetically active radiation in a vegetation stand for leaf nitrogen allocation in two monocotyledons. *Oecologia* **95**: 416-424
- Prioul JL, Brangeon J, Reyss A** (1980a) Interaction between external and internal conditions in the development of photosynthetic features in a grass leaf. 1. Regional responses along a leaf during and after low-light or high-light acclimation. *Plant Physiology* **66**: 762-769
- Prioul JL, Brangeon J, Reyss A** (1980b) Interaction between external and internal conditions in the development of photosynthetic features in a grass leaf. 2. Reversibility of light-induced responses as a function of developmental stages. *Plant Physiology* **66**: 770-774
- Prusinkiewicz P, Hammel M, Hanan J, Mech R** (1997) Visual models of plant development. *In* G Rozenberg, A Salomaa, eds, *Handbook of formal language*. Springer-Verlag, Berlin
- Prusinkiewicz P, Lindenmayer A** (1990) *The algorithmic beauty of plants*. Springer-Verlag, New-York
- Rajcan I, Tollenaar M** (1999) Source:sink ratio and leaf senescence in maize: II. Nitrogen metabolism during grain filling. *Field Crops Research* **60**: 255-265
- Reynolds JF, Chen JL** (1996) Modelling whole-plant allocation in relation to carbon and nitrogen supply: Coordination versus optimization: Opinion. *Plant and Soil* **185**: 65-74
- Robert C, Bancal MO, Lannou C** (2002) Wheat leaf rust uredospore production and carbon and nitrogen export in relation to lesion size and density. *Phytopathology* **92**: 762-768

- Room P, Hanan J, Prusinkiewicz P** (1996) Virtual plants: new perspectives for ecologists, pathologists and agricultural scientists. *Trends in Plant Science* **1**: 33-39
- Rousseaux MC, Ballare CL, Jordan ET, Vierstra RD** (1997) Directed overexpression of PHVA locally suppresses stem elongation and leaf senescence responses to far-red radiation. *Plant, Cell and Environment* **20**: 1551-1558
- Rousseaux MC, Hall AJ, Sanchez RA** (1996) Far-red enrichment and photosynthetically active radiation level influence leaf senescence in field-grown sunflower. *Physiologia Plantarum* **96**: 217-224
- Sadras VO, Echarte L, Andrade FH** (2000) Profiles of leaf senescence during reproductive growth of sunflower and maize. *Annals of Botany* **85**: 187-195
- Sadras VO, Hall AJ, Connor DJ** (1993) Light-associated nitrogen distribution profile in flowering canopies of sunflower (*Helianthus annuus* L.) altered during grain growth. *Oecologia* **95**: 488-494
- Savin R, Slafer GA** (1991) Shading effects on the yield of an Argentinian wheat cultivar. *Journal of Agricultural Science Cambridge* **116**: 1-7
- Schieving F, Pons TL, Werger MJA, Hirose T** (1992) The vertical distribution of nitrogen and photosynthetic activity at different plant densities in *Carex acutiformis*. *Plant and soil* **14**: 9-17
- Sharman BC** (1942) Developmental anatomy of the shoot of *Zea mays* L. . *Annals of Botany* **6**: 245-285
- Shearman VJ, Sylvester-Bradley R, Scott RK, Foulkes MJ** (2005) Physiological processes associated with wheat yield progress in the UK. *Crop Science* **45**: 175-185
- Shewry PR** (2007) Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science* **46**: 239-250
- Siddique KHM, Belford RK, Perry MW, Tennant D** (1989) Growth, development and light interception of old and modern wheat cultivars in a Mediterranean-type environment. *Australian Journal of Agricultural Research* **40**: 473-487
- Simpson RJ, Lambers H, Dalling MJ** (1982) Translocation of Nitrogen in a Vegetative Wheat Plant (*Triticum-Aestivum*). *Physiologia Plantarum* **56**: 11-17
- Simpson RJ, Lambers H, Dalling MJ** (1983) Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **71**: 7-14
- Sinclair TR, Jamieson PD** (2006) Grain number, wheat yield, and bottling beer: An analysis. *Field Crops Research* **98**: 60-67
- Singh BK, Jenner CF** (1982) A modified method for the determination of cell number in wheat endosperm. *Plant Science Letter* **26**: 273-278
- Slafer GA, Rawson HM** (1994) Sensitivity of wheat phasic development to major environmental factors: a re-examination of some assumptions made by physiologists and modellers. *Australian Journal of Plant Physiology* **21**: 393-426
- Smart CM** (1994) Gene-Expression During Leaf Senescence. *New Phytologist* **126**: 419-448
- Smilie RM** (1962) Photosynthetic and respiratory activities of growing pea leaves. *Plant Physiology* **37**: 716-721
- Soltner D** (1998) Les grandes productions végétales: céréales, plantes sarclées, prairies., Sainte-Gemme sur Loire
- Spano G, Fonzo Nd, Perrotta C, Platani C, Ronga G, Lawlor DW, Napier JA, Shewry PR** (2003) Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *Journal of Experimental Botany* **54**: 1415-1420
- Stulen I, Perez-Soba M, Kok LJd, Eerden Lvd** (1998) Impact of gaseous nitrogen deposition on plant functioning. *New Phytologist* **139**: 61-70
- Ta CT, Weiland RT** (1992) Nitrogen Partitioning in Maize During Ear Development. *Crop Science* **32**: 443-451

- Takei K, Takahashi T, Sugiyama T, Yamaya T, Sakakibara H** (2002) Multiple routes communicating nitrogen availability from roots to shoots: a signal transduction pathway mediated by cytokinin. *Journal of Experimental Botany* **53**: 971-977
- Terashima I, Araya T, Miyazawa SI, Sone K, Yano S** (2005) Construction and maintenance of the optimal photosynthetic systems of the leaf, herbaceous plant and tree: an eco-developmental treatise. *Annals of Botany* **95**: 507-519
- Thomas H** (1997) Chlorophyll: a symptom and a regulator of plastid development. *New Phytologist* **136**: 163-181
- Thomas H, Howarth CJ** (2000) Five ways to stay green. *Journal of Experimental Botany* **51**: 329-337
- Thomas H, Ougham HJ, Wagstaff C, Stead AD** (2003) Defining senescence and death. *Journal of Experimental Botany* **54**: 1127-1132
- Thomas H, Smart CM** (1993) Crops that stay green. *Annals of Applied Biology* **123**: 193-219
- Thorne GN** (1959) Photosynthesis of lamina and sheath of barley leaves. *Annals of Botany* **23**
- Thorne GN** (1965) Photosynthesis of ears and flag leaves of wheat and barley. . *Annals of Botany* **29**: 317-329
- Thornley JHM** (1998) Dynamic Model of Leaf Photosynthesis with Acclimation to Light and Nitrogen. *Annals of Botany* **81**: 421-430
- Thornley JHM** (2004) Acclimation of photosynthesis to light and canopy nitrogen distribution : an interpretation. *Annals of Botany* **93**: 473-475
- Thornley JHM, Johnson IR** (1990) Plant and crop modelling: a mathematical approach to plant and crop physiology. Oxford University Press, Oxford; UK
- Tilman D** (1999) Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **96**: 5995-6000
- Touraine B, Daniel-Vedele F, Forde BG** (2001) Nitrate uptake and its regulation. *In* PJ Lea, JF Morot-Gaudry, eds, *Plant Nitrogen*. Springer-Verlag, Berlin, pp 1-36
- Triboi E, Martre P, Girousse C, Ravel C, Triboi-Blondel AM** (2006) Unravelling environmental and genetic relationships between grain yield and nitrogen concentration for wheat. *European Journal of Agronomy* **25**: 108-118
- Triboi E, Triboi-Blondel AM** (2002) Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem - invited paper. *European Journal of Agronomy* **16**: 163-186
- Urquhart AA, Joy KW** (1982) Transport, Metabolism, and Redistribution of Xylem-Borne Amino-Acids in Developing Pea Shoots. *Plant Physiology* **69**: 1226-1232
- van den Berg F, Robert C, Shaw MW, van den Bosch F** (2007) Apical leaf necrosis and leaf nitrogen dynamics in diseased leaves: a model study. . *Plant Pathology* **56**: 424-436
- van Keulen H, Seligman NG** (1987) Simulation of water use, nitrogen nutrition and growth of a spring wheat crop. *In* Simulation of water use, nitrogen nutrition and growth of a spring wheat crop., p 310 pp.
- Van Sanford DA, MacKown CT** (1987) Cultivar Differences in Nitrogen Remobilization during Grain Fill in Soft Red Winter Wheat. *Crop Science* **27**: 295-300
- Verma V, Foulkes MJ, Worland AJ, Sylvester-Bradley R, Caligari PDS, Snape JW** (2004) Mapping quantitative trait loci for flag leaf senescence as a yield determinant in winter wheat under optimal and drought-stressed environments. *Euphytica* **135**: 255-263
- Villalobos FJ, Hall AJ, Ritchie JT, Orgaz F** (1996) OILCROP-SUN: a development, growth, and yield model of the sunflower crop. *Agronomy Journal* **88**: 403-415
- von Caemmerer S**, ed (2000) Biochemical models of leaf photosynthesis, Vol 2. Csiro publishing

- von Wiren N, Gojon A, Chaillou S, Raper D** (2001) Mechanisms and regulation of ammonium uptake in higher plants. *In* PJ Lea, JF Morot-gaudry, eds, Plant Nitrogen. Springer-Verlag, Berlin, pp 61-77
- Wallsgrave RM, Keys AJ, Lea PJ, Mifflin BJ** (1983) Photosynthesis, photo-respiration and nitrogen metabolism. *Plant, Cell and Environment* **6**: 301-309
- Wang Z, Wang J, Huang W, Ma Z, Zhao M** (2003) Study on nitrogen distribution in leaf, stem and sheath at different layers of winter wheat canopy and their influence on grain quality. *Agricultural Sciences in China* **2**: 859-866
- Wardlaw IF** (1965) The velocity and pattern of assimilate translocation in wheat plants during grain development. *Australian Journal of Biological Science* **18**: 269-281
- Wardlaw IF** (1990) Tansley Review No. 27. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* **116**: 341-381
- Weaver LM, Amasino RM** (2001) Senescence is induced in individually darkened Arabidopsis leaves, but inhibited in whole darkened plants. *Plant Physiology* **127**: 876-886
- Wilhelm WW, McMaster GS, Harrell DM** (2002) Nitrogen and dry matter distribution by culm and leaf position at two stages of vegetative growth in winter wheat. *Agronomy Journal* **94**: 1078-1086
- Wolfe DW, Henderson DW, Hsaio TC, Alvino A** (1988a) Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. I. Leaf area duration, nitrogen distribution and yield. *Agronomy Journal* **80**: 859-864
- Wolfe DW, Henderson DW, Hsaio TC, Alvino A** (1988b) Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. II. Photosynthetic decline and longevity of individual leaves. *Agronomy Journal* **80**: 865-870

CHAPITRE II

*Nitrogen gradients within and between laminae, sheaths, internodes of wheat (*Triticum aestivum* L.) culms around anthesis*

Jessica Bertheloot, Bruno Andrieu, and Pierre Martre

Nitrogen gradients within and between laminae, sheaths, internodes of wheat (*Triticum aestivum* L.) culms around anthesis

Jessica Bertheloot, Bruno Andrieu, and Pierre Martre

Abstract

Within dense canopies, leaf nitrogen (N) distribution follows the gradient of photosynthetic photon flux density (PPFD), which has important consequences in terms of carbon and N economy. In this study, the question of the continuity of the N distribution within wheat (*Triticum aestivum* L.) culms around anthesis in response to the continuous light decrease with canopy depth was investigated. N distribution between and within laminae, sheaths and internodes was quantified at anthesis and at the beginning of the grain-filling period for two cultivars with contrasted leaf stature, Soissons (lax leaf stature) and Caphorn (erect leaf stature), grown in the field under low and high N fertilization. Mean specific N mass of individual laminae and sheaths decreased linearly with the distance from the top of the canopy. However, specific N mass was homogeneous within individual laminae and sheaths although they spanned a significant depth in the canopy. For Caphorn, the vertical gradient of specific N mass was similar for leaf laminae and sheaths. In contrast, for Soissons the vertical gradient of specific N mass was steeper for leaf laminae than for leaf sheaths. There was no significant gradient of N concentration on a dry mass basis within and between the enclosed internodes, only the distal part of the upper internodes, which was exposed to the light, showed a strong N gradient. This study gives important information to build a process-based model of N distribution within wheat culms during the post flowering period. It strongly supports that processes should be formalized at the scale of the whole botanical entities and that a similar formalization can be used for individual laminae and sheaths.

Key-words: nitrogen, nitrogen distribution, light gradient, wheat, botanical structure, leaf laminae, leaf sheaths, internodes

Introduction

In monocarpic species such as wheat (*Triticum aestivum* L.), nitrogen (N) dynamics within the plant are important determinants of both grain yield and protein concentration. During the reproductive stage, specific N mass (*i.e.*, N mass per unit surface area) of the vegetative tissues determines their photosynthetic activity and therefore the amount of carbon available for grain growth. Indeed, up to 75% of the reduced N in cereal leaves is involved in photosynthetic processes (for a detailed discussion, see Evans, 1989), and the rate of light saturated photosynthesis is linearly related to the specific N mass (Dreccer et al 2000, Evans 1989). During the reproductive stage, the remobilization of N from the vegetative tissues to the grains determines the quantity of N available for protein synthesis in the grains, but decreases leaf photosynthesis and the photosynthetic surface area, and therefore the carbon availability for grains. As a consequence, N distribution in the canopy and its pattern of translocation have complex consequences on final grain yield and protein concentration (Dreccer et al 1998a).

Within vegetative canopies, the N mass per unit leaf area is distributed vertically and follows the vertical gradient of photosynthetic photon flux density (PPFD; for a review see Grindlay 1997). This was observed for herbaceous (Hirose & Werger 1987, Hirose et al 1988),

trees (DeJong & Doyle 1985), crops (Anten et al 1995 for rice [*Oryza Sativa* L.] and sorghum [*Sorghum bicolor* L.], Dreccer et al 2000 for wheat, Drouet & Bonhomme 2004 for Maize [*Zea mays* L.], Shiraiwa & Sinclair 1993 for soybean [*Glycine max* L.]). The vertical SLN gradient is responsible for a higher canopy carbon gain compared to what would result from a uniform SLN distribution (Field 1983, Hirose & Werger 1987). That results from the positive dependency of leaf photosynthesis on both SLN and PPF. Similarly to PPF, the ratio of red to far red light (R/FR; Rousseaux et al 1996), leaf age (Mooney et al 1981) and transpiration are decreasing with depth inside a canopy and have been shown to have an effect on the N content of a leaf (Okada et al 1992, Rousseaux et al 1996). However, it has been demonstrated that the role of PPF is preponderant over those of R/FR (Pons & de Jong-van Berkel 2004), leaf age (Drouet & Bonhomme 1999, Hikosaka et al 1994), or transpiration (Frak et al 2002) for the formation of the vertical SLN gradients within a canopy.

PPF attenuation can be simply expressed as a function of the cumulated green area index from the top of the canopy (Monsi & Saeki 2005). This has led many authors to study vertical SLN gradients between canopy horizontal layers (Anten et al 1995, Dreccer et al 2000, Hirose & Werger 1987, Hirose et al 1988). In these studies, a leaf lamina that spans several vertical layers is implicitly treated as a cluster of independent tissue, each of them acclimated to its local PPF environment. However, it is not clear whether N distribution is indeed heterogeneous within individual laminae. Thus, a major question is the following: is N distributed continuously within a plant in response to the PPF gradient, or is it rather integrated at the scale of a plant entity such as the entire lamina? This question needs to be answered if one wants to better understand the processes responsible for the observed gradient of N with depth in the canopy. Answering this question is also a prerequisite to determine the spatial scale at which N dynamics in the plant should be modeled.

Few studies have dealt with N distributions within individual laminae and a SLN gradient has not always been observed along laminae despite the existence of PPF gradients. For example, Bertheloot et al. (2008) observed no SLN gradient in the flag leaf laminae for bread wheat canopies after flowering. Drouet and Bonhomme (1999) have not observed any clear pattern in the SLN distribution along the large lax laminae of field grown maize plants after silking. Similarly, Pons et al. (1993) did not observe any SLN gradient along the erect laminae of a mixture of vegetative and reproductive plants of tor grass (*Brachypodium pinnatum* L.) grown both in the field and in growth cabinets, although the laminae spanned up to 20 cm of canopy height. However, the same authors found positive SLN gradients from the base to the tip of leaf laminae of maize plants (Drouet & Bonhomme 1999) and of monocot plants of *C. acutiformis* Ehrh. (Pons et al 1993) at the vegetative stage. Similarly, for the lamina of the third leaf of italian raygrass (*Lolium multiflorum* Lam.), which has an erect stature, Prioul et al. (1980a) observed a decrease of the quantities of Rubisco and chlorophyll per unit leaf area as well as a decrease of the rate of light saturated photosynthesis from the tip to the base of the leaves. Taken together, these few studies suggest that there is a SLN gradient within individual laminae at the vegetative stage, but not at the reproductive stage.

Few studies have investigated the N content of the photosynthetic entities other than leaf laminae. However in a wheat crop at anthesis, laminae N accounts for only 35% of the N of the whole plant (Grindlay, 1997), and the rate of light saturated photosynthesis of the flag leaf sheath and of the ear peduncle is about 45% and 75% of that of the flag leaf lamina at anthesis and mid grain filling, respectively (Wang et al 2001). At the canopy level, around anthesis, 7% and 12% of the CO₂ assimilated by a barley canopy with erect and long, lax leaves, respectively, are fixed by the leaf sheaths (Angus et al 1972). Therefore, the distribution of N in the other botanical entities than leaf laminae should also be considered. Bertheloot et al. (2008) have shown, for bread wheat culms during the reproductive stage, that the N concentration on a dry mass basis (%N) of the individual sheaths and internodes was positively related to their position along the culms. Within a given phytomer, there was also a systematic

ranking between the three types of entities: the %N was higher for the lamina than for the sheath, and it was higher for the sheath than for the internode. This is consistent with the vertical position of these entities, as the lamina, sheath and internode of a same phytomer occupy layers of increasing depth in the canopy. These results suggest that, as for laminae, the vertical distribution of N between sheaths and between internodes is determined by their local light environment. No study has dealt with the N distribution within individual sheaths or internodes for Gramineae.

The objective of this study was to determine the scale at which N distribution is integrated within wheat culms around anthesis. We asked the following questions. Is N content homogeneous within individual lamina green tissues and within sheaths? Is there continuity in the N content of the lamina and sheath belonging to the same leaf? How is N distributed between botanical entities of similar type (lamina, sheath or internode) but located in different PPFD environments? Since light interception is an area-based phenomenon, N content was expressed per unit surface area. Specific N mass distribution was quantified within green tissues of individual laminae and sheaths as well as internodes. Most of the stem is enclosed within the sheaths and only the upper internode and the ear peduncle have an exposed part to the light. Consequently, specific N mass was quantified separately for the exposed and enclosed part of the upper internode. In addition, the vertical distribution of the mean specific N mass of individual leaf laminae and sheaths was related to their distance from the top of the canopy in order to have an estimation of the PPFD environment in which they were located. Two bread wheat cultivars characterized by different leaf stature, which affects the pattern of PPFD with depth in the canopy and along individual entities (Angus et al 1972), were grown in the field under two N fertilization treatments. N distributions were determined at anthesis and at the beginning of the grain-filling period.

Material and methods

Plant material and growing conditions

N distributions within and between botanical entities were determined at anthesis and 250 °Cd later for the winter bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars Soissons (So) and Caphorn (Ch) grown in the field at Grignon, France (41°51' N, 70 m elevation). These two cultivars have contrasted leaf stature, erected for Caphorn and more horizontal for Soissons. In addition, ears of Soissons bear awns while those of Caphorn do not.

Five adjacent plots per cultivar and N treatment were sown on 27 October 2005 at a density of 250 seeds m⁻² in a deep silt soil. The plot size was 1.6 × 35 m with a row spacing of 17.5 cm and a gap width of 0.2 m between adjacent plots. The five-central rows of the three-central plots for each cultivar and N treatment were used for the experiment. Each cultivar was submitted to two contrasted N fertilization treatments, denoted N0 and N+. In the N0 treatment, no N was applied during the crop growth cycle, while, in the N+ treatment, 5 and 7 g N m⁻² were applied as ammonium nitrate at tillering and beginning of stem elongation, respectively. Mineral soil N at the end of winter (31 February 2006) was 9 g N m⁻² in the 0.9-m-deep soil profile. The anthesis date was recorded on 29 and 31 May for Soissons and Caphorn, respectively. No difference in the anthesis date was observed between N treatments. Crops were kept disease free by chemical treatment.

Air temperature was recorded by a weather station adjacent to the field plots. Thermal time was calculated by summing daily degree-days (°Cd) above 0°C, which were computed as the daily average of the hourly mean air temperatures.

Plant and entity samplings

For each cultivar and N treatment, 0.2 m² samples (2 rows × 50 cm) were taken from three different plots at anthesis and 250°Cd later. For each sample, five median culms were selected in the following two steps. First, culms were separated from each other, counted and weighed and culms with a fresh mass within 10% of the average mass were sub-sampled. Then, five median culms in each sub-sample were selected based on the length of the three upper laminae and on the percentage of necrotic tissues. For each sampling date and treatment, the median culm was defined from the length of the three upper laminae and visual assessment of the percentage of necrotic tissues on 30 tagged plants randomly chosen in the field.

For each replicate, the five median culms selected from the destructive samplings were dissected. At both sampling dates, the three upper leaf laminae (La_n , La_{n-1} , La_{n-2} , n being the phytomer number counted from the top), which were the only ones containing green tissues, and the three upper sheaths (S_n , S_{n-1} , S_{n-2}) were cut from the culm. In addition, at anthesis plus 250°Cd, the four elongated internodes (I_n , I_{n-1} , I_{n-2} , I_{n-3}) were also separated.

Sheaths were divided in three pieces of equal lengths. For laminae, one third and two thirds of the entire lamina length were first marked. Then, non-green tissues were removed and the remaining tissues were cut into pieces according to the marks. Therefore, the number of laminae pieces depended on the length of necrotic tissues at the distal end of the laminae. For the true stem, only the upper internode, I_n , was partly exposed to light, the others were enclosed by the sheaths. I_n was first divided into its exposed (I_n^{exp}) and enclosed (I_n^{enc}) parts; then, I_n^{exp} was divided into two pieces of equal lengths and I_n^{enc} into three. I_{n-1} and I_{n-2} were divided into two pieces of equal lengths. For both cultivars, I_{n-3} was less than 5-cm long and was kept intact.

Determination of leaf lamina stature, surface areas, lengths, and distance from the top of the canopy

Leaf lamina curvature was determined using the silhouette method (Udagawa et al., 1968; Bonhomme and Varlet-Grancher, 1978). At anthesis, ten median culms were randomly selected among the ones not selected for N analysis. The stem (sheaths plus internodes) was cut between each leaf collar and was secured on a vertical board so as to be in their natural position, but on the same plane. Then, numeric pictures were taken (with a Nikon D70) and the Cartesian coordinates of 10 to 20 points along each lamina midrib were determined by image analysis (Optimas 6.5, Optimas Corp., Seattle, Washington, U.S.A.).

At both sampling dates, the five culms selected for N determination were dissected and the lamina and sheath of their three upper leaves as well as I_n^{exp} were scanned (RGB color images, 300 dpi resolution, Epson Perfection 2400 Photo) after having marked the entity pieces. Then, the projected areas of the delimited entity pieces and their lengths were determined by image analysis. The actual area of sheath or internode pieces was calculated as the projected area multiplied by π . In addition, the lengths of I_n^{enc} , I_{n-1} , I_{n-2} , I_{n-3} , of the peduncle and ear (without the awns) and the diameter of the ear were measured with a ruler.

The height in the canopy of each entity or entity piece was calculated as the height of the middle of the entity or entity piece from the culm base. The height of each internode piece was calculated as the sum of the lengths of the internode pieces below it plus half of its length. For each leaf rank, the height of the sheath was computed as the sum of the lengths of the internodes below it plus half of its length. The height of the leaf collar was calculated as the sum of the lengths of the internodes below it plus that of its sheath. The height of each lamina was calculated as the sum of the length of the internodes below it plus that of its sheath and the height between the leaf collar and the uppermost point of the lamina. Since PPFD attenuation is a function of the distance from the top of the canopy (Monsi & Saeki 2005), the position of

each entity or entity piece was expressed as a function of the distance from the top of the ear (without the awns).

Determination of dry mass and N concentration, and calculation of specific N and dry mass

The dry mass and N concentration of each sub-sample of entity pieces was determined. Dry mass was determined after oven drying at 80°C until constant mass. The samples were then ground and their N concentration (total N mass per unit dry mass, %N) was determined by the Dumas method using a NA 1500 CN analyzer (Fisons Instruments, France). The specific N mass of green lamina (SLN) and sheath (SSN) pieces was calculated as their N concentration times their dry mass, divided by their surface area. Specific dry mass of green lamina (SLM), sheath (SSM) pieces was calculated as their dry mass divided by their surface area.

Statistics

Statistical analyses were done using R for Windows (<http://www.r-project.org>). The existence or not of gradients of %N, specific N mass, specific dry mass within and between individual entities was tested using a complete linear model. A complete linear model of %N, specific N mass or specific dry mass was first developed using, as predictors, the sampling date, the treatment, the rank, the entity piece position. This complete model was then compared to a nested one without the predictor whose effect had to be tested (phytomer or entity position) by using an *F*-test. A similar method was used to compare the slopes of the linear relationships linking the distance from the top of a canopy of an entity and its specific N mass between sampling dates, N treatments or entity type (sheath or lamina). Differences in canopy architecture between treatments and in SLN of the flag leaf lamina were also tested in a similar manner. Parameters of the linear models were estimated using the least square method. The 3-dimensional structure of the culms of the four experimental treatments was drawn using the *rgl* package of R for Windows.

Table 1. Number of culms per unit of ground area, leaf area index, canopy structural traits, and N mass in the upper three vegetative phytomers, at anthesis for the bread wheat cultivars (cv.) Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown in the field at low (N0) and high (N+) N supplies. Data area means \pm 1SE for 3 independent replicates. *P*-values for N and cultivars effects and their interactions are also shown.

Cultivar	N treatment	Number of culms (culm m ⁻²)	Leaf area index (m ² m ⁻²)	N mass in the three upper vegetative phytomers (mg culm ⁻¹)	Canopy height (cm)	Collar distance from the top of the canopy (cm)			Lamina length (cm)		
						<i>La_n</i>	<i>La_{n-1}</i>	<i>La_{n-2}</i>	<i>La_n</i>	<i>La_{n-1}</i>	<i>La_{n-2}</i>
Soissons	N0	524 \pm 56	2.0 \pm 0.4	7.0 \pm 0.4	70.2 \pm 1.4	15.8 \pm 0.6	34.7 \pm 1.4	48.0 \pm 1.7	11.6 \pm 0.4	18.2 \pm 0.4	17.7 \pm 0.3
	N+	730 \pm 50	4.2 \pm 0.2	14.6 \pm 0.9	73.6 \pm 1.4	16.9 \pm 1.6	38.5 \pm 1.3	50.3 \pm 0.8	18.4 \pm 0.5	24.3 \pm 0.3	22.2 \pm 0.4
Caphorn	N0	394 \pm 82	2.4 \pm 0.6	11.5 \pm 1.6	69.8 \pm 1.6	15.3 \pm 0.6	34.4 \pm 0.4	47.4 \pm 0.5	13.2 \pm 0.4	19.5 \pm 0.2	19.8 \pm 0.4
	N+	568 \pm 98	3.4 \pm 0.4	19.2 \pm 1.3	75.1 \pm 0.9	15.8 \pm 0.6	34.8 \pm 0.7	49.1 \pm 0.4	16.2 \pm 0.7	22.5 \pm 0.4	21.6 \pm 0.3
Main effects											
N		<0.001	0.0043	<0.001	<0.001	0.16			<0.001		
cv.		0.0024	0.26	0.0049	0.0019	0.56			<0.001		
Interaction											
N \times cv.		0.67	0.13	0.92	<0.001	0.79			<0.001		

Results

The four experimental treatments generated four contrasted canopies in terms of canopy structure and N content

Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown under high and low N fertilization levels produced contrasted canopy structures at anthesis (Table 1). For both cultivars, the leaf area index (LAI) was 160 and 45 % higher for the N+ treatment compared with the N0 treatment. In addition, the number of culms per square meter was 40% higher for the N+ treatment compared with the N0 treatment. The number of culms per square meter was about 30% higher for So than for Ca. Canopy height did not significantly differ between cultivars, but was 3.4 and 5.3 cm taller for N+ compared with N0 for Soissons and Caphorn, respectively. However, the distances between the leaf collars and the top of the canopy were similar for the two cultivars and N treatments. For both cultivars, the laminae were significantly longer for the N+ treatment compared with the N0 treatment. The response to N fertilization was larger for So than for Ca so that Ca had longer laminae than So under N0 but shorter ones under N+. Soissons had long, lax leaf laminae at high N supply, but had erect leaf laminae at low N supply (Fig. 1). Caphorn had erect leaf laminae at both N supplies.

The two N treatments produced canopies with different N content, as indicated by the N mass in the three upper phytomers (laminae, sheaths and internodes). For both cultivars N mass in the three upper phytomers increased significantly with N availability and, under both N treatments, Caphorn had 4.5 mg N more than Soissons.

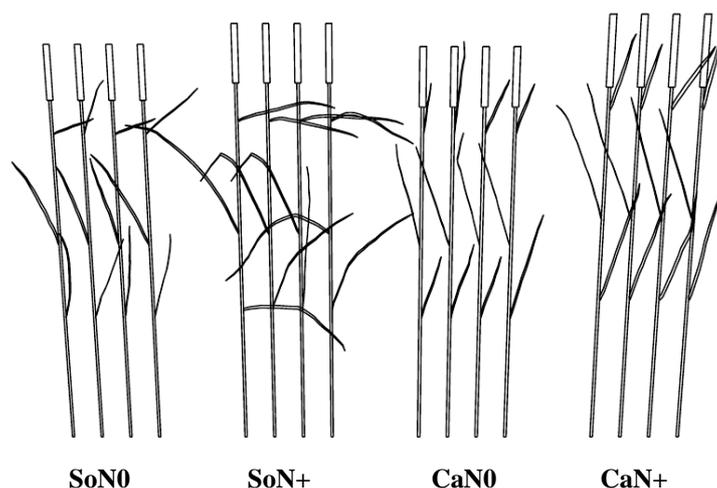


Figure 1. Visual representation of the three upper leaf laminae and the culm at anthesis for the bread wheat cultivars Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown in the field at low (N0) and high (N+) N supplies. For each experimental treatment, four culms are shown with laminae taken randomly out of a set of measurements on 30 culms. Heights of the stems and ears are mean values for the experimental treatments.

Specific N mass was homogeneous along individual laminae and sheaths despite a significant gradient of specific dry mass

For the three upper leaves, specific N mass, specific dry mass and N concentration distributions were quantified at anthesis and 250°Cd later along the green tissues of each lamina and sheath. At anthesis, green tissues represented more than two thirds of the length the laminae, except for La_{n-2} of SoN0, for which green tissues represented between one third and two thirds of the length of the lamina. Results were essentially the same for the two sampling dates and only results at anthesis are presented in detail below (Fig. 2).

For the four experimental treatments and the two sampling dates, SLN did not show significant variations ($P = 0.9184$) along the laminae (Fig. 2a, d, g, j). SLN was homogeneous within a lamina although each lamina spanned 12% to 27% of the canopy height and was thus submitted to a heterogeneous light environment. On the contrary, for all treatments and sampling dates, there was a significant SLN gradient between laminae ($P < 0.001$) and the SLN of laminae decreased with lower phytomer rank.

For the four treatments and the two sampling dates, specific N mass of the sheaths (SSN) did not show significant variations ($P = 0.80$) along the upper two thirds of sheath length, but it was on average 46% higher in the basal part of the sheaths. This probably resulted from the presence of thicker tissues at the very base of the sheath. These tissues were also greener than the rest of the sheath (data not shown). Similarly to the laminae, there was a significant SSN gradient between sheaths according to phytomer rank ($P < 0.001$). For a given leaf, the SSN of the distal part of the sheath was 40% to 70% lower than that of the basal part of the lamina. Thus, there was no continuity in the specific N mass of the sheath and the lamina of the same leaf.

For all treatments and sampling dates, a significant negative gradient of specific dry mass ($P < 0.001$) was observed between the base and the tip of the laminae and of the sheaths (Fig. 2b, e, h, k). The specific dry mass gradients were steeper for the sheaths than for the laminae: on average the specific dry mass decreased by 15% from the base to the tip of the laminae, whereas along the sheaths it decreased by 56%. In general, the gradient of specific dry mass was steeper in the basal part of the sheath than on the distal part. Specific dry masses were significantly different ($P < 0.001$) between laminae and between sheaths, and the mean specific dry mass decreased down the canopy. However, differences in mean specific dry mass were smaller than differences in specific N mass: mean lamina and sheath specific dry mass decreased down the canopy by 21% and 33%, respectively, and their specific N mass by 53% and 68%, respectively.

The homogeneity of specific N mass along laminae and sheaths despite a negative gradient of specific dry mass was due to positive gradients ($P < 0.001$) of N mass per unit dry mass (%N) from the base to the tip of the laminae and sheaths (Fig. 2c, f, i, l). Mean lamina and sheath %N decreased down the canopy by 41% ($P < 0.001$) and 51% ($P < 0.001$), respectively.

