



HAL
open science

Intégration d'approches génétique et écophysiologique pour l'analyse du dialogue protéines-gènes / environnement dans l'élaboration et le maintien de la texture du fruit de tomate

Rémy Aurand

► **To cite this version:**

Rémy Aurand. Intégration d'approches génétique et écophysiologique pour l'analyse du dialogue protéines-gènes / environnement dans l'élaboration et le maintien de la texture du fruit de tomate. Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2013. Français. NNT : 2013AVIG0648 . tel-00959999

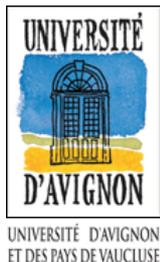
HAL Id: tel-00959999

<https://theses.hal.science/tel-00959999>

Submitted on 17 Mar 2014

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

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



ACADEMIE D'AIX-MARSEILLE
UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE

THESE

Présentée pour obtenir le grade de **Docteur en Sciences**
De l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

Spécialité : Sciences Agronomiques

Intégration d'approches génétique et écophysiologique pour l'analyse
du dialogue protéines-gènes / environnement dans l'élaboration et le
maintien de la texture du fruit de tomate

Par Rémy AURAND

Soutenue le 3 octobre 2013 devant un jury composé de :

Pierre MARTRE	Directeur de recherches INRA, Clermont Ferrand	Rapporteur
Laurent TORREGROSA	Professeur à SupAgro, Montpellier	Rapporteur
Gerhard BUCK-SORLIN	Professeur à l'AgroCampus Ouest, IRHS, Angers	Examineur
Laurent URBAN	Professeur à l'Université d'Avignon	Examineur
Michel ZIVY	Chargé de recherches CNRS, Gif-sur-Yvette	Examineur
Nadia BERTIN	Directrice de recherches INRA, Avignon	Directrice de thèse

Directrices de thèse : Nadia Bertin et Mireille Faurobert

Ecole Doctorale : Sciences et Agrosociétés, Avignon



Laboratoires d'accueil :

INRA-UR1052 « Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes »,

INRA-UR1115 « Plantes et Systèmes de cultures Horticoles », Avignon

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier Mathilde Causse, directrice de l'unité GAFL, et Michel Génard, directeur de l'unité PSH, pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire. Je tiens à remercier les départements « Biologie et Amélioration des Plantes » et « Environnement Agronomie », ainsi que la région PACA, et le Fond Européen de Développement Régional pour leur financement, ainsi que la société AMS Rougeline, plus particulièrement Dimitri Athanassiou et le Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes de Balandran, et en particulier Brigitte Navez, Raphaël Tisiot, et Laurent Rosso pour leur participation et leur soutien au projet.

Ce travail de thèse a été réalisé grâce à l'aide et au soutien de très nombreuses personnes auxquelles j'adresse tous mes remerciements.

Je souhaite tout d'abord remercier Nadia Bertin, ma directrice de thèse « écophysio », pour m'avoir encadré, guidé et soutenu. Merci pour tous les moments que tu m'as accordés.

Je remercie également Mireille Faurobert, ma directrice de thèse « génétique ». Mireille, merci pour ta patience et ton investissement constant dans ce projet, même après ton départ anticipé.

Je souhaite remercier les membres du jury, Pierre Martre, Laurent Torregrosa, Gerhard Buck-Sorlin, Laurent Urban et Michel Zivy pour avoir accepté d'évaluer mon travail. Je remercie également le comité de pilotage de ma thèse, qui a suivi et encadré mon travail. Merci pour vos précieux conseils.

Un grand merci à toutes les personnes des laboratoires de PSH et du GAFL qui m'ont aidé dans ce travail, merci pour votre disponibilité et votre efficacité.

Béatrice, merci pour ton soutien, ton aide si précieuse, et surtout ton organisation, qui nous a énormément aidés pour faire face aux montagnes de fruits que nous avons notés puis récoltés. Karine, Caroline, grâce à vous, les analyses protéomiques ont toujours été effectuées dans la bonne humeur et avec efficacité. Merci pour votre aide, votre patience, et pour tout ce que vous m'avez appris. Esther, Merci ! Polyvalente, dynamique et volontaire, tu m'as toujours beaucoup aidé et soutenu aussi bien en serre qu'au laboratoire. Jean-Claude, un grand merci pour le suivi des données climatiques. Aline, merci, si je suis là aujourd'hui c'est un peu grâce à toi aussi ! Je remercie également Félicie Lauri-Lopez pour son aide dans les mesures de potentiels hydriques dès 5h du matin. Merci.

