THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

École Doctorale 649 :
« *Rosalind Franklin* » - Énergie – Environnement - Biosanté

Secteur de Recherche :
Physiologie Végétale

Présentée par :
Victoria Acker

****

RÉPONSE DE LA CROISSANCE FOLIAIRE DES POACEAE AU CHANGEMENT CLIMATIQUE PAR UNE APPROCHE DE MODÉLISATION STRUCTURE-FONCTION INTÉGRANT LES INTERACTIONS TROPHIQUES ET HYDRIQUES

****

Directeur de Thèse : **Jean-Louis Durand**
Co-directeur de Thèse : **Romain Barillot**

****

Soutenue le 17 avril 2025

devant la Commission d'Examen

****

JURY

Jessica BERTHELOOT	Chargée de recherche, INRAE UMR LEPSE	Rapporteuse
Thierry SIMONNEAU	Directeur de recherche, INRAE UMR LEPSE	Rapporteur
Nadia BERTIN	Directrice de recherche, INRAE UR PSH	Examinatrice
Guillaume LOBET	Maître de conférences, Université Catholique de Louvain	Examinateur
Christophe PRADAL	Chargé de recherche, CIRAD	Examinateur
Jean-Louis DURAND	Directeur de recherche, INRAE UR P3F	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

A travers ces quelques lignes, je tiens à exprimer ma reconnaissance envers tous ceux et celles qui m'ont soutenue au cours de ma thèse, fruit d'un travail collectif.

En premier lieu, je remercie très chaleureusement mes encadrants Jean-Louis DURAND et Romain BARILLOT, qui m'ont donné l'opportunité de réaliser ce travail en m'accordant leur confiance. J'ai beaucoup apprécié la complémentarité de leurs encadrements et de leurs points de vue. Merci Jean-Louis pour ton partage de connaissances, tes conseils réguliers et tes remarques toujours pertinentes, ainsi que pour avoir suivi les longues discussions alambiquées sur les avancements du modèle. Merci Romain pour ta bienveillance, tes réflexions, ta pédagogie et ta contribution continuelle. Nos échanges ont été très précieux, je me suis sentie privilégiée de travailler avec toi. Tous les deux vous m'avez encouragée à approfondir mes raisonnements.

Je remercie les membres de mon jury : Jessica BERTHELOOT, Thierry SIMONNEAU, Nadia BERTIN, Guillaume LOBET et Christophe PRADAL, qui ont accepté d'évaluer ces travaux. Merci également à mon comité de thèse : Vincent ALLARD, Frédéric BOUDON, Tom DE SWAEF, Marion GAUTHIER et Nathalie POURTEAU, pour les échanges constructifs sur ce sujet et m'avoir orientée vers de nouveaux approfondissements.

Je tiens à remercier vivement Tom DE SWAEF, qui s'est beaucoup investi et grâce à qui j'ai pu découvrir la ville de Gand sous une météo belge capricieuse, ce qui m'a conforté dans l'idée que j'ai la chance d'étudier à Lusignan (oui vous avez bien lu). Je voudrais également remercier toutes les personnes de l'équipe Plant Development du laboratoire ILVO pour l'accueil et la sympathie qu'elles m'ont témoignée durant ce séjour.

Je remercie tous ceux qui ont participé directement à la mise en place de l'expérimentation, au suivi des plantes et à la réalisation des prélèvements : Annie EPRINCHARD, Elzbieta FRAK, Franck GELIN, Nathan MERLE, Cédric PERROT, Eric ROY et Marianne VAN PETHEGHEM ; ainsi que Charlène BAROTIN, Nathalie MOYNET et Gaëlle ROCHAS pour l'analyse des échantillons au laboratoire Chimie.

J'adresse toute mon amitié à l'ensemble des membres de l'équipe d'Ecophysiologie et plus largement aux collègues de Lusignan. Merci pour tous les moments conviviaux qui nous ont réunis, je suis très reconnaissante de votre soutien et de votre bonne humeur quotidienne.
Merci à Bernadette, Isabelle, Jean et Philippe de m'avoir fait découvrir les sentiers mélusins pour m'évader et m'aérer l'esprit lors des pauses déjeuners sportives.
Je pense bien sûr à Zineb pour son dynamisme stimulant et les sorties culturelles, sportives et gastronomiques ; Mau pour sa sensibilité et son amitié ; Valentin pour les bons échanges ; Zulfikar, Arman, Irving et Arthur pour avoir partagé les expériences de la thèse ; Vincent et Théo pour les discussions qui ont étayées mon esprit critique et ma curiosité ; Namogo et Louis pour les bonnes blagues ; et tous ceux qui sont passés à l'URP3F.

Merci à mes amis de longues dates qui m'ont permis de déconnecter et de garder une vie sociale. Je vous remercie particulièrement de m'avoir supportée dans les derniers moments de la rédaction alors que je devais être d'un égoïsme et ennui profond, mais vous n'avez pas douté que je redeviendrai un jour sympathique, drôle et attentionnée.
Merci bien sûr à ma famille, et tout spécialement à mes parents et ma sœur, les livraisons de *fleischnaka* et *bredele* ont joué un très grand rôle sur ma forme physique et m'ont sans aucun doute donné la force d'aller au bout de ces trois années.
Enfin, rien de tout cela n'aurait été possible sans Clément, qui a assuré comme toujours. Merci de me suivre dans tous mes projets et pour ton enthousiasme contagieux à l'égard de mes travaux, comme de la vie en général. Tu es pour moi un modèle de réflexion et d'intérêt pour les autres.

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été financée par la région Nouvelle-Aquitaine ainsi que l'INRAE. Les travaux se sont déroulés au sein de l'Unité de Recherche Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères (URP3F) de l'INRAE, à Lusignan, dans l'équipe d'Ecophysiologie.

TRAVAUX PUBLIES LORS DE LA THESE

Articles dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture

- Acker, V., Durand, J.-L., Perrot, C., Roy, E., Frak, E., Barillot, R. 2024. Effects of atmospheric CO_2 concentration on transpiration and leaf elongation responses to drought in *Triticum aestivum*, *Lolium perenne* and *Festuca arundinacea*. *Annals of Botany*, Volume 134, Issue 5, Pages 787–802, https://doi.org/10.1093/aob/mcae114

Communications avec actes dans un congrès international

- Acker, V., Durand, J. L., Perrot, C., Roy, E., Barillot, R. 2022. Measuring leaf elongation rate and transpiration in response to drought and elevation of atmospheric CO_2 concentration. In *PlantComp2022- Workshop on plant sensing and computing,* Ghent, Belgium, 10^{th}-11^{st} October 2022. [Poster]

- Acker, V., Durand, J. L., Barillot, R. 2023. Simulation of leaf growth response to elevated atmospheric carbon dioxide concentration ([CO_2]) using CN-Wheat, a model of morphogenesis driven by trophic dynamics. In *FSPM 2023-10th International Conference on Functional-Structural Plant Models,* Berlin, Germany, 27^{th}-31^{st} March 2023. [Orale]

LISTE DES SYMBOLES

LER	$m\ s^{-1}$	Leaf Elongation Rate
VAF	$m\ s^{-1}$	Vitesse d'Allongement des Feuilles
RER	s^{-1}	Relative Elongation Rate (Taux d'allongement relatif)
age	s	Age physiologique de la feuille
n		Rang foliaire
hz		Hidden growth zone (Zone cachée englobant la zone de croissance)
F	$g\ s^{-1}$	Flux d'eau
Ψ_w	Mpa	Potentiel hydrique
Ψ_π	Mpa	Potentiel osmotique
Ψ_p	Mpa	Potentiel de turgescence
R_{radial}	$Mpa\ s\ g^{-1}\ m$	Résistance hydraulique radiale
R_{axial}	$Mpa\ s\ g^{-1}\ m$	Résistance hydraulique axiale
W	g	Quantité d'eau
V	m^3	Volume de la cellule
V_s		Portion de stockage du volume
w	m	Largeur
l	m	Longueur
th	m	Epaisseur
ξ	Mpa	Module d'élasticité de la cellule
ϕ	$Mpa^{-1}\ s^{-1}$	Extensibilité des parois
Γ	Mpa	Seuil d'extensibilité
SWC	g	Soil Water Content (Teneur en eau du sol)
AWC	g	Available Water Capacity (Capacité en eau disponible)
SRWC	%	Soil Relative Water Content (Teneur en eau relative du sol)
I	g	Irrigation
A	$g\ s^{-1}$	Flux d'absorption d'eau par la plante
Tr	$g\ s^{-1}$	Flux d'eau transpirée par la plante
G	$g\ s^{-1}$	Flux d'eau de croissance
[S]	$mol\ m^{-3}$	Concentration de solutés
WSC	% matière sèche	Water-Soluble Sarbohydrates (Carbohydrates solubles dans l'eau)
A_n	$\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$	Taux d'assimilation net
g_{sw}	$mol\ H_2O\ m^{-2}\ s^{-1}$	Conductance stomatique à l'eau
VPD	kPa	Vapor Pressure Deficit (Déficit de pression de vapeur)
h_s		Humidité relative
T	K	Température

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS 2

AVANT-PROPOS 6

TRAVAUX PUBLIÉS LORS DE LA THÈSE 8

INTRODUCTION GÉNÉRALE 18

CHAPITRE I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE 22

I. ARCHITECTURE AERIENNE DES POACEAE 24
II. ACQUISITION ET ALLOCATION DES RESSOURCES DANS LA PLANTE 25
III. CROISSANCE FOLIAIRE CHEZ LES POACEAE 31
IV. INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT ET EFFETS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE, EN ZONE TEMPEREE OCEANIQUE 40
V. MODELES ACTUELS ET LEURS LIMITES POUR SIMULER LA REGULATION DE LA CROISSANCE FOLIAIRE PAR LES FACTEURS DU CLIMAT 43
VI. OBJECTIFS DE L'ETUDE ET DEMARCHE SUIVIE 52

CHAPTER II. EXPERIMENTAL WORK 56

I. INTRODUCTION 58
II. MATERIAL AND METHODS 60
III. RESULTS 63
IV. DISCUSSION 70
V. CONCLUSION 75
VI. SUPPLEMENTARY DATA 75
RESUME DU CHAPITRE 2 76

CHAPTER III. MODEL DESCRIPTION 88

I. INTRODUCTION 90
II. MATERIALS AND METHODS 92
III. RESULTS 102
IV. DISCUSSION 111
V. CONCLUSION 115
VI. SUPPLEMENTARY DATA 116
RESUME DU CHAPITRE 3 117

CHAPTER IV. MODEL EVALUATION 120

I. INTRODUCTION 122
II. MATERIAL AND METHODS 123
III. RESULTS 126
IV. DISCUSSION 137
V. CONCLUSION 140
VI. SUPPLEMENTARY DATA 141
RESUME DU CHAPITRE 4 143

DISCUSSION GÉNÉRALE 146

I. RAPPEL DES OBJECTIFS DE LA THESE ET LA STRATEGIE SCIENTIFIQUE ADOPTEE 148
II. PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE 149
III. PERSPECTIVES 153

CONCLUSION 158

RÉFÉRENCES 162

INTRODUCTION GENERALE

Les Poaceae, plus communément connues sous le nom de graminées, partagent des caractéristiques morphologiques qui les distinguent nettement des autres familles végétales : ensemble de ramifications, appelées talles, composées de feuilles alternes à disposition distique elles-mêmes constituées d'une gaine tubulaire et d'un limbe séparés par une ligule.
Ce groupe constitue une famille botanique très importante pour le monde agricole car elle représente un grand nombre d'espèces. Les habitats dominés par les Poaceae couvrent jusqu'à 40% de la surface terrestre de la Terre (Gibson, 2009). Ainsi, elles fournissent une part essentielle de l'alimentation avec 70% des terres agricoles mondiales consacrées à leur culture grâce aux espèces céréalières telles que le blé, le riz, le maïs, et l'orge, et aux plantes fourragères (Watson & Dallwitz, 1992). Leur utilisation économique croissante, l'introduction de nouvelles plantes fourragères dans les cultures et la nécessité d'une sélection continue des espèces cultivées, rendent le développement de cette famille particulièrement important (Tzvelev, 1989).
Chez les Poaceae, la feuille constitue la principale surface d'échange avec l'environnement à travers laquelle se réalise la diffusion du CO_2 pour la photosynthèse ainsi que de l'eau via la transpiration. Par conséquent, la croissance foliaire est un processus essentiel au fonctionnement de la plante. Elle est primordiale dans la constitution des réserves carbonées par le biais de la photosynthèse, déterminant ainsi le rendement en grains des céréales. Elle constitue également la fraction récoltable de la biomasse chez les espèces fourragères (Maurice, 1997). La taille des feuilles et leur dynamique de croissance sont principalement régulées par la disponibilité en eau, carbone (C) et l'azote (N) dans la plante en interaction avec les facteurs physiques de l'environnement (température, rayonnement et le dioxyde de carbone (CO_2)) (Gastal *et al.*, 1992; McIntyre, 2001; Dornbusch *et al.*, 2011a).

Avec le changement climatique, de fortes variations de la teneur en CO_2 atmosphérique, de la température et de la disponibilité en eau du sol sont attendues (IPCC, 2023), qui sont les principaux facteurs environnementaux régulant la croissance foliaire.
L'accroissement de la teneur en CO_2 atmosphérique stimule l'activité photosynthétique chez les plantes en C_3 et réduit la perte de CO_2 par photorespiration (par exemple Bowes, 1996). L'augmentation de CO_2 induit également une fermeture des stomates dont résulte une réduction de la transpiration. Ces deux effets du CO_2 conduisent à une augmentation de l'efficience d'utilisation de l'eau des plantes. Néanmoins, ces effets devraient être tempérés à long terme par une acclimatation photosynthétique due à l'accumulation de sucres non structuraux dans les feuilles et une limitation de la croissance par manque d'azote d'une part, et peuvent être contrebalancés par une augmentation de la surface foliaire conduisant alors à une transpiration totale de la plante plus importante d'autre part (par exemple Tubiello *et al.*, 2007).
L'augmentation des concentrations de gaz à effet de serre a contribué à une augmentation de la température de surface moyenne mondiale (Hartmann *et al.*, 2013). La morphologie des feuilles, ainsi que le taux d'émergence, sont sensibles à la température.
Si l'accroissement de la température (dans les zones géographiques où les maximums sont inférieurs à l'optimum de température) et du taux de CO_2 a un effet globalement positif sur la photosynthèse et la production, il en résulte une augmentation de la consommation en eau du sol et par conséquent les sécheresses qui s'ensuivent pourraient annuler ces bénéfices. Une disponibilité réduite en eau du sol limite l'absorption d'eau par les plantes d'une part, et peut également restreindre l'absorption des nutriments par les racines et leur transport vers les parties aériennes d'autre part. L'expansion volumique des cellules en croissance étant égale aux flux d'eau de ces tissus, la croissance foliaire répond immédiatement à une dégradation du bilan hydrique (Durand *et al.*, 2013).
L'action individuelle de ces facteurs environnementaux est relativement bien comprise, mais les conditions de croissance inédites créées par leur variation simultanée, telles que décrites dans les scénarios climatiques futurs, sont complexes et peu étudiées. C'est pourquoi il est fondamental de

mieux comprendre et de quantifier les interactions entre le CO_2, la température et la disponibilité de l'eau, ainsi que la réponse de la croissance foliaire.

Pour répondre à cet enjeu scientifique, il convient de faire appel aux modèles structure-fonction, appelés FSPM (functional-structural plant model). Ils permettent la description détaillée des processus et leurs liens avec l'architecture de la plante, ainsi que les conditions environnementales, afin d'étudier la réponse des plantes sous différents scénarios de changement climatique intégrant des variations combinées de facteurs climatiques.
Le blé (*Triticum aestivum L.*) est une espèce de céréale pour laquelle de nombreux modèles architecturaux ont été développés. Par exemple, ADEL-wheat a été paramétré pour modéliser l'architecture du blé d'hiver pour un ensemble de conditions environnementales (Fournier *et al.*, 2003). Couplé à des modèles basés sur les processus, il a été utilisé pour étudier les conditions de croissance des bourgeons axillaires (Evers *et al.*, 2007) et les épidémies de maladies (Robert *et al.*, 2008). Mais la modélisation de la taille des organes reste encore empirique et les dimensions doivent donc être mesurées pour chaque génotype et environnement. Des travaux récents ont cependant émergé, proposant un FSPM de morphogenèse aérienne de plante de blé qui simule l'acquisition de traits des feuilles et de la plante comme propriétés résultant des interactions entre la morphogenèse, les facteurs environnementaux et les activités source-puits au sein de la plante (Barillot *et al.*, 2016a; Gauthier *et al.*, 2020). Mais aucun modèle n'intègre à ce jour les interactions entre l'eau, le carbone et l'azote dans la plante sur la croissance foliaire.
Il en résulte l'objectif de cette thèse qui est de **développer un modèle FSPM basé sur une représentation mécaniste des dynamiques trophiques et hydriques et de leurs interactions avec la croissance des feuilles.** Le manuscrit présente les travaux réalisés pour construire le modèle et évaluer sa capacité à simuler les impacts des interactions entre les variables climatiques sur la croissance.

CHAPITRE I.

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

Ce premier chapitre présente l'état des connaissances concernant le mécanisme de croissance foliaire chez les Poaceae. Il s'ouvre sur une présentation de l'architecture aérienne des Poaceae, qui résulte des processus de morphogénèse de la plante. La deuxième partie aborde l'acquisition et l'allocation des ressources à l'échelle de la plante. La section suivante se focalise sur la feuille en croissance, en détaillant la cinématique de la croissance et le rôle des ressources. Une quatrième partie expose l'influence de l'environnement sur le mécanisme de croissance foliaire et les enjeux du changement climatique. La cinquième partie démontre l'intérêt des modèles structure-fonction pour étudier la morphogénèse aérienne du blé dans le contexte du changement climatique. Sont notamment explicités les modèles utilisés dans le cadre de cette étude. Enfin, la dernière partie présente les objectifs de l'étude.

I. Architecture aerienne des Poaceae

1.1 Le processus de morphogénèse

La morphogenèse des plantes est définie par la génération et l'expansion de ses organes depuis la germination, jusqu'à la sénescence. Le développement est ponctué par l'occurrence d'évènements discrets au cours desquels apparaissent de nouveaux organes. La croissance est une augmentation continue du poids et du volume des organes au cours du temps. Ainsi la morphogénèse est responsable de la géométrie des plantes.

Les propriétés de la morphogénèse dépendent elle-même de l'architecture de la plante. Des études ont mis en évidence une influence morphogénétique directe de la longueur de la pseudo-tige sur la détermination de la longueur des feuilles qui se développent dans ces pseudo-tiges (Grant *et al.*, 1981; Casey *et al.*, 1999; Duru, 2000; Andrieu *et al.*, 2006). Cette relation s'explique par un effet sur la longueur de la zone de croissance, qui à son tour affecte la vitesse d'allongement des feuilles, et la longueur des feuilles ainsi créée affecte le rythme auquel sont émises de nouvelles talles (Casey *et al.*, 1999; Kavanová *et al.*, 2006; Andrieu *et al.*, 2006). Par conséquent, l'architecture des Poaceae s'établit comme un système autorégulé : l'architecture devient son propre déterminant (Verdenal, 2009; Morin, 2015). Le concept de l'architecture auto-organisée des plantes offre un cadre d'étude du processus de morphogénèse, notamment par le biais de la modélisation.

1.2 Structure et architecture des Poaceae

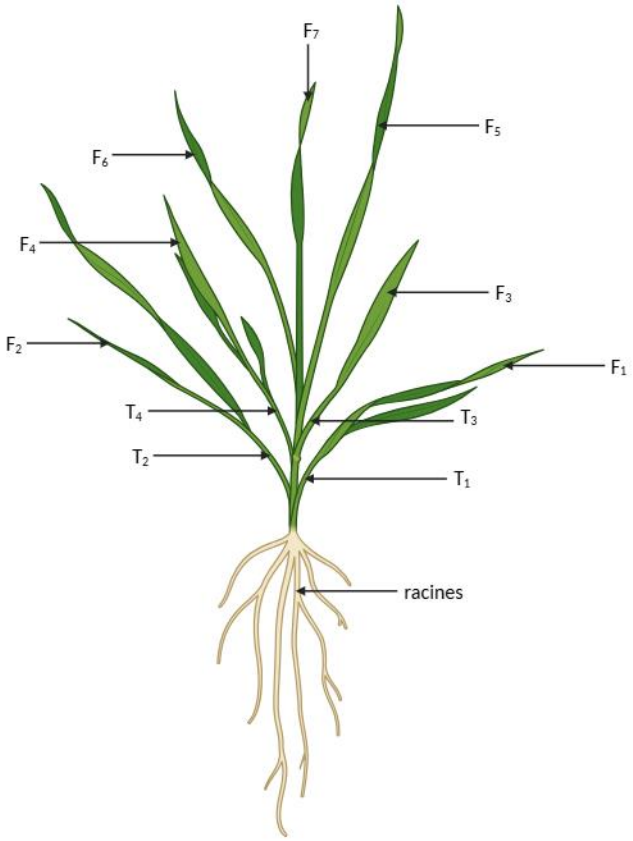


Fig. 1.1. Schéma d'une plantule de blé montrant les arrangements de feuilles (F) et de talles (T).

Une Poaceae se présente sous la forme d'une collection de ramifications de structure similaire, appelées talles, dont le brin-maître correspond à la première talle issue de la germination de la graine (Fig. 1.1). La taille, le nombre et la disposition spatiale des talles individuelles définissent l'organisation architecturale des Poaceae (Briske, 1991). Les talles sont composées d'une série de phytomères différenciés à partir d'un méristème apical commun (Langer, 1979; Robson *et al.*, 1988), le phytomère initial étant situé le plus près de la surface du sol, et sont donc du même génotype (Skinner & Nelson, 1995). Le phytomère est constitué d'une feuille (composée d'un limbe et d'une gaine), d'entre-nœud, d'un nœud et d'un bourgeon axillaire sous le point d'insertion de la gaine (Briske, 1991). L'architecture d'une talle est ainsi définie par les organes qu'elle porte, leurs relations topologiques, ainsi que leur arrangement géométrique dans l'espace.

Les feuilles matures sont constituées d'un limbe et d'une gaine qui sont séparés par un tissu plus dur, le col, sur lequel est insérée une membrane, la ligule. La partie basale est la gaine, et au-dessus de la ligule se trouve le limbe qui constitue la principale surface d'interception du rayonnement solaire et de perte en eau via la transpiration (Nelson & MacAdam, 1989). Le méristème apical produisant les primordia foliaires se situe à la base de la plante, ainsi les jeunes feuilles se développent à l'intérieur des gaines des feuilles précédentes de la talle.

II. Acquisition et allocation des ressources dans la plante

Pour son fonctionnement, la plante a besoin d'eau, de carbone et d'éléments minéraux. Ces éléments nutritifs se trouvent dans son environnement. Le carbone de l'air est prélevé au niveau de la feuille,

sous forme de CO_2, via la photosynthèse. L'eau et les éléments minéraux, tels que l'azote, sont absorbés depuis le sol et transmis à la feuille par le flux de transpiration xylémien.
Cette section présente le processus d'acquisition et d'allocation de ces ressources au sein de la plante, ainsi que le système de vascularisation qui assure leur transport.

2.1 Carbone

Le carbone est présent en grande quantité dans la plante et constitue environ 40% de la biomasse végétale. Il est présent dans les acides aminés, les protéines et les carbohydrates. Les carbohydrates se subdivisent en deux catégories : les sucres structuraux, principalement présents dans les parois cellulaires, et les sucres non structuraux (NSC) qui englobent l'amidon, le fructane, le glucose, le fructose et le saccharose. Le glucose, fructose et saccharose sont des molécules mobiles dans la plante, c'est-à-dire des molécules rapidement métabolisables et qui vont assurer les fonctions physiologiques immédiates de la plante, telles que la respiration, le maintien de la turgescence et la défense (Nardini *et al.*, 2016; Hagedorn *et al.*, 2016; Martínez-Vilalta *et al.*, 2016). Le saccharose joue un rôle majeur de transport des sucres issus de la photosynthèse. Les fructanes, l'amidon et les protéines sont des molécules de stockage (Lawlor *et al.*, 2001). Par opposition, ces sucres sont non indispensables à la constitution et la survie des cellules, mais utilisés pour gérer les écarts entre disponibilité et besoins immédiats des puits trophiques.

2.2 Azote

L'azote est l'un des principaux éléments minéraux de la plante. La plupart des plantes utilisent préférentiellement l'ion nitrate (NO_3^-) et, dans une moindre mesure, l'ammonium (NH_4^+), présents dans le sol (Maurice, 1997). La réduction du nitrate en ammonium, précurseur des acides aminés, des protéines et des nucléotides, est un processus coûteux en énergie. Elle est essentiellement effectuée dans les tissus photosynthétiques (Meyer *et al.*, 1993). Les formes de transport xylèmien de l'azote dans la plante sont le nitrate et les acides aminés. Les acides aminés, dont certains sont synthétisés uniquement dans les feuilles, sont transportés vers les zones de croissance ou les racines (Wallsgrove *et al.*, 1983). Il existe ainsi un pool d'azote circulant en permanence dans la plante (Cooper & Clarkson, 1989). Une partie du nitrate absorbé par la plante peut être accumulée dans les vacuoles, jusqu'à des concentrations cent fois supérieures à celles des sols après fertilisation (Naik *et al.*, 1982; Meyer *et al.*, 1993). Cela permet à la plante de constituer une réserve utilisable en cas de carence.
La Rubisco est l'enzyme la plus abondante dans la plupart des tissus végétaux et dans le monde (Ellis, 1979). Sa teneur augmente rapidement pendant l'expansion des feuilles, puis diminue pendant la sénescence des feuilles, l'azote étant remobilisé dans la croissance des nouveaux organes. Les protéines chloroplastiques constituent une partie importante de l'azote présent dans un tissu mature dont la Rubisco peut en représenter jusqu'à 40% (Gastal & Nelson, 1994).

2.3 Eau

L'eau est le principal constituant des plantes, pouvant représenter 80 à 90% du poids de la plante chez les herbacées (Kramer & Boyer, 1995). Elle est stockée dans les vacuoles et la paroi des cellules. Elle permet de véhiculer les substances nutritives nécessaires à la croissance et assure la turgescence cellulaire, donc l'expansion cellulaire.

2.3.1 L'etat hydrique de la plante

L'état hydrique et les flux d'eau à travers la plante sont décrits par la notion de potentiel hydrique (Ψ_w). Le potentiel hydrique représente la quantité d'énergie qu'il faudrait fournir à un volume d'eau

pour le faire passer de l'état lié à l'état libre au cours d'une transformation réversible et isotherme. Le potentiel de l'eau libre étant pris comme potentiel de référence, égal à 0, les potentiels observés sont négatifs. Le potentiel hydrique interne d'une cellule végétale est plus négatif que celui de l'eau pure en raison de la forte teneur en solutés du cytoplasme (ions minéraux, sucres, acides organiques et aminés, etc. Handa *et al.*, 1983). La plupart du temps, le potentiel hydrique cellulaire est en équilibre avec son environnement direct, l'apoplasme. En cas de déséquilibre, le gradient entre le potentiel hydrique de la cellule et celui de son environnement détermine la force motrice des flux d'eau entrant ou sortant de ce système (Dainty, 1963) :

$$J = L_p * \Delta\Psi_w \qquad \text{(Eq. 1.1)}$$

où **J** est le flux volumique d'eau, $\mathbf{\Delta\Psi_w}$ la différence de potentiel et $\mathbf{L_p}$ la conductivité hydraulique. Les flux d'eau se produisent dans le sens des potentiels hydriques décroissants (Boyer, 1985; Cruiziat *et al.*, 1989). Par conséquent, plus le potentiel hydrique d'une cellule végétale est négatif, plus la cellule est déshydratée.

Le potentiel hydrique peut être décomposé en deux variables : le potentiel osmotique ($\mathbf{\Psi_\pi}$) et le potentiel de turgescence ($\mathbf{\Psi_p}$) :

$$\Psi_w = \Psi_\pi + \Psi_p \qquad \text{(Eq. 1.2)}$$

Le potentiel osmotique est la force motrice qui s'exerce sur l'eau à travers une membrane hémiperméable séparant deux solutions de concentrations différentes. L'eau est transportée de la solution la moins concentrée vers la solution la plus concentrée jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. Ainsi, la valeur $\mathbf{\Psi_\pi}$ diminue avec l'augmentation de la concentration de solutés et par conséquent entraînera une diminution du $\mathbf{\Psi_w}$ total :

$$\Psi_\pi = - R * T * \Delta C \qquad \text{(Eq. 1.3)}$$

où **R** est la constante des gaz parfaits, **T** la température de la cellule et **ΔC** la différence de concentration en solutés.

La turgescence traduit la pression exercée sur les parois en réponse à l'afflux d'eau dans la cellule. Les relations entre $\mathbf{\Psi_p}$ et les variations de volume cellulaire sont de la forme :

$$\Psi_p = \xi * \frac{V - V_0}{V} \qquad \text{(Eq. 1.4)}$$

avec $\mathbf{V_0}$ le volume de la cellule lorsque $\mathbf{\Psi_p}$ est nul, **V** le volume cellulaire et **ξ** le module d'élasticité de la paroi cellulaire.

2.3.2 Le processus de transpiration

Le processus de transpiration est primordial dans le fonctionnement de la plante. La transpiration limite le réchauffement de la feuille et présente une interaction forte avec la photosynthèse. Le maintien d'un approvisionnement stable en eau des feuilles est une exigence pour la croissance foliaire, les échanges gazeux et donc la fixation du carbone dans les plantes (Zimmermann, 1983; Tyree & Ewers, 1991; Maherali, 2004). Le compromis entre le gain de carbone avec la photosynthèse et la perte d'eau par transpiration se fait via les stomates à la surface de la feuille (von Caemmerer & Farquhar, 1981; Boyer *et al.*, 1997). Les deux substrats y parcourent le même trajet en sens inverse. Finalement, la transpiration est à l'origine du gradient de potentiel entre les cellules qui est moteur des mouvements d'eau au sein de la plante. Ainsi la transpiration est une conséquence nécessaire du

besoin de la plante de maintenir un échange gazeux rapide dans les feuilles, et de transporter les nutriments et les régulateurs de croissance dans toute la plante (Martre *et al.*, 2001).
Les mécanismes de la circulation de l'eau induit par la transpiration ont été formulés par Dixon & Joly (1895). D'après cette théorie, l'eau est tirée vers le haut, depuis le sol, par la transpiration. L'énergie reçue à la surface des feuilles crée une différence de pression de vapeur d'eau entre la surface foliaire et l'intérieur de la feuille qui entraîne une évaporation de l'eau (passage de l'état liquide à l'état de vapeur). L'évaporation à l'interface air-eau génère des tensions dans les parois. Ces tensions créent un gradient de potentiel hydrique dans la feuille qui se propage du limbe, aux gaines et jusqu'aux racines par l'intermédiaire des vaisseaux du xylème. En conséquence l'eau du sol est absorbée par les racines pour restaurer le statut hydrique de chacun des organes. Cette dynamique illustre un continuum sol-plante-atmosphère, dans lequel la circulation de l'eau est régulée par les différences de Ψ_w entre ces compartiments. Ainsi le potentiel hydrique dans la plante varie selon la position de l'organe considéré. Cette théorie de l'ascension de l'eau est appelée théorie de la tension-cohésion (Steudle, 1995) et a été très largement validée. En absence de transpiration, il peut exister des différences suivant le tissu considéré et notamment induites par la croissance (Westgate & Boyer, 1984).
En plus de la variabilité spatiale, Ψ_w change pour un tissu donné pendant la journée. La valeur de Ψ_w qui est élevée pendant la nuit diminue au lever du jour, avec l'apparition de la transpiration. L'inverse se produit en période nocturne.

2.3.3 Trajet axial et extravasculaire de l'eau

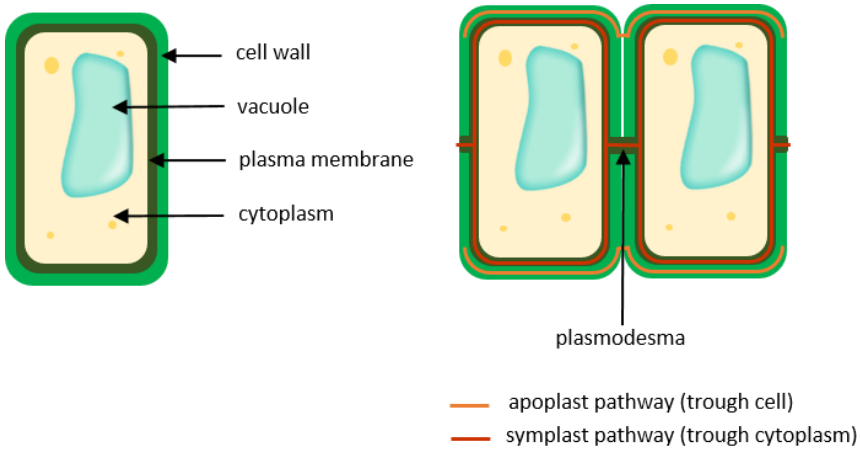


Fig. 1.2. Schéma d'une cellule végétale (d'après Hopkins & Hüner, 1995***) (A) ; et schéma des voies apoplastiques (orange) et symplastiques (rouge) empruntées par l'eau lors de trajet extravasculaire (B).***

Les cellules végétales contiennent une vacuole dans laquelle est stockée l'eau et les solutés, et un cytoplasme limité par une membrane plasmique, le tout entouré par une paroi plus ou moins rigide (Fig. 1.2). Les cytoplasmes des cellules peuvent communiquer entre eux par l'intermédiaire des plasmodesmes, canaux extrêmement fins qui traversent les parois (Fig. 1.2). Ces communications permettent le transport de l'eau, de nutriments, de molécules de signalisation, notamment celles qui initient ou régulent la transcription des gènes. L'ensemble des cytoplasmes en communication est appelé symplasme. L'apoplasme est le continuum extérieur à la cellule dans lequel l'eau et les solutés peuvent circuler : il est constitué par les parois, les espaces vides entre les cellules et surtout les éléments conducteurs de la sève brute (Fig. 1.2). Le xylème appartient à l'apoplasme tandis que le phloème appartient au symplasme.

Pour les trajets extravasculaires, l'eau peut donc emprunter plusieurs voies parallèles :

(i) à travers les parois cellulaires, c'est la voie apoplastique ;
(ii) de cellule à cellule via les plasmodesmes, c'est la voie symplastique.

Lorsque le flux de transpiration est important, l'eau emprunte la voie apoplastique qui a une conductivité hydraulique importante (Steudle *et al.*, 1987). A l'inverse, lorsque la transpiration est faible, la voie apoplastique est alors moins efficace et l'eau et les solutés empruntent alors la voie symplastique malgré sa faible conductivité hydraulique (Steudle & Peterson, 1998).
Le chargement du phloème a été décrit comme apoplasmique ou symplasmique selon la présence ou l'absence de plasmodesmes le long de la voie de chargement (Botha, 2005). Si des plasmodesmes sont présents alors le processus de chargement est supposé être, au moins en partie, symplasmique et alternativement, si les plasmodesme sont absents, le processus est considéré comme apoplasmique.

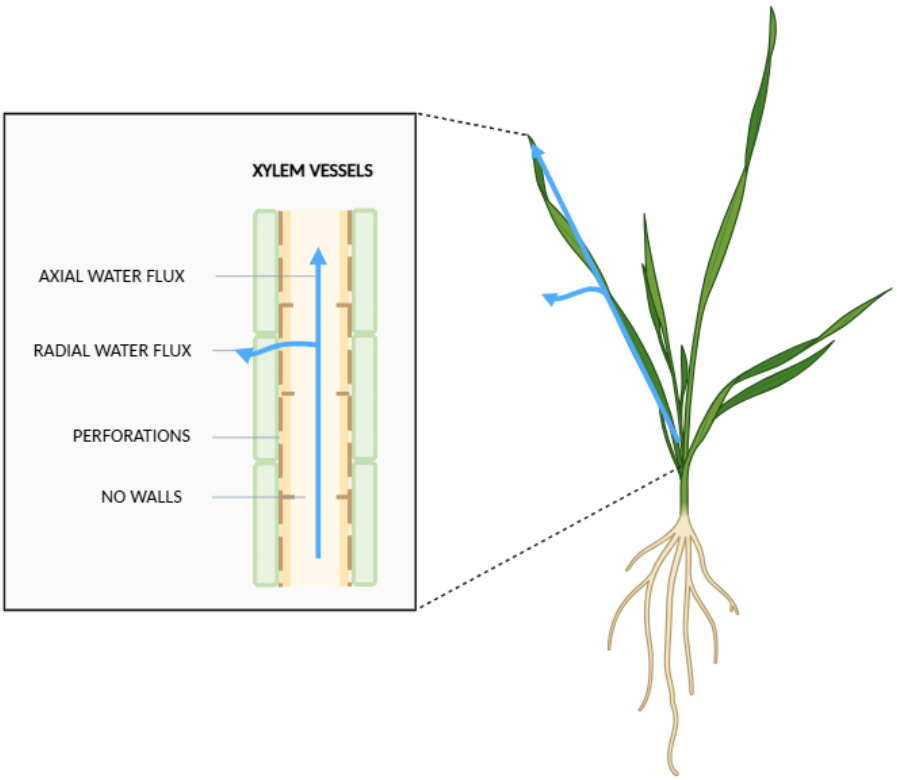


Fig. 1.3. Illustration des flux axial et radial de l'eau dans la plante.

Les flèches droites (↘) représentent le flux axial et les flèches ondulées (↘) le flux radial.

Par conséquent l'eau suit différentes étapes de circulation à travers la plante depuis le sol jusqu'aux surfaces d'évaporation. Dans un premier temps, l'eau passe du sol à la vacuole des racines puis l'eau est transportée radialement vers les vaisseaux du xylème. De la surface des racines jusqu'aux vaisseaux du cylindre central, elle circule dans les parois (par voie apoplastique) et traverse les membranes cellulaires (Passioura, 1988). Ensuite, l'eau suit un flux axial dans les conduits du xylème, sur un trajet de « longues distances ». Puis l'eau emprunte un trajet extravasculaire radial, essentiellement dans les parois, à travers les parties aériennes sur de « courtes distances ». Finalement, l'eau est perdue par transpiration, participe aux variations de volume des tissus matures, ou participe à l'expansion cellulaire des tissus en croissance. Ainsi, il existe deux flux assurant la circulation d'eau dans une plante : un flux axial dans les conduits du xylème, pour les trajets de « longues distances » ; et un flux

radial correspondant au trajet extravasculaire à travers les parties aériennes nommé flux radial, pour les « courtes distances » (Fig 1.3).

2.4 VASCULARISATION DES POACEAE

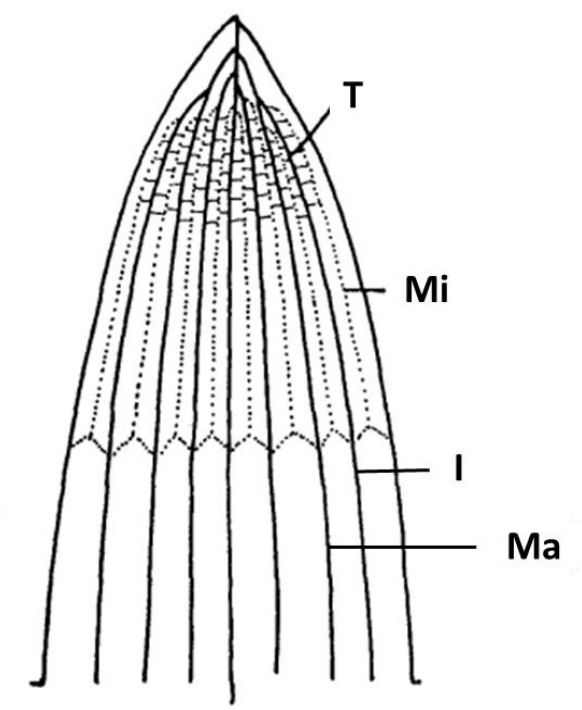


Fig. 1.4. Diagramme des faisceaux vasculaires dans le limbe de feuilles de monocotylédones. Faisceaux majeurs (Ma), intermédiaires (I), mineures (Mi) et transversaux (T). Figure adaptée de Nelson & Dengler (1997).

Les feuilles sont composées de faisceaux vasculaires longitudinaux parallèles, qui convergent et fusionnent à la pointe du limbe. On distingue les faisceaux majeurs, intermédiaires et mineurs qui s'intercalent sur toute la largeur du limbe (Esau, 1943; Patrick, 1972) (Fig. 1.4). Ces faisceaux longitudinaux sont connectés entre eux par des faisceaux transversaux (Blackman, 1971). Les faisceaux majeurs sont les plus gros, ils assurent le transport à longue distance de l'eau et des assimilats entre la feuille et les autres organes de la plante (Altus & Canny, 1982). Réciproquement, les faisceaux intermédiaires et mineurs assurent la distribution de l'eau et la collecte des assimilats dans le limbe, qui sont ensuite redistribués aux faisceaux majeurs via les faisceaux transversaux (Altus & Canny, 1982). Le xylème et le phloème sont les tissus conducteurs d'eau et de nutriments à l'échelle de la plante.

Chez la plupart des Poaceae, les vaisseaux conducteurs du xylème sont constitués de cellules aux parois transversales partiellement ou totalement perforées (Cheadle, 1942; Fahn, 1954; Esau, 1965). L'empilement d'éléments de vaisseaux communiquant entre eux par des perforations forme un tube rigide, creux, limités par des parois terminales qui ne se perforent pas. Les vaisseaux sont reliés entre eux par des ponctuations. Lors de son développement, le xylème forme d'abord ce qu'on appelle le protoxylème avant de se différencier en métaxylème. Le protoxylème est situé au centre et est entouré de métaxylème de petits et grands diamètres, et de cellules du parenchyme.

En contraste avec le xylème, le phloème se caractérise par un ensemble de cellules vivantes en tubes criblés, qui leur permettent de communiquer entre elles (Esau, 1939). Des cellules compagnes sont accolées à ces tubes. Initialement, le phloème se forme à travers le protophloème qui, au cours de son

développement, se transforme en métaphloème (McCubbin & Braun, 2021). Le protophloème correspond morphogénétiquement au protoxylème et le métaphloème au métaxylème (Russow, 1972). Le phloème assure la translocation du carbone assimilé depuis les sites de synthèse des feuilles photosynthétiques vers les tissus hétérotrophes distaux, tels que les racines ou les zones de croissance des feuilles (Julius *et al.*, 2017). Le transport des photoassimilats s'effectue par flux massique, tel que décrit par Münch (1930).

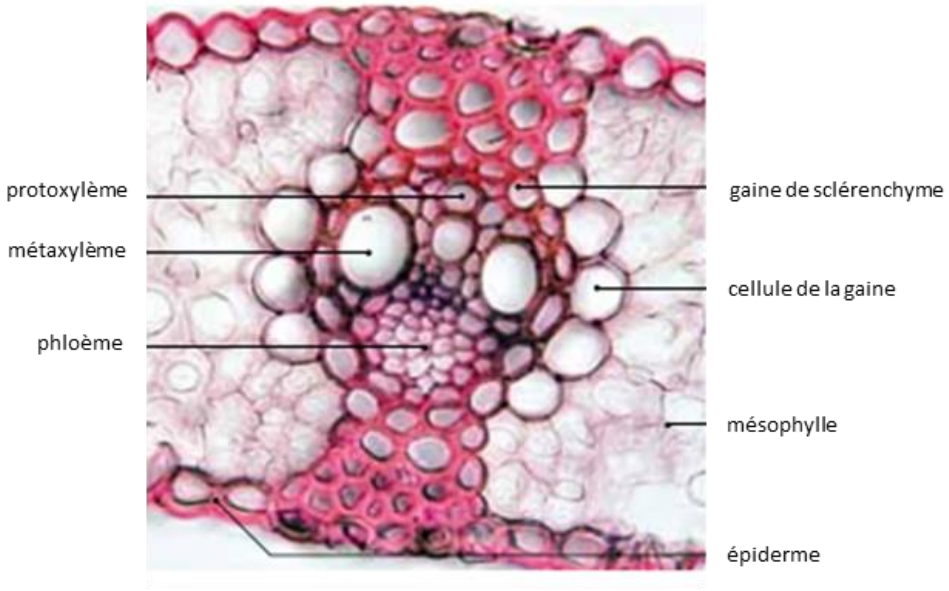


Fig. 1.5 Coupe transversale d'un limbe de blé (Boutin *et al.*, 2010)***.***

Les faisceaux majeurs sont constitués d'un pôle phloémien situé du côté de l'épiderme abaxial et d'un pôle xylémien, situé du côté de l'épiderme adaxial (Fig. 1.5). Les vaisseaux de protoxylème occupent une position centrale dans le pôle xylémien. Leur nombre varie de 3 à 5, et ils sont entourés de cellules de parenchyme xylémien ainsi que de vaisseaux de métaxylème de petit diamètre (Cheadle, 1942). Sur les deux côtés du faisceau, on observe la présence de deux vaisseaux de métaxylème de grand diamètre qui sont en contact avec des vaisseaux de métaxylème de petit diamètre et des cellules de parenchyme xylémien (Fig. 1.5).
Les faisceaux intermédiaires et petits présentent une organisation générale similaire à celle décrite pour les faisceaux majeurs. Cependant, les faisceaux intermédiaires ne possèdent pas de protoxylème ni de protophloème. De même, les faisceaux mineurs ne présentent pas non plus de métaxylème large (Dannenhoffer *et al.*, 1990).

III. Croissance foliaire chez les Poaceae

Chez les Poaceae, la zone de croissance se trouve physiquement séparée des tissus foliaires photosynthétiques et transpirants, ce qui facilite l'étude de la cinématique de la croissance et l'analyse de l'effet des contraintes environnementales sur les processus de croissance. Les principaux mécanismes de la mise en place de la série foliaire sont génériques à la plupart des Poaceae.
Cette troisième partie aborde la cinématique de la croissance dans un premier temps, puis la régulation hydrique et trophique de la croissance.

3.1 Cinématique de la croissance

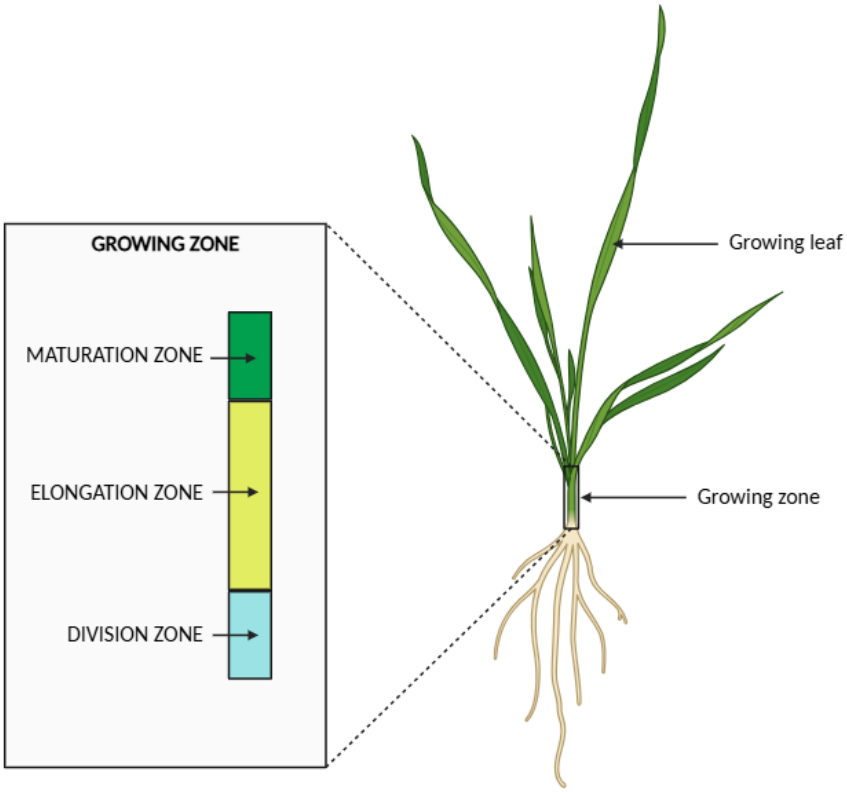


Fig. 1.6. Schéma d'une feuille de Poaceae en croissance.
Les cellules sont produites dans la zone de division cellulaire et s'en éloignent du fait de la production de nouvelles cellules. En même temps, les cellules s'allongent et deviennent matures. L'ensemble des zones de division, d'allongement et de maturation est appelé « zone de croissance foliaire ». La zone de croissance est cachée à l'intérieur des gaines des feuilles précédentes matures.

On définit la zone de croissance comme étant l'endroit où les tissus croissent en volume. Au-delà de la zone de croissance, les tissus continuent à croître en masse mais leur volume est fixé. Chez les Poaceae, la zone de croissance foliaire est située à la base de la feuille, à l'intérieur des gaines des feuilles précédentes (Sharman, 1945; Kemp, 1980) (Fig. 1.6). La zone de croissance évolue sur les dimensions spatiales et temporelles. Sa longueur maximale est généralement comprise entre 20 et 40 mm et la vitesse de croissance dépend de la vitesse de division cellulaire, de la vitesse et de la durée de l'expansion cellulaire (Volenec & Nelson, 1981). Ces deux processus, division et expansion, déterminent la taille finale de la feuille. Ils se produisent simultanément mais sont en grande partie séparés dans l'espace. Ainsi trois zones cellulaires sont distinguées au niveau de la base de la feuille en croissance, et évoluent au cours du développement de la feuille (Skinner & Nelson, 1994) (Fig. 1.6) :

(i) **Zone de division et d'allongement cellulaire** : Les cellules qui vont former la gaine, la ligule et le limbe sont issus de trois méristèmes distincts (Sharman, 1941; Skinner & Nelson, 1995). Ces méristèmes sont mis en place alors que la feuille n'est encore qu'un primordium (Esau, 1965). La zone de division se situe à la base de la zone de croissance. Sa longueur varie au cours du développement de la feuille. Une cellule doit atteindre une taille minimale pour pouvoir se diviser, la division cellulaire est donc indissociable de l'expansion cellulaire (Francis, 1992).

(ii) **Zone d'allongement cellulaire strict** : Au cours du développement de la feuille, la longueur de la zone d'allongement évolue parallèlement à la longueur de la zone de division (Durand, 1999). Elle est située après la zone de division. Il s'agit d'une zone de pure extension des

cellules existantes où il n'y a plus de nouvelle division. La taille des cellules augmente très fortement jusqu'à atteindre près de dix fois leur taille initiale à la sortie de la zone de division.

(iii) **Zone de maturation** : Les cellules ont atteint leur longueur maximale et deviennent fonctionnelles. L'appareil photosynthétique est mis en place, et les parois secondaires sont déposées dans les tissus de soutien. Cette zone est située entre la zone d'allongement et la pointe du limbe.

Les cellules sont donc produites à la base de la feuille, puis s'allongent principalement longitudinalement jusqu'à atteindre leur taille finale. Simultanément, et jusqu'à l'arrêt de la croissance foliaire, elles sont également éloignées de la base de la feuille par un nombre grandissant de cellules qui s'intercalent entre elles et la base de la feuille. Il y a donc, à des positions de plus en plus éloignées de la base de la feuille, des cellules à des stades de développement de plus en plus avancés, ce qui se traduit par un gradient de développement cellulaire le long de la feuille en croissance (Prat, 1948; Schnyder & Nelson, 1987).

La gaine et le limbe sont mis en place au niveau de la même zone de croissance, et se séparent dès la formation de la ligule au sein de la zone de croissance (Schnyder *et al.*, 1990). Les allongements du limbe et de la gaine sont séparés dans le temps, le limbe s'allonge en premier, mais il existe un intervalle de temps pendant lequel le limbe et la gaine s'allongent simultanément (Schnyder *et al.*, 1990). Cela permet de traiter les zones d'allongement de la gaine et du limbe comme une seule zone continue en termes d'allongement cellulaire (Kemp, 1980).

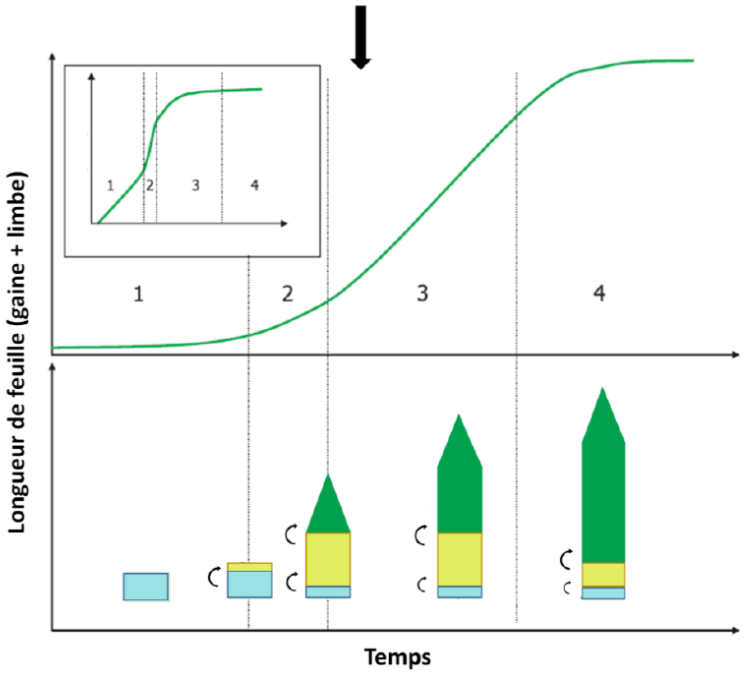


Fig. 1.7. Cinétique d'allongement de la feuille (gaine + limbe) en lien avec la longueur des trois zones cellulaires : la zone de division cellulaire (bleu), la zone de pur allongement cellulaire (jaune) et la zone mature (vert).

L'insert montre la cinétique avec une échelle logarithmique pour la longueur de la feuille. La cinétique d'allongement est découpée en quatre phases : deux phases successives d'allongement exponentiel (1 et 2), une phase d'allongement linéaire (3) et une phase d'allongement ralentie (4). La flèche noire en haut du schéma indique le moment de l'émergence de la feuille hors de la pseudo-tige (figure de Gauthier, 2022 adaptée de Fournier *et al.*, 2005).

L'évolution anatomique de la zone de croissance entraîne une dynamique de croissance de la feuille de type sigmoïdale. La mise en place de la surface foliaire dépend essentiellement de la vitesse de croissance foliaire plutôt que de la durée de croissance (Nelson *et al.*, 1977). Plusieurs auteurs ont décrit la vitesse d'allongement des feuilles en quatre phases successives (Williams, 1960; Ljutovac, 2002), générées par l'évolution dans le temps de la longueur des trois zones cellulaires (Skinner & Nelson, 1995; Durand, 1999; Fournier *et al.*, 2005) (Fig. 1.7) :

(i) **Première phase d'allongement exponentiel** : La feuille est composée uniquement de la zone de division cellulaire qui se met en place.
(ii) **Deuxième phase d'allongement exponentiel** : La vitesse d'allongement est plus élevée et devient maximale à la fin de cette phase.
(iii) **Troisième phase d'allongement quasi-linéaire** : La plus grande partie de la feuille est acquise. Les zones de division et d'allongement cellulaire atteignent leurs longueurs maximales et la plupart des cellules deviennent matures.
(iv) **Quatrième phase de ralentissement de la vitesse d'allongement de la feuille** : Les zones de division et d'allongement cellulaire régressent.

Durant les deux premières phases d'allongement exponentiel, la feuille est entièrement cachée au sein de la pseudo-tige. Au cours de la phase d'allongement linéaire, la feuille émerge de la pseudo-tige, une partie des tissus est donc exposée au rayonnement ce qui marque le début de l'activité photosynthétique de la nouvelle feuille.

Les divisions cellulaires sont préférentiellement transversales (Esau, 1965), rendant ainsi le nombre d'éléments qui s'allongent et leur allongement beaucoup plus important dans le sens de la longueur que dans la largeur ou l'épaisseur, et par conséquent la croissance totale plus importante en longueur qu'en largeur ou en épaisseur. La longueur d'une cellule est multipliée par 10 environ, alors que sa largeur n'augmente que de 50% entre le début et la fin de la zone de croissance longitudinale. Les feuilles s'élargissent et s'épaississent de manière marquée également dans la zone de croissance : la zone de croissance est une zone de croissance en longueur, en largeur et en épaisseur. La largeur augmente à la base, puis reste stable dans la partie médiane et enfin diminue vers la pointe de la feuille. L'épaisseur augmente également à la base, mais diminue de manière régulière dès 50 mm et ce jusqu'à la pointe, contrairement à la largeur. L'augmentation de largeur et d'épaisseur se poursuit plus loin le long de la feuille et plus longtemps que la croissance en longueur (jusqu'à 70-80 mm de la base). La vitesse relative de l'allongement des cellules en largeur et en épaisseur est maximale à la base de la feuille, entre 0 et 5 mm depuis la base, tandis que la vitesse relative d'allongement en longueur atteint son maximum entre 10 et 20 mm de la base.

Les dynamiques cellulaires sont à l'origine de dépôts importants de carbone, azote et eau dans la zone de croissance.

3.2 REGULATION HYDRIQUE DE LA CROISSANCE FOLIAIRE

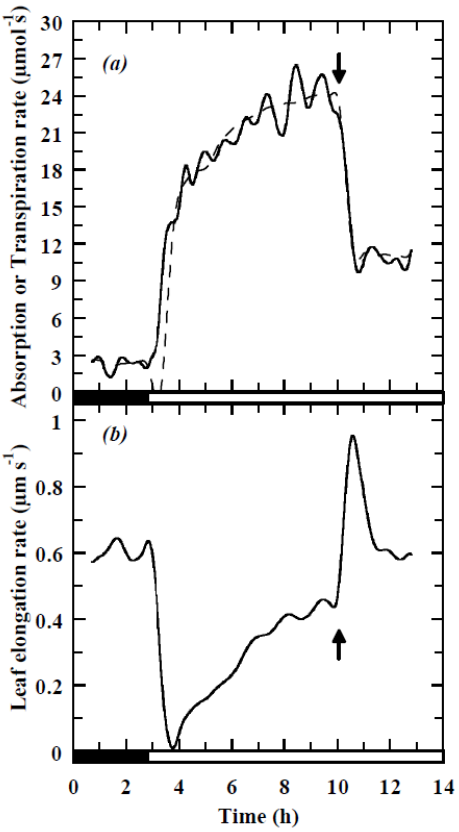


Fig. 1.8. Évolution dans le temps des taux de transpiration (–) et d'absorption (--) (a), et taux d'allongement de la troisième feuille d'une talle de fétuque élevée (b).

La période nocturne du cycle est indiquée par un rectangle noir sur l'axe des x. Figure de Martre (1999).

La transpiration entre en compétition avec le mécanisme de croissance pour la ressource en eau. La transpiration nocturne est plus faible qu'en conditions diurnes, voire quasi-nulle, ce qui favorise la croissance foliaire pendant cette période durant laquelle la vitesse d'allongement est maximale (Fig. 1.8). La totalité de l'eau affluant dans la feuille en croissance est consommée par la croissance, la transpiration étant négligeable. L'entrée d'eau dans les cellules conduit à une augmentation irréversible de leur volume (McIntyre, 1987). Le calcul du dépôt d'eau, tel que présenté par Schnyder & Nelson (1987, 1988), met en évidence la corrélation entre ce taux et celui de l'allongement des cellules.

Cependant, à l'échelle de la plante, la quantité d'eau nécessaire à la croissance est très faible (< 5% du flux total) par rapport à la transpiration (90%) (étude sur tournesol menée en conditions contrôlées par Boyer, 1974). La demande d'eau pour la transpiration est proportionnelle à la surface des limbes exposés au rayonnement, ainsi la transpiration d'une feuille est proportionnelle à l'intégrale de la vitesse d'allongement de la feuille sur la durée de sa croissance.

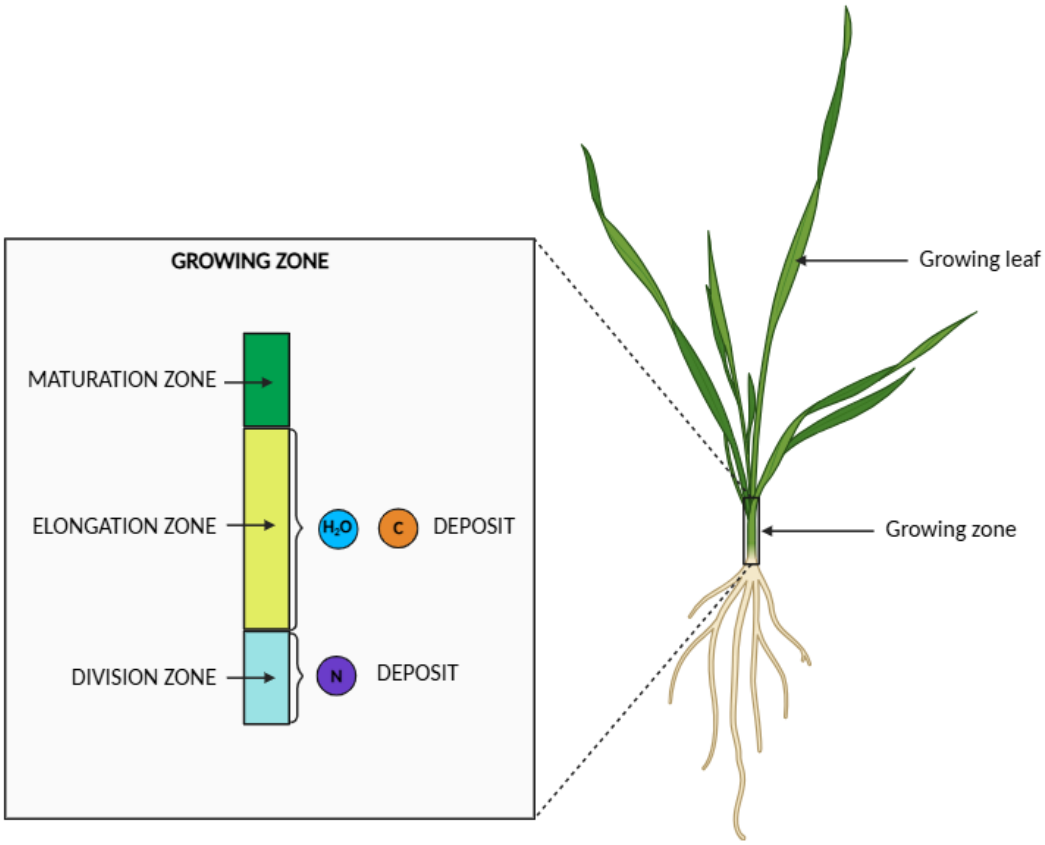


Fig. 1.9. Schéma d'une feuille de Poaceae en croissance et les principales zones d'incorporation de matière (figure adaptée avec les données de Maurice, 1997)***.***
L'azote se dépose dans les premiers millimètres de la zone de croissance, nommée zone de division. L'incorporation du carbone et de l'eau se fait conjointement dans la zone d'allongement

Pour qu'il y ait croissance cellulaire, il faut simultanément une entrée d'eau dans la cellule, une extension des parois et une accumulation de solutés pour maintenir les potentiels osmotiques et de turgescence internes (Boyer, 1985; Cosgrove, 1986; Passioura & Fry, 1992). La croissance est initiée par un relâchement de la paroi, qui se déforme et augmente sa surface sous l'effet de la pression hydraulique interne et grâce à ses propriétés plastiques (Boyer, 1985; Cosgrove, 1986, 1987). Cette déformation induit une baisse de la tension au niveau de la paroi et du potentiel de turgescence interne de la cellule. Il en résulte une diminution de même amplitude du potentiel hydrique interne et l'établissement d'un gradient de potentiels entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule, responsable de l'entrée d'eau dans la cellule (Boyer, 1985; Cosgrove, 1986, 1987). Contrairement aux cellules matures, l'entrée d'eau dans une cellule en croissance n'est pas auto-limitée car le gradient de potentiel hydrique se maintient à un niveau constant tant que le relâchement des parois perdure. Ce dernier donne le caractère irréversible à l'expansion (Cosgrove, 1993), la distinguant ainsi des variations réversibles dans les tissus matures.

De nombreux travaux concernant l'étude de la croissance ont été structurés autour de l'approche développée par Lockhart (1965). Il a formulé une équation du taux d'allongement de la cellule en fonction des paramètres physiques susceptibles d'affecter l'expansion cellulaire. Il considère une cellule comme un cylindre de rayon constant, en conditions isothermes. Ce modèle repose sur les deux hypothèses suivantes :

(i) La cellule se comporte comme un simple osmomètre.

(ii) La paroi cellulaire se comporte comme un polymère viscoélastique linéaire, dont l'épaisseur est maintenue constante par le dépôt continu de nouveaux matériaux.