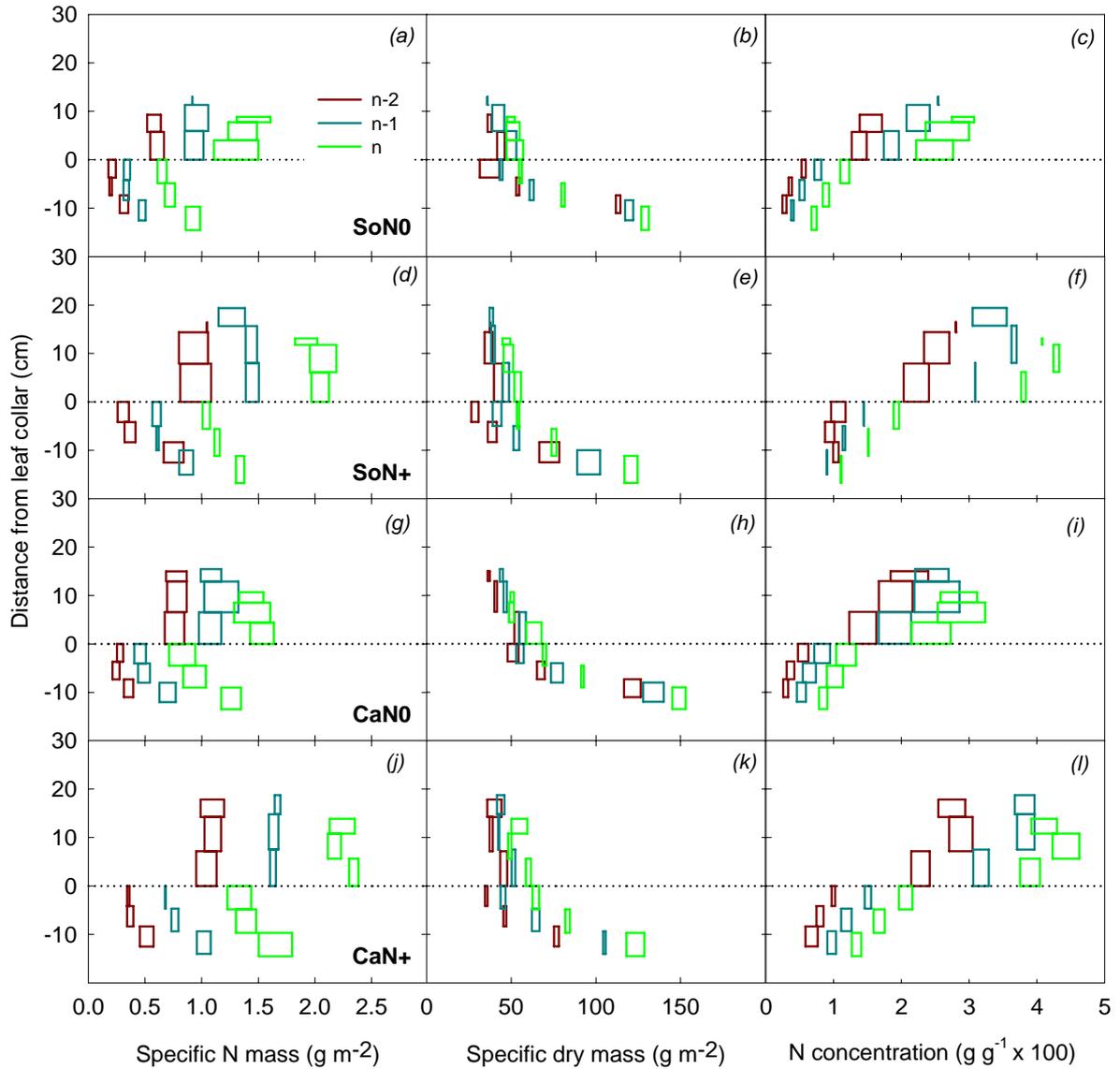


Figure 2. Distance from the leaf collars (dotted line) versus laminae (above the dotted lines) and sheaths (below the dotted lines) specific N mass (*a, d, g, f*), specific dry mass (*b, e, h, k*) and N concentration (%N; *c, f, i, l*) at anthesis for the three upper leaves (*n, n-1, and n-2*; *n* being the flag leaf) of the bread wheat cultivars Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown in the field at low (N0) and high (N+) N supplies. Each entity piece is represented by a box: the height is the length of the entity piece, the width is 2 SE centered on the mean.

N mass per unit dry mass is homogeneous for the hidden parts of all internodes, but increased along the exposed part of the upper internode

The distribution of N along the true stem was analyzed ^{250}Cd after anthesis (Fig. 3). For each treatment, the three lower elongated internodes (i.e. I_{n-3} , I_{n-2} , I_{n-1}) were hidden by the sheaths and did not show significant gradient of %N ($P = 0.54$). Similarly, no significant gradient was observed along the enclosed part of the upper internode ($P = 0.75$) and values of %N were in the same range as those observed for the lower internodes. %N for the enclosed internodes were on average 1.3-folds higher ($P < 0.001$) for Caphorn than for Soissons, and for both cultivars %N for the enclosed internodes were on average 2-folds higher ($P < 0.001$) for the N+ treatment than for the N0 treatment. For both cultivars, %N along the part of I_n exposed to light increased by 150% and 240% for the N0 and N+ treatments, respectively.

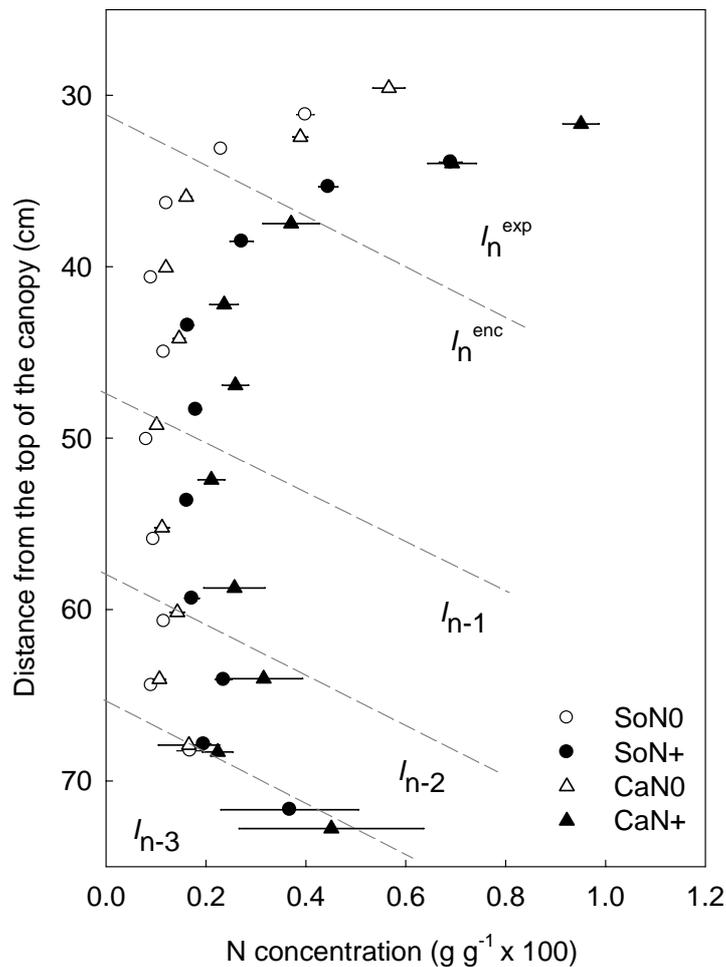


Figure 3. Distance from the top of the canopy versus the N concentration (%N) of the upper three internodes (I_n , I_{n-1} , I_{n-2} , and I_{n-3}) and of the enclosed (I_n^{enc}) and exposed (I_n^{exp}) parts of the upper internode at ^{250}Cd after anthesis for the bread wheat cultivars Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown in the field at low (N0) and high (N+) N supplies. The dotted lines indicate the height of the nodes. Data are means \pm 1 SE for three independent replicates.

Mean specific N mass of individual laminae and sheaths were linearly related to their distance from the top of the canopy

For all treatments and sampling dates, the mean SLN of the three leaves was negatively correlated with the distance from the top of the canopy ($P < 0.001$; Fig. 4). Similarly the mean SSN of the three leaves decreased linearly with the distance from the top of the canopy ($P < 0.001$). For So, the slopes of the linear relationships were significantly higher for the laminae than for the sheaths ($P < 0.001$); whereas, for Ca the slopes were not significantly different for the laminae and the sheaths ($P = 0.56$ and $P = 0.17$ for the N+ and N0 treatments, respectively). In addition, at a given distance from the top of the canopy, the SLN was always higher than the SSN – the intercept of the linear relationships was higher for the laminae than for the sheaths. For both cultivars, the vertical gradients of specific N mass were steeper for the N+ than for the N0 treatment ($P < 0.001$). Assuming that the distribution of specific N mass follows that of light, the steeper gradient at high N supply must be related to the higher light attenuation in the canopy at high N supply given the longer laminae and higher density of culms.

Between anthesis and 250°Cd later, specific N mass had decreased for every laminae and sheaths, and the slope of the linear relationship between specific N mass of a lamina or sheath and the distance from the top of the canopy slightly decreased but differences were not significant ($P = 0.28$). However, at 250°Cd after anthesis the differences between laminae and sheaths in the intercept were no more significant.

Considering its position in the canopy, for both N treatments and cultivars, the specific N mass of the exposed part of the upper internode was higher than that of the laminae and sheath. Moreover, the gradient of specific N mass along the exposed part of the upper internode was much steeper than that observed between laminae and between sheaths (data not shown).

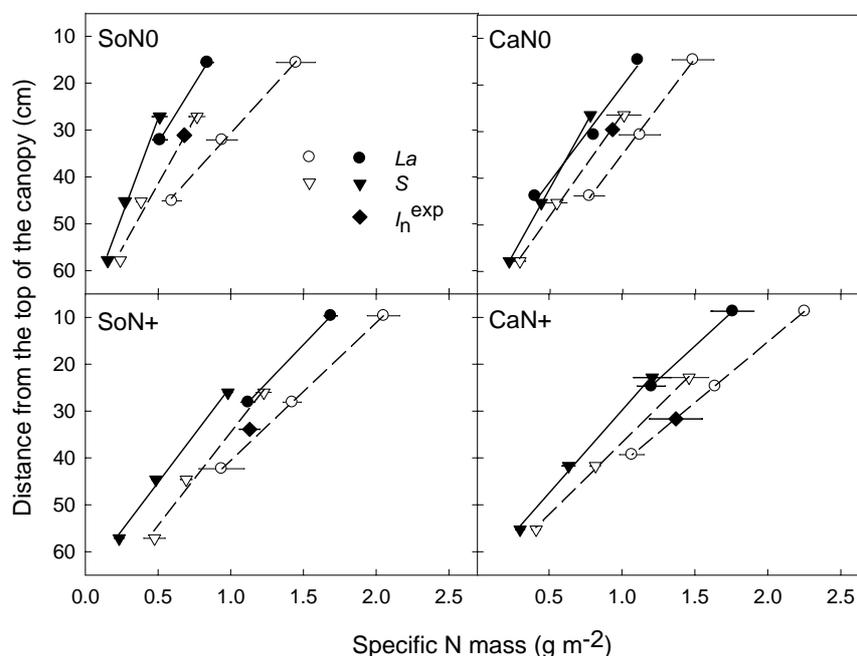


Figure 4. Distance from the top of the canopy versus the mean specific N mass of the three upper leaf laminae (*La*) and sheaths (*S*), and of the exposed part of the upper internode (I_n^{exp}) at anthesis (open symbols) and 250 °Cd latter (closed symbols) for the bread wheat cultivars Soissons (So) and Caphorn (Ca) grown in the field at low (N0) and high (N+) N supplies. Internodes have been considered only at anthesis plus 250°Cd. Lines are linear regressions for laminae and sheaths. Data area means ± 1 SE for 3 independent replicates.

Discussion

In dense canopies, N distribution parallels that of PPFD. However, existing studies are not clear about the existence or not of a continuity of N distribution along individual botanical entities in response to PPFD. In this study, N distributions along and between leaf laminae, sheaths and internodes were analyzed for wheat culms at anthesis and at the end of the phase of endosperm cell division (*i.e.*, 250°C after anthesis; Gleadow et al 1982, Singh & Jenner 1982). Four canopies contrasted by their N content and structure (*i.e.*, number of culms per unit of ground area, leaf area index, leaf length and stature), which affects PPFD extinction within the canopy, were analyzed.

Mean specific N mass of individual laminae and sheaths decreased with the depth in the canopy

The mean specific N mass, specific dry mass and N concentration of individual laminae decreased down the canopy. Similar decreases with depth in the canopy were observed in many studies for different species (for a review see Dreccer et al 1998b, Grindlay 1997, Hirose 2005). The vertical gradient of SLN with depth in the canopy was steeper than that of N concentration on a dry mass basis, similarly to what has been observed for lucerne (*Medicago sativa* L., Lemaire et al 1992, Lemaire et al 1991) and sunflower (*Helianthus annuus* L.; Sadras et al 1993) canopies. This is the direct result of a vertical gradient of SLM with depth in the canopy. These gradients result from an acclimation of the structural characteristics of the leaf and of its photosynthetic apparatus to the local light environment (Prioul et al 1980a). Several experimental studies suggest that PPFD affects N content of a leaf through changes in its transpiration rate (Boonman et al 2007, Pons & Bergkotte 1996, Pons et al 2001). The rate of transpiration determines the amount of nitrate and cytokinins imported by a leaf, which are both involved in the synthesis of proteins of the photosynthetic apparatus (Aloni et al 2005, Boonman et al 2007). However, transpiration has been ruled out as a major factor driving the vertical gradient of N within the crown of hybrid walnut trees (*Juglans nigra* x *regia*; Frak et al 2002).

Few studies have analyzed the vertical distribution of N between sheaths or between internodes. Mean specific N mass, specific dry mass and N concentration of individual sheaths decreased down the canopy. As for laminae, the gradient of specific N mass was steeper than the gradient of N concentration. This result suggests that sheaths also acclimate their structural and functional characteristics to their local light environment. In contrast, there was no indication of a gradient of N concentration along the enclosed parts of the true stem. However, the part of the upper internode exposed to light had significantly higher specific N mass and N concentration than its enclosed part.

The specific N mass was homogeneous along individual laminae and sheaths

Although steep vertical gradients of specific N mass were observed between laminae and between sheaths, there was no gradient of specific N mass along individual laminae or sheaths, although they were subject to large light gradient since each organ spanned about 25% of the canopy height. In good agreement with our results, no significant trend in SLN distribution was observed along the long, lax leaves of maize plants at silking (Drouet & Bonhomme 1999) or within the erect leaves of a mixture of reproductive and vegetative tor grass (Pons et al 1993). For bread wheat, it has been shown that SLN along the green tissues of the flag leaf lamina was homogenous during the whole grain filling period; although, the PPFD decreased by 40% from the tip to the base of the flag leaf lamina and its mean SLN decreased from ca. 3.0 g N m⁻² at anthesis to ca. 1.4 g N m⁻² near the end of the grain filling period (Bertheloot et al 2008). Together with the present results, this suggests that, along each

leaf lamina and sheath, specific N mass is homogeneous during the whole reproductive period. Consequently, at least for wheat, maize and tor grass during the reproductive stage, the response of specific N mass to PPFD is not continuous along individual leaf laminae and sheaths, but is integrated at the scale of the whole botanical entity.

In contrast with leaf laminae and sheaths, large gradients of specific N mass and N concentration were observed along the part of the upper internode exposed to light. For both N treatments and cultivars, the color of the upper internode changed sharply (from whitish to green) at the height of the leaf collar of the phytomer subtending the upper internode, which suggests a localized response of internode N content to light. Similarly, a localized response to shading was observed by Weaver and Amasino (2001) for leaves of *Arabidopsis thaliana* (L.). The length of the part of the upper internode exposed to light was only ca. 4 cm, but the specific N mass gradient was stronger than that observed between laminae or sheaths. Therefore, this gradient of N probably reflects the transition in N content from the enclosed to the exposed parts, rather than a response to a PPFD gradient.

This homogeneity of specific N mass within laminae and sheaths was observed despite a significant decrease in specific dry mass from the base to tip of each entity. A higher specific dry mass at the base than at the tip of leaf laminae is a common observation for monocot species. That was also observed for the leaves of tor grass, which did not show SLN gradient (Pons et al 1993). This decrease of specific dry mass from lamina base to tip is usually interpreted as a relatively large mass of structural tissue (midribs, sclerenchymae) with mechanical support functions near the base of the lamina (Gastal & Lemaire 2002).

It is difficult to conceive a physiological process which will integrate environmental signals at the scale of individual leaf laminae and sheaths and which will result in the observed homogeneous distribution of specific N mass. The response of N content to PPFD is often studied by expressing N mass per unit surface area since PPFD interception is an area-based process. However, no study has established if it is indeed the specific N mass that is affected by PPFD rather than N concentration. In our study, N concentration increased acropetally along laminae and sheaths. Consequently, specific N mass homogeneity within laminae and sheaths may also result from compensations between two opposite gradients: a basipetal gradient of specific dry mass and an acropetal gradient of N concentration, the latter being the result of a PPFD gradient.

The interpretation is all the more difficult because the literature suggests that SLN is not homogeneous within laminae before anthesis. For example, Pons et al. (1993) and Drouet and Bonhomme (1999) did observe positive SLN gradients along leaf laminae of vegetative plants of *C. acutiformis* and maize, respectively. Similarly, Prioul et al. (1980a) observed, for the third leaf of Italian raygrass, a decrease in Rubisco quantity and chlorophyll per unit leaf area as well as a decrease in the rate of light saturated photosynthesis from the tip to the base of the lamina. In Gramineae, expanding leaves show clear developmental gradient along their length (Gastal & Nelson 1994). Since acclimation of N content to light takes several days (Prioul et al 1980bb), such developmental gradients may still be observed for several days after the leaf has reached its final size. Moreover, during the vegetative period, the light environment of each leaf is continuously changing due to the production of new leaves at the top of the canopy. Therefore, during the vegetative period, leaves may not have time to acclimate their N content to their local light environment. For wheat, there is about 300°Cd (*i.e.*, ca. 15 days under our experimental conditions) between the appearance of the flag leaf collar and anthesis (Brooking et al 1995), which is probably enough time for the leaves to acclimate to a more constant light environment. However, Drouet et Bonhomme. (1999) observed a gradient of SLN even along the oldest leaves of vegetative maize plants, which probably had enough time to fully acclimate to their local light environment.

The specific N mass of laminae and sheaths was linearly related to the distance from the top of the canopy

Light is attenuated within a canopy following an exponential function of canopy depth (Monsi and Saeki, 2005). In this study, the distance of a plant organ from the top of the canopy provided an easy way to estimate its PPFD environment for a given canopy. A linear relationship was found between the mean specific N mass of individual laminae or sheaths and the distance from the top of the canopy. For Soissons, specific N mass decreased faster with the distance from the top of the canopy for sheaths than for laminae. This difference in the gradient of specific N mass between laminae and sheaths can be interpreted as the result of differences in the attenuation of PPFD with the distance from the top of the canopy. Attenuation of the PPFD intercepted within canopy depth is stronger for sheaths than for laminae, since laminae are less vertically oriented than sheaths. This explanation is supported by the fact that the relationship between specific N mass and the distance from the top of the canopy was not significantly different between laminae and sheaths for Caphorn, which has more erect leaves than Soissons. Consequently, specific N mass are probably related with the intercepted PPFD in a similar way for laminae and sheaths. In a previous study, we have shown that the patterns of N dynamics after anthesis were similar for laminae and sheaths (Bertheloot et al., 2008), suggesting that N content of individual laminae and sheaths are determined by similar processes.

The use of the distance from the top of the canopy to estimate PPFD attenuation with canopy depth made it difficult to compare treatments for their vertical N distribution. The high N fertilization treatments were characterized by a higher leaf area index than the low N fertilization treatments. Consequently, high N fertilization treatments have a stronger PPFD attenuation with depth in the canopy. This is in accordance with the observation that specific N mass gradients between the upper and lower laminae or sheaths were stronger for the high N fertilization treatments.

Conclusion

The present study clearly showed that, in a wheat canopy after anthesis, N mass per unit surface area does not decrease continuously with depth in response to the continuous decrease in PPFD. Specific N mass of successive leaves differed as well as specific N mass of the sheath and lamina for a given leaf, but it was homogeneous along each organ. N dynamics within wheat crops determine their productivity. The results of this study provide important information to build a process-based model of N dynamics within wheat plants during their reproductive stage. The homogeneity of specific N mass along laminae and sheaths suggests that N dynamics within reproductive wheat plants should be modeled at the scale of the botanical entity. However, a model of N dynamics during the vegetative stage would probably need to formalize the processes at a finer scale. This study also suggests that N content of sheaths and laminae acclimate in a similar manner to the PPFD intercepted. It would be worth testing this hypothesis by simulating accurately the PPFD intercepted by each entity. For this, a model of N distribution using specific approaches such as the model of Chelle and Andrieu (1998) would be a valuable tool, since this kind of model may account for any complex structure.

Acknowledgements

This work was supported by the French Ministry of Research and Technology and by the doctoral school ABIES. The authors express warm thanks to Emmanuel Fovart, Fabrice

Duhamel and Florence Lafouge for the high quality of their technical work: this was an essential contribution to the results presented here.

References

- Aloni R, Langhans M, Aloni E, Dreieicher E, Ullrich CI** (2005) Root-synthesized cytokinin in Arabidopsis is distributed in the shoot by the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany* **56**: 1535-1544
- Angus JF, Jones R, Wilson JH** (1972) A comparison of barley cultivars with different leaf inclinations. *Australian Journal of Agricultural Research* **23**: 945-957
- Anten NPR, Schieving F, Werger MJA** (1995a) Patterns of light and nitrogen distribution in relation to whole canopy carbon gain in C₃ and C₄ mono- and dicotyledonous species. *Oecologia* **101**: 504-513
- Bertheloot J, Martre P, Andrieu B** (2008) Dynamics of Light and Nitrogen Distribution During Grain Filling within Wheat Canopy. *Plant Physiology* **148**: 1707-1720
- Bonhomme R, Varlet-Grancher C** (1978) Estimation of the gramineous crop geometry by plant profiles including leaf width variations. *Photosynthetica*: 193-196
- Boonman A, Prinsen E, Gilmer F, Schurr U, Peeters AJM, Voisenek LACJ, Pons TL** (2007) Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation to canopy light gradients. *Plant Physiology* **143**: 1841-1852
- Brooking IR, Jamieson PD, Porter JR** (1995) The influence of daylength on final leaf number in spring wheat. *Field Crops Research* **41**: 155-165
- Chelle M, Andrieu B** (1998) The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling* **111**: 75-91
- DeJong TM, Doyle JF** (1985) Seasonal relationships between leaf nitrogen content (photosynthetic capacity) and leaf canopy light exposure in peach (*Prunus persica*). *Plant, Cell and Environment* **8**: 701-706
- Dreccer MF, Schapendonk ACM, van Oijen M, Pot CS, Rabbinge R** (2000) Radiation and nitrogen use at the leaf and canopy level by wheat and oilseed rape during the critical period for grain number definition. *Australian Journal of Plant Physiology* **27**: 899-910
- Dreccer MF, Slafer GA, Rabbinge R** (1998) Optimization of vertical distribution of canopy nitrogen: an alternative trait to increase yield potential in winter cereals. *Journal of Crop Production* **1**: 47-77
- Dreccer MF, Slafer GA, Rabbinge R** (1998) Optimization of vertical distribution of canopy nitrogen: An alternative trait to increase yield potential in winter cereals. *Journal of Crop Production* **1**: 47-77
- Drouet JL, Bonhomme R** (1999) Do variations in local light irradiance explain changes to leaf nitrogen within row maize canopies? *Annals of Botany* **84**: 61-69
- Drouet JL, Bonhomme R** (2004) Effect of 3D nitrogen, dry mass per area and local irradiance on canopy photosynthesis within leaves of contrasted heterogeneous maize crops. *Annals of Botany* **93**: 699-710
- Evans JR** (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**: 9-19
- Field C** (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**: 341-347
- Frak E, Le Roux X, Millard P, Adam B, Dreyer E, Escuit C, Sinoquet H, Vandame M, Varlet-Grancher C** (2002) Spatial distribution of leaf nitrogen and photosynthetic capacity within the foliage of individual trees: disentangling the effects of local light quality, leaf irradiance, and transpiration. *Journal of Experimental Botany* **53**: 2207-2216

- Gastal F, Lemaire G** (2002) N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany* **53**: 789-799
- Gastal F, Nelson CJ** (1994) Nitrogen use within the growing leaf blade of tall fescue. *Plant Physiology* **105**: 191-197
- Gleadow RM, Dalling MJ, Halloran GM** (1982) Variation in endosperm characteristics and nitrogen content in six wheat lines. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**: 539-551
- Grindlay DJC** (1997) Towards an explanation of crop nitrogen demand based on the optimization of leaf nitrogen per unit leaf area. *Journal of Agricultural Science* **128**: 377-396
- Hikosaka K, Terashima I, Katoh S** (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* **97**: 451-457
- Hirose T** (2005) Development of the Monsi-Saeki Theory on Canopy Structure and Function. *Annals of Botany* **95**: 483-494
- Hirose T, Werger MJA** (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* **75**: 520-526
- Hirose T, Werger MJA, Pons TL, van Rheeën JWA** (1988) Canopy structure and leaf nitrogen distribution in a stand of *Lysimachia vulgaris* L. as influenced by stand density. *Oecologia* **77**: 145-150
- Lemaire G, Khaity M, Onillon B, Allirand JM, Chartier M, Gosse G** (1992) Dynamics of Accumulation and Partitioning of N in Leaves, Stems and Roots of Lucerne (*Medicago sativa* L.) in a Dense Canopy. *Annals of Botany* **70**: 429-435
- Lemaire G, Onillon B, Gosse G, Chartier M, Allirand JM** (1991) Nitrogen distribution within a lucerne canopy during regrowth: relation with light distribution. *Annals of Botany* **68**: 483-488
- Monsi M, Saeki T** (2005) On the factor light in plant communities and its importance for matter production. *Annals of Botany* **95**: 549-567
- Mooney HA, Field C, Gulmon SL, Bazzaz FA** (1981) Photosynthetic capacity in relation to leaf position in desert versus old-field annuals. *Oecologia* **50**: 109-112
- Okada K, Inoue Y, Satoh K, Katoh S** (1992) Effects of light on degradation of chlorophyll and proteins during senescence of detached rice leaves. *Plant and Cell Physiology* **33**: 1183-1191
- Pons TL, Bergkotte M** (1996) Nitrogen allocation in response to partial shading of a plant: possible mechanisms. *Physiologia Plantarum* **98**: 571-577
- Pons TL, de Jong-van Berkel YEM** (2004) Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. *Annals of Botany* **94**: 725-732
- Pons TL, Jordi W, Kuiper D** (2001) Acclimation of plants to light gradients in leaf canopies: evidence for a possible role for cytokinins transported in the transpiration stream. *Journal of Experimental Botany* **52**: 1563-1574
- Pons TL, Van Rijnbeck H, Scheurwater I, Van Der Verf A** (1993) Importance of the gradient in photosynthetically active radiation in a vegetation stand for leaf nitrogen allocation in two monocotyledons. *Oecologia* **95**: 416-424
- Prioul JL, Brangeon J, Reyss A** (1980a) Interaction between external and internal conditions in the development of photosynthetic features in a grass leaf. 1. Regional responses along a leaf during and after low-light or high-light acclimation. *Plant Physiology* **66**: 762-769
- Prioul JL, Brangeon J, Reyss A** (1980b) Interaction between external and internal conditions in the development of photosynthetic features in a grass leaf. 2.

- Reversibility of light-induced responses as a function of developmental stages. *Plant Physiology* **66**: 770-774
- Rousseaux MC, Hall AJ, Sanchez RA** (1996) Far-red enrichment and photosynthetically active radiation level influence leaf senescence in field-grown sunflower. *Physiologia Plantarum* **96**: 217-224
- Sadras VO, Hall AJ, Connor DJ** (1993) Light-associated nitrogen distribution profile in flowering canopies of sunflower (*Helianthus annuus* L.) altered during grain growth. *Oecologia* **95**: 488-494
- Shiraiwa T, Sinclair TR** (1993) Distribution of Nitrogen among Leaves in Soybean Canopies. *Crop Science* **33**: 804-808
- Singh BK, Jenner CF** (1982) A modified method for the determination of cell number in wheat endosperm. *Plant Science Letter* **26**: 273-278
- Udagawa T, Uchijima Z, Horie T, Kobayashi K** (1968) Studies of energy and gas exchange within crop canopies. 3. Canopy structure of corn plants. . *Proceedings of the Crop Science Society of Japan* **37**: 589-597
- Wang Z-M, Wei A-L, Zheng D-M** (2001) Photosynthetic characteristics of non-leaf organs of winter wheat cultivars differing in ear type and their relationship with grain mass per ear. *Photosynthetica* **39**: 239-244
- Weaver LM, Amasino RM** (2001) Senescence is induced in individually darkened *Arabidopsis* leaves, but inhibited in whole darkened plants. *Plant Physiology* **127**: 876-886

CHAPITRE III

Dynamics of Light and Nitrogen Distribution during Grain Filling within Wheat Canopy

Jessica Bertheloot, Pierre Martre, and Bruno Andrieu (2008)

Plant Physiology 148:1707-1720

Dynamics of Light and Nitrogen Distribution during Grain Filling within Wheat Canopy¹[OA]

Jessica Bertheloot, Pierre Martre*, and Bruno Andrieu

INRA, UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, F-78 850 Thiverval-Grignon, France (J.B., B.A.); AgroParisTech, UMR 1091 Environnement et Grandes Cultures, F-78 850 Thiverval-Grignon, France (J.B., B.A.); INRA, UMR 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales, F-63 100 Clermont-Ferrand, France (P.M.); and Université Blaise Pascal, UMR 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales, F-63 100 Clermont-Ferrand, France (P.M.)

In monocarpic species, during the reproductive stage the growing grains represent a strong sink for nitrogen (N) and trigger N remobilization from the vegetative organs, which decreases canopy photosynthesis and accelerates leaf senescence. The spatiotemporal distribution of N in a reproductive canopy has not been described in detail. Here, we investigated the role of the local light environment on the spatiotemporal distribution of leaf lamina N mass per unit leaf area (SLN) during grain filling of field-grown wheat (*Triticum aestivum*). In addition, in order to provide some insight into the coordination of N depletion between the different vegetative organs, N dynamics were studied for individual leaf laminae, leaf sheaths, internodes, and chaff of the top fertile culms. At the canopy scale, SLN distribution paralleled the light gradient below the flag leaf collar until almost the end of grain filling. On the contrary, the significant light gradient along the flag leaf lamina was not associated with a SLN gradient. Within the top fertile culms, the time course of total (alive + necrotic tissues) N concentration of the different laminae and sheaths displayed a similar pattern. Another common pattern was observed for internodes and chaff. During the period of no root N uptake, N depletion of individual laminae and sheaths followed a first-order kinetics independent of leaf age, genotype, or N nutrition. The results presented here show that during grain filling, N dynamics are integrated at the culm scale and strongly depend on the local light conditions determined by the canopy structure.

Nitrogen (N) plays a key role in crop productivity. Indeed, N is involved in the functioning of meristematic tissues, in photosynthesis, and in the determination of the protein content of harvested organs. Up to 75% of the reduced N in cereal leaves is located in the mesophyll cells, mainly as Rubisco, and is involved in photosynthetic processes (for a detailed discussion, see Evans, 1989). During the reproductive stage, N is translocated to growing grains, which decreases the photosynthetic capacity and indirectly hampers the ability of roots to further take up N. Finally, this results in the death of vegetative organs. The involvement of N in both biomass accumulation and grain protein concentration determination results in complex interactions between carbon and N metabolisms that determine crop productivity and quality (Triboi and Triboi-Blondel, 2002).

In wheat (*Triticum aestivum*), modern cultivars appear to be close to the maximum theoretical harvest index

(shoot to grain biomass ratio; Austin, 1999); over the last decade, genetic gains in productivity have been mostly achieved through the increase of total above-ground biomass (Shearman et al., 2005). This contrasts with previous gains, which were achieved mostly by increased allocation of biomass to grains. Two possibilities related to the improvement of N distribution among plant organs have been suggested to increase crop productivity (Dreccer et al., 1998). The first one is to select cultivars with a greater capacity to store N in nonphotosynthetic organs, such as internodes: that allows the translocation of a larger amount of N to grains without reducing plant photosynthetic capacity (Martre et al., 2007). This is one trait associated with the “stay-green” behavior resulting in delayed leaf senescence and improved grain yield (Borrell et al., 2001). The second possibility is to improve the vertical distribution of N among leaves. Theoretical studies have suggested that canopy photosynthesis would be maximized if N is preferentially allocated to the more illuminated leaves (Field, 1983). A vertical N distribution that follows the light gradient would allow higher photosynthesis compared with that expected from a uniform N distribution (Mooney and Gulmon, 1979). The role of N dynamics on canopy photosynthesis and crop productivity will likely become even more important in the future because of the increase of atmospheric CO₂ concentration (Kim et al., 2001; Anten et al., 2004).

N distribution among leaf laminae has often been analyzed through the “optimization” theory (Hirose

¹ This work was supported by the Agence Nationale de la Recherche Génoplatte Initiative (grant no. ANR-06-GPLA-016-003).

* Corresponding author; e-mail pmartre@clermont.inra.fr.

The author responsible for distribution of materials integral to the findings presented in this article in accordance with the policy described in the Instructions for Authors (www.plantphysiol.org) is: Pierre Martre (pmartre@clermont.inra.fr).

[OA] Open Access articles can be viewed online without a subscription.

www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.108.124156

and Werger, 1987). This theory suggests that lamina N distribution within a vegetative canopy optimizes whole canopy photosynthesis. It implies that, within a dense canopy, leaf lamina N distribution is driven by the light gradient such that leaf lamina N mass per unit leaf area (SLN) follows an exponential function of the downward cumulative leaf area index with an extinction coefficient for N (K_N) equal to that for light (K_L). Nevertheless, until now, an understanding of N distribution within vegetative canopies has not been provided by the optimization theory (Kull, 2002). Observed N gradients are generally less steep than predicted with the optimization theory, and there are numerous cases in which experimental evidence does not back up the hypothesis that SLN follows an exponential gradient (Dreccer et al., 1998). Moreover, there are several limitations in optimization theory calculations (for a detailed discussion, see Reynolds and Chen, 1996). Chen et al. (1993) propose an alternative approach, the coordination theory, which explicitly takes photosynthetic processes into account at the leaf scale to explain the relationship between light and N vertical distribution in vegetative canopies. Here, SLN is computed to maintain a balance between the Rubisco-limited rate of carboxylation and the electron transport-limited rate of carboxylation, which depends on the amount of intercepted light. However, this approach only describes processes at the individual leaf scale and does not account for the impact of the overall plant N status on the vertical leaf N distribution. For this reason, the application of this coordination theory has been very limited.