Je tiens à remercier aussi chaleureusement les personnes avec lesquelles j'ai eu la chance de travailler et qui m'ont beaucoup appris, merci pour votre disponibilité et pour l'accueil dans vos unités de recherches : Marie-Françoise Devaux pour les analyses granulométriques (Nantes), Brigitte Schaeffer et Kiên Kiêu pour les analyses statistiques et l'inférence de réseau (Jouy en Josas), Gérard Mazerolles (Montpellier) et Mohamed Hanafi (Nantes) pour les analyses en co-inertie multiple et Jean-François Maingonnat pour les nombreuses mesures de texture (Avignon, SQPOV).

Je souhaite remercier toutes les personnes que j'ai pu rencontrer aussi bien au GAFL qu'en PSH, notamment Christine, Refka et Julie.

Enfin, un énorme merci à ma famille et mes amis qui m'ont toujours soutenu au cours de ce travail de thèse. Merci !

Table des matières

Introduction générale.....	9
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique	15
I. La texture du fruit de tomate	17
I.1 Définition et méthodes de mesure	17
I.2 Facteurs impliqués dans la texture du fruit :.....	23
II. Contrôle génétique de la texture du fruit de tomate	33
II.1 QTL de texture du fruit.....	33
II.2 Gènes impliqués dans la texture du fruit	33
III. Conditions de l'environnement et effets du stress hydrique sur la texture	37
III.1 Facteurs de l'environnement pouvant affecter la texture du fruit.....	37
III.2 Effets du stress hydrique	39
IV. Le protéome du fruit de tomate	45
IV.1 Protéines pariétales	49
IV.2 Effet du stress hydrique sur le protéome	49
V. Intégration d'approches à différents niveaux d'échelles : Vers un couplage d'approches écophysiologique et protéomique	53
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	57
I. Matériel végétal	59
II. Dispositif expérimental	61
II.1 Conditions de culture	61
II.2 Traitement : Déficit Hydrique Permanent (DHP)	61
II.3 Climat de la serre :.....	65
II.4 Indicateurs biologiques :	65
II.5 Echantillonnage des fruits au cours du déficit hydrique :.....	67
III. Mesures de la texture :	69
III.1 La compression à 3% du diamètre du fruit, une mesure non destructive	69
III.2 La pénétrométrie avec et sans peau, une mesure destructive	71
III.3 Analyses sensorielles.....	71
IV. Mesures anatomiques et physiques	73
IV.1 Nombre et taille des cellules mesurés par digestion enzymatique du péricarpe.....	73
IV.2 Analyse histologique du péricarpe de tomate par macrovision	73
IV.3 Composition biochimique des fruits	75
V. Analyses protéomiques	79

V.1 Extraction des protéines pour l'analyse du protéome.....	79
V.2 Electrophorèse bi-dimensionnelle	79
V.3 Acquisition et analyse d'image.....	81
V.4 Identification des protéines par spectrométrie de masse	83
VI. Analyses statistiques	83
Chapitre 3 : Indicateurs de perception du déficit hydrique permanent (DHP) par la plante et le fruit :.....	93
I. Diamètres de tige	93
II. Potentiel hydrique de tige.....	95
III. Surface foliaire et masse surfacique	95
IV. Poids des fruits	97
V. Développement racinaire.....	97
VI. Discussion : Effets du déficit hydrique sur la croissance et rendement.....	99
Chapitre 4 : Effets du DHP et des génotypes sur les variables sensorielles et instrumentales de la texture du fruit :.....	101
I. Effets du génotype et du déficit hydrique sur les composantes sensorielles de la texture du fruit :	103
II. Effets du génotype, du déficit hydrique et du stade sur les composantes physiques de la texture du fruit :	113
III. Discussion	129
Chapitre 5 : Effets du déficit hydrique, du génotype et du stade sur l'anatomie, l'histologie et la biochimie du fruit :.....	139
I. Poids du fruit	141
II. Anatomie du fruit	143
III. Analyse histologique du péricarpe	149
IV. Conductance cuticulaire et composition biochimique des fruits.....	165
V. Evolution post-récolte des fruits après 7 jours de conservation à 20°C.	185
VI. Discussion	195
Chapitre 6 : Variations du protéome de péricarpe de tomate sous l'effet des facteurs génotype et DHP à différents stades de développement des fruits	207
I. Caractérisation globale des variations du protéome	209
I.1 Nombre de spots variants	209
I.2 Analyse en composante principale des variations du protéome	211
I.3 Identification des protéines et classification fonctionnelle.	213
II. Effets génétiques impactant le protéome en condition témoin	215
II.1 Variations cinétiques du protéome des génotypes parentaux	215