L'auteur a mis en évidence la corrélation entre le potentiel de turgescence et la vitesse relative d'allongement de la cellule. Il a également observé qu'un potentiel de turgescence minimal est nécessaire pour qu'il y ait un allongement de la cellule. Il interprète donc le grandissement cellulaire comme un phénomène viscoélastique à seuil.

L'aspect hydraulique décrit le flux d'eau entrant, qui est induit par la différence de potentiel hydrique entre l'intérieur de la cellule et son milieu extérieur. La variation relative du volume cellulaire, correspondant à ce flux d'eau entrant dans la cellule en croissance, peut être exprimée par :

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = L_p \frac{A}{V}\left(\psi_{w,outside} - \psi_{w,inside}\right) \qquad \text{(Eq. 1.5A)}$$

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = L\left(\psi_{w,outside} - \psi_{w,inside}\right) \qquad \text{(Eq. 1.5B)}$$

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = L\left[\psi_p - \sigma_m\left(\psi_{\pi,outside} - \psi_{\pi,inside}\right)\right. \qquad \text{(Eq. 1.5C)}$$

où **L** est la conductance hydraulique volumique de la cellule (mol m^{-3} s^{-2} MPa^{-1}), qui dépend de **V** le volume de la cellule, **A** sa surface (m^2) et $\mathbf{L_p}$ la conductivité hydraulique de la membrane plasmique (mol m^{-2} s^{-2} MPa^{-1}). $\boldsymbol{\psi_{outside}}$ et $\boldsymbol{\psi_{inside}}$ sont les potentiels (hydriques **w**, osmotiques $\boldsymbol{\pi}$ et de turgescence **p**) du milieu extérieur et de la cellule (MPa), $\boldsymbol{\sigma_m}$ est le coefficient de réflectivité de la membrane (sans dimension).

Dans une deuxième équation, il rend compte de l'aspect mécanique. Pour que puisse augmenter significativement le volume cellulaire, il faut une extension irréversible des parois. D'autre part, la vitesse d'accroissement du volume est proportionnelle au potentiel de turgescence. Ainsi :

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = \phi\left(\psi_p - \Gamma\right) \qquad \text{(Eq. 1.6)}$$

où **V** est le volume de la cellule (m^3), $\boldsymbol{\phi}$ est le coefficient d'extensibilité de la paroi qui intègre la rhéologie et la géométrie de la paroi (s^{-1} MPa^{-1}), $\boldsymbol{\psi_p}$ est le potentiel de turgescence et Γ est le potentiel de turgescence seuil permettant l'allongement cellulaire (MPa).

L'idée principale de l'approche de Lockhart fut de coupler les aspects mécaniques et hydrauliques de la croissance. Lorsque la cellule est en régime permanent de croissance, le relâchement des parois et l'absorption d'eau se produisent de manière simultanée. Dans le cas de cellules ayant une direction mono-dimensionnelle, l'allongement est proportionnel à l'augmentation de volume. $\boldsymbol{\psi_p}$ apparaît comme le lien qui coordonne l'offre et la demande en eau. La combinaison des équations Eq. 1.5c et Eq. 1.6 en éliminant $\boldsymbol{\psi_p}$, permet d'exprimer la vitesse relative d'expansion cellulaire :

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = \frac{L\phi}{L+\phi}\left(\sigma_m\left(\psi_{\pi,outside} - \psi_{\pi,inside}\right) - \Gamma\right) \qquad \text{(Eq. 1.7)}$$

Ainsi, l'expansion cellulaire repose sur un couplage étroit entre les flux d'eau et les modifications rhéologiques de la paroi cellulaire. Trois étapes doivent être satisfaites de manière coordonnée pour que la croissance soit soutenue :

(i) Le potentiel de turgescence cellulaire transmet des contraintes de tension dans la paroi cellulaire, qui s'étire de manière irréversible lorsqu'un potentiel de seuil est dépassé.

(ii) Cette déformation s'accompagne d'un écoulement d'eau passif régi par le gradient de potentiel hydrique entre la cellule et la source d'eau.

(iii) Ce gradient est activement maintenu par des ajustements du potentiel osmotique cellulaire, qui à son tour génère une pression de turgescence cellulaire.

Développé et validé à l'origine sur des cellules d'algue, le modèle de Lockhart a été vérifié par des données expérimentales sur plusieurs espèces végétales à l'échelle de la feuille (Bunce, 1977; Bouchabké *et al.*, 2006; Ehlert *et al.*, 2009).
Certaines limites et lacunes ont été identifiées. Green *et al.* (1971) et Zhu & Boyer (1992) ont montré que ψ_p ne contrôle pas à lui seul la vitesse d'allongement des cellules. Passioura & Fry (1992) ont proposé un modèle dans lequel Y et ϕ varient pour maintenir la vitesse d'allongement constant quelle que soit la valeur de ψ_p.
L'hypothèse implicite d'un comportement purement viscoplastique de la paroi n'a pas été démontrée sur des tissus en croissance intacts (Moulia, 1986; Cosgrove, 1993; Nolte & Schopfer, 1997). Ortega (1985) a complété le modèle d'expansion cellulaire irréversible (plastique) de Lockhart, avec un terme pour les changements dimensionnels cellulaires réversibles (élastique). Les parois cellulaires font partie de la voie de l'apoplasme qui transporte l'eau, les solutés et les nutriments vers les cellules des tissus végétaux (Fig. 2). Les déformations irréversibles des parois lors de la croissance expansive contrôlent l'élargissement, la taille et la forme des cellules. Les parois cellulaires en croissance et matures (non en croissance) subissent des déformations élastiques après des changements de potentiel de turgescence causés par des changements dans l'état de l'eau et les conditions environnementales. Les déformations élastiques des parois sont fondamentales pour les relations hydriques des cellules végétales.
L'équation de la vitesse relative d'expansion cellulaire s'écrit alors :

$$\frac{1}{V}\frac{dV}{dt} = \Phi\left(\psi_p - \Gamma\right) + \frac{1}{\xi}\frac{d\psi_p}{dt} \quad \text{(Eq. 1.8)}$$

où **ξ** est le module d'élasticité global (ou module d'Young) de la cellule en croissance.
Par conséquent, en utilisant des paramètres biomécaniques tels que l'élasticité et l'extensibilité des tissus, le modèle quantifie les changements dimensionnels induits par la turgescence. L'élasticité des tissus fait référence à des changements réversibles d'après Ortega (1985), tandis que l'extensibilité correspond à une croissance irréversible selon l'équation de Lockhart (1965).

3.3 Regulation trophique de la croissance

Lorsque la pointe de la feuille est encore cachée dans les gaines, la feuille possède un statut de puits exclusif (Dale, 1985; Turgeon, 1989). Les besoins de la zone de croissance foliaire ne peuvent être satisfaits que par l'importation d'assimilats provenant d'une autre partie de la plante (Fig. 1.9). Après l'émergence du limbe, l'assimilation photosynthétique du carbone peut se produire et la feuille satisfait alors progressivement les besoins liés à sa propre croissance, puis exporte des assimilats vers d'autres puits dans la plante. Bregard & Allard (1999) ont montré que la transition de puits à source de la feuille en croissance se produit lorsque le limbe mesure environ 80% de sa longueur finale chez la fétuque élevée en croissance végétative.

3.3.1 Croissance foliaire et carbone

Les NSC représentent entre 30 et 60% de la matière sèche (MS) dans la zone de croissance (Volenec & Nelson, 1984; Macadam & Nelson, 1987; Allard & Nelson, 1991). Ils sont le plus abondants dans la partie de la feuille où l'allongement est maximal, ce qui implique un fort dépôt pour compenser leur utilisation pour la formation des parois et la respiration de croissance. Parmi le carbone déposé dans

la zone de croissance, 25% assurent la respiration de croissance (Ruget, 1981). Le saccharose est fortement présent à la base de la zone de croissance, tandis qu'à la fin de la zone on retrouve majoritairement le glucose et le fructose. Les fructanes sont abondants tout au long de la feuille (Van Soest *et al.*, 1991). L'amidon est peu présent dans les parties végétatives des Poaceae (Van Soest *et al.*, 1991).
Le carbone nécessaire est importé vers la zone de croissance sous forme de saccharose (Schnyder & Nelson, 1987), essentiellement dans la partie basale. 52% du saccharose sont utilisés dans des processus de biosynthèse, tandis que le reste est utilisé pour maintenir les concentrations en NSC dans les tissus. La polymérisation en fructanes permet de maintenir une entrée forte de saccharose et d'eau (Schnyder *et al.*, 1988). Les fructanes permettent d'assurer trois fonctions pour la plante qui sont le stockage des glucides, le déchargement du saccharose du phloème et le maintien du potentiel osmotique (Schnyder *et al.*, 1988). Les fructanes sont ensuite dépolymérisés en fructose notamment, quand les tissus sont déplacés vers la zone de maturation pour assurer les processus de synthèse des parois secondaires et la mise en place de l'appareil photosynthétique (Schnyder *et al.*, 1988; Allard & Nelson, 1991). Des concentrations seuils de saccharose sont nécessaires à la synthèse du fructane, et l'accumulation se produit généralement lorsque l'offre de saccharose dépasse la demande (Wagner *et al.*, 1983; Pollock, 1986). Le stockage et la synthèse des fructanes se situent dans la vacuole des cellules (Wagner *et al.*, 1983).
Malgré ses fonctions indispensables, le carbone est rarement un facteur limitant de la croissance (en conditions agronomiques usuelles), car il est assimilé en grande quantité relativement aux besoins de la croissance (McIntyre, 2001).

3.3.2 Croissance foliaire et azote

L'azote possède un rôle central sur la croissance de la plante. Il influe sur la répartition de la croissance entre les parties aérienne et racinaire. Ainsi, une nutrition azotée non limitante favorise le développement de la surface foliaire et l'interception de la lumière (Gastal & Saugier, 1986) au détriment de la croissance racinaire (Song, 1992).
Dans une feuille en croissance, la teneur en azote est la plus importante à la base de la zone de croissance, diminue fortement le long de la zone d'allongement, puis se stabilise voire augmente légèrement le long de la zone de maturation, pour enfin diminuer progressivement vers la pointe de la feuille, en relation avec la diminution de la largeur de la feuille (Gastal & Nelson, 1994; Maurice, 1997).
Les protéines et les acides nucléiques constituent la forme d'azote la plus abondante, en particulier à la base de la zone de croissance, où ils peuvent représenter jusqu'à 50% de la MS (Gastal & Nelson, 1994). Ceci est lié à l'activité de division cellulaire qui se déroule à la base de la zone de croissance, et les grands besoins en acides nucléiques et en polypeptides qui en résultent. Un dépôt important est nécessaire pour maintenir une concentration élevée de ces formes azotées dans une zone en croissance. Le dépôt de protéines et d'acides nucléiques est important près de la base de la feuille, il diminue de manière marquée dans la zone d'allongement. Des dépôts faibles mais significatifs sont néanmoins observés à la fois dans la zone de maturation et dans les parties de la feuille exposées à la lumière. Dans les tissus matures, une partie non négligeable des protéines se trouve dans les parois cellulaires, et représente environ 10% de l'azote total (Wilman *et al.*, 1977).
Les acides aminés et les petits peptides sont nettement moins abondants que l'azote protéique, et suivent une diminution continue de la base à la pointe de la feuille. Leur dépôt net, sensiblement constant tout au long de la zone de croissance, est pratiquement nul plus loin de la base de la feuille.
L'azote nitrique est peu abondant dans la partie basale de la zone d'allongement. Il augmente de manière significative le long de la zone de croissance, et atteint 12% de l'azote total dans la partie distale de la feuille en croissance non carencée en azote (Gastal & Nelson, 1994). Son taux de dépôt est maximal là où le taux relatif de croissance est maximal, c'est-à-dire autour de 10 à 15 mm de la base de la zone de croissance. Néanmoins, l'activité Nitrate Réductase n'est pas observée en dessous de 100 mm de la base de la feuille, ce qui implique que l'ensemble de l'azote utilisé dans ces segments

est apporté sous forme réduite à partir des tissus matures (Gastal & Nelson, 1994). L'augmentation de la concentration en NO_3^- dans les tissus est concomitante à l'augmentation de la taille des cellules et de leur vacuole où les nitrates s'accumulent préférentiellement. Ainsi, les cellules de la base de la feuille, qui sont dans les premiers stades du développement, possèdent de petites vacuoles, ce qui limiterait l'accumulation de NO_3^- (Gastal & Nelson, 1994).
Bien qu'il ne soit nécessaire qu'en quantité beaucoup plus faible que l'eau et le carbone, l'azote est le nutriment minéral qui limite le plus fréquemment la croissance des plantes (Gastal *et al.*, 1992), du fait de sa disponibilité limitée sous forme facilement assimilable dans les conditions naturelles, mais aussi de par son rôle crucial dans la synthèse des protéines.

3.4 VASCULARISATION DE LA FEUILLE EN CROISSANCE

MacAdam (1988) a montré l'existence d'éléments de protoxylème dans la zone en croissance, assurant le transfert de l'eau dans cette zone. D'importantes déformations des vaisseaux du protoxylème se produisent, indiquant l'existence d'éléments fonctionnels de xylème mature et immature dans la zone de croissance (Rayan & Matsuda, 1988). Martre (1999) a établi dans le cadre de sa thèse qu'il existe une continuité hydraulique entre le protoxylème et le métaxylème le long de la zone de croissance, permettant d'assurer la continuité hydraulique du xylème entre les parties en croissance et mature de la feuille. En effet, la structure annelée du protoxylème et sa maturation est échelonnée dans le temps (Esau, 1943), provoquant un chevauchement des vaisseaux du protoxylème et du métaxylème au-delà de la zone de croissance.
La différenciation du phloème suit un schéma similaire à celui du xylème. La vitesse de différenciation des tubes criblés est suffisante pour maintenir une continuité du protophloème dans la zone de croissance des feuilles de blé (Patrick, 1972). Ainsi le protophloème assure le transport des photosassimilats à travers la zone de croissance.

IV. INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT ET EFFETS DU CHANGEMENT CLIMATIQUE, EN ZONE TEMPEREE OCEANIQUE

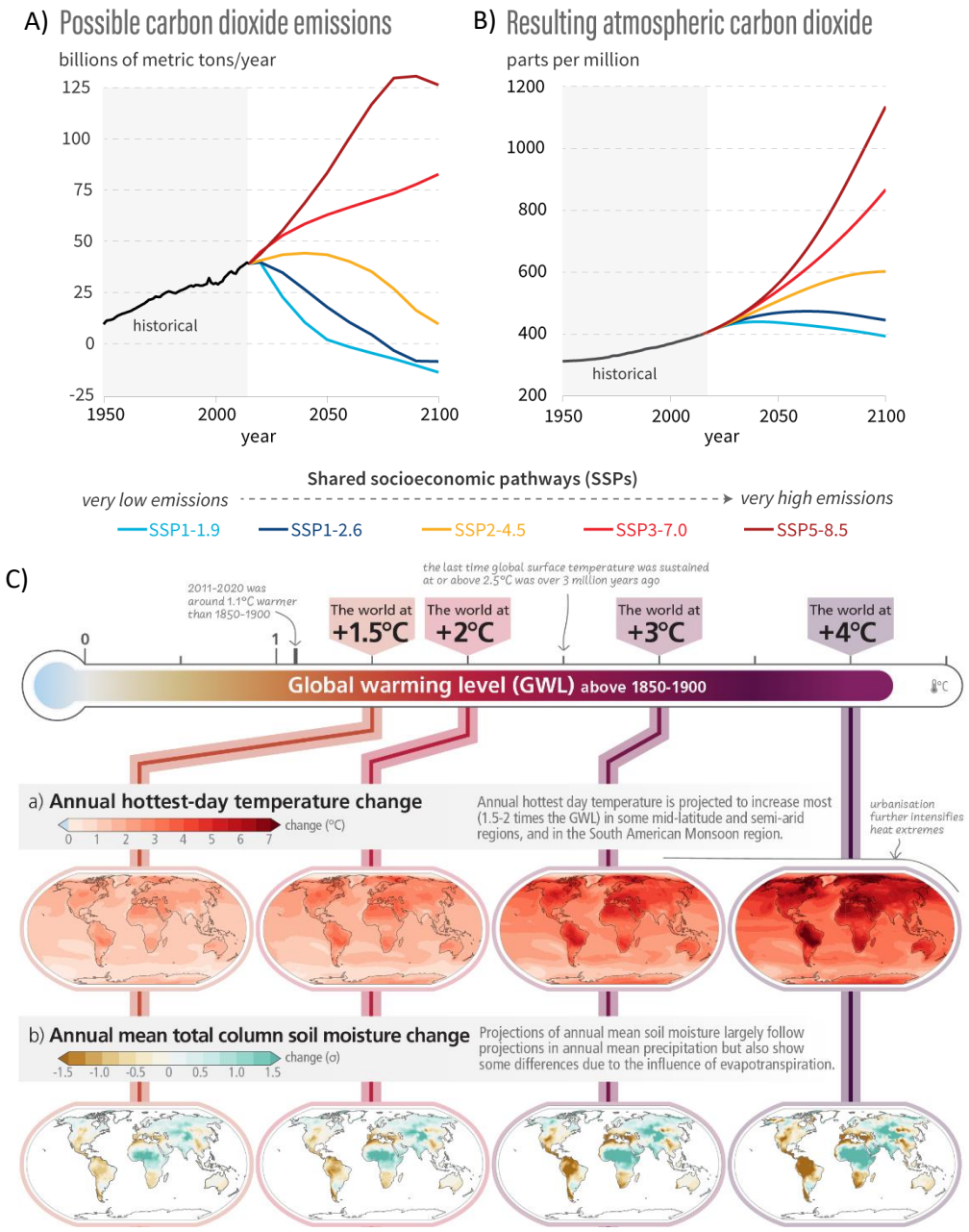


Fig. 1.10. Évolutions possibles des émissions mondiales annuelles de CO_2 (A), des concentrations atmosphériques de CO_2 qui en résultent (B), de la température maximale quotidienne annuelle et de l'humidité totale moyenne annuelle du sol (C), jusqu'à la fin du siècle.

Ces futurs possibles reposent sur différentes trajectoires socioéconomiques partagées (SSP). Chaque trajectoire est un ensemble cohérent d'hypothèses sur la croissance démographique future, l'activité économique mondiale et régionale, et les avancées technologiques. Par souci de simplicité, les graphiques ne présentent que la valeur moyenne prédite par les modèles climatiques pour chaque trajectoire. Graphique NOAA Climate.gov adapté de IPCC (2023).

La figure (C) montre les variations médianes du multimodèle CMIP6 à des niveaux de réchauffement climatique de 1.5 °C, 2 °C, 3 °C et 4 °C par rapport à 1850–1900. Dans le panneau (b), l'unité est l'écart type de la variabilité interannuelle de l'humidité du sol entre 1850 et 1900. L'écart type est une mesure largement utilisée pour caractériser la gravité des sécheresses. Une réduction projetée de l'humidité moyenne du sol d'un écart type correspond aux conditions d'humidité du sol typiques des sécheresses survenues environ tous les six ans entre 1850 et 1900. IPCC (2023).

Le changement climatique se traduit par des variations dans la composition du CO_2 atmosphérique et les régimes de température et de précipitation, ainsi qu'une fréquence croissante des phénomènes météorologiques extrêmes (Fig. 1.10).
Parallèlement au constat de grande stabilité structurale, il apparaît que les Poaceae présentent une grande plasticité phénotypique d'un point de vue morphologique (Duru *et al.*, 2001). La plante présente la capacité de développer des architectures très contrastées en réponse au milieu (Bradshaw, 1965), notamment en termes de vitesse d'allongement, de dimensions, de nombre et de composition biochimique des organes. En réponse, l'architecture des plantes influence leur capacité à interagir avec leur environnement, par exemple en ce qui concerne le rayonnement et le CO_2. Ainsi, il existe de nombreuses interactions entre l'architecture aérienne et l'environnement de la plante (Forde, 1966; Duru *et al.*, 2001; Smit & Combrink, 2005; Semmartin & Ghersa, 2006). En conséquence, il est attendu que les variables physiques du changement climatique affectent la croissance foliaire.
Cette section du manuscrit présente les impacts de ces variables climatiques qui ont été rapportés sur la morphogénèse des Poaceae.

4.1 CO_2

Le CO_2 affecte directement les plantes via des impacts sur les échanges gazeux photosynthétiques et les processus de développement en aval (Ainsworth & Long, 2005). Une concentration élevée de CO_2, avec des niveaux variant de 475 à 600 ppm, a stimulé les taux d'assimilation du carbone photosynthétique de 31% en moyenne sur 40 espèces qui ont été étudiées lors de douze expériences d'enrichissement en CO_2 à l'air libre (FACE) (Ainsworth & Long, 2005). La méta-analyse menée par Ainsworth & Long (2005) a révélé que la biomasse aérienne a augmenté en moyenne de 20% parmi les espèces en C_3. L'augmentation de la biomasse aérienne se traduit par une hausse significative du rendement en grains de nombreuses espèces, comme le blé (Hatfield *et al.*, 2011). Il a également été observé que la biomasse racinaire augmentait de manière significative (Madhu & Hatfield, 2013).

4.2 Température

L'augmentation des concentrations de gaz à effet de serre a contribué à une augmentation de la température de surface moyenne mondiale (Hartmann *et al.*, 2013). En plus d'une augmentation constante des températures moyennes mondiales de fond, les plantes subiront également un stress thermique en raison de l'augmentation de la fréquence, de l'intensité et de la durée des vagues de chaleur (IPCC, 2014). Contrairement au CO_2 atmosphérique, qui est assez uniforme à travers le monde, les prévisions futures de la température de surface mondiale varient considérablement selon les régions géographiques. Les facteurs spécifiques aux espèces liés aux changements dans le développement et la physiologie des plantes influencent également le rendement en réponse à la température (Hatfield *et al.*, 2011). Outre la morphologie des feuilles et le taux d'émergence qui sont extrêmement sensibles à la température, la variabilité des taux d'assimilation photosynthétique du carbone constitue un exemple clair de la façon dont une température élevée modifie la physiologie des plantes. La ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubsico) catalyse la fixation du CO_2 de l'atmosphère en composés organiques dans la plante. Alors que le Rubisco est thermostable jusqu'à 50°C (Crafts-Brandner & Salvucci, 2000), les limitations de la photosynthèse à des augmentations de température plus modérées peuvent s'expliquer par la fonction réduite de Rubisco activase, une enzyme qui élimine les molécules inhibitrices du site catalytique de Rubisco ; ou par régénération réduite du ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP ; le sucre à 5 carbones qui sert de substrat à la réaction de carboxylation de Rubisco) (Sage *et al.*, 2008). Le type fonctionnel photosynthétique influence

également la réponse à la température, car les plantes C_3 présentent un optimum thermique inférieur pour la photosynthèse par rapport aux plantes C_4 (Sage & Kubien, 2007).

4.3 Disponibilite en eau

Les régimes de précipitations deviennent plus imprévisibles à mesure que le climat change, et par conséquent les plantes seront soumises à des fluctuations croissantes de la disponibilité en eau du sol. L'augmentation de CO_2 et des températures a pour conséquence directe une élévation de l'évapotranspiration, conduisant à un assèchement des sols. Les sécheresses peuvent consister en des degrés d'intensité et de durée variables de stress hydrique, entraînant un large éventail d'impacts sur la croissance et le développement des plantes. La sécheresse est définie comme une période de temps anormalement sèche et suffisamment longue pour provoquer de graves déséquilibres hydrologiques (IPCC, 2014). La disponibilité de l'eau est connue depuis longtemps comme l'un des facteurs abiotiques les plus importants régissant le rendement des cultures (Boyer, 1982), en raison du rôle central qu'elle joue dans les processus de croissance et de développement des plantes. Le stress hydrique entraîne déjà d'importantes pertes de production végétale et de rendement agricole, l'ampleur des effets dépendant du stade de développement auquel les plantes subissent le stress hydrique (Skirycz *et al.*, 2009; Verelst *et al.*, 2010) et des paramètres liés au sol, comme la profondeur et la texture (Daryanto *et al.*, 2017). De plus, la variation interspécifique et intraspécifique des réponses développementales et physiologiques au stress de la sécheresse signifie qu'il y aura un large éventail de sensibilités aux sécheresses associées au changement climatique dans différents écosystèmes, à la fois naturels et agricoles. La disponibilité réduite de l'eau du sol diminue l'absorption d'eau par les plantes, mais peut également limiter l'absorption des éléments nutritifs par les racines et leur transport vers les organes aériens. La division et l'expansion cellulaire sont significativement affectées par le stress hydrique chez diverses espèces (Durand *et al.*, 1995; Aguirrezabal *et al.*, 2006; Baerenfaller *et al.*, 2012; Clauw *et al.*, 2015).

4.4 Interactions de facteurs

À l'avenir, les plantes ne subiront pas chacun des facteurs du changement climatique de manière indépendante, mais seront plutôt exposées à une pluralité de changements environnementaux qui surviendront de façon concomitante. Cependant, la plupart des études actuelles exposent les plantes à un seul facteur du changement climatique à la fois, ce qui limite notre capacité à investiguer les réponses des plantes à des scénarios réalistes de changement climatique. Les recherches menées sur les interactions de ces facteurs ont révélé des réponses extrêmement diverses et des effets indépendants (Reich *et al.*, 2020). Par exemple, l'effet fertilisant du CO_2 a été démontré comme étant fonction de la disponibilité de l'azote et de l'eau au sein des prairies pérennes (Reich *et al.*, 2014).

V. Modeles actuels et leurs limites pour simuler la regulation de la croissance foliaire par les facteurs du climat

En dépit du corpus de connaissances accumulées sur la croissance foliaire des Poaceae, la compréhension des interactions entre les différents processus impliqués demeure complexe, et les mesures des flux de carbone, d'azote et d'eau restent lourdes. Pour intégrer l'ensemble de ces phénomènes, la modélisation structure-fonction ou FSPM (functional-structural plant model) semble particulièrement adaptée. Cette approche qui se caractérise par la description détaillée des processus

et leurs liens avec l'architecture de la plante ainsi que les conditions environnementales, permet d'étudier la réponse des plantes à des variations combinées de facteurs climatiques. En outre, ces modèles individu-centrés offrent la possibilité de simuler l'impact de la diversité individuelle au sein du couvert, sur son fonctionnement et sa réponse aux contraintes environnementales.
Les sections suivantes présentent d'abord quelques généralités sur les modèles de type FSPM, puis décrivent ceux qui ont servi de base aux travaux décrits dans cette thèse.

5.1 Les modeles structure-fonction (FSPM)

Initialement, les modèles basés sur les processus (PBM) ont été développés indépendamment des modèles structurels (ou architecturaux ou morphologiques) des plantes (SPM). La combinaison des PBM et des SPM dans des modèles de plantes dits structure-fonction (FSPM) a été rendue possible notamment grâce aux progrès de la modélisation et de la science informatique. Les FSPM se révèlent particulièrement adaptés pour analyser les problèmes dans lesquels la structure spatiale du système joue un rôle essentiel dans le comportement du système étudié (Vos *et al.*, 2007).
Cette méthode permet de représenter explicitement l'architecture 3D de la plante et d'intégrer les interactions entre structure, fonctionnement et environnement des plantes afin de rendre compte des interactions à des échelles locales (Godin & Sinoquet, 2005). Ils permettent de représenter le couvert végétal comme une collection de plantes individuelles. Certains FSPM décrivent l'évolution temporelle des variables d'état caractérisant la croissance des plantes. Ces modèles dynamiques sont basés sur les processus élémentaires de la production végétale (*e.g.* photosynthèse, flux d'assimilats).
En raison de la description détaillée de la structure de la plante dans les FSPM généralement au niveau de l'organe, et parfois de l'environnement local de chaque organe (Chelle, 2005), les FSPM ont tendance à nécessiter un grand nombre de paramètres et de données d'entrée. La grande quantité d'informations qu'ils contiennent sur la plante d'une part et de nombre de processus qu'ils visent à décrire d'autre part, engendre des calculs lourds. Par ailleurs, la validation des nombreux processus biophysiques représentés dans les FSPMs nécessite une collecte importante de données expérimentales.

Parmi ces modèles, on distingue les modèles empiriques et mécanistes.
La majorité des modèles sont d'ordre empirique, ce qui signifie qu'ils se basent sur des observations statistiques pour décrire le fonctionnement global des plantes. Toutefois, ces modèles ne fournissent pas de détails sur les mécanismes sous-jacents. Les principales limites de ce type de modèle résident dans la puissance statistique des observations et de leur robustesse vis-à-vis d'une large gamme de conditions environnementales.
Les modèles mécanistes représentent le comportement du système par des propriétés émergentes des réponses à des échelles locales, plutôt que globales, pour étudier comment chacun des processus qui se déroule à l'échelle locale impacte le comportement de l'ensemble du système. Ces modèles visent à expliciter les processus biologiques ou physiques. Les processus sont simulés à partir de variables d'entrées qui sont introduites dans des équations. Les variables de sortie obtenues permettent d'analyser les effets du processus modélisé.

Cependant, il n'existe pas à notre connaissance de modèles FSPM de Poaceae intégrant de manière mécaniste l'ensemble des interactions d'ordre trophiques et hydriques sur la croissance foliaire. Un tel modèle semble nécessaire pour établir des projections sur la réponse des plantes à différentes conditions climatiques, peu accessibles à l'expérimentation. Comme point de départ pour y parvenir, nous avons identifié deux FSPM de croissance déjà existants : CN-Wheat (Barillot *et al.*, 2016a; Gauthier *et al.*, 2020), qui simule la captation et l'allocation des ressources C et N dans la plante et

dans lequel la morphogénèse des feuilles est pilotée par les concentrations C, N et des règles de coordinations entre phytomères successifs qui régulent différentes phases de l'allongement ; et un modèle mécaniste de dynamique du transport de l'eau par la plante avec une croissance foliaire induite par la turgescence (Coussement *et al.*, 2018). Nous avons choisi de les intégrer dans une nouvelle version de CN-Wheat, que nous nommerons CNW-Wheat.
Dans la suite du document, les deux modèles et leur mécanisme de croissance sont présentés.

5.2 CN-WHEAT: UN MODELE DE CROISSANCE DU BLE INTEGRANT LE METABOLISME CARBONE ET AZOTE

5.2.1 DESCRIPTION DU MODELE

Le modèle CN-Wheat (Barillot *et al.*, 2016a,b) simule la captation et l'allocation des ressources carbonées et azotées à l'échelle de la plante en interactions avec le microclimat de chaque organe via une représentation 3D de l'architecture du blé. La représentation dynamique de la géométrie tridimensionnelle des plantes est basée sur le modèle ADELWheat (Fournier *et al.*, 2003). Les principaux processus biologiques impliqués dans le métabolisme primaire du C et du N sont décrits au niveau de l'organe et sont régis par les concentrations locales de métabolites et les conditions environnementales locales (principalement la lumière et la température). La distribution lumineuse au sein de la canopée 3D est calculée avec un modèle radiatif utilisant la méthode projective (Chelle & Andrieu, 1998). CN-Wheat couvre les processus de photosynthèse et de transpiration, la croissance des feuilles et entre-nœuds en masse et en dimensions et la croissance des racines en masse, la sénescence et les flux de C et N au sein de la plante (transport, synthèse/dégradation, pertes par respiration et exsudation racinaire).
Le modèle tient compte de différents groupes de variables d'état pour chaque organe : dimensions (longueur et largeur maximales), masse structurale qui est la masse sèche « immobilisée » principalement dans les composés de la paroi cellulaire, et concentrations de métabolites mobiles (saccharose, nitrates, acides aminés (AA)) et métabolites de réserve (amidon, fructanes, protéines). La dynamique des métabolites est décrite par des équations différentielles reflétant les activités physiologiques se produisant dans la talle et les racines. Les concentrations de métabolites et l'environnement physique de chaque organe régulent la vitesse de ces activités.
Ce modèle a d'abord été développé et validé de la postfloraison à la sénescence du blé. Plus récemment, Gauthier *et al.* (2020) a apporté une extension de la version initiale de CN-Wheat et présenté la version dynamique de CN-Wheat, qui a été calibrée pour simuler la croissance d'une plante de blé au cours des stades végétatifs (du stade 3 feuilles à début de montaison). Les traits de la plante et des feuilles sont des propriétés émergentes issues des rétroactions entre la morphogenèse, les facteurs environnementaux locaux et les activités source-puits décrites à l'échelle de l'organe.
Le modèle est implémenté dans la plateforme OpenAlea (Pradal *et al.*, 2008, 2015) sous la forme d'un ensemble de sous-modèles communiquant via une structure de données centrale, le graphe arborescent multi-échelles (MTG) (Fournier *et al.*, 2010; Albasha *et al.*, 2019; Barillot *et al.*, 2019; Reyes *et al.*, 2020).

5.2.2 Structure de la plante

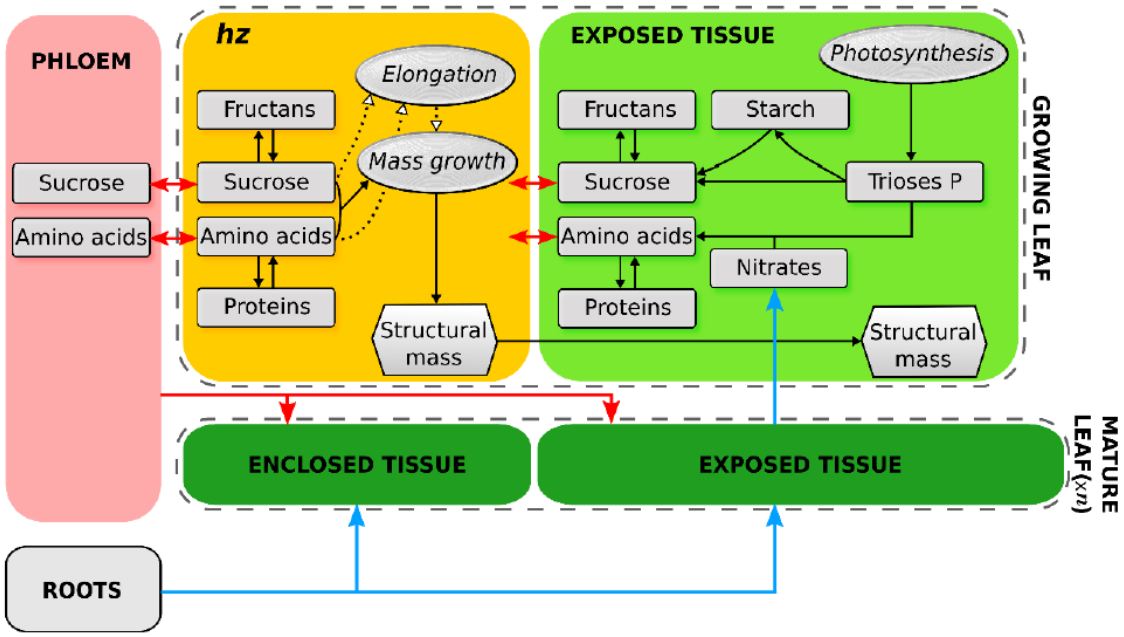


Fig. 1.11. Représentation de la feuille en croissance et de ses interactions avec les autres compartiments végétaux.

La feuille est décrite comme un ensemble de compartiments botaniques (grands rectangles colorés) avec des masses structurales (hexagones) et des concentrations de métabolites (rectangles). Les processus d'allongement des feuilles et de croissance en masse (ovales) ont lieu dans la zone de croissance cachée (hz ; jaune) et sont régulés (flèches en pointillés) par les concentrations locales de métabolites. Les tissus matures sont en vert. Seuls les tissus exposés sont photosynthétiques. Les flux de saccharose et d'acides aminés entre compartiments sont représentés par des flèches rouges. Les importations de nitrates et d'acides aminés du compartiment racinaire sont représentées par des flèches bleues. Figure de Gauthier *et al.* (2020).

Le modèle peut simuler une plante individuelle ou une canopée, décrite comme une collection de plantes. Une plante est constituée d'une ou plusieurs talles. Chaque talle est composée d'organes aériens matures ou en croissance organisés sous forme de phytomères : un entre-nœud, une gaine et un limbe (avec une distinction entre les tissus exposés à la lumière et ceux engainés dans les feuilles précédentes) (Fig. 1.11). Ces organes sont représentés géométriquement afin de calculer la distribution de la lumière au sein du couvert. Chaque talle possède un seul compartiment racinaire non architecturé. Les échanges de métabolites mobiles au sein de la talle se font soit à partir du flux de masse lié à la transpiration (nitrates, AA) soit à partir d'un pool commun mimant le *phloème* (saccharose, AA).

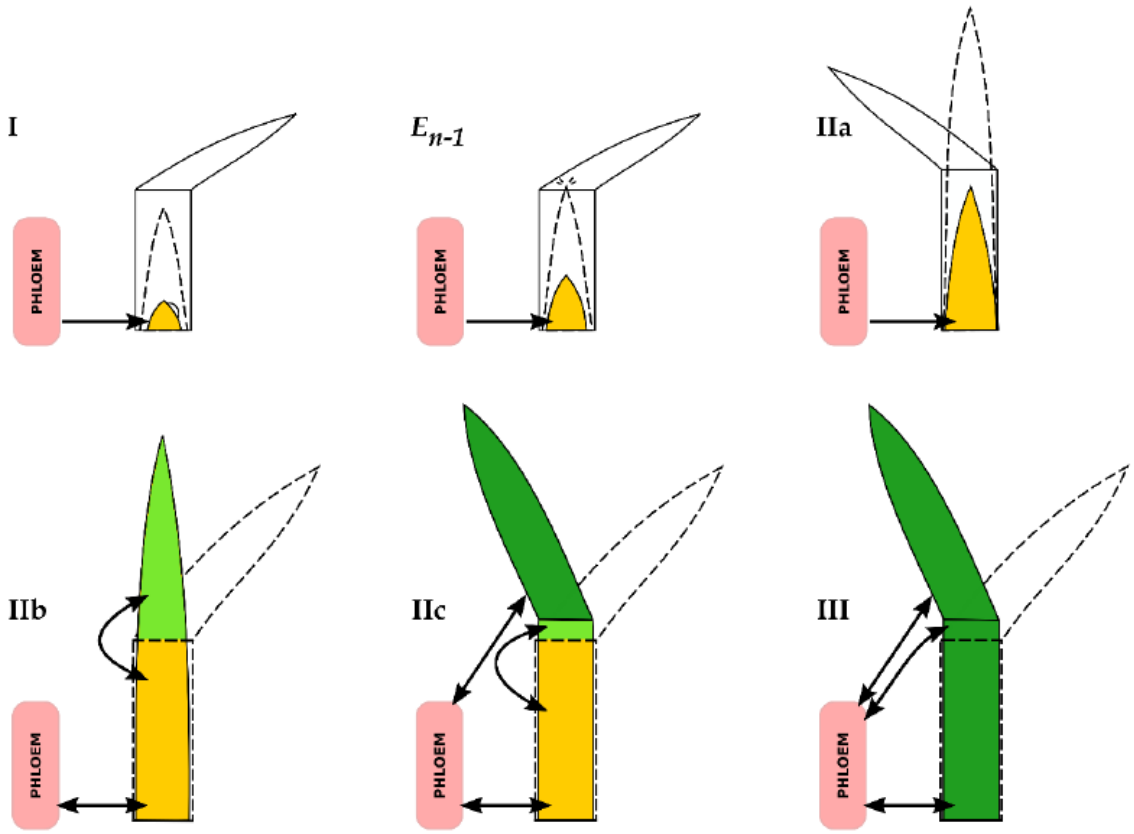


Fig. 1.12. Illustration de la structure de la feuille n en croissance telle que représentée dans le modèle au cours de son développement.

La feuille en pointillés est la feuille n-1. Seule la feuille mature qui définit la pseudo-tige est représentée. I : De l'initiation de la feuille n à l'émergence de la feuille précédente (E_{n-1}), la feuille n est un primordium entourant le méristème apical. La feuille n est représentée comme une zone de croissance cachée homogène (hz), qui importe des métabolites du phloème et suit une croissance de type exponentiel. À E_{n-1}, l'élongation sigmoïdale commence. IIa : La feuille n est entièrement cachée à l'intérieur de la pseudo-tige. IIb : Le limbe émergé échange des métabolites exclusivement avec hz. IIc : Le limbe est mature et maintenant connecté au phloème. La gaine est encore en croissance ; sa partie émergée échange exclusivement des métabolites avec hz. III : La feuille est complètement mature. L'ancien hz est maintenant la partie mature cachée de la gaine. Figure de Gauthier *et al.* (2020).

La feuille en croissance est représentée par plusieurs compartiments en fonction de son stade de développement (Fig. 1.12). Avant son émergence de la pseudo-tige, la feuille en croissance est représentée uniquement par un seul compartiment noté *hz*, pour hidden growth zone. Après son émergence, la feuille en croissance est représentée à la fois par un compartiment *hz* (partie cachée dans la pseudo-tige) et également par un ou des compartiments correspondant aux organes émergés (limbe et ou gaine). À la fin de l'allongement des feuilles, le compartiment *hz* est remplacé par un compartiment de gaine non exposée à la lumière, créé avec les mêmes dimensions, masse structurale et métabolites que l'ancien *hz*. Par souci de simplicité, la zone de croissance a été identifiée comme la partie cachée de la feuille en croissance sans distinction des zones de division, d'allongement et de maturation des tissus.

5.2.3 Mecanismes de croissance foliaire

La croissance des feuilles est régie par deux mécanismes dans CN-Wheat :

(i) Les concentrations en saccharose et AA des *hz*, qui dépendent des relations source-puits et des conditions environnementales.

(ii) Des règles de coordination entre les feuilles successives : l'allongement des feuilles suit une cinétique à deux phases séparées par l'émergence de la feuille précédente.

Bien que l'extension entre les nœuds soit limitée pour les stades de développement abordés ici, leur croissance a été modélisée et partiellement calibrée (Gauthier *et al.,* 2020). Brièvement, la modélisation de l'allongement des entre-nœuds suit les mêmes principes que pour les feuilles, sauf que la transition de phase pour les entre-nœuds est déclenchée par la ligulation des feuilles.

Un sous-modèle empirique de tallage a été mis en œuvre pour tenir compte de l'auto-ombrage entre les talles et les coûts de croissance des talles pour le brin maître. L'émergence des talles est coordonnée avec l'émergence des feuilles sur la tige principale, et leur organisation botanique, leur métabolisme et leur dynamique de croissance ont été rapprochés de ceux du brin maître.

5.2.4 Cinetique de croissance foliaire

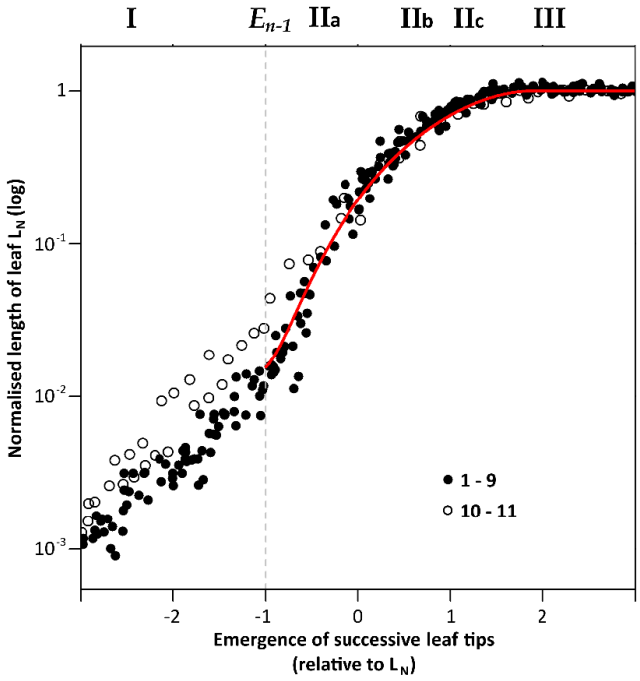


Fig. 1.13. Longueur normalisée (échelle logarithmique) des feuilles de la talle principale par rapport au temps phyllochronique selon l'émergence des feuilles (Fournier et al., 2005).

Les symboles représentent le rang du phytomère. Chaque point est la médiane de 5 à 10 observations. Les chiffres au-dessus du graphique montrent les principales phases de croissance des feuilles, présentées dans la figure 1.5. La ligne pointillée représente l'émergence de la feuille précédente (E_{n-1}), qui déclenche le passage d'un allongement de type exponentiel à un allongement sigmoïdal. Figure de Gauthier *et al.* (2020).

Les primordia foliaires sont initiés selon un rythme constant (plastochrone) modulé par la température. Le plastochrone et le nombre final de feuilles sont des paramètres du modèle, tout comme la longueur initiale, la masse structurale et la composition biochimique d'un primordium.

La cinétique d'allongement d'une feuille n est modélisée en deux phases successives, la transition entre les phases étant coordonnée avec l'émergence de la feuille précédente n-1 (Fig. 1.13).

La première phase (phase I) englobe principalement la formation de la zone de division cellulaire. La longueur des feuilles suit une fonction de type exponentiel dont le taux d'allongement relatif (RER) est déterminé par (i) les concentrations de saccharose et AA dans la *hz*, (ii) la température, et (iii) le rang des feuilles. La masse structurale des feuilles est estimée à partir d'une relation empirique avec la longueur des feuilles, ajustée à partir d'observations anatomiques (Williams & Rijven, 1965).
Après émergence de la feuille n-1, l'allongement de la feuille n suit une fonction sigmoïdale prédéfinie et modulée par la température. La seconde phase d'allongement de la feuille (phase II) est légèrement modulée par les concentrations de saccharose et AA dans la *hz*. Le statut trophique n'a pas d'impact sur le temps nécessaire pour atteindre la longueur finale, mais c'est le taux d'allongement qui a un tel effet. La longueur finale des limbes et des gaines est calculée selon un rapport ontogénique gaine : limbe (Dornbusch *et al.*, 2011a; Abichou, 2016). La largeur des feuilles et leur masse surfacique (SLA) sont des traits importants qui varient avec les conditions de croissance, en particulier la disponibilité de la lumière (Friend, 1965; Kemp, 1981; Schnyder & Nelson, 1989; Fournier *et al.*, 2001). Il est émis l'hypothèse que la variabilité rapportée en réponse aux conditions d'éclairage provenait d'une réponse à la disponibilité locale de C (Bertin, 1998). Les variations de SLA sont considérées comme provenant en partie des variations des masses structurales spécifiques (SSM) des limbes (g m^{-2}) et des gaines (g m^{-1}). Afin de tenir compte simplement de cette plasticité, la largeur maximale des feuilles et les SSM des limbes et des gaines sont calculés à l'émergence de la feuille en fonction de la concentration en saccharose dans le *hz* moyennée sur les deux phyllochrones précédents. La forme et la surface du limbe sont calculées en fonction de la longueur, de la largeur maximale et du rang de la feuille (Dornbusch & Andrieu, 2010).

5.2.5 Metabolisme de C et N de la feuille en croissance

Le déchargement des métabolites de saccharose et AA dans les *hz* est simulé à partir du *phloème* selon un processus de diffusion. Après l'émergence des feuilles, il est considéré que les tissus émergés exportent du saccharose et des AA vers leur *hz* associée. A maturité, la gaine et le limbe chargent directement le saccharose et les AA dans le *phloème*.
Des pools de stockage de C (fructanes) et N (protéines) ont également été attribués aux compartiments *hz* (Schnyder *et al.*, 2000).

5.2.6 Feuilles matures

Une fois la croissance terminée, chaque feuille est constituée d'un limbe et d'une gaine, dont le métabolisme est décrit Barillot *et al.* (2016a). Le modèle tient également compte de la sénescence des tissus. A chaque pas de temps, une fraction constante de surface verte est perdue si :

(i) La concentration en protéines diminue en dessous d'une fraction de la concentration maximale en protéines atteinte après ligulation des feuilles, ou
(ii) L'âge physiologique est supérieur à un seuil ajusté.

La masse struturale des tissus verts restants dans la feuille est réduite proportionnellement à la surface des tissus matures photosynthétiques, tandis qu'une fraction des métabolites de stockage est remobilisée vers le tissu vert sous forme de saccharose et d'acides aminés.

5.2.7 Avantages et limites

CN-Wheat simule donc les dynamiques spatio-temporelles de différentes formes de carbone et d'azote au sein de la plante, via une approche mécaniste. Le modèle permet d'étudier la réponse de la plasticité de la morphogenèse aérienne des plantes à leur environnement. L'originalité du modèle réside dans la régulation de ces processus, qui sont liés aux interactions entre statut trophique et

morphogénèse à la fois par des facteurs environnementaux et des concentrations de métabolites à l'échelle de l'organe.
Cependant, le fonctionnement de la plante n'est simulé qu'en état hydrique optimal. Or, l'analyse bibliographique présentée dans ce chapitre établit que les fluctuations de la disponibilité des éléments nutritifs, tels que l'eau, exercent une influence directe sur la croissance (Boyer, 1968; Green, 1968; Cleland, 1971; Ray & Green, 1972; Hsiao, 1973; McIntyre, 1987). Dans le contexte actuel du changement climatique, il apparaît donc nécessaire d'intégrer les dynamiques hydriques de la plante et leurs interactions avec ces processus trophiques.

5.3 UN MODELE DE CROISSANCE FOLIAIRE DE SOJA INDUIT PAR TURGESCENCE (COUSSEMENT *ET AL.*, 2018)

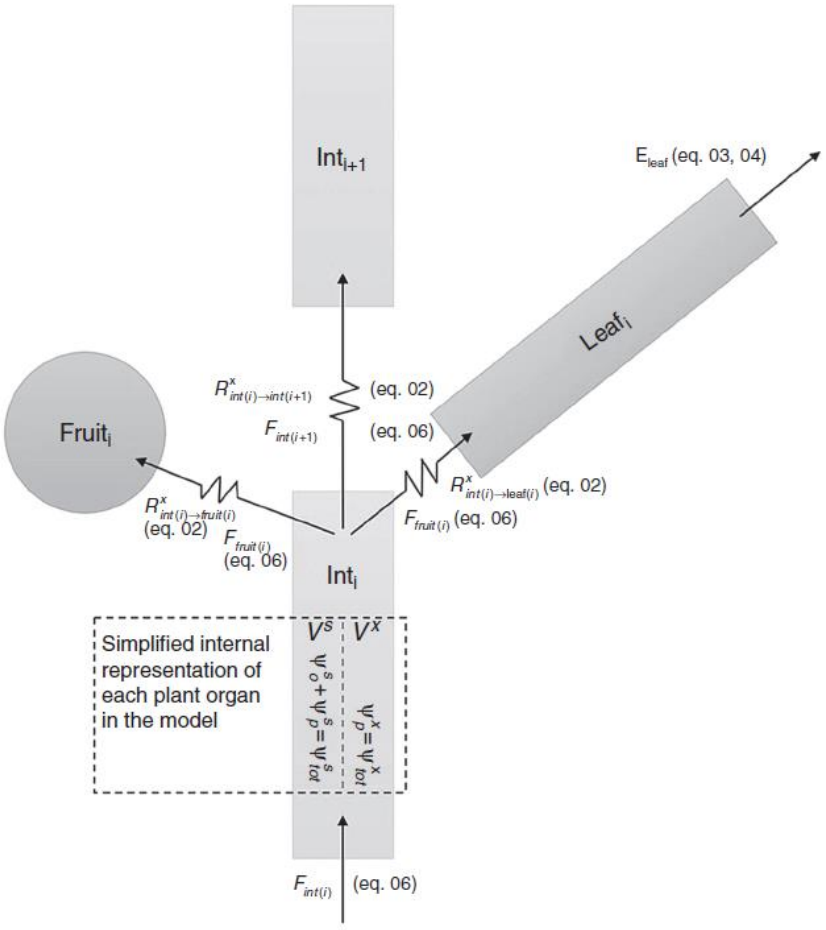


Fig. 1.14. Illustration schématique des flux entrants et sortants au sein d'un phytomère i. *Contrairement au flux entrant d'un organe végétal, le flux sortant total dépend du nombre d'organes végétaux distaux dans l'architecture de la plante. Figure de* Coussement *et al.*(2018).

5.3.1 DESCRIPTION DU MODELE

Coussement *et al.* (2018) ont développé un modèle de croissance foliaire induit par turgescence. Il s'agit d'un modèle mécaniste de la dynamique du transport de l'eau par les plantes. Les variations de la teneur en eau entraînent des variations réversibles et irréversibles de la taille des organes. Ainsi, il établit le lien entre le potentiel hydrique, le potentiel de turgescence et la croissance foliaire.

La plante est composée d'un ensemble de phytomères interconnectés, chacun constitué d'une feuille modélisée sous forme de rectangle et d'un entre-nœud sous forme de cylindre, auxquels sont associés une conductance hydraulique (Fig. 1.14). Chaque organe végétal est constitué de xylème et de tissus vivants, ces derniers étant la partie de l'organe qui contribue au stockage de l'eau. Il est supposé que la proportion de xylème (V_x = 20%) et de tissu de stockage (V_s = 80%) est constante dans tous les organes. Le flux radial est négligé, ce qui implique que les potentiels hydriques du xylème et de la partie de stockage des organes de la plante sont égaux. Le transport du phloème a une contribution négligeable au débit d'eau.
Les flux hydriques dans la plante sont basés sur une analogie avec les réseaux électriques. Le transport de l'eau a été modélisé sur la base des différences de potentiels hydriques et des résistances hydrauliques à travers le xylème des organes aériens. Les transferts d'eau dans la plante sont donc définis par un réseau hydraulique qui s'appuie sur la topologie de la plante.

5.3.2 MECANISMES DE CROISSANCE

Flux d'eau entre les organes (loi de Darcy)

Le flux d'eau entrant dans un organe d'indice *i* ($\mathbf{F_{organ\ i}}$) dépend de la différence de potentiel hydrique du xylème entre lui-même ($\mathbf{\Psi_{w,\ organ\ i}}$) et l'organe sous-jacent ($\mathbf{\Psi_{w,\ organ\ i-1}}$), et de la résistance du xylème entre les deux organes consécutifs de la plante ($\mathbf{R^x_{organ\ i-1 \rightarrow organ\ i}}$) :

$$F_{organ\ i} = \frac{\psi_{w,organ\ i-1} - \psi_{w,organ\ i}}{R^x_{organ\ i-1 \rightarrow organ\ i}} \qquad \text{(Eq. 1.9)}$$

Teneur en eau des organes

L'évolution de la teneur en eau de chaque organe $\mathbf{W_{organ\ i}}$ est calculée comme la différence du flux d'eau entrant ($\mathbf{F_{organ\ i}}$) et du flux sortant ($\mathbf{\Sigma F_{organ\ i+1}}$). Le flux d'eau à travers un organe est supposé proportionnel à la différence d'état hydrique à ses bornes, en respectant la conservation des flux tel que le flux d'eau entrant est égal au flux d'eau sortant. Pour une feuille, il est considéré que ce dernier est égal à la transpiration de la feuille ($\mathbf{E_{leaf}}$). Pour les entre-nœuds, le débit vers chaque organe végétal suivant doit être évalué, car chaque entre-nœud est un élément d'une structure végétale en réseau.
La transpiration est calculée par une fonction sinusoïdale diurne strictement positive, multipliée par la surface de la feuille. A maturité, la sénescence des feuilles est complète ce qui implique une transpiration nulle à la fin de la croissance.

$$\frac{dW_{organ\ i}}{dt} = F_{organ\ i} - \Sigma F_{organ\ i+1} \qquad \text{(Eq. 1.10)}$$

Changement de volume des organes

Le flux massique d'eau vers et depuis chaque organe de la plante entraîne une modification du volume de l'organe ($\mathbf{V_{organ}}$), avec $\mathbf{\rho_w}$ la masse volumique de l'eau :

$$\frac{dW_{organ}}{dt} = \rho_w \frac{dV_{organ}}{dt} \qquad \text{(Eq. 1.11)}$$

Potentiel de turgescence (selon Lockhart, 1965; Ortega, 1985)

La modification de la teneur en eau est directement liée au potentiel de turgescence de l'organe. Les changements dimensionnels induits par le potentiel de turgescence sont quantifiés par les paramètres biomécaniques d'élasticité, qui réfère à une expansion et un rétrécissement réversibles (Ortega, 1985), et d'extensibilité, pour une croissance irréversible (Lockhart, 1965). Un organe mature sera soumis à une déformation élastique réversible tandis qu'un organe en croissance suivra également une déformation élastique, mais aussi une déformation plastique irréversible ($\Psi_{p,\,organ} > \Gamma$). Ainsi, un seuil de turgescence uniforme (Γ) est défini comme le potentiel de turgescence minimal nécessaire à une croissance irréversible. Les extensibilités dimensionnelles ($\phi_{z,\,organ}$, $\phi_{x,\,organ}$, $\phi_{y,\,organ}$) et les élasticités ($\varepsilon_{z,\,organ}$, $\varepsilon_{x,\,organ}$, $\varepsilon_{y,\,organ}$) déterminent les différences dans les propriétés de la paroi cellulaire dans les différentes dimensions.
Les volumes végétaux étant considérés en trois dimensions, le changement de volume d'organe ne sera pas uniforme. Ce changement de volume non uniforme a été obtenu en décomposant le volume de la plante dans ses dimensions spécifiques, et en appliquant l'équation de Lockhart (1965) sur chaque composante dimensionnelle.
Pour tenir compte de la maturation des organes végétaux, les coefficients d'extensibilité ont été rendus dépendants de l'âge des organes en utilisant une fonction sigmoïde.

$$\frac{d\psi_{p,organ}}{dt} = \left[\frac{1}{\rho_w V_{organ}}\frac{dW_{organ}}{dt} - \left(\Phi_{z,organ} + \Phi_{x,organ} + \Phi_{y,organ}\right)\left(\left(\psi_{p,organ}, \Gamma\right) - \Gamma\right) * \left(\frac{\xi_{z,organ}\,\xi_{x,organ}\,\xi_{y,organ}}{\xi_{z,organ}\,\xi_{x,organ} + \xi_{z,organ}\xi_{y,organ} + \xi_{x,organ}\,\xi_{y,organ}}\right)\right] \qquad \text{(Eq. 1.12)}$$

Potentiel osmotique

Le potentiel osmotique ($\psi_{o,\,organ}$) de chaque organe végétal est évalué par la quantité totale de sucre soluble (m_{organ}) entraîné par la photosynthèse et les relations source-puits et du volume d'eau dans le compartiment de stockage de l'organe (V_{organ}) :

$$\psi_{o,organ} = -R\,T\,\frac{m_{organ}}{V_{organ}\;M_{sucrose}} \qquad \text{(Eq. 1.13)}$$

avec **R** la constante universelle des gaz, **T** la température de l'organe, et $M_{sucrose}$ la masse molaire du saccharose.
Une fois les potentiels osmotiques et de turgescence connus, les potentiels hydriques des organes, et donc, le débit d'eau, sont mis à jour (Eq. 1.9).

VI. OBJECTIFS DE L'ETUDE ET DEMARCHE SUIVIE

6.1 OBJECTIFS DE LA THESE

Il résulte du contexte présenté précédemment que l'objectif scientifique général de ce travail de thèse est de **mieux comprendre et quantifier les interactions entre les variables climatiques, principalement CO_2 et eau, ainsi que la croissance foliaire des Poaceae par une approche de modélisation**.

Pour cela, ce travail vise à développer un modèle FSPM basé sur une représentation mécaniste de la co-régulation trophique et hydrique de la croissance foliaire. Les objectifs opérationnels suivants ont été définis :

(i) Intégrer les dynamiques du transport de l'eau dans la plante au sein de CN-Wheat (Barillot *et al.*, 2016a,b; Gauthier *et al.*, 2020), un modèle structure-fonction de croissance du blé. L'objectif est de simuler le flux d'eau du sol vers la plante sur la base des différences de potentiels hydriques.

(ii) Intégrer les interactions entre les dynamiques trophiques et hydriques sur la croissance foliaire dans la nouvelle version du modèle CN-Wheat, nommée CNW-Wheat. Ainsi, l'allongement des feuilles est piloté par les ressources C, N d'une part ; et par la turgescence selon les formalismes de Lockhart (1965) et Ortega (1985) d'autre part.

(iii) Évaluer la capacité du modèle CNW-Wheat à simuler la réponse de la croissance foliaire aux variations simultanées de niveau de CO_2 et de disponibilité en eau.

6.2 Démarche suivie

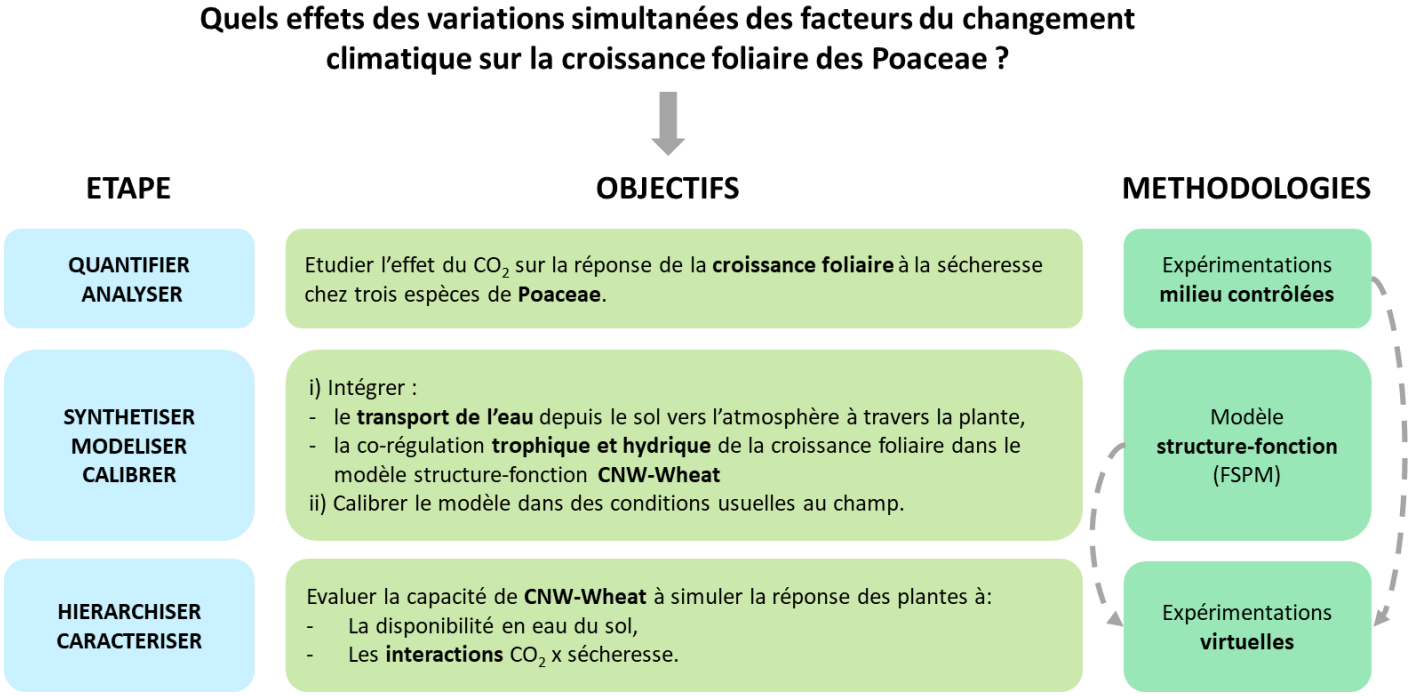


Fig. 1.15. Représentation de l'objectif de la thèse et des étapes pour l'atteindre.
L'objectif de la thèse est situé en haut du schéma. Les questions de recherche (vert clair) sont décomposées en trois chapitres (étapes, en bleu) qui font appel à plusieurs méthodologies (vert foncé). Les flèches grises en pointillées montrent les liens entre ces différentes étapes

Afin de réaliser ces objectifs, les travaux se sont articulés en trois études, chacune d'elle présentée dans un chapitre (Fig. 1.15).

Chapitre 2

Comme démontré dans le chapitre précédent, il existe des interactions complexes entre CO_2 et disponibilité en eau sur la croissance foliaire. La première étude a pour objectif d'étudier les effets du CO_2 sur la réponse de la croissance foliaire à la sécheresse chez les Poaceae. Ce premier travail permet d'évaluer les performances du modèle développé dans les chapitres suivants. Pour cela, une expérimentation en milieu contrôlé a été conduite auprès de trois espèces de Poaceae dans des conditions contrastées en termes de CO_2 et de disponibilité en eau, afin de répondre aux hypothèses suivantes :

(i) Il est attendu de la littérature qu'une augmentation du CO_2 réduise la conductance stomatique et de la transpiration instantanée des feuilles. Néanmoins la consommation en eau totale par la plante pourrait être stimulée par le fort développement de la surface foliaire qui résulte de l'amélioration de l'état hydrique.

(ii) Le CO_2 atténue et retarde les effets de la sécheresse sur la croissance foliaire.