Relatively little attention has been paid to the pattern of N distribution among individual organs during the reproductive stage of monocarpic species. Available studies either discuss the applicability of the optimization theory during the reproductive stage, focusing on leaf laminae only (Sadras et al., 1993; Drouet and Bonhomme, 1999), or neglect the role of light, focusing on the filling of reproductive organs (Sadras et al., 2000). For sunflower (*Helianthus annuus*) canopy, important changes in leaf lamina N distribution have been reported during the grain-filling period (Sadras et al., 1993); however, the N profile remained close to the photosynthetic optimum almost until physiological maturity (Connor et al., 1995). These studies focused only on leaf lamina N; however, during the reproductive stage, grains represent a strong sink for N, and vegetative organs other than leaf laminae contribute significantly to grain N and plant N dynamics. For instance, Simpson et al. (1983) reported that for wheat at mid grain filling, leaves (i.e. leaf laminae and sheaths) contribute 40%, glumes 23%, stems 23%, and roots 16% of the daily rate of grain N accumulation.

The aim of this study was to analyze N distribution within the wheat canopy during the reproductive stage, taking into account the effect of both the local light environment and N translocation to grains. We asked the following set of questions. Is the vertical leaf N distribution related to light distribution during the

grain-filling period? Does the time course of N mass per unit dry mass during grain filling follow a similar pattern in all vegetative organs? More specifically, does N depletion in the different vegetative organs follow unique first-order kinetics in the period of no apparent root N uptake? To investigate these questions, we studied in the field two bread wheat cultivars, Apache and Isengrain, from anthesis to grain maturity. To take into account local light environment and N translocation from individual organs to grains, N dynamics were characterized for both vertical canopy layers and individual organs. We explicitly took into account the different vegetative organs (i.e. leaf laminae, leaf sheaths, internodes, and chaff). This study provides new insights into the mechanisms and driving variables governing N dynamics during the reproductive stage for wheat, both at the organ and whole plant levels. They provide the basis to construct a functional model at the whole plant level as well as for the integration of results at the molecular level into the context of whole plant physiology. Such an integrated knowledge would greatly enhance our chances of achieving genetic improvement in yield and crop N use efficiency.

RESULTS

Apache and Isengrain Had Different Patterns of Apparent Root N Uptake and N Translocation during the Grain-Filling Period

At anthesis, the two cultivars had similar green area index (GAI; surface area of all green tissues per unit ground area; $P = 0.67$) and leaf area index (LAI; surface area of leaf laminae tissues per unit ground area; $P = 0.49$; Fig. 1A), respectively. LAI and GAI decreased slowly until 500°Cd (degree-days) and 600°Cd after anthesis for Apache and Isengrain, respectively. Then, the decrease accelerated. The duration of the grain-filling period was similar for both cultivars: the duration of grain dry mass accumulation was $855 \pm 79^\circ\text{Cd}$ and $808 \pm 59^\circ\text{Cd}$ for Apache and Isengrain, respectively, while the duration of grain N accumulation was $912 \pm 79^\circ\text{Cd}$ and $988 \pm 80^\circ\text{Cd}$ for Apache and Isengrain, respectively (Fig. 1B). For Apache, all vegetative tissues were necrotic at the end of the grain N accumulation period, whereas Isengrain retained some green tissues in the stem (including leaf sheaths, internodes, and ear peduncle), which represented a GAI of 0.22.

At anthesis, total canopy N per unit ground area was 19% higher for Isengrain compared with Apache, although not significantly so ($P = 0.061$; Fig. 1B). This difference remained until 400°Cd after anthesis. Leaf laminae, chaff, and stems all contributed to the differences observed (Fig. 1, C and D). At anthesis, on the one hand, total lamina N per unit ground area was 20% higher for Isengrain than for Apache ($P = 0.03$; Fig. 1C), despite the lower LAI. On the other hand, Isengrain chaff contained 43% more N mass per unit

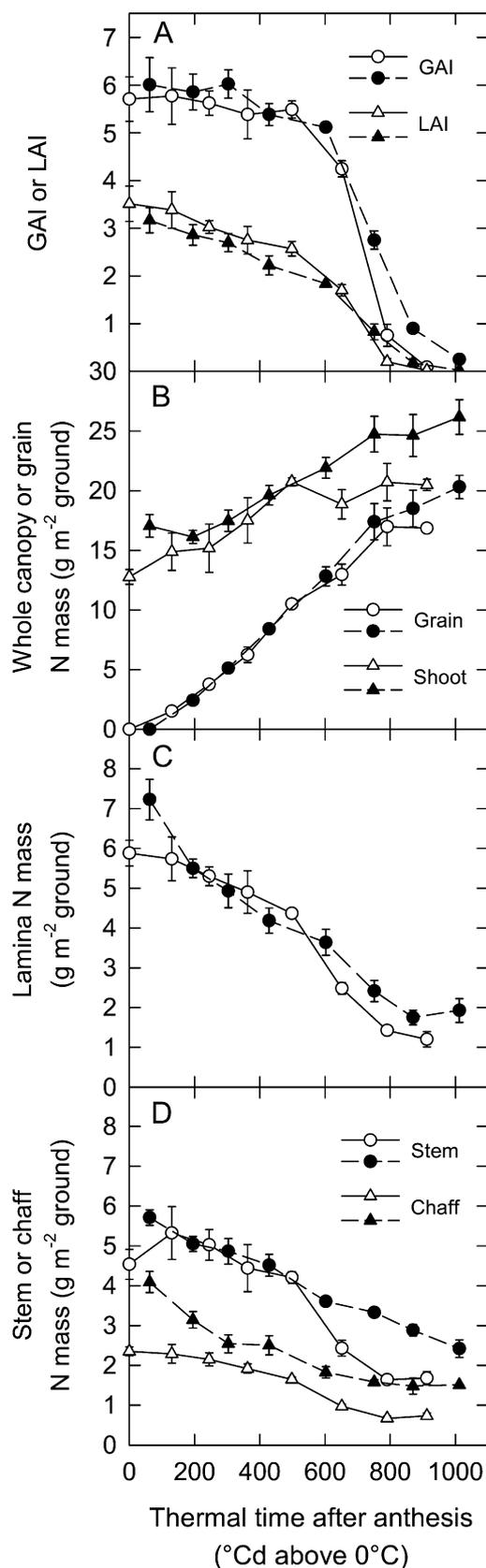


Figure 1. Total and lamina GAI (A), grain and whole canopy N mass per unit ground area (B), lamina N mass per unit ground area (C), and

ground area than those of Apache ($P < 0.001$; Fig. 1D) because of a 1.5 times higher dry mass per unit ground area (Table I) with similar N mass per unit dry mass (data not shown). Finally, at anthesis, the stem contained more N mass per unit ground area in Isengrain (Fig. 1D), but this was related to a delayed peduncle extension in Apache; the difference no longer existed after 130°Cd, when Apache had completed stem extension, and this held true until 500°Cd.

Vegetative organs lost 74% and 66% of their N mass between anthesis and the end of N grain filling for Apache and Isengrain, respectively (Fig. 1, C and D). On average, for both cultivars, leaf laminae contributed 27% to the N transfer to the grains, stem contributed 18%, and chaff contributed 11%. The remaining fraction came from root N uptake or root N remobilization. As assessed from the increase in whole canopy N mass per unit ground area (Fig. 1B), apparent root N uptake represented 39% and 45% of grain N mass at maturity for Apache and Isengrain, respectively. These two cultivars also differed in the time course of postanthesis apparent root N uptake (Fig. 1B). For Apache, whole canopy N mass per unit ground area increased for 500°Cd after anthesis. After 500°Cd, no significant increase in canopy N mass was observed. The end of canopy N accumulation was concomitant with an increase in the rate of N depletion in all vegetative organs (Fig. 1, C and D). In contrast, for Isengrain, the increase in whole canopy N mass per unit ground area started about 200°Cd after anthesis and took place until 800°Cd. Moreover, the rate of N depletion in the vegetative organs of Isengrain did not show any abrupt change during grain filling.

At maturity, although the differences were not statistically significant at the 5% level, whole canopy and grain N mass per unit ground area were 22% ($P = 0.06$) and 17% ($P = 0.07$) higher for Isengrain than for Apache (Fig. 1B). On the contrary, no difference between the two cultivars in whole canopy and grain dry mass per unit ground area was observed at maturity (Table I).

At anthesis, SLN, averaged over the depth of the canopy, was 17% higher ($P = 0.004$) for Isengrain than for Apache (Fig. 2A). This difference was not due to leaf lamina dry mass per unit leaf area (SLM; $P = 0.15$) but to higher N concentration ($P = 0.004$) in the green tissues of Isengrain compared with those of Apache (Fig. 2, B and C). For both cultivars, after anthesis, most of the variations in SLN were due to variations in N concentration. During the first 400°Cd after anthesis, SLN and N concentration in green lamina tissues decreased faster for Isengrain than for Apache, whereas after 600°Cd, they decreased faster for Apache than for Isengrain.

stem (i.e. leaf sheaths and internodes) and chaff N mass per unit ground area (D) versus thermal time after anthesis for crops of the winter bread wheat cultivars Apache (white symbols) and Isengrain (black symbols) grown in the field with nonlimiting N supply. Data are means ± 1 SE for $n = 3$ independent replicates.

Table 1. Crop, stem, lamina, sheath, and chaff dry mass (DM) at anthesis, crop DM and grain yield at maturity, and yield components for the wheat cultivars Apache and Isengrain grown in the field with nonlimiting N supplyData are means \pm 1 SE ($n = 3$ independent replicates). *P*, probability that the cultivars are different following unpaired *t* tests.

Growth Stage	Variable	Cultivar		<i>P</i>
		Apache	Isengrain	
Anthesis	Total crop DM (g DM m ⁻² ground)	882 \pm 52	1,004 \pm 76	0.22
	Stem DM (g DM m ⁻² ground)	517 \pm 30	583 \pm 45	0.25
	Lamina DM (g DM m ⁻² ground)	208 \pm 22	217 \pm 44	0.64
	Chaff DM (g DM m ⁻² ground)	132 \pm 7	202 \pm 14	0.001
Maturity	Total crop DM (g DM m ⁻² ground)	1,851 \pm 183	1,909 \pm 102	0.79
	Grain yield (g DM m ⁻² ground)	930 \pm 86	942 \pm 51	0.91
	Grain number (grain m ⁻² ground)	24,169 \pm 2,351	26,302 \pm 1,499	0.49
	Ear number (ear m ⁻² ground)	548 \pm 46	528 \pm 40	0.76
	Grain number per ear	44 \pm 1	50 \pm 1	0.010
	Average grain DM (mg DM grain ⁻¹)	38.9 \pm 0.5	36.0 \pm 0.3	0.012

The Distribution of Light with Canopy Depth Did Not Change during the Postanthesis Period

The vertical distribution of photosynthetic photon flux density (PPFD), expressed relative to PPFD above the canopy (I/I_0), was well described by an exponential function of the distance from the top of the canopy (all $r^2 > 0.92$ for the different measurement dates). The exponential coefficient did not change significantly during the reproductive stage, even at crop maturity, when all tissues were dead ($P = 0.48$ and 0.45 for Apache and Isengrain, respectively; Fig. 3, A and B). Thus, tissue death did not significantly modify light attenuation within the canopy. The slight variations were most likely due to differences in cloudiness (ratio of direct to diffuse PPFD) between the successive days of measurements and to the heterogeneity of the canopy, since the successive measurements were done in different parts of the experimental plots.

Consistently, the relationship between I/I_0 and cumulative GAI was constant until 500°Cd and 600°Cd after anthesis for Apache ($P = 0.059$) and Isengrain ($P = 0.096$), respectively (Fig. 3, C and D), which corresponded to the onset of the phase of rapid decrease of GAI (Fig. 1A). During that period, the relationship was exponential and the light extinction coefficient (K_L) was not significantly different ($P = 0.12$) for Apache and Isengrain, averaging 0.42 ± 0.01 . During the period of rapid GAI decrease, the proportion of dead tissues increased without change in light distribution with canopy depth. Therefore, the relationship between I/I_0 and cumulative GAI changed markedly.

Below the Level of Flag Leaf Collar, N Vertical Distribution in Green Lamina Tissues Followed the Light Gradient from Anthesis until the Onset of the Rapid GAI Decrease

Light interception and CO₂ assimilation are intrinsically area-based processes; therefore, analysis of leaf N content in relation to light distribution is most

meaningful when expressed per unit leaf area. For both cultivars, no SLN gradient was observed in the upper part of the canopy (Fig. 4). Until approximately 350°Cd and 450°Cd after anthesis for Apache and Isengrain, respectively, the height of the flag leaf collar (C1) delimited this upper zone with constant SLN (Fig. 4, A and B). Most of the lower leaf laminae did not pass this level, so that the constant SLN in the upper part of the canopy mainly reflected the absence of a SLN gradient within the flag leaf lamina. Lower in the canopy, SLN decreased with I/I_0 and an almost constant exponential relationship between cumulative GAI and SLN was observed between anthesis and the onset of the rapid GAI decrease (Fig. 4, C and D). This relationship was characterized by the N extinction coefficient K_N . During that period, SLN decreased in the upper part of the canopy despite no significant change for lower leaf lamina tissues. For both cultivars, the vertical gradient of SLN was due to high SLM and N concentration in green lamina tissues above the flag leaf collar, but below the flag leaf collar it was mostly due to variations of N concentration in green tissues (data not shown).

The K_N to K_L ratio was calculated for the canopy layers below the flag leaf collar between anthesis and the end of grain filling. At anthesis, K_N/K_L was not significantly different ($P = 0.30$) for the two cultivars and averaged 0.92 ± 0.05 (Fig. 5). Therefore, the vertical distribution of N at anthesis was close to the optimum, as defined in the optimization theory (Hirose and Werger, 1987). Until almost the end of grain filling, K_N/K_L did not change significantly for both cultivars ($P = 0.15$ and 0.22 for Apache and Isengrain, respectively).

During the Reproductive Stage, the Dynamics of N Concentration Were Similar for All Laminae and Sheaths But Were Unlike the Dynamics in Stem Internodes, Ear Peduncles, and Chaff

The time course of N concentration for each vegetative organ of the top fertile culms is presented for

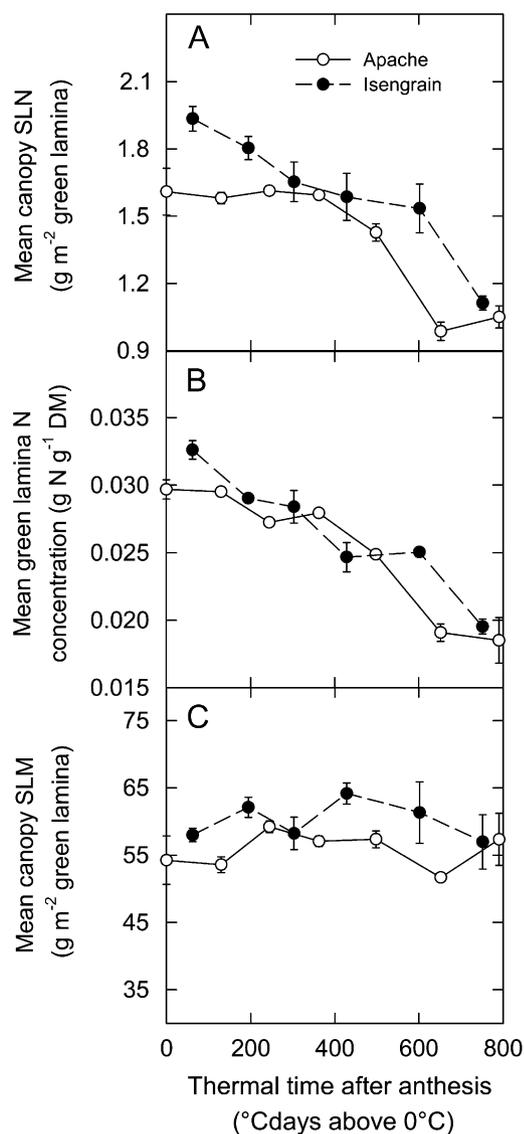


Figure 2. Mean canopy leaf lamina N mass per unit leaf area (A), mean canopy green lamina N concentration (B), and mean canopy leaf lamina dry mass per unit leaf area (C) versus thermal time after anthesis averaged over the depth of the canopy for crops of the winter bread wheat cultivars Apache (white symbols) and Isengrain (black symbols) grown in the field with nonlimiting N supply. Data are means \pm 1 SE for $n = 3$ independent replicates. The y axes have been scaled so that a similar percentage of variations in the three panels represents the same fraction of the full scale. DM, Dry mass.

Apache only (Fig. 6). Similar results were observed for Isengrain. At anthesis, within any phytomer, there was a consistent ranking of N concentration, the lamina being richer than the sheath and the sheath being richer than the internode. This ranking persisted until the end of grain filling. Among phytomers, N concentration of laminae, sheaths, and internodes decreased from the top to the bottom of the culms. Although laminae of different ranks had different N concentrations at anthesis, their N concentration decreased to a

minimum value of $7.9 \pm 0.7 \times 10^{-3}$ g N g⁻¹ dry mass between 800°Cd and 900°Cd after anthesis. N concentration of sheaths, internodes, chaff, and ear peduncle all decreased down to a minimum value of $3.5 \pm 0.9 \times 10^{-3}$ g N g⁻¹ dry mass. The remaining N at the end of grain filling was taken to be structural N.

Figure 6 suggests that the relative time course of N concentration was similar for individual laminae and sheaths independent of their age and position in the canopy. Similarly, the time course of N concentration in chaff, individual internodes, and the ear peduncle seems to follow a similar pattern but is different from that of laminae and sheaths. In order to test this hypothesis, the patterns of N concentration were rescaled as described in "Materials and Methods" (Eq. 6). To analyze only organs presenting a significant amount of nonstructural N, the upper four laminae, the upper two sheaths, and the internodes, chaff, and ear peduncle were used in this analysis during the period when their N concentration was at least 1.2 times their structural N concentration.

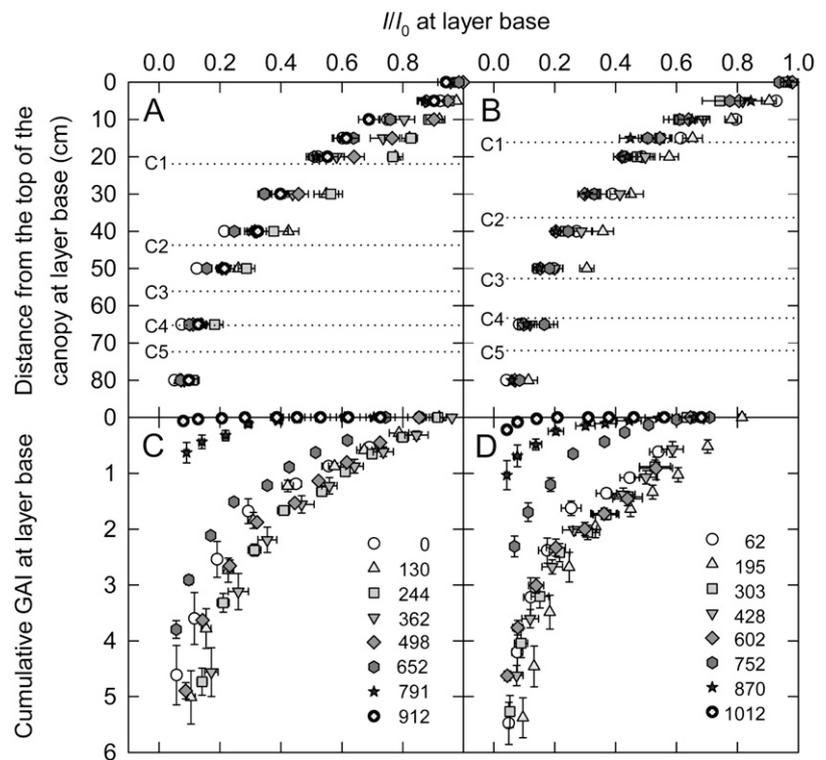
After rescaling, the same pattern described the behavior of all leaf laminae and sheaths, showing that N depletion occurred concomitantly and with the same relative rate in individual leaves of the top fertile culms (Fig. 7). Internodes, chaff, and ear peduncle also followed a similar pattern, but one that was different from that of the leaf laminae and sheaths. During the first half of the reproductive stage, the N concentration of the internodes, chaff, and ear peduncles decreased faster than that for individual laminae and sheaths, whereas the opposite was observed during the second half of the reproductive stage.

A Single First-Order Kinetics Described N Depletion for Laminae Independent of Leaf Age, Genotype, or N Nutrition

It has been shown that the degradation of Rubisco follows first-order kinetics (Irving and Robinson, 2006). Therefore, we tested the hypothesis that first-order kinetics might describe the pattern of N depletion during the period when apparent root N uptake is negligible.

We discarded the measurements corresponding to periods of apparent root N uptake, identified by an increase in whole canopy N, as well as those corresponding to N concentrations lower than 1.2-fold the structural N concentration. As a consequence, we could only use data for Apache laminae, sheaths, and chaff between 500°Cd and 700°Cd after anthesis. To include more data, we used a second data set from an independent field experiment with the winter bread wheat cultivar Thésée involving nine N treatments. The combined data set provided a wide range of crop N status values at anthesis and after anthesis. No postanthesis apparent root N uptake was observed for two treatments of Thésée (M0 and H0); therefore, for these treatments, the analysis covered the whole reproductive period.

Figure 3. Distance from the top of the canopy (A and B) and cumulative GAI counted from the top of the canopy (C and D) versus relative PPFD determined at different times (expressed as thermal time; base 0°C) between anthesis and maturity for crops of the bread wheat cultivars Apache (A and C) and Isengrain (B and D) grown in the field with nonlimiting N supply. The horizontal dotted lines indicate the height of the collar of the top fertile culm leaves (C1–C5). Data are means \pm 1 SE for $n = 3$ independent replicates.



A single value for the relative rate of N depletion (k) was determined for individual culm laminae from the different N treatments for Thésée. A k value of $0.0035 [\text{°Cd}]^{-1}$ was found to minimize the root mean square error (RMSE) between observed and predicted values, and a first-order kinetics with a unique coefficient k could accurately predict N depletion of individual laminae of Thésée grown under contrasted N fertilization treatments ($r^2 = 0.74$, degrees of freedom = 17, $P < 0.001$). Then, we evaluated the ability of the model to predict N depletion between successive sampling dates for each individual organ (experiments 1 and 2) as well as for the whole stem in the case of the second data set (Fig. 8). Simulated and observed values of N depletion for stem, sheath, and chaff were well correlated ($r^2 = 0.79$, degrees of freedom = 19, $P < 0.001$), but N depletion was systematically overestimated by the model, leading to a high relative error of prediction (relative RRMSE [RRMSE] = 128% and 251% for stem and chaff of Thésée, and RMSE = 33.8% and 21.4% for chaff and individual sheaths of Apache, respectively). For the individual laminae of Apache and Thésée grown with different rates and timings of N supply, observed N depletions were accurately simulated, with RRMSE of 7% and 14.1%, respectively. Therefore, the rate constant of lamina sheaths and chaff N depletion during grain filling was mostly independent of their age, N status, or genotype, but the rate constant for the laminae was higher than that for the sheaths and chaff.

DISCUSSION

In dense vegetative canopies, light is the main factor controlling leaf N distribution. A linear or power relationship is usually observed between incident PPFD and SLN, which tends to optimize the canopy photosynthesis (Dreccer et al., 2000; Lötscher et al., 2003). How the relationship between PPFD and SLN changes during the productive stage has not been studied in detail for monocotyledons yet. Here in the field, spatiotemporal changes in N distribution were analyzed during the reproductive stage for dense canopies of wheat. Emphasis was on the persistence of the role of the local PPFD environment during that period, at which time a strong sink for N (growing grains) triggers N translocation from the vegetative organs. In addition, in order to provide some insight into the coordination of N depletion between vegetative organs, the dynamics of N concentration was studied for the different organs of the top fertile culms from anthesis to crop maturity. This study provides a comprehensive picture of N dynamics within the canopy at the crop and organ levels during the critical period of grain filling.

The Vertical Leaf N Distribution during the Grain-Filling Period Is Related to Light Distribution, But the Light Signal Appears Integrated at the Leaf Level

The vertical distribution of PPFD throughout the canopy did not significantly change during the reproductive

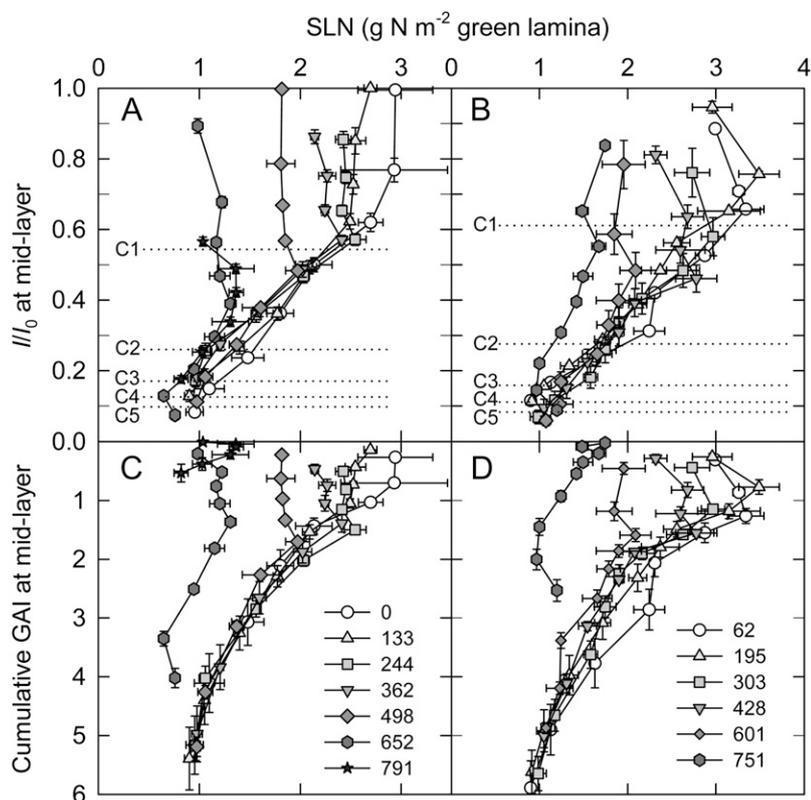


Figure 4. Relative PPFD (A and B) and cumulative GAI counted from the top of the canopy (C and D) versus leaf lamina N mass per unit leaf area at different times (expressed as thermal time; base 0°C) between anthesis and maturity for crops of the bread wheat cultivars Apache (A and C) and Isengrain (B and D) grown in the field with unlimited N supply. The horizontal dotted lines indicate the height of the collar of the top fertile culm leaves (C1–C5). Data are means \pm 1 SE for $n = 3$ independent replicates.

stage, and the small variations observed were most likely due to canopy heterogeneity and differences in sky conditions between the different days of measurements. As a consequence, the presence of brownish, senescent tissues, characterized by different optical properties compared with green tissues, did not affect PPFD distribution. K_L was not significantly different for the two cultivars under study, and the value of 0.42 found here is in good agreement with values previously reported for wheat (Calderini et al., 1997).

The causality of the relationship between PPFD and N vertical distributions has been clearly demonstrated by crop-thinning experiments (Drouet and Bonhomme, 1999) and by inverting the natural gradient of shading (Hikosaka et al., 1994). Changes in the relationship between SLN and PPFD have been related to plant size and N status (Löttscher et al., 2003). There is also some evidence that light quality (in particular the red to far-red ratio) influences N distribution in the canopy (Rousseaux et al., 1999; Frak et al., 2002), but the spectral component of the light gradient is probably less important than the total irradiance component (Pons and de Jong-van Berkel, 2004). It has clearly been demonstrated that accumulation of cytokinins imported through the xylem is involved in the regulation of vertical leaf N distribution (Pons et al., 2001; Boonman et al., 2007). Unexpectedly, in this study, SLN was constant over the length of the flag leaf laminae, although the difference in PPFD between the top and the bottom of the flag leaf laminae was 40%, which was probably

associated with similar gradients of transpiration (and thus cytokinin import) and red to far-red ratio. This study does not give information about possible SLN gradient along laminae below the flag leaf, since the canopy layers below the flag leaf collar consisted of lamina segments from different phytomers and tillers. In another experiment, in which SLN was determined at anthesis at three positions along the different laminae of the main culm for two winter bread wheat cultivars grown with low and high N supplies, no significant SLN differences were found along the different laminae (J. Bertheloot and B. Andrieu, unpublished data). Similarly, no difference in SLN has been found along the long and almost erect leaf laminae of tor grass (*Brachypodium pinnatum*; Pons et al., 1993). In maize (*Zea mays*), significant gradients of SLN along individual leaf laminae have been reported during stem elongation but not at silking (Drouet and Bonhomme, 2004) and 55 d later (Hirel et al., 2005). All of these results strongly suggest that, in Poaceae, the PPFD signal is integrated at the whole leaf lamina level and that observed vertical SLN gradients within the canopy are mainly due to differences in SLN between laminae rather than to differences along individual laminae. Thus, the parallel distribution between SLN and I/I_0 observed below the flag leaf collar for horizontal canopy layers is an emerging trait at the canopy level.

At the canopy level, although SLN of the flag leaf laminae started to decrease before any significant

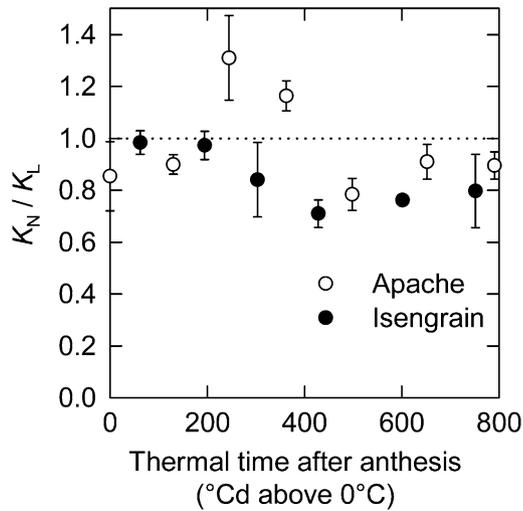


Figure 5. Ratio of N extinction coefficient to light extinction coefficient versus thermal time after anthesis for crops of the bread wheat cultivars Apache and Isengrain grown in the field with nonlimiting N supply. K_N/K_L was calculated by fitting Equation 5, and all regressions were statistically significant (all $P < 0.001$) with r^2 ranging from 0.85 to 0.99. Data are means \pm 1 SE for $n = 3$ independent replicates.

reduction of LAI was observed, the relationship between SLN and I/I_0 below the flag leaf collar remained constant until the onset of the phase of rapid GAI decrease. During the phase of rapid GAI decrease, the vertical distribution of SLN changed rapidly and the vertical SLN distribution became more homogeneous. Nevertheless, the vertical N distribution stayed close to optimum between anthesis and approximately 800°Cd later (i.e. until grain filling was almost completed), since K_N/K_L did not change significantly during that period and remained close to 1 (Hirose and Werger, 1987). Similarly, the vertical N distribution in sunflower canopy became more uniform over the course of grain filling and stayed close to the N distribution that optimized canopy photosynthesis almost until crop maturity (Connor et al., 1995). Similar changes in the shape of the vertical SLN profile during the flowering period were reported for natural stands of the tall herb *Solidago altissima* (Schieving et al., 1992). For wheat, vertical SLN gradients close to the optimum have also been reported during the vegetative growth period (Dreccer et al., 2000).

In contrast with results reported for several other species (Drouet and Bonhomme, 2004, and refs. therein), our results showed that for the wheat cultivars under study, both vertical and temporal variations in SLN were mostly due to variations in N concentration. Before 300°Cd after anthesis, the decrease in N concentration in the flag leaf laminae was even more pronounced than that of SLN because of a slight increase in SLM during the first half of the grain-filling period. Decreases in N concentration and SLN in the leaf lamina at the top of the canopy during the first half of grain filling have also been observed

in wheat (Bindraban, 1999) and sunflower (Connor et al., 1995).

The Time Course of N Mass per Unit Dry Mass during Grain Filling Is Highly Coordinated among the Different Phytomers

N dynamics during grain filling have mostly been studied for pooled laminae, sheaths, and internodes (Simpson et al., 1983; Ta and Weiland, 1992; Oscarson et al., 1995), but very few studies have analyzed N dynamics for the different vegetative organs during grain filling. Here, we found that total (alive + necrotic

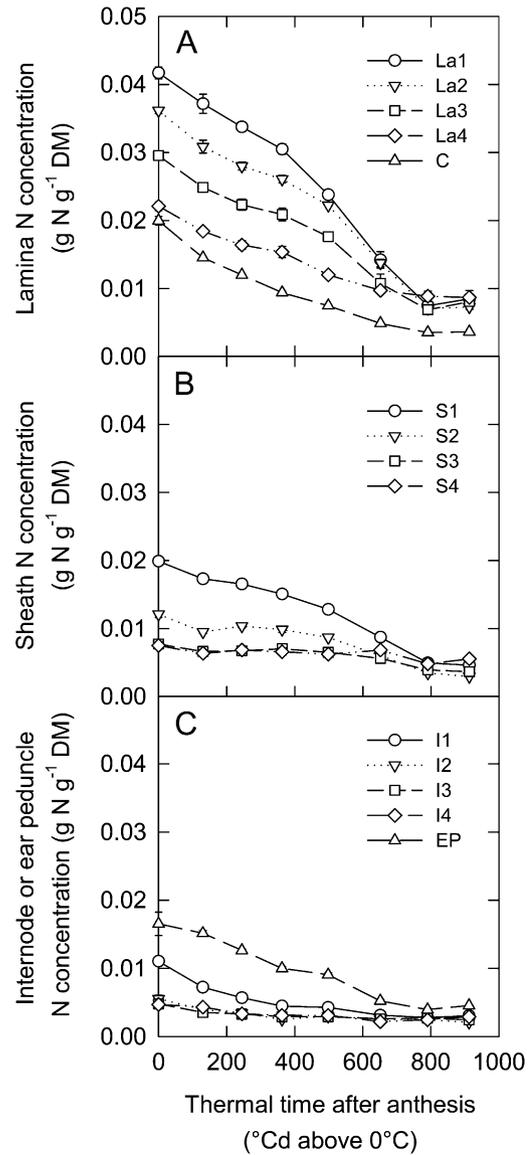


Figure 6. N concentrations for individual leaf laminae (La1–La4) and chaff (denoted C; A), individual leaf sheaths (S1–S4; B), and internodes (I1–I4) and ear peduncles (EP; C) versus thermal time after anthesis for crops of the winter bread wheat cultivar Apache grown in the field with nonlimiting N supply. Data are means \pm 1 SE for $n = 3$ independent replicates. DM, Dry mass.