II.2 Protéines présentant des variations cinétiques spécifiques de chaque génotype parental	217
II.3 Effets de l'introgession sur le protéome.....	223
III. Influence du DHP sur le protéome.....	229
IV. Discussion.....	239
Chapitre 7 : Intégration d'approches écophysiologique et protéomique pour une meilleure compréhension de la texture du fruit	245
I. Décomposition de la variance de la texture et des variables sous-jacentes sous l'influence du génome et du DHP	255
II. Test des méthodes d'inférence de réseaux de corrélations entre variables	259
III. Analyses des liens entre les variables anatomiques, histologiques, biochimiques, protéomiques et la texture du fruit, pour essayer de mettre en évidence les variables les plus pertinentes dans l'élaboration et le maintien de la texture	265
III.1. Liens entre les variables anatomiques et les variables de texture.....	267
III.2. Liens entre les variables histologiques et les variables de texture	269
III.3. Liens entre les variables biochimiques et les variables de texture	271
III.4. Liens entre les protéines et les variables de texture.....	275
III.5 Liens entre les protéines et les variables anatomiques, histologiques, biochimiques et les variables de texture.....	285
IV. Description et analyse de l'influence des variables anatomiques, histologiques, biochimiques et protéomiques par une méthode d'analyse multivariée : l'analyse en Co-inertie multiple	289
V. Bilan des variables les plus pertinentes pour décrire la texture du fruit	295
VI. Modèle de prédiction de la texture de la tomate	299
VI.1. Méthode utilisée pour la construction et test du modèle.....	299
VI.2 Test de 3 modèles biochimique, protéomique et anatomique	299
Chapitre 8 : Synthèse et perspectives	305
Apport pour les différentes disciplines	313
Perspectives.....	315
Annexes	317
Références bibliographiques.....	327

Introduction générale

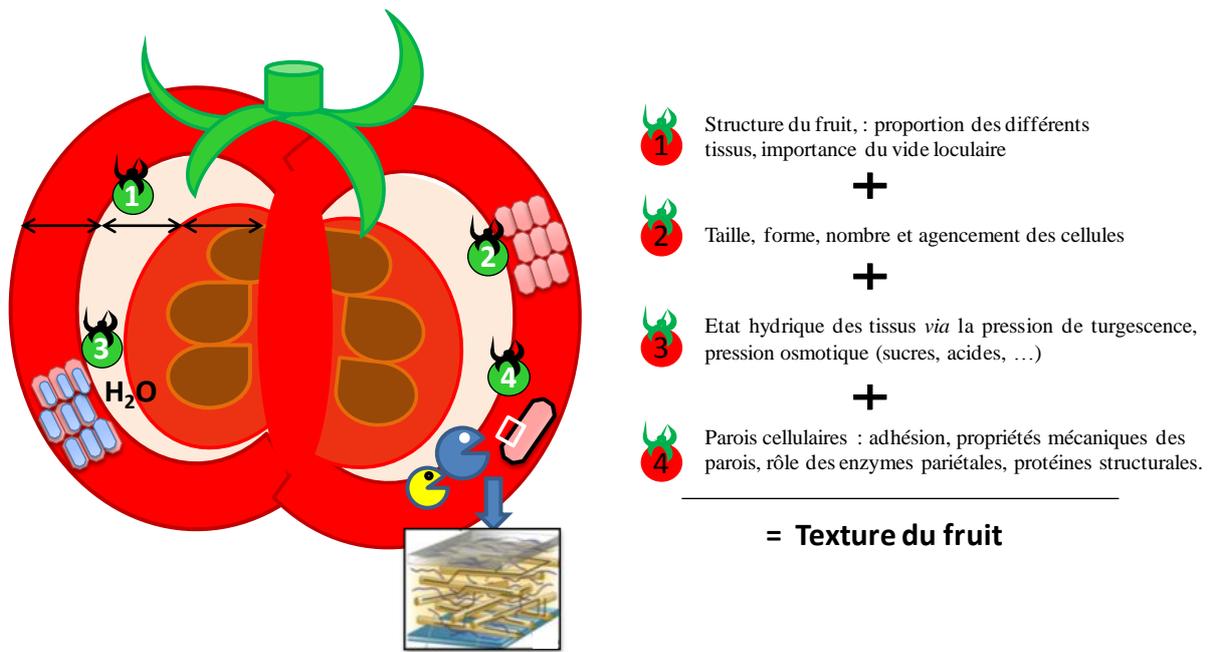


Figure 1 : Schéma global des différents mécanismes et variables impliqués dans la texture du fruit