(iii) Avec la fermeture stomatique et l'accumulation de sucres, l'élévation de la teneur en CO_2 peut entraîner une baisse de potentiel osmotique dans les zones de croissance des feuilles, et ainsi contrer la diminution du potentiel hydrique nocturne dans des conditions de sécheresse.

(iv) Les principaux mécanismes de la mise en place de la série foliaire étant génériques à la plupart des Poaceae, nous supposons que les trois espèces présentent des réponses similaires.

Chapitre 3

La littérature présentée dans le chapitre 1 permet de mettre en évidence des relations entre la régulation trophique et hydrique sur la croissance foliaire, et ce, tout au long de l'allongement de la feuille. Dans le chapitre 3, les dynamiques hydriques de la plante sont intégrées dans le modèle CN-Wheat et co-régulent le mécanisme de croissance foliaire selon les hypothèses suivantes :

(i) Le carbone, l'azote et l'eau sont les principales ressources répondant aux besoins de la plante pour sa croissance. Ces trois facteurs sont nécessaires et suffisants pour simuler de manière réaliste la réponse des plantes au changement climatique.

(ii) La résistance axiale au flux d'eau dans le xylème est négligeable devant la résistance radiale. En conséquence, un seul compartiment commun à tous les organes végétaux jouant le rôle du xylème a été implémenté pour le transport de l'eau.

(iii) L'ajustement osmotique est régulé par des composés organiques et lie les dynamiques hydriques avec le métabolisme CN de la plante dans le modèle.

Dans ce chapitre, les hypothèses de modélisation sont évaluées par simulation dans des conditions usuelles au champ.

Chapitre 4

Le dernier chapitre a pour objet l'évaluation de la réponse des plantes face à une gamme étendue de variations simultanées de variables climatiques. Une expérimentation virtuelle a été réalisée dans des conditions contrastées en termes de niveau de CO_2 et de disponibilité en eau. Cette série de simulations a permis d'explorer les mécanismes de réponse aux interactions de ces facteurs à l'échelle de la plante et a ainsi contribué à améliorer la prédiction du modèle. Cette démarche permet de valider l'utilisation du modèle CNW-Wheat comme outil d'anticipation de la réponse de la croissance foliaire face aux changements climatiques et d'identification de traits d'adaptation à ces futures conditions environnementales.

La discussion générale synthétise les principaux résultats du travail et discute de la fiabilité, des limites et des contraintes des principales hypothèses du modèle. Enfin, cette section présente des perspectives envisageables à court, moyen et long terme.

Le premier chapitre constitue une synthèse bibliographique des régulations trophiques et hydriques de la croissance foliaire, ainsi que de leurs interactions. Les chapitres 2 à 4 sont présentés sous forme d'articles scientifiques. Le chapitre 2 est constitué essentiellement d'une publication dans la revue Annals of Botany. Les chapitres 3 et 4 sont rédigés en vue de leur publication prochaine. Les références bibliographiques sont situées à la fin de chaque chapitre. Les articles contiennent des tableaux et des figures annexes, dont la numérotation est précédée d'un S (par exemple Fig. S.1) et qui sont présentés à la fin de chaque article. Un paragraphe résumant en français les principaux résultats de chaque étude et la façon dont elle s'articule avec la suite du manuscrit clôture chaque chapitre.

CHAPTER II.

EXPERIMENTAL WORK

EFFECTS OF CO_2 ON TRANSPIRATION AND LEAF ELONGATION RESPONSES TO DROUGHT IN TRITICUM AESTIVUM, LOLIUM PERENNE AND FESTUCA ARUNDINACEA

I. INTRODUCTION

Since the Industrial Revolution, atmospheric CO_2 concentrations ($[CO_2]$) have been rising, exacerbating the greenhouse effect and increasing air temperature (Le Treut *et al.*, 2007). Consequently, increases in drought intensity and frequency are anticipated (IPCC, 2023), posing risks to current agricultural systems. Approximately 80% of the global agricultural area is rain-fed, with much of it potentially needing additional irrigation in the future, presenting new challenges in agriculture. Therefore, improving plant adaptability and agronomic performance for future growth conditions is imperative. In this context, plant morphogenesis, particularly leaf growth, is critical for light interception, transpiration, water uptake, CO_2 assimilation and overall plant productivity. Given that $[CO_2]$ increases photosynthesis and decreases transpiration, whereas drought reduces both processes, complex interactions affecting leaf growth are expected, presenting challenges for predicting climate change effects (Kirschbaum, 2004).

With over 10,000 species (Bouchenak-Khelladi *et al.*, 2010), Poaceae represent a major portion of overall terrestrial flora and form the basis of many agrosystems for food and feed production. In Poaceae species, leaf growth occurs at the base of the developing leaf, enclosed in older sheaths (Begg & Wright, 1962; Esau, 1977). Consequently, the growing zone (GZ) of the leaf is not directly exposed to light, is not photosynthetic, does not transpire and relies entirely on assimilate import from mature tissues (Schnyder & Nelson, 1987). Additionally, GZs exhibit a longitudinal gradient of tissue development resulting from continuous cell production in the intercalary meristem at the leaf base as well as cell expansion and differentiation (Schnyder *et al.*, 1990). Cellular expansion results from the combination of (i) irreversible cell wall expansion when turgor pressure exceeds a yield threshold, (ii) water uptake into the expanding cell driven by the water potential gradient between the cell and the xylem, (iii) osmotic adjustment through solute uptake to maintain turgor pressure and water flow and (iv) metabolic processes involved in cell wall relaxation (Lockhart, 1965; Ray & Green, 1972; Barlow, 1986; Passioura & Fry, 1992; Martre *et al.*, 1999; Tardieu *et al.*, 1999; Pantin *et al.*, 2012; Cosgrove, 2018).

Several mechanisms involved in leaf growth are affected by $[CO_2]$ and water availability. Although each factor has been independently studied, research on their interactions affecting plant photosynthetic activity and water status remains limited (Fig. 1). Leaf growth is among the most drought-sensitive processes (Boyer, 1970) and the leaf elongation rate (LER) response to water deficit has been reported in several grasses (Volenec and Nelson, 1982; Parrish and Wolf, 1983; Schnyder and Nelson, 1988; Durand *et al.*, 1995; Salah and Tardieu, 1996; Clifton-Brown and Jones, 1999; Bouchabké *et al.*, 2006). Drought-induced stomatal closure decreases leaf transpiration (Flexas *et al.*, 2004), leading to lower water potential (Durand, 2007) (Fig. 1). Additionally, reduced cell size is correlated with reduced water potential (Bunce, 1977), resulting in shorter leaves. Durand *et al.* (1995) reported decreased LER as well as a shorter GZ (−60%) and reduced cell length (−70%) in tall fescue under severe drought conditions. However, whether drought effects on leaf growth are mediated by decreased turgor pressure remains unclear. Some studies have associated reduced leaf growth with lower turgor pressure in GZ cells (Boyer and Potter, 1972; Bouchabké *et al.*, 2006), whereas others have reported unchanged (Nonami and Boyer, 1989) or even increased (Onillon, 1993) turgor pressure during drought. Drought-induced stomatal closure also reduces photosynthesis (Bradford & Hsiao, 1982; Schulze, 1986; Kaiser, 1987). However, a transient accumulation of water-soluble carbohydrates (WSC) in green tissues and other plant parts may occur, as they remain unused due to growth cessation (Onillon *et al.*, 1995) (Fig. 1). Several studies have indicated that increased non-structural carbohydrate content can alter osmotic potential, a physiological response to drought (Bohnert & Jensen, 1996; Hare *et al.*, 1998). As observed by Wang *et al.* (2008) in tall-fescue leaves, such water deficit–induced osmotic adjustment contributes to maintaining water uptake and leaf elongation while enhancing turgor (Begg and Turner, 1976; Hsiao, 1973).

Elevated $[CO_2]$ stimulates photosynthesis (Gamage *et al.,* 2018; Makino and Mae, 1999) and WSC production, with Thilakarathne *et al.* (2015) reporting a 46% increase for wheat at a $[CO_2]$ of 550 ppm

(Fig. 1). Increased [CO_2] has also been shown to reduce stomatal conductance by approximately 40% at a [CO_2] of 700 ppm in herbaceous species (Morison & Gifford, 1984; Field *et al.*, 1995; Morison, 1998), with such stomatal closure potentially reducing leaf transpiration by 50% (Poorter *et al.*, 2022) and prolonging soil water retention (Fig. 1). This leads to a rise in cell division and expansion (Ranasinghe & Taylor, 1996) and an approximately 35% increase in LER for wheat grown at a [CO_2] of 700 ppm (Seneweera and Conroy, 2005) or 550 ppm (Thilakarathne *et al.*, 2015) compared with ambient [CO_2]. A 20% increase in shoot dry mass has also been reported in C_3 species (Ainsworth & Long, 2005) as well an approximately 40% increase in leaf area for wheat at a [CO_2] of 700 ppm compared with ambient [CO_2] (Morison and Gifford, 1984; Thilakarathne *et al.*, 2015) (Fig. 1).

Despite the individual effects of [CO_2] and water availability on leaf growth being well-documented, few studies have examined their combined effects. The interactive effect of [CO_2] and drought on leaf growth is difficult to predict, as elevated [CO_2] not only reduces transpiration per unit leaf area, thereby mitigating drought effects (Yu *et al.*, 2012), but also increases total leaf area and water use. With reduced stomatal conductance and transpiration rate at elevated [CO_2] levels, water retention is prolonged, as observed in wheat grown at [CO_2] of 700 ppm (Bunce, 1998). Under drought conditions, elevated [CO_2] maintains higher leaf water potential and leads to a more rapid decline in osmotic potential compared with ambient [CO_2] (Tyree & Alexander, 1993). The resulting positive turgor potential and higher relative water content sustain metabolic processes, aiding plant production and survival under water stress conditions, as observed in wheat grown at a [CO_2] of 1000 ppm (Sionit *et al.*, 1981), perennial ryegrass (Nijs *et al.*, 1989) and several C_3 and C_4 grasses (Sionit and Patterson, 1985). With increased photosynthesis at elevated [CO_2], plants may accumulate more WSC during stress periods and maintain higher turgor pressure (Sionit *et al.*, 1980). Additionally, increased WSC levels promote new tissue development during drought (Wall *et al.*, 2006). However, mitigating effects of water stress due to elevated [CO_2] are not consistently observed. In perennial grassland grown under [CO_2] of 560 ppm, plant biomass decreased by 37% under the lowest observed rainfall and nitrogen levels (Reich *et al.*, 2014). Baca Cabrera *et al.* (2020) revealed that ryegrass cultivated under a [CO_2] of 800 ppm and a low vapour pressure deficit (VPD) of 0.59 kPa transpired less (−55%) than ryegrass grown at ambient [CO_2], with no effect on water, osmotic and turgor potentials or WSC content in mature leaves. Elevated [CO_2] and water deficit affect leaf growth in most C_3 species; however, the magnitude of their effects varies across species, likely due to genetic variability and/or diversity in experimental design and measurement methods (Kimball & Idso, 1983; Poorter, 1993; Idso, 1994; Kimball, 2016). Given the contrasting effects reported in previous studies, a general consensus on the leaf growth response to [CO_2] and water deficits has yet to be established, highlighting the need for comprehensive quantification of the individual and combined effects of climate change factors.

To address these knowledge gaps, we conducted an experiment in growth chambers using two [CO_2] levels: 200 ppm, *i.e.* 'half ambient', approximating the [CO_2] level when Poaceae appeared (Beerling & Royer, 2002) and 800 ppm, *i.e.* 'double ambient', projected for the end of the century under a pessimistic greenhouse gas emission scenario (IPCC, 2023) and experienced by Poaceae during their early evolution. These [CO_2] levels were selected to generate contrasting states in photosynthesis and transpiration for assessment of plant morphogenesis plasticity. These [CO_2] treatments were combined with watered and drought conditions to evaluate the [CO_2] × water interaction effect on transpiration and leaf growth in an annual cereal crop, winter wheat (*Triticum aestivum*), as well as two major perennial grasses, tall fescue (*Festuca arundinacea*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). These species were chosen for their contrasting morphogenetic dynamics (leaf growth rate and tillering ability) and stomatal regulation–related drought tolerance mechanisms (Thomas, 1986; Carrow, 1996; Kemp *et al.*, 2001; Jiang & Huang, 2001; Cross *et al.*, 2013). Cultivars of each species were selected from those used in temperate oceanic climates. Specifically, we tested the following hypotheses: (i) despite elevated [CO_2] reducing stomatal conductance and instantaneous leaf transpiration, total plant water consumption increases at elevated [CO_2] levels due to increased leaf area; (ii) elevated [CO_2] mitigates drought impacts on LER and final leaf length; (iii) elevated [CO_2] lowers osmotic water potential through increased WSC production, counteracting the decrease in nighttime water potential in leaf growing zones under drought conditions; and (iv) LER response to the

[CO_2] × water interaction shows substantial variability among Poaceae species, which should be considered when defining Poaceae adaptation strategies under future climate projections.

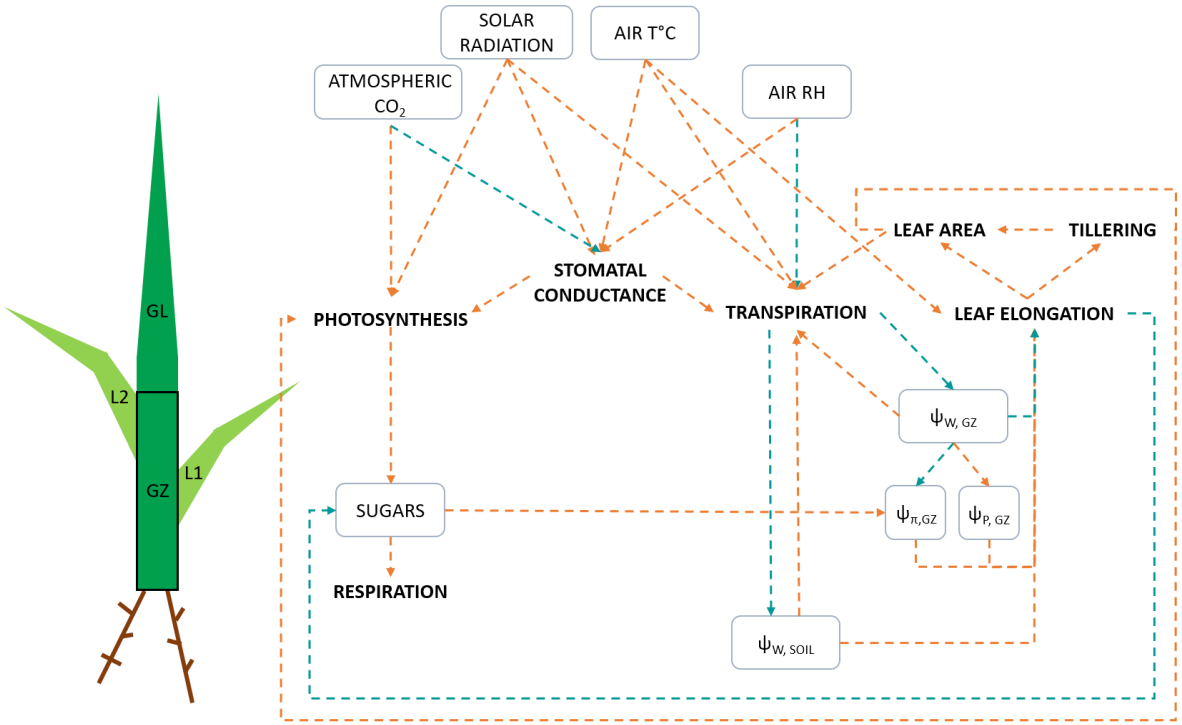


Fig. 2.1. Schematic representation of atmospheric CO_2 concentration and drought effects on the physiological mechanisms of leaf growth and their interrelation in a vegetative grass plant [adapted from Fig. 1 presented by Baca Cabrera et al. (2020)].

The plant is depicted with roots, two mature leaves (L_1 and L_2) and the growing zone (GZ) of a growing leaf. Orange and blue arrows represent positive and negative relationships, respectively. Leaf elongation is regulated by water inflow into the GZ, driven by the potential gradient between the GZ and the xylem. Water potential (ψ_W) is the sum of turgor potential (ψ_P) and osmotic potential (ψ_π). Leaf elongation controls leaf area and tillering. Stomatal conductance is sensitive to air relative humidity and temperature, solar radiation and [CO_2], representing the physiological control of transpiration. Transpiration is sensitive to solar radiation, air temperature and relative humidity, and soil water potential. Conversely, transpiration affects the soil water potential and potential in the GZ. Photosynthesis is directly affected by [CO_2] and solar radiation but indirectly affected by the effect of CO_2 on stomatal conductance, possibly influencing the contribution of water-soluble carbohydrates to the osmotic potential of expanding cells. Collectively, these processes determine the total leaf area, which in turn affects photosynthesis and transpiration.

II. MATERIAL AND METHODS

2.1 EXPERIMENTAL DESIGN, TREATMENTS AND GROWTH CONDITIONS

We cultivated winter wheat, *T. aestivum* cv. Soissons, perennial ryegrass, *L. perenne* cv. Bronsyn and tall fescue, *F. arundinacea* cv. Iliade, under two CO_2 levels and two water supply regimes. The experiment was performed in two growth chambers (97132/7NU, Froids et Mesures, Beaucouzé, France) set at a [CO_2] of either 200 or 800 ppm. In both chambers, CO_2 was supplied from a tank (CO_2 4.5 B50, Linde gas) and mixed with dry CO_2-free air obtained from a screw compressor (ASD 47 T SFC, Kaeser, Coburg, Germany) and a self-regenerating adsorption dryer (SRE BC 222 GS SP, Chaumeca Gohin, Haubourdin, France). The mixed air was continuously injected into the chambers using mass flow controllers (D-6311 DM and D-6371 DM, Bronkhorst, Ruurlo, Netherlands). The CO_2 concentration

in each chamber was measured every 10 s using an infrared gas analyzer (Li-840, Li-Cor, Lincoln, NE, USA); data are presented in the Supplementary Data **[Fig. S2.1A]**. The growth chambers were set with a 16 h photoperiod, providing 430 µmol photosynthetically active radiation (PAR) m^{-2} s^{-1} at plant height from HQI lamps (POWERSTAR HQI-T 400D lamps, OSRAM, Munich, Germany). Relative humidity was maintained at 70% and day/night temperature was set to 19°C/22°C **[Supplementary Data Fig. S2.1B, C]**. Nighttime temperatures were adjusted to maintain constant leaf temperature **[Supplementary Data Fig. S2.1D]**. Plants were grown individually in 0.7 L plastic pots (18 × 7 × 7 cm) filled with vermiculite and containing 180 g of coarse gravel at the base. Aluminium foil was placed on the surface of each pot around the plant stem to prevent water loss by evaporation. In total, 480 pots per chamber, including 48 per treatment, were grouped together in containers at a density of 240 plants m^{-2}. Each treatment was arranged in two blocks surrounded by border plants **[Supplementary Data Fig. S2.2]**. From seed germination until the emergence of leaf six to seven (42 ± 8 days after sowing depending on species and CO_2 treatments), all plants were irrigated daily with a standard nutritive solution comprising 1.9 mM KNO_3, 0.6 mM $Ca(NO_3)_2$, 2.5 mM NH_4NO_3, 0.2 mM $CaCl_2$, 0.1 mM NaCl, 0.1 mM $MgSO_4$, 0.4 mM KH_2PO_4, 0.1 mM K_2HPO_4, 50 µM H_3BO_3, 1 µM $CuSO_4$, 4 µM $MuSO_4$, 4 µM $ZnSO_4$, 1 µM $Na2MoO_4$, 100 µM $FeSO_4$ and 110 µM HEDTA. The irrigation was regulated to maintain a soil relative water content (SRWC) of 0.75–1.00. Irrigation was initially consistent between the two [CO_2] treatments and subsequently adapted according to plant development. From the emergence of leaf six to seven, half of the plants were irrigated as before (watered treatment), whereas the water supply was withheld from the other half (unwatered treatment). The experiment concluded when the LER of unwatered plants was null (53 ± 7 days after sowing depending on species and CO_2 treatments) **[Supplementary Data Table S2.1]**.

2.2 Plant transpiration and soil relative water content

Individual and instantaneous plant transpiration rate (g H_2O min^{-1} $plant^{-1}$) was calculated gravimetrically every minute using a system of load cells placed under 10 randomly selected plants from the pool of 48 plants per CO_2 × water × species treatment **[Supplementary Data Fig. S2.3]**.
SRWC was calculated for the plants placed on the load cells. For each plant, *i*, **SRWC** was calculated for each day, *j*, as the cumulative difference between water supply from *j* = 0 (***W*** $_{irrigation}$, g H_2O $plant^{-1}$) and water loss through transpiration from *j* = 0 (***E***, g H_2O $plant^{-1}$) divided by the **field capacity** (g H_2O):

$$SRWC_{(i,j)} = \frac{\sum_{k=0}^{j} \left(W_{irrigation(i,k)} - E\right)}{Field\ Capacity} \qquad (Eq.\ 2.1)$$

Field capacity, determined for ten pots filled with vermiculite and coarse gravel, as in the growth chambers, was 189 ± 6 g.

2.3 Leaf elongation rate

All plants were in the vegetative stage and had between six to eleven leaves on the main stem at the cessation of unwatered leaf elongation depending on species. Using a ruler (1 mm accuracy), leaf length was measured daily on the main stems of plants placed on the load cells (10 per treatment). At the end of the light period, measurements were taken from every visible growing leaf (one or two leaves per tiller), recording the distance between the tip of the elongating leaf and the ligule of the youngest fully expanded leaf. LER was determined at the tiller level (cm $tiller^{-1}$ day^{-1}) by summing the elongation of all visible leaves on the main stem (Gastal *et al.*, 1992).

2.4 HAUN INDEX

The Haun index (**HI**) (Haun, 1973) was calculated for main stems to analyze differences in plant development between treatments. HI was calculated daily as the sum of the number of ligulated leaves (**NL**) and the ratio of the emerged growing leaf length (**LGL**) to its final length (**LLL**):

$$HI_j = NL_j + \frac{LGL_j}{LLL}, \qquad (Eq.\ 2.2)$$

where *j* represents the day.

2.5 LEAF AREA AND DRY MATTER

Plant sampling occurred on two different days: (i) on the first day of the drought treatment and (ii) at the cessation of leaf elongation in the unwatered treatments (when the LER of plants was null). For ryegrass and tall fescue, we performed supplementary sampling at mid-drought, defined as the time when the LER of unwatered plants was reduced by 50% compared with that of watered plants.
Five plants per treatment were sampled on each sampling date to measure plant dry matter (PDM) and its allocation between leaves, stems and roots. On the three sampling days, the blades of the youngest three leaves on the main stems were collected and scanned using ImageJ software (Schneider *et al.*, 2012). Leaf area and specific leaf area (SLA, $cm^2\ g^{-1}$) were calculated from these samplings.
The biomass of roots, blades and sheaths of the main stem, as well as those of the other plant tillers, were dried at 60°C for three days. Samples were weighed on a precision balance (BP121S, Sartorius, Sartorius AG 37 075, Göttingen, Germany) and ground in a vibratory mill (MM200, Retsch, Retsch-Allee 1-5, Haan, Germany).

2.6 LEAF WATER POTENTIAL AND OSMOTIC POTENTIAL

On each of the three aforementioned sampling days, the osmotic and water potentials of the GZ were measured for five plants per treatment during the nighttime period. Water potential was measured on the first 5 mm at the base of the GZ of the main stem using psychrometer chambers (C-52, Wescor Inc., Logan, UT, USA). The subsequent five segments of GZ samples (15 mm in length) were pooled by treatment, placed in a tube, frozen in liquid nitrogen and stored at −20°C. Samples were then brought to ambient temperature for 30 min and sap was expressed post-thawing under pressure in a syringe. Mean osmotic potential was measured using a vapor pressure osmometer (5600, VAPRO, Wescor Inc., Logan, UT, USA).

2.7 WATER-SOLUBLE CARBOHYDRATES

WSC concentration was measured in the blades, sheaths and roots of sampled plants. Initially, 60 mg of ground dry material was weighed into 15 mL capped tubes containing a mixture of Brij and 5 mL demineralized water heated to 40°C. The tubes were sealed immediately and transferred to a heat chamber at 40°C for 1 h. Subsequently, they were centrifuged at 16000 rpm for 2 min and 2.5 mL of supernatants was sampled using a pipette. WSC were analyzed using a continuous flow system, similar to that described by Wolf and Ellmore (1975). An aliquot of the WSC extract was hydrolyzed in 0.1 M sulfuric acid (0.2 N) for 40 min at 100°C. After cooling, the reducing power of the hydrolyzed carbohydrates was assayed using an Auto-Analyzer (model AAII-02, Technicon Instruments Corp., Tarrytown, USA).

2.8 STOMATAL CONDUCTANCE TO WATER

Stomatal conductance in the ambient CO_2 of each chamber was measured at the cessation of unwatered leaf elongation. A Li-6800 (Li-Cor, Lincoln, Nebraska, USA) portable CO_2/H_2O gas exchange system with a clamp-on leaf cuvette was used on five plants per [CO_2] treatment under well-watered conditions. Unwatered plant leaves were too small and dried for measurement. Using the A-Ci programme of the Li-6800 device, stomatal conductance to water vapor (gs_w, mol H_2O m^{-2} s^{-1}) was measured 1 h after switching on the lamps. The midsection of the youngest fully developed leaf blades of one tiller was enclosed for 30 min in a 2 cm² leaf cuvette under the following conditions: PAR: 1500 µmol m^{-2} s^{-1}; leaf temperature: 20°C; VPD: 1 kPa. Data stored by the LiCor were automatically corrected based on leaf area corresponding to the leaf portion enclosed within the leaf chamber.

2.9 STATISTICS

The CO_2-induced change in each studied variable ***X*** was calculated as follows:

$$\frac{X_{800\ ppm} - X_{200\ ppm}}{X_{200\ ppm}} \times 100 \qquad \textit{(Eq. 2.3)}$$

and the drought-induced change in *X* was determined as follows:

$$\frac{X_{watered} - X_{unwatered}}{X_{unwatered}} \times 100 \qquad \textit{(Eq. 2.4)}$$

Exploratory data analysis, analysis of variance (ANOVA) and linear regression techniques were employed via R v.4.0.2 (R Core Team, 2019) and figures were created using the ggplot2 package (Wickham, 2016). ANOVA was performed following a two-factor linear model as follows:

$$Y_{ijk} = m + W_i + C_i + S_k + (W \times C)_{ij} + \xi_{ijk} \qquad \textit{(Eq. 2.5)}$$

where ***Y*** represents any dependent variable, ***m*** is the mean value of ***Y***, $\boldsymbol{W_i}$ is the effect of water treatment *i*, $\boldsymbol{C_j}$ is the effect of [CO_2] treatment *j*, $\boldsymbol{S_k}$ is the effect block *k and* ***ξ*** is the random error of measurement *ij*.
Normal distributions of the residuals from ANOVA were tested using the Shapiro–Wilk test and homoscedasticity was assessed using the Levene test. T-tests was used for multiple pairwise comparisons between groups. Means of different treatments were tested with the least significant difference at a probability of 0.05. Linear correlation coefficients (Pearson coefficients) were used to determine dependence between two quantitative variables.

III. RESULTS

Initially, we describe the primary effects of the [CO_2] × drought interaction on water consumption and the resulting growth responses at the whole-plant scale. Subsequently, we focus on leaf elongation and further explore GZ characterisation.

3.1 Effects of the water deficit and [CO_2] interaction on water use

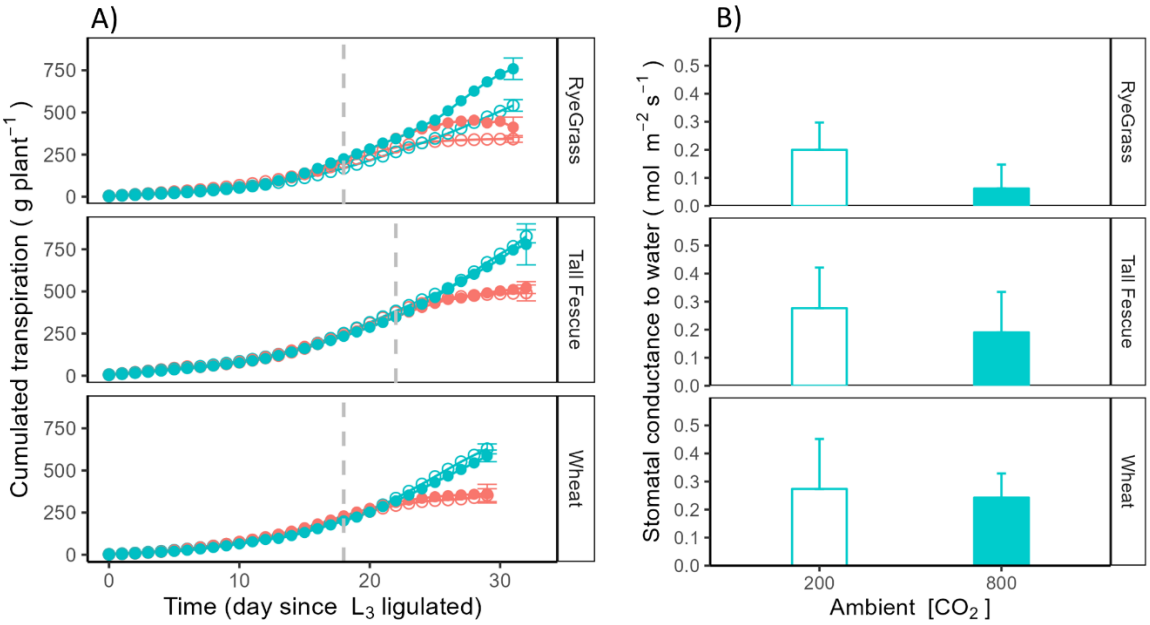


Fig. 2.2. Daily cumulative transpiration (g) per plant (A) and stomatal conductance to water (mol m^{-2} s^{-1}) as a function of ambient [CO_2] (ppm) (B) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels).

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open circles and boxes) or 800 ppm [CO_2] (closed circles and boxes) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Plant transpiration was calculated gravimetrically and averaged across 10 plants per treatment. The vertical dotted line indicates the start of the drought treatment. Stomatal conductance (gs_w) response to ambient [CO_2] in each growth chamber was measured for watered plants only (n = 5). Data represent means ± standard deviations (error bars).

Cumulative transpiration in plants (Fig. 2.2A) increased with their development, reaching 350–800 g per plant at the cessation of leaf elongation under unwatered conditions. Tall-fescue plants exhibited greater total transpiration (~600 g) compared with ryegrass (~490 g) and wheat (~500 g). Following drought onset, cumulative plant transpiration slowed rapidly (within ~1.5 days), with transpired water volume at growth cessation approximately 70% lower than that under watered conditions ($p < 0.5$). [CO_2] effects on cumulative transpiration varied by species. Elevated [CO_2] (800 ppm) slightly (non significantly) reduced total plant transpiration in watered tall fescue and wheat. Conversely, elevated [CO_2] significantly increased cumulative plant transpiration in ryegrass, which was 40% and 20% higher for watered ($p < 0.001$) and unwatered ($p < 0.05$) plants, respectively, at 800 ppm compared with 200 ppm. Additionally, gs_w (Fig. 2.2B) was higher at a [CO_2] of 200 ppm relative to 800 ppm, with a pronounced decreased observed in ryegrass (−70%), a lesser decrease in tall fescue (−30%) and a non-significant difference in wheat.

3.2 Effects of the water deficit and [CO_2] interaction on plant growth

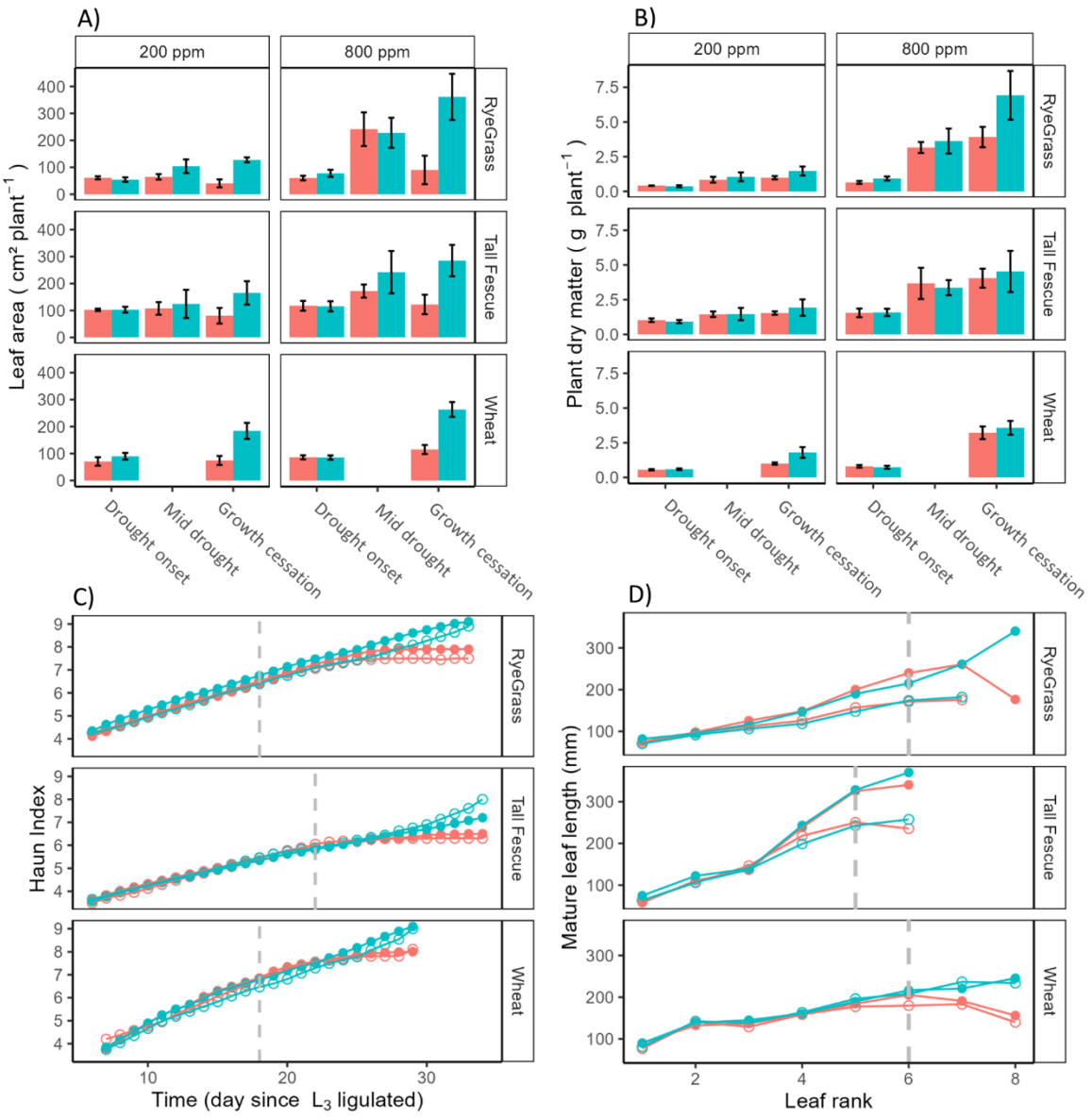


Fig. 2.3. Leaf area (cm²) per plant (A), plant dry matter (g) per plant (B), the Haun index (C) and the final length of ligulated leaves on the main stem (mm) as a function of leaf rank (D) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum(bottom panels) according to drought progression.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open circles) or 800 ppm [CO_2] (closed circles) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset (vertical dotted line) marks the cessation of watering in unwatered plants, mid-drought indicates the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants was reduced by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is the date when the LER of these plants reached zero. Data are averaged across five plants per treatment, representing means ± standard deviations (error bars). Plant dry matter comprises the main stem, tillers and roots.

The response of cumulative plant transpiration to [CO_2] was closely linked to leaf area development (Fig. 2.3A). Leaf area in watered plants increased over time, reaching 130–360 cm² at the cessation of unwatered leaf elongation. Considering all treatments, drought significantly reduced final leaf area by approximately 170% at growth cessation ($p < 0.05$). Elevated [CO_2] (800 ppm) increased watered plant leaf area by 40%, 70% and 180% in wheat, tall fescue and ryegrass, respectively. Under drought conditions, unwatered plant leaf area increased until mid-drought at a [CO_2] of 800 ppm, subsequently declining due to senescence (by 40% in tall fescue and 170% in ryegrass). However, at a [CO_2] of 200 ppm, drought immediately affected leaf area, which remained almost constant across growth stages.
PDM was significantly reduced by water deficit and [CO_2] ($p < 0.05$). However, it increased over time under watered conditions, reaching 1.5–7.0 g. After drought onset, PDM plateaued, with PDM approximately 25% lower in unwatered plants than in watered plants (Fig. 2.3B). Elevated [CO_2] increased PDM in watered plants by approximately 207% compared with 200 ppm [CO_2] at the cessation of leaf elongation under unwatered conditions. Main stem dry matter (DM) increased by approximately 80%, whereas the DM of other tillers (calculated as PDM − main stem DM) increased by approximately 280% between 200 and 800 ppm in watered plants **[Supplementary Data Fig. S4]**. The [CO_2] effect persisted under drought conditions, with the PDM decline being higher at 200 ppm than at 800 ppm: approximately 30% and 20% decreases, respectively, between unwatered and watered plants of all species.
Aboveground and belowground biomass distribution responded consistently to drought and the shoot:root ratio decreased by 60% between unwatered and water plants of all species and [CO_2] treatments ($p < 0.05$) **[Supplementary Data Fig. S2.8].** CO2 did not affect the allocation of resources in response to drought.

The HI increased more rapidly in wheat and ryegrass compared with tall fescue (Fig. 2.3C). On average, wheat and ryegrass produced one leaf every 5 days compared with 7 days for tall fescue ($p < 0.05$). Following drought onset, the HI of all species plateaued, not exceeding 7.3, as leaves ceased to emerge. [CO_2] did not affect HI in any species under both water regimes.

Final leaf length (Fig. 2.3D) significantly increased with leaf rank under watered conditions ($p < 0.05$). Tall fescue exhibited the longest mature leaves at the L6 stage, increasing by around 30% across treatments. Under watered conditions, elevated [CO_2] increased final leaf length by 40% and 30% in tall fescue and ryegrass, respectively, at the L6 stage ($p < 0.05$). Contrastingly, wheat leaf lengths did not differ significantly between [CO_2] treatments. For all species, final mature leaf length under water deficit (L8 stage in ryegrass and wheat and L6 stage in tall fescue) was reduced by approximately 10% at both [CO_2] levels ($p < 0.05$). However, [CO_2] had no significant effect on final leaf length under drought conditions.

3.3 Effects of the water deficit and [CO_2] interaction on leaf growth

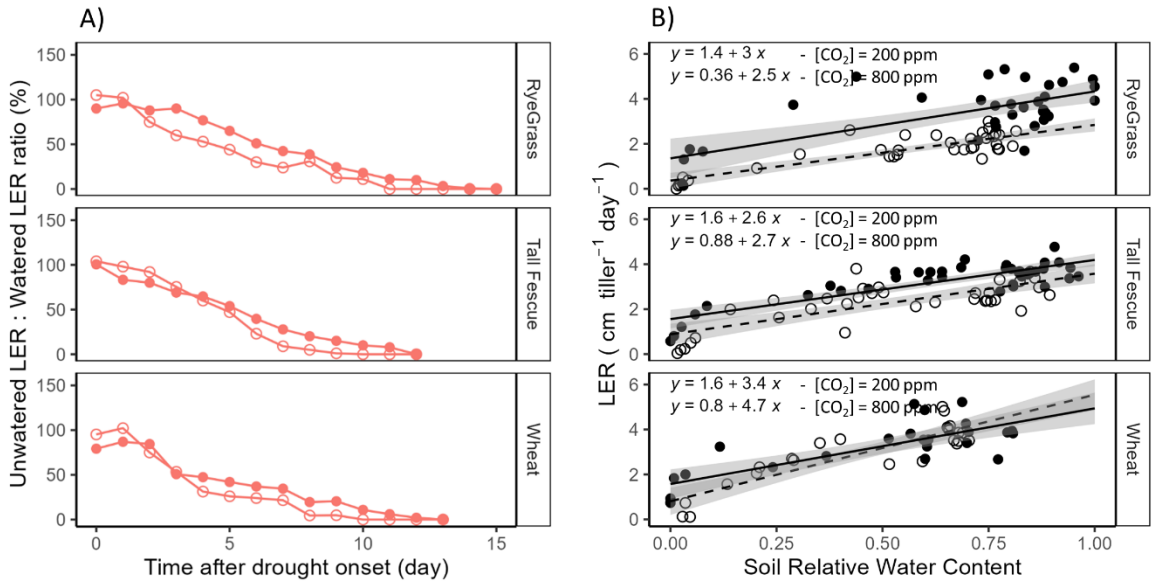


Fig. 2.4. Leaf elongation rate (LER) unwatered:watered ratio as a function of time following drought onset (day) (A) and LER (cm tiller^{-1} day^{-1}) as a function of soil relative water content (B) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels).

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open circles) or 800 ppm [CO_2] (closed circles). Lines and equations represent linear regression, with standard error bounds shown in gray.

Following drought onset, LER in unwatered plants decreased rapidly compared with watered plants, reaching 0 cm day^{-1} after 9–12 days for tall fescue, 10–13 days for wheat and 11–14 days for ryegrass (Fig. 2.4A). Unwatered plants grown at elevated [CO_2] (800 ppm) maintained leaf elongation over a prolonged period (+3 days for ryegrass and tall fescue and +2 days for wheat) compared with those grown at a [CO_2] of 200 ppm ($p < 0.05$).

To elucidate the effect of [CO_2] on water consumption, we assessed the relationship between LER and SRWC, observing a positive linear relationship between these parameters, ranging from optimal water availability (SRWC = 1) to extreme drought (SRWC = 0) (Fig. 2.4B). In ryegrass and tall fescue, given a similar SRWC, leaves elongated more rapidly at 800 ppm [CO_2] than at 200 ppm [CO_2] ($p < 0.05$, **[Supplementary Data, Table S2.4]**). Conversely, [CO_2] exerted no significant effect on the relationship between LER and SRWC in wheat.

3.4 Effects of the water deficit and [CO_2] interaction on GZ water status

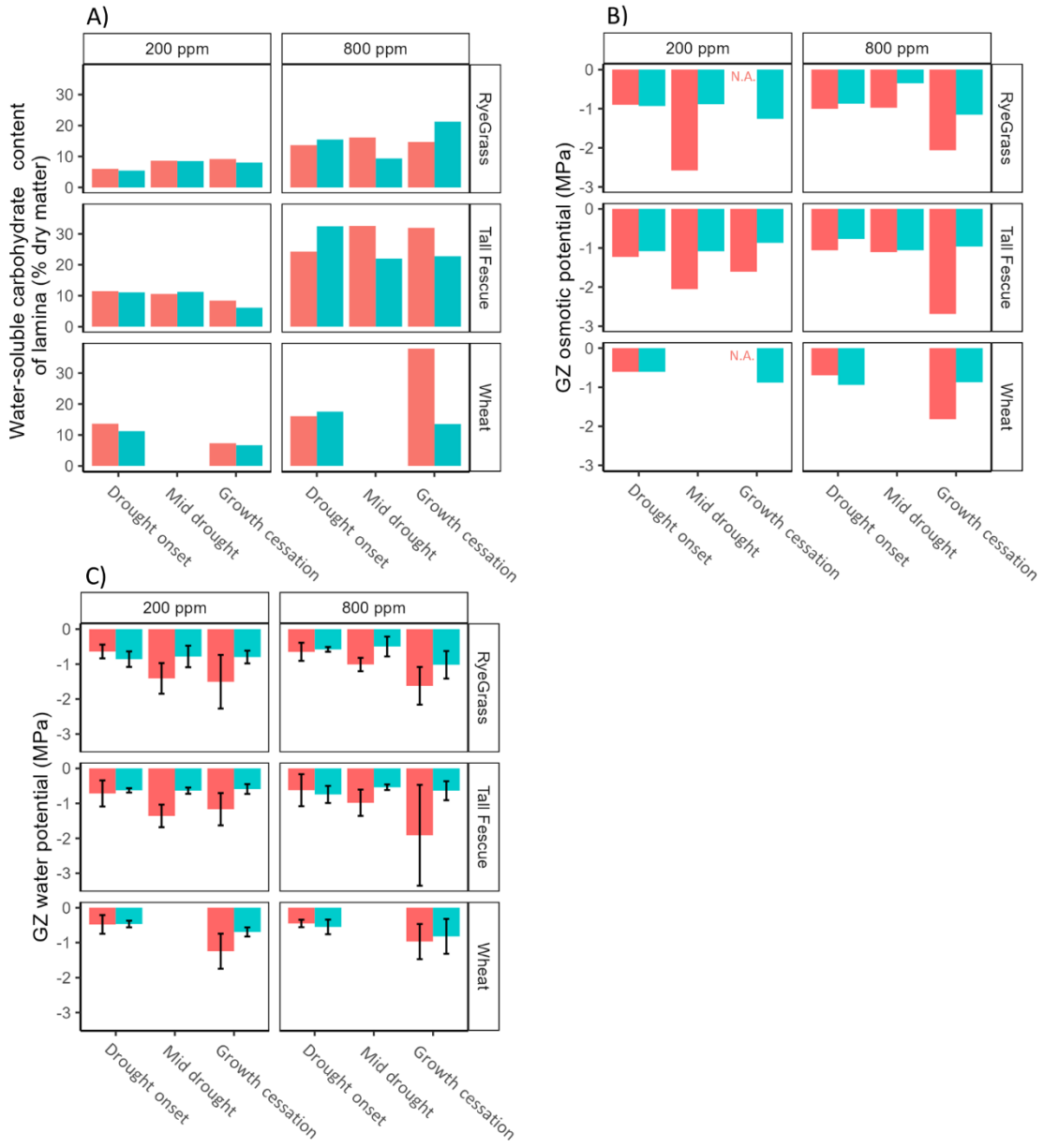


Fig. 2.5. Water-soluble carbohydrate content (% dry matter) per plant (A) and growing zone osmotic potential ($\psi_{\pi, GZ}$ MPa) (B) and water potential ($\psi_{W, GZ}$, MPa) (C) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels) at drought onset, mid-drought and growth cessation.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (left panel) or 800 ppm [CO_2] (right panel) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset occurred when plants in the unwatered treatment ceased receiving water. Mid-drought represents the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants decreased by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment.

Given the similar WSC response to water and [CO_2] treatments among blades, sheaths and roots, only blade data are presented (Fig. 2.5A, **[Supplementary Data Fig. S2.5A, B]**). [WSC] of watered plants decreased over the experimental period in wheat and tall fescue but tended to increase in ryegrass. Under drought conditions, the [WSC] of unwatered tall fescue and wheat increased by around 15% compared with that in watered plants at growth cessation. However, the [WSC] of unwatered ryegrass grown at a [CO_2] of 200 ppm increased by approximately 15%, whereas it decreased by around 40% under elevated [CO_2] (800 ppm). In all species, the [WSC] of watered plants increased by approximately 60% under elevated [CO_2]. Additionally, [CO_2] affected [WSC] under drought conditions, showing an increase of approximately 80% at 800 ppm in wheat and tall fescue and 40% in ryegrass at leaf elongation cessation ($p < 0.05$ for ryegrass and tall fescue).

The osmotic potential of the GZ ($\psi_{\pi, GZ}$) in unwatered ryegrass and wheat was unmeasurable at 200 ppm at leaf elongation cessation (the plants were too small, making GZ extraction challenging). Nevertheless, the $\psi_{\pi, GZ}$ of watered plants remained relatively constant at approximately −0.9 MPa under both [CO_2] conditions, with no significant difference observed among species (Fig. 2.5B). Following drought onset, all species showed a decrease in $\psi_{\pi, GZ}$ from mid-drought (except for tall fescue at a [CO_2] of 800 ppm), with approximately 50% reductions observed at growth cessation under [CO_2] conditions compared with the watered treatment. However, [CO_2] did not significantly affect $\psi_{\pi, GZ}$ in any species at nighttime. Osmotic potential and WSC content were uncorrelated (corr < 0.5, **[Supplementary Data Table S2.2]**).

Regarding watered plants, the water potential of the GZ ($\psi_{W, GZ}$) ranged from −0.8 to −0.6 MPa throughout the experiment (Fig. 2.5C), showing no significant differences among species. Under drought conditions, $\psi_{W, GZ}$ significantly decreased for all species ($p < 0.05$) and was lower than that under watered conditions from mid-drought in ryegrass and tall fescue ($p < 0.05$). [CO_2] did not affect $\psi_{W, GZ}$ in watered plants at nighttime. However, under drought conditions, [CO_2] tended to slow down the decrease in $\psi_{W, GZ}$: it was non-significantly less negative under 800 ppm [CO_2] than under 200 ppm [CO_2] at mid-drought. Overall, greater variability existed among species and between [CO_2] treatments under unwatered conditions compared with watered conditions.

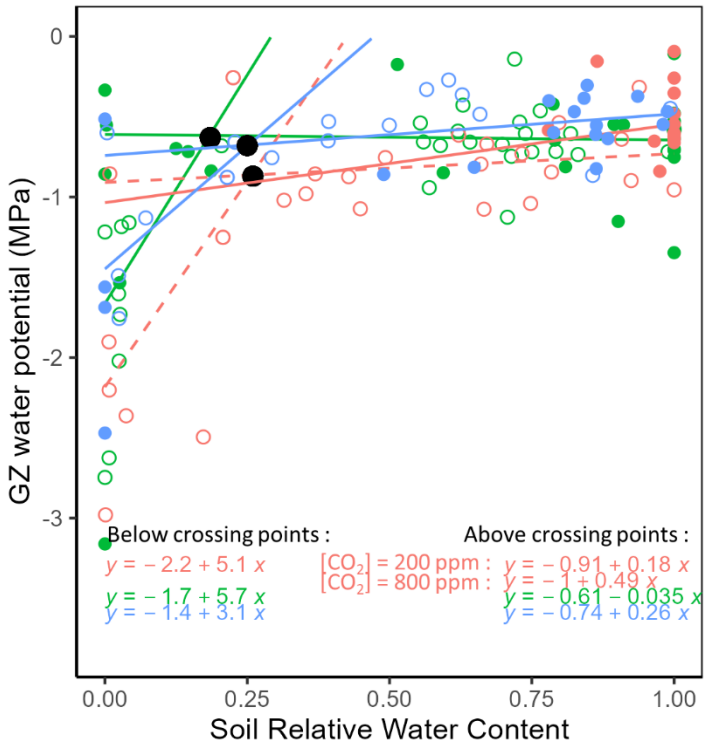


Fig. 2.6. Growing zone water potential ($\psi_{W, GZ}$, Mpa) as a function of soil relative water content in Lolium perenne (red circles), Festuca arundinacea (green circles) and Triticum aestivum (blue circles).

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open circles) or 800 ppm [CO_2] (closed circles). Sampling was performed at nighttime. The kinetics of $\psi_{W, GZ}$ as a function of SRWC are described for each species via two intersecting linear regression lines, with a black circle representing their intersection.

Nighttime variation in $\psi_{W, GZ}$ was dependent on SRWC, showing a similar pattern for all species. Specifically, $\psi_{W, GZ}$ remained stable over a wide range of SRWC values and decreased sharply as the soil dried (Fig. 2.6). Two linear regression models were employed to estimate the threshold at which $\psi_{W, GZ}$ declined sharply in response to SRWC reduction. The $\psi_{W, GZ}$ response to SRWC differed significantly between [CO_2] treatments in ryegrass **[Supplementary Data Table S2.3]** but was unaffected in tall fescue and wheat. At a [CO_2] of 200 ppm, the $\psi_{W, GZ}$ of ryegrass fell when SRWC was 0.26, whereas the relationship was more linear at a [CO_2] of 800 ppm. Regarding tall fescue and wheat, the threshold occurred at SRWC values of 0.19 and 0.27, respectively, under [CO_2] treatments. Therefore, the $\psi_{W, GZ}$ of wheat exhibited the highest sensitivity to SRWC, followed by ryegrass grown at 200 ppm [CO_2] and then tall fescue and ryegrass cultivated at 800 ppm [CO_2].

IV. Discussion

4.1 Increasing [CO_2] from 200 to 800 ppm did not conserve water but markedly increased leaf area

We examined the potential of [CO_2] to mitigate plant water loss. Supporting our hypothesis, gs_w was lower under elevated [CO_2] (800 ppm), although the extent of stomatal closure varied markedly among species (−70%, −30% and −10% in ryegrass, tall fescue, and wheat, respectively), compared with low [CO_2] (200 ppm). Similar reductions in gs_w have been documented in previous studies. For instance, Baca Cabrera *et al.* (2020) observed a 75% decrease in gs_w in ryegrass between [CO_2] levels of 200 and

800 ppm, whereas Yu *et al.* (2012) reported a 25% decrease in tall fescue between [CO_2] levels of 400 and 800 ppm. Bunce (2000) noted a 50% reduction in gs_w between [CO_2] levels of 350 and 700 ppm in open-topped chambers, a higher reduction than that observed in our study between [CO_2] at 200 and 800 ppm in growth chambers, likely due to lower temperatures in their field experiments. Although gs_w was not measured under drought conditions in our experiment, Li *et al.* (2004) reported that elevated [CO_2] reduced gs_w more under drought conditions (−51%) than under well-watered conditions (−41%) in wheat plants grown at [CO_2] levels of 350 and 700 ppm.

Early in development, the stomatal closure induced by elevated [CO_2] led to decreased instantaneous transpiration rates at the leaf scale **[Supplementary Data Fig. S6A]** in our study, consistent with previous findings in tall fescue (Chen *et al.*, 2015: between 400 and 800 ppm) and wheat (Tyree and Alexander, 1993: between 350 and 800 ppm). Concurrently, elevated [CO_2] increased leaf photosynthesis **[Supplementary Data Fig. S7A]** and WSC content in different organs in the three tested species, with similar findings previously reported for tall fescue (Chen *et al.*, 2015), wheat (Thilakarathne *et al.*, 2015), and other C_3 species (Ainsworth & Rogers, 2007). The ratio of photosynthesis to transpiration (instantaneous water-use efficiency) increased by approximately 90% at elevated [CO_2] levels for all three species **[Supplementary Data Fig. S7B]**. This positive effect of [CO_2] on WSC accumulation and water conservation enhanced growth potential, resulting in increased leaf area production with substantial interspecific variability. Consequently, total water transpiration by plants at elevated [CO_2] was either similar for wheat and tall fescue or higher for ryegrass at the cessation of leaf elongation under unwatered conditions. Morison and Gifford (1984) also noted increased plant water loss due to leaf area expansion under elevated [CO_2] across 16 crop species. Therefore, complex interactions persist among gs_w, transpiration rates and leaf area under elevated [CO_2] (Fig. 1), suggesting that the instantaneous response of the leaf alone is insufficient, making it necessary to integrate effects at the whole-plant level over a sufficiently prolonged developmental period. Nevertheless, despite equivalent rates of water use by plants grown at elevated [CO_2] levels, higher biomass productivity was observed under both watered and drought conditions.

Leaf area expansion at elevated [CO_2] primarily resulted from increased tillering and LER. This positive effect of [CO_2] on tillering was previously described by Sionit *et al.* (1981), Hocking and Meyer (1991), Nicolas *et al.* (1993), Suter *et al.* (2001) and Brinkhoff *et al.* (2018) in ryegrass and wheat. Additionally, Yiotis *et al.* (2021) investigated intraspecific variation in aboveground DM production among 40 genotypes of perennial ryegrass in response to elevated [CO_2], finding approximately sevenfold intraspecific variation among the genotypes and concluding that the number of tillers, rather than the leaf area of each individual tiller, was the most sensitive factor in the plant DM response to elevated [CO_2]. Although our study focused on leaf growth responses, we calculated a tiller index as the ratio between the DM of tillers (excluding the main stem) and that of the main stem **[Supplementary Data, Fig. S4]**. Our results aligned with those of Yiotis *et al.* (2021), with the increase in the index at elevated [CO_2] primarily explaining the leaf area expansion in perennial grasses.

As [CO_2] did not significantly impact the rate of leaf emergence in all tested species (HI; Fig. 3B), we infer that differences in tillering between 200 and 800 ppm [CO_2] levels were unrelated to the number of lateral apices, which is coordinated with leaf initiation (Davies, 1974). Instead, we postulate that elevated [CO_2] increased site filling, the proportion of apices that ultimately develop into a visible tiller. Davies (1965) found that site filling varies under environmental conditions and decreases with low carbohydrate availability. Our results highlight a substantial difference in tillering and WSC content between 200 and 800 ppm [CO_2] levels, suggesting a limitation through WSC. Under water deficit conditions, elevated [CO_2] increased the tillering response to drought for all species, with ryegrass benefiting the most from CO_2. Ryegrass exhibited the lowest WSC accumulation but the highest tillering index compared with the other species, likely due to greater WSC use in tiller growth.

Leaf and tiller appearance rates are closely related (Davies, 1974; Davies and Thomas, 1983). Additionally, the duration of leaf elongation may play a crucial role in regulating the appearance of new leaves and tillers (Skinner & Nelson, 1994). Therefore, understanding how leaf elongation responds to these environmental factors is considered essential and is further discussed in the following sections.

4.2 Elevated [CO_2] mitigated the drought effect on individual leaf growth

Transpiration substantially affects LER, *e.g.* during day/night variations (Parrish & Wolf, 1983; Durand *et al.*, 1995a) or induced stomatal opening due to blue light irradiance (Barillot *et al.*, 2020). The decrease in transpiration rate leads to increased water potential gradients within the tiller, resulting in increased GZ water flow and faster elongation (Martre *et al.*, 1999). Therefore, CO_2-induced stomatal closure likely increases LER. Accordingly, we found that LER's response to soil water availability was positively affected by [CO_2] in ryegrass and tall fescue (Fig. 4B), and both species exhibited a marked reduction in gs_w in response to elevated [CO_2]. Wheat's LER likely did not respond to [CO_2] due to its lower gs_w response. However, Seneweera and Conroy (2005) observed a 32% acceleration in LER in wheat plants grown under well-watered conditions at a [CO_2] of 700 ppm compared with 370 ppm. These contrasting results may be attributed to variations in LER calculation methods: Seneweera and Conroy (2005) restricted LER calculation to the sixth leaf for 12 h, whereas LER was monitored at the tiller scale (refer to section 2.3) for several weeks in the present study.
Over a prolonged developmental period, we found that [CO_2] delayed the effects of drought on LER in all species. With the decrease in transpiration rate delaying soil water depletion, [CO_2] reduced the rate of decline in SRWC during drought. Soil water conservation was also observed by Robredo *et al.* (2007) in barley, where soil drying was delayed by 3–4 days at a [CO_2] of 850 ppm compared with ambient [CO_2]. Similar results have been reported for soybean (Rogers *et al.*, 1984), maize (Samarakoon and Gifford, 1995) and rice (Vu *et al.*, 1998).

4.3 CO_2 did not affect the nighttime water potential or osmotic potential of the GZ

The measurement of water potential allowed for the definition of water status at the plant level and facilitated discussion of the relationships between water variables and growth. Given that [CO_2] affected the LER response to drought in ryegrass and tall fescue, we determined whether this resulted in less negative $\psi_{W,GZ}$ values, thereby providing fundamental data on the water potential of the GZ under these conditions. We found no effect of [CO_2] on $\psi_{W,GZ}$, regardless of species and water supply treatment. Additionally, the response of $\psi_{W,GZ}$ to SRWC was not significantly affected by [CO_2] in tall fescue and wheat. The [CO_2] effect on the $\psi_{W,GZ}$ and SRWC relationship in ryegrass was likely associated with the heightened gs_w response in this species. Notably, we measured water potential at nighttime, when transpiration rates are low and growth rates are likely higher than those observed during the daytime (*e.g.* in tall fescue: Parrish and Wolf, 1983; Durand *et al.*, 1995). The environmental conditions in the present study were similar to those used by Baca Cabrera *et al.* (2020), who found that the [CO_2] effect on mature leaves' water potential was only significant during daytime. Currently, there is no consensus on how the CO_2 × water availability interaction affects leaf water status during the daytime. Most studies have focused on mature leaves; hence, measuring diurnal $\psi_{W,GZ}$ could help bridge this knowledge gap. Furthermore, evaluating the growth-induced water potential gradient may prove valuable.
The present study provides new data on osmotic potential in the GZ at two CO_2 levels in three species. As expected, $\psi_{\pi,GZ}$ decreased under drought conditions, but [CO_2] exerted a minimal effect on $\psi_{\pi,GZ}$, consistent with the findings of Baca Cabrera *et al.* (2020) in ryegrass, where $\psi_{\pi,GZ}$ values of approximately −1.5 and −2 MPa were observed at the end of the night under 200 and 800 ppm [CO_2], respectively. In contrast, decreased osmotic potential in mature leaves in response to CO_2 was observed in unwatered wheat (Sionit *et al.*, 1981) and tall fescue (Chen *et al.*, 2015) plants under elevated [CO_2] conditions. However, these measurements were taken from mature leaves, potentially differing from those of the GZ. Furthermore, despite the positive effect of [CO_2] on WSC content in plants, we observed no osmotic adjustment in the GZ under both watered and drought conditions,

suggesting a minimal contribution by sugars to osmotic potential. Notably, WSC and $\psi_{\pi, GZ}$ were measured in different plant tissues (mature leaves and the GZ, respectively), which could explain their lack of correlation. However, it is likely that [CO_2] not only increased WSC content in blades, sheaths and roots but also in the GZ. Similar conclusions were drawn by Baca Cabrera *et al.* (2020).

Using water and osmotic potential measurements in the GZ, we estimated turgor potential (ψ_P), which provides the physical force required to sustain enlargement and plays a critical role in cell growth (Hsiao *et al.*, 1976). However, the response of GZ turgor potential ($\psi_{P, GZ}$) to [CO_2] and drought varied considerably among species, particularly at growth cessation due to leaf senescence. Under drought conditions, $\psi_{P, GZ}$ increased; therefore, the decrease in LER cannot be attributed to a decrease in $\psi_{P, GZ}$. Although plants may exhibit an associated reduction in LER and ψ_P under limited water availability (*e.g.* in wheat: Fischer and Sanchez, 1979; in maize Bouchabké *et al.*, 2006), expansion may also be unrelated to ψ_P or overridden by cell wall properties (Termaat *et al.*, 1985). Martre *et al.* (1999) reported that ψ_P was systematically lower in expanding cells than in mature cells in tall fescue and found no correlation between $\psi_{P, GZ}$ and local growth rate along the GZ. Without cellular expansion, $\psi_{P, GZ}$ shows no decrease through relaxation, remaining high, as observed in mature leaves. Durand *et al.* (1995) found that GZ size decreased with drought. As sample dimensions were kept constant throughout the experiment (5 mm at the base of the leaf), tissues did not grow at growth cessation. Therefore, no relaxation occurred, potentially explaining the higher $\psi_{P, GZ}$ measured at the basal part of the leaf under such conditions. Similarly, Onillon (1993) reported an increase in $\psi_{P, GZ}$ in tall fescue under drought conditions.

4.4 Interspecific variability in growth in response to the [CO_2] and drought interaction

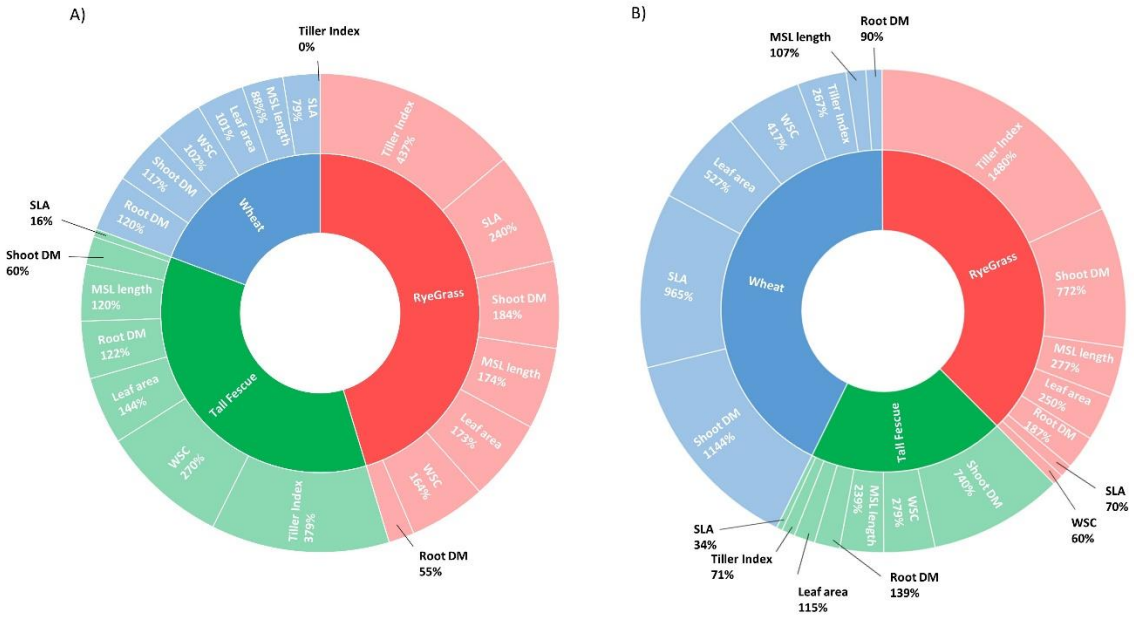


Fig. 2.7. Summary of 800 and 200 ppm [CO_2] effects on the relative growth rates of quantitative variables and water-soluble carbohydrate (WSC) content under well-watered conditions (A) and on plant responses to drought (B) in Lolium perenne (red), Festuca arundinacea (green) and Triticum aestivum (blue).