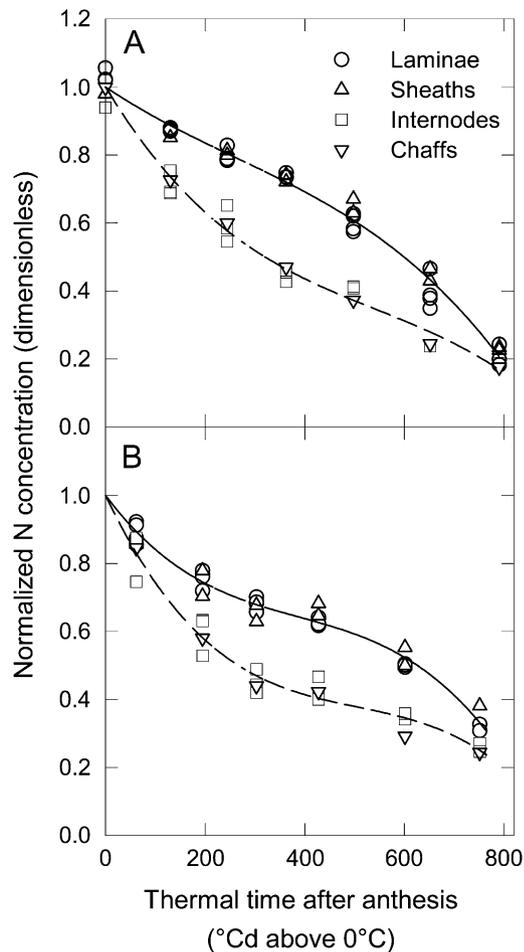


Figure 7. Normalized N concentrations for individual laminae, sheaths, internodes, ear peduncles, and chaff versus thermal time after anthesis for the bread wheat cultivars Apache (A) and Isengrain (B) grown in the field with nonlimiting N supply. Solid lines represent the polynomial functions fitted to normalize lamina and sheath N concentrations; dashed lines represent the polynomial functions fitted to normalize the internode, ear peduncle, and chaff N concentrations. The method used to normalize the N concentrations is described in "Materials and Methods."

tissues) N concentration was positively related to the position along the culm, not only for laminae but also for sheaths and internodes. Within a given phytomer, there was also a systematic ranking between the three organs as a function of their position within the phytomer: N concentration was higher for the lamina than for the sheath and it was higher for the sheath than for the internode. These results are in good agreement with results reported for vegetative wheat crops (Wilhelm et al., 2002). The dependence of N concentration on the organ position along the top fertile culms suggests that vertical N distribution for leaf sheaths and internodes, as for laminae, was related to the PPFD gradient. This assumption is reinforced by the observation that the gradient of N per unit area of sheath tissues between the uppermost and lowermost

sheaths was stronger than that observed for lamina tissues (data not shown). The sheaths, because they are vertical organs, mainly intercept PPFD radiation traveling in an almost horizontal direction, whereas laminae, being more horizontal, intercept radiation traveling in a more vertical direction. As a consequence, the PPFD intercepted by the sheaths decreases more rapidly with depth from the top of the canopy than PPFD intercepted by laminae.

During grain filling, despite a stable light gradient, the basipetal gradient of total N concentration decreased for individual sheaths, internodes, and laminae. This reflects a higher rate of N release for the organs richer in N, similar to what has been observed for sunflower (Sadras et al., 1993). Interestingly, the individual leaf laminae and sheaths of the top fertile culms followed very similar patterns of N concentration depletion from anthesis to the end of grain filling, whatever the position along the culm. Similarly, patterns were the same for the individual internodes, the chaff, and the ear peduncle but differed from those of leaves. The fact that N depletion patterns did not depend on organ position shows that N depletion occurs simultaneously in the different vegetative organs of the top fertile culms. The observed concomitant acceleration of N depletion in all organs for Apache in response to the cessation of crop N accumulation supports this view. These results confirm the assumption made by several authors (Thornley, 2004) that soluble proteins in vegetative organs form a unique

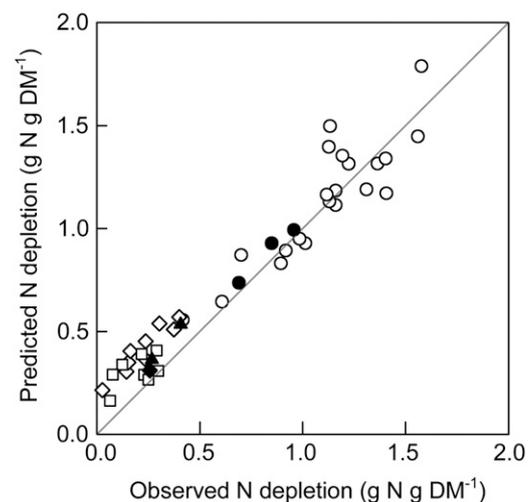


Figure 8. Predicted versus observed N depletion between successive sampling dates after anthesis for individual laminae (circles), sheaths (triangles), and chaff (diamonds) of top fertile culms for the bread wheat cultivar Apache (black symbols) grown in the field with nonlimiting N supply and cultivar Thésée (white symbols) grown in the field with different rates and timings of N supply. For Thésée, leaf sheaths, internodes, and ear peduncles were pooled together (squares). Calculations were restricted to periods of time for which no apparent root N uptake, as estimated from the evolution of whole canopy N mass per unit ground area, was observed. Computation details are given in "Materials and Methods." DM, Dry mass.

pool of N available for growing vegetative and storage organs and that the size of this pool reflects the N status of the plant. The results of Sadras et al. (2000) also head in this direction: they saw no effect of preventing grain development on the vertical patterns of N depletion during the grain-filling period for maize and sunflower and suggested that the effect of sinks on leaf N remobilization and leaf senescence is equally effective throughout the plant.

N Depletion in the Different Vegetative Organs Follows a Unique First-Order Kinetics

In the absence of apparent root N uptake, the N depletion rate of the different organs of the top fertile culms was well described by first-order kinetics for the two growing seasons, two cultivars, and nine N treatments analyzed in this study. This simple model of N depletion is consistent with the proposed model of exponential degradation of Rubisco established from the end of leaf expansion to leaf death (Irving and Robinson, 2006). Exponential degradation of photosynthetic N was also hypothesized in an N distribution model based on the turnover of the photosynthetic apparatus, which assumes that the amount of photosynthetic apparatus of an organ is the result of an equilibrium between its degradation and synthesis (Thornley, 1998, 2004; Kull and Kruijt, 1999). In this model, local light environment plays a major role, since it determines the amounts of photosynthetic N synthesized from metabolic N and carbohydrates synthesized through photosynthesis. Recently, this model has been adapted to analyze N dynamics at the organ level during grain filling of field-grown wheat (Bertheloot et al., 2008).

In the absence of apparent root N uptake, we found a relative rate of N depletion (k) for leaf laminae of $0.0035 \text{ [}^\circ\text{Cd]}^{-1}$, which is 3.5 times higher than values reported for the degradation of Rubisco for rice (*Oryza sativa*) leaf laminae (Irving and Robinson, 2006). For barley leaves (*Hordeum vulgare*), Peterson et al. (1973) measured rates of Rubisco turnover in the range 0.06 to 0.38 d^{-1} . Considering an average daily temperature of 19.6°C , as observed in both of the experiments reported in this study, the value of k calculated here corresponds to 0.07 d^{-1} , which is in the lower part of the range reported by Peterson et al. (1973). In good agreement with our results, Makino et al. (1984) reported a significant effect of N nutrition on Rubisco content for fully expanded rice leaves, but they did not find any differences in the rate constant of Rubisco degradation during leaf aging. The fact that N depletion in the different leaves follows a first-order kinetics for a wide range of N status is in good agreement with previous results showing that for wheat, grain N accumulation is usually source regulated (Barneix and Guitman, 1993; Martre et al., 2003). Moreover, this result suggests that during grain filling, N translocation from the vegetative organs is limited by the availability of the substrate (proteins) and not by

proteolytic processes. To quote Feller and Fischer (1994), "A fine-tuning of degradative processes inside the plastids may be based on metabolite fluxes across the envelope," which may be a mechanism for substrate regulation of protein degradation and N exportation from the vegetative tissues. The genes involved in proteolysis show considerable redundancy (Fischer, 2007), and it has been possible to delay N translocation and leaf senescence through plant transformation (Kato et al., 2004; Robson et al., 2004; Uauy et al., 2006) or mutagenesis (Spano et al., 2003; Donnison et al., 2007) but not to accelerate leaf senescence. Moreover, quantitative trait loci identified for leaf protease activities indicated no functional role for the enzymes involved in plant N recycling or the control of grain protein concentration (Yang et al., 2004). During grain filling of wheat, changes in aminopeptidase and carboxypeptidase activity have been shown to parallel changes in protein concentration of vegetative organs (Feller et al., 1977; Waters et al., 1980). Finally, the expression of the cytosolic Gln synthetase, which is involved in the conversion of Glu to Gln, the major form of N transport in the phloem sap of most cereals, is positively regulated by several amino acids, including Glu (Masclaux-Daubresse et al., 2005). Taken together with our results, these studies demonstrate that the remobilization of vegetative N during grain filling is regulated by the N concentration of the vegetative tissues rather than by proteolytic or transport processes. Even so, higher rates of N remobilization were associated with the higher grain protein concentration of nearly isogenic recombinant substitution lines carrying the high grain protein concentration *Gpc-B1* locus from wild emmer wheat (*Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides*; Kade et al., 2005; Uauy et al., 2006). All of these results indicate that efforts to increase N availability during grain filling should focus on processes related to N assimilation and temporary storage in vegetative organs rather than on protein degradation and translocation. However, it would be worth analyzing the genetic variability of the rate constant of Rubisco degradation. Investigations should be undertaken to determine if cultivars with low rate constants of Rubisco degradation and a subsequent longer leaf life span can be selected.

CONCLUSION

In summary, this study clearly illustrates that N dynamics in the canopy is integrated at the plant level and strongly depends on the local PPFD conditions defined by the structure of the canopy. Despite the fact that the green area of the top fertile culm leaves decreased sequentially from the bottom to the top of the canopy and that laminae La3 and La4 were fully yellow before any significant decrease of the green area of La1 could be observed, leaf N depletion appeared to be well synchronized across the phytomers, implying that the remobilization of N is regulated at

the plant level and not at the organ level. Moreover, our results strongly suggest that the turnover of proteins in vegetative organs is regulated by the amount of substrate (proteins) available. Is the vertical leaf N distribution related to light distribution during the grain-filling period? This is the case below the flag leaf, where the vertical lamina N distribution paralleled the PPFD gradient almost until the end of grain filling; however, the significant PPFD gradient along the flag leaf lamina was not associated with a SLN gradient. During grain filling, SLN started to decrease from the top of the canopy, which tended to flatten the vertical SLN gradient. Does the time course of N concentration during grain filling follow a similar pattern in all vegetative organs? This is partially verified, since the time course of N concentration of the different laminae and sheaths of the top fertile culms, on the one hand, and of the internodes and chaff, on the other hand, followed similar patterns. More specifically, does N depletion in the different vegetative organs follow unique first-order kinetics in the period of no apparent root N uptake? This appeared to be partially the case, since N depletion of all vegetative organs followed first-order kinetics, but the rate constant of N depletion was higher for leaf laminae than for the stems, leaf sheaths, and chaff. This analysis of the spatiotemporal distribution of N during grain filling makes it possible to define simple rules to model the distribution of N during grain filling, which should lead to the development of a mechanistic simulation model of N dynamics for cereals (Bertheloot et al., 2008). Coupled with a mechanistic model of leaf photosynthesis, such a model would allow scaling up the rules described here to the whole crop level to analyze their consequences for crop productivity and N use efficiency and grain yield and to analyze strategies to improve grain yield and N use efficiency.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material and Growing Conditions

All experiments were carried out in the field at Clermont-Ferrand, France (45°47' N, 3°10' E, 329 m elevation). In the first experiment (experiment 1), the vertical distribution of light and N were studied during the reproductive stage both per organ (individual leaf laminae, leaf sheaths, and internodes, chaff, and grains) and per vertical canopy layer for the winter bread wheat (*Triticum aestivum*) cultivars Apache and Isengrain, the two most grown cultivars in France. Both cultivars were sown on November 14, 2004, at a density of 280 seeds m⁻² as part of a larger experiment including 120 doubled haploid lines. The experimental design was a randomized complete block design with three replicates. Plots were 5.0 m long and eight rows wide, with a row spacing of 0.16 m (7.2 m²). Anthesis was recorded on May 27 and 28, 2005, for Apache and Isengrain, respectively. Crops were rain fed and received 295 and 64 mm of rainfall from sowing to anthesis and from anthesis to physiological maturity, respectively. No symptom of water deficit was observed during the grain-filling period. Average air temperature from sowing to anthesis and from anthesis to grain maturity was 7°C and 19.6°C, respectively. Mineral soil N at the end of winter (February 17, 2005) was 12.3 g N m⁻² in the 0.9-m-deep soil profile. Forty seven percent and 37% of the mineral soil N were in the 0- to 30-cm and 30- to 60-cm soil layers, respectively. The crops received 4, 4, 6, and 10 g N m⁻² ammonium nitrate at one node, meiosis, heading, and anthesis, respectively. Pests and diseases were controlled chemically.

In the second experiment in 1994 (experiment 2), the effect of preanthesis and postanthesis N availability in the soil on N translocation during grain filling was studied in the field for the bread wheat cultivar Thésée. This experiment has been described in detail elsewhere (Martre et al., 2003; Triboi et al., 2003). In brief, three preanthesis N treatments, low (L), medium (M), and high (H), were factorized with three postanthesis N treatments, 0 (H0, L0, M0), 1 (L1, H1, M1), and 2 (L2, M2, H2). At anthesis, whole canopy N per unit ground area ranged from 2.30 ± 0.01 g N m⁻² for the L treatments to 6.37 ± 0.22 g N m⁻² for the H treatments. Whole canopy postanthesis N accumulation ranged from 1.58 ± 0.35 g N m⁻² for the 0 treatments to 7.83 ± 0.33 g N m⁻² for L2 and M2 and to 6.34 ± 0.30 g N m⁻² for H2.

Daily weather data were recorded at a weather station adjacent to the field plots. Thermal time was calculated by summing daily degree-days (°Cd) above 0°C, which were calculated as the average between maximum and minimum daily air temperatures.

Plant Sampling

In experiment 1, the time courses of dry mass and N mass were monitored for both cultivars by weekly destructive sampling from anthesis to crop maturity. Two independent sampling protocols were used. In the first, plants were dissected according to their botanical structure with phytomer numbered basipetally. In each phytomer, lamina, sheath, and internode were separated. In the second protocol, the canopy was clipped into horizontal layers. This allowed analyzing N contents of leaf laminae and stems (leaf sheaths, internodes, and ear peduncle pooled together) according to their vertical position and light environment. The two types of samplings were carried out on adjacent rows. For laminae, alive (identified by their greenish color) and dead/nonphotosynthetic (identified by their brownish color) tissues were analyzed separately.

For the sampling per phytomer, three rows × 0.5-m long were sampled. The fresh mass of the samples was determined and the plants were counted. Fifteen plants, with fresh mass within 5% of the average fresh mass per plant, were subsampled and analyzed. The culms of the 15 plants were separated from each other, and the top fertile culms (i.e. the main stem and the first two tillers) were dissected into their individual organs.

For the stratified-clipping method, a 0.28-m² metallic frame (0.44 × 0.64 m) was positioned above the canopy, leaving two border rows on each side. The canopy within the frame was cut from the base of the ears of the top fertile culms to the ground level into 5- to 12-cm-thick layers, resulting in nine to 10 layers. Layer thicknesses were determined so that each layer intercepted 10% to 15% of the light intercepted by the whole canopy. In the laboratory, the cut plant material from each layer was divided into chaff, grains, stems (including leaf sheaths), and alive and dead/nonphotosynthetic lamina tissues. All of the collected material was analyzed.

In experiment 2, 0.2-m² samples were taken in each plot at anthesis and 290°Cd, 505°Cd, 712°Cd, and 900°Cd later. Plants were subsampled as for the sampling per phytomer in experiment 1. Individual leaf laminae, whole stems (all internodes, leaf sheaths, and ear peduncles pooled together), and ear chaff were separated from each other and analyzed. Three replicates were used per N treatment.

Canopy and Plant Structure

Canopy structure was evaluated by the GAI (surface area of green tissues per unit ground area) and LAI (surface area of green lamina per unit ground area) for each canopy horizontal layer. The projected surface areas of the green parts of laminae, stems, and ears were determined using a Li-3100 Area Meter (Li-Cor). To calculate GAI, the projected surface areas of stems, internodes, and ears were multiplied by $\pi/2$ (Lang, 1991). The heights from the soil of the individual leaf collars were estimated from the measured lengths of leaf sheaths and internodes.

Dry Mass, N Concentration Determinations, and SLN and SLM Calculations

Dry mass was determined after oven drying at 80°C until constant mass. The samples were then ground, and their N mass per unit dry mass (N concentration) was determined. In experiment 1, total N concentration was determined by elemental analysis using a Carlo Erba 1110 analyzer. In experiment 2, total N concentration was determined by the micro-Kjeldahl

method using a Kjeltex 2300 analyzer (Foss Tecator). SLN (g N m⁻² leaf lamina) and SLM (g dry mass m⁻² [laminae]) were calculated by dividing the N concentration and dry mass of alive leaf lamina tissues, respectively, by their green surface area. Mean canopy SLN and SLM were calculated by dividing the mass of total living leaf lamina N per unit ground area and dry mass by LAI, respectively.

Light Measurements

The vertical distribution of PPFD ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) was determined 1 d before plant sampling using a 90-cm-long linear ceptometer (LP-80 AccuPAR; Decagon Devices) equipped with an external PPFD sensor. Simultaneous measurements above and within the canopy were taken in the area of the next plant sampling. The ceptometer was inserted in the canopy at 45° from the rows, and measurements were taken every 5 to 10 cm from the top of the canopy to the ground level. Vertical profiles of PPFD were determined in triplicate for each plot. All measurements were done between 11:00 AM and 13:00 PM.

Calculation of Light and N Extinction Coefficients

PPFD was assumed to be attenuated through the canopy following the Lambert-Beer's law (Monsi and Saeki, 2005):

$$I = I_0 \exp(-K_L \times F) \quad (1)$$

where F (m² green tissue m⁻² ground) is the cumulative GAI from the top of the canopy; K_L (m² ground m⁻² green tissue) is the light extinction coefficient; and I_0 and I ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) are the PPFD on a horizontal level above the canopy and at depth F , respectively. K_L was estimated after logarithmic transformation of Equation 1. SLN was related to I/I_0 by:

$$\text{SLN} = (\text{SLN}_0 - n_b) \exp(-K_N \times F) + n_b \quad (2)$$

where SLN_0 and SLN are SLN at the top of the canopy and at depth F , respectively; K_N is the N extinction coefficient (m² ground m⁻² green tissue); and n_b (g N m⁻² leaf lamina) is SLN at which light-saturated photosynthesis is null. The vertical gradient of SLN was described as a function of the absolute cumulative leaf area index and not the relative one, as has often been done (Hirose and Werger, 1987), because the leaf area index varies considerably during the grain-filling period. By eliminating F from Equations 1 and 2, the relationship between SLN and the relative PPFD (I/I_0) can be rewritten as:

$$\text{SLN} = (\text{SLN}_0 - n_b) \left(\frac{I(z)}{I_0} \right)^{(K_N/K_L)} + n_b \quad (3)$$

An optimal SLN distribution is given when K_L equals K_N (Anten et al., 1995) and thus K_N/K_L equals 1. For wheat, the average of the values reported for n_b is 0.4 g N m⁻² (Araus and Tapia, 1987; Bindraban, 1999; Dreccer et al., 2000). K_L/K_N was estimated after logarithmic transformation of Equation 3 with n_b set at 0.4 g N m⁻².

Rescaling of the N Concentration Patterns for Individual Organs during the Reproductive Stage

In order to test the hypothesis that time courses of N concentrations for individual organs of top fertile culms differed only by a scaling factor, the scaling coefficient S_{is} was first calculated for the lamina and sheath of each phytomer. S_{is} was calculated as the slope of the regression between N concentration measured at different dates for a given lamina or sheath and for the uppermost lamina, denoted La1. Then the normalized N concentration $N_{is}(t)/S_{is}$ was calculated for each lamina and sheath and a unique polynomial function of thermal time, $F_{is}(t)$, was fitted to the data set formed by the normalized N concentrations:

$$F_{is}(t) = (1 + \alpha_{is}(t) + \beta_{is}(t^2) + \delta_{is}(t^3)) \quad (4)$$

where α_{is} , β_{is} , and δ_{is} are empirical coefficients and t (°Cd above 0°C) is the thermal time after anthesis. $F_{is}(t)$ represents the shared pattern of N dynamics in laminae and sheaths from anthesis to the end of grain filling.

The same analysis was performed for internodes, chaff, and the ear peduncle, using the uppermost internode I1 to normalize their patterns.

Modeling of N Depletion Kinetics

In the period of no apparent root N uptake, N depletion in individual organs was modeled using a negative exponential function:

$$N(t) = N_0 \exp(-kt) \quad (5)$$

where t (°Cd above 0°C) is thermal time after anthesis, N (g N g⁻¹) is N concentration on a dry mass basis, N_0 represents N concentration estimated at anthesis, and k [(°Cd)⁻¹] is the relative rate of N depletion. k and N_0 were determined after logarithmic transformation of Equation 5. A fitted value of N_0 was determined for each organ of each phytomer and treatment, whereas a unique fitted value of k was determined for every lamina and treatment.

In order to evaluate the above model, we used the value of k determined for the laminae of Thésée to predict the quantity of N depleted between successive sampling dates:

$$\Delta N_{t_1 t_2} = N(t_1)(\exp(-k(\Delta t)) - 1) \quad (6)$$

where Δt is the thermal time between two successive sampling dates.

Statistics

Statistical analyses were done using Statgraphics Plus 4.1 for Windows (Statistical Graphics) or R for Windows (<http://www.r-project.org>). Differences between cultivars in GAI, LAI, SLN, and SLM as well as N content and concentration at anthesis were analyzed using unpaired t tests after checking that data followed a normal distribution. For a given cultivar, differences in K_L and K_N/K_L during grain filling were analyzed using one-way ANOVA ($\alpha = 0.05$) after checking that data followed a normal distribution and that variances were not statistically different. To determine the rate and duration of accumulation of grain N and dry mass, data were fitted with a three-parameter logistic function (Triboi et al., 2003). The first-order kinetics model of N depletion in vegetative organs was evaluated using Equation 6. Goodness of fit of the model was evaluated using the RMSE (Kobayashi and Salam, 2000) and the RRMSE. The RRMSE was determined by dividing the RMSE by the mean of the observed values and then multiplying by 100.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank J. Messaoud, B. Bonnemoy, J.-L. Joseph, and P. Lemaire for their skillful technical assistance, and V. Allard, J. Le Gouis, and D. Moreau (INRA Clermont-Ferrand) and B. Hirel (INRA Versailles) for helpful comments on the manuscript.

Received June 5, 2008; accepted September 11, 2008; published September 17, 2008.

LITERATURE CITED

- Anten NPR, Hirose T, Onoda Y, Kinugasa T, Kim HY, Okada MKK (2004) Elevated CO₂ and nitrogen availability have interactive effects on canopy carbon gain in rice. *New Phytol* **161**: 459–471
- Anten NPR, Schieving F, Werger MJA (1995) Patterns of light and nitrogen distribution in relation to whole canopy carbon gain in C₃ and C₄ mono and dicotyledonous species. *Oecologia* **101**: 504–513
- Araus JL, Tapia L (1987) Photosynthetic gas exchange characteristics of wheat flag leaf blades and sheaths during grain filling: the case of a spring crop grown under Mediterranean climate conditions. *Plant Physiol* **85**: 667–673
- Austin RB (1999) Yield of wheat in the United Kingdom: recent advances and prospects. *Crop Sci* **39**: 1604–1610
- Barneix AJ, Guitman MR (1993) Leaf regulation of the nitrogen concentration in the grain of wheat plants. *J Exp Bot* **44**: 1607–1612
- Bertheloot J, Andrieu B, Fournier C, Martre P (2008) A process-based model to simulate nitrogen distribution within wheat (*Triticum aestivum* L.) during grain filling. *Funct Plant Biol* (in press)
- Bindraban PS (1999) Impact of canopy nitrogen profile in wheat on growth. *Field Crops Res* **63**: 63–77
- Boonman A, Prinsen E, Gilmer F, Schurr U, Peeters AJM, Voisenek LACJ,

- Pons TL (2007) Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation to canopy light gradients. *Plant Physiol* **143**: 1841–1852
- Borrell A, Hammer G, van Oosterom E (2001) Stay-green: a consequence of the balance between supply and demand for nitrogen during grain filling? *Ann Appl Biol* **138**: 91–95
- Calderini DF, Dreccer MF, Slafer GA (1997) Consequences of breeding on biomass, radiation interception and radiation-use efficiency in wheat. *Field Crops Res* **52**: 271–281
- Chen JL, Reynolds JF, Harley PC, Tenhunen JD (1993) Coordination theory of leaf nitrogen distribution in a canopy. *Oecologia* **93**: 63–69
- Connor DJ, Sadras VO, Hall AJ (1995) Canopy nitrogen distribution and the photosynthetic performance of sunflower crops during grain filling: a quantitative analysis. *Oecologia* **101**: 274–281
- Donnison IS, Gay AP, Thomas H, Edwards KJ, Edwards D, James CL, Thomas AM, Ougham HJ (2007) Modification of nitrogen remobilization, grain fill and leaf senescence in maize (*Zea mays*) by transposon insertional mutagenesis in a protease gene. *New Phytol* **173**: 481–494
- Dreccer MF, Slafer GA, Rabbinge R (1998) Optimization of vertical distribution of canopy nitrogen: an alternative trait to increase yield potential in winter cereals. *J Crop Prod* **1**: 47–77
- Dreccer MF, Van Oijen M, Schapendonk AHCM, Pot CS, Rabbinge R (2000) Dynamics of vertical leaf nitrogen distribution in a vegetative wheat canopy: impact on canopy photosynthesis. *Ann Bot (Lond)* **86**: 821–831
- Drouet JL, Bonhomme R (1999) Do variations in local leaf irradiance explain changes to leaf nitrogen within row maize canopies? *Ann Bot (Lond)* **84**: 61–69
- Drouet JL, Bonhomme R (2004) Effect of 3D nitrogen, dry mass per area and local irradiance on canopy photosynthesis within leaves of contrasted heterogeneous maize crops. *Ann Bot (Lond)* **93**: 699–710
- Evans JR (1989) Partitioning of nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. *Aust J Plant Physiol* **16**: 533–548
- Feller U, Fischer A (1994) Nitrogen metabolism in senescing leaves. *Crit Rev Plant Sci* **13**: 241–273
- Feller UK, Soong TST, Hageman RH (1977) Leaf proteolytic activities and senescence during grain development of field-grown corn (*Zea mays* L.). *Plant Physiol* **59**: 290–294
- Field C (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**: 341–347
- Fischer A (2007) Nutrient remobilization during leaf senescence. In S Gan, ed, *Annual Plant Reviews*, Vol 26. Blackwell Publishing, Oxford, pp 87–107
- Frak E, Le Roux X, Millard P, Adam B, Dreyer E, Escuit C, Sinoquet H, Vandame M, Varlet-Grancher C (2002) Spatial distribution of leaf nitrogen and photosynthetic capacity within the foliage of individual trees: disentangling the effects of local light quality, leaf irradiance, and transpiration. *J Exp Bot* **53**: 2207–2216
- Hikosaka K, Terashima I, Katoh S (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* **97**: 451–457
- Hirel B, Andrieu B, Valadier MH, Renard S, Quillere I, Chelle M, Pommel B, Fournier C, Drouet JL (2005) Physiology of maize. II. Identification of physiological markers representative of the nitrogen status of maize (*Zea mays*) leaves during grain filling. *Physiol Plant* **124**: 178–188
- Hirose T, Werger MJA (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to the leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* **72**: 520–526
- Irving LJ, Robinson D (2006) A dynamic model of Rubisco turnover in cereal leaves. *New Phytol* **169**: 493–504
- Kade M, Barneix AJ, Olmos S, Dubcovsky J (2005) Nitrogen uptake and remobilization in tetraploid 'Langdon' durum wheat and a recombinant substitution line with the high grain protein gene Gpc-B1. *Plant Breed* **124**: 343–349
- Kato Y, Murakami S, Yamamoto Y, Chatani H, Kondo Y, Nakano T, Yokota A, Sato F (2004) The DNA-binding protease, CND41, and the degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in senescent leaves of tobacco. *Planta* **97**: 97–104
- Kim HY, Liefvering M, Miura S, Kobayashi K, Okada M (2001) Growth and nitrogen uptake of CO₂-enriched rice under field conditions. *New Phytol* **150**: 223–229
- Kobayashi K, Salam MU (2000) Comparing simulated and measured values using mean squared deviation and its components. *Agron J* **92**: 345–352
- Kull O (2002) Acclimation of photosynthesis in canopies: models and limitations. *Oecologia* **133**: 267–279
- Kull O, Kruijt B (1999) Acclimation of photosynthesis to light: a mechanistic approach. *Funct Ecol* **13**: 24–36
- Lang ARG (1991) Application of some of Cauchy's theorems to estimation of surface areas of leaves, needles and branches of plants, and light transmittance. *Agric For Meteorol* **55**: 191–212
- Lötscher M, Stroh K, Schnyder H (2003) Vertical leaf nitrogen distribution in relation to nitrogen status in grassland plants. *Ann Bot (Lond)* **92**: 679–688
- Makino A, Mae T, Ohiro K (1984) Relation between nitrogen and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. *Plant Cell Physiol* **25**: 429–437
- Martre P, Porter JR, Jamieson PD, Triboi E (2003) Modeling grain nitrogen accumulation and protein composition to understand the sink/source regulations of nitrogen remobilization for wheat. *Plant Physiol* **133**: 1959–1967
- Martre P, Semenov MA, Jamieson PD (2007) Simulation analysis of physiological traits to improve yield, nitrogen use efficiency and grain protein concentration in wheat. In JHJ Spiertz, PC Struik, HH Van Laar, eds, *Scale and Complexity in Plant Systems Research, Gene-Plant-Crop Relations*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 181–201
- Masclaux-Daubresse C, Carrayol E, Valadier M-H (2005) The two nitrogen mobilisation- and senescence-associated *GSI* and *GDH* genes are controlled by C and N metabolites. *Planta* **221**: 580–588
- Monsi M, Saeki T (2005) On the factor light in plant communities and its importance for matter production. *Ann Bot (Lond)* **95**: 549–567
- Mooney HA, Gulmon SL (1979) Environmental and evolutionary constraints on the photosynthetic characteristics of higher plants. In OT Solbrig, S Jain, GB Johnson, PH Raven, eds, *Topics in Plant Population Biology*. Columbia University Press, New York, pp 316–337
- Oscarson P, Lundborg T, Larsson M, Larsson CM (1995) Genotypic differences in nitrate uptake and nitrogen utilization for spring wheat grown hydroponically. *Crop Sci* **35**: 1056–1062
- Peterson LW, Kleinkopf GE, Huffaker RC (1973) Evidence for lack of turnover of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase in barley leaves. *Plant Physiol* **51**: 1042–1045
- Pons TL, de Jong-van Berkel YEM (2004) Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. *Ann Bot (Lond)* **94**: 725–732
- Pons TL, Jordi W, Kuiper D (2001) Acclimation of plants to light gradients in leaf canopies: evidence for a possible role for cytokinins transported in the transpiration stream. *J Exp Bot* **52**: 1563–1574
- Pons TL, Van Rijnbeck H, Scheurwater I, Van Der Verf A (1993) Importance of the gradient in photosynthetically active radiation in a vegetation stand for leaf nitrogen allocation in two monocotyledons. *Oecologia* **95**: 416–424
- Reynolds JF, Chen J (1996) Modelling whole-plant allocation in relation to carbon and nitrogen supply: coordination versus optimization. *Opinion. Plant Soil* **185**: 65–74
- Robson PRH, Donnison IS, Wang K, Frame B, Pegg SE, Thomas A, Thomas H (2004) Leaf senescence is delayed in maize expressing the *Agrobacterium IPT* gene under the control of a novel maize senescence-enhanced promoter. *Plant Biotechnol J* **2**: 101–112
- Rousseaux MC, Hall AJ, Sanchez RA (1999) Light environment, nitrogen content, and carbon balance of basal leaves of sunflower canopies. *Crop Sci* **39**: 1093–1100
- Sadras VO, Echarte L, Andrade FH (2000) Profiles of leaf senescence during reproductive growth of sunflower and maize. *Ann Bot (Lond)* **85**: 187–195
- Sadras VO, Hall AJ, Connor DJ (1993) Light-associated nitrogen distribution profile in flowering canopies of sunflower (*Helianthus annuus* L.) altered during grain growth. *Oecologia* **95**: 488–494
- Schieving F, Werger MJA, Hirose T (1992) Canopy structure, nitrogen distribution and whole canopy photosynthetic carbon gain in growing and flowering stands of tall herbs. *Vegetatio* **102**: 173–181
- Shearman VJ, Sylvester-Bradley R, Scott RK, Foulkes MJ (2005) Physiological processes associated with wheat yield progress in the UK. *Crop Sci* **45**: 175–185
- Simpson RJ, Lambers H, Dalling MJ (1983) Nitrogen redistribution during grain growth in wheat. IV. Development of a quantitative model of the translocation of nitrogen to the grain. *Plant Physiol* **71**: 7–14

- Spano G, Di Fonzo N, Perrotta C, Platani C, Ronga G, Lawlor DW, Napier JA, Shewry PR** (2003) Physiological characterization of 'stay green' mutants in durum wheat. *J Exp Bot* **54**: 1415–1420
- Ta CT, Weiland RT** (1992) Nitrogen partitioning in maize during ear development. *Crop Sci* **32**: 443–451
- Thornley JHM** (1998) Dynamic model of leaf photosynthesis with acclimation to light and nitrogen. *Ann Bot (Lond)* **81**: 421–430
- Thornley JHM** (2004) Acclimation of photosynthesis to light and canopy nitrogen distribution: an interpretation. *Ann Bot (Lond)* **93**: 473–475
- Triboi E, Martre P, Triboi-Blondel AM** (2003) Environmentally-induced changes of protein composition for developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *J Exp Bot* **54**: 1731–1742
- Triboi E, Triboi-Blondel AM** (2002) Productivity and grain or seed composition: a new approach to an old problem. Invited Paper. *Eur J Agron* **16**: 163–186
- Uauy C, Brevis JC, Dubcovsky J** (2006) The high grain protein content gene Gpc-B1 accelerates senescence and has pleiotropic effects on protein content in wheat. *J Exp Bot* **57**: 2785–2794
- Waters SP, Peoples MB, Simpson RJ, Dalling MJ** (1980) Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). 1. Peptide hydrolase activity and protein breakdown in the flag leaf, glumes and stem. *Planta* **148**: 422–428
- Wilhelm WW, McMaster GS, Harrell DM** (2002) Nitrogen and dry matter distribution by culm and leaf position at two stages of vegetative growth in winter wheat. *Agron J* **94**: 1078–1086
- Yang L, Mickelson S, See D, Blake TK, Fischer AM** (2004) Genetic analysis of the function of major leaf proteases in barley (*Hordeum vulgare* L.) nitrogen remobilization. *J Exp Bot* **55**: 2607–2616

CHAPITRE IV

*A process-based model to simulate nitrogen distribution in wheat (*Triticum aestivum*) during grain filling*

Jessica Bertheloot, Bruno Andrieu, Christian Founier, and Pierre
Martre (2008)

Functional Plant Biology 35:781-796

A process-based model to simulate nitrogen distribution in wheat (*Triticum aestivum*) during grain-filling

Jessica Bertheloot^{A,B}, Bruno Andrieu^{A,B,G}, Christian Fournier^{C,D} and Pierre Martre^{E,F}

^AINRA, UMR 1091 EGC, F-78850 Thiverval-Grignon, France.