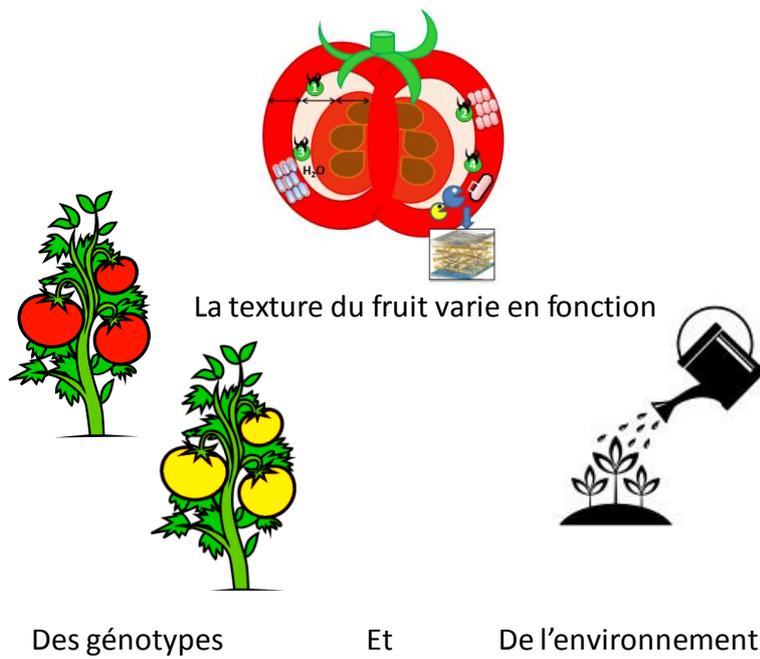


Figure 2 : La texture du fruit est influencée par les facteurs génétiques et environnementaux

Introduction générale

La texture des fruits charnus est un critère majeur de qualité pour le consommateur (achat) (baromètre CTIFL, 2007) mais aussi pour la filière (manipulation, conservation). De plus elle intervient dans la perception des arômes (Causse *et al.*, 2003). La texture est un critère de qualité complexe, qui intègre plusieurs composantes déterminées à différents niveaux de structure du fruit (**figure 1**). Elle fluctue au cours de la saison de production et reste assez mal maîtrisée. Le principal moyen de contrôle de la texture est le choix des génotypes, comme les variétés « long life », qui présentent une durée de vie augmentée, mais de faibles qualités gustatives. Afin de progresser dans la maîtrise de la texture des fruits charnus, il est important de mieux comprendre les interactions entre les nombreux facteurs impliqués. La tomate est le modèle d'étude biologique des fruits charnus. Elle présente une importance économique puisque c'est le fruit le plus cultivé au niveau mondial (Food and Agriculture Organisation, 2010), et une forte valeur santé (riche en minéraux, vitamines, acides organiques, acides aminés et antioxydants). Appréciée aussi bien crue que transformée, depuis quelques années, elle suscite chez le consommateur un engouement et une demande forte de qualité gustative. Suite à cette demande, des programmes d'amélioration génétique et des études écophysiologicals ont été entrepris pour comprendre le déterminisme génétique et les mécanismes d'élaboration de la qualité du fruit. La qualité de la tomate intègre de nombreuses composantes physico-chimiques comme la taille, le poids, les teneurs en sucres, en acides ou en vitamines du fruit mais aussi sa texture. De nombreux travaux se sont intéressés à l'évolution de la texture au cours de la maturation ou pendant la période post-récolte. Par contre, les mécanismes impliqués au cours de la croissance du fruit ont été peu étudiés, de même que l'influence des facteurs environnementaux et les interactions génotypes x environnement (**figure 2**). Parmi ces facteurs, l'eau a un effet majeur sur la croissance et la composition des fruits.

Mon travail s'intègre dans ce contexte et s'appuie sur deux champs disciplinaires : la génétique et l'écophysologie. Son originalité provient de la mise en œuvre d'une approche multidisciplinaire et intégrative qui vise à construire un schéma global d'élaboration de la texture du fruit en identifiant les liens entre la texture et les variables mesurées à différents niveaux d'échelles (fruit, tissus, cellules, protéines, gènes) et en analysant les protéines et mécanismes clés au cours du développement et de la maturation des fruits, ainsi que les interactions entre génotype et environnement (contrainte hydrique).

Pour ce travail, nous nous sommes placés dans des conditions de culture identiques à celles de la profession, en appliquant, en serre horticole, un déficit hydrique contrôlé, long et modéré.