Results are calculated as the variation in WSC between 200 and 800 ppm [CO_2] treatments at the cessation of leaf elongation under unwatered conditions. For variables X, data are variations between 200 and 800 ppm following drought onset:

$$\frac{\left(\frac{X_{800\ ppm,growth\ cessation}-X_{800\ ppm,drought\ onset}}{X_{800\ ppm,drought\ onset}}\right)-\left(\frac{X_{200\ ppm,growth\ cessation}-X_{200\ ppm,drought\ onset}}{X_{200\ ppm,drought\ onset}}\right)}{\left(\frac{X_{200\ ppm\ growth\ cessation}-X_{200\ ppm,drought\ onset}}{X_{200\ ppm,drought\ onset}}\right)} \quad (Eq.\ 6)$$

Variable box size is proportional to the [CO_2] effect. DM: dry matter; SLA: specific leaf area; MSL: length to total main stem leaf length; tiller index: the ratio of dry matter between all tillers other than the main stem and the main stem alone.

To summarise the plant growth response to [CO_2] and interspecific variability, the relative variation of each morphogenesis component investigated between 200 and 800 ppm and under the two water regimes is presented in Fig. 7A and B. The responses of the various plant morphogenesis components to [CO_2] showed substantial interspecific variability (Fig. 7A). [CO_2] exerted a stronger effect on perennial grasses than on wheat under optimal water conditions (refer to box size in Fig. 7A). We found that [CO_2] affected three morphogenesis components: LER, final leaf length and primarily tillering (as discussed earlier). The effect of [CO_2] on the relative variation of plant DM and other morphogenesis variables was more pronounced during drought for all three species (Fig. 7B). Overall, the leaf growth responses of the three species followed similar trends under the [CO_2] × drought interaction, although the intensity and underlying mechanisms differed. Ryegrass exhibited similar responses to those under optimal conditions, with a high tiller index linked to WSC use. The tiller index in ryegrass was stimulated

by [CO_2] to a much greater extent than in either tall fescue or wheat. However, although [CO_2] had no effect on tillering under watered conditions in wheat, possibly related to the absent gs_w response as well as the association of LER and SRWC with [CO_2], the tillering index increased with elevated [CO_2] under drought conditions. [CO_2] strongly enhanced SLA and leaf area in wheat (Fig. 7B), suggesting that it predominantly affected the width, thickness or composition, rather than the length, of wheat leaves during drought. Previous studies have reported increases in the width (Li *et al.*, 2004; Seneweera & Conroy, 2005) and thickness (Pal *et al.*, 2005) of wheat leaves in plants grown at elevated [CO_2]. We also found that [CO_2] enhanced leaf length and plant biomass in tall fescue to a greater extent than tillering during drought. The marked increase in WSC content uninvested into growth (Fig. 7B) as well as the lower leaf initiation rate likely contributed to tall fescue's weaker response to [CO_2] relative to that of the other species.

In addition to the differences found in plant growth responses to the [CO_2] × water deficit interaction among species, intraspecific variability may also exist. Yiotis *et al.* (2021) found that the variability ranking among 40 ryegrass genotypes remained comparable between 400 and 800 ppm [CO_2]. Similarly, Bourgault *et al.* (2013) observed no differential response to elevated [CO_2] among 20 wheat cultivars, where adaptive traits were expressed consistently in ambient and elevated [CO_2] environments. Thus, regarding these morphogenesis traits, breeders should expect consistent rankings in the future, provided that these results are validated under field conditions. However, climate change impacts related to drought and high temperature are also expected to interact with these traits, potentially leading to genotype rankings that differ from those observed under CO_2-stressed conditions.

I. CONCLUSION

In conclusion, our study facilitated a comparison of the [CO_2] × water availability interaction effects on LER in individual plants over an extended period, during which multiple leaf series were developed in three Poaceae species. We found that [CO_2] mitigated and delayed the impacts of water deficit on the LER of wheat, tall fescue and ryegrass, with this positive effect on LER primarily due to the diminished transpiration rate induced by stomatal closure. Interestingly, reduced plant water loss did not affect water and osmotic potential responses to [CO_2] at nighttime, despite WSC accumulation. Elevated [CO_2] enabled water preservation and mitigated damage from water deficit during the early growth stages. However, leaf growth enhancement under elevated [CO_2] resulted in similar (tall fescue and wheat) or higher (ryegrass) water consumption. Across species, the increased leaf area was mainly attributed to the effect of [CO_2] on tillering and, to a lesser extent, on LER. Notably, plant responses to the [CO_2] × drought interaction varied markedly among species. Ryegrass, characterised by a rapid development rate, displayed the lowest gs_w and instantaneous transpiration rate at the cessation of leaf elongation under unwatered conditions, along with the lowest WSC accumulation in both sheaths and blades, whereas tillering was particularly high at a [CO_2] of 800 ppm. These results suggest that both WSC and water were allocated to the growth of new tillers in ryegrass. Tall fescue exhibited longer leaves, higher plant biomass and increased WSC content at elevated [CO_2] under drought conditions but showed a lower HI and tillering activity compared with ryegrass. Wheat displayed higher SLA, leaf area and WSC accumulation under elevated [CO_2], possibly due to variety selection favoring grain over vegetative production. Although perennial species showed a more pronounced response to [CO_2] under optimal irrigation conditions, [CO_2] stimulated wheat and ryegrass to a similar degree during drought, whereas tall fescue was less responsive due to lower tillering activity.

I. SUPPLEMENTARY DATA

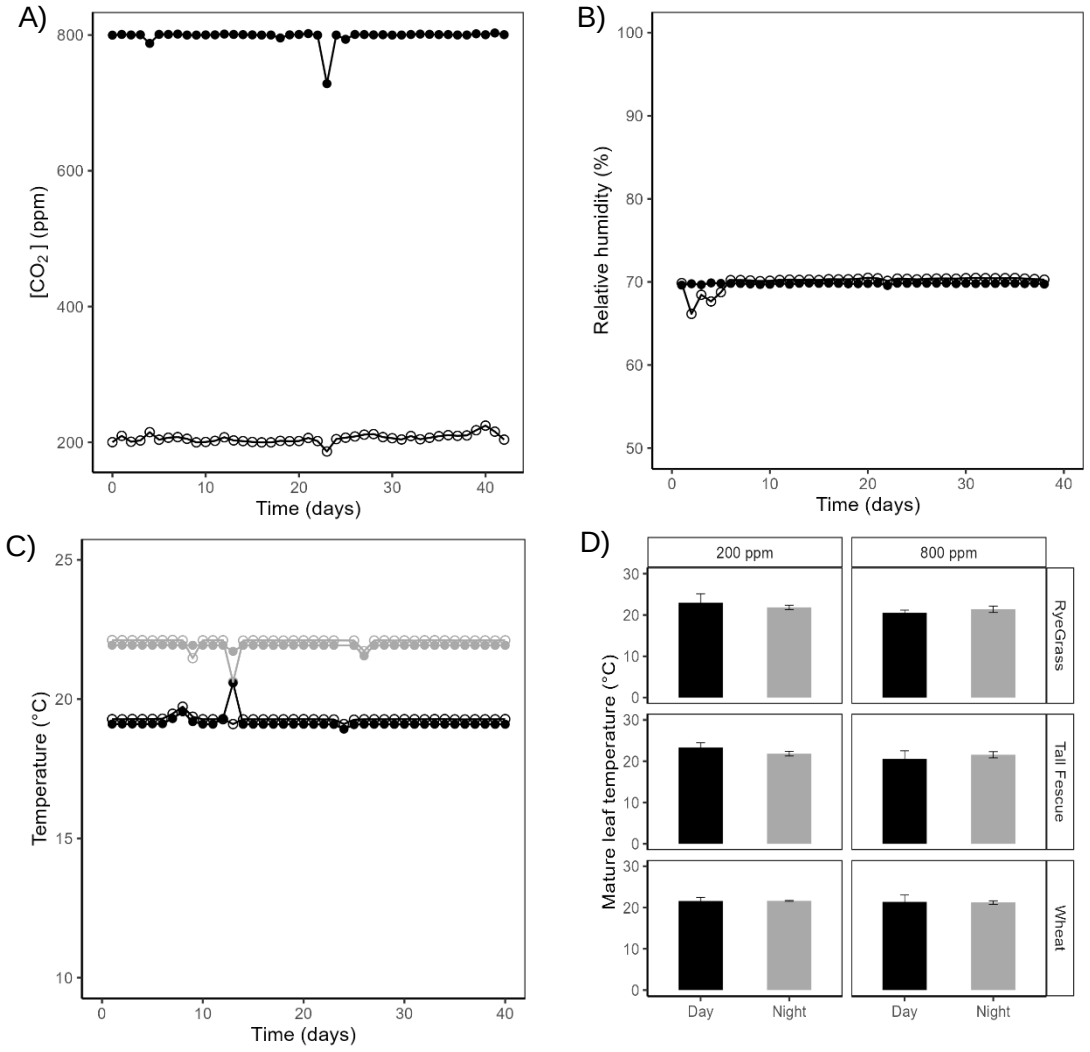


Fig. S2.1. Daily mean of CO_2 concentration (ppm) (A), relative humidity (%) (B), air temperature (°C) (C), and mature leaf temperature (°C) (D) in the two growth chambers.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open circles) or 800 ppm [CO_2] (closed circles) during daytime (black) or nighttime (grey) conditions. PAR was measured at the vegetation height in each chamber by scanning the entire surface in 15 points, showing constant radiation between CO_2 treatments (~442.6 ± 11.2 µmol PAR m^{-2} s^{-1} at 200 ppm and ~414.7 ± 29.5 µmol PAR m^{-2} s^{-1} at 800 ppm).

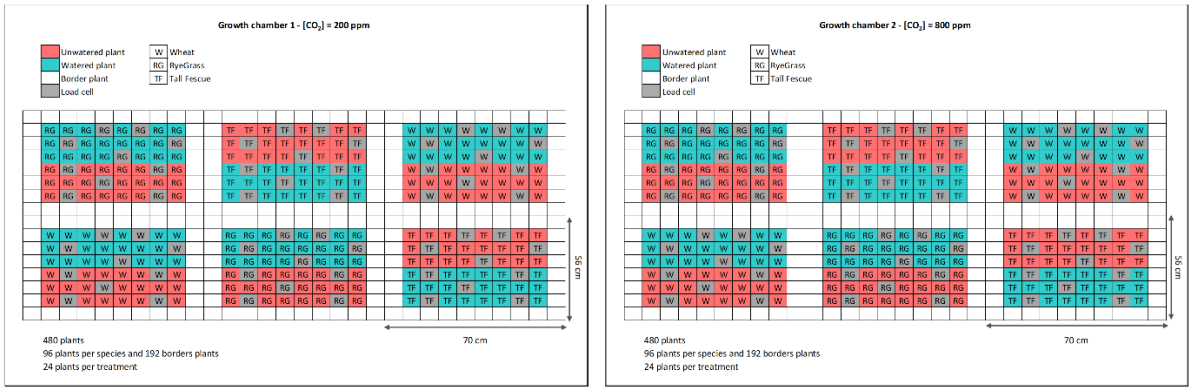


Fig. S2.2. Experimental design of the growth chambers.

The growth chambers were set at 200 ppm (left side) and 800 ppm [CO_2] (right side). We cultivated winter wheat (T. aestivum, W), perennial ryegrass, (Lolium perenne, RG) and tall fescue (Festuca arundinacea, TF) under watered (blue) and unwatered (red) conditions. Six blocks of plants (two per treatment), were disposed randomly in each chamber to limit the effect of spatial heterogeneity. Each block was separated by border plants (white). Load cells (grey) were placed under ten plants per treatment.

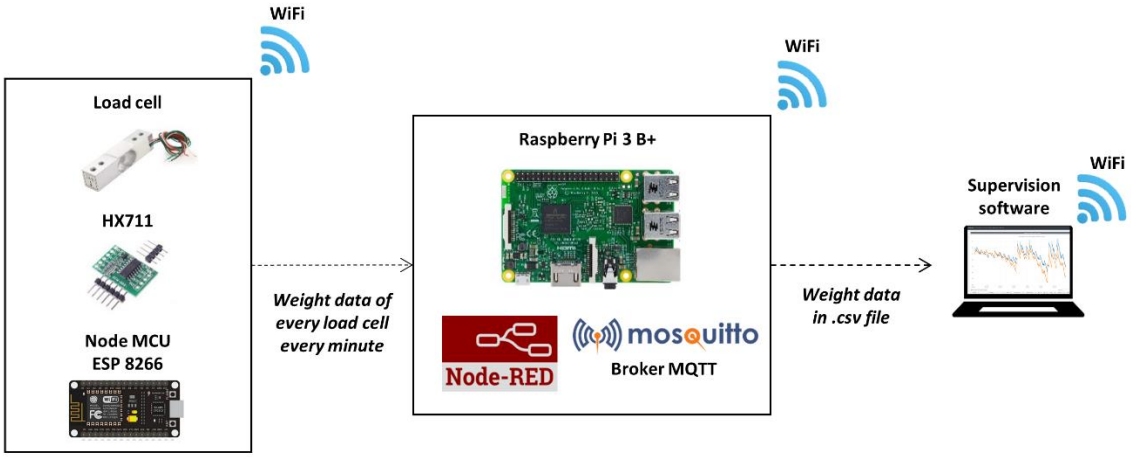


Fig. S2.3. Explanatory diagram showing the connection between the load cells and the supervision software.

Each load cell (2 kg capacity) and its amplifier (HX711) was linked to a Node MCU card (ESP 8266) and connected to a WiFi network. The software Node-RED and the Broker MQTT Mosquitto were installed on a Raspberry PI connected to the same WiFi network than the load cells. Node-Red was programmed to request to data of each load cell every minute. Analog signal from load cell was transferred to the amplifier which translated it into a numerical signal for the Node MCU. Signal was transferred to Broker MQTT and then to Node-Red to process data and saved it in .csv file on the Raspberry PI memory card. The supervision software gathered the data of the .csv file and empty it. Node-Red was also programmed for plant water supply. Node MCU transferred the irrigation data via the Broker MQTT and the Node-Red to the supervision program in the same way that for weighting data.

To overcome the vibration disturbances related to the functioning of the growth chambers, the load cells were fixed on an 8 mm thick aluminium plate. An insulator was placed on the top of each load cell to limit temperature variations.

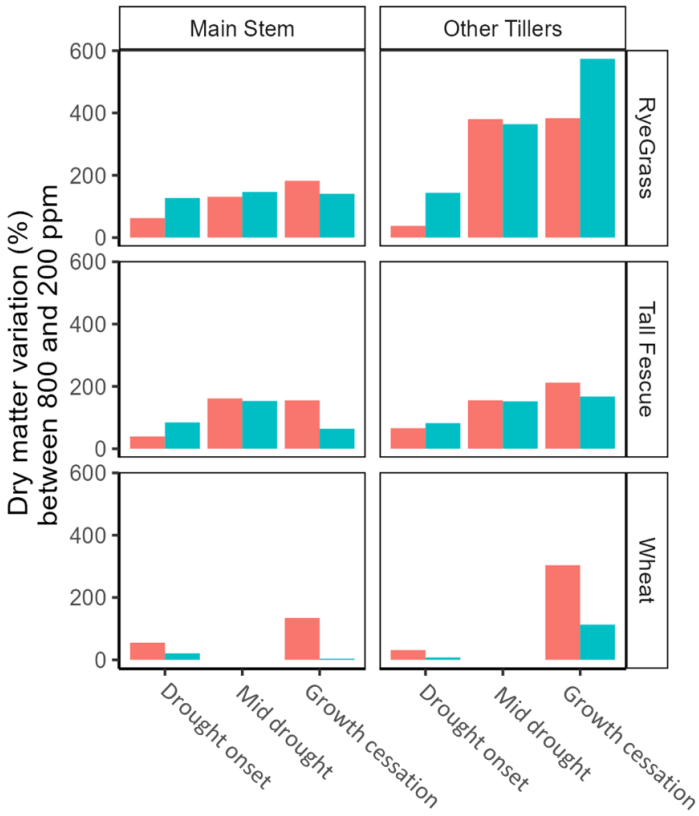


Fig. S2.4. Dry matter variation (%) of the main stem (left panels) and other tillers (right panels) between plants grown at 200 or 800 ppm [CO_2] in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels) at drought onset, mid-drought and growth cessation.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (left panel) or 800 ppm [CO_2] (right panel) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset occurred when plants in the unwatered treatment ceased receiving water. Mid-drought represents the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants decreased by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment.

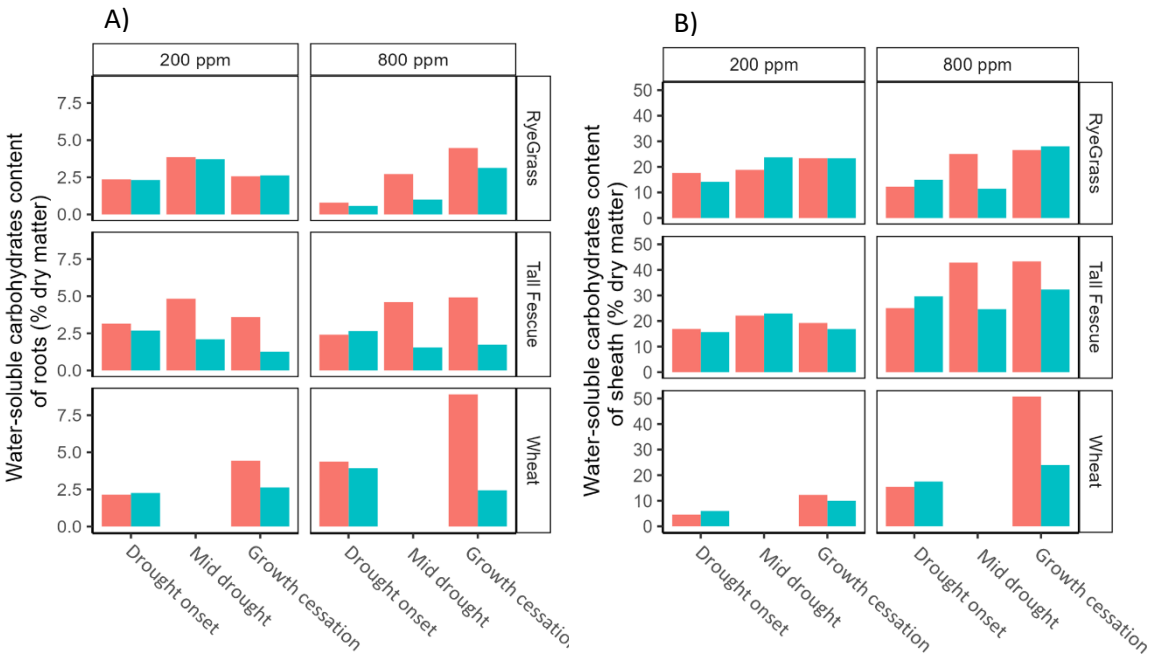


Fig. S2.5. Water-soluble carbohydrate content (% dry matter plant) of the sheath (A) and roots (B) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels) at drought onset, mid-drought and growth cessation.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (left panel) or 800 ppm [CO_2] (right panel) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset occurred when plants in the unwatered treatment ceased receiving water. Mid-drought represents the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants decreased by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment.

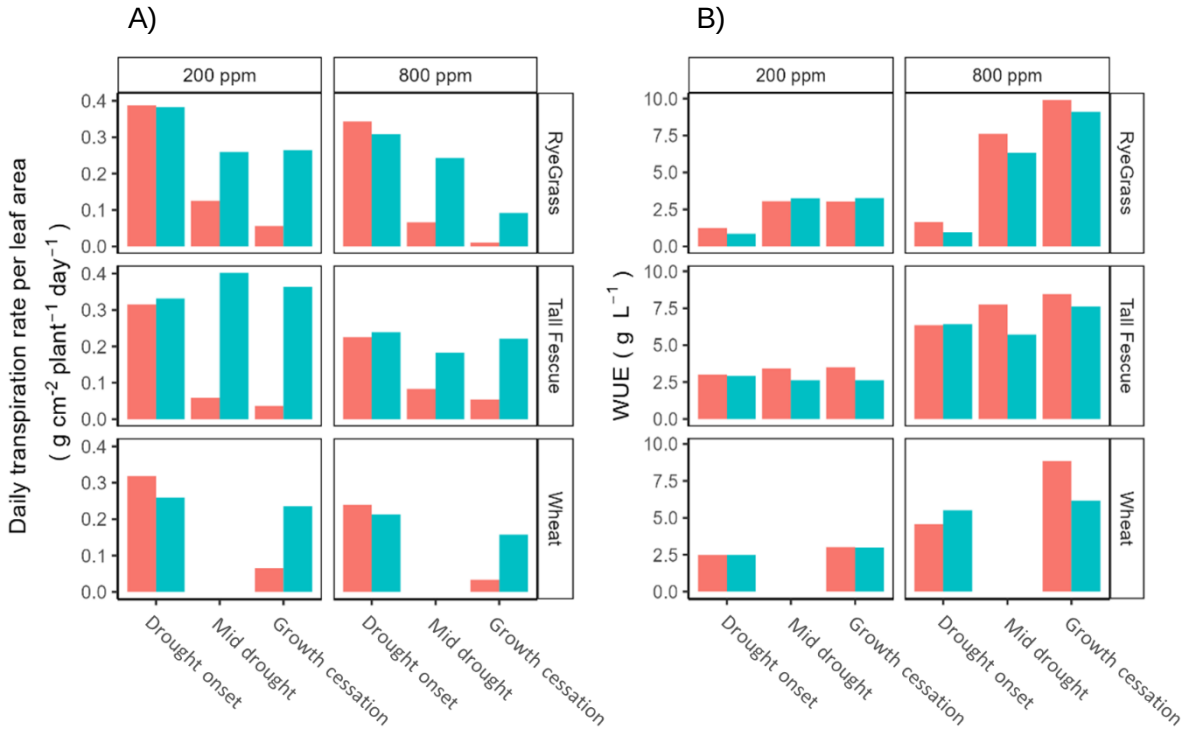


Fig. S2.6. Transpiration rate per unit of leaf area (g H_2O cm^{-2} $plant^{-1}$) (A) and water-use efficiency (WUE, g L^{-1}) (B) in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels) at drought onset, mid-drought and growth cessation.

Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (left panel) or 800 ppm [CO_2] (right panel) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset occurred when plants in the unwatered treatment ceased receiving water. Mid-drought represents the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants decreased by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment. WUE was calculated as the ratio between plant dry matter (g $plant^{-1}$) and transpiration (L $plant^{-1}$).

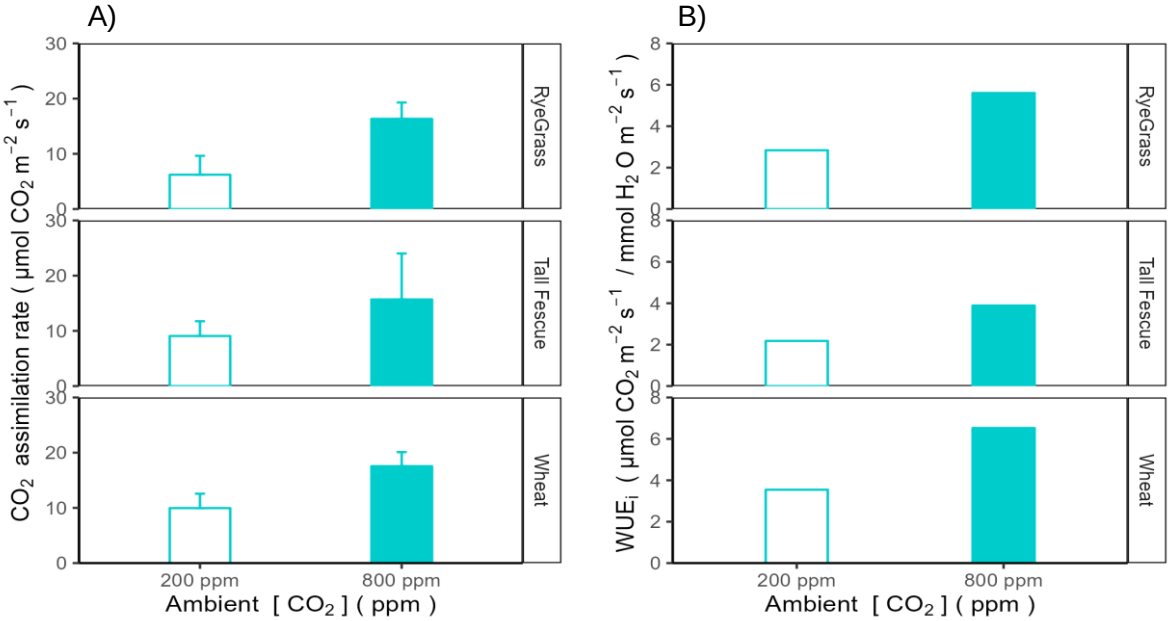


Fig. S2.7. CO_2 assimilation rate (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) (A) and instantaneous water-use efficiency (WUE_i, µmol CO_2 m^{-2} s^{-1} / mmol H_2O m^{-2} s^{-1}) (B) in *Lolium perenne* (upper panels), *Festuca arundinacea* (mid-panels) and *Triticum aestivum* (bottom panels) at growth cessation. ***Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (open boxes) or 800 ppm [CO_2] (closed boxes) under watered (blue) conditions. Growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment. WUE_i was calculated as the ratio between CO_2 assimilate rate (µmol m^{-2} s^{-1}) and transpiration rate (mmol m^{-2} s^{-1}).***

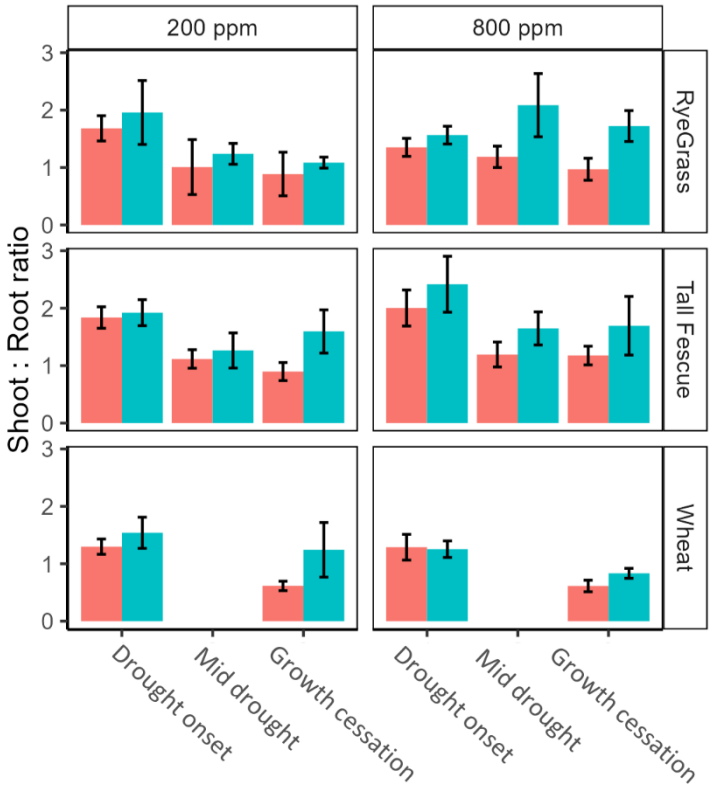


Fig. S2.8. Shoot:root ratio in Lolium perenne (upper panels), Festuca arundinacea (mid-panels) and Triticum aestivum (bottom panels) at drought onset, mid-drought and growth cessation. *Results are shown for plants cultivated at 200 ppm (left panel) or 800 ppm [CO_2] (right panel) under watered (blue) or unwatered (red) conditions. Drought onset occurred when plants in the unwatered treatment ceased receiving water. Mid-drought represents the date when the leaf elongation rate (LER) of these plants decreased by 50% compared with the watered treatment and growth cessation is defined as the date when the LER reached zero. Data are averaged across five plants per treatment, representing means ± standard deviations (error bars).*

Table S2.1. Timeline experiment for each treatment from sowing to the emergence of leaves six to seven (drought onset) and at growth cessation for unwatered plants.

	CO_2 = 200 ppm	
	Days after sowing until emergence of the leaf 6-7	Days after sowing until growth cessation
RyeGrass	42	53
Tall Fescue	52	61
Wheat	35	45

	CO_2 = 800 ppm	
	Days after sowing until emergence of the leaf 6-7	Days after sowing until growth cessation
RyeGrass	39	53
Tall Fescue	50	62
Wheat	32	45

Table S2.2. Correlation coefficients for correlations between growing zone osmotic potential ($\psi_{\pi, GZ}$, Mpa) and water-soluble carbohydrates (WSC,% dry matter) in Lolium perenne, Festuca arundinacea and Triticum aestivum.

Correlation coefficient	*RyeGrass*		*Tall Fescue*		*Wheat*	
	n	WSC	n	WSC	n	WSC
GZ Osmotic Potential	10	0.1	10	-0.1	6	0.2

Table S2.3. Results of a linear mixed model testing the response of GZ water potential ($\psi_{W, GZ}$, Mpa) to soil relative water content (SRWC,%), atmospheric CO_2 concentration ([CO_2]; 800 ppm vs. 200 ppm) and their interaction in Lolium perenne, Festuca arundinacea and Triticum aestivum.

$\psi_{W, GZ}$	*RyeGrass*				*Tall Fescue*				*Wheat*			
Factor	n	df	F-value	P-value	n	df	F-value	P-value	n	df	F-value	P-value
SRWC	50	1	29.1	**1.9^{E}-6**	52	1	27.8	**2.6^{E}-6**	30	1	27.6	**1.1^{E}-5**
CO_2	50	1	5.0	**0.03**	52	1	0.2	0.6	30	1	5.4	**0.03**
SRWC x CO_2	50	1	6.8	**0.01**	52	1	6.9	0.06	30	1	0.6	0.4

Table S2.4. Results of a linear mixed model testing the response of the daily mean leaf elongation rate to soil relative water content (SRWC,%), atmospheric CO_2 concentration ([CO_2]; 800 ppm vs. 200 ppm) and their interaction in Lolium perenne, Festuca arundinacea and Triticum aestivum.

LER	*RyeGrass*				*Tall Fescue*				*Wheat*			
Factor	n	df	F-value	P-value	n	df	F-value	P-value	n	df	F-value	P-value
SRWC	64	1	106.5	**3^{E}-15**	68	1	144.9	**2.2^{E}-16**	44	1	98.4	**8.6^{E}-13**
CO_2	64	1	45.4	**5.4^{E}-9**	68	1	20.9	**2.1^{E}-5**	44	1	0.4	0.6
SRWC x CO_2	64	1	0.6	0.5	68	1	0.02	0.9	44	1	2.9	0.1

Table S2.5. Mean ± standard deviation of 5 plants per treatment for leaf elongation rate (LER) (cm tiller^{-1} day^{-1}), leaf length (cm), Haun Index, plant dry matter (g), shoot:root ratio, main stem dry matter (g), tiller dry matter (g), leaf area (cm²), specific leaf area (SLA; cm² g^{-1}), transpiration rate (g day^{-1}), cumulative transpiration (g) and WUE (g L^{-1}) in Lolium perenne, Festuca arundinacea and Triticum aestivum at drought onset, mid-drought and growth cessation.

	RyeGrass				Tall Fescue				Wheat			
	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**
	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**
Drought onset												
Time since drought start (day)	0		**0**		0		**0**		0		**0**	
LER (cm tiller^{-1} day^{-1})	2.4 ± 1.1	1.8 ± 0.8	**3.1 ± 1.2**	**3.5 ± 1.0**	2 ± 0.5	2.4 ± 1.7	**4.2 ± 1.7**	**3.9 ± 1.6**	2.6 ± 0.9	2.5 ± 1.3	**4.3 ± 1.1**	**5.1 ± 0.8**
Haun index	6.4 ± 0.5	6.5 ± 0.6	**6.2 ± 0.6**	**5.9 ± 0.5**	5.9 ± 0.4	6.0 ± 0.6	**5.6 ± 0.3**	**5.6 ± 0.3**	6.4 ± 0.2	6.8 ± 0.4	**6.3 ± 0.2**	**6.3 ± 0.4**
Leaf length (cm)	11.7 ± 3.8	11.8 ± 4.2	**13.4 ± 4.9**	**13.7 ± 5.2**	15.9 ± 6.8	16.1 ± 7.3	**17.8 ± 9.4**	**17.3 ± 9.8**	14.6 ± 5.1	13.6 ± 4.2	**14.2 ± 4.6**	**14.0 ± 4.2**
Leaf area (cm²)	54.5 ± 8.4	61.2 ± 5.7	**77.6 ± 13.3**	**59.1 ± 7.9**	102.9 ± 10.7	102.3 ± 4.3	**115.4 ± 18.9**	**117.5 ± 18.2**	90.1 ± 12.5	70.7 ± 15.9	**85.3 ± 8.0**	**86.1 ± 7.6**
Specific Leaf Area (SLA, cm² g^{-1})	216.8 ± 10.5	202.8 ± 16.6	**129.7 ± 17.8**	**153.6 ± 9.9**	292.7 ± 19.2	285.6 ± 26.3	**172.1 ± 9.2**	**199.0 ± 23.4**	286.6 ± 43.6	246.6 ± 49.1	**231.4 ± 13.5**	**222.5 ± 7.6**
Plant dry matter (g)	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.0	**0.9 ± 0.1**	**0.6 ± 0.1**	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1	**1.6 ± 0.3**	**1.6 ± 0.3**	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	**0.7 ± 0.1**	**0.8 ± 0.1**
Shoot : Root ratio	2.1 ± 0.6	1.6 ± 0.2	**1.6 ± 0.2**	**1.7 ± 0.9**	1.9 ± 0.2	1.8 ± 0.2	**2.4 ± 0.5**	**2.0 ± 0.3**	1.5 ± 0.2	1.3 ± 0.1	**1.3 ± 0.1**	**1.3 ± 0.2**
Main tiller dry matter (g)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	**0.2 ± 0.0**	**0.2 ± 0.0**	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	**0.5 ± 0.1**	**0.4 ± 0.1**	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	**0.2 ± 0.0**	**0.2 ± 0.0**
Tillers dry matter (g)	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.0	**0.4 ± 0.1**	**0.2 ± 0.1**	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	**0.6 ± 0.3**	**0.6 ± 0.3**	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	**0.2 ± 0.1**	**0.2 ± 0.1**
Transpiration rate (g day^{-1})	20.9 ± 2.3	23.7 ± 2.0	**24.0 ± 5.6**	**20.7 ± 5.6**	34.1 ± 3.2	32.3 ± 6.6	**27.6 ± 7.5**	**26.5 ± 5.1**	23.3 ± 3.3	22.5 ± 2.9	**18.2 ± 2.7**	**20.6 ± 2.5**
Cumulated transpiration (g)	146.0 ± 81.1	171.6 ± 13.9	**119.2 ± 29.6**	**109.8 ± 25.0**	333.8 ± 31.1	323.0 ± 45.3	**244.1 ± 49.2**	**246.5 ± 36.1**	208.4 ± 32.0	209.1 ± 27.8	**126.5 ± 29.5**	**152.6 ± 30.6**
WUE (g L^{-1})	0.9 ± 0.1	1.2 ± 0.8	**1.0 ± 0.31**	**1.7 ± 0.9**	2.9 ± 1.9	3.0 ± 0.8	**6.4 ± 2.2**	**6.4 ± 3.4**	2.5 ± 1.0	2.5 ± 1.1	**5.5 ± 2.9**	**4.5 ± 2.3**
Mid-drought												
Time since drought start (day)	7		**11**		6		**9**					
LER (cm tiller^{-1} day^{-1})	1.7 ± 0.9	0.4 ± 0.3	**4.6 ± 1.5**	**1.8 ± 0.8**	2.6 ± 2.2	0.2 ± 0.3	**2.8 ± 1.4**	**0.8 ± 0.6**				
Haun index	7.5 ± 0.5	7.4 ± 0.7	**8.1 ± 0.8**	**7.8 ± 0.5**	6.6 ± 0.4	6.3 ± 0.5	**6.6 ± 0.3**	**6.4 ± 0.5**				
Leaf length (cm)	12.5 ± 4.4	12.4 ± 4.5	**16.7 ± 8.3**	**16.3 ± 7.0**	16.1 ± 7.4	17.0 ± 7.6	**20.9 ± 11.7**	**20.2 ± 11.1**				
Leaf area (cm²)	104.6 ± 25.3	64.6 ± 10.3	**228.2 ± 55.7**	**241.6 ± 62.4**	124.4 ± 52.1	107.5 ± 23.4	**242.1 ± 78.6**	**171.8 ± 24.3**				
Specific Leaf Area (SLA, cm² g^{-1})	197.1 ± 25.0	205.1 ± 26.6	**161.3 ± 49.6**	**138.3 ± 41.0**	263.6 ± 24.2	254.9 ± 51.8	**154.3 ± 35.8**	**135.2 ± 69.7**				
Plant dry matter (g)	1.1 ± 0.3	0.8 ± 0.2	**3.6 ± 0.9**	**3.2 ± 0.4**	1.5 ± 0.5	1.5 ± 0.2	**3.4 ± 0.5**	**3.7 ± 1.1**				
Shoot : Root ratio	1.2 ± 0.2	1.0 ± 0.5	**2.1 ± 0.6**	**1.2 ± 0.2**	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.2	**1.7 ± 0.3**	**1.2 ± 0.2**				
Main tiller dry matter (g)	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	**0.3 ± 0.1**	**0.2 ± 0.1**	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	**0.8 ± 0.2**	**0.7 ± 0.2**				
Tillers dry matter (g)	0.4 ± 0.3	0.3 ± 0.2	**2.1 ± 0.9**	**1.5 ± 0.4**	0.5 ± 0.5	0.5 ± 0.2	**1.3 ± 0.5**	**1.3 ± 1.1**				
Transpiration rate (g day^{-1})	27.0 ± 3.4	8.1 ± 3.8	**55.5 ± 11.7**	**16.0 ± 7.3**	55.9 ± 7.9	6.3 ± 4.2	**44.2 ± 11.5**	**14.3 ± 4.3**				
Cumulated transpiration (g)	322.7 ± 30.7	296.7 ± 19.8	**573.8 ± 122.9**	**415.3 ± 67.5**	559.7 ± 64.9	422.9 ± 56.2	**588.5 ± 115.5**	**474.3 ± 91.1**				
WUE (g L^{-1})	3.3 ± 2.0	3.1 ± 1.7	**6.3 ± 4.3**	**7.6 ± 3.4**	2.6 ± 2.0	3.4 ± 1.9	**5.7 ± 3.2**	**7.7 ± 4.6**				
Growth cessation												
Time since drought start (day)	11		**14**		9		**12**		10		**13**	
LER (cm tiller^{-1} day^{-1})	1.8 ± 0.8	0.0 ± 0.0	**2.6 ± 1.0**	**0.0 ± 0.0**	2.9 ± 0.7	0.0 ± 0.1	**3.3 ± 1.8**	**0.0 ± 0.0**	2.3 ± 0.5	0.1 ± 0.2	**3.2 ± 1.1**	**0.2 ± 0.2**
Haun index	8.1 ± 0.6	7.5 ± 0.7	**9.0 ± 0.9**	**7.9 ± 0.6**	6.9 ± 0.6	6.3 ± 0.7	**7.2 ± 0.4**	**6.5 ± 0.5**	8.3 ± 0.4	7.8 ± 0.8	**9.1 ± 0.3**	**8.0 ± 0.5**
Leaf length (cm)	12.5 ± 4.6	12.5 ± 4.5	**18.8 ± 9.3**	**16.5 ± 7.1**	17.3 ± 8.0	16.9 ± 7.6	**22.8 ± 11.9**	**20.1 ± 11.2**	16.5 ± 5.8	14.7 ± 4.6	**17.3 ± 5.1**	**15.6 ± 4.1**
Leaf area (cm²)	127.6 ± 9.2	40.4 ± 14.8	**361.4 ± 85.6**	**89.4 ± 45.9**	165.0 ± 43.6	76.1 ± 27.0	**285.0 ± 58.3**	**122.1 ± 36.1**	184.1 ± 30.0	74.5 ± 16.5	**263.5 ± 27.6**	**115.1 ± 16.9**
Specific Leaf Area (SLA, cm² g^{-1})	181.1 ± 13.9	148.3 ± 61.8	**159.5 ± 23.6**	**83.5 ± 7.4**	250.8 ± 43.6	154.9 ± 60.9	**143.4 ± 44.5**	**77.3 ± 21.4**	265.6 ± 4.1	238.6 ± 55.1	**227.8 ± 23.3**	**145.6 ± 15.4**
Plant dry matter (g)	1.5 ± 0.3	1.0 ± 0.1	**6.9 ± 1.8**	**3.9 ± 0.7**	1.9 ± 0.6	1.5 ± 0.1	**4.5 ± 2.0**	**4.1 ± 0.7**	1.6 ± 0.2	1.0 ± 0.1	**3.6 ± 0.5**	**3.2 ± 0.5**
Shoot : Root ratio	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.4	**1.7 ± 0.2**	**1.0 ± 0.2**	1.6 ± 0.4	1.1 ± 0.5	**1.8 ± 0.5**	**1.2 ± 0.2**	1.0 ± 0.2	0.6 ± 0.9	**0.8 ± 0.1**	**0.6 ± 0.1**
Main tiller dry matter (g)	0.2 ± 0.0	0.1 ± 0.0	**0.5 ± 0.2**	**0.2 ± 0.1**	0.4 ± 0.0	0.3 ± 0.1	**0.7 ± 0.2**	**0.7 ± 0.1**	0.4 ± 0.4	0.2 ± 0.0	**0.5 ± 0.1**	**0.4 ± 0.1**
Tillers dry matter (g)	0.6 ± 0.4	0.3 ± 0.1	**3.9 ± 1.8**	**1.6 ± 0.6**	0.8 ± 0.6	0.5 ± 0.1	**2.1 ± 1.5**	**1.5 ± 0.7**	0.5 ± 0.4	0.2 ± 0.9	**1.1 ± 0.5**	**0.8 ± 0.5**
Transpiration rate (g day^{-1})	33.8 ± 4.1	2.3 ± 3.2	**33.3 ± 14.0**	**0.9 ± 1.3**	68.1 ± 5.6	2.6 ± 4.8	**62.9 ± 12.1**	**6.7 ± 6.0**	43.4 ± 7.4	4.9 ± 4.0	**41.5 ± 5.6**	**3.9 ± 2.6**
Cumulated transpiration (g)	541.2 ± 61.4	342.7 ± 48.8	**758.9 ± 140.5**	**412.3 ± 36.7**	827.1 ± 38.4	491.6 ± 20.1	**779.1 ±81.3**	**523.1 ± 108.6**	627.3 ± 34.2	326.2 ± 0.5	**582.0 ± 37.0**	**354.7 ± 57.2**
WUE (g L^{-1})	3.3 ± 1.9	3.0 ± 2.7	**9.1 ± 3.5**	**9.9 ± 3.2**	2.6 ± 0.5	3.5 ± 2.4	**7.6 ± 4.0**	**8.5 ± 5.5**	3.0 ± 0.5	3.0 ± 0.6	**6.2 ± 2.7**	**8.8 ± 2.8**
gs_w (mol m^{-2} s^{-1})	0.2 ± 0.1		**0.06 ± 0.1**		0.3 ± 0.1		**0.2 ± 0.07**		0.27 ± 0.1		**0.24 ± 0.1**	

Table S2.6. Mean ± standard deviation of 5 plants per treatment for water-soluble carbohydrates (% dry matter), osmotic potential (MPa), turgor potential (MPa), water potential of mature leaves and the growing zone (MPa) and potential gradient of mature leaves and the growing zone (MPa) in Lolium perenne, Festuca arundinacea and Triticum aestivum at drought onset, mid-drought and growth cessation.

	RyeGrass				Tall Fescue				Wheat			
	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**	200 ppm	200 ppm	**800 ppm**	**800 ppm**
	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**	Watered	Unwatered	**Watered**	**Unwatered**
	Drought onset											
Time since drought start (day)	0		**0**		0		**0**		0		**0**	
Water-soluble carbohydrates content (%DM)	5.4	6.0	**15.5**	**13.7**	11.1	11.5	**32.5**	**24.3**	11.3	13.6	**17.5**	**16.1**
Osmotic potential (MPa)	-0.9	-0.9	**-0.9**	**-1.0**	-1.1	-1.2	**-0.8**	**-1.1**	-0.6	-0.6	**-0.9**	**-0.7**
Water potential of Growth Zone (MPa)	-0.9 ± 0.2	-0.6 ± 0.2	**-0.6 ± 0.1**	**-0.6 ± 0.3**	-0.6 ± 0.1	-0.7 ± 0.4	**-0.7 ± 0.2**	**-0.6 ± 0.5**	-0.5 ± 0.1	-0.5 ± 0.3	**-0.5 ± 0.2**	**-0.5 ± 0.1**
	Mid-drought											
Time since drought start (day)	7		**11**		6		**9**					
Water-soluble carbohydrates content (%DM)	8.5	8.6	**9.4**	**16.1**	11.3	10.6	**22.0**	**32.6**				
Osmotic potential (MPa)	-0.9	-2.6	**-0.4**	**-1.0**	-1.0	-2.1	**-1.1**	**-1.1**				
Water potential of Growth Zone (MPa)	-0.8 ± 0.3	-1.4 ± 0.4	**-0.5 ± 0.3**	**-1.0 ± 0.2**	-0.6 ± 0.1	-1.4 ± 0.3	**-0.5 ± 0.1**	**-1.0 ± 0.4**				
	Growth cessation											
Time since drought start (day)	11		**14**		9		**12**		10		**13**	
Water-soluble carbohydrates content (%DM)	8.0	9.2	**21.2**	**14.7**	6.1	8.4	**22.7**	**31.9**	6.7	7.3	**13.6**	**37.9**
Osmotic potential (MPa)	-1.3	N.A.	**-1.2**	**-2.1**	-0.9	-1.6	**-1.0**	**-2.7**	-0.9	N.A.	**-0.9**	**-1.8**
Water potential of Growth Zone (MPa)	-0.8 ± 0.2	-1.5 ± 0.8	**-1.0 ± 0.4**	**-1.6 ± 0.5**	-0.6 ± 0.1	-1.2 ± 0.5	**-0.6 ± 0.3**	**-1.9 ± 1.4**	-0.7 ± 0.1	-1.2 ± 0.5	**-0.8 ± 0.5**	**-1.0 ± 0.5**

RESUME DU CHAPITRE 2

INTERET ET POSITION DU CHAPITRE DANS LA THESE

Ce premier chapitre a permis d'identifier des lois de réponse de la morphogénèse dans des conditions contrastées de CO_2 (de 200 à 800 ppm) et de disponibilité en eau au cours d'une sécheresse intense, de quantifier les réponses des simulations attendues (Chapitre 4).

CONTEXTE

Chez les Poaceae, la taille des feuilles a un impact direct sur le rendement de la culture par l'action qu'elle joue sur la photosynthèse et la transpiration. En outre, la croissance des feuilles est sensible aux variations climatiques, telles que la [CO_2] atmosphérique et la disponibilité en eau. Des interactions complexes existent entre ces facteurs climatiques et le mécanisme de croissance foliaire.

QUESTIONS DE RECHERCHES

L'objectif de cette étude est d'évaluer les effets de la [CO_2] sur la réponse de la croissance d'une série foliaire à la sécheresse chez le blé d'hiver, la fétuque élevée et le ray-grass anglais.
En particulier, nous avons répondu aux hypothèses suivantes :

(i) Malgré une baisse de la conductance stomatique et de la transpiration instantanée des feuilles avec une [CO_2] élevée, la consommation totale d'eau des plantes augmente en raison de l'augmentation de la surface foliaire ;
(ii) Une [CO_2] élevée atténue les impacts de la sécheresse sur la vitesse d'allongement foliaire (VAF) et la longueur finale des feuilles ;
(iii) Une [CO_2] élevée diminue le potentiel hydrique osmotique en augmentant la production de WSC, contrecarrant la diminution du potentiel hydrique nocturne dans les zones de croissance (ZC) des feuilles dans des conditions de sécheresse ; et
(iv) La réponse de la VAF à l'interaction [CO_2] × eau montre une variabilité parmi les trois espèces de Poaceae étudiées, le blé semblant finalement le moins sensible à la contrainte hydrique.

M&M

Nous avons suivi la croissance des plantes dans des chambres de culture fixées à 200 ppm (la moitié de la concentration ambiante, se rapprochant du niveau de [CO_2] au moment de l'apparition des Poaceae) et 800 ppm (le double de la concentration actuelle, projetée pour la fin du siècle dans le cadre d'un scénario pessimiste d'émissions de GES), depuis l'émergence de la feuille 3 de la talle principale. Après l'émergence de la feuille 6-7, la moitié des plantes a subi une sécheresse sévère, avec aucun apport d'eau, jusqu'à observer l'arrêt total de la croissance.

RESULTATS PRINCIPAUX

Les résultats montrent qu'une [CO_2] élevée atténue les effets de la sécheresse sur la VAF chez les trois espèces. Une corrélation positive entre la VAF et la SRWC a été observée. À la même SRWC, les deux espèces pérennes ont présenté une VAF plus élevée avec une [CO_2] élevée, en raison d'une plus forte régulation stomatique. Malgré la fermeture des stomates et l'accumulation de WSC, le CO_2 n'a pas influencé les potentiels hydrique et osmotique nocturnes des ZC. L'augmentation marquée de la surface foliaire chez les espèces a entraîné une consommation totale d'eau similaire (blé et fétuque élevée) ou supérieure (ray-grass anglais) à la fin de l'expérience, dans des conditions arrosées et non arrosées.

APPORTS POUR LA THESE ET LA RECHERCHE EN GENERAL

La variabilité du climat et la diversité des pratiques agricoles exposent les plantes cultivées à une large gamme de conditions de croissance, qui s'étend encore dans le contexte du changement climatique. Cette expérimentation nous a permis d'appréhender en réel la réponse des plantes dans une gamme de [CO_2] et de disponibilité en eau. Pour la suite, la modélisation est un outil indispensable pour étudier les interactions complexes entre croissance et facteurs climatiques.
Le chapitre suivant est donc dédié à la présentation du nouveau modèle de croissance foliaire construit, CNW-Wheat, intégrant les interactions trophiques et hydriques afin de simuler la réponse des plantes dans des conditions environnementales futures.

CHAPTER III.

MODEL DESCRIPTION

CNW-WHEAT: A FUNCTIONAL STRUCTURAL PLANT MODEL FOR SIMULATING LEAF GROWTH IN GRASSES BASED ON METABOLIC AND HYDRAULIC REGULATION

I. INTRODUCTION

Modelling provides a consistent framework to explore *in silico* plant responses to future climate conditions and to identify potential traits for plant breeding (Hammer *et al.*, 2006; Tardieu & Tuberosa, 2010). In particular, Functional-Structural Plant Models (FSPMs) use an explicit representation of the 3D architecture of individual plants to integrate the effects of environmental factors on plant functioning. In this approach, the plant architecture is represented as a collection of interconnected organs described by their topology and geometry (Prusinkiewicz & Lindenmayer, 1990; Godin & Sinoquet, 2005). Plant functioning is represented through different physiological processes, photosynthesis and growth (biomass accumulation and organ extension in length and diameter) being the most implemented in current FSPMs. Dynamic FSPMs include complex feedbacks where the effects of environmental factors on plant processes lead to changes in plant architecture. These models constitute interesting tools for integrating our understanding of complex plant processes and their responses to the environment. As such, FSPMs are playing an increasing role in guiding the direction of fundamental research by providing quantitative predictions and highlighting knowledge gaps (Vos *et al.*, 2010; Louarn & Song, 2020).

For Poaceae, leaf elongation determines the potential for radiation interception and consequently is a key process determining grain yield in cereals and also the harvestable fraction of biomass in forage species (Maurice, 1997). However, leaf elongation remains a difficult process to simulate for a wide range of environments, largely due to the many interacting factors. Leaf growth constitutes a sink for carbon, nitrogen and water resources of which acquisition and distribution inside the plant is affected by the environmental factors (Gifford & Evans, 1981). Moreover, in Poaceae, leaf elongation results from the expansion and displacement of cells in the elongation zone which is enclosed in the sheaths of the older leaves (Begg & Wright, 1962; Esau, 1977). Therefore, expanding cells are never exposed to light, are not photosynthetic, do not transpire and rely entirely on assimilate import from mature tissues (Schnyder & Nelson, 1987). At cell level, the expansion results from a coupled water influx, cell wall relaxation, and solute accumulation (Boyer, 1985; Cosgrove, 1986; Passioura & Fry, 1992). The expansion of the cell volume then causes a decrease in the cell turgor potential and hence a decrease of the same amplitude in the cell water potential. The result is an increasing gradient of water potential between the expanding cells and the xylem, which is responsible for water influx from the xylem towards the expanding cell (Boyer, 1985; Cosgrove, 1986, 1987).

At the plant level, most of the water circulates from the soil to the atmosphere following an axial flow in the xylem vessels. A small fraction of water (~5% in usual conditions, Boyer, 1974) follows an extravascular radial path to supply growing cells. At the growth zone level, most of the axial water transport occurs through protoxylem vessels (Dannenhoffer & Evert, 1994; Fricke & Flowers, 1998; Martre *et al.*, 2001; Tang & Boyer, 2002). The larger and faster-conducting metaxylem vessels are exclusively observed in mature tissues and at the distal end of the elongation zone. The switch from a low-conducting protoxylem path (elongation zone) to a high-conducting metaxylem path (maturation zone) explains the ten-fold lower axial hydraulic conductance in the elongation zone than in the mature blade (Martre *et al.*, 2000).

Climate change is mainly due to an increase of atmospheric carbon dioxide concentration, which is predicted to reach 730–1000 ppm by the end of the century (IPCC, 2023). It results in an increase of global average surface temperature and shifts in precipitation patterns, with predictions of more intense and frequent drought events (+10 to +25-day increase in dry soils by 2050 in France according to the moderate GHG emissions scenario, Météo France). Water availability, temperature and CO_2 are major factors driving leaf growth. Given the importance of Poaceae in both agrosystems and natural ecosystems, it is therefore critical to anticipate the impact of climate change on leaf growth. However, there is a high degree of interaction between these climatic factors and plant functioning, making it

difficult to explore experimentally. For instance, there is a positive effect of CO_2 on growth and water economy, which can mitigate the impact of drought on leaf elongation (Baca Cabrera *et al.*, 2020; Toreti *et al.*, 2020; Acker *et al.*, 2024). However, the instantaneous effect of CO_2 on water economy can be counterbalanced by an increase in total leaf area and leading to greater transpiration during the whole growing season (*e.g.* Tubiello *et al.*, 2007). It has also been predicted that increased photoassimilate accumulation in plants with elevated CO_2 will result in a dilution of leaf nitrogen content, as found by Hocking & Meyer (1991), McKee & Woodward (1994) and Rogers *et al.* (1996) in wheat. As a result, the response of leaf elongation is difficult to predict while defining plant adaptation traits to these conditions became fundamental (de Vries, 2021; Soualiou *et al.*, 2021; Galindo-Castañeda *et al.*, 2022; De Swaef *et al.*, 2022).

Among the Poaceae's family, wheat (*Triticum aestivum* L.) is a cereal species for which many architectural models have been developed. Most FSPMs account for the assimilation of carbon, but assimilate partitioning is generally solved using a supply–demand approach whereby the supply synthesized by sources is shared among sinks according to their demand (*e.g.* Kang *et al.*, 2008; Evers *et al.*, 2010; Bertheloot *et al.*, 2011). These FSPMs are based on a set of empirical formalisms which limit the consideration of feedback between the architecture and the environment of the plant, and therefore the simulation of phenotypic plasticity (Poorter *et al.*, 2013). By contrast, other FPSMs integrate signalling (hormones - auxin - or light - R:FR) to modulate branching (Evers *et al.*, 2011), as well as triggering of elongation phase changes by emergence events (Fournier *et al.*, 2005). Recently, the model CN-Wheat (Barillot *et al.*, 2016b,a; Gauthier *et al.*, 2020) was developed to simulate the acquisition and allocation of C and N, leaf growth and death of wheat plant during vegetative stages. The model was able to simulate key traits (*e.g.* leaf dimensions, phyllochron, specific leaf area, N content, shoot:root ratio) as properties emerging from feedback loops between morphogenesis, the environmental factors and source–sink activities. Furthermore, the description of water fluxes inside the plant has also been implemented in FSPMs for different species in static architectures *i.e.* non-growing plants (grapevine in Zhu *et al.*, 2018 and Albasha *et al.*, 2019; generic shoot and root in Zhou *et al.*, 2020). Recently, Coussement *et al.* (2018) introduced a conceptual model of turgor-driven growth at the individual organ scale to simulate the dynamics of 3-D architecture development in soybean. This FSPM simulates water fluxes based on differences of water potential between interconnected organs. The model quantifies turgor-driven dimensional changes using biomechanical parameters, such as tissue elasticity and extensibility, where tissue elasticity refers to reversible changes (Ortega, 1985) and extensibility to irreversible growth as described by the Lockhart (1965) approach. However, none of these FSPMS have proposed a mechanistic integration of the effects of water, carbon and nitrogen on leaf elongation.

The objective of this work is to develop a whole plant model that includes a mechanistic representation of both hydraulic and trophic regulations on leaf elongation. To this end, we propose a new version of CN-Wheat, named CNW-Wheat, in which the hydraulic architecture of the plant and the interactions between water flow and leaf elongation have been integrated based on the work of Coussement *et al.* (2018). As a first evaluation of the model, growth simulations of successive wheat leaves were compared to experimental data collected under optimal water conditions. Then, we illustrated the ability of the model to simulate key traits at leaf and plant scale from the coupling between the hydraulic and metabolic dynamics.

II. MATERIALS AND METHODS

2.1 MODEL DESCRIPTION

CNW-Wheat is an original FSPM simulating the vegetative stages of individual wheat plants based on the description of physiological processes occurring at organ scale. The main process focused in this study is leaf elongation and its co-regulation by the local environmental conditions, the hydraulic state of leaves and their concentration of C and N metabolites. The model was built upon CN-Wheat, which describes the acquisition and distribution of C and N resources, leaf growth and senescence as well as grain filling in winter wheat (Barillot *et al.*, 2016b,a; Gauthier *et al.*, 2020). In this former version, plant morphogenesis was seen as a self regulated system, where leaf elongation occurs in a single growth zone compartment (called *hiddenzone, hz*). The rate of leaf extension and the establishment of leaf traits are regulated by the concentrations of C and N metabolites of the *hz*. Also, coordination rules were determining the timing of leaf extension between successive phytomers. The distribution of C and N metabolites within the plant occurred through a single pool common to all organs called *phloem*. With CNW-Wheat, we introduce an original model of leaf elongation integrating the effects of both trophic (C - N) and hydraulic regulation. To this aim, we extended CN-Wheat to simulate water uptake and distribution within the plant and the co-regulation of leaf elongation by both the C-N concentrations and the water potential in the *hz*. Briefly, the water flux from the soil to the emerged shoot organs is simulated based on water potential differences and depends on soil water content (model input) and leaf transpiration (calculated as in the initial version of CN-Wheat). For the sake of simplicity, water transport within the plant is assumed to occur through a single compartment named *xylem*, which is shared between all shoot organs. Water is thus absorbed from the soil to the *xylem* and then transported to the shoot organs where it can be stored or transpired.

As proposed in CN-Wheat, leaf elongation follows two phases separated by the emergence of the previous leaf. In CNW-Wheat, the first phase of extension not only depends on the concentration in C and N of the *hz* but also on *xylem* water potential. In the second phase, leaf elongation rate is fully regulated by the turgor pressure of the *hz* following the approach developed by Coussement *et al.* (2018). The osmotic water potential is calculated from the simulated concentration of C and N.

2.2 PLANT STRUCTURE

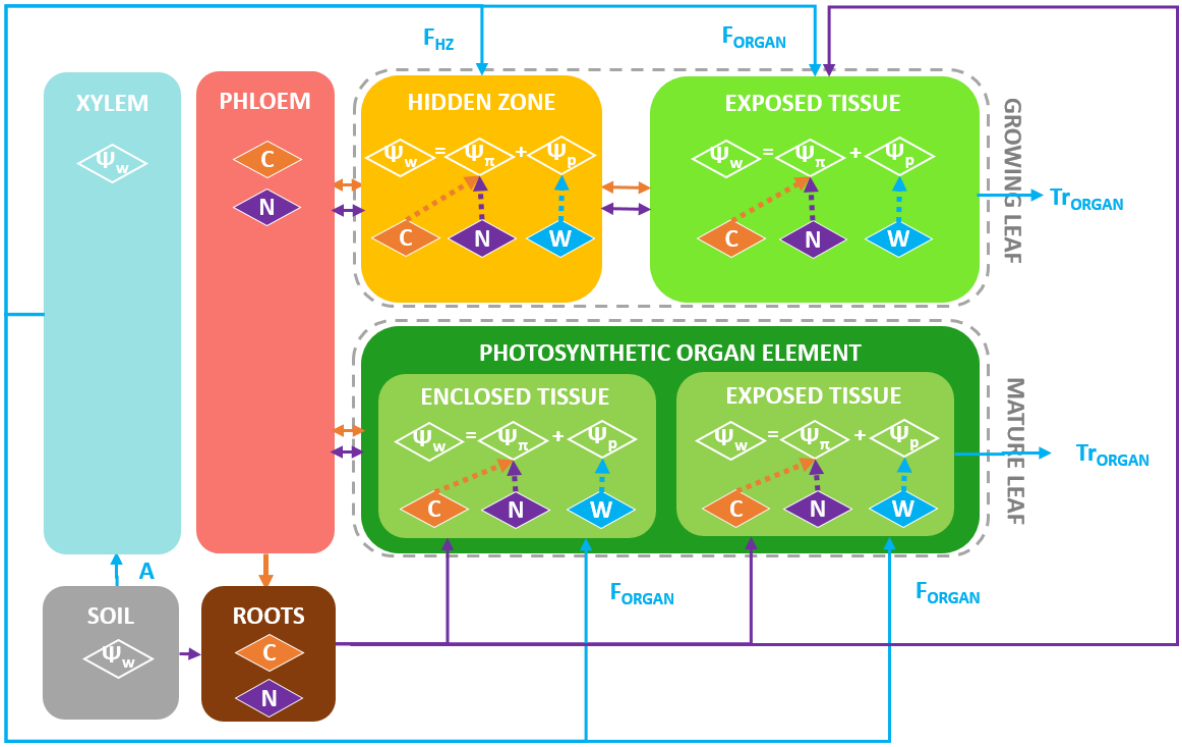


Fig. 3.1. Representation of the plant structure along with C-N metabolites and water fluxes between the different compartments.

The plant is described as a set of botanical compartments. Fluxes of metabolites are represented by arrows: carbon (orange) and nitrogen (purple). The water circulation is represented by blue arrows, including the absorption from the soil to the xylem (A), the radial flux from the xylem to the shoot organs (F_{HZ} and F_{ORGAN}) and finally transpiration (Tr_{ORGAN}). Each organ is described by a set of water and metabolic compartments (diamonds). The dashed arrow represents the influence of C and N metabolites on osmoregulation.

Each plant is represented as an ensemble of elongating and mature shoot organs, a unique root compartment, a *phloem* compartment that is a common pool of mobile metabolites (sucrose and amino acids) to all organs of the plant and a *xylem* compartment that allows water transfer from soil to the different aboveground organs (Fig. 3.1). The aboveground part of each plant is represented as a succession of leaves (composed by a sheath and a lamina) and internodes. The regulation of Internode elongation by the water status will not be not considered in the present work and will therefore be simulated as in the initial CN-Wheat model (Gauthier *et al.*, 2020). Each elongating leaf is represented by two types of compartments depending on its stage: the growth zone that is hidden inside the pseudostem (*hiddenzone*, *hz*) and the exposed tissues initiated at leaf emergence. At the end of the elongation, the exposed part of the leaf is separated into a lamina and an exposed sheath part while the *hz* is considered as the enclosed part of the sheath.