^BAgroParisTech, UMR 1091 EGC, F-78850 Thiverval-Grignon, France.

^CINRA, UMR 759 LEPSE, F-34060 Montpellier, France.

^DSupAgro, UMR 759 LEPSE, F-34060 Montpellier, France.

^EINRA, UMR 1095 GDEC, F-63100 Clermont-Ferrand, France.

^FUniversité Blaise Pascal, UMR 1095 GDEC, F-63100 Clermont-Ferrand, France.

^GCorresponding author. Email: bruno.andrieu@grignon.inra.fr

This paper originates from a presentation at the 5th International Workshop on Functional–Structural Plant Models, Napier, New Zealand, November 2007.

Abstract. Nitrogen (N) distribution among plant organs plays a major role in crop production and, in general, plant fitness to the environment. In the present study, a process-based model simulating N distribution within a wheat (*Triticum aestivum* L.) culm during grain filling was developed using a functional–structural approach. A model of turnover of the photosynthetic apparatus was used to describe the fluxes between a common pool of mobile N and each leaf lamina. Grain N accumulation within a time-step was modelled as the minimum between the quantity calculated by a potential function and the N available in the common pool. Nitrogen dynamics in the other organs (i.e. stem, chaff, root N uptake and remobilisation) were accounted for by forced variables. Using a unique set of six parameters, the model was able to simulate the observed N kinetics of each lamina and of the grains under a wide range of crop N supplies and for three cultivars. The time-course of the vertical gradient of lamina N during grain filling was realistically simulated as an emerging property of the local processes defined at the lamina scale. The model described in the present study offers new insight into the interactions between N metabolism, plant architecture and productivity.

Additional keywords: emerging property, functional–structural plant model, leaf senescence, light gradient, L-system, nitrogen gradient, photosynthetic nitrogen turnover, plant architecture.

Introduction

Nitrogen (N) plays a major role in crop productivity. It is involved in the production of carbohydrates as an essential component of the photosynthetic apparatus (Evans 1989). During the reproductive stage, N is translocated from vegetative organs to growing grains (Ourry 2001), thus determining grain protein content. This translocation results in a decrease in shoot photosynthetic activity and finally in the death of the plant (Sinclair and De Wit 1975; Masclaux *et al.* 2001). Within a canopy, N is distributed between leaves according to the light gradient and, in most species, the most shaded leaves are also the first ones to die. In wheat (*Triticum aestivum* L.), modern cultivars are close to the maximum theoretical harvest index (grain to shoot biomass ratio; Austin 1999), so that an increase in yield can only be achieved through an increase in total aboveground biomass (Shearman *et al.* 2005). Improving N distribution among plant organs has been suggested as a way to increase crop productivity (Dreccer *et al.* 1998). This requires a better understanding of the factors regulating N distribution within the plant (Lawlor 2002). Moreover, understanding the regulation of N distribution might

open new prospects for improving grain protein concentration, a major determinant of wheat end-use value (Graybosch *et al.* 1996; Shewry 2007).

Nitrogen distribution among leaf laminae has often been analysed using the ‘optimisation’ theory (Hirose and Werger 1987; Hirose 2005). This theory infers that lamina N distribution within a vegetative canopy optimises whole-canopy photosynthesis. It implies that, within a dense canopy, leaf lamina N distribution is driven by the light gradient such that leaf lamina N mass per unit lamina area (SLN) follows an exponential function of the downward cumulative leaf area index (F) with an extinction coefficient for N (K_N) equal to the one for light (K_L). However, this theory has been criticised as being anthropogenic and lacking in underlying biological processes (Reynolds and Chen 1996). Chen *et al.* (1993) proposed an alternative approach, the coordination theory, to explain the relationship between light and vertical N distribution in vegetative canopies that explicitly takes into account photosynthetic processes at the leaf scale. However, this approach only describes the processes at the individual leaf

scale and does not account for the impact of the overall plant N status on the vertical N distribution (Löttscher *et al.* 2003). For this reason, application of this coordination theory has been limited (e.g. Soussana *et al.* 2000).

Models based either on optimisation or coordination theory show systematic deviations from measurements (Kull 2002). In both cases, a conceptual difficulty arises from the assumption that plant N distribution results from steady-state conditions, whereas plants encounter fluctuating environmental conditions. In addition, both theories have been developed to study N distribution in vegetative canopies and very few studies have assessed their applicability during the reproductive stage, which is characterised by a strong sink for N (the growing grains). Moreover, in this period, non-leaf organs, such as stems (i.e. sheaths and internodes) and chaffs (i.e. glumes, rachis and awns) in the case of small grain cereals contribute substantially to whole plant N dynamics. For example, Simpson *et al.* (1983) reported that, for wheat at mid-grain filling, leaves contribute 40%, glumes 23%, stems 23% and roots 16% to the daily rate of grain N accumulation. During the grain-filling period of sunflower (*Helianthus annuus* L.) crops, Sadras *et al.* (1993) observed a decrease in the vertical N gradient caused by a faster N depletion in the organs richer in N at anthesis; these organs are also the highest in the canopy. This difference was not related to variations in the light gradient, although Connor *et al.* (1995) showed that the vertical N distribution was close to the optimum almost until the end of the grain-filling period. Similar results have been reported for flowering stands of tall goldenrod (*Solidago altissima* L.; Schieving *et al.* 1992). Finally, existing evidence shows that, both in the vegetative and reproductive stages, observed lamina N distribution result in calculated photosynthesis close to that predicted by optimisation or coordination theories, but the reciprocal is not true: these theories do not give an accurate account of the pattern of N distribution, and their usefulness is limited during the reproductive stage because they deal only with a limited fraction of whole-shoot N.

Some crop simulation models attempt to simulate N fluxes inside whole canopies based on an explicit description of the biological processes (e.g. Tabourel-Tayot and Gastal (1998*a*, 1998*b*) for grass; Jamieson and Semenov (2000) for wheat). In these models, all of the aboveground organs are taken into account, but the structure of the plant is usually accounted for in an integrated way. For example, Tabourel-Tayot and Gastal (1998*a*, 1998*b*) considered a root and a shoot compartment; Jamieson and Semenov (2000) considered a leaf, a stem and a grain compartment. However, such integrated compartmentation does not consider the processes determining the vertical gradient of N within the plant.

Thornley (1998, 2004) proposed a theoretical process-based model of photosynthetic N dynamics for one mature C₃ leaf in relation to its local light environment and whole-plant N availability represented by a pool of mobile N connected to the leaf. This approach is based on a formalisation of the turnover of the photosynthetic apparatus (Kull 2002): it proposes that photosynthetic apparatus degradation follows first-order kinetics in accordance with the exponential decay of Rubisco degradation (Irving and Robinson 2006), while regeneration is related to the availability of N substrate and the amount of PAR incident on the leaf surface. This approach is

appealing, but implies a high level of simplification. For instance, a single form of substrate is accounted for, although substrate N actually takes several forms, such as nitrates and amino acids. Thus, evaluations based on experimental data and tests are needed to validate the turnover theory.

The studies mentioned above illustrate the importance that has been given to understanding N distribution within plants. Nevertheless, no consensus about a process-based approach for simulating N distribution within plants has emerged. The way to overcome these difficulties might not be an increased complexity in the description of the processes, but rather a more realistic description of the plant architecture within which these processes occur. The objective of the present study was to evaluate whether a functional-structural model based on Thornley's (1998) model of photosynthetic N turnover at the organ scale is sufficient to reproduce the time-courses of N mass distribution between leaf laminae after anthesis over a wide range of soil N availabilities. As proposed by Thornley (2004) and following the conclusions of Cooper and Clarkson (1989), it was assumed that all organs share a common pool of mobile N. In this approach, N distribution between individual laminae would simply result from the simultaneous turnover of the photosynthetic apparatus in laminae facing different light environments. In addition to lamina N mass, grain N accumulation was modelled assuming that it depends on a potential demand for N and on N availability in the sources, that is, N released by vegetative organs and root N uptake and remobilisation. The reproductive stage was chosen because vegetative plant growth has ceased and the plant structure hardly changes. Moreover, during the reproductive stage the grains are the only significant N sinks. The model of N dynamics in laminae and grains was integrated into the ADEL-Wheat 3D simulation model describing the botanical and geometrical structure of the culm (Fournier *et al.* 2003) using the L+C language (Karwowski and Prusinkiewicz 2003). This integration should allow for the analysis of the interactions between plant architecture, N dynamics and local environmental factors.

Materials and methods

Model description

General principles

The present study proposes a process-based model simulating the dynamics of N distribution between laminae and of bulk grain N accumulation within reproductive wheat culms (*Triticum aestivum* L.). The rate of root N uptake and translocation and the N mass variation of the internodes, leaf sheaths and chaffs (collectively referred to as stem hereafter) were also considered to account for the effect of the whole-plant N status on laminae and grain N dynamics. These variables were forced from experimental data. The rate of root N uptake and translocation was estimated from the observed increase in total N of the entire culm. The model describes N fluxes within a culm (tiller), which is the architectural unit of the Graminae. The botanical and functional organisation of the culm is explicitly represented by a set of modules that exchange N through a common pool of mobile N (N_c^{mob} , kg; Fig. 1). Time is expressed as thermal time after anthesis with a base temperature of 0°C.

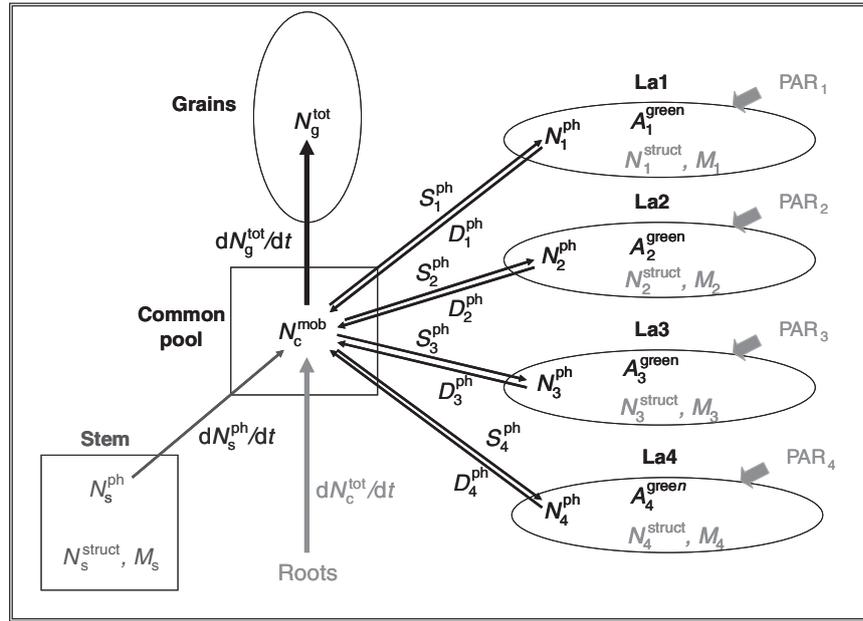


Fig. 1. Scheme of the model of N dynamics between the four upper laminae (La1 to La4) and grains in wheat culm (*Triticum aestivum* L.) during the reproductive stage. Symbols in black represent the modelled variables: lamina photosynthetic N mass (N_i^{ph} for lamina i), rates of N_i^{ph} synthesis and degradation (S_i^{ph} and D_i^{ph} , respectively), lamina photosynthetically active area (A_i^{green}), mobile N mass in the common pool (N_c^{mob}), grain N mass (N_g^{tot}) and rate of grain N accumulation (dN_g^{tot}/dt). Symbols in grey represent the variables fitted to the experimental data: lamina and stem structural N mass (N_i^{struct} and N_s^{struct}) and structural dry mass (M_i and M_s), PAR incident on lamina surface (PAR_i) as well as the rate of root N uptake and translocation. The latter was estimated from the observed total N increase of the whole culm (dN_c^{tot}/dt). Photosynthetic N of the stem (N_s^{ph}) and N flux from the stem to the common pool (dN_s^{ph}/dt) are represented in dark grey because they were estimated from both the observed total stem N mass and the modelled N_c^{mob} .

The vegetative modules, that is, the laminae and stem, were characterised by two N forms: photosynthetic and structural N. To calculate the mass of total N in each lamina (N_i^{tot} , kg, for lamina i) and stem module (N_s^{tot} , kg), a fraction of mobile N in the common pool was allocated to each lamina and to the stem. Allocation of N_c^{mob} was made proportionally to the photosynthetic N mass of each module, assuming that the ratio r (dimensionless) of mobile N to photosynthetic N is identical for all modules. The mass of structural N in each lamina (N_i^{struct} , kg) and in the stem (N_s^{struct} , kg) was assumed to be constant with thermal time. Thus, N_i^{tot} and N_s^{tot} were calculated as:

$$N_i^{\text{tot}}(t) = (1 + r) \cdot N_i^{\text{ph}}(t) + N_i^{\text{struct}} \quad (1)$$

$$N_s^{\text{tot}}(t) = (1 + r) \cdot N_s^{\text{ph}}(t) + N_s^{\text{struct}}, \quad (2)$$

where t ($^{\circ}\text{Cd}$) is the thermal time after anthesis and N_i^{ph} (kg) and N_s^{ph} (kg) are the mass of photosynthetic N in the lamina i and in the stem modules, respectively. Laminae were numbered basipetally according to their rank from the flag leaf.

Grains were only characterised by their total N mass (N_g^{tot} , kg). The mass of N in the entire culm (N_c^{tot} , kg) was calculated as:

$$N_c^{\text{tot}}(t) = N_s^{\text{tot}}(t) + \sum_i N_i^{\text{tot}}(t) + N_g^{\text{tot}}(t). \quad (3)$$

Laminae and stem modules were also characterised by their structural dry mass content (M_i and M_s (kg), respectively). In

addition, each lamina was characterised by the amount of PAR incident on its surface (PAR_i , $\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and its total (A_i , m^2) and photosynthetically active areas (A_i^{green} , m^2). The symbols and units of the different variables are summarised in Appendix 1. The symbols, units and values of the model parameters described below are presented in Table 1.

Dynamics of photosynthetic N and the photosynthetically active area in the lamina

In the model, the necrotic tissues of one lamina contain only structural dry mass and structural N, whereas photosynthetically active tissues also contain photosynthetic N. The structural, photosynthetic N and total N mass per unit lamina area are assumed to be uniform within each lamina and are denoted as, for one lamina i , $N_i^{\text{struct},a}$, $N_i^{\text{ph},a}$ and $N_i^{\text{tot},a}$, respectively (kg m^{-2}).

As proposed by Thornley (1998), at any given time, the rate of variation in N_i^{ph} was modelled as the difference between a synthesis rate ($S_i^{\text{ph}}(t)$, $\text{kg } [^{\circ}\text{Cd}]^{-1}$) and a degradation rate ($D_i^{\text{ph}}(t)$, $\text{kg } [^{\circ}\text{Cd}]^{-1}$):

$$\frac{dN_i^{\text{ph}}}{dt} = S_i^{\text{ph}}(t) - D_i^{\text{ph}}(t). \quad (4)$$

It has been shown that the degradation rates of Rubisco (Irving and Robinson 2006) and total lamina N (Bertheloot *et al.* 2008) are proportional to the quantity of Rubisco and total N,

Table 1. Model parameters: their symbols, units and values used for the simulations

Symbol	Definition	Unit	Values used for the simulations		
			Apache	Isengrain	Thésée
Lamina PAR environment					
k	PAR extinction coefficient	Dimensionless	0.54	0.70	0.62
T	PAR transmission coefficient of the organs above the flag leaf	Dimensionless	0.76	0.66	0.71
Lamina tissue death					
α	Slope of the first part of the piecewise linear regression between $\min N_i^{\text{ph,a}}$ and $\max N_i^{\text{ph,a}}$	Dimensionless		0.46	
β	$\max N_i^{\text{ph,a}}$ at which the relationship between $\min N_i^{\text{ph,a}}$ to $\max N_i^{\text{ph,a}}$ changes from increasing to constant	kg m^{-2}		1.9×10^{-3}	
χ	Intercept of the first part of the piecewise linear regression between $\min N_i^{\text{ph,a}}$ and $\max N_i^{\text{ph,a}}$	kg m^{-2}		0.24×10^{-3}	
Lamina photosynthetic N degradation and synthesis					
δ	Relative rate of photosynthetic N degradation	$[\text{°Cd}]^{-1}$		0.008	
σ	Relative rate of photosynthetic N synthesis	$[\text{°Cd}]^{-1}$		0.0015	
k_1	Michaelis–Menten constant associated to $[N]_c^{\text{mob}}$	kg kg^{-1}		0.0018	
k_2	Michaelis–Menten constant associated to PAR _{<i>i</i>}	$\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1}$		10	
Grain N accumulation					
$N_g^{\text{tot}}(0)$	N mass at anthesis in the grains	kg		2.4×10^{-6}	
γ	Relative rate of potential grain N accumulation during the endosperm cell division phase	$[\text{°Cd}]^{-1}$		0.005	
τ	Duration of the endosperm cell division phase	°Cd		250	

respectively. Therefore, $D_i^{\text{ph}}(t)$ was modelled as a first-order kinetics (Thornley 1998):

$$D_i^{\text{ph}}(t) = \delta \cdot N_i^{\text{ph}}(t), \quad (5)$$

where δ ($[\text{°Cd}]^{-1}$) is the relative rate of N_i^{ph} degradation.

As proposed by Thornley (1998), $S_i^{\text{ph}}(t)$ was modelled as a function of PAR_{*i*}, the concentration of mobile N in the photosynthetically active tissues of the entire culm ($[N]_c^{\text{mob}}$, kg kg^{-1} ; described below) and the structural mass of photosynthetic active tissues in the lamina (M_i^{green} , kg), according to a double Michaelis–Menten function:

$$S_i^{\text{ph}}(t) = \sigma \cdot M_i^{\text{green}}(t) \cdot \frac{[N]_c^{\text{mob}}(t)}{[N]_c^{\text{mob}}(t) + k_1} \cdot \frac{\text{PAR}}{\text{PAR}_i + k_2}, \quad (6)$$

where σ ($\text{kg kg}^{-1} [\text{°Cd}]^{-1}$) is the relative rate of N_i^{ph} synthesis and k_1 (kg kg^{-1}) and k_2 ($\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1}$) are Michaelis–Menten constants associated with $[N]_c^{\text{mob}}$ and PAR_{*i*}, respectively.

$[N]_c^{\text{mob}}$ was computed as the mean N_c^{mob} concentration in photosynthetically active lamina plus stem tissues. The mass of photosynthetically active tissues in the stem was assumed not to vary significantly after anthesis and was set equal to M_s . Therefore, $[N]_c^{\text{mob}}$ was calculated as:

$$[N]_c^{\text{mob}}(t) = \frac{N_c^{\text{mob}}(t)}{M_s + \sum_i M_i^{\text{green}}(t)}. \quad (7)$$

Thornley's (1998) model was extended to simulate the decrease in A_i^{green} during the grain-filling period. It has been proposed that there is a minimum SLN threshold triggering

rapid leaf senescence (Yin *et al.* 2000). However, the measured SLN at the onset of rapid leaf senescence strongly depends on crop N status (Hirel *et al.* 2005) and the determinants of the variability in SLN just before lamina death are not well understood. In our model, lamina *i* tissues become necrotic when the photosynthetic N mass per unit area of photosynthetically active tissues, $N_i^{\text{ph,a}}$, is lower than a minimum threshold ($\min N_i^{\text{ph,a}}$, kg m^{-2}) that depends on the maximum value of $N_i^{\text{ph,a}}$ reached by the lamina after anthesis ($\max N_i^{\text{ph,a}}$, kg m^{-2}). An empirical function was fitted to experimental data to define the relationship between $\min N_i^{\text{ph,a}}$ and $\max N_i^{\text{ph,a}}$ (see the model calibration section for details):

$$\min N_i^{\text{ph,a}} = \begin{cases} \alpha \cdot \max N_i^{\text{ph,a}} + \chi & \text{for } \max N_i^{\text{ph,a}} \leq \beta \\ \alpha \cdot \beta + \chi & \text{for } \max N_i^{\text{ph,a}} > \beta \end{cases}, \quad (8)$$

where α (dimensionless), β (kg m^{-2}) and χ (kg m^{-2}) are empirical parameters characterising the piecewise linear function between $\min N_i^{\text{ph,a}}$ and $\max N_i^{\text{ph,a}}$.

If there is not enough photosynthetic N in a lamina to maintain the $N_i^{\text{ph,a}}$ above $\min N_i^{\text{ph,a}}$, then the photosynthetically active area is reduced so that $\min N_i^{\text{ph,a}}$ is maintained in the remaining photosynthetically active tissues:

$$\frac{dA_i^{\text{green}}}{dt} = \frac{dN_i^{\text{ph}}}{dt} \cdot \frac{1}{\min N_i^{\text{ph,a}}}. \quad (9)$$

M_i^{green} was computed from A_i^{green} , assuming that the structural dry mass per unit area does not vary with time:

$$M_i^{\text{green}}(t) = \frac{A_i^{\text{green}}(t)}{A_i} \cdot M_i. \quad (10)$$

Dynamics of total N in the grains

The only source of N for the grains is the common pool of mobile N. Within a given time step, the actual N accumulation (δN_g^{tot} , kg) was calculated as the minimum between that corresponding to a potential rate ($^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}$, kg $[\text{°Cd}]^{-1}$) and the mass of N available in the common pool:

$$\delta N_g^{\text{tot}} = \min(^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}(t), N_c^{\text{mob}}(t)). \quad (11)$$

The $^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}$ calculation was based on the equations proposed by Martre *et al.* (2003). Two successive phases during the grain-filling period were considered. The first phase corresponds to the phase of endosperm cell division and the second phase corresponds to the phase of rapid starch and storage protein accumulation (Evers and Millar 2002). During the first phase, $^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}$ was defined by an exponential function of thermal time. During the second phase, $^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}$ was assumed to be constant and equal to the value reached at the end of the first phase:

$$^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}(t) = \begin{cases} \gamma \cdot ^{\text{pot}}N_g^{\text{tot}}(t) & t \leq \tau \\ ^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}(t = \tau) & t > \tau \end{cases}, \quad (12)$$

where γ ($[\text{°Cd}]^{-1}$) is the relative rate of potential grain N accumulation during the endosperm cell division phase, $^{\text{pot}}N_g^{\text{tot}}$ (kg) is the potential mass of N in the grains (calculated from $^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}(t)$) and τ (°Cd) is the duration of the endosperm cell division phase.

Modelling the dynamics of the mass of mobile N in the common pool

The conservation of N mass implies that the rate of variation in total N mass in the culm is equal to the sum of the rates of variation in N mass in each module. Thus, the rate of variation in the mass of mobile N in the common pool was calculated as:

$$\frac{dN_c^{\text{mob}}}{dt} = - \sum_i \left(\frac{dN_i^{\text{ph}}}{dt} \right) - \frac{dN_g^{\text{tot}}}{dt} - \frac{dN_s^{\text{ph}}}{dt} + \frac{dN_c^{\text{tot}}}{dt}. \quad (13)$$

Dynamics of photosynthetic N in the stem

The present study focuses on the applicability of the turnover theory to simulate the distribution of N between laminae; thus, the dynamics of photosynthetic and total N in the stem were not explicitly modelled. Instead, the rate of variation in the mass of total N in the stem was defined as a forced variable and the rate of variation in the mass of photosynthetic N in the stem was calculated from this forced variable as:

$$\frac{dN_s^{\text{ph}}}{dt} = \frac{d(N_s^{\text{tot}}/(1+r))}{dt}. \quad (14)$$

Allocation of mobile N to the laminae and stem

As introduced above, the mass of N in the mobile pool was allocated to the different modules by assuming that the ratio of mobile : photosynthetic N mass (r) was the same for all modules:

$$r = \frac{N_s^{\text{mob}}}{N_s^{\text{ph}}} = \frac{N_i^{\text{mob}}}{N_i^{\text{ph}}}, \quad (15)$$

where N_i^{mob} and N_s^{mob} are the mass of mobile N in the lamina i and stem, respectively. Within each time step, r was calculated by iteration by solving Eqn 13 until r verified:

$$r = \frac{N_c^{\text{mob}}}{N_s^{\text{ph}} + \sum_i N_i^{\text{ph}}}. \quad (16)$$

An iteration process was needed to calculate r because the calculation of dN_s^{ph}/dt depends on dr/dt (Eqn 14), which is related to dN_c^{mob}/dt and, thus, depends on dN_s^{ph}/dt (Eqn 13).

Amount of PAR incident on the surface of each lamina

The PAR attenuation within the canopy was modelled using Beer–Lambert's law (Monsi and Saeki 2005). The amount of PAR incident on the surface of lamina i was calculated as a function of the cumulative leaf area index above lamina i (F_i , $\text{m}^2 \text{m}^{-2}$) as expressed by Eqn 17:

$$\text{PAR}_i = k \cdot \text{PAR}_0 \cdot T \cdot \exp(-k \cdot F_i), \quad (17)$$

where k ($\text{m}^{-2} \text{m}^{-2}$) is the PAR extinction coefficient, PAR_0 ($\text{Jm}^{-2} \text{s}^{-1}$) is the incident PAR above the canopy and T (dimensionless) is the PAR transmission coefficient of the canopy layers above the flag leaves. We have previously shown that during the grain-filling period, senescence of the canopy does not significantly modify the vertical light gradient within the canopy (Bertheloot *et al.* 2008). Therefore, F_i was calculated from the sum of the surface area of both photosynthetically active and necrotic lamina parts, and T and k were considered to be constant with thermal time.

Experimental data

The model was parameterised and evaluated using two experiments carried out in Clermont-Ferrand, France, in 1994 (experiment 1) and 2005 (experiment 2) that provided 11 contrasted experimental treatments. These experiments have been described in detail elsewhere (Martre *et al.* 2003; Triboï *et al.* 2003; Bertheloot *et al.* 2008). The crops were rain fed and pests and diseases were chemically controlled. In experiment 1, the winter bread wheat cultivar Thésée was grown under nine different N treatments; three pre-anthesis N treatments, low (L), medium (M) and high (H), were factorised with three post-anthesis N treatments where the crops received either 0 g N m^{-2} (treatments L0, M0 and H0), 3 g N m^{-2} (treatments L3, M3 and H3) or 15 g N m^{-2} (treatments L15, M15 and H15). In experiment 2, the cultivars Apache (Ap) and Isengrain (Is) were grown in a field under non-limited N supply. In both experiments, plants were collected in three replicate samples at regular time intervals from anthesis to crop maturity. For each replicate, 15 median culms were selected from the plants harvested. The average total N mass and dry mass for each lamina rank, for the stem (sheaths, internodes, ear peduncle and chaffs pooled together) and for the grains were determined in each replicate. The photosynthetically active area (identified by the green colour and turgidity) for each lamina rank was similarly

determined. Thermal time was calculated as the accumulated daily temperature above 0°C.

In addition, in experiment 2, PAR was measured at the top of the canopy and at different depths within the canopy.

Statistics and the software for model implementation

All statistical analyses were done using the R programming software (R Development Core Team 2006). The model was implemented in C++ programming language and run at a time step of one degree day. To avoid numerical artefacts resulting from transitory negative values of N_c^{mob} , the rate of grain N accumulation was set to 0 when $[N]_c^{\text{mob}}$ fell to the low value of $10^{-4} \text{ kg kg}^{-1}$. The model parameters were estimated by minimising the root mean square error (RMSE) between the model simulations and the observations using a Newton-type algorithm. For each treatment, simulated and observed lamina N masses were compared using a relative root mean square error (RRMSE), which was calculated as the ratio between RMSE and the lamina N mass measured at the first sampling date for that treatment.

Model calibration

Initialisation of the model at anthesis and estimation of the forced variables during the post-anthesis period were carried out separately for each experimental treatment. Then, a unique set of six parameters, for the functions describing the potential grain N uptake (i.e. $N_g^{\text{tot}}(0)$ and γ) and photosynthetic N turnover in the laminae (i.e. σ , δ , k_1 and k_2), was estimated using all treatments described above (Table 1).

Model initialisation at anthesis

For all treatments, grain N mass at anthesis, $N_g^{\text{tot}}(0)$, was set at 2.4 mg (Girard 1997). Four lamina modules were defined following the observation that only the upper four laminae retained some photosynthetically active tissues at anthesis.

For each treatment, each lamina module was initialised with the observed photosynthetically active area of each lamina at anthesis. The mass of photosynthetic N, structural N and the dry matter in the laminae and stem could not be directly determined from the experiments. These values were estimated as follows. The mass of structural N and the structural dry matter were estimated as the minimum values of total N and dry mass, respectively, observed during the grain-filling period for each cultivar in experiment 1 and for each pre-anthesis N treatment in experiment 2. The mass of photosynthetic and mobile N allocated to each lamina and to the stem at anthesis were estimated from the observed mass of total N and the estimated mass of structural N using Eqns 1 and 2 with r set to 0.10. The value 0.10 was chosen because this value was reached after the first time steps of the model running, irrespective of the initial value at anthesis. The common pool was initialised at anthesis with the sum of mobile N mass calculated for each lamina plus the stem module.

Light environment characterisation

As daily incoming PAR over the periods studied did not show significant trends (data not shown), a constant PAR_0 , equal to $120 \text{ J m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, was used for both experiments that corresponded to the mean irradiance conditions observed in Clermont-Ferrand

over the given time periods. As the time constant of Rubisco degradation corresponds to a duration of several days (Kull 2002; Thornley 1998), diurnal fluctuations of PAR were assumed not to affect the overall lamina N dynamics.

The PAR extinction (k) and transmission coefficients (T) were assumed to be cultivar dependent, but independent of N treatment. As no light measurement was made in experiment 1, k and T were estimated as the averages of the values estimated for the two cultivars of experiment 2. The values of k reported in Table 1 for Apache and Isengrain differ from the values reported for these cultivars by Bertheloot *et al.* (2008) because the authors calculated k based on the surface area index of both laminae and stems, whereas in the present study k was calculated based on leaf area index only.

Adjustment of the forced variables to the experimental data

For each treatment, the forced variables dN_s^{tot}/dt and dN_c^{tot}/dt were estimated from the derivatives of the spline and sigmoid functions fitted to the observed time courses of N_s^{tot} and N_c^{tot} , respectively. The RMSEs were 1.53 mg N (over a range of 24.4–43 mg N) and 1.11 mg N (over a range of 0.13–12.9 mg N) for N_c^{tot} and N_s^{tot} , respectively.

Threshold for tissue death modelling

The observed $N_i^{\text{ph,a}}$ around the onset of rapid leaf senescence (i.e. observed $\min N_i^{\text{ph,a}}$) was estimated for each treatment as the difference between $N_i^{\text{tot,a}}$ and $N_i^{\text{struct,a}}$, where $N_i^{\text{tot,a}}$ and $N_i^{\text{struct,a}}$ were calculated as the average between the values measured at the sampling dates before and after observed A_i^{green} started to decrease. This calculation does not account for mobile N, but model simulations showed that, at the onset of tissue necrosis, it represented less than 2% of $N_i^{\text{ph,a}}$. The observed $\min N_i^{\text{ph,a}}$ ranged from 0.2 to $1.6 \times 10^{-3} \text{ kg m}^{-2}$. The parameters of Eqn 8 were estimated by fitting observed $\min N_i^{\text{ph,a}}$ to observed $(\max N_i^{\text{tot,a}} - N_i^{\text{struct,a}})$ ($r^2=0.74$; $\text{RMSE} = 0.3 \times 10^{-3} \text{ kg m}^{-2}$). Estimated parameter values are reported in Table 1.