Notre objectif était de voir si, dans ces conditions classiques de production sous serre, il était à la fois possible de réduire le volume de solutions nutritives à recycler afin de limiter l'impact environnemental et le coût de la culture, tout en limitant les pertes de rendement et en favorisant la qualité du fruit, en particulier sa texture.

Le matériel génétique utilisé a l'intérêt de présenter des valeurs contrastées de fermeté : six génotypes, une tomate cerise, et cinq génotypes arborant des QTL de texture, qui appartiennent à deux fonds génétiques différents : l'un à chair ferme et l'autre à chair souple. Ils ont été cultivés sous deux conditions hydriques : avec et sans déficit hydrique.

Pour disposer d'un jeu de données suffisamment important, intégrant simultanément les mesures de nombreux paramètres (jusqu'à 438 variables étudiées), nous avons privilégié un phénotypage approfondi des plantes et des fruits à partir d'une seule expérimentation comportant un grand nombre de répétitions pour chaque condition étudiée (deux compartiments de serre, six génotypes, deux conditions hydriques). L'ensemble des données acquises aux différentes échelles du fruit, a été analysé en étroite collaboration avec deux équipes de statisticiens dans l'objectif d'une recherche exploratoire de méthodes intégratives originales pour appréhender de manière nouvelle l'objet de ce travail : la texture du fruit.

Ce travail de thèse a été effectué au sein de deux unités de recherches du centre INRA PACA : l'unité PSH : Plantes et Systèmes de culture Horticole, département Environnement et Agronomie (EA); et l'unité GAFL : Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, département Biologie et Amélioration des Plantes (BAP). Il a été soutenu financièrement par l'INRA (EA et BAP), par la région Provence Alpes Côte d'Azur (FEDER) et réalisé en partenariat avec la société Rougeline (groupement de producteurs du sud de la France). L'expérimentation, support matériel de ce travail a été réalisée au CTIFL de Balandran. Forts du soutien des producteurs qui s'engagent dans une démarche de production durable et de qualité, nous avons tenté d'apporter des éléments de compréhension des facteurs de variabilité de la texture et des références techniques et scientifiques pour produire des fruits de qualité en réduisant les apports d'eau.

Chapitre 1 :

Synthèse bibliographique

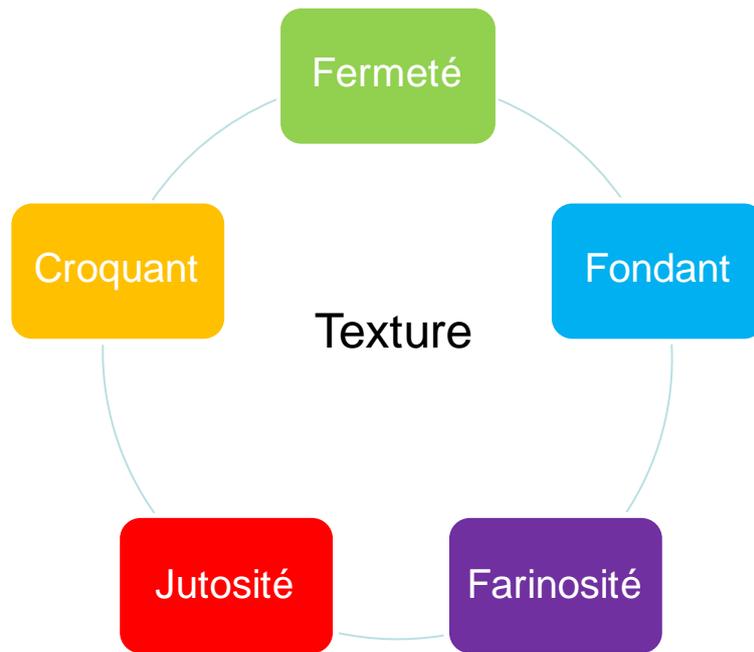


Figure 3 : Schéma représentant les différentes composantes de la texture du fruit.