The model accounts for different groups of state variables for each organ: the structural mass which is the dry mass 'immobilised' mainly in the cell wall compounds, mobile metabolites that are exchanged between organs [sucrose, nitrates, amino acids (AA)], storage metabolites (starch, fructans, proteins), and a set of variable related to the water status representing the water (ψ_w), osmotic (ψ_π) and turgor (ψ_p) potentials as well as the water content (W). Metabolite and water dynamics are described by differential equations reflecting the physiological activities occurring in the shoot and roots. The shoot

organs are also characterised by their dimensions and 3D shape, which are used to calculate light distribution, whereas the root compartment does not have an explicit architecture.
The calculations of light distribution, leaf energy balance and C-N metabolism originating from the initial version of CN-Wheat are not described here but are available in Barillot *et al.*, (2016a) and in Gauthier *et al.* (2020).

2.3 Plant water transport and turgor-driven growth model

For the sake of simplicity, a single *xylem* compartment, shared by all aerial organs, was implemented for water transport. In this approach, the variation of axial hydraulic resistance along the xylem is neglected, which is supported by previous works that consistently reported the axial resistance to be much lower than the radial resistance in grasses (Tyree & Cheung, 1977; Martre *et al.*, 2001). We therefore assume a single hydraulic pressure along the entire *xylem* and only consider radial resistances between the *xylem* and leaves. Based on this simplified structure, water is directly absorbed from the soil to the *xylem* before being transported to leaves where it can be stored or transpired. Water flows are governed by the water potential differences between the *xylem* and each leaf. The soil and *xylem* compartments are not spatialized, do not store water and therefore do not undergo volume variations. The primary equations described in the document have been adapted from Coussement *et al.* (2018), which provides an exhaustive description.

2.3.1 Water absorption from the soil

The *xylem* water potential $\boldsymbol{\psi_{w,\,xylem}}$ (Mpa) is defined as the difference between the soil water potential $\boldsymbol{\Psi_{w,\,soil}}$ (Mpa) and total water uptake rate of the plant **A** (g s^{-1}) times the axial hydraulic resistance between the soil and *xylem* $\boldsymbol{R_{axial}}$ (Mpa s g^{-1} m). With flow conservation, **A** is equal to the sum of plant transpiration **Tr** (g s^{-1}) and water storage in the plant due to the elasticity and/or elongation of each leaf **G** (g s^{-1}) :

$$\Psi_{w,\,xylem} = \Psi_{w,\,soil} - A * R_{axial} \qquad \text{(Eq. 3.1A)}$$

$$A = \sum_1^{n\ leaf} Tr + \sum_1^{n\ leaf} G \qquad \text{(Eq. 3.1B)}$$

$\boldsymbol{R_{axial}}$ is a parameter of the model, $\boldsymbol{\Psi_{w,\,soil}}$ is an input of the model, **n** is the leaf number.

2.3.2 Water transport into mature photosynthetic organs

The water flows $\boldsymbol{F_{organ}}$ (g s^{-1}) between the *xylem* and the mature photosynthetic organs (lamina and sheath) is calculated as:

$$F_{organ} = \frac{\psi_{w,xylem} - \psi_{w,organ}}{R_{radial,organ}} \qquad \text{(Eq. 3.2)}$$

The radial resistance $\boldsymbol{R_{radial}}$ (Mpa s g^{-1} m) between the *xylem* and a mature organ was set directly proportional to the length and inversely proportional to the organ's area cross-section as proposed by Coussement *et al.* (2018):

$$R_{radial,\,organ} = \frac{0{,}5 * R_{xylem} * w_{organ}}{l_{organ} * th_{organ}} \qquad \text{(Eq. 3.3)}$$

where $\mathbf{l_{organ}}$ is the length, $\mathbf{w_{organ}}$ the width, $\mathbf{th_{organ}}$ the thickness of the organ (m) and $\mathbf{R_{xylem}}$ a parameter (Mpa s g^{-1} m).
Water flows lead to changes in the water content ($\mathbf{W_{organ}}$, g) of each organ, which is calculated as the difference between the water inflow ($\mathbf{F_{organ}}$, g s^{-1}) and water outflux (leaf transpiration rate $\mathbf{Tr_{organ}}$, g s^{-1}):

$$\frac{d\,W_{organ}}{dt} = F_{organ} - Tr_{organ} \qquad \text{(Eq. 3.4A)}$$

The variation in water content has a direct effect on turgor water potential ($\boldsymbol{\psi_{P,\,organ}}$, Mpa), which is calculated as proposed by Coussement *et al.* (2018):

$$\frac{d\,\psi_{P,organ}}{dt} = \frac{\frac{d\,W_{organ}}{dt}}{\rho_w * V_{organ} * V_{storage}} * \left\{\frac{\xi_{w,organ} * \xi_{th,organ} * \xi_{l,organ}}{\xi_{l,organ} * \xi_{w,organ} + \xi_{l,organ} * \xi_{th,organ} + \xi_{w,organ} * \xi_{th,organ}}\right\} \qquad \text{(Eq. 3.5A)}$$

where $\boldsymbol{\rho_w}$ is the water density (assumed constant at 1^{E6} g m^{-3}) and $\mathbf{V_{organ}}$ (m^3) is the organ volume. To differentiate the proportion of xylem, phloem and the proportion of water storage tissues in each organ, a parameter ($\mathbf{V_{storage}}$, 0.8) has been implemented.
Mature organs are not subject to plastic elongation but undergo elastic deformations (swelling and shrinking) *i.e.* reversible variations in length, width and thickness. The elastic deformation of a mature organ is calculated from the variation of turgor potential for each dimension *l*, *w* and *th* as:

$$\frac{d\,(l,w,th)_{\,organ}}{dt} = \frac{1}{\xi_{(l,w,th),organ}} * \frac{d\,\psi_{P,organ}}{dt} * (l,w,th)_{organ} \qquad \text{(Eq. 3.6A)}$$

The total water potential $\boldsymbol{\psi_{w,\,organ}}$ of each organ is calculated as the sum of $\boldsymbol{\psi_{\pi,\,organ}}$ and $\boldsymbol{\psi_{P,\,organ}}$:

$$\Psi_{w,\,organ} = \psi_{\pi,\,organ} + \psi_{p,\,organ} \qquad \text{(Eq. 3.7)}$$

where the osmotic potential $\boldsymbol{\psi_{\pi,\,organ}}$ (Mpa) is calculated by:

$$\psi_{\pi,\,organ} = -R * T * [S]_{organ} * 1^{E6} \qquad \text{(Eq. 3.8A)}$$

R (J mol^{-1} K^{-1}) is the gas constant, **T** (K) the temperature and $\mathbf{[S]_{organ}}$ (mol m^{-3}) represents the volumic concentration of solutes of the organ. CNW-Wheat simulates the amount of sucrose, fructans and amino acids which partly compose the osmotic water potential. Indeed, other solutes contribute to osmoregulation in plants such as potassium, organic acids, nitrate and chloride ions (Kameli & Lösel, 1995; Bajji *et al.*, 2001), but these were not accounted for in the model. To take into account the role of other organic and inorganic solutes, an equivalent solute concentration function $\mathbf{[S]_{organ}}$ was implemented. The function is expressed in the form of a hyperbola, reaching a state of saturation at a specific solute concentration :

$$[S]_{organ} = S_{\alpha} * \frac{1}{1 + exp\left(-\frac{S_{\beta}}{S_{\gamma}} * \frac{(sucrose_{organ} + amino_acids_{organ} + fructans_{organ})}{V_{organ} * V_{storage}}\right)} \qquad \text{(Eq. 3.8B)}$$

with **sucrose, amino acids, fructans** (mol C and mol N) the quantities of organic solutes and $\mathbf{S_{\alpha}}$ (mol m^{-3}), $\mathbf{S_{\beta}}$ (dimensionless) and $\mathbf{S_{\gamma}}$ (mol m^{-3}) parameters.
A negligible osmotic water potential in the *xylem* (no nutrient transport in *xylem*) was assumed.

2.3.3 WATER TRANSPORT INTO ELONGATING LEAVES AND IRREVERSIBLE GROWTH

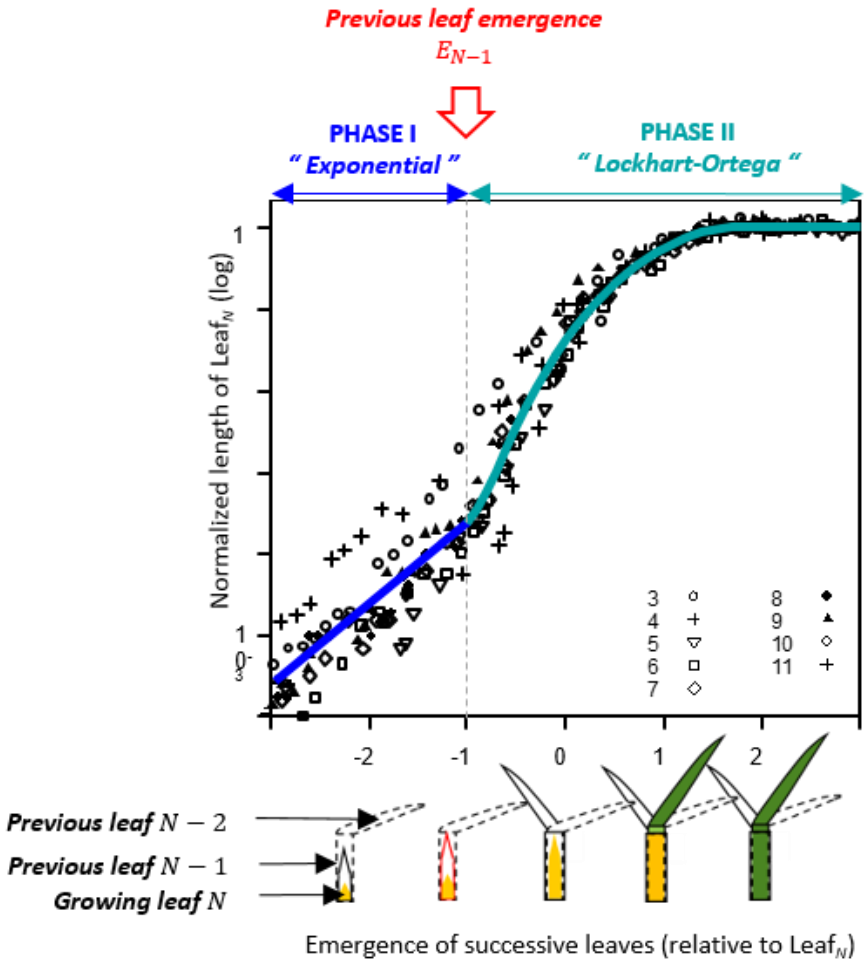


Fig. 3.2. Coordination of leaf elongation.

The top graph shows the normalized length (logarithmic scale) of main stem leaves versus the phyllochronic time relative to leaf emergence (based on Fournier et al., 2005; Gauthier et al., 2020). Symbols are phytomer rank. Each point is the median of 5-10 observations. The dashed line is the emergence of the previous leaf (E_{n-1}), which triggers the transition from an exponential-like elongation (phase I, dark blue curve) to a sigmoidal elongation (phase II, light blue curve). Below the graph, illustrations of the growing leaf stages are represented during both phases. From the initiation of leaf n to E_{n-1}, leaf n is represented as a homogenous hidden growth zone (hz, yellow), and follows an exponential-like elongation. After E_{n-1}, leaf n elongation is calculated according to the turgor-driven growth model (Lockhart-Ortega phase).

As proposed in the initial version of CN-Wheat, leaf n elongation follows two phases separated by the emergence of the previous leaf E_{n-1} (Fig. 3.2). Given the small size of the leaf during the first phase (~4 mm) and the unknowns about the water flows and volume expansion during this stage, we decided not to apply the Lockhart-Ortega approach for this early stage of leaf development. Instead, we kept the initial formalism of CN-Wheat to calculate the elongation rate of leaf *n* as an exponential-like function, where the Relative Elongation Rate of the leaf (**RER$_{leaf}$**, s^{-1}) depends on the concentration of sucrose and amino acids of the *hz* and an on leaf rank, which determines the maximum RER (Gauthier

et al., 2020, Table S.1.1.1 Eqn 2). To account for the water status of the *hz* during this early phase, we introduced a new regulation of the RER by the water potential of the *xylem*:

$$\frac{d\ l_{leaf}}{dt} = l_{leaf} * RER_{leaf}(t) * \frac{1}{1 + (\frac{\psi_{w,xylem}}{\psi_{w,crit}})^n} \quad \text{(Eq. 3.9)}$$

where $\Psi_{w,xylem,crit}$ the critical *xylem* water potential at which RER is reduced by half (Mpa) and **n** a shape dimensionless parameter.

After E_{n-1}, we completely modified the initial model to simulate leaf elongation from the Lockart-Ortega equations (Lockhart, 1965; Ortega, 1985). At E_{n-1}, width (**w**) and thickness (**th**) of leaf n are initialized according to an allometric ratio depending on the current length of the leaf (**WL_ratio** and **TL_ratio**, respectively, Table 2.1).

As for mature organs, the water flow between *xylem* and the *hz* F_{hz} (g s^{-1}) is calculated as the difference in water potentials between the two compartments (Eq. 3.2). F_{hz} is used to calculate **G,** the water flux stored in the plant due to the elongation of each leaf (Eq. 3.1B).

After E_n, the increase in leaf dimensions occuring in the *hz* is totally transferred to the emerging tissue. Consequently, the water content of the *hz* is constant from E_n to the end of leaf elongation (Eq. 3.4C) while the flux of water is transferred to emerging tissues ($\boldsymbol{F_{organ}^{emerged}}$). From E_n, these tissues are also connected to the common *xylem* and may lose water through transpiration (Eq. 3.4D).

$$\begin{cases} \frac{d\ W_{hz}}{dt} = F_{hz} & \text{(Eq. 3.4B)} \\ \frac{d\ W_{hz}}{dt} = 0 & \text{(Eq. 3.4C)} \\ \frac{d\ W_{organ}}{dt} = F_{organ}^{emerged} + F_{hz} - Tr_{organ}^{emerged} & \text{(Eq. 3.4D)} \end{cases}$$

The turgor potential of the *hz* $\psi_{P,hz}$ (Mpa) depends on a plastic component in addition to the elastic component (Eq. 3.5A) :

$$\frac{d\ \psi_{P,hz}}{dt} = \left\{ \frac{\frac{d\ W_{hz}}{dt}}{\rho * V_{hz} * V_{storage}} - (\Phi_l + \Phi_w + \Phi_{th}) * (max(\psi_{P,hz}, \Gamma) - \Gamma) \right\} * \left\{ \frac{\xi_{x,hz}\ \xi_{y,hz} * \xi_{z,hz}}{\xi_{z,hz} * \xi_{x,hz} + \xi_{z,hz} * \xi_{y,hz} + \xi_{x,hz} * \xi_{y,hz}} \right\} \quad \text{(Eq. 3.5B)}$$

with **Γ** the threshold of turgor pressure for which irreversible reversion is produced (Mpa) and **ϕ** (Mpa h^{-1}) the cell wall extensibility in each dimension.

The cell wall extensibility **ϕ** (Mpa h^{-1}) quantifies the relaxation of cell walls which is at the origin of the drop in turgor pressure and therefore of the water potential gradient needed for the water flow entering the elongating cell (Cosgrove, 1993). It characterises the capacity of the cell wall to extend irreversibly. We expressed **ϕ** of the organ by a decreasing function of the leaf age, according to Coussement *et al.* (2018) for length (**l**), width (**w**) and thickness (**th**) :

$$\phi_{l,\,w,\,th} = \Phi_{max\,(l,w,th)} * \left(1 - \left(1 + \frac{t_{end} - t_{age}}{t_{end} - t_{max}}\right) * \left(\frac{age - t_{base}}{t_{end} - t_{base}}\right)^{\left(\frac{t_{end} - t_{base}}{t_{end} - t_{max}}\right)}\right) * f(T) \quad \text{(Eq. 3.10)}$$

where **age** is the age from E_{n-1} of the elongating leaf expressed in physiological time (Gauthier *et al.*, 2020) (s), ϕ_{max} the dimension-specific cell wall extensibility parameter ($Mpa^{-1}\ s^{-1}$) and t_{end}, t_{base} and t_{max} parameters defining the leaf age at different stages of extensibility (s) (Table 2.1).

The equations developed by Ortega and Coussement do not account for the direct effect of temperature on leaf elongation, which typically follows an Arrhenius-like function in most plants (Parent & Tardieu, 2012). In light of the objectives of the present work, we introduced in CNW-Wheat a non-linear dependency of **ϕ** on temperature, **f(T).**

According to the variations of $\psi_{P,hz}$, the leaf extension is calculated in the three dimensions and is separated into two components : an irreversible plastic and a reversible elastic elongation. When the leaf is still enclosed inside the previous sheath, *hz* elongation is both reversible and irreversible:

$$\frac{d\,(l,w,th)_{\,hz}}{dt} = \left\{\frac{1}{\xi_{hz}} * \frac{d\,\psi_{P,hz}}{dt} \;*\; (l,w,th)_{\,hz}\right\} + \left\{\phi * (max(\psi_{P,hz}\,,\Gamma) - \Gamma)) \;*\; (l,w,th)_{\,hz}\right\} \text{ (Eq. 3.6B)}$$

After E_n, the irreversible elongation calculated is translocated from *hz* to the emerged tissues of the elongating leaf:

$$\frac{d\,(l,w,th)_{\,hz}}{dt} = \left\{\frac{1}{\xi_{hz}} * \frac{d\,\psi_{P,hz}}{dt} \;*\; (l,w,th)_{\,hz}\right\} \qquad \text{(Eq. 3.6E)}$$

$$\frac{d\,(l,w,th)_{\,organ}}{dt} = \left\{\frac{1}{(l,w,th)_{\,organ}} * \frac{d\,\psi_{P,organ}}{dt} * (l,w,th)_{\,organ}\right\} + \left\{\phi * (max(\psi_{P,hz}\,,\Gamma) - \Gamma)) \;*\; (l,w,th)_{\,hz}\right\} \qquad \text{(Eq. 3.6F)}$$

For the sake of simplicity, the exposed tissues of the growing leaf are regarded as a homogeneous compartment during leaf elongation. As such, the separation between the lamina and the sheath occurs at the end of leaf elongation using an ontogenetic ratio:

$$\mathbf{SL_ratio = SL_ratio_\alpha * n^3 + SL_ratio_\beta * n^2 + SL_ratio_\gamma * n + SL_ratio_\delta} \qquad \text{(Eq. 3.11)}$$

with **n** the leaf foliar rank and **SL_ratio_α, SL_ratio_β, SL_ratio_γ** and **SL_ratio_δ** (dimensionless) parameters from Dornbusch *et al.* (2011).

2.3.4 Modifications of the stomatal conductance model

In CN-Wheat, the stomatal conductance $\mathbf{gs_w}$ (mol m^{-2} s^{-1}) was calculated according to the equation of Ball *et al.* (1987) as:

$$gs_w = gs_{w,min} + m * A_n * \frac{h_s}{C_s} \qquad \text{(Eq. 3.12)}$$

with $\mathbf{A_n}$ the assimilation rate (µmol m^{-2} s^{-1}), $\mathbf{h_s}$ the relative humidity at the leaf surface, $\mathbf{C_s}$ the molar fraction of CO_2 at the leaf surface (µmol mol^{-1}), $\mathbf{gs_{w,\ min}}$ the minimum gs_w (mol m^{-2} s^{-1}) and **m** (dimensionless) the model slope constant which represents the composite sensitivity of stomatal conductance to assimilation, CO_2 concentration, humidity and temperature.

Aphalo & Jarvis (1991) showed that Vapour Pressure Deficit (**VPD**, kPa) is more appropriate than the relative humidity and that the effects of temperature should be separated from humidity via VPD (Aphalo & Jarvis, 1993). On the other hand, this model does not account for the effects of drought, which are crucial in our study. We therefore the stomatal conductance model to account for the effects of the leaf water potential ($\mathbf{\psi_{w,organ}}$) and of the **VPD** by coupling the models of Leuning (1995) and Tuzet *et al.* (2003), such as:

$$gs_w = gs_{w,min} + \frac{\propto * A_n * e^{-\left(\frac{\psi_{w,organ}}{\psi_{w,organ,crit}}\right)^n}}{(C_s - \Gamma^*)\left(1 + \frac{VPD}{d}\right)} \qquad \text{(Eq. 3.13)}$$

with **Γ*** the CO_2 compensation point (µmol mol^{-1}), $\psi_{w,\,organ}$ the organ water potential (MPa), $\Psi_{w,organ,crit}$ the water potential at which gs_w is reduced by half (MPa), and **∝, n, d** parameters.

2.4 Model calibration and implementation

The whole composition is implemented in the OpenAlea platform (Pradal *et al.*, 2008, 2015) as a set of modular sub-models communicating via a central data structure: a multiscale tree graph (MTG) (Barillot *et al.*, 2019). The code is open source, available on GitHub (https://github.com/openalea-incubator/WheatFspm), and released under a CecILL-C license.

The inherent complexity of FSPMs makes a global optimization of the model parameters a challenging task (Lin *et al.*, 2012). One of the more prominent approaches to calibrating FSPMs is to combine the use of experimental data, independent parametrization of the sub-models, and parameter values derived from literature (Evers *et al.*, 2018). The parameters of the initial CN-Wheat (~160) were kept identical to those presented in Gauthier *et al.* (2020). The new CNW-Wheat parameters (~20) were defined with a combination of literature values and pragmatic fine-tuning (Table 2.1). Specifically, the parameters that needed to be estimated were the individual organ extensibilities and elasticities, threshold turgor, *xylem* transport resistance, parameters of the equivalent solutes concentrations function, and the initial values of leaf width and thickness.

Table 2.1. Summary of parameters in the model with their description

MODEL PARAMETERS					
SYMBOL	**VALUE**	**UNIT**	**DESCRIPTION**	**RELATED EQUATION**	**REFERENCE**
R	8.31	J mol^{-1} K^{-1}	Global gas constant	3.8A	Coussement *et al.*(2018)
ρ_w	1000	kg m^{-3}	Volumetric mass of water	3.5A,B	Coussement *et al.*(2018)
Γ	0.2	Mpa	Critical value for the pressure component which must be exceeded for irreversible volume changes	3.6B,F 3.5B	Eastham *et al.* (1984)
$\phi_{max,\,w}$ $\phi_{max,\,th}$ $\phi_{max,\,l}$	$13E^{-09}$ $10E^{-09}$ $38E^{-06}$	Mpa^{-1} s^{-1}	Initial dimension-specific (w: width, th: thickness, l: length) cell wall extensibility in relation to non-reversible dimensional changes	3.10	-
t_{end}	2 160 000	s	Lamina age when extensibility reaches 0 at 12°C	3.10	adapted from Fournier *et al.* (2005)
t_{max}	1 473 120	s	Lamina age when organ extensibility is reduced by half of the initial value at 12°C	3.10	adapted from Fournier *et al.* (2005)
t_{base}	-822 960	s	Beginning of leaf elongation in automate growth at 12°C	3.10	adapted from Fournier *et al.* (2005)
hz: ξ_w ξ_{th} ξ_l mature organ: ξ_w ξ_{th} ξ_l	 50 40 50 150 120 150	Mpa	Dimension-specific (w: width, th: thickness, l: length) elasticity in relation to reversible dimensional changes in *hz* and mature organs	3.5A,B 3.6A,B,E,F	-

R_{soil}	$1E^{-05}$	Mpa m s g^{-1}	Flow resistance between soil and *xylem*	3.3	-
R_{hz}	2	Mpam s g^{-1}	Flow resistance between *xylem* and *hiddenzone*	3.3	-
R_{organ}	5	Mpa m s g^{-1}	Flow resistance between *xylem* and shoot organs	3.3	-
$V_{storage}$	0.8	-	Proportion of plant organ contributing to water storage	3.5A,B 3.8B	Coussement *et al.*(2018)
WL_ratio	0.725	-	width:length ratio at E_{n-1}	-	adapted from Williams (1960)
TL_ratio	0.14	-	thickness:length ratio at E_{n-1}	-	adapted from Williams (1960)
SL_ratio_α	-0.0021	-	Parameters of a polynomial function for sheath : lamina length ratio	3.11	Dornbusch *et al.* (2011)
SL_ratio_β	0.037	-	Parameters of a polynomial function for sheath : lamina length ratio	3.11	Dornbusch *et al.* (2011)
SL_ratio_γ	-0.1527	-	Parameters of a polynomial function for sheath : lamina length ratio	3.11	Dornbusch *et al.* (2011)
SL_ratio_δ	0.4962	-	Parameters of a polynomial function for sheath : lamina length ratio	3.11	Dornbusch *et al.* (2011)
S_α	261.5	mol m^{-3}	Parameter of a sigmoidal function of equivalent solutes concentration used in osmotic water potential	3.8B	-
S_β	8.5	-	Parameter of a sigmoidal function of equivalent solutes concentration used in osmotic water potential	3.8B	-
S_γ	800	mol m^{-3}	Parameter of a sigmoidal function of equivalent solutes concentration used in osmotic water potential	3.8B	-
$\psi_{w,xylem,crit}$	-0.25	Mpa	Critical *xylem* water potential threshold at which RER is reduced by 50% before E_{n-1}	3.9	Boyer (1968)
n	4	-	Shape parameter of the RER function before E_{n-1}	3.9	-
$\propto$	5.7	-	Empirical coefficient of the stomatal conductance function	3.13	Tuzet *et al.* (2003)
$\psi_{leaf,crit}$	-1	Mpa	Critical leaf water potential threshold at which stomatal conductance is reduced by 50%	3.13	Oosterhuis (1987)
n	4	-	Shape parameter of the stomatal conductance function	3.13	Tuzet *et al.* (2003)
d	30	kPa	Scaling parameter of the stomatal conductance function	3.13	Tuzet *et al.* (2003)
Υ^0	$28E^{-06}$	mol mol^{-1}	Parameter in function of CO_2 compensation point in the absence of mitochondrial respiration	-	Tuzet *et al.* (2003)
Υ^1	0.0509	-	Parameter in function of CO_2 compensation point in the absence	-	Tuzet *et al.* (2003)

			of mitochondrial respiration		
Υ^2	0.0010	-	Parameter in function of CO_2 compensation point in the absence of mitochondrial respiration	-	Tuzet *et al.* (2003)
T_{ref}	293.2	K	Reference temperature	-	Tuzet *et al.* (2003)

2.5 MODEL EVALUATION PROCEDURE

In this work, we evaluated the ability of the model to simulate the growth of a succession of leaves during the vegetative stages of wheat. Simulations were compared with three complementary experimental datasets (Ljutovac, 2002; Gauthier *et al.*, 2020 **[Supplementary Data S1.5]**) representative of north-western Europe conditions in optimal water regime (Grignon, France, (48.849°N; 1.917 °E). Detailed experimental data allowing comparisons with model outputs for identical conditions were available only for a few traits. The hydraulics traits were evaluated qualitatively, using data collected for various stages of development, grass species, or growth conditions.

To this aim, the whole-plant model was run to simulate a wheat plant from the emergence of leaf 4 to the beginning of the stem elongation (2500 h ~ 104 d). The model was run with an hourly time step, except for the 3D representation of the canopy, which was updated every 4 h. This means that the absorbed PAR was calculated from hourly values of incident PAR, applied to a structure updated every 4 h, to limit the computational. Each simulation runs in ~ 2h on a personal computer.

2.5.1 ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Plant density was set to 250 plants m^{-2} and soil NO_3^- was initialized at 6 g m^{-2}. To simulate the actual fertilization applied in the experimental dataset, soil NO_3^- was increased by 5 g m^{-2} at t=2016 h. We used the actual hourly weather data (temperature, incident PAR, humidity and wind speed) from the experimental site (Gauthier *et al.* 2020 **[Supplementary Data Fig. S2.51]**). Also, atmospheric CO_2 concentration was set at 360 ppm and soil relative water content (SRWC) at 0.80.

2.5.2 MODEL INITIALIZATION

The initial state of each compartment in the plant (*hz*, mature organs, roots and *phloem*) was defined as in Gauthier *et al.* (2020) in terms of dimensions, masses and metabolites concentration. Briefly, this initial state reflects the state of the wheat plants grown in the experiment at leaf 4 emergence (mid-December 1998).

For *hz*, new state variables were initialised: (i) width and thickness (from leaf 1 to 3) were estimated according to published data (Williams, 1960), (ii) water content, initialised as the product of width, thickness and length, divided by the water volumetric mass; and (iii) turgor water potential, calculated as the difference between total water potential (considered at equilibrium with soil water potential) and osmotic water potential (calculated according to volumetric solutes concentration). For mature organs (lamina and sheath), water content and turgor water potential were initialised similarly to *hz*. The initial state of the *xylem* was set at the equilibrium with the soil water potential.

2.5.3 STATISTICS

The normalized root mean squared error (nRMSE) (Eq. 3.14A, B) was employed for model calibration. The nRMSE estimates the scatter between the simulated and measured data, where values close to zero indicate excellent agreement and hence the good performance of the model (Araya et al., 2015). nRMSE was calculated as follows:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{N}\sum_{1}^{N}(y - \hat{y})^2} \qquad \text{(Eq. 3.14A)}$$

$$nRMSE = \left(\frac{RMSE}{\bar{y}}\right) * 100 \qquad \text{(Eq. 3.14B)}$$

with **y** the observed value, $\hat{y}$ the simulated value, $\bar{y}$ the mean of observed value, **N** the number of observations.

III. RESULTS

The model was run to simulate a period of 104 days resulting in the production of 11 leaves along the main stem and four primary tillers. Figure 3.3 shows a 3D visualization of the plant at 1, 52 and 104 days.

Firstly, the ability of the model to simulate some major leaf traits and realistic dynamics of shoot development was assessed against observations from a field experiment in optimal growth conditions (see details above). Secondly, we evaluated whether the simulated hydraulics properties, which were not measured experimentally, were consistent with the literature.

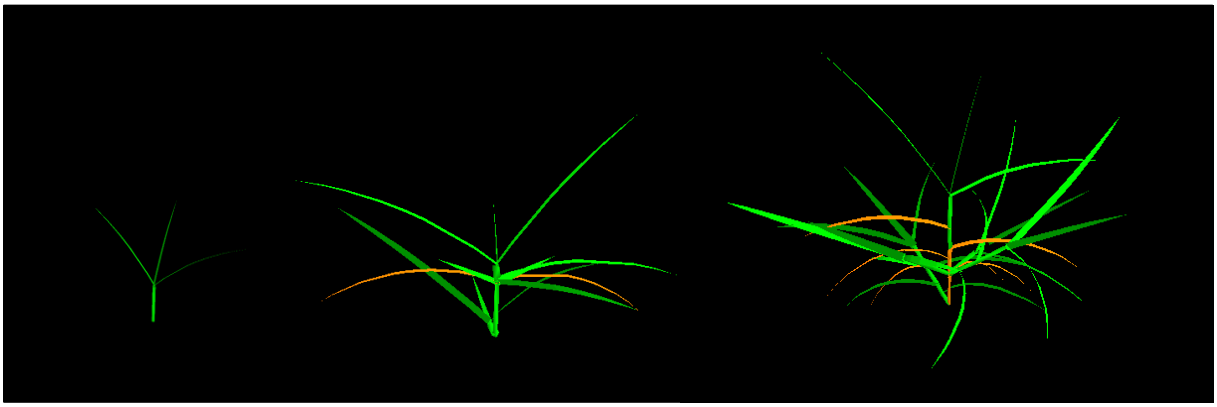


Fig. 3.3. 3D vizualisation of the plant at day 1 (left), 52 (center) and 104 (right).

3.1 SUCCESSIVE LEAF DIMENSIONS AND PHYLLOCHRON

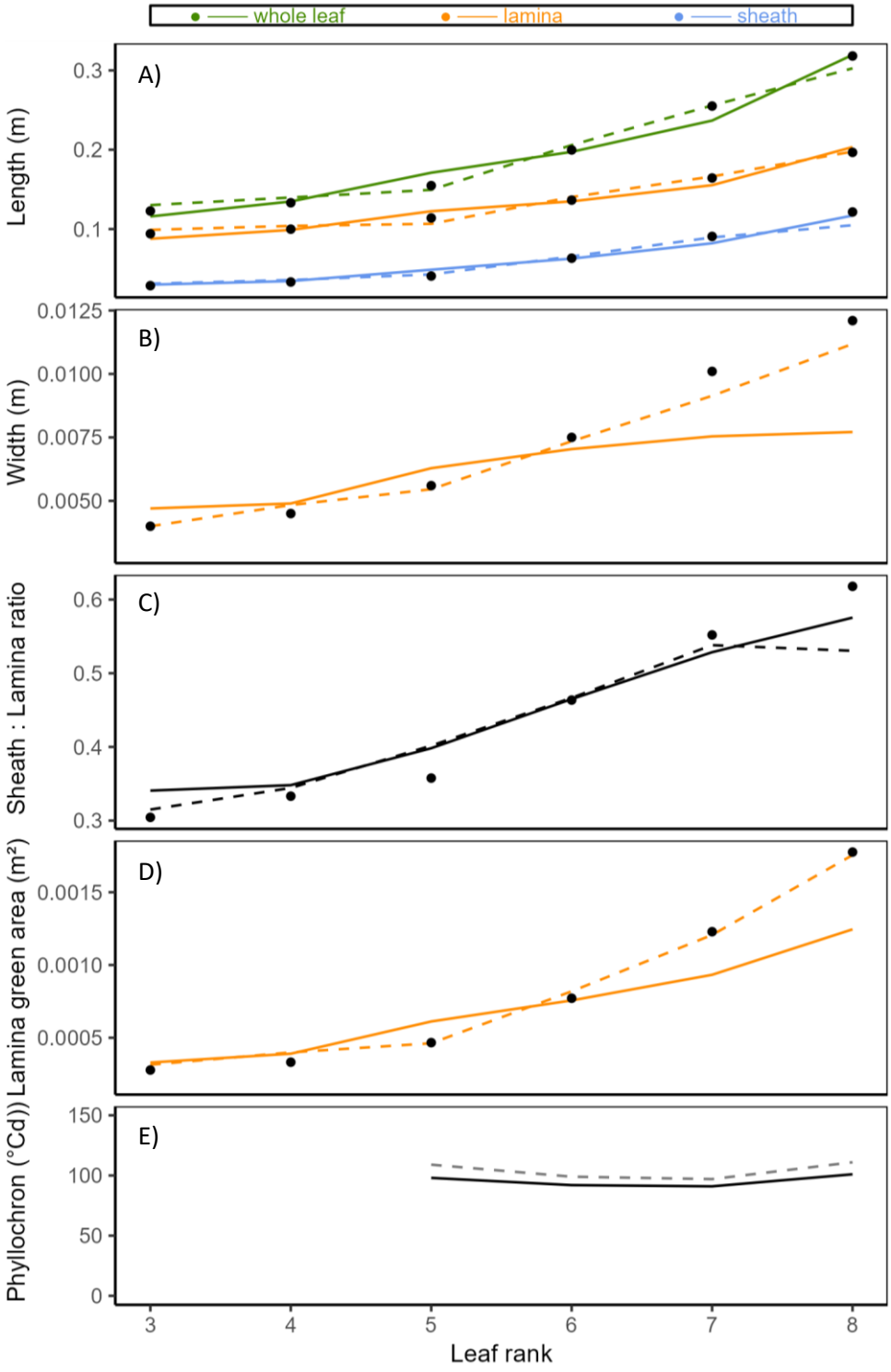


Fig. 3.4. Leaf traits on the main stem.

(A) Final length of the whole leaf (green), lamina (orange) and sheath (blue). Simulations of CNW-Wheat are represented by solid lines (—), simulations of the initial CN-Wheat (Gauthier et al., 2020) by the dotted line (--), and observations by solid circles (●). (B) Final width (m) of laminae. (C) Ratio between sheath and lamina lengths. (D) Final lamina green area (m²). (E) Simulated interval (°Cd) between leaf emergence dates. At the end of the simulation, leaf 9 is emerged and is still growing and leaf 10 is hidden in the pseudostem.

The simulations of the dimensions of the successive leaves and their rate of emergence were in line with the observed values (Fig 3.4). After 104 days, leaves 3 to 8 were ligulated. The final leaf, lamina and sheath lengths increased with foliar rank, ranging from : 0.12 to 0.32 m for leaf, 0.08 to 0.20 m for lamina and 0.03 to 0.12 m for sheath (Fig. 3.4A). At the end of the simulation, leaf 9 emerged but was still growing, while leaves 10 and 11 had not emerged from the pseudostem. The model exhibited a superior capacity for predicting the final length of leaves, with a margin error of ± 1% and nRMSE of 7.5% (Fig. 3.4A), in comparison to its performance in predicting leaf width, with a margin error of ±8% and nRMSE of 30% (Fig. 3.4B). As a result, the green area of the successive leaves predicted by the model (Fig. 3.4D) were 14% lower than the observations (nRMSE = 27%). The emergence of leaves occurred at relatively stable thermal time intervals (Fig. 3.4E). On average, the simulated phyllochron was 100°Cd for all leaves (91-120°Cd), which is close to the observations (111°Cd) and CN-Wheat original simulations (104°Cd) (nRMSE = 34%).

3.2 WATER DYNAMICS AT THE PLANT SCALE

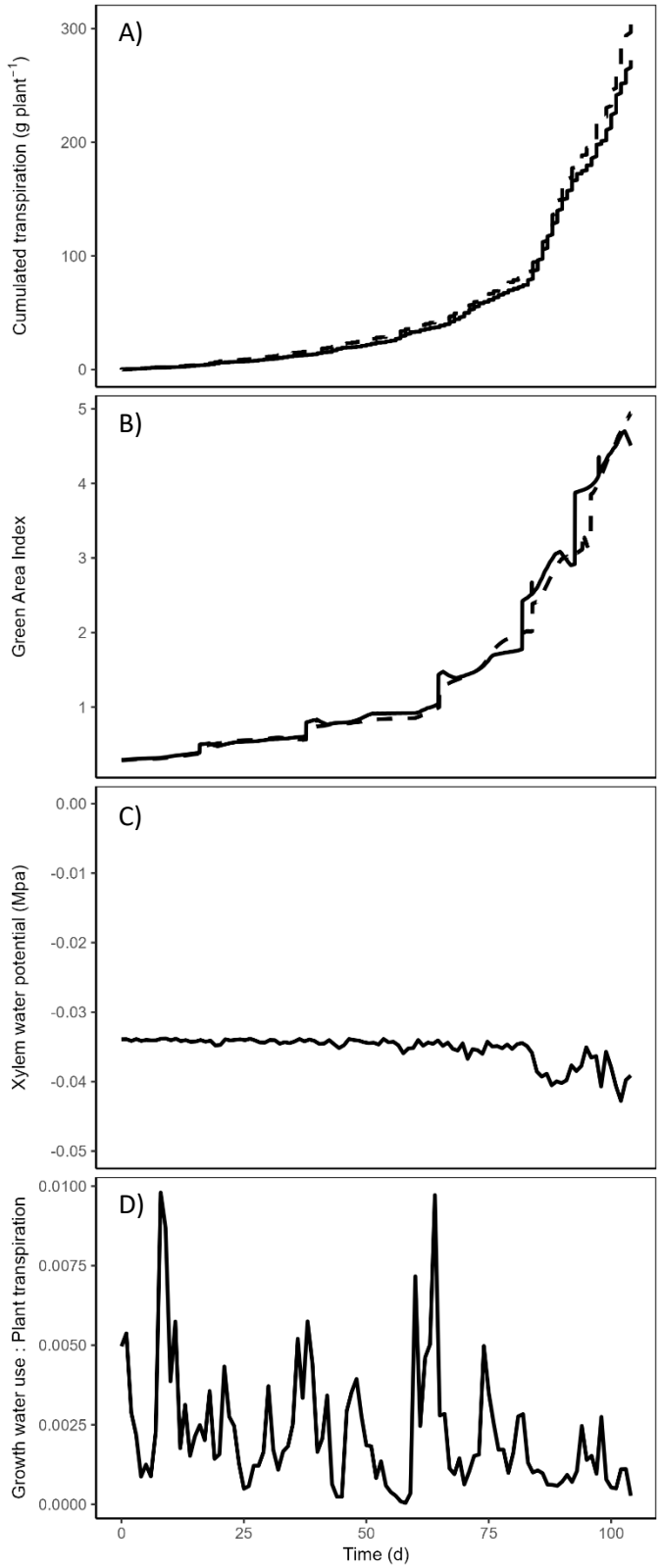


Fig. 3.5. Dynamics of water variables at the plant scale.

(A) Cumulated plant transpiration (g plant^{-1}). (B) Green Area Index. (C) Xylem water potential (Mpa). (D) Ratio between the water deposit rate into hz and the transpiration rate of exposed tissues.

Data ara function of the time (day). The Green Area Index is calculated by the sum of the green areas of the blades and sheaths. Simulation from CNW-Wheat model are represented in solid line (—) and from CN-Wheat model in dashed line (- -).

The cumulated plant transpiration increased over the course of the simulation, reaching 272 g at day 104. This value was very close to the initial CN-Wheat simulations (± 11%, nRMSE = 3%), which mainly results from the similar dynamics of Green Area Index (nRMSE = 7%) (Fig. 3.5.B). The Green Area Index showed a strong increase at ~80 days, concomitant with the increase in air temperature (from 8 to 12°C) and global radiation (from 1055 to 7000 µmol m^{-2} s^{-1} in total during the day), until reaching 4.7 at the end of the simulation. The consistent simulations of transpiration also reveals that the modified version of the stomatal conductance sub-model led to similar results in these particular growing conditions.

CNW-Wheat also provides information about the water status of the plant and its sharing between organs and processes. The *xylem* water potential (Fig. 3.5A) slightly declined during the simulated period, ranging from -0.034 to -0.042 Mpa, which is mainly explained by the increase of total plant transpiration (Fig. 3.5B). The figure 3.5C shows the daily ratio between the water flux entering all *hz* and the total water lost by transpiration. The model simulates that the water deposition for growth was approximately ~0.5% (from 0.1 to 1%) of the transpiration for the plant and during the entire period under consideration.

The trophic status of the plant (the concentration of sucrose and amino acids in the *phloem*), as well as the dry mass of the above-ground and shoot parts and the ratio between the two, are presented in Supplementary Data **[Supplementary Data Fig. S3.1]**

3.3 Water and C-N dynamics at leaf scale

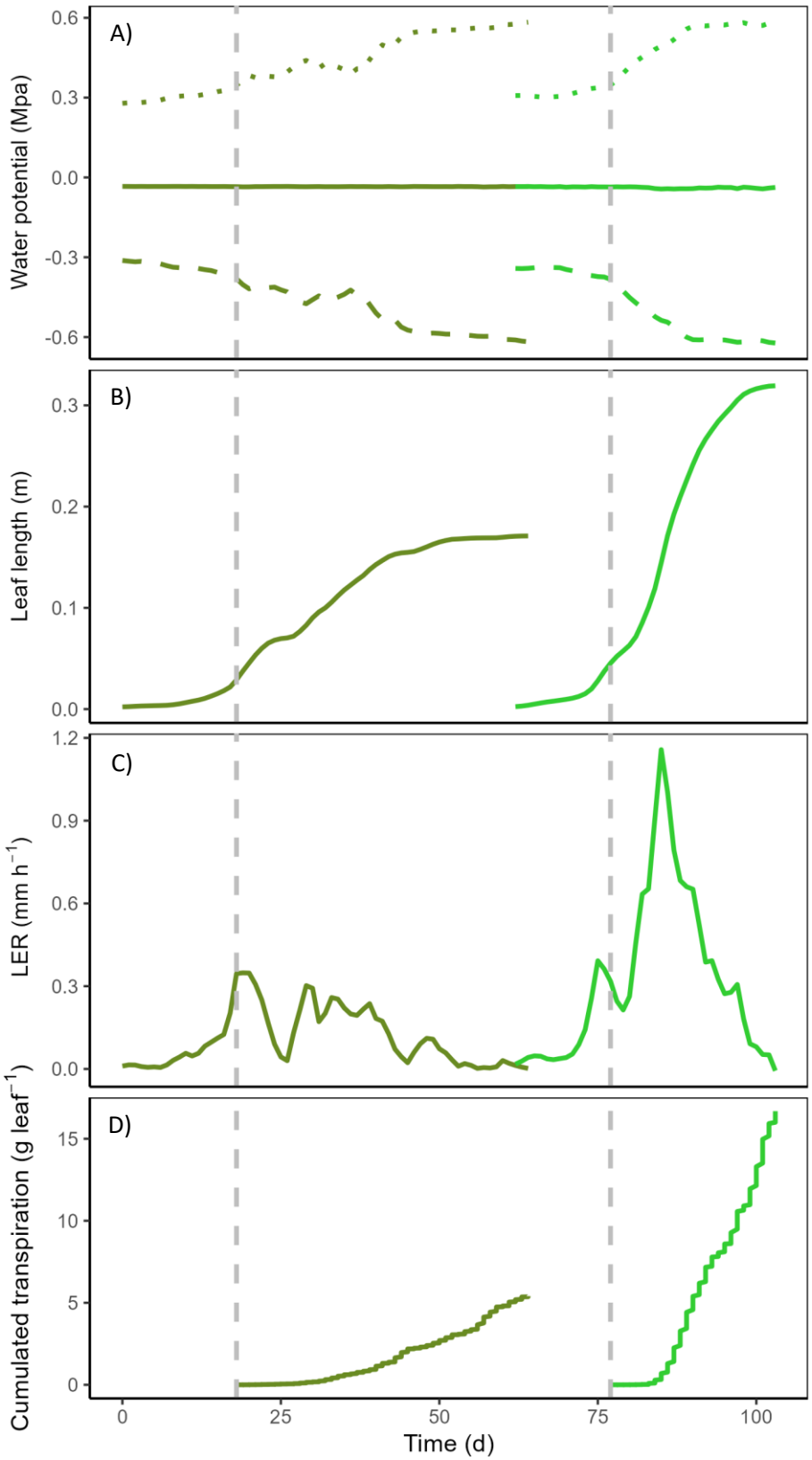


Fig. 3.6 Illustration of water dynamics during the growth of leaf 5 (dark green) and leaf 8 (light green).

(A) Total (solid line ―), osmotic (dashed line - -) and turgor (dotted line ‧‧) water potential of the hidden growth zone (Mpa). (B) Leaf length (m). (C) Leaf elongation rate (mm h^{-1}). (D) Cumulated transpiration of the lamina (g leaf^{-1}). The vertical grey dashed line indicated the timing of the leaf emergence.

The leaf water status during leaf ontogeny is illustrated (Fig. 3.6) for leaf 5, which grew during the winter season and for leaf 8, which was twice as long and wide and grew during spring season.

The total water potential of the *hiddenzone* showed small variations throughout the elongation of both leaves (Fig. 3.6.A). The water potential was slightly more negative (-10%) in leaf 8 compared to leaf 5, related to the lower *xylem* water potential during the period of leaf 8 elongation. The disparity between *hz* and *xylem* water potentials gives rise to the phenomenon of water flow in the *hz*.

The osmotic water potential remained stable during the period in which the leaves were still hidden inside the pseudostem (until day 19 and 76 for leaf 5 and 8 respectively). Following leaf emergence, a continuous decrease in the osmotic potential was observed : from -0.31 to -0.62 Mpa for leaf 5 and from -0.34 to -0.62 Mpa in leaf 8. This behaviour is related to the volume of the *hz* which is assumed to remain constant after leaf emergence, while the unloading of solutes from the *phloem* continues in the model. This implementation resulted in an increase in solute concentration within the *hz* and therefore a decrease of osmotic potential. This decline is asymptotic as implemented in Eq. 3.8B.

The turgor water potential was also constant during long-term dynamics when the leaf was only composed of a single *hz* compartment (~0.3 Mpa for leaf 5 and ~0.31MPa for leaf 8). Following lamina emergence, a symmetrical increase in the turgor potential was observed, concomitant with the decrease in the osmotic potential. The dynamics of the turgor potential in the model are the result of a combination of water availability (*i.e.* soil water potential, *xylem* transport resistance and transpiration) and metabolites availability (*i.e.* photosynthesis, respiration and *phloem* transport resistance).

The pattern of leaf elongation rate (LER, mm h^{-1}) showed a typical bell-shape dynamics, affected by the actual variations of air temperature and also the fluctuations of incident light intensity which markedly affected the availability of metabolites (see also Gauthier *et al.,* 2020). The maximum LER was observed when the leaf had reached approximately 20% of its final length for leaf 5, and 45% for leaf 8. The maximum LER value was 231% higher for leaf 8 than for leaf 5 (1.16 and 0.35 mm h^{-1}, respectively), due to the greater dimension of the leaf and the higher air temperature at that time, which directly impacted the extensibility of leaves.

The cumulated transpiration of each leaf increased during the simulation, following the increase in leaf length. The total transpiration of leaf 8 was 3 times higher than that of leaf 5 at the conclusion of the simulation.

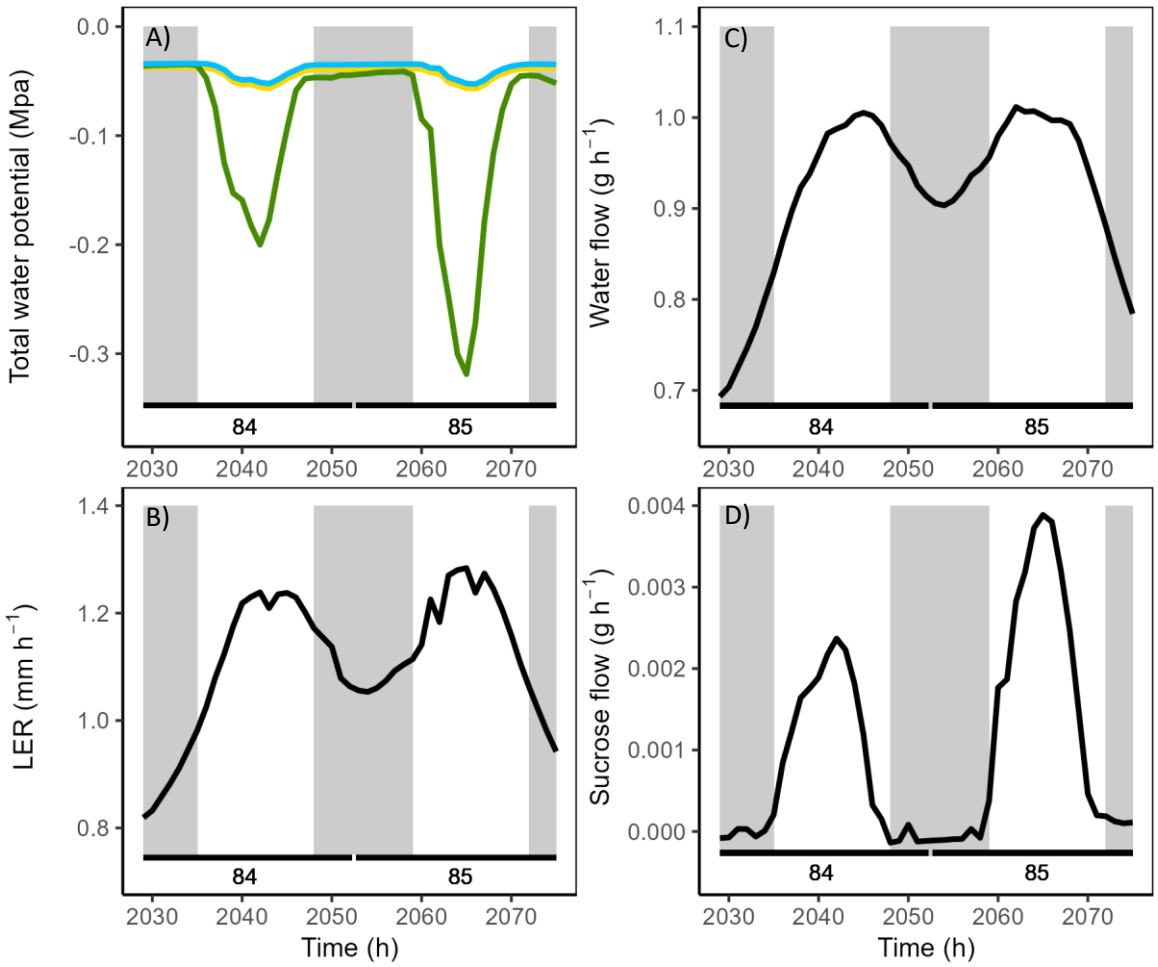


Fig. 3.7 Illustration of hourly dynamics in leaf 8 during days 84 and 85.

(A) Total water potential (MPa) of the xylem (blue), hiddenzone (yellow) and lamina (green) of leaf 8. (B) Leaf elongation rate (mm h^{-1}). (C) Water deposition rate from xylem to the hiddenzone (g h^{-1}). (D) Sucrose deposition rate from phloem to hiddenzone (g h^{-1}). The alternance of nighttime and daytime is represented by gray and white stripes, respectively.

The figure 3.7 illustrates short-term variations of the leaf 8 over the course of two days, corresponding to the maximal LER (days 84 and 85). The water potential (Fig. 3.7A) demonstrated a decreasing gradient across the plant, starting from the *xylem*, the *hz* and the blade. The total water potential exhibited a diurnal pattern in the three compartments, with a decrease during the day until midday at which the minimal value was attained, and an increase in the second part of the day, to remain stable during nighttime. The difference between *xylem*, *hz*, and blade was lower during the night than during the day (+10% and +1040% between *xylem-hz* and *xylem*-blade respectively), due to plant transpiration.

Short-term variations in LER were mainly caused by changes in leaf water potential. The water potential difference between *hz* and *xylem* was greater during the day than at night (+10%), resulting in a higher LER during the day. The lower temperature of *hz* during nighttime (~ 11°C) compared to daytime (~ 12.3°C) is the main contributing factor to the lower LER observed during this period (data not shown).

The deposition rate of water (Fig. 3.7C) and sucrose (Fig. 3.7D) in the *hz*, from *xylem* and *phloem* respectively, also showed strong diel variations. Both sucrose and water deposits were concomitant in the *hz*, despite their disparate transport pathways. However, sucrose flow was ~ 250 times lower than water flow.

The water flow in the *hz* increased as the difference of water potential with the *xylem* increased. During the two days, the water deposition rate and LER were never null, while the sucrose deposition reached 0 during the night.

3.4 VERTICAL HETEROGENEITIES ALONG THE MAIN STEM

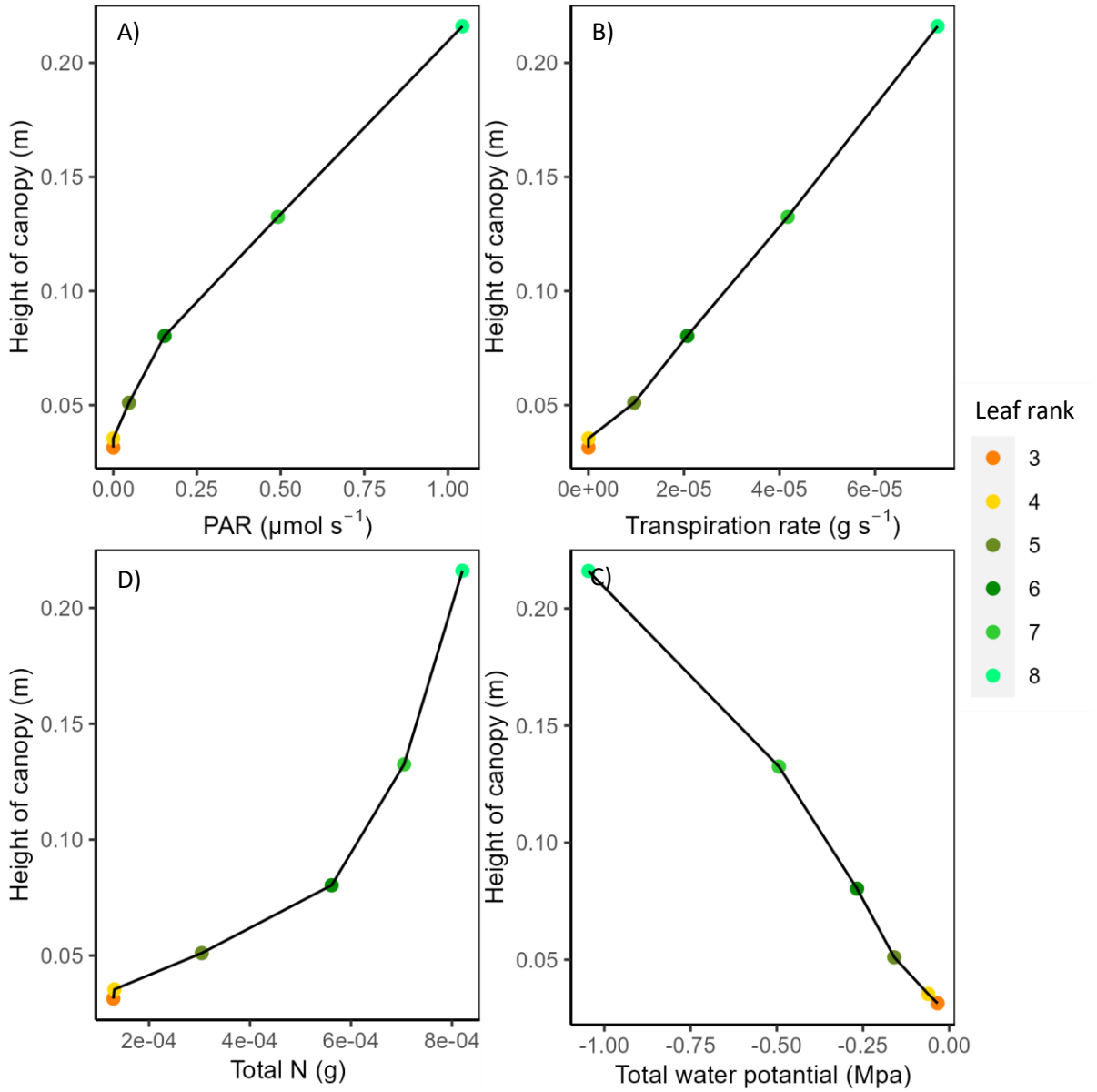


Fig. 3.8 Vertical gradient of (A) Photosynthetically Active Radiation absorption of laminae (PARa, µmol s^{-1}), (B) lamina transpiration rate (g s^{-1}), (C) total water potential (Mpa), and (D) total lamina N mass (g).

Data were selected at midday on day 104 (air temperature = 17.9°C and incident PAR = 1493 µmol m^{-2} s^{-1}) for lamina rank 3 to 8 (see color gradient).

Figure 3.8 illustrates the vertical gradients that can be found in a wheat plant during spring in terms of water and resource distribution. The extinction of light followed an exponential decrease along the vertical profile (Fig. 3.8A), which is commonly observed in dense and homogeneous canopies. In relation to the distribution of light, the transpiration rate dramatically decreased from the top to the bottom of the plant, although the profile was rather linear (Fig. 3.8B). At the end of the simulation, leaves 7 and 8 contributed to 30 and 60% of the absorbed PAR and to 50 and 30% of canopy transpiration, respectively. The vertical profile of water potentials was similar to that of transpiration, ranging from -1.05 MPa at the top of the canopy to -0.034 MPa for the lowest leaves (Fig. 3.8C). In CNW-Wheat, the allocation of N from the root compartment to the shoot organs is driven by their transpiration rate, while leaf senescence triggers N remobilisation towards the *phloem*. As a result of this approach and due to the green area of the different laminae, the distribution of the total N mass in the laminae increased exponentially along the main stem.

IV. DISCUSSION

Leaf elongation is strongly regulated by the trophic (C and N content) and water status of the plant, which are directly dependent on the abiotic factors of the environment. To better understand these complex interactions, we developed the first individual-based model integrating shoot morphogenesis and its regulation by both C-N metabolism and water flow at the organ level. CNW-Wheat was built upon the CN-Wheat model (Barillot *et al.*, 2016a; Gauthier *et al.*, 2020), which accounts for the regulation of leaf growth by coordination rules between successive leaves and the metabolite concentration of the growth zones. In the present work, we extended the initial CN-Wheat model to integrate the circulation of water within the plant and its mechanical role on leaf extension, based on the work of Coussement *et al.* (2018). Furthermore, a dependency on leaf water status was integrated into the initial stomatal conductance sub-model, which consequently affects leaf transpiration and photosynthesis. Finally, CNW-Wheat was evaluated for its ability to simulate the dimensions of the leaf succession of a wheat plant grown on field conditions.

4.1 MAIN ASSUMPTIONS OF THE MODEL

As the integration of trophic and hydraulic regulation of plant growth implies numerous biological processes, the data available for the model calibration of the whole model was limited. As a consequence, several conceptual simplifications were introduced in CNW-Wheat.
First, a common *xylem* to all plant's organs, has been implemented to simulate water circulation from the soil to the atmosphere through the plant. This choice was supported by several experiments which consistently reported that the axial conductance was much higher than the radial (Tyree & Cheung, 1977; Frensch & Steudle, 1989; North & Nobel, 1991; Melchior & Steudle, 1993; Martre *et al.*, 2001). In addition, the model requires solving the algebraic equations and ODEs on an hourly scale to retain the diel dynamics. The speed of solving such a set of equations is directly proportional to the complexity of the plant structure (*i.e.* the number of plant organs, which changes the number of equations in the system). Considering a single *xylem* compartment therefore allows a large reduction in model complexity and consequently of the computation time. As a consequence of this choice, the deposition of water, but also of C and N, in the *hz* depends on single and homogeneous compartments (*xylem* and *phloem*, respectively), which are supplied by mature shoot organs and the root system. Despite these simplifications, the model was able to simulate realistic distribution of C-N resources among sinks and sources (Barillot *et al.*, 2016a; Gauthier *et al.*, 2020, 2021) as well as consistent gradients of water potentials along the plant axis (Fig 3.8). The range of potentials simulated through different leaves in the plant are similar to those measured in previous studies on wheat (Millar & Denmead, 1976; Jones, 1977).

Secondly, the dynamics of leaf elongation is represented by two distinct phases separated by the emergence of the previous leaf, both phases being co-regulated by C, N and water content of the *hz*. However, different formalisms were used to describe each phase. In particular, the Lockart-Ortega approach was not used during the first phase mainly because water fluxes, water potentials and volume variations are very poorly described in the literature. We therefore chose to keep the initial exponential-like extension described in CN-Wheat (Gauthier *et al.*, 2020) which we extended with an empirical function depending on the *xylem* water potential. The second phase simulates the growth of the leaf in 3 dimensions (length, width, thickness) following the turgor-driven growth approach described in Coussement *et al.* (2018). At the transition time (E_{n-1}), empirical allometries were used to calculate the initial width and thickness, which were not described in the first phase. Because the model showed to be sensitive to these initial values, more experimental data are needed to describe the extension in width and thickness as well as the variability during the ontogeny and the response to environmental conditions. Another consequence of the turgor-driven growth approach used in the second phase is that the final length of the leaf is no longer calculated at E_{n-1} in contrast with the initial CN-Wheat model. Instead, the cessation of elongation in CNW-Wheat is defined by its extensibility, which is expressed as a function of the physiological leaf age. Leaves of different dimensions are formed despite the use of identical parameters as a result of the environmental conditions during both phases of elongation.

The osmotic water potential is a pivotal component that directly interconnects the water and trophic regulation of leaf elongation. It is calculated from the concentrations of C and N metabolites in the growth zones (trophic component), and is then used to define the water fluxes between the *xylem* and the growing organs, thus affecting the resulting turgor potential (water component). In the present simulations, a decrease in osmotic water potential was observed at the end of leaf elongation, whilst a symmetrical increase in turgor water potential was recorded, both contributing in the maintenance of a stable total water potential with time (Fig 3.6A). The decrease of the osmotic potential is related to the actual implementation of the variations of the *hz* volume. Indeed, the volume of the *hz* is set constant after blade emergence (E_n), assuming that the expansion of tissues is entirely transferred to the emerging part of the leaf. During this post-emergence period, the volume of the *hz* is constant but C-N materials continue to be unloaded from the *phloem*, thus increasing the osmotic potential of the *hz*. Preliminary tests with the model showed that without any regulation, the osmotic potential would drop drastically after E_n, having unrealistic consequences on turgor potential and volume expansion of the *hz.* To counteract this effect, an asymptotic relation between the C-N concentration and the osmotic potential was introduced in the model (Eq. 3.8B). This relation could reflect the fact that other solutes than C-N metabolites play an important role in the osmolarity of cells (ions, peptides, protons…) (Kameli & Lösel, 1995; Bajji *et al.*, 2001) and also that there is an active osmoregulation taking place in the growth zones of leaves as suggested in previous works (*i.e.* Acevedo *et al.*, 1979 in maize and sorghum; Westgate & Boyer, 1984 in maize; Radin *et al.*, 1986 in cotton).