Parameterisation of the models of N dynamics in individual laminae and grains

Parameters describing the potential rate of grain N uptake (${}^{\text{pot}}S_g^{\text{tot}}(t)$, Eqn 12) were assumed to be identical for all treatments. Based on the results reported by Gleadow *et al.* (1982) and Singh and Jenner (1982) for wheat, a value of 250°Cd was used for the transition from the exponential to the linear phase of grain filling (τ). Only two samplings were done during the phase of endosperm cell division in experiment 2 and no samplings were done in experiment 1. Therefore, to estimate γ , ${}^{\text{pot}}N_g^{\text{tot}}(t=\tau)$, which describes the potential rate of grain N uptake during the linear phase, was estimated first. This was calculated as the slope of the linear regression between the observed grain N per ear and the thermal time after anthesis during the linear phase of grain N accumulation using treatment M15 (experiment 1), which showed the highest value of N_g^{tot} at maturity. Then, parameter γ was calculated analytically from the values of $N_g^{\text{tot}}(t=0)$, τ and ${}^{\text{pot}}N_g^{\text{tot}}(t=250^\circ\text{Cd})$.

The four parameters describing photosynthetic N degradation and synthesis, that is, σ , δ , k_1 and k_2 (Eqns 5 and 6), were estimated by minimising the RMSE between the model simulations and

observations for the total N mass of each lamina. These parameters were first estimated separately for each treatment. After parameter fitting, the time-course of total N in laminae and grains was simulated with a global RMSE of 0.32 mg N for the laminae over a measured range of 0.13–4.91 mg N and a RMSE of 2.3 mg N for the grains over a measured range of 3.77–50.52 mg N. Then, the treatment L3 with a RRMSE for lamina N mass above 0.30 (Fig. 2) was excluded and a unique set of parameters was estimated using the 10 remaining treatments (Table 1). Using this set of parameters, the model was evaluated for its capacity to simulate N dynamics in the individual laminae and in the grains for the complete set of 11 treatments. The RMSE values obtained in this way, 0.58 mg N for laminae and 2.4 mg N for grains, were considered to be sufficiently close to those obtained when the parameters were estimated separately for each treatment. This unique set of parameters was used in the simulations presented below.

Model evaluation

Nitrogen dynamics in the laminae and grains for the different genotypes grown with contrasting N supplies

The two experiments used in the present study to calibrate and evaluate the model resulted in a wide range in plant size and N status. At anthesis, N_c^{tot} ranged from 17.6 (for L0) to 39.4 (for Isengrain) mg, and N_s^{tot} ranged from 7.8 (for L0) to 15.6 (for M3) mg. In the flag leaf lamina, N_1^{ph} ranged from 1.8 to 6.1 mg and A_1^{green} ranged from 14.6 to 37.8 cm². During the post-anthesis period, N_c^{tot} did not increase for treatments M0 and H0, whereas it increased by 26.9 mg for H2. N_s^{tot} showed a continuous decrease with thermal time after anthesis for all treatments except L15, M15, H15 and Apache in experiment 2, in which it was constant or slightly increased during the first 300°Cd after anthesis. At maturity the mass of N in the grains ranged from 18.9 to 42.6 mg N.

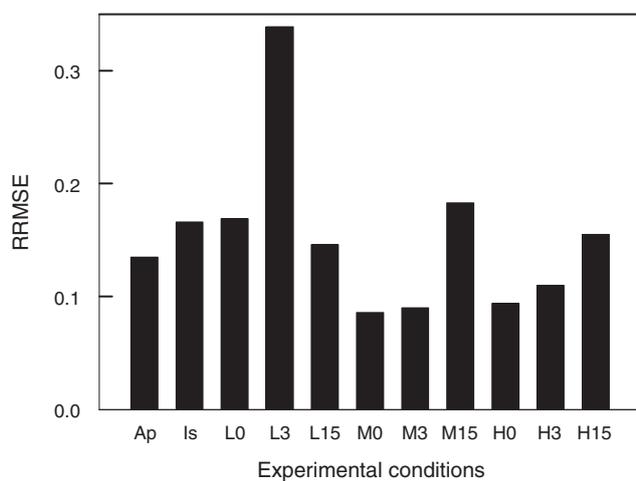


Fig. 2. Relative root mean squared errors (RRMSEs) for lamina N mass in experiments 1 and 2. Model parameters, that is, γ , σ , δ , k_1 and k_2 were estimated separately for each cultivar and N treatment. Ap and Is correspond to cultivars Apache and Isengrain, respectively, in experiment 2. L0, L3, L15, M0, M3, M15, H0, H3, H15 correspond to the nine N treatments for cultivar Thésée in experiment 1.

Using the parameters reported in Table 1, the model simulated reasonably well the wide range of N mass in the laminae ($r^2=0.95$; Fig. 3a) and grains ($r^2=0.97$; Fig. 3b) observed during the post-anthesis period. In particular, the wide range of observed final N mass of the grains (between 18.9 and 42.6 mg) was accounted for by the model with a low RMSE of 1.82 mg. In contrast, A_1^{green} dynamics were poorly simulated (RMSE = 6.45 cm² within an observed range of 0–46.97 cm²).

Nitrogen dynamics within the culm in four contrasting treatments

The dynamic behaviour of the model is presented below in detail for four contrasting treatments: cultivar Apache grown in 2005 (experiment 2) and cultivar Thésée grown in 1994 under the N treatments L0, H0 and H15 (experiment 1). L0 and H0 differed by the amount of N fertiliser applied during tillering (0 v. 10 g N m⁻²), whereas H0 and H15 differed by the amount of N fertiliser applied at anthesis (0 v. 15 g N m⁻²).

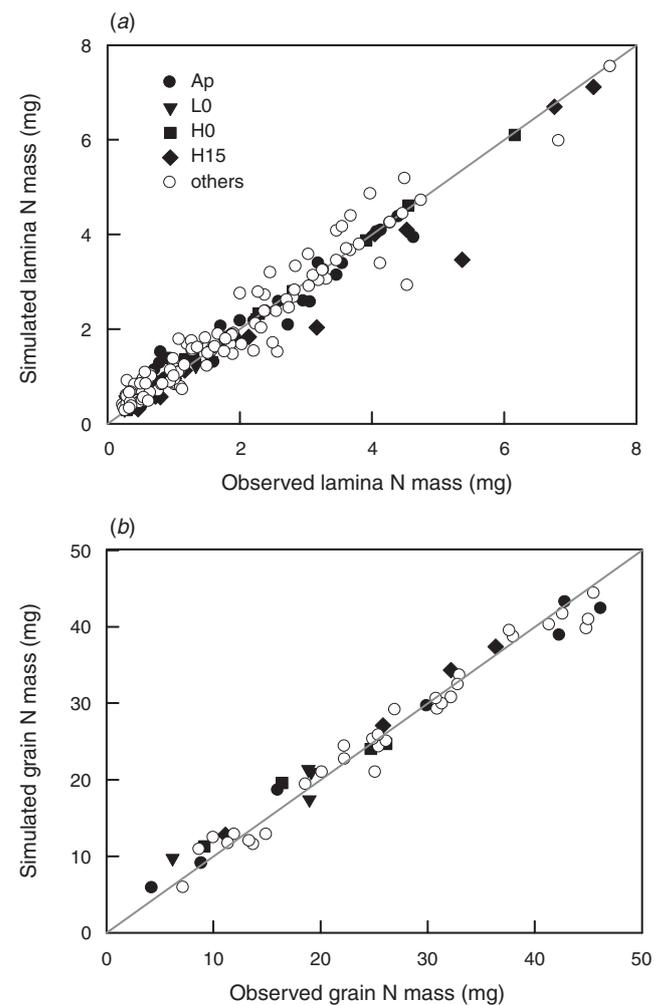


Fig. 3. Simulated v. observed mass of N in (a) individual laminae and (b) grains. Simulations were carried out with a unique set of parameters for all treatments. Cultivar Apache (Ap) (experiment 2) and treatments L0, H0 and H15 (experiment 1) studied in detail in Figs 3–5 are identified from the other treatments. The observed data are the means of three independent replicates.

These four treatments resulted in contrasting patterns of root N uptake and translocation and of N dynamics in the stem module (Fig. 4a). For example, culm N masses at anthesis were 150 and 159% higher for H0 and H15, respectively, than for L0. During the grain-filling period, the mass of N in the entire culm increased by 17%, 0% and 54% for L0, H0 and H15, respectively. At anthesis, the mass of N in the entire culm was similar for Apache and H15, but later root N uptake and translocation was 1.4-fold higher in Apache than in H15 because it took place for a much longer period after anthesis in Apache compared with the other treatments.

Figure 4a shows that the measured N_c^{tot} decreased in some cases between two successive measurements (e.g. between 500 and 700°Cd in H15 and between 800 and 900°Cd in Apache).

These are artefacts resulting from the use of destructive sampling and actually reflect the variability between the sampling areas. These artefacts were not reproduced by the fitted sigmoid function used to describe $N_c^{\text{tot}}(t)$, which explains some of the deviations between the model predictions and observations described below.

The four treatments generated a wide range of dynamics of N grain filling that were well simulated by the model (Fig. 4b). During the exponential phase of grain filling, simulated N_g^{tot} was very close to its potential. During the linear phase of grain filling, simulated N_g^{tot} became significantly lower than its potential. N_g^{tot} dropped below the potential curve at some point during the linear phase, in good agreement with the measured data. The sooner the simulated N_g^{tot} dropped below the potential, the lower the final N_g^{tot} at maturity. Apache diverged from the potential very late, at

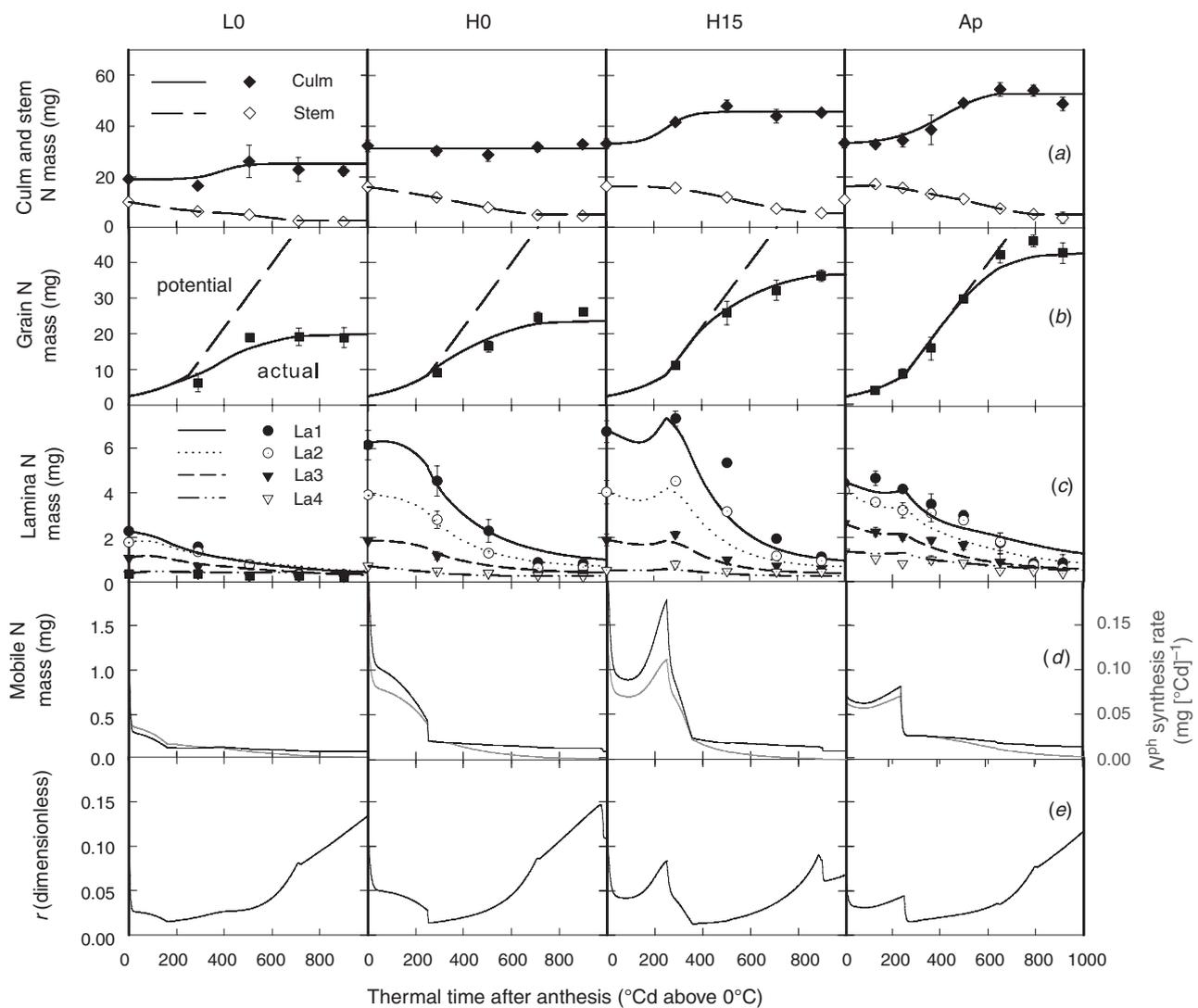


Fig. 4. (a) Observed and fitted time-courses of total N in the entire culm and in the stem, (b) potential and actual (observed and simulated) time-courses of grain N mass, (c) observed and simulated time-course of total N mass for each lamina rank (La1, La2, La3, La4 counted basipetally), (d) simulated time-course of mobile N mass and of the sum of lamina photosynthetic N synthesis rates ($\sum_i S_i^{\text{ph}}$) and (e) simulated time-course for the ratio r of mobile N to photosynthetic N. The x-axis is thermal time (base 0°C) from anthesis. Each column of the figure is for the same treatment: L0, H0 and H15 refer to the N treatments for cultivar Thésée in experiment 1; Ap refers to cultivar Apache in experiment 2. Measurements are shown as symbols, predicted or fitted variables are shown by lines. The observed data are means \pm 1 s.d. of three independent replicates.

approximately 500°Cd after anthesis, leading to the highest final N_g^{tot} (43 mg). The measured final N_g^{tot} values were simulated by the model, except for treatment H0. However, the underestimation of final N_g^{tot} in this treatment mainly reflected the underestimation of the final N_c^{tot} by the sigmoid function.

Overall, the model successfully reproduced the patterns of N dynamics in the different laminae (Fig. 4c). First, the observed variations in the mean N depletion rates according to the lamina N mass at anthesis were well simulated by the model. Indeed, lamina N mass was lowest in L0 (ranging from 0.3 mg for lamina 4 to 2.3 mg for lamina 1) and highest in H15 (ranging from 0.5 mg for lamina 4 to 6.8 mg for lamina 1) at anthesis, and, after anthesis, N depletion rates (observed and simulated) were lowest in L0 and highest in H15. Second, the model accounted for the behaviour in lamina N mass resulting from post-anthesis root N uptake and translocation: for Thésée under treatment H15 and for Apache, a delay or even some transitory increase in lamina N mass was observed and simulated during the first degree days after anthesis. Finally, measurements and simulations were in good agreement when comparing the patterns of N dynamics between laminae: both showed that N dynamics were identical between lamina ranks, except for a scale factor. In particular, the transient increase in lamina N mass in H15 and Apache was observed and simulated to occur simultaneously for all leaf ranks. During the phase of linear grain filling, laminae N mass decreased in all treatments, including Apache, indicating that in all cases the demand for N by the grains was greater than root uptake.

In a limited number of cases, simulations departed from the measurements. The model underestimated lamina N mass by ~40% for the treatment H15 at 505°Cd; that is, at the end of the root N uptake and translocation phase in the model. Other deviations were less pronounced: in H0 and for Apache, laminae N mass were overestimated towards the end of grain filling (starting from 700 and 800°Cd, respectively); in addition, for Apache, the N mass of the laminae in the period between 300 and 500°Cd was underestimated. Some of these departures resulted from differences between the fitted and observed N in the whole culm. Given the simplicity of the model, there might be some intrinsic reasons for this: however, the accuracy and spatial resolution of the measurements did not allow for an in-depth analysis.

The dynamics of the mass of mobile N in the common pool (N_c^{mob}) were influenced by both grain N accumulation and root N uptake and translocation (Fig. 4d). In all treatments, N_c^{mob} decreased strongly during the first degree days just after anthesis and, in the absence of root N uptake or translocation (treatment L0 and H0), it reached its lowest value before the linear phase of grain filling. For H15 and Apache, post-anthesis root N uptake and translocation resulted in an increase in N_c^{mob} until the end of the exponential phase of grain filling, but N_c^{mob} decreased in all cases during the linear phase of grain filling. However, root N uptake and translocation delayed the time it took to reach the minimum threshold: this occurred as soon as the linear phase of grain filling began in Apache, but only at 350°Cd in the H15 treatment, which was at the end of the root N uptake and translocation phase. The time at which N_c^{mob} reached its lowest value also corresponded to the time when N_g^{tot} became lower than the potential. This results from the model assumption

that grains take up N at a potential rate if there is enough N_c^{mob} in the common pool.

The sum of the synthesis rates of photosynthetic N ($\sum_i S_i^{\text{ph}}$) closely followed the dynamics of mobile N mass (Fig. 4d) because S_i^{ph} depends on $[N]_c^{\text{mob}}$ in the model (Eqn 6). In addition, r closely followed N_c^{mob} dynamics until the beginning of tissue death (Fig. 4e; Eqn 16). This resulted in a close relationship between the total N mass of the laminae and N_c^{mob} during the exponential phase of grain N accumulation (Fig. 4c). Once the area of photosynthetically active tissues started to decrease, r rose again because of the decreasing amount of tissues in which N_c^{mob} was distributed.

Light–N relationships

To examine the relationship between the PAR incident on one lamina and its N content, N mass was expressed per unit lamina area observed at anthesis (SLN). This prevents the use of time-courses of photosynthetically active area that are not accurately simulated. The simulated relationships between SLN and the PAR intercepted by the lamina after anthesis are in good agreement with the observations (Fig. 5). The model simulated the observed decrease in SLN gradient between lamina 1 and 4 throughout the reproductive stage in all treatments as well as the stability observed in the H15 treatment between the first two dates of measurement (Fig. 5c). This is a direct consequence of the good simulations of N mass dynamics in each lamina presented above.

The deviations between the measurements and simulations for the SLN–PAR relationships were also linked to those observed for lamina N mass dynamics, that is, the overestimations in H0 after 700°Cd (Fig. 5b) and for Apache between 300 and 500°Cd and the underestimations in H15 from 700°Cd (Fig. 5c) and in Apache from 800°Cd (Fig. 5d).

The observed N mass at maturity was higher in H15 than in H0 (Fig. 5b). This was also observed for the other treatments with high N fertilisation at anthesis (data not shown). However, as the model assumed that treatments with similar pre-anthesis N fertilisation had a similar amount of structural N, laminae N mass at maturity was slightly underestimated by the model in treatments with high N fertilisation at anthesis. The higher lamina N mass at maturity observed in the treatments with high N fertilisation at anthesis might result from either an incomplete remobilisation in the laminae or an actual higher structural N.

Discussion

In the present study, the turnover model proposed by Thornley (1998) for a single mature leaf was extended to simulate N distribution between individual laminae and grain N accumulation in a wheat culm after anthesis. A unique set of parameters, including four parameters for the turnover model of lamina photosynthetic N and two parameters for the model of grain N accumulation, were sufficient to simulate the N dynamics in individual laminae and the grain N accumulation observed for a contrasting range of experimental situations. Realistic relationships between N and light distribution in the canopy were simulated as an emerging property of simple local rules balancing photosynthetic N degradation and light-driven synthesis. The approach taken here provides an alternative to the optimisation (Hirose and Werger 1987) and coordination

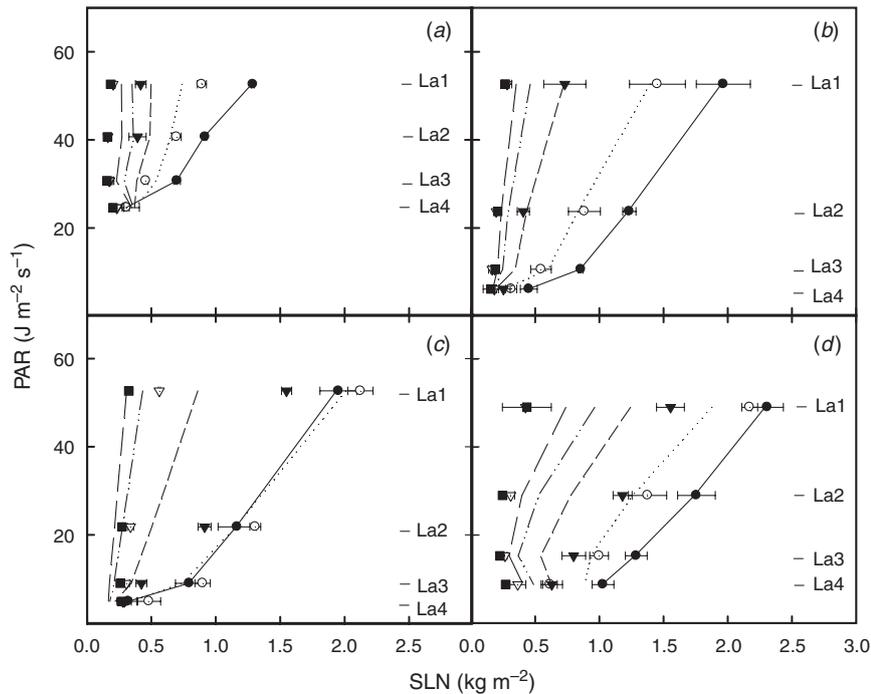


Fig. 5. Observed (symbols) and simulated (lines) photosynthetically active radiation incident on each lamina surface (PAR) v. specific leaf N (SLN) at various dates from anthesis to maturity. Results are shown for cultivar Thésée grown under treatments (a) L0, (b) H0 and (c) H15 (experiment 1) at 1, 290, 505, 712 and 900°Cd (from right to left), as well as for (d) cultivar Apache (experiment 2) at 1, 244, 498, 791 and 913°Cd (from right to left). La1, La2, La3, La4 show lamina ranks counted basipetally from the flag leaf. The observed data are the means \pm 1 s.d. of three independent replicates.

theories (Chen *et al.* 1993) and gives new insight into N dynamics within plants. The foremost advantage of the model described in the present study is the formalisation of underlying biological processes and the inclusion of storage organs, such as the stem and grains.

Model performance and the pertinence of modelling choices

The model showed a good capacity to simulate the impacts of both N fertilisation and vertical N gradient among laminae at anthesis on lamina N depletion. It accounted for the delay or slowing down of N depletion observed under conditions of root N uptake and translocation following N fertilisation at anthesis. This well-known effect is one factor involved in the stay-green character of some cultivars (Borrell and Hammer 2000; Triboi and Triboi-Blondel 2002). The model also accounted for the observation that the rate of lamina N depletion during grain filling is proportional to the N mass at anthesis. As mentioned in previous studies (Sadras *et al.* 1993 for sunflower; Shiratsuchi *et al.* 2006 for rice (*Oryza sativa* L.); Bertheloot *et al.* 2008 for wheat), the higher N depletion rate of the upper laminae compared with the laminae at the bottom of the canopy is responsible for the decrease in the vertical gradient in SLN between the top and the base of the canopy during the grain-filling period.

Thornley's (1998) photosynthetic N turnover model has been defined for a single C_3 leaf lamina. Extension to a whole culm was made possible by assuming that organs exchange N via a common

pool of mobile N, as suggested by Thornley (2004). This assumption is backed by the fact that a similar trend was observed in the kinetics of N in all laminae whatever their rank. Bertheloot *et al.* (2008) described these coordinated variations in detail and showed that they also apply to the leaf sheaths. The observed and simulated parallelism of N dynamics between laminae strongly backs the model implicit assumption that neither lamina age nor differential access to substrate N between laminae, but rather the local PAR environment is responsible for the observed lamina N mass behaviour and for the overall N gradient observed between the laminae.

The dynamics of the pool of mobile N play a major role in the model presented in the present study and are an indicator of the N status of the culm as previously suggested by Thornley (2004) and Kull and Kruijt (1999). The predicted dynamics of this pool of N have not been experimentally analysed. However, the plausibility of the simulated dynamics of this pool is backed by the coherence of its simulated behaviour in relation to root N uptake and translocation. Moreover, the kinetics of grain N accumulation, which closely depend on this pool, were well simulated. Simulated mobile N mass represented \sim 10% of the total N mass of the culm around anthesis and decreased to a negligible value just before the tissues become necrotic. In comparison, Hirel *et al.* (2005) determined that at the time of anthesis amino acids and ammonium (the major N products and substrates of turnover of the photosynthetic apparatus) represent \sim 6% of the total lamina N for maize (*Zea mays* L.). Such low values of

mobile N suggest that the dynamics of total N in the laminae mainly reflect the turnover of photosynthetic N.

The dynamics of grain N accumulation were well simulated over a wide range of situations by the simple hypothesis that N flux from the common pool of mobile N to the grains follows a potential function of thermal time, but occurs only when mobile N is available in the common pool. In addition, the model accounted for two observations reported by several authors (e.g. Barneix and Guitman 1993; Martre *et al.* 2003): (i) under most conditions, the increase in the mass of N in the grains is mostly sink limited during the first exponential phase of grain filling and is source limited during the following linear phase; and (ii) N availability in the source organs is the main determinant of final grain N mass. In the model described in the present study, the potential rate of grain N accumulation was independent of pre- and post-anthesis environmental conditions and plant N status. However, it is likely that for a wider range of situations the potential rate of grain N accumulation will also depend on the pre-flowering growth conditions.

Depletion of lamina N during the grain-filling period was accurately simulated by the model, whereas the progress of tissue necrosis was not satisfactorily solved. The low accuracy of the simulations in the decrease in leaf photosynthetically active area did not seem to impair the simulations of N dynamics, even if the calculation of the rate of synthesis of photosynthetic N was defined as a function of the amount of photosynthetic tissue. This might have occurred because the mass of mobile N had decreased sufficiently at the onset of tissue necrosis, so that the rate of synthesis of photosynthetic N was negligible anyway. However, because tissue necrosis might define the limit between the reversible and irreversible responses of the lamina to N shortage (Thomas *et al.* 2003), this issue deserves more attention. In particular, the empirical function used here to model the threshold of photosynthetic N below which tissues become necrotic needs to be refined. The existence of a minimum amount of N at which net assimilation equals zero, leading to the incapacity of the tissues to ensure their survival, is well established (Yin *et al.* 2000), but there is no definitive proof that this should necessarily lead to tissue necrosis. Moreover, this threshold varies with foliar rank and plant N status, and tissue necrosis occurs at various lamina N statuses (Hirel *et al.* 2005) in a way that is not yet well understood. In the experimental dataset used in the present study, the maximum SLN experienced by the lamina after anthesis best explained the minimum SLN at which tissues became necrotic, but further work is clearly needed. A specific study should be undertaken to determine the main factors controlling tissue death in relation to their N content, such as the SLN experienced by the lamina over its entire life (and not only after anthesis), or photosynthesis.

Aerts (1996) and Franklin and Agren (2002) pointed out the lack of knowledge on determining the amount of N remaining in necrotic tissues. In the present study, we assumed that treatments similar in their N fertilisation up to anthesis (which includes the entire period of leaf expansion) would produce plants with laminae characterised by the same amount of structural dry mass and N. We estimated structural dry mass and N separately for each pre-anthesis fertilisation treatment as the lowest values measured after culm death for that treatment, whatever the post-anthesis fertilisation. However, the

N remaining in the necrotic tissues did vary with post-anthesis fertilisation. It might be that either not all non-structural N was resorbed in the case of high post-anthesis fertilisation, or the amount of N involved in building up tissue structure changed after the end of organ growth. In the latter case, 'structural N' should be considered as a continuously varying variable in response to lamina N rather than being a constant over the grain-filling period.

Calculation of the model parameters

Estimation of the model parameters based on the observed data might raise issues (Makowski *et al.* 2006) related to the unicity of optimum and the identifiability of the parameters corresponding to the optimum. In the present study, we did not fully investigate these issues, so we cannot associate confidence intervals to the estimated model parameters. It could be, for example, that compensation between the effect of photosynthetic N degradation and synthesis parameters results in low accuracy in the values of the parameters determining these two processes. In the literature, the only parameter that has been documented is the relative rate of degradation of photosynthetic N (δ). The value estimated here, $8 \times 10^{-3} [\text{°Cd}]^{-1}$, is of the same order of magnitude, but higher, than that calculated by Irving and Robinson (2006) for the Rubisco degradation rate in rice leaves using ^{15}N labelling. They found rates of 0.025 and 0.035 day^{-1} , which represent 1×10^{-3} and $1.4 \times 10^{-3} [\text{°Cd}]^{-1}$, respectively, assuming a mean daily temperature of 25°C . The value of δ estimated in the present study is double the value we previously reported for the rate of net depletion (degradation and synthesis) of total N in wheat laminae during the grain-filling period in the absence of root N uptake and translocation ($4 \times 10^{-3} [\text{°Cd}]^{-1}$; Bertheloot *et al.* 2008). In contrast, Thornley (1998) and Kull and Kruijt (1999) used much higher values of 0.20 day^{-1} for a mature C_3 leaf and 0.17 day^{-1} for tree species, respectively. The assumption of first-order kinetics for the degradation of photosynthetic N has been verified in several studies, but the wide range of values reported suggests that there is high genotypic variability, a dependence on environmental variables, such as temperature, and/or methodological issues in the calculations.

Insights on wheat culm N functioning

According to our model, N is remobilised from laminae following first-order kinetics throughout the reproductive stage. However, predicted N dynamics in laminae do not always reflect this first-order kinetic because they result from a balance between synthesis and degradation processes. Simulations and measurements highlight two interesting aspects of this balance, when mobile N available as substrate (mainly amino acids and nitrates) is high and low, respectively. Just after anthesis, grain N demand is very low, leaving enough mobile N for the synthesis of photosynthetic N and lamina N decreases slowly or even increases in the case of significant post-anthesis root N uptake from the soil. In this latter case, the observed and simulated lamina N increased even in the older leaves where necrotic tissues have already appeared. During the linear phase of grain filling, in the period of absence of root N uptake and translocation, the model predicts a very low amount of substrate N, resulting in a negligible

rate of synthesis of photosynthetic N in each lamina. Consequently, during this second phase of grain filling, the first-order kinetics accurately reflected the dynamics of the mass of total N in the laminae. This result means that the degradation coefficient of photosynthetic N might simply be estimated from the time-course of lamina N mass (Bertheloot *et al.* 2008). This allows for an investigation into the genotypic variability of this coefficient and its possible dependence on environmental conditions by simple monitoring the total lamina N mass, without the requirement of isotopic marking. However, further simulations and sensitivity analyses are still required to fully demonstrate this possibility.

Nitrogen dynamics interact with C dynamics (Foyer *et al.* 2001). On the one hand, carbohydrates provided by photosynthesis are a source of energy for N uptake by the roots and for photosynthetic N synthesis and, conversely, photosynthesis strongly depends on tissue N concentration (Evans 1989). In the model, C economy was not modelled, but photosynthesis was implicitly taken into account because the calculation of the rate of synthesis of photosynthetic N depended on the amount of photosynthetically active tissues and on the local PAR environment. Moreover, root N uptake dependence on

photosynthesis was implicitly accounted for because of its fitting to experimental measurements. On the other hand, N and C dynamics are linked within the plant because the amino acids involved in N transport contain C and their transport in the phloem follows that of carbohydrates. Not accounting for this link in the model did not seem to impair the calculation of N dynamics between organs and, in particular, of grain N accumulation. However, under low C availability, for example in growth chamber or under shade conditions, C dynamics should probably be accounted for.

Possible developments

The model presented here was successful in interpreting the patterns of N dynamics in laminae and grains, but lacks predictive capacity because of the use of two driving variables defining the N dynamics of the whole culm and of the stem module.

In the literature (e.g. Martre *et al.* 2006), root N uptake during the grain-filling period has been modelled as a function of: (i) the N amount available in the soil, (ii) plant N status, and (iii) a potential uptake rate reflecting the decrease in the area of

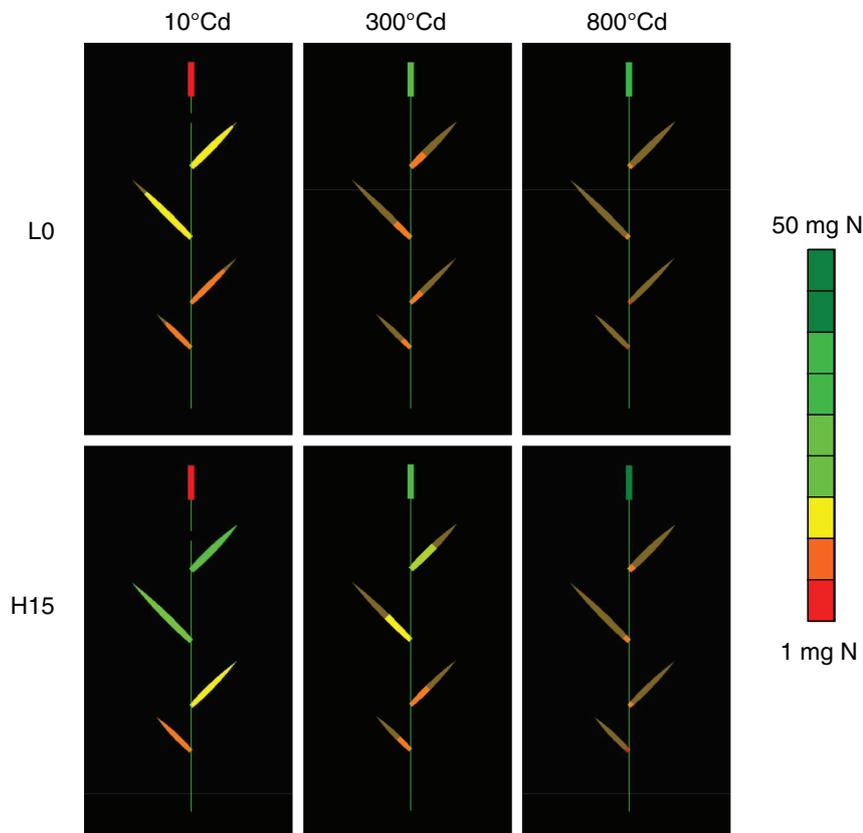


Fig. 6. Snapshots of the simulated N dynamics in individual laminae and in the grains in a wheat culm (*Triticum aestivum* L.) whose architecture is represented explicitly using the L+C programming language (Karwowski and Prusinkiewicz 2003) under L-studio (Prusinkiewicz *et al.* 2000). The N mass in the individual laminae and in the grains is represented by a colour scale and shown at 10, 300 and 800°Cd after anthesis for the cultivar Thésée grown under the L0 and H15 N treatments (experiment 1). The brown colour is used for necrotic tissues.

photosynthetically active tissues. The model proposed here accounts for the N status of the plant via the common pool of mobile N and for the dynamics of the lamina photosynthetically active area. Thus, it should be possible to implement the model described here into a more complete model simulating soil N dynamics and root N uptake.