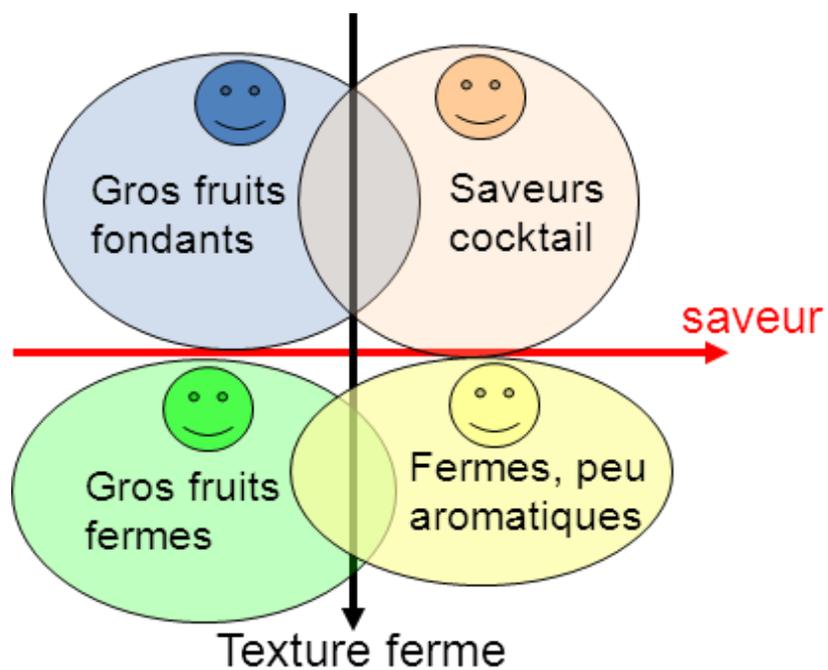


Figure 4 : Segmentation des consommateurs européens en fonction de leurs préférences pour les fruits de tomate (études réalisées sur 800 consommateurs dans trois pays : Pays-Bas, France et Italie, d'après (Causeuse et al., 2010; Sinesio et al., 2010)). Les préférences des consommateurs sont discriminées selon deux axes : un axe saveur et un axe texture.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I. La texture du fruit de tomate

I.1 Définition et méthodes de mesure

La texture du fruit présente plusieurs attributs comme la fermeté, le fondant, le croquant, la jutosité et la farinosité (**figure 3**, (Harker *et al.*, 1997b)). C'est un caractère complexe et instable qui évolue dans le temps et sous l'action de facteurs environnementaux, que ce soit pendant la phase de croissance du fruit, ou pendant la phase de conservation post-récolte. Plusieurs définitions ont été formulées pour prendre en compte ces différentes composantes de la texture, ce qui traduit bien la complexité du caractère. Matz (1962) définit la texture comme la sensation ressentie en bouche lorsqu'on mange les aliments, induite par les propriétés physiques comme la densité ou la viscosité. Pour Corey, la texture comprend l'ensemble des forces et sensations autre que la flaveur, perçues lors de la mastication (Corey, 1970a). D'autres auteurs ont par la suite complété ces définitions en renforçant la notion de sensation par la vision, la kinesthésie et l'ouïe (Bourne, 2002; Szczesniak, 2002).

La texture est un critère majeur de la qualité du fruit de tomate pour le producteur, le distributeur et le consommateur. Elle entre en compte dans l'acte d'achat. Des études récentes sur les préférences des consommateurs européens de tomates, menées dans le cadre du projet de recherches EUSOL, montrent une segmentation des préférences en fonction en premier lieu du goût (caractère sucré ou acide), puis de la texture du fruit (**figure 4**, (Causse *et al.*, 2010; Sinesio *et al.*, 2010)). Quatre groupes de consommateurs ont été identifiés : un groupe qui préfère les gros fruits fondants, peu savoureux, un deuxième groupe qui recherche des tomates savoureuses peu fermes (tomates cocktail, cerise), un troisième qui aime des gros fruits fermes mais peu savoureux, et un quatrième qui préfère des tomates fermes très aromatiques. La texture est aussi un critère essentiel pour la filière agroalimentaire des fruits frais. Le fruit doit être apte à résister à la manipulation, au transport et à la conservation. En fonction du circuit de distribution choisi (court ou long), la texture du fruit permet d'assurer différentes durées de vie du produit. La texture intervient également dans la perception des saveurs et des arômes (Seymour *et al.*, 2002; Causse *et al.*, 2003).

	Descripteurs	Définition
Texture en bouche	Croquant	Importance de la force brusque à appliquer au morceau de tomate pour qu'il se brise avec bruit.
	Juteux	Quantité de jus dégagé par le morceau de tomate écrasé entre les molaires.
	Ferme	Fermeté de la chair. Evaluation de la force nécessaire pour que les dents pénètrent dans la chair.
	Fondant	Facilité avec laquelle le morceau de tomate se délite en bouche entre la langue et le palais.
	Farineux	Consistance du morceau de tomate en fonction de l'impression de farine.
	Peau persistante	Persistance de la peau de la tomate en bouche.
Texture à la coupe	Fermeté à la coupe	Résistance de pénétration du couteau.