Finally, the hydraulic conductance between the soil and the *xylem* is constant in the model while radial conductance between the *xylem* and the shoot organs only depends on organ dimensions. It was however reported that these conductances may vary with leaf irradiance, air temperature, soil water supply or leaf age (Sack & Holbrook, 2006). In drying soils, the hydraulic transport in the plant could be interrupted in the soil but also in the plant as a result of high tensions in the xylem (Tyree & Sperry, 1989). When this occurs, the hydraulic conductance rapidly declines, compromising the capacity of the plant to transpire, which ultimately leads to plant desiccation (Sperry *et al.*, 2002). In grasses, where 65% of the hydraulic resistance resides in the leaf (Martre *et al.*, 2001), the hydraulic properties of the leaf blade are thus likely to determine growth and survival.

4.2 CNW-Wheat provided realistic simulations of leaf dimensions and dynamics in field conditions

Despite the simplifications detailed above, the model was successfully calibrated to simulate the main stem morphogenesis throughout the vegetative stages as measured experimentally in field conditions. The Green Area Index resulted from the development of the leaves on the main stem and the tillers. The close agreement between the observed, the simulated from Gauthier *et al.* (2020) and the present simulated Green Area Index indicated that the model successfully reproduced realistic canopies. The stability of the phyllochron, a model-based emergent property stemming from the elongation of successive leaves, confirmed the accurate estimates of the leaf elongation along the main stem. The anticipated leaf profile has been produced, demonstrated an increasing leaf length with increasing leaf rank along the axis. Despite the dynamics of leaf elongation being faster than in the simulation conducted by Gauthier *et al.* (2020) (data not shown), the final dimensions were in close alignment with the observed and the simulated data.

The present results also demonstrated important vertical heterogeneities along the main stem in terms of leaf absorbed PAR, transpiration rate, nitrogen and water potential. Similar patterns have been intensively reported, for instance in wheat by Dreccer (2000) or Bertheloot *et al.* (2008, 2012), who observed distinct vertical profiles of light and leaf nitrogen mass between the top and the bottom of the canopy. In the study of Millar & Denmead (1976), the transpiration rate increased with higher leaf rank, while the water potential decreased, in wheat. Within CNW-Wheat, the leaf transpiration rate strongly depends on its temperature and light interception. The calculation of the radiative and energy balance of individual leaves is likely to substantially improve the estimation of transpiration. Consequently, FSPMs, which consider the complex interactions among plant organ architecture, physiology and environment, across diverse spatial and temporal scales, are particularly well-suited for simulating such mechanisms.

4.3 Exploration of the plant water status at organ scale

The detailed description of the trophic and hydraulic dynamics also gives access to internal organ state variables and fluxes that are difficult to measure experimentally, thus providing original insights into plant functioning and leaf growth regulation.

CNW-Wheat was able to simulate the diel variations of leaf transpiration and water potential that were commonly described in the literature (Martin & Dougherty, 1975). During the day, the transpiration of leaves decreased their volume and water content (data not shown), thereby lowering their water potential. This reduction in leaf water potential draws water from the *xylem* compartment, thus lowering the *xylem* water potential. In turn, this increased the difference between the water potential of the *xylem* and that of the soil, thus increasing water uptake (which was unlimited in our simulation conditions). The amount of water absorbed by the plant was partitioned between the elongation of the growing leaves and the transpiration and elastic deformations (shrinking/swelling) of mature organs.

The growth-induced water uptake in the growth zones of leaves accounts for about 0.5% of the amount of water lost through transpiration from the exposed plant tissues. This ratio is substantially lower than those reported in the literature: 5% in sunflower (Boyer, 1974), 1% in barley (Fricke, 2002), and 2% in maize (Tang & Boyer, 2002), which are based on the analysis of only one growing leaf instead of the entire plant. In our model, taking the consideration of a single leaf, the ratio would account for 2% (data not shown). Besides, the model assumes that water deposition in *hz* is totally supplied by the *xylem*, neglecting any contribution from the *phloem* to the sap flow. Due to their proximity in the vascular bundle, xylem and phloem functioning is closely connected, and there is clear evidence that these tissues exchange water (De Swaef *et al.*, 2022). It is estimated that the fraction of xylem water used for phloem transport to the total xylem flow in transpiring plants is very low (Münch's counterflow, *e.g.* Jeschke *et al.*, 1997). Windt *et al.* (2006) demonstrated that during diurnal periods,

the phloem to xylem ratio is low, with a maximum value of 10% observed in tobacco. Conversely, during nocturnal period, the phloem to xylem ratio increased, implying that 54% and 37% of the xylem flow in tobacco and castor bean, respectively, is transported by the phloem.

Despite the difficulty to perform long-term measurements of water, osmotic and turgor potentials in the growth zone, previous studies have reported the spatial dynamics of these variables and revealed that osmotic and turgor potentials change little along the elongation zone (Pritchard, 1994; Fricke, 1997, 2002; Martre *et al.*, 1999b; Fricke & Peters, 2002). However, the mechanisms underlying such stability remain to be fully elucidated. In the leaf elongation zone, turgor fell within a very narrow range (from 0.3 to 0.6 Mpa), concomitant with the observations reported in previous work (around 0.54 ± 0.4 Mpa in grass, Fricke, 2002; from 0.45 to 0.5 Mpa in wheat, Arif & Tomos, 1993; about 0.5 Mpa in perennial ryegrass, Thomas *et al.*, 1989). Only a handful of studies exist in which osmotic potential has been measured in the elongation zone of grass leaves. Martre *et al.* (1999) reported a lower osmotic water potential (around -0.8 Mpa) than the range of the simulations, on an other species (tall fescue) and under different growth conditions (glass-house at 22°C).

4.4 Exploration of the leaf growth zone functioning

The sucrose and water net deposition rate in the growth zone demonstrated the co-regulation of water and trophic dynamics. The deposit of a large quantity of metabolites is necessary to compensate for the dilution resulting from water influx. Notwithstanding, the quantity of sucrose is much lower than that of sucrose in the model. Schnyder *et al.* (1988) and Schnyder & Nelson (1988) have previously observed a similar phenomenon, determining that 0.02 g of sucrose per g of water is deposited in the leaf growth zone of tall fescue.

As a result of the co-regulation of leaf elongation by trophic and water status, the maximal leaf elongation rate (LER) ranged from 0.3 mm h^{-1} to 1.1 mm h^{-1} for leaf 5 and 8, respectively. This variation was mainly due to the increase in air temperature (from ~5 to 12°C) at the time of leaf 8 growth and also to the increase of the *hz* length with plant ontogeny (data not shown). The range of simulated LER is consistent with the reported values from Nagelmüller *et al.* (2016) and Merz *et al.* (2022). The authors found LER between 0.25 to 0.5 mm h^{-1} for temperatures under 5°C and rates up to 2 mm h^{-1} for temperature above 5°C. A temperature dependency was introduced in the extensibility equation in order to encompass the effects of temperature on elongation. As a consequence, the temperature acts at two levels in the model : first on the duration of leaf elongation through its effect on leaf physiological age, and secondly temperature has a direct effect on leaf extensibility at each time step. The latter effect is consistent with the work of (Peters *et al.*, 2021) who hypothesised that cell wall extensibility is increased or decreased, with high vs. low temperatures respectively, as a result of the effect of temperature on enzymatic kinetics, which drive the release of cellulose microfibrils (Cosgrove, 2000).

The extensibility (ϕ) characterises the capacity of the cell wall to extend irreversibly. It is a function of the size of the elongation zone in the leaf growth zone (EZ), which varies during leaf development in wheat (Kemp, 1980). The length of the EZ increases to a maximum (reaches at leaf emergence) before decreasing until the end of leaf elongation (Durand, 1999). Changes in the EZ length parallel changes of the leaf elongation rate over time. Within the model, ϕ was expressed through a decreasing function based on the physiological age of the leaf, to account for the influence of the leaf growth zone development. The relative elongation rate (RER) of width and thickness exhibits a high value during the initial 2-3 days of leaf development and then sharply decreases (Maurice, 1997). In tall fescue, the maximum value of RER is consistent across the three dimensions but occurs at different positions : between 10 and 20 mm from the base in terms of length ; between 0 and 5 mm with respect to width and thickness. Within the model, the extensibility function was found to be identical for the three dimensions, resulting in simulated length dimensions that closely approximated the observed values, while width dimensions were lower. A more pronounced decline in extensibility in the width and

thickness dimensions compared to the length dimension could be implemented. A preliminary test was conducted and generated lower final length simulations than the observations and the actual simulations results (data not shown). This was due to the emergence of "competition" between the two dimensions.
The homogeneous *hz* compartment implementation into the model did not make it possible to simulate the leaf ligulation. Instead, the exposed tissues of a growing leaf are separated into lamina and sheath at the end of the leaf elongation only, according to observed ontogenetic sheath:lamina ratio (Dornbusch *et al.*, 2011b). Notwithstanding this, the simulated ratio and the final lengths of the lamina and sheath were found to be consistent with the observations (Fig. 3.4A, C). Experimental evidence supported that the emergence of leaf tips and collars act as triggers, thereby scheduling blade, sheath and internode extension (Casey *et al.*, 1999; Fournier & Andrieu, 2000). Some models have proposed that the growth of organs follows successive phases, the start and/or end of which are triggered by emergence events. The model of Vidal & Andrieu (2020) proposed that, following its initiation, each organ goes successively through an exponential phase (I), a linear phase (II), and the exentension cessation (III). The emergence of growing organs from the pseudo-stem impacts the transitions between phases of extension. In the case of a sheath, the initiation is triggered by the emergence of the blade of the same phytomer (I), then the linear extension starts as the collar of the previous phytomer emerges (II) and extension ceases due to its emergence from the pseudo-stem (III).

V. CONCLUSION

CNW-Wheat represents a pioneering advancement in the field of FSPM, as it is the first model to mechanistically integrate plant functioning and growth according to C, N and water. The present approach provides a novel framework for the integration of morphogenesis with turgor and the metabolism of C and N, and demonstrates its ability to simulate the growth of a plant.
Such advances in mechanistic plant modelling were required to challenge and fill the gaps in our understanding of plant functioning. The use of this tool in combination with data from future climate conditions, focusing specifically on water deficit and CO_2, would provide insight into the plant response to environmental triggers and could help to identify plant traits of adaptation. Modelling enables the conducting of virtual experiments of a substantial number, encompassing a wide range of conditions that could not all be studied in a field or growth chamber, and avoids the use of invasive measurement techniques (*i. e.* water and osmotic potentials).
The model requires further validation. The ability of the model to simulate contrasting conditions with a unique set of parameters deserves further investigation. To illustrate and simplify the interpretations, and due to lack of information about root length density profile, the soil water potential has been defined as an input to the model. A soil compartment, characterised by a water content and hydrodynamic properties (Van Genuchten, 1980), could be implemented to simulate the soil water balance and hence, the retroactivity of plant transpiration and to limit the plant water consumption in accordance with the soil water availability.

VI. SUPPLEMENTARY DATA

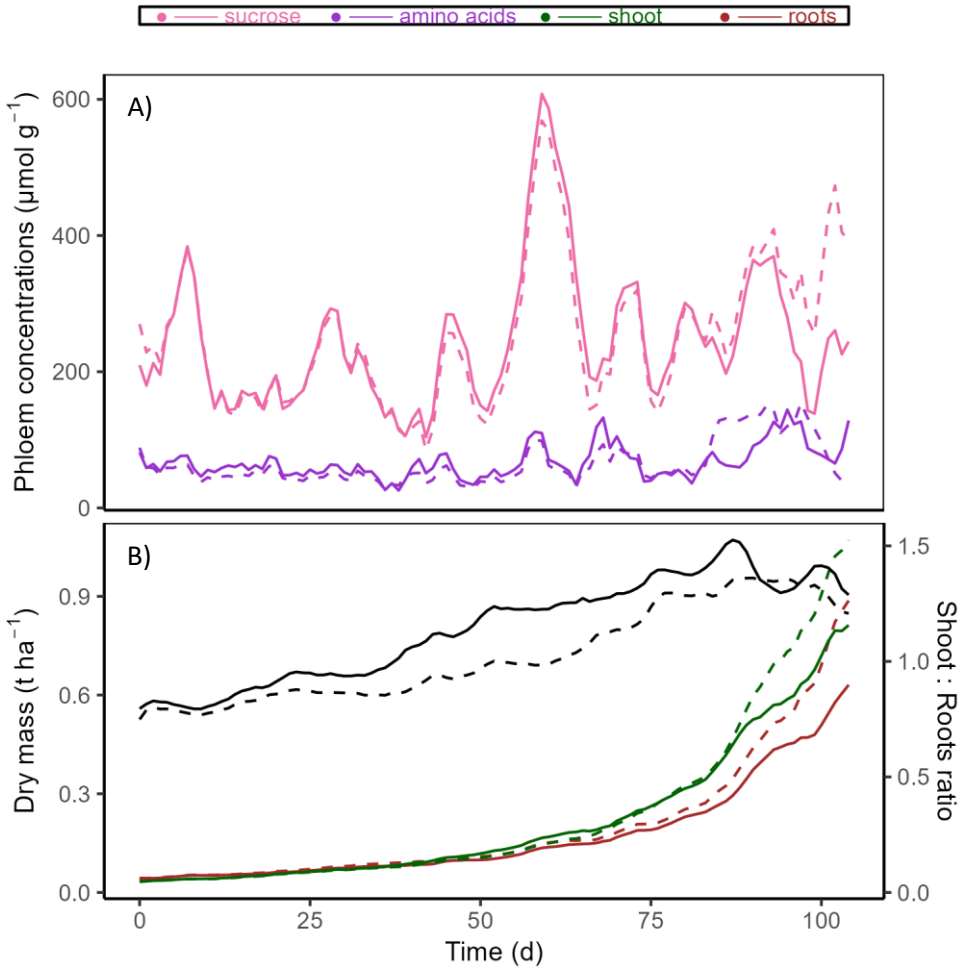


Fig. S3.1. Plant response. *(A) Phloem concentrations of sucrose (pink) and amino acids (purple). Phloem concentrations are calculated as the amount of metabolites of the phloem divided by the structural mass of the whole plant. Simulation results of the CNW-Wheat model are represented by solid lines and the CN-Wheat model by the dotted line. (B) Shoot (green) and root (red) dry mass, and shoot:root dry mass ratio.*

RESUME DU CHAPITRE 3

INTERET ET POSITION DU CHAPITRE DANS LA THESE

Le Chapitre 3 a été consacré à la construction d'un modèle structure-fonction de croissance foliaire du blé, CNW-Wheat, intégrant les connaissances issues de la littérature (Chapitre 1) sur les interactions entre teneur en C, N et eau des organes et la morphogénèse.

CONTEXTE

Le changement climatique est l'un des plus grands défis auxquels l'agriculture est confrontée aujourd'hui, affectant la production de cultures essentielles comme le blé. Pour mieux comprendre et prédire l'impact de ces changements sur la croissance des plantes, notamment des feuilles, il est nécessaire d'étudier les processus complexes qui régissent cette croissance, en tenant compte de multiples facteurs. La complexité du système nous pousse à nous tourner vers la modélisation, en particulier les modèles structure-fonction (FSPMs) qui proposent une description explicite de l'architecture de la plante et ses interactions dynamiques avec les processus physiologiques et les conditions environnementales.

QUESTIONS DE RECHERCHES

L'objectif de ce chapitre est de :
(i) présenter le modèle nouveau FSPM CNW-Wheat qui intègre une co-régulation trophique et hydrique de la croissance foliaire ; et
(ii) évaluer la capacité du modèle à simuler la croissance foliaire dans des conditions de croissance au champ.

M&M

Le FSPM CN-Wheat (Barillot *et al.,* 2016 ; Gauthier *et al.,* 2020) a été étendu pour simuler l'absorption et la distribution de l'eau au sein de la plante et la co-régulation de la croissance foliaire par les concentrations en C-N et le potentiel hydrique dans la *hz* (partie cachée dans les gaines précédentes comprenant la zone de croissance et la gaine cachée de la feuille en croissance). Ce nouveau modèle est nommé CNW-Wheat. Le flux d'eau du sol vers la plante est simulé sur la base des différences de potentiel entre les organes et dépend de la teneur en eau du sol (entrée du modèle) et de la transpiration foliaire (calculée par CN-Wheat). Par souci de simplicité, le transport de l'eau au sein de la plante est supposé se faire à travers un seul compartiment nommé *xylème*, qui est partagé entre tous les organes de la plante. L'eau est ainsi absorbée du sol vers le *xylème* puis transportée vers les organes aériens pour les processus de croissance et de transpiration.
Comme proposé dans CN-Wheat initial, la croissance foliaire suit deux phases séparées par l'émergence de la feuille précédente. Dans le cas de CNW-Wheat, la première phase d'allongement dépend non seulement de la concentration en C et N de *hz* mais aussi du potentiel hydrique du *xylème*. Dans la deuxième phase, le taux d'allongement des feuilles est désormais entièrement régulé par le potentiel de turgescence de *hz* comme proposé par Lockhart (1965), Ortega (1985) et Coussement *et al.* (2018). Le potentiel hydrique osmotique est calculé à partir de la concentration simulée de C et N.

RESULTATS PRINCIPAUX

Cette approche a permis de simuler des caractéristiques réalistes des dimensions foliaires, de la dynamique d'extension et du statut hydrique des organes tels qu'observés dans des conditions

usuelles au champ. Les activités métaboliques et hydrauliques des feuilles en croissance ont été étudiées en relation avec le fonctionnement de la plante entière et les conditions environnementales.

APPORTS POUR LA THESE ET LA RECHERCHE EN GENERAL

Cette étude présente un nouveau modèle de croissance foliaire de blé qui intègre la morphogenèse aérienne, le métabolisme CN et les dynamiques hydriques à l'échelle des organes, dans une représentation 3D de l'architecture des plantes. Nous avons démontré la capacité du modèle à simuler les caractéristiques observées à différentes échelles (plante, feuille, zone de croissance), dans des conditions de croissance usuelles au champ, avec une disponibilité hydrique optimale. Dans le Chapitre 4, nous évaluons la capacité du modèle à simuler la réponse des plantes dans des conditions de croissance futures selon différents scénarios de [CO_2] et disponibilité en eau du sol, tels que prédits par les scénarios du changement climatique.

CHAPTER IV.

MODEL EVALUATION

SIMULATIONS OF LEAF ELONGATION IN CONTRASTING CO_2 AND WATER AVAILABILITY CONDITIONS

I. INTRODUCTION

Climate is the primary factor influencing the feasibility of agricultural production and therefore crops are likely to be impacted by climate change. Indeed, climate change implies changes in both growth factors (*e.g.* temperature) and resource availability for plants such as water and nutrients (Drake *et al.*, 1997; Nowak *et al.*, 2004; Ainsworth & Long, 2005; Luo *et al.*, 2005).

As stated in the 7th IPCC report (IPCC, 2023), the global average temperature has risen by +1.5°C since the late 19th century and is projected to continue to rise until 2100, if the increase of atmospheric CO_2 concentration CO_2 persists. This results in an increase of evapotranspiration and faster depletion of soil water (Zhang *et al.*, 2019; Bloomfield *et al.*, 2019). If elevated CO_2 was shown to increase water use efficiency (Wall *et al.*, 2006; O'Leary *et al.*, 2015) leading to an enhancement of leaf growth in C_3 crops (Drake *et al.*, 1997; Dias De Oliveira *et al.*, 2015; Kimball, 2016), it may also increase total water use (Acker *et al.*, 2024). In combination with higher water demand under warmer temperatures and the lower water availability under drought, projecting the extent to which CO_2 may mitigate the drought impact on leaf growth, is difficult. Prospective studies become imperative for anticipating potential consequences on plant development and the adaptation of agricultural systems.

Climate change impacts on leaf growth in Poaceae have been assessed by experiments (Yu *et al.*, 2012; Naudts *et al.*, 2013; Baca Cabrera *et al.*, 2020; Acker *et al.*, 2024). The authors reported contrasting effect on the mitigating effect of CO_2 on response to drought. However, experimental sites can only provide a limited, site-specific insight into the potential effects of global changes (Norby & Luo, 2004). Simulation models provide a means of exploring a multitude of impacts over extended periods of time under a variety of environmental conditions (Riedo *et al.*, 2001; Luo *et al.*, 2008; Gerten *et al.*, 2008; Lazzarotto *et al.*, 2010). Crop and plant models are tools in predicting crop growth and development response to variable environments under open and controlled conditions (Muller & Martre, 2019). The impact of climatic stress on plant growth is contingent on plant development and is likely to affect multiple processes of plant functioning. Most of the current crop models are based on empiric response laws to the environment, which may be unable to capture the complex and interactive responses of plants to climate change. Architectural and mechanistic models provide an interesting framework to analyse the specific effects of stress, or interaction of stresses, on the dynamics of morphogenesis. Functional-Structural Plant Models (FSPMs) provide an individual-based representation of plant morphogenesis and development through an explicit representation of their 3D structure in combination with functional responses to the environment. FSPMs have been largely used to simulate carbon assimilation and allocation as the basis for simulating the link between plant form and function (Sterck & Schieving, 2007; Evers *et al.*, 2010; Gauthier *et al.*, 2020). Only few FSPMs consider plant water dynamics (Coussement *et al.*, 2018). The integration of both trophic and water dynamics would nevertheless allow to explore how changes in key climatic variables such temperatures, CO_2 and water availability affect plant growth and development. Recently, we developed the FSPM CNW-Wheat that mechanistically simulates the co-regulation of leaf growth by C-N metabolism and water circulation through the plant in wheat. In a previous work, we demonstrated the ability of CNW-Wheat to simulate the vegetative stages of a wheat plant grown in field conditions (Acker *et al.,* in prep, Chapter 3).

The aim of the present study is : (i) to assess the ability of CNW-Wheat to simulate realistic dynamics of leaf and plant traits in response to contrasting growth conditions and, (ii) to improve our knowledge on plant functioning under climate change from simulations, in particular to investigate the (mitigating) effect of elevated CO_2 on plant response to water deficit.

II. MATERIAL AND METHODS

CNW-Wheat was previously developed and calibrated to simulate the growth of a wheat plant cultivated under usual field conditions during the early vegetative stages. In the present work, we evaluated the behaviour of CNW-Wheat in contrasting growth conditions in terms of CO_2 and soil relative water content (SRWC). This consisted in six climate scenarios that include three levels of CO_2 (400, 600 and 800 ppm) and two levels of SRWC (80 and 20%). For the purposes of this study, a number of modifications were made to the model. Briefly:

(i) Because elevated CO_2 was shown to dramatically increase the number and biomass of tillers (Sionit *et al.*, 1980; Hocking & Meyer, 1991; Nicolas *et al.*, 1993; Acker *et al.*, 2024), the number of tillers was empirically modified between the different CO_2 scenarios.

(ii) The plant was forced to remain vegetative during the simulation and produced an indeterminate number of leaves.

(iii) In order to better analyse the role of CO_2 and water availability in each scenario, specific weather conditions were applied as inputs: air/soil temperatures, incident light and air humidity followed constant diurnal patterns over the whole simulation.

(iv) A constant soil N concentration was maintained during the simulations, independently of plant N uptake, meaning that there is no upper bound to the amount of N available for plants.

(v) A simple soil compartment was implemented into the model to simulate the soil water balance based on plant water consumption and irrigation according to the scenario tested.

2.1 MODEL DESCRIPTION

2.1.1 OVERVIEW OF THE MODEL

CNW-Wheat integrates C and N metabolism and water flows at organ level and simulates leaf growth based on C and N metabolites concentrations and turgor water potential in the leaf growth zone (called *hiddenzone, hz*). The main biological processes are described at organ level and are driven by the local concentrations of metabolites and the local environmental conditions (mainly light and temperature). Light distribution within the 3D canopy is calculated with the radiative model CARIBU using the projective method (Chelle & Andrieu, 1998). Briefly, CNW-Wheat covers the processes of photosynthesis and transpiration, growth of each shoot organ in mass and dimensions and growth of the roots in mass, senescence and the fluxes of C and N within the plant (transport, synthesis/degradation, losses by respiration and root exudation). Recently, water circulation was implemented in the model based on the description of water potential gradients. In CNW-Wheat, leaf elongation is co-regulated by C-N concentrations and the turgor potential in the *hz*. Metabolites and water of the *hz* are supplied by unique compartments mimicking the *phloem* and *xylem*, respectively. The complete description of the model and its underlying hypotheses are presented in Chapter 3.

2.2.2 MODIFICATIONS RELATED TO SOIL WATER CONTENT

Initially, in order to calculate soil water potential and the associated plant water uptake, soil water potential was an input of the model (Eq. 3.1A, Chapter 3). In this study, we introduced a simple soil compartment where the variation of water balance is calculated (**Δ SWC**) as:

$$\Delta SWC = I - A \qquad \text{(Eq. 4.1)}$$

with **SWC** the soil water content (g), **I** the irrigation (g) and **A** the plant water absorption (g), defined as the sum of plant transpiration, water influx into the *hz* and water storage in mature organs (Eq. 3.1.B in Chapter 3).
The soil relative water content (**SRWC**) is updated at each time step, as a function of the Available Water Capacity (**AWC**, g), which is a model input:

$$SRWC = \frac{SWC}{AWC} * 100 \qquad \text{(Eq. 4.2)}$$

The soil water potential ($\Psi_{w,\,soil}$) is then calculated as function of **SRWC** :

$$\Psi_{w,\,soil} = -exp(-\frac{SRWC-a}{b}) \qquad \text{(Eq. 4.3)}$$

with **a** (Mpa) and **b** (dimensionless) parameters.
This modification enabled us to limit the plant water consumption to the actual soil water content on the one hand, and to assess CO_2 effect on plant water consumption in both optimal and drought water conditions on the other hand.

2.2 Virtual experiments

The model parameters (~160) were kept identical to those presented in Chapter 3, except for tillering. The production of new tillers was increased by 17.5% at 600 ppm and 35% at 800 ppm, relative to 400 ppm, in accordance with the findings of previous studies on wheat (Sionit *et al.*, 1980; Hocking & Meyer, 1991; Nicolas *et al.*, 1993; Acker *et al.*, 2024).
The model was run with an hourly time step for 2500 hours, except for the distribution of light between phytoelements, which was updated every 4 h to save computational time. This means that the absolute absorption of photosynthetically active radiation (PAR) by each organ was calculated hourly, using hourly values of incident PAR, but that the relative distribution of PAR within the 3D canopy was considered constant during a 4-h period. Each simulation runs in ~2.5 h on a personal computer. In total, the virtual experiments consisted of six scenarios. The following sections detail the environmental conditions of each and the initialization of the simulated plants.

2.2.1 Environmental conditions

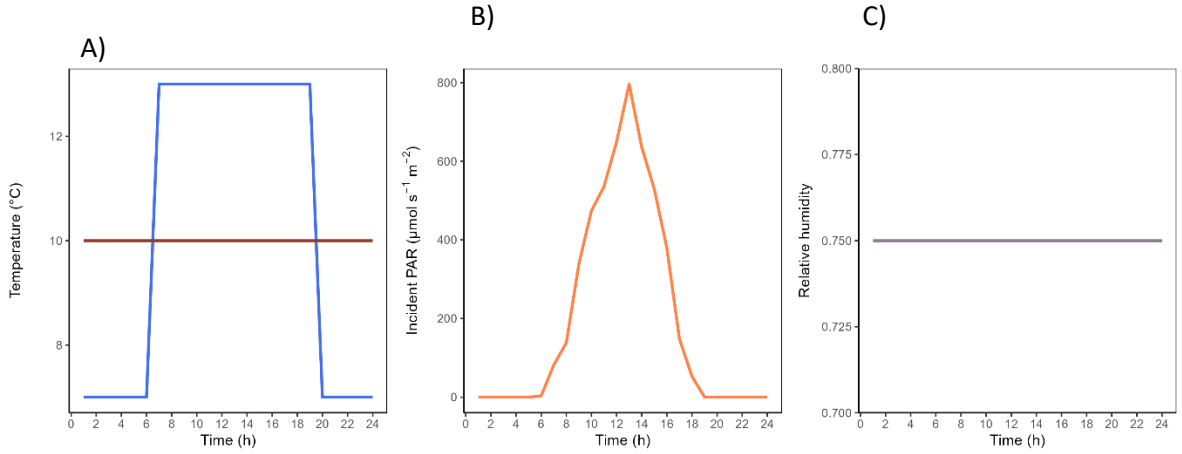


Fig. 4.1 Daily environmental conditions of the simulations. (A) Air (blue) and soil (brown) temperatures (°C). (B) Relative humidity. (C) Incident PAR (µmol m^{-2} s^{-1}).

For the sake of simplicity, the air/soil temperatures, incident light and air humidity were identical between scenarios and were following constant diurnal variations. These weather data are typical of the normal spring period in Grignon, France, (48.849°N; 1.917 °E). The day/night air temperatures were set at 13/7°C and the soil temperature was kept constant at 10°C. Incident light follows a typical sinusoidal dynamics with a 12h photoperiod and peaking at 750 µmol m^{-2} s^{-1} at midday. For comparison, PAR of 500 µmol m^{-2} s^{-1} with 12h-photoperiod and 10°C daily mean air temperature corresponds to the usual weather conditions in Grignon (France) in March. The relative humidity and wind speed at the top of the canopy were set at 75% and 3 m s^{-1}, respectively.
Three [CO_2] were simulated: 400 ppm (close to the actual level), 600 ppm (close to the SSP2-4.5 projection of the IPCC, 2023), and 800 ppm (close to the SSP3-7.0 projection of the IPCC, 2023). The NO_3^- concentration of the soil was set constant at 5 g m^{-2}, thus mimicking hydroponic and non-limiting conditions. For comparison, 8 g m^{-2} is a concentration that can be found immediately following fertilizations in a usual wheat field.

2.2.2 Model initialization

Plant density was set to 250 plants m^{-2}. During the simulation, no floral transition was simulated meaning that the tillers continuously produced new vegetative phytomers and that the internodes remained short.
The initial state of each compartment in the plant (*hz*, mature organs, roots, *phloem* and *xylem*) was defined as in Chapter 3 in terms of dimensions, masses, metabolite concentration and water status. Briefly, this initial state reflects the state of wheat plants grown in the field in Grignon at the stage of leaf 4 emergence (mid-December 1998).
With regard to the soil, the water content was initialised with SWC = 40 g and AWC = 50 g.

2.3 Model evaluation procedure

In this work, we evaluated the ability of the model to simulate the growth of a succession of leaves during the vegetative stages of wheat in response to contrasting environmental conditions. The model's performance was assessed from the experimental results presented in Chapter 2, on wheat grown at 800 ppm of CO_2. Simulations were also compared with studies from literature using data collected for various stages of development, grass species, or growth conditions.

The CO_2-induced change in each studied variable ***X*** was calculated as follows:

$$\frac{X_{elevated\ CO2} - X_{400\ ppm}}{X_{400\ ppm}} \times 100 \quad \textit{(Eq. 4.4A)}$$

and the drought-induced change in *X* was determined as follows:

$$\frac{X_{control} - X_{drought}}{X_{drought}} \times 100 \quad \textit{(Eq. 4.4B)}$$

III. RESULTS

3.1 EFFECTS OF CO_2 X DROUGHT INTERACTIONS ON PLANT DEVELOPMENT

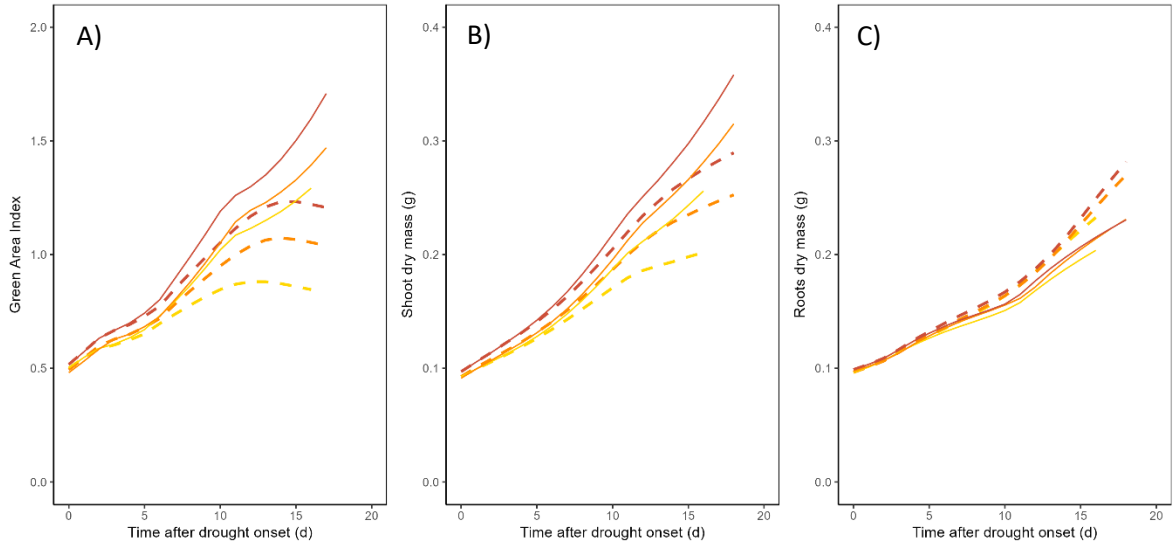


Fig. 4.2 Effects of CO_2 x drought interactions on the (A) Green Area Index (m^2 m^{-2}), (B) total dry mass of shoot (g) and (C) dry mass of roots (g).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. The Green Area Index is calculated by the sum of the green areas of the blades and sheaths. Dry mass data are daily mean per plant.

The Green Arex Index (GAI) (Fig. 4.2A) appeared to be higher with CO_2 by 14% between 600 and 400 ppm and by 32% between 800 and 400 ppm at the end of the simulation period. In drought treatments, GAI stabilised from day 11, 13 and 13 after the beginning of the stress at 400, 600 and 800 ppm of CO_2, respectively. Thereafter, a decline was observed, coinciding with the onset of senescence (data not shown). It resulted in a lower final GAI of 50%, 40% and 40% at 400, 600 and 800 ppm of CO_2, respectively, in comparison with each control treatment.

The dry mass of both shoot organs and roots increased in both water conditions (Fig. 4.2B, C). As expected, a reduction in shoot dry mass was observed under drought in comparison with control conditions (on average -30%, all treatments together). Elevated CO_2 increased the shoot dry mass, in both water treatments, with the effect becoming more pronounced as the simulation progressed. At the end of the simulation period, the shoot dry mass was found to be higher by 24% and 40% in both water treatments, at 800 and 600 ppm of CO_2, respectively, compared to 400 ppm. In contrast, the root dry mass was higher for plants subjected to the drought treatment, from day 7 onwards. Surprisingly, the simulated root dry mass was higher under drought conditions by 13%, 15% and 20% at 800, 600 and 400 ppm, respectively, in comparison to control treatments at the end of the simulation. The CO_2 effect was much lower on root biomass than in shoot : +15% between 400 and 800 ppm, in both water regimes.

3.2 Effects of CO_2 x drought interactions on plant resources acquisition

3.1.1 Water

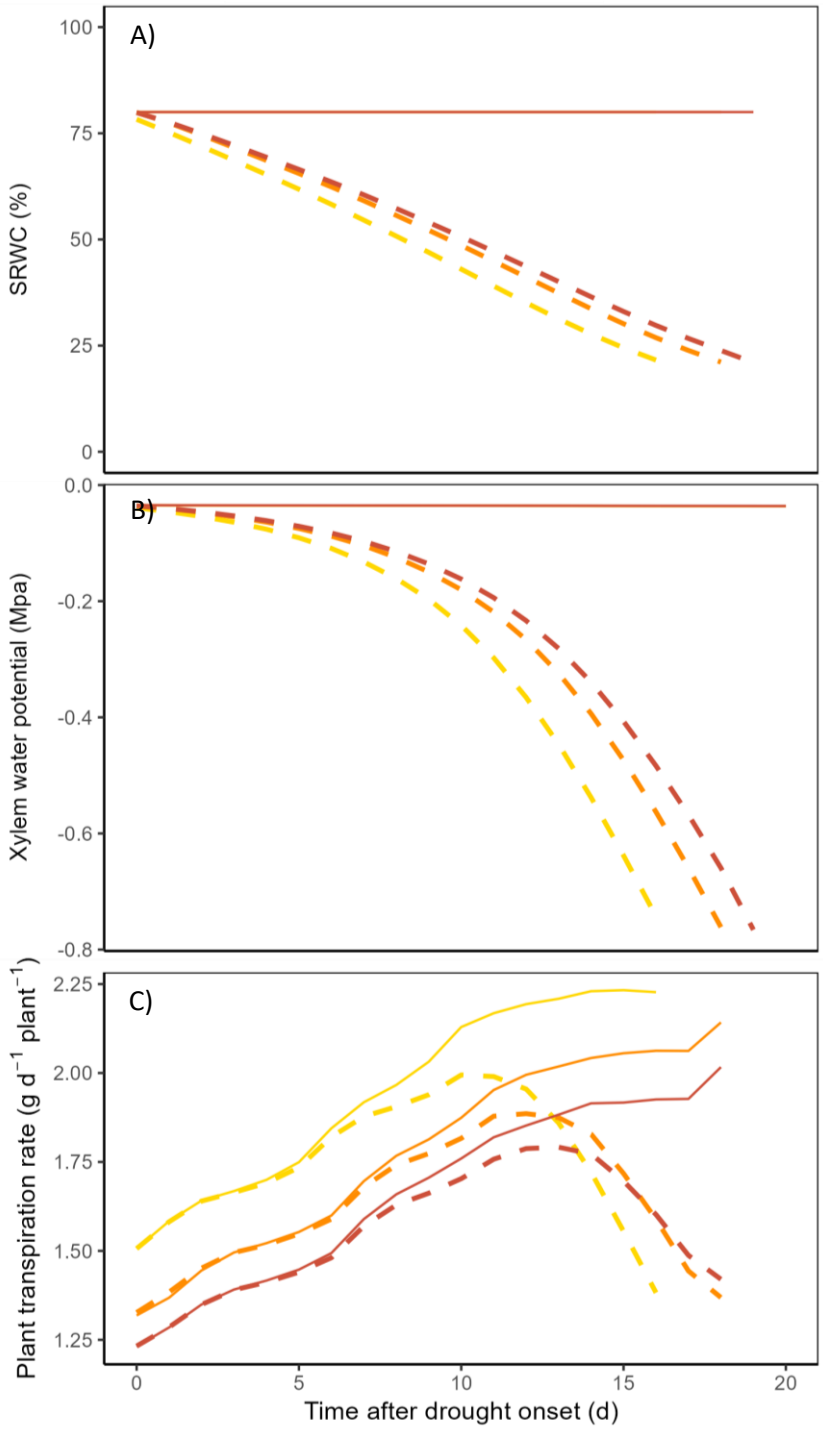


Fig. 4.3. Effects of CO_2 x drought interactions on the (A) Soil Relative Water Content (%), (B) xylem water potential (MPa) and (C) plant transpiration rate (g day^{-1}).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. Data are the daily mean per plant.

CO_2 had a large impact on the rate of water depletion from the soil and plant water status (Fig 4.3). With water depletion, the Soil Relative Water Content (SRWC, Fig. 4.3A) showed a linear decline from 80% to 20%, which was markedly reduced by CO_2. The minimal SRWC was reached after 16, 18 and 19 days after drought onset at 400, 600 and 800 ppm of CO_2, respectively.
Concurrently, the *xylem* water potential (Fig. 4.3B) underwent a slow and progressive decrease from -0.035 to -0.2 Mpa, and then dropped sharply to -0.8 MPa. As for SRWC, the decrease of *xylem* water potential was faster at low CO_2 levels, reaching the minimum value 3 and 1 days earlier at 400 and 600 ppm compared to 800 ppm, respectively.
The plant transpiration rate increased to reach 2.23, 2.14, 2.01 g at 400, 600 and 800 ppm of CO_2, respectively, corresponding to a negative CO_2 effect of -4% at 600 ppm and -10% at 800 ppm compared with 400 ppm. Under drought stress, the plant transpiration increased until day 10, 12 and 13 at 400, 600 and 800 ppm of CO_2 respectively, at which point SRWC was 40% and *xylem* water potential was -0.3Mpa. Thereafter, plant transpiration decreased, with a faster decay rate at lower than higher CO_2 concentrations. The final plant transpiration rate under drought was found to be lower by 12% at all CO_2 levels, in comparison to the respective control treatments.

3.1.2 CARBON

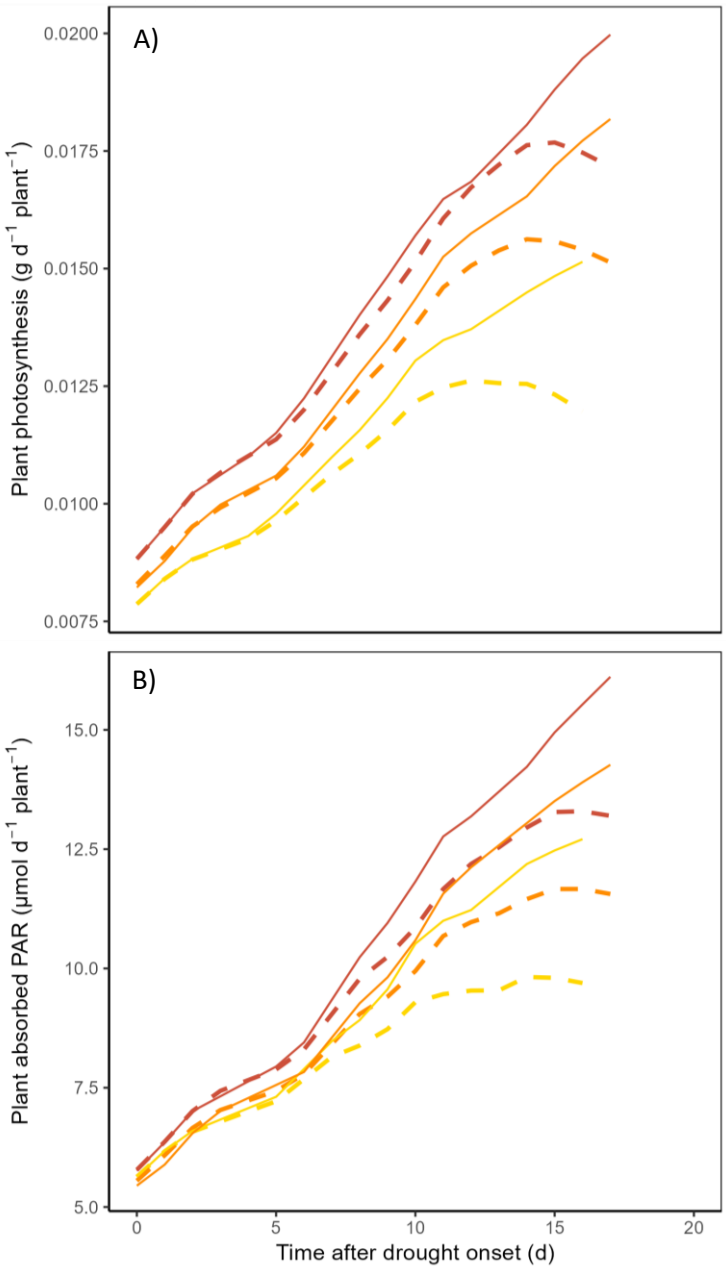


Fig. 4.4. Effects of CO_2 x drought interactions on the plant (A) total photosynthesis (g plant^{-1} d^{-1}) and (B) total absorbed PAR (µmol plant^{-1} d^{-1}).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. Data are the daily mean per plant.

Both plant photosynthesis and the amount of photosynthetically active radiation absorbed (PARa) by the plants (Fig. 4.4A,B) increased with plant development (Fig. 4.1A), for all CO_2 and water treatments. CO_2 markedly affected photosynthesis from the date of drought onset, while PARa differed slightly between 400 and 600 ppm of CO_2 until 10 days after drought onset. Despite the escalating CO_2 effect on PARa, the simulation demonstrates that CO_2 exerts a more substantial (and direct) effects on photosynthesis (+30% between 400 and 800 ppm) than PARa (+25% between 400 and 800 ppm), in respective control treatments. Under drought, both PARa and photosynthesis declined compared to the control conditions from day 7 approximately. From day 10 (at 400 ppm) to 13 (at 800 ppm) a decrease was observed. A reduction of 30%, 20%, 20% in PARa and 30%, 20%, 15% in photosynthesis was recorded in plants subjected to drought compared to the control environments, at 400, 600 and 800 ppm, respectively.

3.1.3 NITROGEN

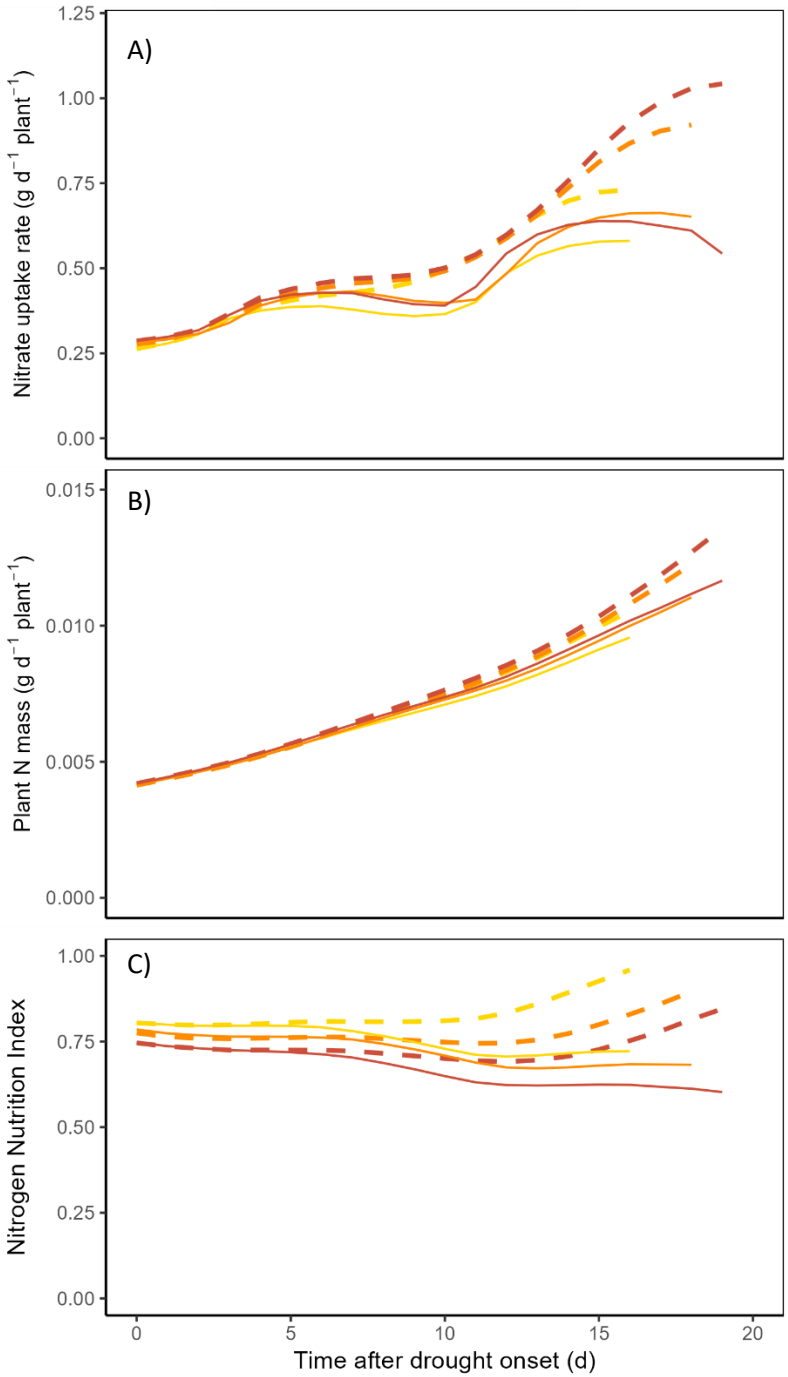


Fig. 4.5. Effects of CO_2 x drought interactions on the (A) nitrate uptake rate (g plant^{-1} d^{-1}), (B) N mass (g plant^{-1} d^{-1}) and (C) Nitrogen Nutrition Index.

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. NNI is defined as the ratio between the total nitrogen concentration measured and the critical nitrogen concentration corresponding to the amount of shoot dry matter produced (Justes et al., 1994). Data are the daily mean per plant.

Overall, the nitrogen status in drought conditions was found to be higher than those of control plants (Fig. 4.5).
Nitrate uptake by roots (Fig. 4.5A) increased over the course of the simulation and showed marked cyclic oscillations, which were coordinated with leaf ligulation **[Supplementary Data Fig. S.4.2]** as reported by Gauthier et al. (2021). The impact of drought was shown from day 8 and nitrate uptake was higher by 20%, 30% and 40%, at 400, 600 and 800 ppm, respectively, compared to control treatments. A slight CO_2 effect was observed in control treatments, exhibiting unclear trends across the three levels. From day 13 onwards, the impact of CO_2 on nitrate uptake was observed, resulting in a stronger effect than in control plants, with an increase of 40% between 200 and 800 ppm.
The total plant N mass (Fig. 4.5B) was slightly increased by CO_2, in both watered regimes. From day 8, N mass was higher under drought compared to control treatments, but to a lesser extent than for nitrate uptake to roots (~10% for all CO_2 levels).
The nitrogen nutrition index (NNI) slightly decreased in control treatments, while increasing under drought (Fig. 4.5C), with a difference between both water regimes by 25%. Conversely, the nitrogen nutrition index (NNI) was affected by CO_2 from the drought onset, in both water conditions, with NNI being observed to be lower at elevated CO_2 levels (by -7% and -12% at 600 and 800, respectively). CO_2 effect remained constant under control treatments.

3.3 Effect of CO_2 x drought interaction on main stem growth

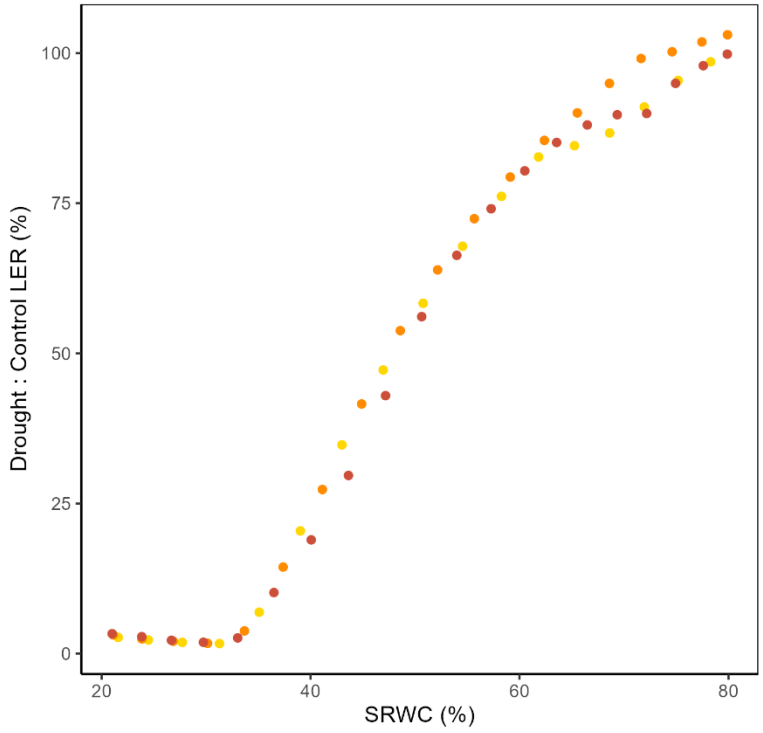


Fig. 4.6 Relation between SRWC and the ratio of LER between plants subjected to drought and those that remained at SRWC=80%. LER was calculated for the whole main stem, summing the elongation of each leaf.
Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red.

At the end of the simulation, the leaves 3, 4 and 5 had attained full maturity while leaf 6 was close to the end of its elongation phase and leaf 7 had reached its maximum level of LER (data not shown). The ratio of the total Leaf Elongation Rate (LER) per tiller between the drought and control treatments, showed a sigmoidal pattern, increasing with SRWC (Fig. 4.6B). The ratio of LER slightly declined

between 60 and 80% of SRWC. The minimal ratio of LER (3.3%) was reached at 35% of SRWC and remained stable until 20%. The relationship between LER and SRWC was not significantly affected by CO_2.

3.4 Effect of CO_2 x drought interaction on leaf elongation : the case of the growing leaf 6

The effect of CO_2-drought interactions at leaf scale is illustrated for leaf 6, which was growing during the entire period that was simulated (in the respective control treatments) and emerged at day 5 after the drought onset.

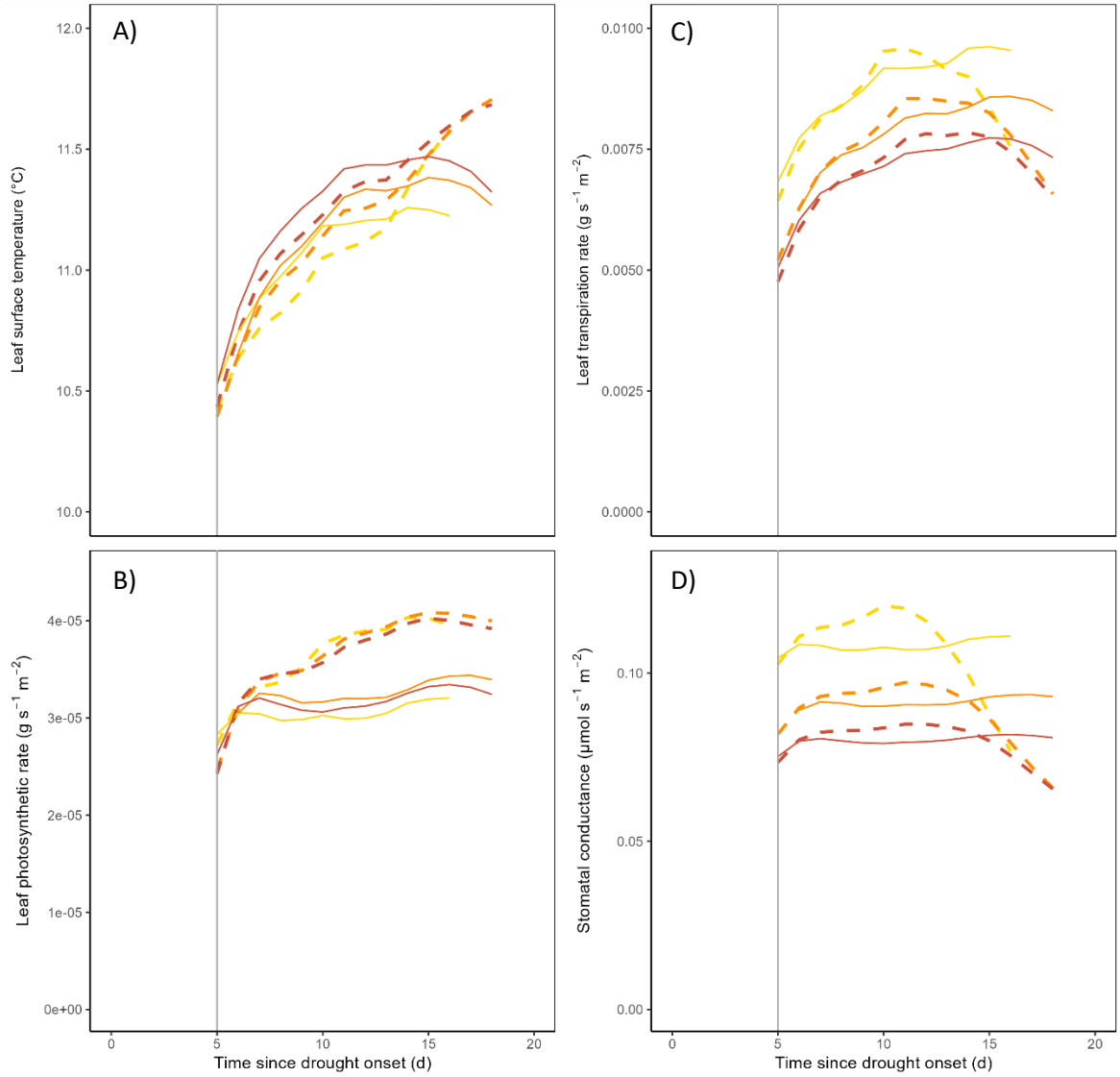


Fig. 4.7 State of blade of leaf 6 during drought. (A) Leaf surface temperature (°C). (B) Leaf photosynthetic rate (g m^{-2} s^{-1}). (C) Leaf transpiration rate (g m^{-2} s^{-1}). (D) Stomatal conductance (µmol m^{-2} s^{-1}).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The vertical grey line represents the blade emergence date. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. Data are the daily mean of the leaf.

At the leaf surface, the temperature (Fig. 4.7A) increased from blade emergence as the exposition of the blade to light increased. The leaf temperature surface was higher at 800 than 600 than 400 ppm of CO_2 in each control treatment. From day 13 onwards, the temperature surface continued to increase and was finally higher in drought than control treatments, while it stabilised in control treatments. During the final three days of the simulation, the temperature remained similar between CO_2 levels in drought conditions.
The surfacic leaf photosynthetic rate (An, Fig. 4.7B) increased under drought treatment, stimulated by higher leaf nitrogen amounts (surfacic leaf nitrogen, SLN **[Supplementary Data Fig. S.4.3]**). An was not affected by CO_2, due to the deterioration of the nitrogen content at elevated CO_2.
The leaf transpiration rate (Fig. 4.7C) and the stomatal conductance (gs_w, Fig. 4.7D) exhibited a similar trend in response to both CO_2 and drought. In contrast to leaf temperature, transpiration rate and stomatal conductance were lower with CO_2 (by 25% and 20% between 800 and 400 ppm and by 10% and 15% between 600 and 400 ppm, on average, respectively), under control treatments. gs_w decreased from day 8 by 45%, 25% and 25% and transpiration by 20%, 20% and 15% at 800, 600 and 400 ppm of CO_2, respectively, in drought treatments. The increase of gs_w under drought treatment in the initial phase of the simulation, was probably related to the increase of An and nitrogen (Fig. 4.7B) and then the decrease in *xylem* potential finally decreased gs_w.

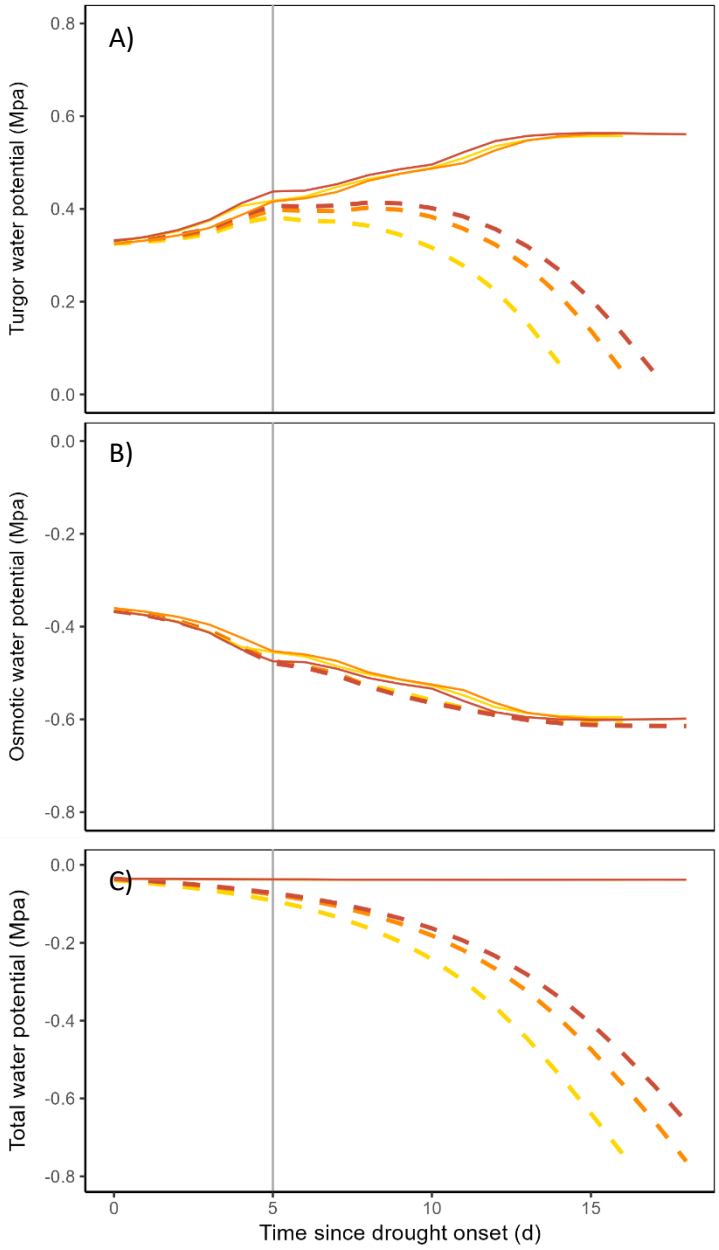


Fig. 4.8 Water status of growth zone of leaf 6 during drought. (A) Turgor water potential (MPa). (B) Osmotic water potential (MPa). (C) Total water potential (MPa).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The vertical grey line represents the blade emergence date. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. Data are the daily mean of the leaf.

In control treatments, the turgor water potential of the growth zone of leaf 6 (Fig. 4.8A) increased from 0.32 to 0.56 Mpa, symmetrically corresponding to the decrease from -0.36 to -0.6 Mpa of the osmotic water potential (Fig. 4.8B), resulting in a stable total water potential (Fig. 4.8C) over the simulation. CO_2 did not have a significant impact on any of the potentials. During the drought, a decline in turgor and water potentials was observed, with a shift from 0.4 to 0 Mpa and from -0.035 to -0.75 Mpa, respectively. The rate of decrease was found to be greater at 400 than at 600 than at 800 ppm of CO_2. The osmotic water potential was found to be unaffected by drought (nor by CO_2), due to the osmoregulation function implemented that buffered the drop of the potential with solute accumulation (see Chapter 3).

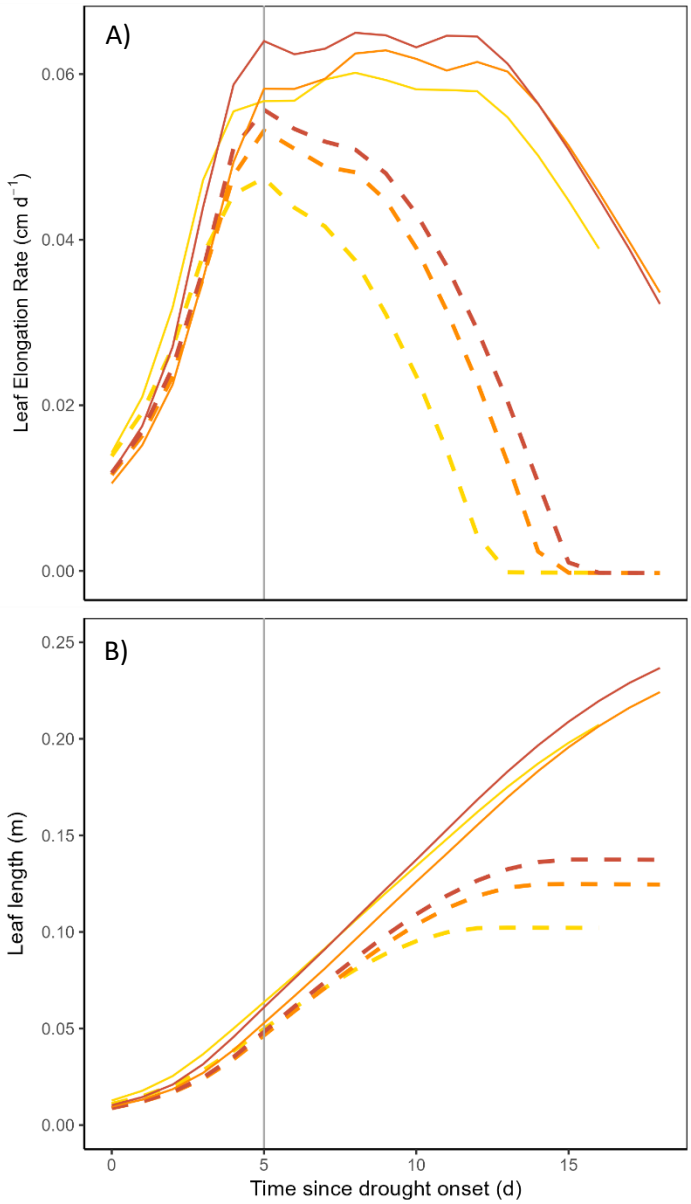


Fig. 4.9 Elongation of leaf 6 during drought. (A) Leaf elongation rate (cm day^{-1}). (B) Leaf length (m).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The vertical grey line represents the blade emergence date. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. The leaf elongationrRate is the daily mean and the leaf length is the maximum.