To avoid considering stem N as a driving variable, we propose that its behaviour be treated similarly to that of the laminae. Indeed, wheat plants do not store N in their vegetative tissues in the form of storage proteins (MacKown *et al.* 1992) and, consequently, most non-structural N in leaf sheaths, internodes, chaffs belong to the photosynthetic apparatus. Thus, it is likely that the turnover approach could be used to model N dynamics in sheath, chaff and internode modules, in a similar way to the present study. However, new turnover parameter values might have to be estimated because, for example, photosynthetic functioning of chaffs differs from that of laminae (Tambussi *et al.* 2007).

The model of N dynamics described here has been integrated into the wheat 3D structural model Adel-Wheat (Fournier *et al.* 2003; Evers *et al.* 2005) (Fig. 6). This should allow for simulation of the light phylloclimate based on realistic 3D representations of the plant architecture using surfacic approaches to model radiative transfer (Chelle and Andrieu 1998; Chelle 2005) instead of the layer approach used in the present study. A surfacic approach can take into account any complex geometry and will facilitate the modelling of the N dynamics of sheaths, internodes and chaffs. Accurate light environment calculations will also be useful to analyse how the distribution of N is affected by architectural traits, such as lamina inclination, vertical patterns of leaf size or internode length. Together with the individual-based representation of the plants within a crop, accurate light environment calculations provide flexibility to model a wider range of conditions, including growth chamber experiments or plurispecific, plurigenotype plant populations.

Conclusion

In the present study, an alternative to the optimisation theory, based on the formalisation of the turnover of the photosynthetic apparatus, was demonstrated to be able to accurately model the dynamics of N distribution among laminae within wheat canopies as well as grain N accumulation. The model is far from complete, but it opens interesting prospects. In particular, a similar approach can probably be used to model N dynamics in leaf sheaths, internodes and chaffs. Moreover, the definition of a common pool of mobile N should facilitate the implementation of this model into a more complete model simulating soil N and root N uptake. Linking this plant N model with a process-based model of C assimilation and allocation should also be considered in the future. Finally, further developments should address simulation of N and C dynamics in the plant during the pre-anthesis period when plant structure changes rapidly. The model has been calibrated and evaluated for wheat, but it should be generic enough to address a wide range of species.

This preliminary work paves the way for integrating N economy into functional-structural and individual-based 3D

plant models. We believe that this will provide a better understanding of genotype \times environment interactions by allowing close links with concepts and knowledge in ecology and physiology. In the present study, an example of such novel possibility was given by the ability to model the relation between light and nitrogen gradients as an emerging property of local processes defined at the lamina scale.

Acknowledgements

This work was supported by the French Ministry of Research and Technology and by the doctoral school ABIES. We thank Dr Tino Dornbusch and Alexis Marceau for their useful comments on the manuscript as well as Suzette Tanis-Plant for her assistance with the editing. The constructive comments of three anonymous reviewers have helped to improve the manuscript.

References

- Aerts R (1996) Nutrient resorption from senescing leaves of perennials: are there general patterns? *Journal of Ecology* **84**, 597–608. doi: 10.2307/2261481
- Austin RB (1999) Yield of wheat in the United Kingdom: recent advances and prospects. *Crop Science* **39**, 1604–1610.
- Barneix AJ, Guitman MR (1993) Leaf regulation of the nitrogen concentration in the grain of wheat plants. *Journal of Experimental Botany* **44**, 1607–1612. doi: 10.1093/jxb/44.10.1607
- Bertheloot J, Martre P, Andrieu B (2008) Dynamics of light and nitrogen distribution during grain filling within wheat canopy. *Plant Physiology*, in press. doi: 10.1104/pp.108.124156
- Borrell A, Hammer G (2000) Nitrogen dynamics and the physiological basis of stay-green in sorghum. *Crop Science* **40**, 1295–1307.
- Chelle M (2005) Phylloclimate or the climate perceived by individual plant organs: What is it? How to model it? What for? *The New Phytologist* **166**, 781–790.
- Chelle M, Andrieu B (1998) The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling* **111**, 75–91. doi: 10.1016/S0304-3800(98)00100-8
- Chen JL, Reynolds JL, Harley PC, Tenhunen JD (1993) Coordination theory of leaf nitrogen distribution in a canopy. *Oecologia* **93**, 63–69.
- Connor DJ, Sadras VO, Hall AJ (1995) Canopy nitrogen distribution and the photosynthetic performance of sunflower crops during grain filling – a quantitative analysis. *Oecologia* **101**, 274–281. doi: 10.1007/BF00328812
- Cooper HD, Clarkson DT (1989) Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoot and roots in cereals – a possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *Journal of Experimental Botany* **40**, 753–762. doi: 10.1093/jxb/40.7.753
- Dreccer MF, Slafer GA, Rabbinge R (1998) Optimization of vertical distribution of canopy nitrogen: an alternative trait to increase yield potential in winter cereals. *Journal of Crop Production* **1**, 47–77. doi: 10.1300/J144v01n01_03
- Evans J (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* **78**, 9–19. doi: 10.1007/BF00377192
- Evers JB, Vos J, Fournier C, Andrieu B, Chelle M, Struijk PC (2005) Towards a generic architectural model of tillering in Gramineae, as exemplified by spring wheat (*Triticum aestivum*). *The New Phytologist* **166**, 801–812. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01337.x
- Evers T, Millar S (2002) Cereal grain structure and development: some implications for quality. *Journal of Cereal Science* **36**, 261–284. doi: 10.1006/jcrs.2002.0435
- Fournier C, Andrieu B, Ljutovac S, Saint-Jean S (2003) ADEL-wheat: a 3D architectural model of wheat development. In 'Plant Growth Modeling and Applications. Proceedings of the 2003 International Symposium' (Eds B-G Hu, M Jaeger) pp. 54–63. (CHN Tsinghua University Press–Springer Verlag: Beijing)

- Foyer C, Ferrario-Mery S, Noctor G (2001) Interactions between carbon and nitrogen metabolism. In 'Plant nitrogen'. (Eds PJ Lea, JF Morot-Gaudry) pp. 237–244. (Springer-Verlag, INRA editions: Berlin)
- Franklin O, Agren GI (2002) Leaf senescence and resorption as mechanisms of maximizing photosynthetic production during canopy development at N limitation. *Functional Ecology* **16**, 727–733. doi: 10.1046/j.1365-2435.2002.00674.x
- Girard M (1997) Modélisation de l'accumulation de biomasse et d'azote dans les grains de blé tendre d'hiver (*Triticum aestivum* L.); simulation de leur teneur en protéines à la récolte. PhD Thesis, INA P-G, Paris.
- Gleadow RM, Dalling MJ, Halloran GM (1982) Variation in endosperm characteristics and nitrogen content in six wheat lines. *Australian Journal of Plant Physiology* **9**, 539–551.
- Graybosch RA, Peterson CJ, Shelton DR, Baenziger PS (1996) Genotypic and environmental modification of wheat flour protein composition in relation to end-use quality. *Crop Science* **36**, 296–300.
- Hirel B, Andrieu B, Valadier MH, Renard S, Quillere I, Chelle M, Pommel B, Fournier C, Drouet JL (2005) Physiology of maize II: identification of physiological markers representative of the nitrogen status of maize (*Zea mays*) leaves during grain filling. *Physiologia Plantarum* **124**, 178–188. doi: 10.1111/j.1399-3054.2005.00511.x
- Hirose T (2005) Development of the Monsi-Saeki theory on canopy structure and function. *Annals of Botany* **95**, 483–494. doi: 10.1093/aob/mci047
- Hirose T, Werger MJA (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* **72**, 520–526. doi: 10.1007/BF00378977
- Irving LJ, Robinson D (2006) A dynamic model of Rubisco turnover in cereal leaves. *The New Phytologist* **169**, 493–504. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01584.x
- Jamieson P, Semenov M (2000) Modelling N uptake and redistribution in wheat. *Field Crops Research* **68**, 21–29. doi: 10.1016/S0378-4290(00)00103-9
- Karwowski R, Prusinkiewicz P (2003) Design and implementation of the L+C modeling language. *Electronic Notes in Theoretical Computer Science* **86**, 134–152. doi: 10.1016/S1571-0661(04)80680-7
- Kull O (2002) Acclimation of photosynthesis in canopies: models and limitations. *Oecologia* **133**, 267–279. doi: 10.1007/s00442-002-1042-1
- Kull O, Kruijt B (1999) Acclimation of photosynthesis to light: a mechanistic approach. *Functional Ecology* **13**, 24–36. doi: 10.1046/j.1365-2435.1999.00292.x
- Lawlor D (2002) Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany* **53**, 773–787. doi: 10.1093/jexbot/53.370.773
- Lötscher M, Stroh K, Schnyder H (2003) Vertical leaf nitrogen distribution in relation to nitrogen status in grassland plants. *Annals of Botany* **92**, 679–688. doi: 10.1093/aob/mcg188
- MacKown CT, Van Sanford DA, Zhang N (1992) Wheat vegetative nitrogen compositional changes in response to reduced reproductive sink strength. *Plant Physiology* **99**, 1469–1474.
- Makowski D, Hillier J, Wallach D, Andrieu B, Jeuffroy MH (2006) Parameter estimation for crop models. In 'Working with dynamic crop models. Evaluation, analysis, parameterisation and applications' (Eds D Wallach, D Makowski, J Jones) pp. 101–149. (Elsevier: Amsterdam)
- Martre P, Porter JR, Jamieson PD, Tribou E (2003) Modeling grain nitrogen accumulation and protein composition to understand the sink/source regulations of nitrogen remobilization for wheat. *Plant Physiology* **133**, 1959–1967. doi: 10.1104/pp.103.030585
- Martre P, Jamieson PD, Semenov MA, Zyskowski RF, Porter JR, Tribou E (2006) Modelling protein content and composition in relation to crop nitrogen dynamics for wheat. *European Journal of Agronomy* **25**, 138–154. doi: 10.1016/j.eja.2006.04.007
- Masclaux C, Quillere I, Gallais A, Hirel B (2001) The challenge of remobilisation in plant nitrogen economy. A survey of physiologic-agronomic and molecular approaches. *The Annals of Applied Biology* **138**, 69–81. doi: 10.1111/j.1744-7348.2001.tb00086.x
- Monsi M, Saeki T (2005) On the factor light in plant communities and its importance for matter production. *Annals of Botany* **95**, 549–567. doi: 10.1093/aob/mci052
- Curry A (2001) Nitrogen traffic during plant growth and development. In 'Plant nitrogen'. (Eds PJ Lea, JF Morot-Gaudry) pp. 255–274. (Springer-Verlag, INRA editions: Berlin)
- Prusinkiewicz P, Karwowski R, Mech R, Hanan J, Mech R (2000) L-studio/cpfg: a software system for modeling plants. *Lecture Notes in Computer Science* **1779**, 457–464. doi: 10.1007/3-540-45104-8_38
- R Development Core Team (2006) R: a language and environment for statistical computing. Available at <http://www.R-project.org> [Verified 14 October 2008]
- Reynolds JF, Chen JL (1996) Modelling whole-plant allocation in relation to carbon and nitrogen supply: coordination versus optimization: opinion. *Plant and Soil* **185**, 65–74. doi: 10.1007/BF02257565
- Sadras VO, Hall AJ, Connor DJ (1993) Light-associated nitrogen distribution profile in flowering canopies of sunflower (*Helianthus annuus* L.) altered during grain growth. *Oecologia* **95**, 488–494.
- Schieving F, Werger MJA, Hirose T (1992) Canopy structure, nitrogen distribution and whole canopy photosynthetic carbon gain in growing and flowering stands of tall herbs. *Vegetatio* **102**, 173–181. doi: 10.1007/BF00044732
- Shearman VJ, Sylvester-Bradley R, Scott RK, Foulkes MJ (2005) Physiological processes associated with wheat yield progress in the UK. *Crop Science* **45**, 175–185.
- Shewry PR (2007) Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of Cereal Science* **46**, 239–250. doi: 10.1016/j.jcs.2007.06.006
- Shiratsuchi H, Yamagishi T, Ishii R (2006) Leaf nitrogen distribution to maximise the canopy photosynthesis in rice. *Field Crops Research* **95**, 291–304. doi: 10.1016/j.fcr.2005.04.005
- Simpson RJ, Lambers H, Dalling MJ (1983) Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* **71**, 7–14.
- Sinclair TR, De Wit CT (1975) Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science* **189**, 565–567. doi: 10.1126/science.189.4202.565
- Singh BK, Jenner CF (1982) A modified method for the determination of cell number in wheat endosperm. *Plant Science Letters* **26**, 273–278. doi: 10.1016/0304-4211(82)90101-8
- Soussana JF, Teyssonneyre F, Thierry JM (2000) Un modèle dynamique d'allocation basé sur l'hypothèse d'une colimitation de la croissance végétale par les absorptions de lumière et d'azote. In 'Fonctionnement des peuplements végétaux sous contraintes environnementales' (ed. INRA) pp. 87–116. (INRA Editions: Paris)
- Tabourel-Tayot F, Gastal F (1998a) MecaNiCAL, a supply–demand model of carbon and nitrogen partitioning applied to defoliated grass. 1. Model description and analysis. *European Journal of Agronomy* **9**, 223–241. doi: 10.1016/S1161-0301(98)00039-2
- Tabourel-Tayot F, Gastal F (1998b) MecaNiCAL, a supply–demand model of carbon and nitrogen partitioning applied to defoliated grass. 2. Parameter estimation and model evaluation. *European Journal of Agronomy* **9**, 243–258. doi: 10.1016/S1161-0301(98)00040-9
- Tambussi EA, Bort J, Guiamet JJ, Nogués S, Araus JL (2007) The photosynthetic role of ears in C₃ cereals: metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield. *Critical Reviews in Plant Sciences* **26**, 1–16. doi: 10.1080/07352680601147901
- Thomas H, Ougham HJ, Wagstaff C, Stead AD (2003) Defining senescence and death. *Journal of Experimental Botany* **54**, 1127–1132. doi: 10.1093/jxb/erg133

- Thornley JHM (1998) Dynamic model of leaf photosynthesis with acclimation to light and nitrogen. *Annals of Botany* **81**, 421–430. doi: 10.1006/anbo.1997.0575
- Thornley JHM (2004) Acclimation of photosynthesis to light and canopy nitrogen distribution: an interpretation. *Annals of Botany* **93**, 473–475. doi: 10.1093/aob/mch051
- Triboï E, Triboï-Blondel AM (2002) Production and grain or seed composition: a new approach to an old problem—invited paper. *European Journal of Agronomy* **16**, 163–186. doi: 10.1016/S1161-0301(01)00146-0
- Triboï E, Martre P, Triboï-Blondel AM (2003) Environmentally induced changes of protein composition for developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany* **54**, 1731–1742. doi: 10.1093/jxb/erg183
- Yin X, Schapendonk HCM, KropffMJ, Van Oijen M, Bindraban PS (2000) A generic equation for nitrogen-limited leaf area index and its application in crop growth models for predicting leaf senescence. *Annals of Botany* **85**, 579–585. doi: 10.1006/anbo.1999.1104

Manuscript received 8 March 2008, accepted 30 September 2008

Appendix 1: Symbols, definitions and units of the variables

Symbol	Definition	Unit
State variables		
A_i	Total surface area of lamina i	m^{-2}
A_i^{green}	Photosynthetically active area of lamina i	m^{-2}
M_i	Structural dry mass in lamina i	kg
M_i^{green}	Structural dry mass in photosynthetically active parts of lamina i	kg
M_s	Structural dry mass in stem	kg
N_c^{mob}	Mass of mobile N in the common pool	kg
N_i^{ph}	Mass of photosynthetic N in lamina i	kg
N_s^{ph}	Mass of photosynthetic N in stem	kg
N_i^{struct}	Mass of structural N in lamina i	kg
N_s^{struct}	Mass of structural N in stem	kg
N_g^{tot}	Mass of total N in grain	kg
Forced variables		
N_c^{tot}	Mass of total N in entire culm	kg
N_s^{tot}	Mass of total N in stem	kg
Other variables		
D_i^{ph}	Rate of photosynthetic N degradation for lamina i	$\text{kg } [^{\circ}\text{Cd}]^{-1}$
F_i	Cumulative total leaf area index above lamina i	$\text{m}^{-2} \text{m}^{-2}$
$\max N_i^{\text{ph,a}}$	Maximum $N_i^{\text{ph,a}}$ experienced by lamina i after anthesis	kg m^{-2}
$\max N_i^{\text{tot,a}}$	Maximum $N_i^{\text{tot,a}}$ experienced by lamina i after anthesis	kg m^{-2}
$\min N_i^{\text{ph,a}}$	Minimum $N_i^{\text{ph,a}}$ below which tissues become necrotic	kg m^{-2}
$\min N_i^{\text{tot,a}}$	Minimum $N_i^{\text{tot,a}}$ below which tissues become necrotic	kg m^{-2}
$[N]_c^{\text{mob}}$	N concentration in the common pool of mobile N	kg kg^{-1}
$N_i^{\text{ph,a}}$	Photosynthetic N mass per unit photosynthetically active area of lamina i	kg m^{-2}
N_i^{tot}	Mass of total N in lamina i	kg
$N_i^{\text{tot,a}}$	Total N mass per unit photosynthetically active area of lamina i	kg m^{-2}
$\text{pot } N_g^{\text{tot}}$	N mass in the grains calculated from the potential rate of grain N accumulation	
r	Ratio of mobile-to-photosynthetic N in laminae and stem	Dimensionless
$\text{pot } S_g^{\text{tot}}$	Potential rate of grain N accumulation	$\text{kg } [^{\circ}\text{Cd}]^{-1}$
S_i^{ph}	Rate of photosynthetic N synthesis for lamina i	$\text{kg } [^{\circ}\text{Cd}]^{-1}$

CHAPITRE V

Discussion et Conclusion

Discussion

Rappel du contexte, de l'objectif ainsi que de l'approche et de la démarche utilisées

La mise au point d'une agriculture durable nécessite d'imaginer des solutions pour augmenter les rendements - par la sélection variétale ou par la conception de nouveaux itinéraires techniques - tout en diminuant les intrants, comme les fertilisants azotés ou les pesticides. Pour trouver ces solutions, les modèles prennent une importance croissante, comme nous l'avons exposé dans l'introduction. L'azote est à la fois une source de pollution, une ressource pour le développement des pathogènes des cultures et une ressource pour la culture elle-même. L'azote intervient dans de multiples aspects de la croissance des cultures: acquisition de la surface foliaire, activité photosynthétique, qualité des grains. En particulier, la distribution d'azote entre les différentes entités de la plante détermine l'assimilation de carbone par la plante: par exemple, un gradient vertical de N entre les feuilles, suivant le gradient de lumière existant dans les cultures, permet d'avoir une plus forte assimilation de carbone qu'en cas de distribution homogène entre feuilles (Field, 1983; Hirose and Werger, 1987). Actuellement, les modèles agronomiques ne permettent pas de prédire le fonctionnement du végétal dans une large gamme de conditions de culture. Cela résulte d'une intégration des processus à une échelle trop grande: l'ensemble des feuilles englobé dans un seul compartiment par exemple.

L'équipe dans laquelle je travaille cherche à comprendre les interactions plante – pathogènes dans le but de proposer des solutions durables d'échappement ou de tolérance du blé vis-à-vis de la maladie. Elle fait l'hypothèse que la compréhension de ces interactions doit passer, entre autres, par une compréhension de la régulation des dynamiques d'azote dans une plante saine, comme détaillé à la fin de la discussion. Dans ce cadre, l'objectif de mon travail était de proposer, pour la partie aérienne d'une plante de blé, une modélisation dite « mécaniste » des dynamiques d'azote, capable de décrire le fonctionnement de la plante pour une large gamme de conditions climatiques et de cultures avec un jeu unique de paramètres. Cette modélisation était orientée de façon à permettre un couplage ultérieur avec un modèle de maladies, mais elle entre également dans un cadre plus général de compréhension des mécanismes régissant la production et sa qualité. Cette thèse s'est d'ailleurs faite en collaboration avec une équipe travaillant sur la qualité des grains: l'UMR Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales (Clermont-Ferrand).

Le modèle devait prendre en compte les processus clés à l'échelle des entités botaniques de la plante afin de prédire les dynamiques d'azote en réponse à des variables externes, principalement le microclimat et la nutrition azotée mais en absence de stress (stress hydrique, maladies). L'hypothèse de travail était que l'utilisation d'une approche structure-fonction, qui prend en compte explicitement la structure botanique de la plante dans laquelle ont lieu les processus, était adaptée à la construction d'un modèle mécaniste. En effet, cette approche vise à prédire le comportement global d'une plante à partir de lois locales définies pour chaque entité de la plante, qui dépendent de l'environnement externe de l'entité (*e.g.*, la lumière) et interne de la plante (*e.g.*, disponibilité en azote; Andrieu et al., 2006). Jusqu'à présent, cette approche a été peu utilisée pour comprendre les régulations et les transferts internes à la plante. Ainsi, mon travail de thèse avait également comme but de tester la pertinence de l'approche structure-fonction pour sa capacité à simuler les transferts d'azote dans la plante de manière mécaniste et simple.

Mon projet s'est centré sur les dynamiques d'azote dans un brin pendant la phase post-floraison. Le choix de cette phase a permis de simplifier la modélisation ; en effet (i) les structures végétatives de la plante ont terminé leur croissance si bien que seule l'allocation de l'azote aux grains devait être prise en compte ; et (ii) les brins peuvent être considérés comme indépendants les uns des autres sur le plan trophique. Cette période est aussi importante du point de vue agronomique puisque c'est durant cette phase qu'ont lieu les transferts de carbone et d'azote vers les grains et que les conditions environnementales affectent de manière irréversible le rendement final en grains ainsi que leur teneur en protéines.

Le modèle a été développé à partir d'informations de la littérature et de résultats d'expérimentations. La littérature m'a permis de préciser les principaux processus de l'économie de l'azote dans la plante ainsi que sa régulation par des facteurs endogènes et exogènes. Les expérimentations m'ont permis de compléter la littérature et également de valider le modèle. Elles ont consisté à caractériser finement, dans le temps et dans l'espace, les distributions d'azote total dans tous les tissus de la plante. Ce type d'expérimentations étant très coûteux en temps, j'ai réalisé une année d'expérimentation à Grignon et j'ai également fait appel à des jeux de données complémentaires issus d'expérimentations antérieures réalisées à Clermont-Ferrand (Martre et al., 2003; Triboi et al., 2003; Bertheloot et al., 2008) sur deux années. Cet ensemble de jeux de données m'a permis de disposer d'une large gamme de conditions expérimentales nécessaire à la validité des résultats.

Analyse bibliographique et expérimentations : résultats et discussion

L'analyse bibliographique: construction du schéma général de modélisation

L'analyse bibliographique a conduit à fonder notre modèle sur le modèle de turnover de Thornley (1998; 2004) dans lequel la quantité d'azote d'une feuille mature, avant l'apparition de tissus nécrotiques, résulte d'une différence entre synthèse et dégradation des protéines de l'appareil photosynthétique. La dégradation de l'azote photosynthétique suit une cinétique d'ordre un et sa synthèse dépend de la quantité d'azote « mobile » disponible (notamment nitrates et acides aminés) ainsi que de la quantité de lumière interceptée. Ce modèle est en accord avec les études physiologiques qui montrent que l'azote dans la plante est majoritairement associé aux protéines de l'appareil photosynthétique, en particulier la Rubisco (Evans, 1989; Evans and Seemann, 1989), et que les protéines sont soumises à un turnover permanent (Irving and Robinson, 2006). Avant mon travail, ce modèle de turnover n'avait pas été validé pour les distributions verticales d'azote entre limbes foliaires, qui ont été mises en évidence par de nombreux travaux pour des couverts denses. Néanmoins, j'ai supposé que la dépendance du taux de synthèse de l'azote photosynthétique à la lumière le rendait capable de rendre compte de la relation entre les gradients verticaux d'azote entre limbes et les gradients verticaux de lumière. Enfin, ce modèle avait l'avantage de bien prendre en compte la structure modulaire d'un brin de blé, qui est constitué d'un assemblage de phytomères.

La littérature a également permis de proposer les éléments suivants pour une modélisation des dynamiques d'azote au sein d'un brin de blé: (i) les différentes entités d'un brin de blé peuvent être considérées comme partageant un pool commun d'azote mobile (Cooper et al., 1986; Cooper and Clarkson, 1989), dont la quantité affecte de la même manière le taux de synthèse de l'azote photosynthétique pour les différentes entités et dépend du remplissage en azote des grains, du prélèvement racinaire et de la dégradation des protéines ; (ii) au niveau de

chaque limbe, l'apparition de tissus nécrotiques est liée à un seuil minimum de quantité d'azote surfacique des parties vertes, dont la valeur dépend de la nutrition azotée du limbe (Ackerly and Bazzaz, 1995; Ackerly, 1999; Hirel et al., 2005); (iii) le prélèvement d'azote par les racines et le PPFD intercepté par chaque entité sont les principales variables de l'environnement qui affectent les dynamiques d'azote en absence de stress (Hikosaka et al., 1994; Triboï and Triboï-Blondel, 2002; Pons and de Jong-Van Berkel, 2004).

Cependant, peu d'études avaient caractérisées les distributions et les dynamiques d'azote dans les limbes après la floraison et les autres entités (gainés, entre-noeuds). Des expérimentations complémentaires ont donc été menées. Elles ont fourni des données pour la validation du modèle et permis de répondre aux deux questions suivantes:

- (i) Au sein de couverts denses, la distribution de l'azote foliaire suit le gradient vertical de lumière. Est-ce que la distribution de l'azote est continue au sein d'un brin en réponse au gradient continu de lumière ou, au contraire, est-ce que la distribution d'azote est intégrée au niveau des entités botaniques de la plante? La réponse à cette question a permis de définir l'échelle à laquelle formaliser les processus dans un modèle, c'est-à-dire le grain du modèle.
- (ii) Est-ce que les autres entités que les limbes répondent à la lumière qu'ils interceptent et à l'état azoté du brin de la même manière que les limbes? La réponse à cette deuxième question a permis de donner des pistes pour l'extension du modèle de dynamiques d'azote proposé pour les limbes aux autres entités de la plante.

Dans l'objectif de construire un modèle complet, deux questions n'ont cependant pas été complètement abordées: comment modéliser le déclenchement de la mort des tissus au niveau des limbes? comment varie la quantité de N résiduelle dans les tissus morts?

Expérimentation de Grignon: définition du « grain » du modèle

La littérature ne permettait pas de fournir un schéma complet des distributions d'azote au sein d'un brin en blé après la floraison. Une expérimentation menée à Grignon en 2005-2006 a consisté à caractériser finement, après la floraison, les distributions d'azote entre les limbes, gainés et entre-noeuds et au sein de ces entités pour deux cultivars de blé, différents par leur port foliaire, sous deux niveaux de nutrition azotée. Les résultats montrent que le gradient vertical négatif de masse d'azote surfacique entre le sommet et la base d'un couvert de blé après la floraison n'est pas continu. En effet, il n'existe pas de gradients au sein des limbes et gainés, qui sont pourtant soumis à un important gradient de lumière, alors qu'il existe un gradient entre les entités selon leur position dans le couvert. Cela démontre l'importance de prendre en compte la structure botanique de la plante dans un modèle de dynamique d'azote. Ainsi, l'approche par couche horizontale de couvert qui est souvent utilisée pour étudier les relations entre la masse d'azote surfacique et la lumière n'est pas adaptée à la phase post-floraison. Les résultats nous ont conduit à définir l'entité botanique comme le grain du modèle développé dans la thèse. En revanche, avant la floraison, le grain d'un modèle de dynamiques d'azote ne pourrait vraisemblablement pas être celui de l'entité entière. En effet, la littérature suggère qu'en préfloraison, il existe des gradients verticaux d'azote au sein des limbes individuels. Les résultats montrent également que les gainés, comme les limbes, ont une teneur en azote déterminée par leur environnement lumineux local et que la teneur en azote des gainés répond à la lumière interceptée de la même manière que les limbes. L'expérimentation de Clermont-Ferrand, a permis d'approfondir cet aspect.

Expérimentation de Clermont-ferrand : caractérisation des dynamiques d'azote entre différentes entités pendant la phase post-floraison

Il existe peu d'études concernant la dynamique de N dans les gaines et les entre-noeuds et même pour les limbes en ce qui concerne la phase post-floraison. Une expérimentation menée à Clermont-Ferrand en 2005 a permis de combler en partie ces lacunes en caractérisant finement dans le temps les dynamiques d'azote dans les entités individuelles de la plante (limbes, gaines, entre-noeuds, pédoncule et balles) pour deux cultivars en conditions de forte nutrition azotée. Les résultats suggèrent que, tout comme les limbes, les autres entités répondent à leur environnement lumineux local. Ils ont montré que la masse d'azote surfacique d'un limbe, d'une gaine ou d'un entre-noeud était liée à leur position verticale dans le couvert. Les résultats suggèrent également que les dynamiques de concentration en azote dans les limbes et les gaines, d'une part, et les entre-noeuds ayant une partie exposée à la lumière, le pédoncule et les barbes, d'autre part, répondent de manière similaire au PPFD qu'ils interceptent et à l'état azoté du brin. En effet, des patterns similaires de dynamique de pourcentage d'azote ont été observés entre les entités appartenant au même groupe. Ainsi, le modèle de dynamiques d'azote dans les gaines pourrait a priori être identique à celui des limbes.

Pendant la phase linéaire de remplissage en azote des grains et en période d'absence d'absorption racinaire, la diminution de la concentration d'azote au niveau de chaque entité a pu être modélisée par une cinétique d'ordre 1. Cette modélisation est en accord avec ce qui est connu de la cinétique de dégradation de la Rubisco. Cette modélisation est possible vraisemblablement parce que le taux de synthèse est négligeable. Le modèle de Thornley (1998, 2004) permet de proposer une interprétation: l'absence d'absorption racinaire et le fort prélèvement de N par les grains conduisent à ce que la quantité d'azote dans le pool commun soit très faible. Cette cinétique d'ordre 1 a permis de rendre compte également des dynamiques d'azote pour une expérimentation complémentaire réalisée en 1994 où un géotype a été cultivé sous neuf niveaux de fertilisations azotées.

La raison des différences apparentes de comportement entre les limbes et les gaines, d'une part, et les entre-noeuds ayant une partie exposée à la lumière, le pédoncule et les barbes, d'autre part, n'est pas claire. D'ailleurs, les résultats ne signifient pas forcément que les deux groupes d'entités répondent différemment au PPFD qu'ils interceptent et à l'état azoté du brin. Un biais peut en effet avoir été établi en lien avec la méthode de mesures qui ne fait pas forcément bien la part entre l'azote impliqué dans les structures et celui associé aux protéines de l'appareil photosynthétique (ex : pas de séparation entre les parties exposées ou non des entre-noeuds).

Le modèle: bilan critique

Le modèle simule les dynamiques d'azote entre limbes foliaires en se fondant sur l'existence d'un turnover des protéines de l'appareil photosynthétique et d'un pool commun partagé par toutes les entités de la plante. En plus, il simule le remplissage en azote des grains en fonction d'un potentiel et de la quantité d'azote disponible dans le pool commun, ainsi que la surface et la masse d'azote surfacique des tissus verts. Les variables d'entrée sont: les quantités d'azote dans les tissus à floraison, la quantité de lumière absorbée par chacun des limbes, la dynamique d'absorption racinaire et les dynamiques d'azote dans les autres entités que les limbes. Les paramètres décrivent la dégradation et la synthèse de l'azote associé aux protéines de l'appareil photosynthétique ainsi que la fonction potentielle de remplissage en azote des grains.

Réponse à l'objectif initial, prédictibilité du modèle et extrapolation à d'autres espèces

Le modèle développé est simple: en effet, un jeu unique de six paramètres permet de simuler correctement les dynamiques d'azote entre limbes foliaires et le remplissage en azote des grains pour trois géotypes sous neuf niveaux de nutrition azotée. De plus, le modèle est mécaniste : (i) il est basé sur un processus clé se produisant à l'échelle des tissus, le turnover des protéines foliaires; (ii) une même valeur des paramètres a permis de rendre compte d'une large gamme de conditions de nutrition azotée. Le modèle se démarque des modèles précédents par sa description réaliste des processus. Dans les modèles basés sur la théorie d'optimisation, les distributions verticales d'azote sont déterminées par une loi à l'échelle de la plante entière, alors que dans mon modèle les processus sont explicités localement pour chaque limbe. Les modèles compartimentaux supposent l'existence d'une teneur en azote cible à atteindre par la culture et définie empiriquement, alors que pour ma part je considère que les dynamiques d'azote résultent de la différence entre le taux de synthèse et le taux de dégradation des protéines de l'appareil photosynthétique. Ce travail de thèse a également contribué à démontrer la pertinence de l'approche structure-fonction pour une modélisation mécaniste et simple des dynamiques d'azote dans la plante.