Tableau 1 : Définitions des descripteurs de la texture en bouche et à la coupe utilisés pour les analyses sensorielles (CTIFL).

Les méthodes d'évaluation de la texture :

Analyses sensorielles

La texture peut être évaluée par analyse sensorielle, qui consiste en « l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens » (norme NF ISO 5492, mai 1992). Bien qu'elles puissent être considérées comme moins précises que les mesures instrumentales (Chen and Opara, 2013), les analyses sensorielles donnent une vision immédiate et proche de la perception humaine (Ross *et al.*, 2009). Il existe deux approches en analyse sensorielle : l'approche hédonique, qui analyse les préférences ou la satisfaction d'un échantillon de consommateurs non-entraînés ; et l'approche analytique, qui cherche à décrire qualitativement et quantitativement les produits testés par un jury d'experts entraînés. L'analyse sensorielle (analytique) peut ainsi évaluer les descripteurs de la texture des fruits qui sont des variables difficilement abordables par des mesures physiques comme le croquant, la jutosité, la fermeté, le fondant, la farinosité, la persistance de la peau et la fermeté à la coupe (**tableau 1**, (Harker *et al.*, 1997a)). Ce type d'évaluation de la texture du fruit a souvent été utilisé sur la pomme et la tomate (Chaib *et al.*, 2007; Ercolano *et al.*, 2008; Causse *et al.*, 2010; Sinesio *et al.*, 2010; Zdunek *et al.*, 2011; Galvez-Lopez *et al.*, 2012; Corollaro *et al.*, 2013). Les analyses sensorielles permettent une approche globale de la texture. Cependant la méthode est assez lourde et coûteuse à mettre en œuvre (laboratoire adapté, répétitions, entraînement du jury) et ne peut être réalisée que sur des fruits mûrs.

Mesures instrumentales

Il existe différentes méthodes instrumentales qui permettent de mesurer les variables de texture du fruit (**tableau 2**). On peut classer ces méthodes en deux catégories : des méthodes destructives et des méthodes non destructives (Camps *et al.*, 2005). Parmi les méthodes non destructives, on trouve : la compression, l'imagerie par spectroscopie proche infrarouge (Peirs *et al.*, 2005; Camps *et al.*, 2007), la résonance magnétique, des techniques sonores et ultrasonores (Abbott, 1999; Kim *et al.*, 2009a; Musse *et al.*, 2009). Les méthodes destructives comprennent principalement la pénétrométrie (appelée aussi test de poinçonnage) (Abbott, 1999) mais également des tests de cisaillement d'écrasement ou d'extrusion (Harker *et al.*, 1997a). Les méthodes de pénétrométrie et de compression sont basées essentiellement sur la résistance à la déformation du fruit. Elles sont assez faciles à mettre en œuvre et relativement peu coûteuses contrairement aux autres méthodes non destructives. Les méthodes les plus couramment utilisées sont la compression et la pénétrométrie, mesures que j'ai utilisées dans cette étude et dont j'ai tenté de préciser les bases biologiques.