In control treatments, the leaf elongation rate (Fig. 4.9A) followed a typical bell-shaped curve, reaching its maximum at day 5 (blade emergence). The maximum LER was observed to be lower in drought treatments, with a more rapid decrease and reaching 0 before the end of the simulation, while the leaf was still growing in control treatments. In both water conditions, LER was found to be higher at 600 and 800 ppm of CO_2 than at 400 ppm from blade emergence. This resulted in a greater leaf length for plants subjected to control than drought treatments and those grown at elevated CO_2 (Fig. 4.9B).

IV. DISCUSSION

4.1 CNW-WHEAT ABILITY TO SIMULATE PLANT RESPONSE TO DROUGHT

Following the integration of water circulation within the plant into the model (see Chapter 3), the ability of CNW-Wheat to simulate the response of the plant to a severe drought (from 80% to 20% of soil relative water content, SRWC) has been assessed in this work.

The model successfully captured the main responses at the plant, leaf and growth zone scales. Overall, drought triggered a decrease of the *xylem* water potential, and consequently of the water potential of all plant organs. In turn, the model simulated a stomatal closure, thereby reducing the rate of transpiration. The reduction of the *xylem* water potential also lowered the water potential of the *hiddenzone* compartments belonging to the growing leaves. As a consequence, the leaf elongation rate declined, resulting in a reduction in the area of the leaves. The decline in interception area, led to a decline in the plant assimilation. As the leaves underwent senescence, both the shoot leaf surface area and the dry mass decreased. These impacts have been well documented on wheat and Poaceae, with comparable order of magnitude of the impact (Hsiao, 1973), proving that CNW-Wheat was able to encompass the whole plan response to drought. The LER of the whole tiller decreased as a function of SRWC, and growth cessation was observed from 35% of SRWC. In the experimental work (see Chapter 2, Acker *et al.*, 2024), the decrease of LER was observed around 20% of SRWC. The difference may arise from the estimation of SRWC, which included a degree of uncertainty.

The model also simulated an increase of nitrogen content in response to drought, which is not consistent with previous studies. It has repeatedly been observed that soil water deficit alters crop nitrogen (N) nutrition, even if mineral N is fully available in the soil, leading to a lower shoot N concentration, a lower crop N status, and therefore to crop N deficiency (Onillon *et al.*, 1995; Gonzalez-Dugo *et al.*, 2005, 2010, 2012). In our model, the increase of N content resulted from an increase in nitrate uptake which was due to a strong root development during the water stress. A decrease in the shoot:root ratio is commonly reported in studies on drought, largely due to a stronger effect of water deficit on shoot growth than on root growth (Sharp *et al.*, 1988; Durand *et al.*, 1989; Saab *et al.*, 1990; Engels *et al.*, 1994). In some cases, the root system may even continue to expand at very low water potential, whereas aboveground growth is completely halted (Wu *et al.*, 1996). The roots development allows the plant to explore deeper soil horizons (Ho *et al.*, 2005; Schenk & Jackson, 2005; Lopes & Reynolds, 2010; Comas *et al.*, 2013) and therefore to draw water. It has also been reported that roots development is associated with the carbon accumulation by the plant, due to the growth cessation of leaf under drought conditions (De Souza & Da Silv, 1987; Leport *et al.*, 1999; Jiang & Huang, 2001). Despite these relative effects on shoot-root allometry, a higher root biomass (in absolute) under drought compared to well-watered conditions as simulated by CNW-Wheat is not consistent. Notwithstanding the emphasis of the present study on leaf elongation, these results indicate that a supplementary function needs to be introduced in the model. For instance, it would be interesting to implement a hydraulic regulation of root growth, in order to limit root development at low potentials and hence N uptake. The implementation of a sigmoidal function, based on the *xylem* water potential, as in the initial phase of leaf elongation (see Chapter 3), could be considered in the calculation of root growth, with the objective of constraining their expansion beyond a designated threshold value, and therefore plant N uptake. Another idea would be to link water and nitrate uptake, which remained independent in our model. Indeed, as N is dissolved in the soil solution, N uptake clearly depends on water flows from the soil to the root system (Keller, 2005). Several studies showed that a reduction in plant water uptake may limit N uptake (Nicolas *et al.*, 1985; Larsson, 1992; Buljovcic & Engels, 2001). Besides, nitrogen content in leaves was also high under drought, which increased the surfacic photosynthetic rate and stomatal conductance during the initial phase (see the sub-model of photosynthesis described in Barillot *et al.*, 2016a).

The present study focused on the assessment of the response of leaf growth to a single drought event. Further use of the model will involve alternating phases of drought and rehydration. However, new

formalisms would need to be implemented. In fact, in the current model a severe and long drought will stop the growth of still hidden leaves in the pseudostem, thereby stopping the subsequent emergence of leaves even after rehydration if the period of leaf extension is passed. This is related to the extensibility function of the hydraulic model, which is a function of the physiological age of the leaf. Currently this physiological age is only modulated by leaf temperature. Therefore the extensibility would progress during drought while the leaf is not growing. An introduction of a water status dependency into the physiological age, in addition to the temperature effect, could allow to simulate growth resumption following an episode of severe water stress. For instance, Coussement *et al.* (2021) introduced the concept of turgor-time, to normalize growth patterns in terms of varying water availability, similar to how thermal time is used to do so under varying temperatures.

4.2 CNW-Wheat ability to simulate plante response to CO_2

Overall, the impacts of CO_2 were also well captured by CNW-Wheat. First, an elevated CO_2 concentration resulted in a decline in stomatal conductance, consequently reducing the surfacic rate of leaf transpiration. These results are in line with many studies on wheat (Tyree & Alexander, 1993; Bunce, 2000). Similarly, the total plant transpiration rate was reduced at elevated CO_2 levels, although this effect was not observed in Acker *et al.* (2024). Another important component of plant transpiration with stomatal conductance is total leaf area, which is strongly dependent on tillering in grasses. It was observed by Sionit *et al.* (1981), Hocking & Meyer (1991), Nicolas *et al.* (1993) and Acker *et al.* (2024), that CO_2 has a strong positive impact on tillering. In the present simulations the green area of tillers **[Supplementary Data Fig. S4.1]** 10 days after drought onset exhibited a modest variation between the different CO_2 levels (+2% at 800 ppm), which is likely to be the cause of the lower simulated plant transpiration in comparison with the observations of similar transpiration between 200 and 800 ppm due to strong tillering enhancement in Acker *et al.* (2024).

Simulated LER and final leaf length were increased by CO_2. A comparable trend was identified in Acker *et al.* (2024) for tall fescue and ryegrass, yet this was not observed in wheat likely due to the unresponsive stomatal conductance to CO_2. The precise mechanisms underlying these observations remain to be elucidated. Since the levels of CO_2 did not have a significant impact on the osmotic water potential, it is unlikely that the accumulation of solutes was the driving force behind the faster LER. The minor rise in leaf temperature (~0.2°C) resulting from elevated CO_2 cannot be responsible for the increase in LER. However, the elevated CO_2-induced increase in leaf temperature is consistent with previous observations that showed that the decrease in gs increases leaf temperature due to a reduced cooling by transpiration (Leakey *et al.*, 2009). Around 1.5°C of temperature differences between ambient and elevated [CO_2]-grown plants were observed in well-watered treatments of sorghum during summer and autumn in Arizona (Triggs *et al.*, 2004).

The present results showed that CO_2 only slightly increased root growth. Nevertheless, larger effects have been documented in the literature. For instance, Wechsung *et al.* (1999) reported a 37% increase in root biomass in a FACE experiment on wheat grown at 530 ppm for 5 months. In the present study, tillering was parameterised in relation to the increase in CO_2, but only for the shoot part. Nevertheless, it has been demonstrated that tiller emergence is coordinated with the production of new roots (Klepper *et al.*, 1983). Consequently, further developments would be needed in CNW-Wheat to define root growth in coordination of tiller production (which will therefore integrate the effects of CO_2 on root growth).

Although the simulated NNI were a little low, due to inconsistent root growth, the NNI also appeared to decrease with CO_2. The lower NNI at elevated CO_2 mainly resulted from a dilution effect due to the large positive impact of CO_2 on shoot development (largely observed on wheat *e.g.* Hocking & Meyer, 1991; McKEE & Woodward, 1994; Rogers *et al.*, 1996). The underestimated impact of elevated CO_2 on root growth resulted in reduced surface leaf nitrogen **[Supplementary Data Fig. S4.2]**. This, in turn, offset the positive effect of CO_2 on photosynthesis. While CO_2 stimulated on overall the plant photosynthesis, the extent may be minimized.

4.3 Exploration of CO_2 x drought interactions on plant functioning using CNW-Wheat

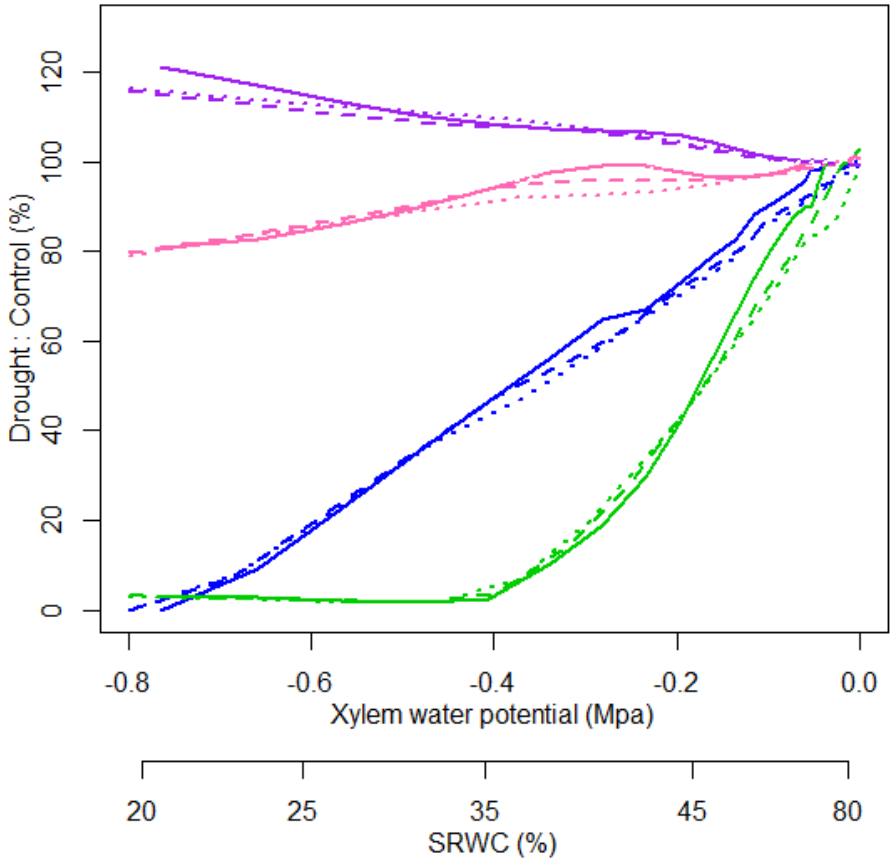


Fig. 4.10 Ratio between plants subjected to drought and those of the control scenario for plant photosynthesis in pink, shoot N content in purple, growth zone turgor potential in blue, and leaf elongation rate per tiller in green as function of the xylem water potential (Mpa) and SRWC (%). *Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented by dotted lines, at 600 ppm of CO_2 by dashed lines and at 800 ppm of CO_2 by solid lines. Data are daily mean.*

In addition to the impact of CO_2 alone, the model also allows us to decipher the effects of CO_2 and drought on plant functioning. To account for the effects of the three drivers of leaf elongation considered in the model - carbon, nitrogen and water - the ratio between drought and control treatments are represented in Figure 4.10 for plant photosynthesis, shoot N content, growth zone (*hz*) turgor potential and leaf elongation rate per tiller, as function of the xylem water potential.

A strong contrast was observed in the sensitivity of each variable to drought. The most impacted variable by the decrease of xylem water potential (induced by the decrease in SRWC) was observed on the LER of the tiller, which decreased sharply to reach 0 between -0.8 and -0.4 MPa. Plant photosynthesis remained relatively stable until the xylem water potential reached -0.4 MPa and subsequently displayed a progressive decline, reaching 80% of the photosynthesis of control plants at -0.8 MPa. In contrast, turgor water potential demonstrated a dramatic decrease, reaching 0 at -0.8 Mpa. Conversely, for the reasons mentioned earlier, the ratio of N content in the shoot part increased as xylem water potential decreased, reaching 125% of the control plants at -0.8 MPa. In the end, the present simulations showed that the decrease of leaf elongation in response to drought is strongly related to the drop of turgor pressure in the leaf growth zone, while photosynthesis and N content

appeared non-limiting during the severe drought event that was simulated. The impact of CO_2 on these responses was limited, with the noticeable exception of its effect on soil desiccation. The decline of turgor and water potentials during drought was accelerated under low CO_2 conditions, due to the faster decrease of the xylem water potential. The minimal values of 0 and -0.75 Mpa, respectively, were reached at 20% of SRWC whatever the CO_2 treatments, as reported in Acker *et al.* (2024). Finally, a sigmoidal relationship between the LER of the tiller and SRWC emerged from the different hydraulic and trophic regulations implemented in the model. This relation was unaltered by CO_2, similarly to the experimental observations of Acker *et al.* (2024).

V. CONCLUSION

The effects of CO_2 and drought are multiple, not uniform throughout plant development and vary according to the intensity and duration of the stress, making it even more challenging to understand the interactions between the factors. The model CNW-Wheat has demonstrated its capacity to investigate the plant response in a wide range of CO_2 and water availibility and to identify the underlying mechanisms. The intricate interactions between leaf growth and carbon, nitrogen and water, are well represented. Consequently, CNW-Wheat facilitates the exploration of plant function and the acquisition of knowledge that is not readily obtainable through conventional experimentation due to its extensive spatial and temporal scope.

The effects of CO_2 on wheat also depend on weather conditions, *e.g.* temperature (Long, 1991; Morison & Lawlor, 1999). To enhance comprehension of the consequences of climate change on leaf growth, simulations involving variations in CO_2 levels, water availability, and temperature, as predicted by scenarios of IPCC (2023), are imperative. Given the temperature-dependent mechanisms inherent in the model, additional calibration procedures may be necessary.

VI. SUPPLEMENTARY DATA

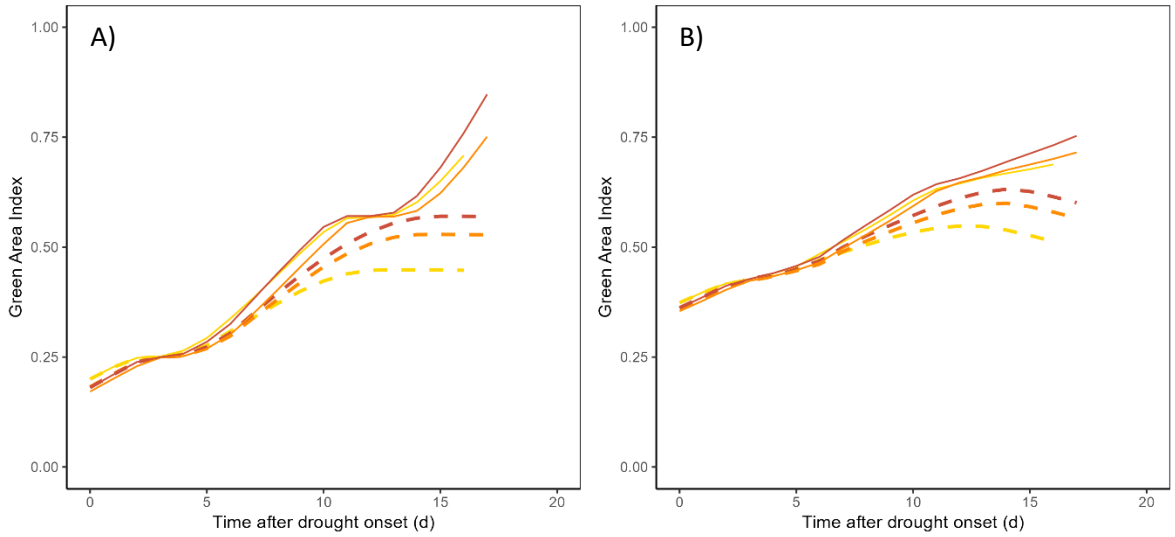


Fig. S4.1 Green Area Index (m^2 m^{-2}) of (A) other tillers and (B) main stem.

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. Data are daily mean.

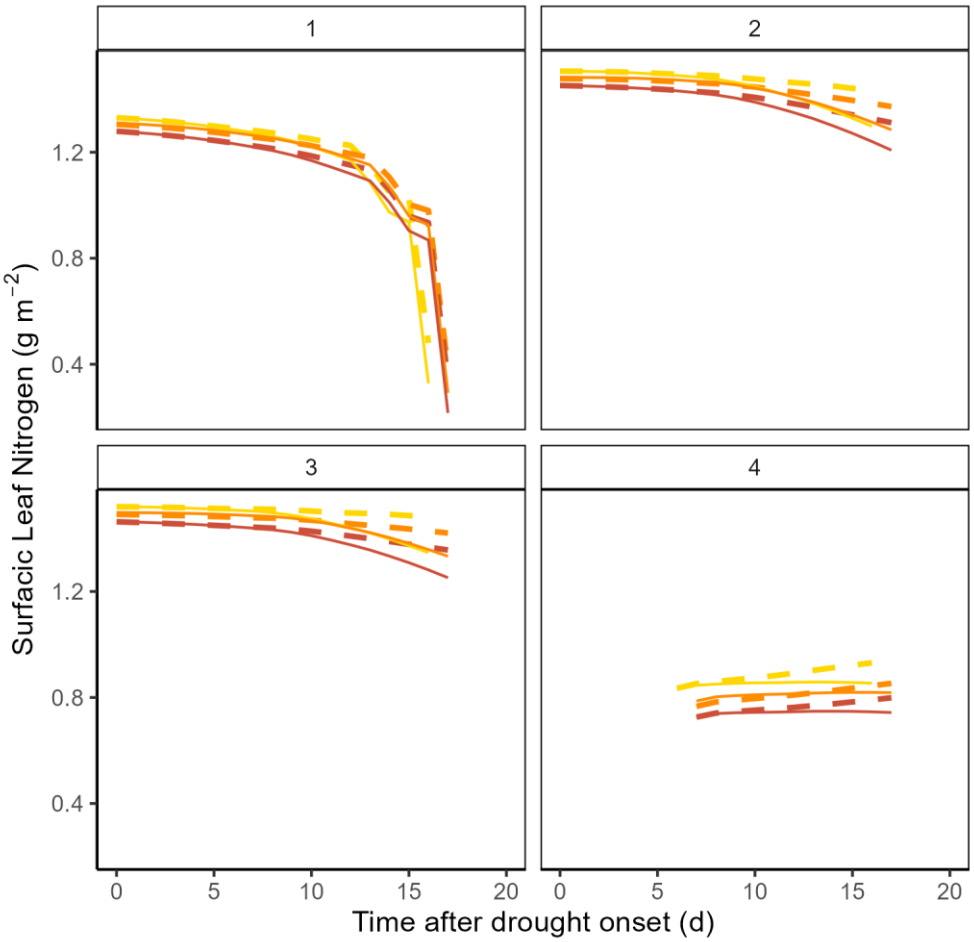


Fig. S4.2 Surfacic leaf nitrogen (g m^{-2}).

Plants grown at 400 ppm of CO_2 are represented in yellow, at 600 ppm of CO_2 in orange, and at 800 ppm of CO_2 in red. The data in dashed lines refers to the plants subjected to a drought until SRWC = 20% and the solid line to the control scenario with a SRWC = 80%. The number above each panel refers to the leaf rank.

RESUME DU CHAPITRE 4

INTERET ET POSITION DU CHAPITRE DANS LA THESE

Le dernier chapitre de la thèse a permis d'évaluer le modèle CNW-Wheat développé dans le Chapitre 3, sur sa capacité à simuler la réponse de la croissance foliaire dans de larges gammes de [CO_2] et disponibilité en eau.

CONTEXTE

Le changement climatique implique de fortes variations de [CO_2] et disponibilité en eau du sol, qui sont les facteurs majeurs de la régulation de la croissance foliaire chez les Poaceae.
Les effets de ces variations individuelles sont relativement bien renseignés. L'accroissement de [CO_2] stimule l'activité photosynthétique d'une part, et induit une fermeture des stomates et donc une réduction de la transpiration d'autre part. Il en résulte une augmentation de la surface foliaire, conduisant alors à une transpiration totale de la plante plus importante. En condition de sécheresse, les effets positifs du CO_2 sur la croissance foliaire pourraient être annulés. Une disponibilité réduite en eau du sol limite l'absorption d'eau par les plantes d'une part, et peut également restreindre l'absorption des nutriments par les racines et leur transport vers les parties aériennes d'autre part.
A l'avenir, les plantes seront exposées à ces multiples changements environnementaux qui surviendront simultanément. Pour étudier les interactions complexes entre ces facteurs du climat et la réponse des plantes, nous utilisons le modèle CNW-Wheat.

QUESTIONS DE RECHERCHES

L'objectif de cette dernière partie est de :
(i) simuler la réponse des plantes aux conditions de croissance à partir du modèle nouveau FSPM CNW-Wheat qui intègre une co-régulation trophique et hydrique de la croissance foliaire ; et
(ii) évaluer la capacité du modèle à simuler la croissance foliaire dans des conditions contrastées de CO_2 et disponibilité en eau.

M&M

Le nouveau FSPM CNW-Wheat permet de simuler le fonctionnement de plante de blé en intégrant le métabolisme C-N et les flux d'eau à l'échelle des organes. La croissance des feuilles est co-régulée par la teneur en C-N de la zone de croissance (*hz*) et par la turgescence. Dans le cadre de cette étude, un compartiment sol a été intégré au modèle présenté au Chapitre 3, pour simuler le bilan hydrique du sol en fonction de la consommation d'eau des plantes et de l'irrigation selon le scénario testé.
Une expérimentation virtuelle a été réalisée dans des conditions contrastées de [CO_2] (400, 600 et 800 ppm) et teneur en eau relative du sol (SRWC, 80 et 20%).
Les simulations ont été comparées au comportement du blé tel que rapporté par la littérature et observé dans l'expérimentation en conditions contrôlées du Chapitre 2.

RESULTATS PRINCIPAUX

Nous avons montré qu'une même calibration du modèle permettait de simuler de façon réaliste l'acquisition des ressources C, N et eau à l'échelle de la plante, dont résulte les vitesses d'allongement et la taille finale des organes, dans des conditions de croissance contrastées en CO_2 et SRWC. Les relations émergentes du modèle entre LER et sécheresses sont peu affectées par le CO_2.

CNW-Wheat permet d'identifier et de classifier les mécanismes de réponse aux interactions CO_2 x sécheresse, difficiles d'accès par l'expérimentation en raison de leur dépendance au stade de développement de la plante et à l'intensité du stress.

APPORTS POUR LA THESE ET LA RECHERCHE EN GENERAL

Ce travail a permis d'appliquer le nouveau modèle CNW-Wheat dans cette thèse et de tester sa capacité à rendre compte des effets du changement climatique sur la croissance foliaire des Poaceae. En conclusion, ce travail nous montre l'utilité de cet outil, qui peut constituer une approche pour identifier des traits d'adaptation des plantes aux conditions futures.

DISCUSSION GENERALE

Au cours de ce chapitre, un rappel des objectifs de l'étude et de la stratégie scientifique est présenté. Puis, la pertinence des résultats obtenus est discutée. Enfin, les perspectives offertes par le modèle concluent cette étude.

I. RAPPEL DES OBJECTIFS DE LA THESE ET LA STRATEGIE SCIENTIFIQUE ADOPTEE

CONTEXTE

Pour comprendre l'impact des conditions de croissance sur la réponse des plantes, il est nécessaire d'intégrer les effets simultanés d'un grand nombre de facteurs sur un ensemble de mécanismes et de processus sous-jacents.
La modélisation mécaniste individu-centrée a été sélectionnée comme approche conceptuelle car elle permet de synthétiser les connaissances et d'identifier les lacunes pour faciliter la compréhension du fonctionnement d'un système complexe, ainsi que de tester des scénarios prospectifs pour caractériser et optimiser la croissance des plantes dans une large gamme d'environnements.
Des expérimentations en conditions contrôlées et virtuelles (simulations) ont été mobilisées et développées pour répondre à la problématique.

HYPOTHESE SCIENTIFIQUE TESTEE

La thèse soutenue est qu'un modèle intégrant une représentation mécaniste du métabolisme CN et des dynamiques hydriques de la plante à l'échelle d'une talle, permet d'améliorer la compréhension de la réponse de la croissance foliaire des Poaceae aux conditions environnementales et en particulier au changement climatique. Deux hypothèses de modélisation ont été définies : (i) un xylème unique à l'échelle de la plante permet de rendre compte des flux d'eau entre les différents organes aériens et souterrains, et (ii) les concentrations en métabolites carbonés et azotés ainsi que les relations hydriques dans les zones de croissance pilotent la vitesse d'allongement.

APPROCHE DE L'ETUDE

Nous avons développé un modèle structure-fonction du blé pour les stades végétatifs dans le but d'intégrer, à l'échelle de l'organe, les interactions entre le métabolisme C-N, les flux d'eau et la croissance.
Ce modèle est une extension du modèle CN-Wheat développé précédemment à cette étude pour simuler le métabolisme du carbone et de l'azote dans la plante durant le remplissage des grains (stades post-floraison) puis pour simuler la régulation trophique de la croissance (stades pré-floraison).
Dans le cadre de cette étude, nous avons défini, implémenté et calibré les formalismes décrivant la croissance des feuilles.

Étape 1 : Identifier les principaux mécanismes affectés par le CO_2 et la disponibilité en eau et leurs conséquences sur la croissance foliaire

L'approche de modélisation nous a amenés à identifier des lacunes dans les connaissances d'écophysiologie, notamment concernant (i) l'effet du CO_2 sur la consommation en eau des plantes, et (ii) la diversité des comportements entre espèces. Dans ce cadre, une expérimentation en conditions contrôlées a été conduite (Chapitre 2). Cette première étude a permis d'appréhender les réponses de la croissance à la disponibilité en eau dans deux niveaux de CO_2 extrêmes.

Les connaissances acquises avec l'expérimentation en conditions contrôlées ont par la suite permis d'évaluer le modèle CNW-Wheat (construit au Chapitre 3), dans une large gamme de CO_2 et disponibilité en eau du sol (Chapitre 4).

Étape 2 : Intégrer la circulation de l'eau et les interactions entre métabolisme, turgescence et croissance dans le modèle

Sur la base des connaissances préalablement établies dans la littérature, un nouveau module de croissance foliaire a été développé dans CN-Wheat, aboutissant ainsi au modèle CNW-Wheat (Chapitre 3). Ce dernier intègre désormais les flux d'eau dans la plante et simule la croissance foliaire comme co-régulée par les dynamiques trophiques et hydriques des zones de croissance.
La démarche méthodologique de ce travail comporte une étape de calibration des paramètres du modèle et d'évaluation de ses performances dans des conditions usuelles au champ. A cette fin, les simulations ont été comparées à un ensemble de données issu d'expérimentations préalables, ainsi qu'aux résultats de simulation de la version antérieure de CN-Wheat (Gauthier *et al.*, 2020) et au comportement des Poaceae tel que rapporté dans la littérature.

Étape 3 : Étudier la réponse de la croissance au changement climatique

L'étude des effets simultanés d'une augmentation du CO_2 et des sécheresses (tels que prédit par les scénarios du changement climatique) sur la croissance foliaire a été effectuée à partir d'expérimentations virtuelles menées avec CNW-Wheat (Chapitre 4). Ce dernier volet de travail a permis de valider les performances du modèle dans une large gamme de conditions environnementales.

Finalement, ce travail de thèse a produit des connaissances nouvelles par des expérimentations en conditions contrôlées (quantifier les lois de réponses des plantes) et virtuelles (pour mieux comprendre le fonctionnement des plantes en interaction avec leur environnement).
La thèse a abouti à la création d'un outil permettant à l'avenir d'étudier la croissance des Poaceae dans des conditions futures et d'aider à identifier les traits d'adaptation des plantes à ces changements climatiques.

II. PRINCIPAUX RESULTATS DE L'ETUDE

2.1 LE MODELE REPOND AUX OBJECTIFS FIXES

CNW-Wheat est un FSPM simulant le fonctionnement de la plante entière selon l'environnement local de chaque organe : rayonnement, température et statut hydrique à présent. Il s'agit du FSPM le plus avancé dans la prise en compte mécaniste des interactions entre l'architecture aérienne et son environnement car il intègre les dynamiques trophiques et hydriques ainsi que leurs interactions avec la croissance, et il permet de simuler la réponse des plantes aux variations de CO_2 et de ressource en eau dans le cadre du changement climatique. Ces deux aspects sont discutés dans la suite du document.

2.1.1 PRENDRE EN COMPTE LES INTERACTIONS TROPHIQUES ET HYDRIQUES REGULANT LA CROISSANCE FOLIAIRE DANS LES MODELES

Les interactions entre le métabolisme carboné et azoté et les flux d'eau sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques de la plante, qui sont représentés dans le modèle. La conductance stomatique régule la photosynthèse et la transpiration à l'échelle de la feuille. Ces processus influencent les importations d'assimilats et d'eau dans la zone de croissance. Ces flux, à leur tour,

impactent l'osmorégulation de la zone de croissance. Ainsi des rétroactions complexes s'établissent entre les flux de carbone, d'azote et d'eau à l'échelle de la plante.
A l'échelle d'une feuille en croissance, les concentrations en métabolites C et N et les dynamiques hydriques des zones de croissance régulent la vitesse d'allongement. La cinétique d'allongement en deux phases permet de rendre compte de ce couplage trophique-hydrique à tous les stades de développement de la feuille. La première phase exponentielle, qui englobe la mise en place des zones de division et d'allongement cellulaire, rend compte de la forte régulation trophique, notamment azotée, dans ces stades et intègre une régulation par le potentiel hydrique du xylème. Malgré la difficulté d'observer directement ces processus au sein des primordia foliaires en raison de leur petite taille lors de l'initiation de la feuille et de leur emplacement (Dale, 1985), des recherches ont établi que le dépôt de sucres et d'eau est concomitant dans la zone de croissance (Schnyder & Nelson, 1987). En conséquence, ces deux flux sont étroitement liés dès les premiers stades de développement et il semble donc peu probable que la co-régulation trophique et hydrique ne soit pas significative tout au long de l'allongement de la feuille. La deuxième phase d'allongement est pilotée par les formalismes de Lockhart (1965) et Ortega (1985), tels que couplés par Coussement *et al.* (2018). Un couplage entre les dynamiques trophiques et hydriques a également été intégré par l'intermédiaire du potentiel osmotique. Les résultats obtenus ont révélé une très forte sensibilité de la vitesse d'allongement et des dimensions finales des feuilles au potentiel osmotique durant les phases de calibration du modèle. Il en découle que la quantité de solutés, définie en fonction de la concentration de métabolites C et N de la zone de croissance, et le volume d'eau de la zone de croissance sont étroitement liés. Cette approche intégrée permet de simuler la réponse de la morphogénèse aux interactions entre les flux de carbone, d'azote et d'eau dans la plante, qui sont eux-mêmes modulés par la croissance, pour la première fois à cette échelle.
Le modèle permet de simuler la morphogénèse de manière réaliste, notamment en ce qui concerne les dimensions 3D des organes et le phyllochrone. CNW-Wheat rend compte d'un ensemble de propriétés émergentes en simulant le bilan hydrique, carboné et azoté à l'échelle de la série foliaire de talles de blé. De par sa nature mécaniste, cet outil permet d'expliquer un résultat de simulation en démêlant les interactions complexes et en identifiant les processus sous-jacents et leur rôle respectif dans la croissance des feuilles. Cette propriété se révèle particulièrement utile dans le cadre de l'étude des effets des variations des variables climatiques sur le développement de la plante, où de multiples processus sont sensibles aux fluctuations simultanées de facteurs, conduisant à des rétroactions difficiles à démêler les unes des autres. Par exemple, le CO_2 stimule le développement foliaire de la plante, mais entraîne également une limitation de la quantité d'azote et d'eau nécessaire au développement.
En conséquence, le modèle répond à notre objectif qui est de mieux comprendre et quantifier les interactions entre les variables climatiques et la croissance foliaire, à l'échelle de la plante, des organes et des zones de croissance, chez le blé.

2.1.2 Simuler la reponse de la croissance des plantes aux variables du changement climatique

CNW-Wheat a démontré sa capacité à rendre compte des principaux mécanismes de réponse à la sécheresse et au CO_2 d'une part, et à leurs interactions d'autre part. Cette évaluation a pu être menée en partie grâce aux connaissances établies dans le deuxième chapitre de la thèse, par la conduite d'une expérimentation en milieu contrôlé. Le modèle a reproduit les grandes conclusions, à savoir que le CO_2 a un effet atténuateur sur les impacts de la sécheresse sur la croissance foliaire. En ralentissant le dessèchement du sol, la ressource en eau alimentant la croissance perdure plus longtemps et l'arrêt de croissance est retardé. Il en résulte une production de surface foliaire et de biomasse plus importante à fort CO_2. Ainsi, conformément aux objectifs initiaux, l'évaluation du modèle a été validée en premier lieu, et de nouvelles connaissances sur les réponses des plantes aux variations simultanées des facteurs climatiques avec CNW-Wheat peuvent être produites dans un second temps.

En outre, le développement du modèle a permis de soulever de nouveaux questionnements et de mettre en évidence des lacunes dans les connaissances. Plus spécifiquement, l'extensibilité des parois, l'osmorégulation des zones de croissance et les dimensions foliaires dans les premiers stades de développement requièrent des investigations supplémentaires visant à identifier les paramètres du modèle et à améliorer sa calibration.

2.2 Choix des hypotheses principales

En raison du grand nombre de processus qui répondent à la disponibilité du carbone, azote et eau, plusieurs hypothèses ont été posées lors de la construction du modèle. Elles découlent de choix nécessaires pour la modélisation, soit d'un manque de données biologiques du développement végétatif des Poaceae.

2.2.1 Des choix de modelisation

Flux d'eau entre les organes

Il a été montré que les flux d'eau au sein des conduits du xylème de la plante peuvent être de nature axiale, impliquant une migration entre deux organes sur une distance considérable, et radiale, correspondant à des flux à l'intérieur d'un organe sur une courte distance. Nous avons fait le choix dans CNW-Wheat de ne considérer que le transport radial entre le xylème et les organes de la plante. Cette hypothèse s'appuie sur les travaux de Martre *et al.* (2001) notamment, qui ont démontré que la résistance hydraulique axiale des feuilles est largement inférieure à la résistance radiale.
Dans cette approche, la résistance axiale du xylème a été pu être négligée et un compartiment unique, commun à la plante et jouant le rôle du xylème, a été implémenté. En conséquence, les flux d'eau ne suivent plus la topologie de la plante. Cette hypothèse permet de simplifier la structure de la plante et de réduire le nombre d'équations à résoudre, ce qui diminue significativement le temps de simulation, sans modifier sensiblement l'impact de la croissance sur les flux d'eau, ni l'impact du déficit hydrique sur la morphogenèse.

Cinétique d'allongement des feuilles

Dans CNW-Wheat, l'émergence d'une feuille (n) hors de la pseudo-tige déclenche le passage de la feuille suivante (n+1) d'une cinétique d'allongement exponentielle régulée par les teneurs en métabolites de la zone de croissance et le potentiel hydrique du xylème, vers une cinétique d'allongement régulée par les formalismes de Lockhart (1965), Ortega (1985) et Coussement *et al.* (2018). Ce synchronisme avait déjà été implémenté dans la précédente version du modèle (CN-Wheat) et discuté par Gauthier *et al.* (2020).
Durant la deuxième phase d'allongement, l'extensibilité détermine l'expansion en volume de l'organe en croissance et a été modélisée sous la forme d'une fonction sigmoïdale qui décroît avec l'âge physiologique de la feuille. L'implémentation continue de la régulation par turgescence dans les deux phases d'allongement de la feuille, conduirait à la formation d'organes très massifs dans les stades de développement précoces, ce qui serait peu réaliste. Pour rendre compte de la croissance progressive des organes, les mécanismes de régulation de la croissance lors des deux phases ont été différenciés. Par ailleurs, de par ses très faibles dimensions durant la première phase d'allongement, la feuille n'est constituée que d'une *hiddenzone* et sa croissance n'est donc pas impactée par sa transpiration. Cependant, lors de la deuxième phase, son émergence marque le début de la transpiration. Pour éviter une discontinuité hydraulique lors de son émergence, les formalismes de régulation hydrique ont été implémentés dès l'émergence de la feuille précédente (transition en deuxième phase). Une alternative consisterait à modifier complètement la structure de la feuille en croissance en y distinguant des compartiments tels qu'une zone de division et d'expansion stricte (Durand, 1999) et en y appliquant

les approches appliquées dans CNW-Wheat à toute la zone cachée de la feuille, comme cela est décrit pour l'eau uniquement par De Swaef *et al.* (en préparation).

Mécanisme de ligulation

La zone de croissance de la feuille est considérée homogène dans CNW-Wheat. Elle est représentée par le compartiment *hiddenzone*, qui rend compte de l'ensemble des tissus cachés de la feuille. Autrement dit, la *hiddenzone* inclut à la fois la zone de croissance et des tissus matures.
Cette approche rend complexe la différenciation de la croissance du limbe et de la gaine de la feuille. En conséquence, notre démarche a été de considérer la feuille en croissance en deux compartiments : la *hz* et la partie exposée, sans établir de distinction entre le limbe et la gaine. La distinction entre ces deux organes ne se fait qu'à la fin de l'allongement de la feuille, selon un rapport qui varie en fonction du rang foliaire. Cette hypothèse a permis de simuler des organes aux dimensions réalistes et proches des données observées.
Considérer le développement des trois zones de croissance (division, allongement et maturation), comme discuté dans le paragraphe précédent, permettrait de simuler plus naturellement la transition entre l'allongement du limbe et de la gaine, et la formation de la ligule. Néanmoins, des connaissances plus approfondies sur le moment de formation de la ligule et de la coordination avec l'émergence d'autres organes restent nécessaires pour une compréhension exhaustive du processus.

2.2.2 Un manque de connaissances biologiques

Ajustement osmotique

Le potentiel osmotique joue un rôle central dans la croissance, en permettant la régulation du potentiel de turgescence, responsable de l'extension des tissus. L'osmorégulation résulte d'une accumulation passive et/ou active de solutés à l'intérieur des zones de croissances, créant ainsi une différence de concentration de solutés entre l'intérieur et l'extérieur de celle-ci. L'augmentation de la concentration de solutés à l'intérieur provoque une diminution du potentiel osmotique, entraînant un flux d'eau passif dans la zone de croissance. L'osmorégulation constitue ainsi un couplage étroit entre les régulations hydriques et trophiques de la croissance. Le modèle de Lockhart (1965) permet de relier l'hydromécanique au métabolisme du carbone et de l'azote de la feuille. Dans le modèle CNW-Wheat, ce couplage a été mis en place en calculant les concentrations de solutés à partir des concentrations de métabolites et de la teneur en eau simulées de l'organe.
Néanmoins, les solutés osmotiquement actifs sont de deux types : les substances organiques et les substances inorganiques. La contribution de chacun à l'osmorégulation varie considérablement selon l'espèce, le type et l'âge de l'organe (Mott & Steward, 1972) ainsi que les conditions environnementales (Turner *et al.*, 1978). Dans une feuille en croissance de blé, la contribution des solutés organiques est deux fois plus faible que celle des solutés inorganiques, et diminue au cours du développement de la feuille (Kameli & Lösel, 1995; Bajji *et al.*, 2001). En cas de stress hydrique, la contribution des solutés organiques augmente en raison de l'accumulation de sucres solubles, tandis que la contribution des solutés inorganiques reste relativement stable. La contribution des solutés au potentiel osmotique est plus importante dans les feuilles en croissance que dans les feuilles matures en situation de stress (Kameli & Lösel, 1995; Bajji *et al.*, 2001).
L'ajustement osmotique des organes de la plante est donc un mécanisme complexe, sujet à de nombreuses controverses et dont les connaissances restent à approfondir. CNW-Wheat ne considère que les solutés organiques d'une part, et la zone de croissance est conceptualisée par une structure homogène dont les dimensions restent inchangées après l'émergence des organes exposés (limbe et gaine) d'autre part. En l'état, ces choix n'ont pas permis de simuler des dynamiques d'allongement réalistes pour l'ensemble de la série foliaire après plusieurs tentatives de calibration. Nous avons donc implémenté dans le modèle une notion de concentration équivalente en solutés afin de calculer le potentiel osmotique. Ce formalisme permet indirectement d'intégrer la contribution des solutés

inorganiques ainsi que la proportion de volume de stockage d'eau de la cellule qui contribue réellement au potentiel osmotique, par rapport au volume occupé par les vaisseaux conducteurs (xylème et phloème). Finalement, ce formalisme reproduit quelque peu un mécanisme actif d'osmorégulation tel que décrit dans différentes études.

Extensibilité des parois

Dans le modèle de Lockhart, l'extensibilité des parois permet de calculer le potentiel de turgescence et les déformations plastiques et élastiques associées des cellules et donc de la feuille. Les mécanismes régissant l'extensibilité et l'élasticité des parois sont encore mal connus à ce jour. En conséquence, CNW-Wheat intègre une fonction d'extensibilité décroissante avec le développement de la feuille, qui dépend d'un paramètre maximal fixe, et considère l'élasticité par le biais d'un paramètre.
Pantin *et al.* (2012) ont discuté du contrôle du carbone sur les propriétés de la paroi. Plutôt que de limiter la paroi cellulaire à deux paramètres fixés, il conviendrait de la considérer comme un compartiment modulé par le carbone dans un cadre hydromécanique. La disponibilité du carbone pourrait moduler les propriétés de la paroi à deux niveaux : directement en tant que substrat responsable de l'extension de la paroi et indirectement en modulant les enzymes contrôlant la mécanique de la paroi. Leur fonction a été incorporée dans un modèle intégrant les formalismes de Lockhart à l'échelle moléculaire (Passioura & Fry, 1992), dans lequel l'activité des enzymes de relâchement de la paroi apparaît comme un paramètre qui représente la vitesse de synthèse de la paroi cellulaire. L'activité de ces enzymes est affectée par le déficit hydrique dans les feuilles de maïs (Muller *et al.*, 2007) et réagit à l'augmentation du CO_2 chez le soja (Ainsworth *et al.*, 2006), ce qui suggère que ces influences environnementales sur la croissance pourraient être représentées par des changements dans les paramètres d'extensibilité du modèle de Lockhart.

III. PERSPECTIVES

3.1 UTILISATION DU MODELE DANS LE CONTEXTE ACTUEL

Il reste toutefois encore des étapes à accomplir pour que CNW-Wheat puisse être utilisé à l'échelle de la plante. Plus précisément, l'architecture racinaire détaillée, la simulation mécaniste du processus de tallage ou encore une analyse de sensibilité complète sur les nouveaux paramètres intégrés. Néanmoins, le paramétrage de la plupart des étapes du cycle de développement, la modélisation de l'effet des variables climatiques et les premières simulations sur la croissance foliaire sur une région agricole, permettent d'ores et déjà d'envisager les nombreuses applications du modèle. Ces dernières sont liées à son originalité par rapport à d'autres modèles éco-physiologiques individu-centrés.
CNW-Wheat a démontré ses capacités pour prédire la croissance foliaire en réponse à l'environnement. Dans le cadre du changement climatique, le modèle constitue un outil pertinent pour explorer quantitativement le fonctionnement et la réponse des plantes à des stress multiples. CNW-Wheat intègre l'ensemble du métabolisme carboné et azoté et le statut hydrique d'une plante en croissance à des échelles spatiales et temporelles fines, ainsi que dans une gamme de conditions environnementales aussi étendue et diversifiée que celle prévue par les projections du GIEC.
CNW-Wheat est un modèle individu-centré, qui a joué un rôle déterminant dans l'exploration de la réponse des processus de morphogénèse à l'environnement à l'échelle des organes, au cours de ce travail. Une autre utilisation possible du modèle serait d'étudier l'hétérogénéité au sein du couvert. En effet, la plupart des approches traitent les interactions entre processus, architecture et environnement de la plante en idéalisant le couvert comme une population de plantes individuelles qui interagissent pour l'acquisition de ressources, sans prendre en compte la variabilité d'une plante à l'autre. Cependant, l'hétérogénéité est fréquemment rencontrée dans les systèmes agronomiques, notamment en raison de la variabilité de la date d'émergence et de la variabilité génétique (Pommel & Fleury, 1989). L'une des principales causes de variabilité de l'architecture du couvert est la

disponibilité de la lumière, qui diffère entre les plantes précoces et les plantes tardives ou en l'absence de certaines plantes (Wu, 1998). En réponse aux changements de l'environnement lumineux, les plantes font preuve de plasticité morphologique. La longueur et la largeur des feuilles sont modifiées et l'orientation de la feuille (azimut de la nervure centrale) est également affectée par la présence de plantes voisines (Girardin & Tollenaar, 1992; Drouet *et al.*, 1999; Maddonni *et al.*, 2001). Dans le modèle ADEL-maize, Pommel *et al.* (1999) ont mis en évidence que l'émergence tardive de certaines plantes a considérablement modifié leur croissance et celle du couvert. Les plantes retardées présentaient des surfaces foliaires finales plus faibles (-60%) que dans le cas de conditions initiales homogènes, tandis que les autres plantes ont gagné en surface foliaire (+20%). Le modèle CNW-Wheat permettrait de simuler l'hétérogénéité au sein de la population en différenciant l'initialisation de traits foliaires de chaque plante d'une part, ou en introduisant de la variabilité génétique à partir des paramètres d'autre part. L'étude de la variabilité génétique des paramètres est une question majeure en modélisation (*i.e.* Wolff *et al.*, 2024). Perez (2017) a montré que les paramètres liés à l'architecture sont de bons candidats pour introduire de la variabilité génétique chez le palmier et sont donc suffisants pour générer de l'hétérogénité dans le couvert.

3.2 Developpements futurs du modele

Integration d'une architecture racinaire explicite

Les modèles FSPM ont principalement considéré les compartiments aériens et souterrains de la plante de manière isolée (Postma & Lynch, 2012; Bongers *et al.*, 2014; Evers & Bastiaans, 2016; de Vries *et al.*, 2018). Cependant, des développements récents ont permis l'intégration conjointe des deux systèmes dans des modèles de plantes entières qui simulent une architecture réaliste des pousses et des racines (Drouet & Pagès, 2007; Migault *et al.*, 2013; Louarn & Faverjon, 2018; Zhou *et al.*, 2020; de Vries, 2021). Cette approche s'avère impérative pour étudier la réponse des plantes à leur environnement car cela permet de rendre compte de la compétition pour les ressources entre les parties aériennes et souterraines d'une part, et de simuler de façon réaliste les limitations de l'azote et l'hétérogénéité verticale de la disponibilité en eau induites par l'augmentation de [CO_2] et des sécheresses d'autre part. Nous avons vu lors du dernier chapitre que cette étape était nécessaire à la simulation d'un compartiment racinaire ainsi que d'un statut azoté plus réaliste en réponse au CO_2 et à la sécheresse. Récemment, Rees *et al.* (2020) puis Gérault *et al.* (2023) ont initié ce travail en développant un modèle architecturé de racines répondant à la disponibilité locale en carbone en se basant sur les formalismes de CN-Wheat.

Integration du processus de tallage

Les Poaceae démontrent la faculté à moduler leur structure à travers l'adaptation de la taille de leurs organes individuels et par la variation du degré de tallage. Les céréales, telles que le blé, sont capables d'optimiser l'interception du rayonnement lumineux et la production de grains par des processus de développement et de sénescence des talles. Plusieurs études ont démontré que les caractéristiques de tallage des plantes sont grandement affectées par les conditions de croissance (*e.g.* Casal *et al.*, 1990; Rodríguez *et al.*, 1999; Lafarge & Hammer, 2002; Evers *et al.*, 2006; Sparkes *et al.*, 2006).
L'intégration du processus de tallage dans le modèle s'avère nécessaire pour étudier la réponse de la croissance du blé aux conditions environnementales, à l'échelle de la plante. Skinner & Nelson (1994) ouvrent une piste pour cela en donnant des règles de coordination entre démarrage de l'allongement d'une talle à partir du bourgeon axillaire de chaque feuille. Par ailleurs, L-Grass est un modèle qui simule le tallage d'une graminée en réponse à la lumière. Concernant le lien entre tallage et système racinaire, Migault *et al.* (2013) ont ensuite implémenté une simulation du système racinaire et l'utilisation de l'eau. La simulation de la sénescence et du recyclage des métabolites C et N resteraient à paramétrer pour faire une version de CNW-Wheat complète.

Adaptation a d'autres especes de Poaceae

Les hypothèses du modèle de croissance foliaire ont été construites sur la base de connaissances acquises sur l'ensemble des espèces de Poaceae. CNW-Wheat est largement générique et pourrait sans modification structurelle profonde certainement être utilisé chez nombre de Poaceae, avec le calage d'un nombre raisonnable de paramètres.
Le concept d'un système dynamique autorégulé dans lequel l'émergence d'une feuille contrôle l'allongement et par conséquent le moment d'émergence des plus jeunes, a été démontré sur d'autres espèces (Wilson & Laidlaw, 1985 pour le ray-grass anglais; Durand, 1999 pour la fétuque élevée; Fournier & Andrieu, 2000 pour le maïs). La régulation de la croissance foliaire par les concentrations de C, N et les teneurs en eau de la zone de croissance a également été montrée sur la fétuque élevée (Schnyder & Nelson, 1987) et l'orge (Fricke, 2002).
Cependant, si le processus de croissance peut être comparable, les vitesses d'allongement ou encore le degré de tallage peuvent varier significativement d'une espèce à l'autre (*e.g.* Kemp *et al.*, 2001 entre la fétuque élevée et le ray-grass anglais; Acker *et al.*, 2024 entre le blé, la fétuque élevée et le ray-grass anglais). Dans CNW-Wheat les paramètres d'élasticité et d'extensibilité, qui permettent de piloter la vitesse d'allongement, sont constants. De même, il a été démontré que ces espèces présentent des mécanismes de tolérance à la sécheresse distincts, dus à la régulation stomatique et à la conductance hydraulique (*e.g.* Thomas, 1986 chez le dactyle, le ray-grass anglais et italien). Comme l'ont démontré les recherches du Chapitre 2, les écarts observés entre les espèces de plantes, telles que le blé, la fétuque élevée et le ray-grass anglais, sont attribuables aux divergences dans les réponses de la conductance stomatique au dioxyde de carbone entre les céréales et les espèces pérennes. En outre, des résultats contrastés ont été observés par Bunce (2000), qui a constaté des réponses plus faibles chez le blé face à une élévation du CO_2. Cette disparité dans les réponses peut être attribuée aux conditions environnementales de chaque étude.

Effet des interactions entre CO_2, disponibilite en eau et temperature sur la croissance foliaire pour simuler l'ensemble des variables du changement climatique

L'augmentation de la concentration atmosphérique du CO_2 est responsable d'une augmentation des températures moyennes à la surface du globe (IPCC, 2023). Afin de prédire l'ensemble des impacts du changement climatique sur la croissance foliaire, il serait pertinent d'utiliser le modèle CNW-Wheat pour analyser les interactions entre le CO_2, la disponibilité en eau et les températures. Au cours de la thèse, des premiers tests de réponse du modèle à la température ont été effectués, *e.g.* l'étude du Chapitre 4 a été conduite dans des gammes de température différentes de celles du jeu de données de calibration du modèle. Le développement de la plante est sensible à la température : l'âge physiologique des organes est estimé à partir d'un temps thermique. Il en résulte que le développement de la plante est plus rapide lorsque la température augmente. Parallèlement, l'extensibilité des parois est fonction de la température. Ainsi, l'accroissement de la température favorise une croissance plus rapide des feuilles mais réduit en parallèle la durée de leur allongement. Ces premiers tests ont montré qu'une augmentation de la température de +3.6°C à 800 ppm (telles que prédites par SSP3-7.0 dans IPCC, 2023), produit des feuilles plus courtes qu'à +1.5°C à 400 ppm (température et CO_2 ambiants), ce qui s'avère peu réaliste compte tenu de la littérature.

Etude de sensibilite sur les parametres du modele

Une évaluation approfondie du modèle pourrait être conduite grâce à une analyse de sensibilité des paramètres. Une forte sensibilité de la réponse de la croissance foliaire aux paramètres d'extensibilité ; d'osmorégulation ; des résistances hydrauliques entre le xylème et les organes aériens, ainsi qu'entre le xylème et le sol ; et des ratios de dimensions permettant d'initialiser la largeur et l'épaisseur des

feuilles au passage en deuxième phase d'allongement, a été identifiée. La croissance foliaire étant définie en trois dimensions d'une part, et dépendantes des éléments nutritifs (ressources C, N et eau) d'autre part, rend cette analyse relativement lourde avec un nombre conséquent de variables de sorties à considérer (*i.e.* nombre d'organes - *hz*, limbe, gaine -, dimensions 3D des organes, statut hydrique et trophique des organes).
En somme, mener une étude sur l'effet de la variation de ces paramètres sur la réponse des plantes, permettrait d'identifier des traits foliaires d'adaptation à des conditions environnementales futures.

Conclusion

La création de nouveaux outils ouvre de nouvelles voies pour l'observation et l'analyse des flux d'eau, de carbone et d'azote au sein de la plante ainsi que leurs interactions avec le développement et la croissance des organes qui la composent.

En premier lieu, la conception du modèle CNW-Wheat a facilité le suivi simultané de l'architecture aérienne et de la teneur en eau, carbone et azote des organes de la plante. En second lieu, les expérimentations en conditions contrôlées et virtuelles ont permis de quantifier des aspects jusqu'alors inexplorés de la réponse de la croissance aux variations simultanées de CO_2 et de la disponibilité en eau du sol, et de caractériser la diversité des comportements des espèces.

Plus généralement, cette thèse a mis en évidence la nécessité d'approches intégrées pour analyser les impacts du changement climatique sur la croissance des plantes. Une prise en compte explicite de l'architecture et de l'ensemble du fonctionnement de la plante est essentielle afin d'adapter la dynamique de croissance dans des conditions environnementales données.

L'objectif principal est désormais d'achever la calibration du modèle à la disponibilité en eau et au CO_2 (*i.e.* croissance racinaire et tallage) afin de tester la prédiction de la croissance foliaire dans des conditions futures contrastées. Pour cela, les travaux à mener sont : (i) réaliser des expérimentations pour développer, calibrer plus finement (voire l'améliorer) et valider le modèle, et (ii) explorer le comportement du modèle.

References

Abichou M. **2016**. Modélisation de l'architecture 4D du blé: identification des patterns dans la morphologie, la sénescence et le positionnement spatial des organes dans une large gamme de situations de croissance.

Acevedo E, Fereres E, Hsiao TC, Henderson DW. **1979**. Diurnal Growth Trends, Water Potential, and Osmotic Adjustment of Maize and Sorghum Leaves in the Field. *Plant Physiology* **64**: 476–480.

Acker V, Durand J-L, Perrot C, Roy E, Frak E, Barillot R. **2024**. Effects of atmospheric CO2 concentration on transpiration and leaf elongation responses to drought in Triticum aestivum, Lolium perenne and Festuca arundinacea. *Annals of Botany* **134**: 787–802.

Aguirrezabal L, Bouchier-Combaud S, Radziejwoski A, Dauzat M, Cookson SJ, Granier C. **2006**. Plasticity to soil water deficit in Arabidopsis thaliana: dissection of leaf development into underlying growth dynamic and cellular variables reveals invisible phenotypes. *Plant, Cell and Environment* **29**: 2216–2227.

Ainsworth EA, Long SP. **2005**. What have we learned from 15 years of free-air CO2 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO2. *New Phytologist* **165**: 351–372.

Ainsworth EA, Rogers A. **2007**. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO_2]: mechanisms and environmental interactions: Photosynthesis and stomatal conductance responses to rising [CO_2]. *Plant, Cell & Environment* **30**: 258–270.

Ainsworth EA, Rogers A, Vodkin LO, Walter A, Schurr U. **2006**. The Effects of Elevated CO2 Concentration on Soybean Gene Expression. An Analysis of Growing and Mature Leaves. *Plant Physiology* **142**: 135–147.

Albasha R, Fournier C, Pradal C, Chelle M, Prieto JA, Louarn G, Simonneau T, Lebon E. **2019**. HydroShoot: a functional-structural plant model for simulating hydraulic structure, gas and energy exchange dynamics of complex plant canopies under water deficit—application to grapevine (*Vitis vinifera*). *in silico Plants* **1**: diz007.

Allard G, Nelson CJ. **1991**. Photosynthate Partitioning in Basal Zones of Tall Fescue Leaf Blades. *Plant Physiology* **95**: 663–668.

Altus D, Canny M. **1982**. Loading of Assimilates in Wheat Leaves. I. The Specialization of Vein Types for Separate Activities. *Functional Plant Biology* **9**: 571.

Andrieu B, Hillier J, Birch C. **2006**. Onset of Sheath Extension and Duration of Lamina Extension are Major Determinants of the Response of Maize Lamina Length to Plant Density. *Annals of Botany* **98**: 1005–1016.

Aphalo PJ, Jarvis PG. **1991**. Do stomata respond to relative humidity? *Plant, Cell and Environment* **14**: 127–132.

Aphalo PJ, Jarvis PG. **1993**. An analysis of Ball's empirical model of stomatal conductance. *Annals of Botany* **72**: 321–327.

Arif H, Tomos AD. **1993**. Control of wheat leaf growth under saline conditions. In: Lieth H, Al Masoom AA, eds. Towards the rational use of high salinity tolerant plants. Dordrecht: Springer Netherlands, 45–52.

Baca Cabrera JC, Hirl RT, Zhu J, Schäufele R, Schnyder H. **2020**. Atmospheric CO2 and VPD alter the diel oscillation of leaf elongation in perennial ryegrass: compensation of hydraulic limitation by stored-growth. *New Phytologist* **227**: 1776–1789.

Baerenfaller K, Massonnet C, Walsh S, Baginsky S, Bühlmann P, Hennig L, Hirsch-Hoffmann M, Howell KA, Kahlau S, Radziejwoski A, *et al.* 2012. Systems-based analysis of Arabidopsis leaf growth reveals adaptation to water deficit. *Molecular Systems Biology* **8**: 606.

Bajji M, Lutts S, Kinet J-M. **2001**. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three

durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science* **160**: 669–681.

Ball JT, Woodrow IE, Berry JA. **1987**. A Model Predicting Stomatal Conductance and its Contribution to the Control of Photosynthesis under Different Environmental Conditions. In: Biggins J, ed. Progress in Photosynthesis Research. Dordrecht: Springer Netherlands, 221–224.

Barillot R, Chambon C, Andrieu B. **2016a**. CN-Wheat, a functional–structural model of carbon and nitrogen metabolism in wheat culms after anthesis. I. Model description. *Annals of Botany* **118**: 997–1013.

Barillot R, Chambon C, Andrieu B. **2016b**. CN-Wheat, a functional–structural model of carbon and nitrogen metabolism in wheat culms after anthesis. II. Model evaluation. *Annals of Botany* **118**: 1015–1031.

Barillot R, Chambon C, Fournier C, Combes D, Pradal C, Andrieu B. **2019**. Investigation of complex canopies with a functional–structural plant model as exemplified by leaf inclination effect on the functioning of pure and mixed stands of wheat during grain filling. *Annals of Botany* **123**: 727–742.

Barillot R, de Swaef T, Combes D, Durand J-L, Escobar-Gutiérrez AJ, Martre P, Perrot C, Roy E, Frak E. **2020**. Leaf elongation response to blue light is mediated by stomatal-induced variations in transpiration in Festuca arundinacea. *Journal of Experimental Botany* **72**: 2642–2656.

Barlow EWR. **1986**. Water relations of expanding leaves. In: Australian Journal of Plant Physiology, 45–58.

Beerling DJ, Royer DL. **2002**. Fossil Plants as Indicators of the Phanerozoic Global Carbon Cycle. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* **30**: 527–556.

Begg JE, Turner NC. **1976**. Crop Water Deficits. In: Advances in Agronomy. Elsevier, 161–217.

Begg JE, Wright IJ. **1962**. Growth and development of leaves from intercalary meristems in Phalaris arundinacea L. *Nature* **194**: 1097–1098.

Bertheloot J, Andrieu B, Martre P. **2012**. Light–nitrogen relationships within reproductive wheat canopy are modulated by plant modular organization. *European Journal of Agronomy* **42**: 11–21.

Bertheloot J, Cournède P-H, Andrieu B. **2011**. NEMA, a functional–structural model of nitrogen economy within wheat culms after flowering. I. Model description. *Annals of Botany* **108**: 1085–1096.

Bertheloot J, Martre P, Andrieu B. **2008**. Dynamics of Light and Nitrogen Distribution during Grain Filling within Wheat Canopy. *Plant Physiology* **148**: 1707–1720.

Bertin N. **1998**. Short and Long Term Fluctuations of the Leaf Mass Per Area of Tomato Plants—Implications for Growth Models. *Annals of Botany* **82**: 71–81.

Blackman E. **1971**. The Morphology and Development of Cross Veins in the Leaves of Bread Wheat (Triticum aestivum L.). *Annals of Botany* **35**: 653–665.

Bloomfield JP, Marchant BP, McKenzie AA. **2019**. Changes in groundwater drought associated with anthropogenic warming. *Hydrology and Earth System Sciences* **23**: 1393–1408.

Bohnert HJ, Jensen RG. **1996**. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* **14**: 89–97.

Bongers FJ, Evers JB, Anten NPR, Pierik R. **2014**. From shade avoidance responses to plant performance at vegetation level: using virtual plant modelling as a tool. *The New Phytologist* **204**: 268–272.

Botha CEJ. **2005**. Interaction of Phloem and Xylem During Phloem Loading: Functional Symplasmic Roles for Thin- and Thick-Walled

Sieve Tubes in Monocotyledons. In: Vascular Transport in Plants. Elsevier, 115–130.

Bouchabke O, Tardieu F, Simonneau T. **2006**. Leaf growth and turgor in growing cells of maize (Zea mays L.) respond to evaporative demand under moderate irrigation but not in water-saturated soil. *Plant, Cell and Environment* **29**: 1138–1148.

Bouchenak-Khelladi Y, Verboom GA, Savolainen V, Hodkinson TR. **2010**. Biogeography of the grasses (Poaceae): a phylogenetic approach to reveal evolutionary history in geographical space and geological time: Ancestral biogreography and ecology of grasses. *Botanical Journal of the Linnean Society* **162**: 543–557.

Bourgault M, Dreccer MF, James TJ, Chapman SC. **2013**. Genotypic variability in the response to elevated CO2 of wheat lines differing in adaptive traits. *Functional Plant Biology* **40**: 172–184.

Boutin V, Fogelgesang J-F, Beaux J-F, Ribola F. **2010**. *Atlas de biologie végétale: BCPST 1re et 2e années 60 tissus végétaux, plus de 200 microphotographies, les diagnostics raisonnés, les schémas en figurés conventionnels*. Paris: Dunod.

Bowes G. **1996**. Photosynthetic Responses to Changing Atmospheric Carbon Dioxide Concentration. In: Baker NR, ed. Photosynthesis and the Environment. Dordrecht: Springer Netherlands, 387–407.

Boyer JS. **1968**. Relationship of Water Potential to Growth of Leaves. *Plant Physiology* **43**: 1056–1062.

Boyer JS. **1970**. Leaf Enlargement and Metabolic Rates in Corn, Soybean, and Sunflower at Various Leaf Water Potentials. *Plant Physiology* **46**: 233–235.

Boyer JS. **1974**. Water transport in plants: Mechanism of apparent changes in resistance during absorption. *Planta* **117**: 187–207.

Boyer JS. **1982**. Plant Productivity and Environment. *Science* **218**: 443–448.

Boyer JS. **1985**. Water transport. *Plant Physiology* **36**.

Boyer JS, Potter JR. **1972**. Chloroplast Response to Low Leaf Water Potentials. I. ROLE OF TURGOR. *Plant Physiology* **51**: 989–992.

Boyer JS, Wong SC, Farquhar GD. **1997**. CO2 and Water Vapor Exchange across Leaf Cuticle (Epidermis) at Various Water Potentials. *Plant Physiology* **114**: 185–191.

Bradford KJ, Hsiao TC. **1982**. Physiological Responses to Moderate Water Stress. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H, eds. Physiological Plant Ecology II. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 263–324.

Bradshaw AD. **1965**. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. In: Advances in Genetics. Elsevier, 115–155.

Bregard A, Allard G. **1999**. Sink to source transition in developing leaf blades of tall fescue. *New Phytologist* **141**: 45–50.

Brinkhoff R, Porter M, Hovenden MJ. **2018**. Elevated CO2 causes large changes to morphology of perennial ryegrass (Lolium perenne). *Crop and Pasture Science* **70**: 555–565.