Le pool d'azote mobile commun à toutes les entités du brin joue un rôle essentiel dans le caractère mécaniste du modèle. Il s'agit d'un témoin de l'état azoté du brin par lequel sont régulés le taux de synthèse de l'azote photosynthétique et donc la remobilisation d'azote depuis les feuilles ainsi que le remplissage en azote des grains. On verra également par la suite qu'il permet de proposer une façon simple de prendre en compte le feedback négatif de la quantité d'acides aminés circulant sur le prélèvement racinaire (Triboï and Triboï-Blondel, 2002). Au contraire, la majorité des modèles compartimentaux doivent utiliser des facteurs de stress définis empiriquement pour rendre compte de l'effet d'une modification du statut azoté sur la quantité d'azote finale dans les grains ou sur la sénescence des feuilles (Jeuffroy et al., 2002).

Le modèle a montré sa capacité à bien simuler les dynamiques d'azote pour des brins ayant différentes surfaces foliaires et teneurs en azote à floraison ainsi que des dynamiques d'absorption racinaire contrastées, résultant de différentes conditions de nutrition azotée avant floraison et à floraison. Dans le modèle, les dynamiques d'azote dépendent également des quantités de lumière absorbées par chaque limbe foliaire. Le modèle n'a pas été validé pour des conditions de lumière contrastées. Cependant, d'après les processus pris en compte, il devrait pouvoir simuler qualitativement la réponse à des conditions de lumière contrastées. Par exemple, il doit pouvoir reproduire les résultats expérimentaux montrant un gradient vertical de SLN inverse à celui traditionnellement observé en cas d'application d'un gradient inverse de lumière, ou une absence de gradient en cas d'éclairage homogène (Hikosaka et al., 1994).

Néanmoins, son pouvoir prédictif est actuellement limité par le forçage, aux données expérimentales, de l'absorption racinaire et des dynamiques d'azote dans les autres entités que les limbes. L'absorption racinaire dépend de nombreux facteurs: l'architecture des racines et la nutrition azotée, mais aussi l'activité transpiratoire (liée à l'activité photosynthétique) et le statut azoté de la plante. Ces deux dernières variables dépendent des dynamiques d'azote dans la plante. Ainsi, l'absorption racinaire a à la fois une incidence sur les dynamiques d'azote et inversement. En conséquence, en cas de modification de l'environnement lumineux pour étudier le comportement du modèle par exemple, des déviations par rapport à la réalité

peuvent être engendrées si, dans la réalité, la modification de l'environnement lumineux est suffisante pour perturber l'absorption racinaire.

D'autre part, l'utilisation de la loi de Beer pour quantifier les quantités de lumière interceptées par les limbes entiers conduit à des approximations: elle est adaptée pour simuler la lumière à différentes hauteurs dans le couvert mais conduit à des approximations quand il s'agit de structures non horizontales ayant des formes complexes (liées par exemple à la courbure des limbes). Au contraire, les modèles de transferts radiatifs qui utilisent une approche surfacique, comme le modèle développé par Chelle et Andrieu (1998), permettent de simuler précisément la lumière interceptée par tout type de structure. Ces modèles nécessitent de reconstruire précisément en 3D la structure sur laquelle la distribution de la lumière doit être modélisée. L'intégration de notre modèle de dynamique d'azote dans le modèle de structure 3D ADEL-Blé (Fournier and Andrieu, 1998; Evers et al., 2005) devrait facilement permettre de le coupler avec le modèle de Chelle et Andrieu (1998).

Il existe des interactions entre les dynamiques d'azote et de carbone dans la plante. En effet, les transferts d'acides aminés dans le phloème sont déterminés par les gradients de carbone (saccharose). Ces interactions ne sont pas prises en compte dans le modèle ce qui peut affecter son pouvoir prédictif. Par exemple, en cas de trop faible disponibilité en lumière, l'assimilation du carbone est diminuée pouvant ainsi limiter les transferts de carbone et donc d'azote dans la plante. Les effets de la température sont implicitement pris en compte dans le modèle puisque le pas de temps est celui du degré jour, mais aucune fonction n'établit son effet sur les processus. Ainsi la validité du modèle est vraisemblablement limitée à des conditions standard de températures. D'autre part, la sénescence d'une feuille (*i.e.*, remobilisation d'azote) est modélisée en fonction de la lumière absorbée et du statut azoté de la plante (représenté par le pool commun), mais le rôle de l'âge de la feuille n'est pas pris en compte. L'âge de la feuille a un rôle pour certaines espèces : Mooney et al. (1981), pour une large gamme d'annuelles de l'Illinois, ont mis en évidence le rôle de l'âge de la feuille sur la sénescence en observant une sénescence plus précoce des feuilles les plus basses, alors qu'elles n'étaient pas ombrées. Chez le blé, le rôle de l'âge des feuilles dans le déclenchement de la sénescence n'a jamais été mis en évidence. Au cas où il interviendrait, il faudrait modifier le modèle de telle sorte que, par exemple, le taux de synthèse de l'azote photosynthétique d'une feuille dépende de son âge.

L'utilisation du modèle pour simuler les dynamiques d'azote chez d'autres espèces que le blé nécessite que les hypothèses du modèle soient vérifiées pour ces espèces. Les hypothèses suivantes peuvent ne pas être vérifiées pour toutes les espèces : (i) le rôle de l'âge dans la sénescence est négligeable par rapport aux rôles de la lumière et de la nutrition azotée ; (ii) le transport est suffisamment rapide pour que tous les organes de la plante puissent être considérés comme partageant un pool commun d'azote mobile. Le modèle est donc vraisemblablement utilisable pour les espèces petites et à croissance rapide, pour lesquelles les temps de transport et le rôle de l'âge dans la sénescence des feuilles sont négligeables. C'est le cas pour la majorité des grandes cultures, comme le maïs, le riz, l'orge, le sorgho ... Pour ces espèces, c'est le puits d'azote représenté par les organes reproducteurs qui détermine la sénescence des feuilles et non l'âge des feuilles.

Interprétation biologique et application

Le modèle permet d'interpréter certaines observations de la littérature. Par exemple, le maintien d'une quantité d'azote dans les feuilles (retard de la sénescence) observé à l'issue d'un apport d'azote à l'anthèse (Guitman et al., 1991; Ta and Weiland, 1992) peut s'interpréter simplement de la manière suivante. Il est le résultat d'une augmentation de l'absorption racinaire qui augmenterait la disponibilité en azote mobile dans la plante, ce qui permettrait de favoriser la synthèse de protéines de l'appareil photosynthétique et de contrebalancer leur dégradation. La même interprétation peut être donnée pour les cultivars présentant un caractère stay-green et pour lesquels on observe un plus fort prélèvement d'azote racinaire par rapport aux cultivars normaux (Borrell and Hammer, 2000). Néanmoins, il est difficile de savoir pourquoi les stay-greens ont un plus fort prélèvement racinaire. Il peut s'agir d'une plus forte capacité intrinsèque des racines à prélever l'azote du sol. On sait d'autre part que des cultivars stay-green ont des masses d'azote surfacique dans les limbes plus élevées que des cultivars normaux. Ainsi, le plus fort prélèvement racinaire chez les stay-green pourrait également être indirectement lié à leur plus forte capacité de stockage d'azote dans les feuilles ce qui leur permettrait de diminuer la quantité d'azote circulant (qui est connu pour exercer un feedback négatif sur le prélèvement racinaire). Au travers de notre modèle, on peut supposer que cette plus forte capacité de stockage provienne soit d'un plus faible taux de dégradation des protéines foliaires ou d'une plus forte capacité de synthèse de ces protéines.

Sadras et al. (1993) proposent deux interprétations pour l'observation de la diminution des gradients de pourcentage d'azote foliaire entre le haut et la bas d'un couvert de tournesol pendant la phase reproductrice. Il s'agirait soit (i) d'un mécanisme dépendant du pourcentage d'azote qui entraînerait une remobilisation d'azote plus rapide pour les organes les plus riches en azote, situés en haut du couvert, que pour les organes les plus pauvres en N, situés en bas du couvert ; soit (ii) d'un mécanisme dépendant de la position de la feuille par rapport à l'épi qui entraînerait une remobilisation plus rapide des feuilles les plus proches de l'épi. Notre modèle va dans le sens de la première interprétation: en effet, la cinétique d'ordre 1 suivie par la dégradation des protéines de l'appareil photosynthétique engendre une relation positive entre concentration en azote dans la feuille et vitesse de dégradation de cet azote (à masse sèche constante de la feuille).

Ce travail a mis en évidence les rôles de la dégradation et de la synthèse de l'azote associé aux protéines de l'appareil photosynthétique dans la régulation des dynamiques d'azote: elles déterminent la vitesse à laquelle l'azote des feuilles est remobilisé et ainsi la durée de vie des feuilles. Diminuer le coefficient de dégradation ou augmenter le coefficient de synthèse, par sélection par exemple, pourrait ainsi augmenter la production d'assimilats carbonés et, potentiellement, la masse sèche des grains. Néanmoins, avant toute spéculation sur les possibilités offertes en terme de sélection, il est nécessaire de vérifier si ces coefficients présentent une variabilité génotypique. Pour estimer la valeur du coefficient de dégradation, un moyen simple a été mis en évidence par les résultats expérimentaux de Clermont-Ferrand ainsi que par le modèle. Elle peut être directement estimée à partir de mesures sur les dynamiques d'azote total dans les tissus en période d'absence d'absorption racinaire pendant laquelle le flux de synthèse est négligeable.

Pour aller plus loin dans la proposition de pistes pour la sélection variétale et d'idéotypes en vue d'une augmentation du rendement et de la qualité des grains à moindre coût en intrants, le modèle doit être rendu plus prédictif. L'utilisation de variables forcées aux

données expérimentales ne le rend pas assez prédictif pour prévoir l'effet de telle ou telle modification sur les variables d'intérêts.

Les nouvelles questions émergeant de ce travail

Ce travail propose une approche novatrice de modélisation des dynamiques d'azote chez une plante de blé après la floraison. Il ne permet pas de comprendre entièrement la régulation des dynamiques d'azote, mais pose les bases nécessaires à cette compréhension. En particulier, il permet de définir de nouvelles questions dont les réponses sont nécessaires pour développer un modèle prédictif.

La dépendance des paramètres au génotype

A partir d'un jeu unique de paramètres, le modèle est capable de bien reproduire les dynamiques d'azote dans les limbes et le remplissage en azote des grains de trois cultivars: Apache, Isengrain et Thésée. Il est possible que ces cultivars soient réellement très proches en terme de turnover des protéines et de remplissage en azote des grains. Il est aussi possible que la technique utilisée pour l'estimation de ces paramètres ne soit pas assez sensible pour distinguer de réelles différences entre les trois cultivars. L'existence d'une dépendance des paramètres du modèle au génotype et non aux conditions de cultures, permettrait d'orienter la sélection de nouveaux cultivars vers des caractères cibles propres aux génotypes. La mise en évidence de cette dépendance est essentielle pour différencier les cultivars en terme de régulation des dynamiques d'azote. Une première question qui se pose donc à l'issue de ce travail est: quelle est la dépendance des paramètres au génotype ?

La mise en évidence de la dépendance des paramètres au génotype nécessite des expérimentations avec une gamme variée de génotypes, incluant par exemple des génotypes présentant le caractère stay-green. Le travail expérimental nécessaire est conséquent puisqu'il faut caractériser finement dans le temps les dynamiques de l'azote total des limbes individuels et des autres compartiments pour tous ces génotypes pour calibrer le modèle. L'utilisation d'une technique d'estimation plus précise des paramètres du modèle est également incontournable. Pour sa part, le coefficient de dégradation de l'azote associé aux protéines de l'appareil photosynthétique peut être estimé facilement à partir de mesures d'azote total en absence d'absorption racinaire. On voit ici l'intérêt qu'il y aurait à pouvoir définir des solutions expérimentales simples pour estimer les paramètres. Pour trouver ces solutions, le modèle peut constituer lui-même un outil. Le modèle a par exemple montré que les dynamiques d'azote en période d'absence d'absorption racinaire étaient majoritairement régulées par le taux de dégradation de l'azote photosynthétique puisque le taux de synthèse était quasiment nul.

Le déterminisme du déclenchement de la mort des tissus des limbes

Dans le modèle, la progression de la surface de tissus nécrotiques est calculée de telle sorte que la masse d'azote surfacique des tissus verts reste au dessus d'un seuil nécessaire à leur survie. Dans la littérature, des seuils différents ont été observés pour des mêmes limbes dans des conditions de nutrition azotée différentes (Hirel et al., 2005) mais aucun modèle ne quantifie cette variation. L'hypothèse émise dans notre modèle est que ce seuil dépend de

l'état azoté du limbe tout au long sa vie: le SLN au moment de l'apparition de tissus nécrotiques a été relié empiriquement au SLN maximum mesuré après floraison. Ce choix était contraint par les données disponibles. Toutefois, il n'est pas réellement satisfaisant puisqu'il est vraisemblable que ce n'est pas uniquement l'état azoté du limbe après la floraison qui est déterminant mais plutôt tout au long de sa croissance. C'est d'autant plus vrai pour les limbes les plus vieux dont le SLN maximum a été atteint largement avant floraison. Il existe d'autre part une hypothèse vraisemblable dans la littérature pour expliquer le déclenchement de la mort des tissus. Elle serait déclenchée lorsque l'assimilation nette de carbone deviendrait nulle, c'est-à-dire quand les pertes de CO₂ par la respiration sont égales au gain en carbone par la photosynthèse (Ackerly and Bazzaz, 1995; Ackerly, 1999). Cette hypothèse n'est pas contradictoire avec l'observation de la dépendance entre le statut azoté d'un limbe et le seuil de SLN déclenchant la mort des tissus. En effet, l'assimilation nette de carbone dépend de l'activité photosynthétique, qui est déterminée par le PPFD intercepté et le SLN, mais aussi de la respiration qui dépend positivement du SLN. On ne peut cependant pas préciser les processus impliqués. Une deuxième question est donc: l'apparition des tissus nécrotiques au niveau d'un limbe est-elle déterminée par un bilan nul d'assimilation nette du carbone ?

Dans l'objectif de comprendre les processus impliqués, l'utilisation d'un modèle qui simule de manière mécaniste l'assimilation nette de carbone paraît pertinente. Le modèle LEAFC3-N (Müller et al., 2005), calibré sur orge, simule l'assimilation nette d'une feuille en utilisant le modèle de photosynthèse mécaniste de Farquhar (von Caemmerer, 2000) et en intégrant des fonctions traduisant la dépendance des paramètres de ce modèle vis-à-vis du SLN. Pendant ma thèse, une première calibration de ce modèle a été réalisée pour la variété Soissons. L'utilisation de ce modèle et d'un modèle simulant la lumière interceptée par la feuille, associée à un suivi expérimental de son SLN, permettrait de prédire l'assimilation nette de la feuille. Une estimation précise de la lumière interceptée par la feuille nécessiterait par exemple de faire appel au modèle de Chelle et Andrieu (1998) couplé à une reconstruction 3D de la structure des plantes mesurées. Cela représente un temps de travail important.

Obtention d'un modèle prédictif en post-floraison

Dans le travail de thèse, un modèle a été proposé et validé pour sa capacité à simuler les dynamiques d'azote dans les limbes individuels et le remplissage en azote des grains. Le caractère prédictif de ce modèle est limité par le forçage des dynamiques d'azote dans les autres compartiments du brin ainsi que le prélèvement racinaire aux données expérimentales. Voici ma proposition pour développer un modèle prédictif, qui puisse prédire les dynamiques d'azote dans une plante de blé pendant la phase post-floraison avec comme variables d'entrées: la quantité d'azote dans les différents tissus et la lumière absorbée par chaque entité à la floraison.

Le modèle compartimental Sirius (Jamieson et al., 1998; Martre et al., 2006) propose une modélisation simple du prélèvement d'azote racinaire qui prend en compte les principales variables suivantes: la quantité d'azote disponible dans le sol, le statut azoté de la plante et un taux potentiel qui reflète la diminution de la surface de tissus photosynthétiques au cours du temps. Le modèle développé dans la thèse est adapté pour être couplé à ce modèle de prélèvement racinaire grâce à son pool commun d'azote mobile. Il permet par exemple de prendre en compte facilement le feedback négatif du statut azoté de la plante sur le prélèvement racinaire qui est décrit dans la littérature. Ce modèle doit néanmoins être testé:

est-ce que le modèle de prélèvement d'azote racinaire utilisé dans Sirius et couplé au modèle de dynamiques d'azote simule correctement les dynamiques d'absorption racinaire observées ?

Les dynamiques d'azote dans les autres entités que les limbes n'ont pas pu être modélisées en raison du manque de données dans la littérature. Pour les gaines, les parties exposées à la lumière des entrenœuds et les balles, un modèle fondé sur le turnover des protéines de l'appareil photosynthétique devrait permettre de simuler les dynamiques d'azote observées puisque les expérimentations ont montrées qu'elles dépendaient du PPFD intercepté par chacune des entités. Les résultats des expérimentations suggèrent que les dynamiques d'azote dans les gaines suivent des lois identiques à celles des limbes foliaires. Il est donc envisageable de modéliser les dynamiques d'azote dans les gaines suivant un turnover identique (mêmes coefficients) à celui des limbes. En revanche, la littérature suggère que le fonctionnement photosynthétique des balles diffère de celui des limbes (Tambussi et al., 2007). Ainsi la modélisation des dynamiques d'azote dans les balles pourrait être différente de celles des limbes. Aucune littérature n'a pu être trouvée concernant la régulation des dynamiques d'azote dans la partie exposée à la lumière des entre-nœuds, mais les résultats suggèrent un comportement différent de celui des limbes ou des gaines. Une troisième question est donc: peut-on modéliser les dynamiques d'azote dans les gaines, les parties visibles d'entre-nœuds et les balles suivant le turnover des protéines photosynthétiques comme pour les limbes, et avec quelles valeurs de paramètres ?

Une première étape pour répondre à cette question est de comparer la réponse des différentes entités, en terme de quantités d'azote par unité de surface, à la lumière absorbée par unité de surface. Cela nécessite de pouvoir caractériser finement la quantité de lumière absorbée par chacune des entités qui peuvent être verticales ou avoir des formes complexes. Comme évoqué précédemment, le modèle de distribution de lumière de Chelle et Andrieu (1998) couplé à un modèle décrivant précisément la géométrie 3D du peuplement végétal sur lequel on veut simuler la distribution de la lumière est particulièrement adapté pour cette étude. Cela nécessite un important travail expérimental de caractérisation de la structure du peuplement (dimensions des entités, courbure des limbes, ...). Un travail a été mené dans ce sens au cours de la thèse mais n'a pas été présenté parce qu'il n'a pas pu être complètement finalisé. Le modèle ADEL-Blé (Fournier et al., 2003 ; Evers et al., 2005) a été calibré, via des suivis expérimentaux, pour reconstruire en 3D le peuplement de blé sur lequel les distributions d'azote ont été caractérisées. Ce modèle est en cours de couplage avec le modèle de distribution de la lumière de Chelle et Andrieu (1998) sur la plateforme OpenAlea en collaboration avec Christian Fournier (INRA-Lepse, Montpellier) et l'équipe Virtual Plant qui développe cette plateforme.

Le test de la validité d'un modèle de turnover et la détermination de ses paramètres peuvent également passés par l'implémentation, dans le modèle existant, d'un sous modèle de turnover pour un type d'entité, suivie de l'estimation de ses paramètres et de la comparaison simulations/mesures.

La perspective à terme est d'obtenir un modèle de dynamique d'azote, qui, intégré dans le modèle ADEL-Blé et couplé avec le modèle de distribution de la lumière de Chelle et Andrieu (1998), permettrait de prédire les dynamiques d'azote dans l'ensemble des tissus de la plante après la floraison à partir de la quantité d'azote disponible dans le sol et le rayonnement lumineux au-dessus du couvert.

Les perspectives à plus long terme

Extension de l'approche de modélisation à la phase préfloraison

La phase préfloraison, pendant laquelle se forment les structures végétatives de la plante, détermine le nombre de grains formés ainsi que les quantités d'azote et de carbone disponibles pour la croissance des grains après la floraison. La disponibilité en azote pendant cette phase conditionne la croissance de la culture. En effet, elle affecte le tallage, la régression des talles, les dimensions des feuilles ..., et ainsi la quantité de surfaces photosynthétiques. D'autre part, elle détermine également la quantité d'azote par unité de surface de ces structures dont dépend également leur activité photosynthétique.

Le système « plante » en préfloraison est plus complexe qu'en post-floraison. En effet, non seulement la structure de la plante est dynamique (les organes croissent et sénescent) mais aussi le système est dynamique avec l'apparition de nouvelles structures. Il s'agit d'un système dynamique à structure dynamique. Dans ce système, il existe une boucle de rétroaction dans laquelle la disponibilité en azote pour la plante affecte la croissance de sa structure qui, en retour, affecte la distribution de la lumière et les dynamiques d'azote. En post-floraison, cette boucle a pu être négligée car il a été observé que l'apparition de tissus nécrotiques ne modifiait pas significativement la distribution de lumière dans le couvert. Une autre difficulté par rapport à la phase post-floraison est qu'une talle nouvellement formée n'est pas immédiatement indépendante du brin duquel elle est issue. Il faut donc pouvoir quantifier la dépendance entre talles et le moment auquel une talle devient indépendante du brin duquel elle est issue. Enfin, la masse de N surfacique n'est probablement pas homogène au sein d'une même entité avant la floraison. En terme de modélisation, cela impliquerait de découper l'entité en secteurs et de quantifier les échanges entre secteurs.

Nos résultats sur le système en post-floraison (plus simple) fournissent des éléments pour aborder la phase plus complexe représentée par la préfloraison. Les feuilles subissent tout d'abord une période d'extension puis, une fois matures, une phase de croissance et de sénescence. On peut supposer que, comme en post-floraison, la teneur en azote des feuilles matures peut être modélisée suivant le turnover des protéines de l'appareil photosynthétique. En revanche, aujourd'hui il n'existe pas de modèles mécanistes permettant de simuler l'effet de l'azote sur la dynamique d'extension et de croissance de la feuille, même si cela a fait l'objet de beaucoup d'études. Une hypothèse peut cependant être émise quant à l'allocation de l'azote à une feuille en croissance: elle pourrait être déterminée par le flux de carbone vers cette feuille. En effet, l'azote est alloué aux jeunes organes en croissance via les gradients de pression osmotique dans le phloème, qui sont créés par des gradients de carbone entre des organes puits et source. Si cette hypothèse est vérifiée, un modèle en préfloraison devrait ainsi prendre en compte explicitement les dynamiques de carbone dans la plante. Enfin, étant donnée la boucle de rétroaction qui existe entre croissance de la structure de la plante-distribution du rayonnement-dynamique de N, le modèle de dynamique de N en préfloraison devrait être intégré dans un modèle de structure 3D couplé à un modèle de distribution du rayonnement.

Le modèle de dynamique d'azote: un outil pour comprendre le développement des maladies foliaires

Pour un grand nombre de maladies foliaires, comme par exemple la rouille ou la septoriose chez le blé, les pertes de rendement sont majoritairement liées à la diminution de surface foliaire photosynthétique (Bancal et al., 2007). Cette diminution provient d'une part des lésions générées par la maladie et d'autre part de la réduction de la durée de vie des feuilles non infectées. C'est cet effet indirect de la maladie qui est majoritairement responsable des pertes de rendement. L'équipe dans laquelle j'ai réalisé ma thèse suppose que cet effet indirect résulte d'une perturbation des dynamiques de C et N dans la plante par la présence de pathogènes foliaires. Cette perturbation serait la conséquence de la diminution des surfaces et du prélèvement de carbone et d'azote pour la production de spores (Robert et al., 2002). Dans ce cadre, un modèle de dynamiques d'azote dans une plante saine est fondamental pour comprendre les perturbations engendrées par la maladie et sa nuisibilité en terme de perte de rendement. D'un autre côté, les perturbations engendrées par la maladie sur les dynamiques de N de la plante modifient en retour son développement puisque la sporulation dépend du N des feuilles. Ainsi, un modèle de dynamique d'azote dans la plante permettrait également d'apporter des éléments de compréhension du développement de l'épidémie.

L'approche modélisatrice des dynamiques de N dans une plante de blé proposée à l'issue du travail de thèse est adaptée pour l'étude des interactions plante-pathogène. Tout d'abord, elle permet de prendre en compte l'introduction localisée de pathogènes au niveau d'une feuille comme puits supplémentaire pour l'azote, grâce (i) à son échelle d'intégration des processus qui est celle de l'entité botanique et (ii) à son caractère mécaniste. D'autre part, pour des pathogènes comme la septoriose, dont la dispersion dépend fortement de l'architecture du couvert, l'intégration de notre modèle de dynamique de N dans ADEL-Blé faciliterait son couplage avec un modèle de propagation de la septoriose. Il viendrait compléter un premier modèle développé dans l'équipe qui couple ADEL-Blé et un modèle de propagation de la septoriose (appelé ADEL-Septo) mais dans lequel le taux de sporulation est défini empiriquement puisque la version utilisée d'ADEL-Blé ne modélise pas les dynamiques de C et N (Robert et al., 2007).

Conclusion

Dans ce travail de thèse, une modélisation mécaniste et simple des dynamiques d'azote dans une plante de blé après la floraison a pu être proposée en utilisant une approche structure-fonction. Ce résultat démontre par l'exemple que l'approche structure-fonction peut effectivement ouvrir de nouvelles voies pour la modélisation et la compréhension du fonctionnement des plantes et des peuplements végétaux. Sa principale caractéristique par rapport aux approches traditionnelles est de se situer à une échelle plus fine, ce qui lui permet d'être plus proche du fonctionnement du végétal ainsi que de prédire le comportement apparemment complexe de la plante à partir de lois simples définies localement.

Néanmoins, cette échelle fine a comme conséquence négative d'exiger des expérimentations très coûteuses en temps. Dans le travail de thèse, elles se sont limitées à une caractérisation fine dans le temps et dans l'espace des dynamiques d'azote dans un brin de blé après la floraison. Mais, il devient très vite indispensable de caractériser également la structure 3D de la plante de manière à avoir accès au microenvironnement local à chaque entité de la plante qui conditionne le fonctionnement de l'entité. La communauté « Plante Virtuelle » développe des outils pour répondre à ces problèmes. Par exemple, la plateforme informatique libre OpenAlea vise à faciliter le couplage de modèles issus de différentes équipes scientifiques ainsi que leur utilisation via une interface de programmation visuelle. Cette plateforme envisage également de pouvoir offrir un lieu de partage des données.

La richesse de la modélisation mise en œuvre dans la thèse est d'utiliser des connaissances de différents domaines scientifiques. Elle fait le lien entre, d'une part, des connaissances physiologiques sur le métabolisme azoté au niveau des tissus et, d'autre part, les dynamiques d'azote à l'échelle de la plante et de la culture qui sont du domaine de l'écophysiologie et de l'agronomie. Cette modélisation fait également appel à des concepts issus de la modélisation des systèmes complexes, ainsi qu'à des outils informatiques.

Le caractère mécaniste de cette modélisation et la prise en compte de l'entité plante individuelle permet également d'envisager son application à des systèmes moins normalisés que ceux des grandes cultures. Cette modélisation permet naturellement de prendre en compte la compétition entre plantes et peut ainsi être utilisée pour des systèmes plurispécifiques (cultures associées, systèmes plantes-adventices) ou pour des systèmes écologiques naturels. Enfin, elle ouvre des perspectives en terme d'utilisation par d'autres équipes de recherche: l'intérêt vis-à-vis de la compréhension des interactions plante-pathogènes a déjà été largement démontrée. Elle pourrait également constituer un outil pour des équipes qui travaillent plus spécifiquement sur le métabolisme azoté à l'échelle de la feuille (ex : émission d'ammoniac) en leur permettant d'intégrer leurs résultats à l'échelle de la plante entière ou du peuplement.

Références

- Ackerly D** (1999) Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models. *Oecologia* **119**: 300-310
- Ackerly DD, Bazzaz FA** (1995) Leaf Dynamics, Self-Shading and Carbon Gain in Seedlings of a Tropical Pioneer Tree. *Oecologia* **101**: 289-298
- Andrieu B, Lecoœur J, Lemaire G, Ney B** (2006) Le peuplement végétal cultivé. *In* T Doré, P Martin, B Ney, J Roger-Estrade, eds, L'agronomie aujourd'hui. Editions Quae Versailles, pp 103-136
- Bancal MO, Robert C, Ney B** (2007) Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Annals of Botany* **100**: 777-789
- Bertheloot J, Martre P, Andrieu B** (2008) Dynamics of Light and Nitrogen Distribution During Grain Filling within Wheat Canopy. *Plant Physiology* **148**: 1707-1720
- Borrell A, Hammer G** (2000) Nitrogen Dynamics and the Physiological Basis of Stay-Green in Sorghum. *Crop science* **40**: 1295-1307
- Chelle M, Andrieu B** (1998) The nested radiosity model for the distribution of light within plant canopies. *Ecological Modelling* **111**: 75-91
- Cooper HD, Clarkson DT** (1989) Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoot and roots in cereals - a possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *Journal of Experimental Botany* **40**
- Cooper HD, Clarkson DT, Johnston MG, Whiteway JN, Loughman BC** (1986) Cycling of amino-nitrogen between shoots and roots in wheat seedlings. *Plant and Soil* **91**
- Evans J** (1989) Photosynthesis and Nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* **78**: 9-19
- Evans JR, Seemann JR** (1989) The allocation of protein nitrogen in the photosynthetic apparatus: costs, consequences and control. *In* W Briggs, ed, Photosynthesis. Alan R Liss, New York, pp 183-205
- Evers JB, Vos J, Fournier C, Andrieu B, Chelle M, Struik PC** (2005) Towards a generic architectural model of tillering in Gramineae, as exemplified by spring wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist* **166**: 801-812
- Field C** (1983) Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia* **56**: 341-347
- Fournier C, Andrieu B** (1998) A 3D architectural and process-based model of maize development. *Annals of Botany* **81**: 233-250
- Guitman MR, Arnozis PA, Barneix AJ** (1991) Effect of source-sink relations and nitrogen nutrition on senescence and N remobilization in the flag leaf of wheat. *Physiologia Plantarum* **82**
- Hikosaka K, Terashima I, Katoh S** (1994) Effects of leaf age, nitrogen nutrition and photon flux density on the distribution of nitrogen among leaves of a vine (*Ipomoea tricolor* Cav.) grown horizontally to avoid mutual shading of leaves. *Oecologia* **97**: 451-457
- Hirel B, Andrieu B, Valadier MH, Renard S, Quillere I, Chelle M, Pommel B, Fournier C, Drouet JL** (2005) Physiology of maize II: Identification of physiological markers representative of the nitrogen status of maize (*Zea mays*) leaves during grain filling. *Physiologia Plantarum* **124**: 178-188
- Hirose T, Werger MJA** (1987) Maximizing daily canopy photosynthesis with respect to leaf nitrogen allocation pattern in the canopy. *Oecologia* **75**: 520-526

- Irving LJ, Robinson D** (2006) A dynamic model of Rubisco turnover in cereal leaves. *New Phytologist* **169**: 493-504
- Jamieson PD, Semenov MA, Brooking IR, Francis GS** (1998) Sirius: a mechanistic model of wheat response to environmental variation. *European Journal of Agronomy* **8**: 161-179
- Jeuffroy MH, Ney B, Ourry A** (2002) Integrated physiological and agronomic modelling of N capture and use within the plant. *Journal of Experimental Botany* **53**: 809-823
- Martre P, Jamieson PD, Semenov MA, Zyskowski RF, Porter JR, Triboi E** (2006) Modelling protein content and composition in relation to crop nitrogen dynamics for wheat. *European Journal of Agronomy* **25**: 138-154
- Martre P, Porter JR, Jamieson PD, E. T** (2003) Modeling Grain Nitrogen Accumulation and Protein Composition to Understand the Sink/Source Regulations of Nitrogen Remobilization for Wheat. *Plant Physiology* **133**: 1959-1967
- Mooney HA, Field C, Gulmon SL, Bazzaz FA** (1981) Photosynthetic capacity in relation to leaf position in desert versus old-field annuals. *Oecologia* **50**: 109-112
- Müller J, Wernecke P, Diepenbrock W** (2005) LEAFC3-N: a nitrogen sensitive extension of the CO₂ and H₂O gas exchange model LEAFC3 parameterised and tested for winter wheat (*Triticum aestivum* L.) *Ecological Modelling* **183**: 183-210
- Pons TL, de Jong-Van Berkel YEM** (2004) Species-specific variation in the importance of the spectral quality gradient in canopies as a signal for photosynthetic resource partitioning. *Annals of Botany* **94**: 725-732
- Robert C, Bancal MO, Lannou C** (2002) Wheat leaf rust uredospore production and carbon and nitrogen export in relation to lesion size and density. *Phytopathology* **92**: 762-768
- Robert C, Fournier C, Andrieu B, Ney B** (2007) Coupling a 3D virtual wheat (*Triticum aestivum*) plant model with a *Septoria tritici* epidemic model: a new approach to investigate plant-pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology* **35**: 997-1013
- Sadras VO, Hall AJ, Connor DJ** (1993) Light-associated nitrogen distribution profile in flowering canopies of sunflower (*Helianthus annuus* L.) altered during grain growth. *Oecologia* **95**: 488-494
- Ta CT, Weiland RT** (1992) Nitrogen Partitioning in Maize During Ear Development. *Crop Science* **32**: 443-451
- Tambussi EA, Bort J, Guiamet JJ, Nogues S, Araus JL** (2007) The photosynthetic role of ears in C₃ cereals: metabolism, water use efficiency and contribution to grain yield. *Critical Reviews in Plant Sciences* **26**: 1-16
- Thornley JHM** (1998) Dynamic Model of Leaf Photosynthesis with Acclimation to Light and Nitrogen. *Annals of Botany* **81**: 421-430
- Thornley JHM** (2004) Acclimation of photosynthesis to light and canopy nitrogen distribution : an interpretation. *Annals of Botany* **93**: 473-475
- Triboi E, Martre P, Triboi-Blondel A-M** (2003) Environmentally-induced changes of protein composition for developing grains of wheat are related to changes in total protein content. *Journal of Experimental Botany* **54**: 1731-1742
- Triboi E, Triboi-Blondel AM** (2002) Production and grain or seed composition: a new approach to an old problem-invited paper. *European Journal of Agronomy* **16**: 163-186
- von Caemmerer S**, ed (2000) Biochemical models of leaf photosynthesis, Vol 2. Csiro publishing