Briske DD. **1991**. Developmental morphology and physiology of grasses. *Grazing management: an ecological perspective*: 108.

Buljovcic Z, Engels C. **2001**. Nitrate uptake ability by maize roots during and after drought stress. *Plant and Soil* **229**: 125–135.

Bunce JA. **1977**. Leaf Elongation in Relation to Leaf Water Potential in Soybean. *Journal of Experimental Botany* **28**: 156–161.

Bunce JA. **1998**. The temperature dependence of the stimulation of photosynthesis by elevated carbon dioxide in wheat and barley. *Journal of Experimental Botany* **49**: 1555–1561.

Bunce JA. **2000**. Responses of stomatal conductance to light, humidity and temperature in winter wheat and barley grown at three concentrations of carbon dioxide in the field: STOMATAL RESPONSES AT ELEVATED CO $_2$. *Global Change Biology* **6**: 371–382.

von Caemmerer S, Farquhar GD. **1981**. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* **153**: 376–387.

Carrow RN. **1996**. Drought Avoidance Characteristics of Diverse Tall Fescue Cultivars. *Crop Science* **36**: 371–377.

Casal JJ, Sanchez R a., Gibson D. **1990**. The significance of changes in the red/far-red ratio, associated with either neighbour plants or twilight, for tillering in Lolium multiflorum Lam. *New Phytologist* **116**: 565–572.

Casey IA, Brereton AJ, Laidlaw AS, McGILLOWAY DA. **1999**. Effects of sheath tube length on leaf development in perennial ryegrass *(Lolium perenne* L.). *Annals of Applied Biology* **134**: 251–257.

Cheadle VI. **1942**. The occurrence and types of vessels in the various organs of the plant in the monocotyledoneae. *American Journal of Botany* **29**: 441–450.

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 Y, Yu J, Huang B. **2015**. Effects of Elevated CO2 Concentration on Water Relations and Photosynthetic Responses to Drought Stress and Recovery during Rewatering in Tall Fescue. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **140**: 19–26.

Clauw P, Coppens F, De Beuf K, Dhondt S, Van Daele T, Maleux K, Storme V, Clement L, Gonzalez N, Inzé D. **2015**. Leaf Responses to Mild Drought Stress in Natural Variants of Arabidopsis. *Plant Physiology* **167**: 800–816.

Cleland R. **1971**. Cell Wall Extension. *Annual Review of Plant Physiology* **22**: 197–222.

Clifton-Brown JC, Jones MB. **1999**. Alteration of transpiration rate, by changing air vapour pressure deficit, influences leaf extension rate transiently in Miscanthus. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1393–1401.

Comas LH, Becker SR, Cruze VMV. **2013**. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science*.

Cooper HD, Clarkson DT. **1989**. Cycling of Amino-Nitrogen and other Nutrients between Shoots and Roots in Cereals—A Possible Mechanism Integrating Shoot and Root in the Regulation of Nutrient Uptake. *Journal of Experimental Botany* **40**: 753–762.

Cosgrove D. **1986**. Biophysical Control of Plant Cell Growth. *Annual Review of Plant Physiology* **37**: 377–305.

Cosgrove DJ. **1987**. Wall Relaxation and the Driving Forces for Cell Expansive Growth. *Plant Physiology* **84**: 561–564.

Cosgrove DJ. **1993**. Wall extensibility: its nature, measurement and relationship to plant cell growth. *New Phytologist* **124**: 1–23.

Cosgrove DJ. **2000**. Loosening of plant cell walls by expansins. *Nature* **407**: 321–326.

Cosgrove DJ. **2018**. Diffuse Growth of Plant Cell Walls. *Plant Physiology* **176**: 16–27.

Coussement JR, de Swaef T, Lootens P, Roldán-Ruiz I, Steppe K. **2018**. Introducing turgor-driven growth dynamics into functional–structural plant models. *Annals of Botany* **121**: 849–861.

Coussement JR, Villers SLY, Nelissen H, Inzé D, Steppe K. **2021**. Turgor-time controls grass leaf elongation rate and duration under drought

stress. *Plant, Cell & Environment* **44**: 1361–1378.

Crafts-Brandner SJ, Salvucci ME. **2000**. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO $_2$. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 13430–13435.

Cross JW, Bonos SA, Huang B, Meyer WA. **2013**. Evaluation of Heat and Drought as Components of Summer Stress on Tall Fescue Genotypes. *HortScience* **48**: 1562–1567.

Cruiziat P, Granier A, Claustres JP, Lachaize D. **1989**. Diurnal evolution of water flow and potential in an individual spruce: experimental and theoretical study. *Annales des Sciences Forestières* **46**: 353s–356s.

Dainty J. **1963**. Water Relations of Plant Cells. In: Advances in Botanical Research. Elsevier, 279–326.

Dale JE. **1985**. *The carbon relations of the developing leaf*.

Dannenhoffer JM, Ebert W, Evert RF. **1990**. Leaf vasculature in Barley Hordeum Vulgare (Poaceae). *American Journal of Botany* **77**: 636–652.

Dannenhoffer JM, Evert RF. **1994**. Development of the Vascular System in the Leaf of Barley (Hordeum vulgare L.). *International Journal of Plant Sciences* **155**: 143–157.

Daryanto S, Wang L, Jacinthe P-A. **2017**. Global synthesis of drought effects on cereal, legume, tuber and root crops production: A review. *Agricultural Water Management* **179**: 18–33.

Davies A. **1965**. Carbohydrate levels and regrowth in perennial rye-grass. *The Journal of Agricultural Science* **65**: 213–221.

Davies A. **1974**. Leaf tissue remaining after cutting and regrowth in perennial ryegrass. *The Journal of Agricultural Science* **82**: 165–172.

De Souza JG, Da Silv JV. **1987**. Partitioning of Carbohydrates in Annual and Perennial Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Journal of Experimental Botany* **38**: 1211–1218.

De Swaef T, Pieters O, Appeltans S, Borra-Serrano I, Coudron W, Couvreur V, Garré S, Lootens P, Nicolaï B, Pols L, *et al.* 2022. On the pivotal role of water potential to model plant physiological processes (K Kahlen and SP Long, Eds.). *in silico Plants* **4**: diab038.

Dias De Oliveira E, Palta JA, Bramley H, Stefanova K, Siddique KHM. **2015**. Elevated CO2 Reduced Floret Death in Wheat Under Warmer Average Temperatures and Terminal Drought. *Frontiers in Plant Science* **6**.

Dixon HH, Joly J. **1895**. XII. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. (B.)* **186**: 563–576.

Dornbusch T, Andrieu B. **2010**. Lamina2Shape—An image processing tool for an explicit description of lamina shape tested on winter wheat (Triticum aestivum L.). *Computers and Electronics in Agriculture* **70**: 217–224.

Dornbusch T, Baccar R, Watt J, Hillier J, Bertheloot J, Fournier C, Andrieu B. **2011a**. Plasticity of winter wheat modulated by sowing date, plant population density and nitrogen fertilisation: Dimensions and size of leaf blades, sheaths and internodes in relation to their position on a stem. *Field Crops Research* **121**: 116–124.

Dornbusch T, Watt J, Baccar R, Fournier C, Andrieu B. **2011b**. A comparative analysis of leaf shape of wheat, barley and maize using an empirical shape model. *Annals of Botany* **107**: 865–873.

Drake BG, Gonzàlez-Meler MA, Long SP. **1997**. MORE EFFICIENT PLANTS: A Consequence of Rising Atmospheric CO_2 ? *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **48**: 609–639.

Dreccer M. **2000**. Dynamics of Vertical Leaf Nitrogen Distribution in a Vegetative Wheat

Canopy. Impact on Canopy Photosynthesis. *Annals of Botany* **86**: 821–831.

Drouet J-L, Moulia B, Bonhomme R. **1999**. Do changes in the azimuthal distribution of maize leaves over time affect canopy light absorption? *Agronomie* **19**: 281–294.

Drouet J-L, 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.

Durand J. **1999**. Grass Leaf Elongation Rate as a Function of Developmental Stage and Temperature: Morphological Analysis and Modelling. *Annals of Botany* **83**: 577–588.

Durand JL. **2007**. Les effets du déficit hydrique sur la plante: aspects physiologiques. *Fourrages, Association Française pour la Production Fourragère* **190**: 181–195.

Durand JL, Lemaire G, Gosse G, Chartier M. **1989**. Analyse de la conversion de l'énergie solaire en matière sèche par un peuplement de luzerne (Medicago sativa L.) soumis à un déficit hydrique. *Agronomie* **9**: 599–607.

Durand JL, Lorgeou J, Picon-Cochard C, Volaire F. **2013**. Ecophysiologie de la réponse et de l'adaptation des plantes fourragères et prairiales au changement climatique. : 10.

Durand J-L, Onillon B, Schnyder H, Rademacher I. **1995**. Drought effects on cellular and spatial parameters of leaf growth in tall fescue. *Journal of Experimental Botany* **46**: 1147–1155.

Duru M. **2000**. Growth and Senescence of the Successive Grass Leaves on a Tiller. Ontogenic Development and Effect of Temperature. *Annals of Botany* **85**: 635–643.

Duru M, Hazard L, Jeangros B, Mosimann E. **2001**. Fonctionnement de la prairie pâturée: structure du couvert et biodiversité. *Fourrages* **166**: 165–188.

Eastham J, Oosterhuis DM, Walker S. **1984**. Leaf Water and Turgor Potential Threshold Values for Leaf Growth of Wheat. *Agronomy Journal* **76**: 841–847.

Ehlert C, Maurel C, Tardieu F, Simonneau T. **2009**. Aquaporin-Mediated Reduction in Maize Root Hydraulic Conductivity Impacts Cell Turgor and Leaf Elongation Even without Changing Transpiration. *Plant Physiology* **150**: 1093–1104.

Ellis RJ. **1979**. The most abundant protein in the world. *Trends in Biochemical Sciences* **4**: 241–244.

Engels C, Mollenkopf M, Marschner H. **1994**. Effect of drying and rewetting the topsoil on root growth of maize and rape in different soil depths. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* **157**: 139–144.

Esau K. **1939**. Development and structure of the phloem tissue. *The Botanical Review* **5**: 373–432.

Esau K. **1943**. Ontogeny of the vascular bundle in Zea Mays. *HILGARDIA* **15**: 45.

Esau K. **1965**. Plant anatomy.

Esau K. **1977**. *Anatomy of Seed Plants*. New-York: John Wiley & Sons Ltd.

Evers JB, Bastiaans L. **2016**. Quantifying the effect of crop spatial arrangement on weed suppression using functional-structural plant modelling. *Journal of Plant Research* **129**: 339–351.

Evers JB, Letort V, Renton M, Kang M. **2018**. Computational botany: advancing plant science through functional–structural plant modelling. *Annals of Botany* **121**: 767–772.

Evers JB, Van Der Krol AR, Vos J, Struik PC. **2011**. Understanding shoot branching by modelling form and function. *Trends in Plant Science* **16**: 464–467.

Evers JB, Vos J, AndrieuB, 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.

Evers JB, Vos J, Romero P, Yin X, Van der Putten PEL, Kang MZ, Struik PC. **2007**. Extending a functional-structural plant model of spring wheat with sub-models for photosynthesis and carbon distribution. In: New Zealand.

Evers JB, Vos J, Yin X, Romero P, Van Der Putten PEL, Struik PC. **2010**. Simulation of wheat growth and development based on organ-level photosynthesis and assimilate allocation. *Journal of Experimental Botany* **61**: 2203–2216.

Fahn A. **1954**. Metaxylem Elements in Some Families of the Monocotyledoneae. *The New Phytologist* **53**: 530–540.

Field CB, Jackson RB, Mooney HA. **1995**. Stomatal responses to increased CO2: implications from the plant to the global scale. *Plant, Cell and Environment* **18**: 1214–1225.

Fischer RA, Sanchez M. **1979**. Drought Resistance in Spring Wheat Cultivars. II. Effects on Plant Water Relations. *Australian Journal of Agricultural Research* **30**: 801–814.

Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD. **2004**. Diffusive and Metabolic Limitations to Photosynthesis under Drought and Salinity in C3 Plants. *Plant Biology* **6**: 269–279.

Forde BJ. **1966**. Effect of various environments on the anatomy and growth of Perennial Ryegrass and Cocksfoot: I. Leaf Growth. *New Zealand Journal of Botany* **4**: 455–468.

Fournier C, Andrieu. **2000**. Dynamics of the Elongation of Internodes in Maize (Zea mays L.): Analysis of Phases of Elongation and their Relationships to Phytomer Development. *Annals of Botany* **86**: 551–563.

Fournier C, Andrieu B, Ljutovac S, Saint-Jean S. **2003**. ADEL-Wheat: a 3D Architectural Model of wheat development.

Fournier C, Andrieu B, Sohbi Y. **2001**. Virtual plant models for studying interactions between crops and environment.

Fournier C, Durand JL, Ljutovac S, Schäufele R, Gastal F, Andrieu B. **2005**. A functional–structural model of elongation of the grass leaf and its relationships with the phyllochron. *New Phytologist* **166**: 881–894.

Fournier C, Pradal C, Louarn G, Combes D, Soulié J-C, Luquet D, Boudon F, Chelle M. **2010**. Building modular FSPM under OpenAlea: concepts and applications. In: Davis, CA, United-States.

Francis D. **1992**. The cell cycle in plant development. *New Phytologist* **122**: 1–20.

Frensch J, Steudle E. **1989**. Axial and Radial Hydraulic Resistance to Roots of Maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* **91**: 719–726.

Fricke W. **1997**. Cell turgor, osmotic pressure and water potential in the upper epidermis of barley leaves in relation to cell location and in response to NaCl and air humidity. *Journal of Experimental Botany* **48**: 45–58.

Fricke W. **2002**. Biophysical Limitation of Cell Elongation in Cereal Leaves. *Annals of Botany* **90**: 157–167.

Fricke W, Flowers TJ. **1998**. Control of leaf cell elongation in barley. Generation rates of osmotic pressure and turgor, and growth-associated water potential gradients. *Planta* **206**: 53–65.

Fricke W, Peters WS. **2002**. The Biophysics of Leaf Growth in Salt-Stressed Barley. A Study at the Cell Level. *Plant Physiology* **129**: 374–388.

Friend DJC. **1965**. Tillering and leaf production in wheat as affected by temperature and light intensity. *Canadian Journal of Botany* **43**: 1063–1076.

Galindo-Castañeda T, Lynch JP, Six J, Hartmann M. **2022**. Improving Soil Resource Uptake by Plants Through Capitalizing on Synergies Between Root Architecture and Anatomy and Root-Associated Microorganisms. *Frontiers in Plant Science* **13**.

Gamage D, Thompson M, Sutherland M, Hirotsu N, Makino A, Seneweera S. **2018**. New

insights into the cellular mechanisms of plant growth at elevated atmospheric carbon dioxide concentrations: Elevated CO_2 effect on plant growth and development. *Plant, Cell & Environment* **41**: 1233–1246.

Gastal F, Belanger G, Lemaire G. **1992**. A Model of the Leaf Extension Rate of Tall Fescue in Response to Nitrogen and Temperature. *Annals of Botany* **70**: 437–442.

Gastal F, Nelson CJ. **1994**. Nitrogen Use within the Growing Leaf Blade of Tall Fescue. **105**: 7.

Gastal F, Saugier B. **1986**. Alimentation azotée et croissance de la fétuque élevée. I. — Assimilation du carbone et répartition entre organes. *Agronomie* **6**: 157–166.

Gauthier M, Barillot R, Andrieu B. **2021**. Simulating grass phenotypic plasticity as an emergent property of growth zone responses to carbon and nitrogen metabolites. *in silico Plants* **3**.

Gauthier M, Barillot R, Schneider A, Chambon C, Fournier C, Pradal C, Robert C, Andrieu B. **2020**. A functional structural model of grass development based on metabolic regulation and coordination rules (R Hancock, Ed.). *Journal of Experimental Botany* **71**: 5454–5468.

Gérault T, Barillot R, Pradal C, Gauthier M, Richard-Molard C. **2023**. How can local sugar concentrations in roots regulate the exchanges of C & N between shoots, roots and soil ? In: INRAE, Versailles, France.

Gerten D, Rost S, Von Bloh W, Lucht W. **2008**. Causes of change in 20th century global river discharge. *Geophysical Research Letters* **35**: 2008GL035258.

Gibson DJ. **2009**. *Grasses and Grassland Ecology*. Oxford University Press.

Gifford RM, Evans LT. **1981**. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annual Review of Plant Physiology* **32**: 485–509.

Girardin P, Tollenaar M. **1992**. Leaf azimuth in maize : origin and effects on canopy patterns. *European Journal of Agronomy* **1**: 227–233.

Godin C, Sinoquet H. **2005**. Functional–structural plant modelling. *New Phytologist* **166**: 705–708.

Gonzalez-Dugo V, Durand J-L, Gastal F. **2010**. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **30**: 529–544.

Gonzalez-Dugo V, Durand JL, Gastal F, Bariac T, Poincheval J. **2012**. Restricted root-to-shoot translocation and decreased sink size are responsible for limited nitrogen uptake in three grass species under water deficit. *Environmental and Experimental Botany* **75**: 258–267.

Gonzalez-Dugo V, Durand J-L, Gastal F, Picon-Cochard C. **2005**. Short-term response of the nitrogen nutrition status of tall fescue and Italian ryegrass swards under water deficit. *Australian Journal of Agricultural Research* **56**: 1269.

Grant SA, Barthram GT, Torvell L. **1981**. Components of regrowth in grazed and cut *Lolium perenne* swards. *Grass and Forage Science* **36**: 155–168.

Green PB. **1968**. Growth Physics in *Nitella* : a Method for Continuous *in Vivo* Analysis of Extensibility Based on a Micro-manometer Technique for Turgor Pressure. *Plant Physiology* **43**: 1169–1184.

Green PB, Erickson RO, Buggy J. **1971**. Metabolic and Physical Control of Cell Elongation Rate: In Vivo Studies in Nitella. *Plant Physiology* **47**: 423–430.

Hagedorn F, Joseph J, Peter M, Luster J, Pritsch K, Geppert U, Kerner R, Molinier V, Egli S, Schaub M, *et al.* 2016. Recovery of trees from drought depends on belowground sink control. *Nature Plants* **2**: 16111.

Hammer G, Cooper M, Tardieu F, Welch S, Walsh B, Van Eeuwijk F, Chapman S, Podlich

D. **2006**. Models for navigating biological complexity in breeding improved crop plants. *Trends in Plant Science* **11**: 587–593.

Handa S, Bressan RA, Handa AK, Carpita NC, Hasegawa PM. **1983**. Solutes Contributing to Osmotic Adjustment in Cultured Plant Cells Adapted to Water Stress. *Plant Physiology* **73**: 834–843.

Hare PD, Cress WA, Van Staden J. **1998**. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment* **21**: 535–553.

Hartmann DL, Klein Tank AMG, Rusticucci M, Alexander LV, Brönnimann S, Charabi Y, Dentener FJ, Dlugokencky EJ, Easterling DR, Kaplan A, *et al.* 2013. Observations: Atmosphere and Surface. In: Stocker TF, Qin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V, Midgley PM, eds. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, 159–254.

Hatfield JL, Boote KJ, Kimball BA, Ziska LH, Izaurralde RC, Ort D, Thomson AM, Wolfe D. **2011**. Climate Impacts on Agriculture: Implications for Crop Production. *Agronomy Journal* **103**: 351–370.

Haun JR. **1973**. Visual Quantification of Wheat Development. *Agronomy Journal* **66**: 116–119.

Ho MD, Rosas JC, Brown KM, Lynch JP. **2005**. Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Functional Plant Biology* **32**: 737.

Hocking PJ, Meyer CP. **1991**. Effects of CO2 Enrichment and Nitrogen Stress on Growth, and Partitioning of Dry Matter and Nitrogen in Wheat and Maize. *Australian Journal of Plant Physiology* **18**: 339–356.

Hopkins WG, Hüner NP. **1995**. Introduction to plant physiology.

Hsiao TC. **1973**. Plant Responses to Water Stress. *Annual Review of Plant Physiology* **24**: 519–570.

Hsiao TC, Acevedo E, Fereres E, Henderson. **1976**. Water stress, growth and osmotic adjustment. *Phil. Trans. R. Soc. Lend.* **273**: 479–500.

Idso K. **1994**. Plant responses to atmospheric CO2 enrichment in the face of environmental constraints: a review of the past 10 years' research. *Agricultural and Forest Meteorology* **69**: 153–203.

IPCC. **2014**. Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.). *Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*: Geneva, Switzerland.

IPCC. **2023**. Summary for Policy Makers. In: Climate Change 2023: Synthesis Report. A Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. : 36.

Jeschke WD, Holobradá M, Hartung W. **1997**. Growth of Zea mays L. plants with their seminal roots only. Effects on plant development, xylem transport, mineral nutrition and the flow and distribution of abscisic acid (ABA) as a possible shoot to root signal. *Journal of Experimental Botany* **48**: 1229–1239.

Jiang Y, Huang B. **2001**. Physiological Responses to Heat Stress Alone or in Combination with Drought: A Comparison between Tall Fescue and Perennial Ryegrass. *HortScience* **36**: 682–686.

Jones HG. **1977**. Aspects of the water relations of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to induced drought. *The Journal of Agricultural Science* **88**: 267–282.

Julius BT, Leach KA, Tran TM, Mertz RA, Braun DM. **2017**. Sugar Transporters in Plants: New Insights and Discoveries. *Plant and Cell Physiology* **58**: 1442–1460.

Kaiser WM. **1987**. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum* **71**: 142–149.

Kameli A, Lösel DM. **1995**. Contribution of Carbohydrates and other Solutes to Osmotic Adjustment in Wheat Leaves Under Water Stress. *Journal of Plant Physiology* **145**: 363–366.

Kang M, Evers JB, Vos J, de Reffye P. **2008**. The Derivation of Sink Functions of Wheat Organs using the GREENLAB Model. *Annals of Botany* **101**: 1099–1108.

Kavanová M, Grimoldi AA, Lattanzi FA, Schnyder H. **2006**. Phosphorus nutrition and mycorrhiza effects on grass leaf growth. P status- and size-mediated effects on growth zone kinematics. *Plant, Cell & Environment* **29**: 511–520.

Keller M. **2005**. Deficit Irrigation and Vine Mineral Nutrition. *American Journal of Enology and Viticulture* **56**: 267–283.

Kemp DR. **1980**. The location and the size of the extension zone of emerging wheat leaves. *New Phytologist* **84**: 729–737.

Kemp DR. **1981**. The Growth Rate of Wheat Leaves in Relation to the Extension Zone Sugar Concentration Manipulated by Shading. *Journal of Experimental Botany* **32**: 141–150.

Kemp PD, Tavakoli H, Hodgson J. **2001**. Physiological and Morphological Responses of Tall Fescue and Perennial Ryegrass to Leaf Defoliation. In: Science and technology: delivering results for agriculture? Hobart, Tasmania, Australia: Australian Society of Agronomy Inc.

Kimball BA. **2016**. Crop responses to elevated CO2 and interactions with H2O, N, and temperature. *Current Opinion in Plant Biology* **31**: 36–43.

Kimball BA, Idso SB. **1983**. Increasing atmospheric CO2: effects on crop yield, water use and climate. *Agricultural Water Management* **7**: 55–72.

Kirschbaum MUF. **2004**. Direct and Indirect Climate Change Effects on Photosynthesis and Transpiration. *Plant Biology* **6**: 242–253.

Klepper B, Rickman RW, Belford RK. **1983**. Leaf and Tiller Identification on Wheat Plants. *Crop Science* **23**: 1002–1004.

Kramer PJ, Boyer JS. **1995**. *Water relations of plants and soils*. San Diego: Academic Press.

Lafarge TA, Hammer GL. **2002**. Tillering in Grain Sorghum over a Wide Range of Population Densities: Modelling Dynamics of Tiller Fertility. *Annals of Botany* **90**: 99–110.

Langer RHM. **1979**. *How grasses grow*.

Larsson M. **1992**. Translocation of nitrogen in osmotically stressed wheat seedlings. *Plant, Cell & Environment* **15**: 447–453.

Lawlor DW, Lemaire G, Gastal F. **2001**. Nitrogen, Plant Growth and Crop Yield. In: Lea PJ, Morot-Gaudry J-F, eds. Plant Nitrogen. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 343–367.

Lazzarotto P, Calanca P, Semenov M, Fuhrer J. **2010**. Transient responses to increasing CO2 and climate change in an unfertilized grass–clover sward. *Climate Research* **41**: 221–232.

Le Treut H, Somerville R, Cubasch U, Ding Y, Mauritzen C, Mokssit A, Peterson T, Prather M. **2007**. Historical Overview of Climate Change Science. Chapter 1.

Leakey ADB, Ainsworth EA, Bernacchi CJ, Rogers A, Long SP, Ort DR. **2009**. Elevated CO2 effects on plant carbon, nitrogen, and water relations: six important lessons from FACE. *Journal of Experimental Botany* **60**: 2859–2876.

Leport L, Turner NC, French RJ, Barr MD, Duda R, Davies SL, Tennant D, Siddique KHM. **1999**. Physiological responses of chickpea genotypes

to terminal drought in a Mediterranean-type environment. *European Journal of Agronomy* **11**: 279–291.

Leuning R. **1995**. A critical appraisal of a combined stomatal-photosynthesis model for C3 plants. *Plant, Cell & Environment* **18**: 339–355.

Li F, Kang S, Zhang J. **2004**. Interactive effects of elevated CO2, nitrogen and drought on leaf area, stomatal conductance, and evapotranspiration of wheat. *Agricultural Water Management* **67**: 221–233.

Lin Y, Kang M, Hua J. **2012**. Fitting a functional structural plant model based on global sensitivity analysis. In: 2012 IEEE International Conference on Automation Science and Engineering (CASE). Seoul, Korea (South): IEEE, 790–795.

Ljutovac S. **2002**. Coordination dans l'extension des organes aériens et conséquence pour les relations entre les dimensions finales des organes chez le blé.

Lockhart JA. **1965**. An Analysis of Irreversible Plant Cell Elongation. *Journal of Theoretical Biology* **8**: 264–275.

Long SP. **1991**. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO_2 concentrations: Has its importance been underestimated? *Plant, Cell & Environment* **14**: 729–739.

Lopes MS, Reynolds MP. **2010**. Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology* **37**: 147.

Louarn G, Faverjon L. **2018**. A generic individual-based model to simulate morphogenesis, C–N acquisition and population dynamics in contrasting forage legumes. *Annals of Botany* **121**: 875–896.

Louarn G, Song Y. **2020**. Two decades of functional–structural plant modelling: now addressing fundamental questions in systems biology and predictive ecology. *Annals of Botany* **126**: 501–509.

Luo Q, Bellotti W, Williams M, Bryan B. **2005**. Potential impact of climate change on wheat yield in South Australia. *Agricultural and Forest Meteorology* **132**: 273–285.

Luo Y, Gerten D, Le Maire G, Parton WJ, Weng E, Zhou X, Keough C, Beier C, Ciais P, Cramer W, *et al.* 2008. Modeled interactive effects of precipitation, temperature, and [CO_2] on ecosystem carbon and water dynamics in different climatic zones. *Global Change Biology* **14**: 1986–1999.

MacAdam, Jennifer W. 1988. Cellular dynamics, peroxidase activity, and secondary cell wall deposition during tall fescue leaf blade development.

Macadam JW, Nelson CJ. **1987**. Specific Leaf Weight in Zones of Cell Division, Elongation and Maturation in Tall Fescue Leaf Blades. *Annals of Botany* **59**: 369–376.

Maddonni GA, Otegui ME, Cirilo AG. **2001**. Plant population density, row spacing and hybrid effects on maize canopy architecture and light attenuation. *Field Crops Research* **71**: 183–193.

Madhu M, Hatfield JL. **2013**. Dynamics of Plant Root Growth under Increased Atmospheric Carbon Dioxide. *Agronomy Journal* **105**: 657–669.

Maherali H. **2004**. Adaptive variation in the vulnerabilirt of woody plants to xylem cavitation. *Ecology* **85**: 2184–2199.

Makino A, Mae T. **1999**. Photosynthesis and Plant Growth at Elevated Levels of CO2. *Plant and Cell Physiology* **40**: 999–1006.

Martin RJ, Dougherty CT. **1975**. Diurnal variation of water potential of wheat under contrasting weather conditions. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **18**: 145–148.

Martínez-Vilalta J, Sala A, Asensio D, Galiano L, Hoch G, Palacio S, Piper FI, Lloret F. **2016**.

Dynamics of non-structural carbohydrates in terrestrial plants: a global synthesis. *Ecological Monographs* **86**: 495–516.

Martre P. **1999**. Architecture Hydraulique d'une Talle de Fétuque Élevée (Festuca arundinacea Schreb.). Implications pour les Relations entre la Transpiration et l'Expansion Foliaire.

Martre P, Bogeat-Triboulot M-B, Durand J-L. **1999**. Measurement of a growth-induced water potential gradient in tall fescue leaves. *The New Phytologist* **142**: 435–439.

Martre P, Cochard H, Durand J -L. 2001. Hydraulic architecture and water flow in growing grass tillers (Festuca arundinacea Schreb.). *Plant, Cell & Environment* **24**: 65–76.

Martre P, Durand J, Cochard H. **2000**. Changes in axial hydraulic conductivity along elongating leaf blades in relation to xylem maturation in tall fescue. *New Phytologist* **146**: 235–247.

Maurice I. **1997**. Mise en place du Volume et Dépôt de Composés Carbonés et Azotés au cours de la Croissance de la Feuille de Fétuque Elevée.

McCubbin TJ, Braun DM. **2021**. Phloem anatomy and function as shaped by the cell wall. *Journal of Plant Physiology* **266**: 153526.

McIntyre GI. **1987**. The role of water in the regulation of plant development. *Canadian Journal of Botany* **65**: 1287–1298.

McIntyre GI. **2001**. Control of plant development by limiting factors: A nutritional perspective. *Physiologia Plantarum* **113**: 165–175.

McKee IF, Woodward FI. **1994**. CO_2 enrichment responses of wheat: interactions with temperature, nitrate and phosphate. *New Phytologist* **127**: 447–453.

Melchior W, Steudle E. **1993**. Water Transport in Onion (Allium cepa L.) Roots (Changes of Axial and Radial Hydraulic Conductivities during Root Development). *Plant Physiology* **101**: 1305–1315.

Merz QN, Walter A, Maier R, Hörtnagl L, Buchmann N, Kirchgessner N, Aasen H. **2022**. Relationship of leaf elongation rate of young wheat leaves, gross primary productivity and environmental variables in the field with hourly and daily temporal resolution. *Agricultural and Forest Meteorology* **320**: 108902.

Meyer C, Hirel B, Morot-Gaudry JF, Caboche M. **1993**. L'utilisation de l'azote par les plantes. *Recherche (Paris, 1970)* **24**: 956–962.

Migault V, Combes D, Louarn G, Pagès L, Escobar-Gutiérrez A. **2013**. Integration of root system in a ryegrass perennial model based on self-regulation. In: Saariselkä, Finland.

Millar BD, Denmead OT. **1976**. Water Relations of Wheat Leaves in the Field[1]. *Agronomy Journal* **68**: 303–307.

Morin E. **2015**. *Introduction à la pensée complexe*. Média Diffusion.

Morison J. **1998**. Stomatal response to increased CO2 concentration. *Journal of Experimental Botany* **49**: 443–452.

Morison JIL, Gifford RM. **1984**. Plant Growth and Water Use with Limited Water Supply in High CO2 Concentrations. I. Leaf Area, Water Use and Transpiration. *Australian Journal of Plant Physiology* **11**: 361–374.

Morison JIL, Lawlor DW. **1999**. Interactions between increasing CO_2 concentration and temperature on plant growth. *Plant, Cell & Environment* **22**: 659–682.

Mott RL, Steward FC. **1972**. Solute Accumulation in Plant Cells: I. Reciprocal Relations Between Electrolytes and Non-Electrolytes. *Annals of Botany* **36**: 621–639.

Moulia B. **1986**. Contribution à l'étude écophysiologique de la fétuque élevée, du trèfle blanc et de leur association.

Muller B, Bourdais G, Reidy B, Bencivenni C, Massonneau A, Condamine P, Rolland G, Conéjéro G, Rogowsky P, Tardieu F. **2007**. Association of Specific Expansins with Growth

in Maize Leaves Is Maintained under Environmental, Genetic, and Developmental Sources of Variation. *Plant Physiology* **143**: 278–290.

Muller B, Martre P. **2019**. Plant and crop simulation models: powerful tools to link physiology, genetics, and phenomics. *Journal of Experimental Botany* **70**: 2339–2344.

Münch. **1930**. *Die Stoffbewegungen in der Pflanze*.

Nagelmüller S, Kirchgessner N, Yates S, Hiltpold M, Walter A. **2016**. Leaf Length Tracker: a novel approach to analyse leaf elongation close to the thermal limit of growth in the field. *Journal of Experimental Botany* **67**: 1897–1906.

Naik MS, Abrol YP, Nair TVR, Ramarao CS. **1982**. Nitrate assimilation-its regulation and relationship to reduced nitrogen in higher plants. *Phytochemistry* **21**: 495–504.

Nardini A, Casolo V, Dal Borgo A, Savi T, Stenni B, Bertoncin P, Zini L, McDowell NG. **2016**. Rooting depth, water relations and non-structural carbohydrate dynamics in three woody angiosperms differentially affected by an extreme summer drought. *Plant, Cell & Environment* **39**: 618–627.

Naudts K, Van den Berge J, Janssens IA, Nijs I, Ceulemans R. **2013**. Combined effects of warming and elevated CO2 on the impact of drought in grassland species. *Plant and Soil* **369**: 497–507.

Nelson CJ, Asay KH, Sleper DA. **1977**. Mechanisms of Canopy Development of Tall Fescue Genotypes [1]. *Crop Science* **17**: 449–452.

Nelson T, Dengler N. **1997**. Leaf Vascular Pattern Formation. *Plan Cell* **9**: 1121–1135.

Nelson CJ, MacAdam JW. **1989**. Cellular dynamics in the leaf growth zone. *Current Topics in Plant Biochemistry and Physiology* **8**: 207–223.

Nicolas ME, Munns R, Samarakoon A. B, Gifford M. **1993**. Elevated CO2 Improves the Growth of Wheat under Salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* **20**: 349–360.

Nicolas ME, Simpson RJ, Lambers H, Dalling MJ. **1985**. Effects of Drought on Partitioning of Nitrogen in Two Wheat Varieties Differing in Drought-tolerance. *Annals of Botany* **55**: 743–754.

Nijs I, Impens I, Behaeghe T. **1989**. Leaf and canopy responses of Lolium perenne to long-term elevated atmospheric carbon-dioxide concentration. *Planta* **177**: 312–320.

Nolte T, Schopfer P. **1997**. Viscoelastic versus plastic cell wall extensibility in growing seedling organs: a contribution to avoid some misconceptions. *Journal of Experimental Botany* **48**: 2103–2107.

Nonami H, Boyer JS. **1989**. Turgor and Growth at Low Water Potentials. *Plant Physiology* **89**: 798–804.

Norby RJ, Luo Y. **2004**. Evaluating ecosystem responses to rising atmospheric CO_2 and global warming in a multi-factor world. *New Phytologist* **162**: 281–293.

North GB, Nobel PS. **1991**. Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of agave deserti (Agavaceae). *American Journal of Botany* **78**: 906–915.

Nowak RS, Ellsworth DS, Smith SD. **2004**. Functional responses of plants to elevated atmospheric CO_2 – do photosynthetic and productivity data from FACE experiments support early predictions? *New Phytologist* **162**: 253–280.

O'Leary GJ, Christy B, Nuttall J, Huth N, Cammarano D, Stöckle C, Basso B, Shcherbak I, Fitzgerald G, Luo Q, *et al.* 2015. Response of wheat growth, grain yield and water use to elevated CO_2 under a Free-Air CO_2 Enrichment (FACE) experiment and modelling in a semi-arid environment. *Global Change Biology* **21**: 2670–2686.

Onillon B. **1993**. Effets d'une contrainte hydrique édaphique sur la croissance de la fétuque élevée soumise à différents niveaux de nutrition azotée : étude à l'échelle foliaire et à celle du couvert végétal.

Onillon B, Durand J-L, Gastal F, Tournebize R. **1995**. Drought effects on growth and carbon partitioning in a tall fescue sward grown at different rates of nitrogen fertilization. *European Journal of Agronomy* **4**: 91–99.

Oosterhuis DM and WS. **1987**. Stomatal resistance measurement as an indicator of water deficit stress in wheat and soybeans. *South African Journal of Plant and Soil* **4**: 113–120.

Ortega JKE. **1985**. Augmented Growth Equation for Cell Wall Expansion. *Plant Physiology* **79**: 318–320.

Pal M, Rao LS, Jain V, Srivastava AC, Pandey R, Raj A, Singh KP. **2005**. Effects of elevated CO_2 and nitrogen on wheat growth and photosynthesis. *Biologia plantarum* **49**: 467–470.

Pantin F, Simonneau T, Muller B. **2012**. Coming of leaf age: control of growth by hydraulics and metabolics during leaf ontogeny. *New Phytologist* **196**: 349–366.

Parent B, Tardieu F. **2012**. Temperature responses of developmental processes have not been affected by breeding in different ecological areas for 17 crop species. *New Phytologist* **194**: 760–774.

Parrish DJ, Wolf DD. **1983**. Kinetics of Tall Fescue Leaf Elongation: Responses to Changes in Illumination and Vapor Pressure. *Crop Science* **23**: 659–663.

Passioura J. **1988**. Root Signals Control Leaf Expansion in Wheat Seedlings Growing in Drying Soil. *Functional Plant Biology* **15**: 687.

Passioura J, Fry S. **1992**. Turgor and Cell Expansion: Beyond the Lockhart Equation. *Functional Plant Biology* **19**: 565.

Patrick J. **1972**. Vascular System of the Stem of the Wheat Plant. I. Mature State. *Australian Journal of Botany* **20**: 49.

Perez R. **2017**. Analyzing and modelling the genetic variability of aerial architecture and light interception of oil palm (Elaeis guineensis Jacq).

Peters RL, Steppe K, Cuny HE, De Pauw DJW, Frank DC, Schaub M, Rathgeber CBK, Cabon A, Fonti P. **2021**. Turgor – a limiting factor for radial growth in mature conifers along an elevational gradient. *New Phytologist* **229**: 213–229.

Pollock CJ. **1986**. Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. *New Phytologist* **104**: 1–24.

Pommel B, Fleury A. **1989**. Etude de la variabilité individuelle chez le maïs à l'issue de la phase d'implantation-conséquences sur la croissance et la production de grain. *Agronomie* **9**: 467–475.

Poorter H. **1993**. Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO2 concentration. *CO2 and biosphere* **14**: 77–97.

Poorter H, Anten NPR, Marcelis LFM. **2013**. Physiological mechanisms in plant growth models: do we need a supra-cellular systems biology approach? *Plant, Cell & Environment* **36**: 1673–1690.

Poorter H, Knopf O, Wright IJ, Temme AA, Hogewoning SW, Graf A, Cernusak LA, Pons TL. **2022**. A meta-analysis of responses of C3 plants to atmospheric CO2: dose–response curves for 85 traits ranging from the molecular to the whole-plant level. *New Phytologist*: 1560–1596.

Postma JA, Lynch JP. **2012**. Complementarity in root architecture for nutrient uptake in ancient maize/bean and maize/bean/squash polycultures. *Annals of Botany* **110**: 521–534.

Pradal C, Dufour-Kowalski S, Boudon F, Fournier C, Godin C. **2008**. OpenAlea: a visual

programming and component-based software platform for plant modelling. *Functional Plant Biology* **35**: 751.

Pradal C, Fournier C, Valduriez P, Cohen-Boulakia S. **2015**. OpenAlea: scientific workflows combining data analysis and simulation. In: Proceedings of the 27th International Conference on Scientific and Statistical Database Management. La Jolla California: ACM, 1–6.

Prat H. **1948**. Histo-physiological gradients and plant organogenesis. *The Botanical Review* **14**: 603–643.

Pritchard J. **1994**. The control of cell expansion in roots. *New Phytologist* **127**: 3–26.

Prusinkiewicz P, Lindenmayer A. **1990**. Graphical modeling using L-systems. In: The Algorithmic Beauty of Plants. New York, NY: Springer New York, 1–50.

R Core Team. **2019**. R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*.

Radin JW, Mauney JR, Guinn G. **1986**. Diurnal osmotic cycling in cotton leaves as an indicator of source–sink balance. *Plant, Cell & Environment* **9**: 349–352.

Ranasinghe S, Taylor G. **1996**. Mechanism for increased leaf growth in elevated CO2. *Journal of Experimental Botany* **47**: 349–358.

Ray PM, Green PB. **1972**. Role of turgor in plant cell growth. *Nature* **239**: 163–164.

Rayan A, Matsuda K. **1988**. The Relation of Anatomy to Water Movement and Cellular Response in Young Barley Leaves. *Plant Physiology* **87**: 853–858.

Rees F, Andrieu B, Pagès L, Barillot R, Richard-Molard C. **2020**. RhizoDep - A 3D root functional model to simulate rhizodeposition processes. In: Monptellier, France.

Reich PB, Hobbie SE, Lee TD. **2014**. Plant growth enhancement by elevated CO2 eliminated by joint water and nitrogen limitation. *Nature Geoscience* **7**: 920–924.

Reich PB, Hobbie SE, Lee TD, Rich R, Pastore MA, Worm K. **2020**. Synergistic effects of four climate change drivers on terrestrial carbon cycling. *Nature Geoscience* **13**: 787–793.

Reyes F, Pallas B, Pradal C, Vaggi F, Zanotelli D, Tagliavini M, Gianelle D, Costes E. **2020**. MuSCA: a multi-scale source–sink carbon allocation model to explore carbon allocation in plants. An application to static apple tree structures. *Annals of Botany* **126**: 571–585.

Riedo M, Gyalistras D, Fuhrer J. **2001**. Pasture responses to elevated temperature and doubled CO2 concentration: assessing the spatial pattern across an alpine landscape. *Climate Research* **17**: 19–31.

Robert C, Fournier C, Andrieu B, Ney B. **2008**. Coupling a 3D virtual wheat (Triticum aestivum) plant model with a Septoria tritici epidemic model (Septo3D): a new approach to investigate plant–pathogen interactions linked to canopy architecture. *Functional Plant Biology* **35**: 997–1013.

Robredo A, Pérez-López U, de la Maza HS, González-Moro B, Lacuesta M, Mena-Petite A, Muñoz-Rueda A. **2007**. Elevated CO2 alleviates the impact of drought on barley improving water status by lowering stomatal conductance and delaying its effects on photosynthesis. *Environmental and Experimental Botany* **59**: 252–263.

Robson MJ, Ryle GJA, Woledge J. **1988**. The grass plant—its form and function. In: Jones MB, Lazenby A, eds. The Grass Crop. Dordrecht: Springer Netherlands, 25–83.

Rodríguez D, Andrade FH, Goudriaan J. **1999**. Effects of phosphorus nutrition on tiller emergence in wheat. *Plant and Soil* **209**: 283–295.

Rogers G, Milham P, Gillings M, Conroy J. **1996**. Sink Strength May Be the Key to Growth and Nitrogen Responses in N-Deficient Wheat

at Elevated CO2. *Functional Plant Biology* **23**: 253.

Rogers HH, Sionit N, Cure JD, Smith JM, Bingham GE. **1984**. Influence of Elevated Carbon Dioxide on Water Relations of Soybeans. *Plant Physiology* **74**: 233–238.

Ruget F. **1981**. Respiration de croissance et respiration d'entretien : méthodes de mesure, comparaison des résultats. *Agronomie* **1**: 601–610.

Russow E. **1972**. *Vergleichende Untersuchungen betreffend die Histologie (Histographie und Histogenie) der vegetativen und sporenbildenden Organe und die Entwickelung der Sporen der Leitbiindel-Kryptogamen, mit Berficksichtigung der Histologie der Phanerogamen, ausgehend yon der Betrachtung der Marsiliaceen.*

Saab IN, Sharp RE, Pritchard J, Voetberg GS. **1990**. Increased Endogenous Abscisic Acid Maintains Primary Root Growth and Inhibits Shoot Growth of Maize Seedlings at Low Water Potentials. *Plant Physiology* **93**: 1329–1336.

Sack L, Holbrook NM. **2006**. Leaf Hydraulics. *Annual Review of Plant Biology* **57**: 361–381.

Sage RF, Kubien DS. **2007**. The temperature response of C_3 and C_4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **30**: 1086–1106.

Sage RF, Way DA, Kubien DS. **2008**. Rubisco, Rubisco activase, and global climate change. *Journal of Experimental Botany* **59**: 1581–1595.

Salah HBH, Tardieu F. **1996**. Quantitative analysis of the combined effects of temperature, evaporative demand and light on leaf elongation rate in well-watered field and laboratory-grown maize plants. *Journal of Experimental Botany* **47**: 1689–1698.

Samarakoon AB, Gifford RM. **1995**. Soil Water Content Under Plants at High CO2 Concentration and Interactions with the Direct CO2 Effects: A Species Comparison. *Journal of Biogeography* **22**: 193.

Schenk HJ, Jackson RB. **2005**. Mapping the global distribution of deep roots in relation to climate and soil characteristics. *Geoderma* **126**: 129–140.

Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. **2012**. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9**: 671–675.

Schnyder H, Nelson CJ. **1987**. Growth Rates and Carbohydrate Fluxes within the Elongation Zone of Tall Fescue Leaf Blades. *Plant Physiology* **85**: 548–553.

Schnyder H, Nelson CJ. **1988**. Diurnal Growth of Tall Fescue Leaf Blades: I. Spatial Distribution of Growth, Deposition of Water, and Assimilate Import in the Elongation Zone. *Plant Physiology* **86**: 1070–1076.

Schnyder H, Nelson CJ. **1989**. Growth Rates and Assimilate Partitioning in the Elongation Zone of Tall Fescue Leaf Blades at High and Low Irradiance. *Plant Physiology* **90**: 1201–1206.

Schnyder H, Nelson CJ, Spollen WG. **1988**. Diurnal Growth of Tall Fescue Leaf Blades - II. Dry matter partitioning and carbohydrate metabolism in the elongation zone and adjacent expanded tissue. **86**: 7.

Schnyder H, Schäufele R, Visser R de, Nelson CJ. **2000**. An integrated view of C and N uses in leaf growth zones of defoliated grasses. In: Lemaire G, Hodgson J, Moraes A de, Nabinger C, Carvalho PC de F, eds. Grassland ecophysiology and grazing ecology. UK: CABI Publishing, 41–60.

Schnyder H, Seo S, Rademacher IF, Kühbauch W. **1990**. Spatial distribution of growth rates and of epidermal cell lengths in the elongation zone during leaf development in Lolium perenne L. *Planta* **181**: 423–431.

Schulze ED. **1986**. Carbon Dioxide and Water Vapor Exchange in Response to Drought in the Atmosphere and in the Soil. *Annual Review of Plant Physiology* **37**: 247–274.

Semmartin M, Ghersa CM. **2006**. Intraspecific changes in plant morphology, associated with

grazing, and effects on litter quality, carbon and nutrient dynamics during decomposition. *Austral Ecology* **31**: 99–105.

Seneweera SP, Conroy JP. **2005**. Enhanced leaf elongation rates of wheat at elevated CO2: is it related to carbon and nitrogen dynamics within the growing leaf blade? *Environmental and Experimental Botany* **54**: 174–181.

Sharman BC. **1941**. Development of the Ligule in Zea Mays L. *Nature* **147**: 641.

Sharman BC. **1945**. Leaf and Bud Initiation in the Gramineae. *Botanical Gazette* **106**: 269–289.

Sharp RE, Silk WK, Hsiao TC. **1988**. Growth of the Maize Primary Root at Low Water Potentials: I. Spatial Distribution of Expansive Growth. *Plant Physiology* **87**: 50–57.

Sionit N, Hellmers H, Strain BR. **1980**. Growth and Yield of Wheat under CO2 Enrichment and Water Stress. *Crop Science* **20**: 687–690.

Sionit N, Patterson DT. **1985**. Responses of C4 Grasses to Atmospheric CO2 Enrichment. II. Effect of Water Stress. *Crop Sciences* **25**: 533–537.

Sionit N, Strain BR, Hellmers H, Kramer PJ. **1981**. Effects of Atmospheric CO2 Concentration and Water Stress on Water Relations of Wheat. *Botanical Gazette* **142**: 191–196.

Skinner RH, Nelson CJ. **1994**. Epidermal Cell Division and the Coordination of Leaf and Tiller Development. *Annals of Botany* **74**: 9–15.

Skinner RH, Nelson CJ. **1995**. Elongation of the Grass Leaf and its Relationship to the Phyllochron. *Crop Science* **35**: 4–10.

Skirycz A, De Bodt S, Obata T, De Clercq I, Claeys H, De Rycke R, Andriankaja M, Van Aken O, Van Breusegem F, Fernie AR, *et al.* 2009. Developmental Stage Specificity and the Role of Mitochondrial Metabolism in the Response of Arabidopsis Leaves to Prolonged Mild Osmotic Stress. *Plant Physiology* **152**: 226–244.

Smit JN, Combrink NJJ. **2005**. Pollination and yield of winter-grown greenhouse tomatoes as affected by boron nutrition, cluster vibration and relative humidity. *South African Journal of Plant and Soil* **22**: 110–115.

Song BH. **1992**. Carbon and nitrogen metabolism and partitioning with respect to leaf and root growth in two genotypes of tall fescue.

Soualiou S, Wang Z, Sun W, de Reffye P, Collins B, Louarn G, Song Y. **2021**. Functional–Structural Plant Models Mission in Advancing Crop Science: Opportunities and Prospects. *Frontiers in Plant Science* **12**.

Sparkes DL, Holme SJ, Gaju O. **2006**. Does light quality initiate tiller death in wheat? *European Journal of Agronomy* **24**: 212–217.

Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock JP. **2002**. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* **25**: 251–263.

Sterck FJ, Schieving F. **2007**. 3-D GROWTH PATTERNS OF TREES: EFFECTS OF CARBON ECONOMY, MERISTEM ACTIVITY, AND SELECTION. *Ecological Monographs* **77**: 405–420.

Steudle E. **1995**. Trees under tension. *Nature* **378**: 663–664.

Steudle E, Oren R, Schulze E-D. **1987**. Water Transport in Maize Roots: Measurement of Hydraulic Conductivity, Solute Permeability, and of Reflection Coefficients of Excised Roots Using the Root Pressure Probe. *Plant Physiology* **84**: 1220–1232.

Steudle E, Peterson CA. **1998**. How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* **49**: 775–788.

Suter D, Nösberger J, Lüscher A. **2001**. Response of Perennial Ryegrass to Free-Air CO2 Enrichment (FACE) Is Related to the Dynamics of Sward Structure during Regrowth. *Crop Science* **41**: 810–817.

Tang A, Boyer JS. **2002**. Growth-induced water potentials and the growth of maize leaves. *Journal of Experimental Botany* **53**: 489–503.

Tardieu F, Granier C, Muller B. **1999**. Modelling leaf expansion in a fluctuating environment: are changes in specific leaf area a consequence of changes in expansion rate? *New Phytologist* **143**: 33–43.

Tardieu F, Tuberosa R. **2010**. Dissection and modelling of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology* **13**: 206–212.

Termaat A, Passioura JB, Munns R. **1985**. Shoot Turgor Does Not Limit Shoot Growth of NaCl-Affected Wheat and Barley. **77**.

Thilakarathne CL, Tausz-Posch S, Cane K, Norton RM, Fitzgerald GJ, Tausz M, Seneweera S. **2015**. Intraspecific variation in leaf growth of wheat (Triticum aestivum) under Australian Grain Free Air CO2 Enrichment (AGFACE): is it regulated through carbon and/or nitrogen supply? *Functional Plant Biology* **42**: 299.

Thomas H. **1986**. Water Use Characteristics of Dactylis glomerata L., Lolium perenne L. and L. multiflorum Lam. Plants. *Annals of Botany* **57**: 211–223.

Thomas A, Tomos AD, Stoddart JL, Thomas H, Pollock CJ. **1989**. Cell expansion rate, temperature and turgor pressure in growing leaves of Lolium temulentum L. *New Phytologist* **112**: 1–5.

Toreti A, Deryng D, Tubiello FN, Müller C, Kimball BA, Moser G, Boote K, Asseng S, Pugh TAM, Vanuytrecht E, *et al.* 2020. Narrowing uncertainties in the effects of elevated CO2 on crops. *Nature Food* **1**: 775–782.

Triggs JM, Kimball BA, Pinter PJ, Wall GW, Conley MM, Brooks TJ, LaMorte RL, Adam NR, Ottman MJ, Matthias AD, *et al.* 2004. Free-air CO2 enrichment effects on the energy balance and evapotranspiration of sorghum. *Agricultural and Forest Meteorology* **124**: 63–79.

Tubiello FN, Amthor JS, Boote KJ, Donatelli M, Easterling W, Fischer G, Gifford RM, Howden M, Reilly J, Rosenzweig C. **2007**. Crop response to elevated CO2 and world food supply. *European Journal of Agronomy* **26**: 215–223.

Turgeon R. **1989**. The Sink-Source Transition in Leaves. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 119–138.

Turner N, Begg J, Tonnet M. **1978**. Osmotic Adjustment of Sorghum and Sunflower Crops in Response to Water Deficits and Its Influence on the Water Potential at Which Stomata Close. *Functional Plant Biology* **5**: 597.

Tuzet A, Perrier A, Leuning R. **2003**. A coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration: Coupled model of stomatal conductance, photosynthesis and transpiration. *Plant, Cell & Environment* **26**: 1097–1116.

Tyree MT, Alexander JD. **1993**. Plant water relations and the effects of elevated CO2: a review and suggestions for future research. *CO2 and Biosphere* **104**: 47–62.

Tyree MT, Cheung YNS. **1977**. Resistance to water flow in Fagus grandifolia leaves. *Canadian Journal of Botany* **55**: 2591–2599.

Tyree MT, Ewers FT. **1991**. The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* **119**: 345–360.

Tyree MT, Sperry JS. **1989**. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology* **40**: 19–36.

Tzvelev NN. **1989**. The System of Grasses (Poaceae) and Their Evolution. *Botanical Review* **55**: 141–204.

Van Genuchten MTh. **1980**. A Closed-form Equation for Predicting the Hydraulic Conductivity of Unsaturated Soils. *Soil Science Society of America Journal* **44**: 892–898.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. **1991**. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in

Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**: 3583–3597.

Verdenal A. **2009**. De la simulation de la morphogénèse de l'appareil aérien du ray-grass anglais (Lolium perenne L.). Exploration d'un schéma cybernétique inspiré du concept d'auto-organisation et applications.

Verelst W, Skirycz A, Inzé D. **2010**. Abscisic acid, ethylene and gibberellic acid act at different developmental stages to instruct the adaptation of young leaves to stress. *Plant Signaling & Behavior* **5**: 473–475.

Vidal AC, Andrieu B. **2020**. Contrasting phenotypes emerging from stable rules: A model based on selfregulated control loops captures the dynamics of shoot extension in contrasting maize phenotypes. *Annals of Botany* **126**: 615–633.

Volenec JJ, Nelson CJ. **1981**. Cell Dynamics in Leaf Meristems of Contrasting Tall Fescue Genotypes. *Crop Science* **21**: 381–385.

Volenec JJ, Nelson CJ. **1982**. Diurnal Leaf Elongation of Contrasting Tall Fescue Genotypes. *Crop Science* **22**: 531–535.

Volenec JJ, Nelson CJ. **1984**. Department ofAgronomy, University ofMissouri, Columbia, Missouri 6521. **74**.

Vos J, Evers JB, Buck-Sorlin GH, Andrieu B, Chelle M, de Visser PHB. **2010**. Functional–structural plant modelling: a new versatile tool in crop science. *Journal of Experimental Botany* **61**: 2101–2115.

Vos J, Marcelis LFM, Evers JB. **2007**. Functional-structural plant modelling in crop production.

de Vries J. **2021**. Using evolutionary functional–structural plant modelling to understand the effect of climate change on plant communities. *in silico Plants* **3**: 1–9.

de Vries J, Poelman EH, Anten N, Evers JB. **2018**. Elucidating the interaction between light competition and herbivore feeding patterns using functional–structural plant modelling. *Annals of Botany* **121**: 1019–1031.

Vu, J. C., Baker, J. T., Pennanen, A. H., Allen, Jr, L. H., Bowes, G., Boote, K. J. 1998. Elevated CO2 and water deficit effects on photosynthesis, ribulose bisphosphate carboxylase-oxygenase, and carbohydrate metabolism in rice. *Physiologia Plantarum* **103**: 327–339.

Wagner W, Keller F, Wiemken A. **1983**. Fructan Metabolism in Cereals: Induction in Leaves and Compartmentation in Protoplasts and Vacuoles. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* **112**: 359–372.

Wall GW, Garcia RL, Kimball BA, Hunsaker DJ, Pinter PJ, Long SP, Osborne CP, Hendrix DL, Wechsung F, Wechsung G, *et al.* 2006. Interactive Effects of Elevated Carbon Dioxide and Drought on Wheat. *Agronomy Journal* **98**: 354–381.

Wallsgrove RM, Keys AJ, Lea PJ, Miflin BJ. **1983**. Photosynthesis, photorespiration and nitrogen metabolism. *Plant, Cell and Environment* **6**: 301–309.

Wang JP, Bughrara SS, Nelson CJ. **2008**. Morpho-physiological Responses of Several Fescue Grasses to Drought Stress. *HortScience* **43**: 776–783.

Watson L, Dallwitz MJ. **1992**. *The grass genera of the world*.

Wechsung G, Wechsung F, Wall GW, Adamsen FJ, Kimball BA, Pinter Jr. PJ, Lamorte RL, Garcia RL, Kartschall Th. **1999**. The effects of free-air CO_2 enrichment and soil water availability on spatial and seasonal patterns of wheat root growth. *Global Change Biology* **5**: 519–529.

Westgate ME, Boyer JS. **1984**. Transpiration- and Growth-Induced Water Potentials in Maize. *Plant Physiology* **74**: 882–889.

Wickham H. **2016**. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. *Springer-Verlag New-York*.

Williams RF. **1960**. The phyisiology of growth in the wheat plant. I. Seedling growth and the pattern of growth at the shoot apex. *Australian Journal of Biological Sciences* **13**.

Williams RF, Rijven AHGC. **1965**. The physiology of growth in the wheat plant. II. The dynamics of leaf growth. *Australian Journal of Biological Sciences* **18**: 721–743.

Wilman D, Daly M, Koocheki A, Lwoga AB. **1977**. The effect of interval between harvests and nitrogen application on the proportion and digestibility of cell wall, cellulose, hemicellulose and lignin and on the proportion of lignified tissue in leaf cross-section in two perennial ryegrass varieties. *The Journal of Agricultural Science* **89**: 53–63.

Wilson RE, Laidlaw AS. **1985**. The role of the sheath tube in the development of expanding leaves in perennial ryegrass. *Annals of Applied Biology* **106**: 385–391.

Windt CW, Vergeldt FJ, De Jager PA, Van As H. **2006**. MRI of long-distance water transport: a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor bean, tomato and tobacco. *Plant, Cell & Environment* **29**: 1715–1729.

Wolf DD, Ellmore TL. **1975**. Automated Hydrolysis of Nonreducing Sugars and Fructosans from Plant Tissue. *Crop Science* **15**: 775–777.

Wolff B, Julier B, Louarn G. **2024**. Impact of intraspecific genetic variation on interspecific competition: a theoretical case study of forage binary mixtures. *Frontiers in Plant Science* **15**: 1356506.

Wu R. **1998**. The Detection of Plasticity Genes in Heterogeneous Environments. *Evolution* **52**: 967–977.

Wu Y, Sharp RE, Durachko DM, Cosgrove DJ. **1996**. Growth Maintenance of the Maize Primary Root at Low Water Potentials Involves Increases in Cell-Wall Extension Properties, Expansin Activity, and Wall Susceptibility to Expansins. *Plant Physiology* **111**: 765–772.

Yiotis C, McElwain JC, Osborne BA. **2021**. Enhancing the productivity of ryegrass at elevated CO2 is dependent on tillering and leaf area development rather than leaf-level photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* **72**: 1962–1977.

Yu J, Chen L, Xu M, Huang B. **2012**. Effects of Elevated CO2 on Physiological Responses of Tall Fescue to Elevated Temperature, Drought Stress, and the Combined Stresses. *Crop Science* **52**: 1848–1858.

Zhang M, Chen Y, Shen Y, Li B. **2019**. Tracking climate change in Central Asia through temperature and precipitation extremes. *Journal of Geographical Sciences* **29**: 3–28.

Zhou X-R, Schnepf A, Vanderborght J, Leitner D, Lacointe A, Vereecken H, Lobet G. **2020**. CPlantBox, a whole-plant modelling framework for the simulation of water- and carbon-related processes. *in silico Plants* **2**: diaa001.

Zhu GL, Boyer JS. **1992**. Enlargement in Chara Studied with a Turgor Clamp: Growth Rate Is Not Determined by Turgor. *Plant Physiology* **100**: 2071–2080.

Zhu J, Dai Z, Vivin P, Gambetta GA, Henke M, Peccoux A, Ollat N, Delrot S. **2018**. A 3-D functional–structural grapevine model that couples the dynamics of water transport with leaf gas exchange. *Annals of Botany* **121**: 833–848.

Zimmermann MH. **1983**. *Xylem structure and the ascent of sap*. Berlin, Heidelberg, New-York, Tokyo: Springer-Verlag.

Titre : Réponse de la croissance foliaire des Poaceae au changement climatique, à partir d'une approche de modélisation structure-fonction intégrant les interactions trophiques et hydriques

Mots-clés : FSPM, Poaceae, croissance foliaire, changement climatique, CO_2, disponibilité en eau

Résumé : La croissance des feuilles de Poaceae est fortement régulée par les facteurs physiques de l'environnement dont dépendent directement l'état hydrique et trophique (teneur en carbone (C) et azote (N)) des plantes. Les variables du changement climatique, *i.e.* eau et CO_2, vont donc affecter la croissance foliaire et le développement des plantes. L'action individuelle de ces facteurs est relativement bien comprise mais leur variation simultanée telle que décrite dans les scénarios climatiques futurs crée des conditions de croissance inédites dont les conséquences restent peu explorées. Les modèles permettent d'intégrer ces interactions, en particulier les modèles structure-fonction (FSPM) qui décrivent les processus et leurs liens avec l'architecture de la plante, ainsi que les conditions environnementales. A ce jour, aucun n'intègre les interactions entre eau, C et N dans la plante sur la croissance foliaire. L'objectif est de développer un FSPM basé sur une représentation mécaniste des dynamiques trophiques (C-N) et hydriques en lien avec les facteurs de l'environnement et intégrant les interactions avec la croissance des feuilles.

Dans ce nouveau modèle CNW-Wheat, l'allongement des feuilles est co-régulé par le métabolisme C-N et le potentiel de turgescence. Le modèle a montré une bonne capacité à simuler des traits foliaires et de plantes réalistes dans des conditions usuelles au champ, tels que les vitesses d'allongement et dimensions finales des feuilles, les potentiels hydriques et ses composantes. Le modèle a été évalué dans des conditions contrastées de CO_2 et de disponibilité en eau, telles que prédites selon les scénarios du changement climatique.

Cette thèse a permis de développer un outil permettant d'anticiper la réponse des Poaceae au changement climatique et d'identifier des traits foliaires d'adaptation.

Title : Response of Poaceae leaf elongation to climate change, using a structure-function model integrating trophic and water interactions

Key words : FSPM, Poaceae, leaf elongation, climate change, CO_2, water availability

Abstract : Leaf growth is strongly regulated by physical environmental factors, on which the trophic (carbon (C) and nitrogen (N) content) and water status of plants is directly dependent. The variables of climate change, *i.e.* water and CO_2, will therefore affect leaf growth and plant development. The individual effect of these environmental factors is relatively well understood, but their simultaneous variation, as described in the future climate scenarios, will create unprecedented growth conditions, the consequences of which have yet to be fully explored. Models can be used to integrate these interactions, in particular, structure-function models (FSPM) describe processes and their links with plant architecture and environmental conditions. To date none has integrated the interactions between water, C and N of the plant on leaf growth. The aim of this thesis is to develop a FSPM based on a mechanistic representation of trophic (C-N) and water dynamics in relation to environmental factors and integrating interactions with leaf growth.

In this new model named CNW-Wheat, leaf elongation is co-regulated by metabolism (C-N) and turgor potential. The model showed a good capacity to simulate realistic leaf and plant traits, such as elongation rates and final leaf dimensions, water potential and its components in the compartments of the plant. The model was evaluated under contrasting conditions of CO_2 and water availability, as predicted by climate scenarios.

This thesis enabled the development of a tool to anticipate the response of Poaceae to climate change and can help identifying adaptive leaf traits.