Méthode utilisée	Principe	Inconvénients	Applications sur fruit :	Variable de texture mesurée	Exemples d'utilisation
Compression	Mesure la résistance du fruit placé entre deux plateaux soumis à une déformation. Basée sur l'imitation de la mastication, vision globale de la texture, mesure non destructive (3%)	Manque de standard, mesure destructive si la compression est importante	Entier ou morceau	Fermeté, élasticité	Pomme (Galvez-Lopez <i>et al.</i> , 2012), tomate (Chaib <i>et al.</i> , 2007; Aurand <i>et al.</i> , 2012)
Pénétrométrie	Mesure la force nécessaire à l'intrusion d'un poinçon de forme et de taille déterminées, dans la chair du fruit.	Mesure destructive, manque de référence pour la taille, la forme des poinçons, et sur les paramètres à choisir (profondeur et vitesse de pénétration), effet de l'opérateur sur les mesures avec les appareils portables (ex : Durofel®)	Entier ou tranche	Fermeté, croustillant	Pomme (Galvez-Lopez <i>et al.</i> , 2012), tomate (Chaib <i>et al.</i> , 2007; Aurand <i>et al.</i> , 2012), kiwi (White <i>et al.</i> , 2005)
Sonométrie	Mesure non destructive, basée sur la réponse du fruit à l'impact d'un marteau. Les fréquences composant la réponse du fruit sont reliées à la fermeté du fruit.	Manque de connaissance et de précision des sons	Entier	Fermeté, croquant, croustillant	Pomme ((Costa <i>et al.</i> , 2011; Zdunek <i>et al.</i> , 2011), mandarine (Gomez <i>et al.</i> , 2007a)), kiwi (Muramatsu <i>et al.</i> , 1997)
Ultrasonore	Mesure non destructive, qui évalue la vitesse et l'atténuation des ultrasons par le fruit.	Connaissance limitée des réponses des fruits et légumes aux longueurs d'ondes ultrasonores	Entier	Fermeté, farineux	pomme (Mizrach <i>et al.</i> , 2003; Kim <i>et al.</i> , 2009a), avocat (Mizrach and Flitsanov, 1999)
Optique : spectrométrie visible et proche infrarouge	Mesure non destructive, permet de caractériser la matière par l'analyse de l'interaction de ses constituants avec la lumière, sous forme d'échange d'énergie.	Equipement couteux, données difficiles à analyser	Entier	Fermeté, fondant, farineux, juteux	Pomme (Camps <i>et al.</i> , 2007), poire (Machado <i>et al.</i> , 2012), mangue (Subedi and Walsh, 2009), tomate (Sirisomboon <i>et al.</i> , 2012)
Résonance magnétique nucléaire	Mesure les caractéristiques internes du fruit (ex : distribution de l'eau), basée sur les propriétés magnétiques des noyaux des atomes. Mesure non destructive	Equipement couteux, ne mesure pas directement la fermeté	Entier, morceau	Fermeté, farineux, juteux, fondant	Pomme (Barreiro <i>et al.</i> , 1999), pêche (Barreiro <i>et al.</i> , 2000), tomate (Musse <i>et al.</i> , 2009), kiwi ((Taglienti <i>et al.</i> , 2009))

Tableau 2 : Synthèse des principales méthodes utilisées pour évaluer la texture des fruits (adapté de (Chen and Opara, 2013))

La compression

Le test de compression mesure la résistance du fruit entier placé entre deux plateaux soumis à une déformation à vitesse constante jusqu'à la déformation souhaitée, généralement de 3 % de la hauteur initiale du fruit pour la tomate (**figure 5**). A l'issue de ce test des courbes forces / déformations sont obtenues, à partir desquelles plusieurs variables peuvent être utilisées : la rigidité du fruit (appelé aussi coefficient d'élasticité) correspond à la pente de la courbe ; la force maximale nécessaire à une déformation de 3 % de la hauteur du fruit ; l'énergie de déformation (ou travail) qui correspond à l'intégrale de la courbe (Harker *et al.*, 1997a). Ce test est rapide et non destructif et permet donc de phénotyper de nombreux fruits.

La pénétrométrie

La pénétrométrie est une méthode destructive qui consiste à enregistrer la force nécessaire à l'intrusion d'un poinçon de forme et de taille déterminées dans les sept premiers millimètres de la chair du fruit (**figure 6**). La profondeur des intrusions peut être ajustée en fonction de la nature des fruits. Ce test peut être utilisé au niveau du plan équatorial sur fruit entier, sur fruit pelé, ou bien sur tranche. Les résultats obtenus sont des courbes force / déplacement. A partir desquelles plusieurs informations sont obtenues : la force maximale rencontrée au cours de la pénétration dans le fruit, elle donne une information sur la fermeté de la chair, la pente de la courbe qui est liée à la rigidité locale du fruit (Camps *et al.*, 2005), la déformation avant rupture de la peau, qui est un indicateur de la souplesse de la peau (cuticule et cellules épidermiques). L'aire sous la courbe est également utilisée pour calculer l'énergie absorbée par le fruit après rupture de l'épiderme. Ce test évalue donc les caractères du fruit à un niveau très localisé. De ce fait, plusieurs mesures par fruit (trois à quatre) sont nécessaires pour avoir une représentation correcte du fruit.

Liens entre mesures instrumentales et sensorielles

La recherche de liens entre les descripteurs sensoriels et les variables de texture instrumentales permet d'assurer le choix de variables pertinentes pour la filière et pour le consommateur. La corrélation entre les évaluations physiques et sensorielles a été testée chez la tomate (Causse *et al.*, 2003; Chaib *et al.*, 2007) : la fermeté en pénétrométrie est corrélée : positivement avec la fermeté et la persistance de la peau en bouche et négativement avec la jutosité. Chez la tomate, comme chez la pomme et la mangue, la fermeté et le croquant sont également corrélés positivement à la fermeté en pénétrométrie (Harker *et al.*, 2002; Mehinagic *et al.*, 2004; Valente *et al.*, 2011). Valente *et al.*, (2011) montrent également une corrélation négative entre le

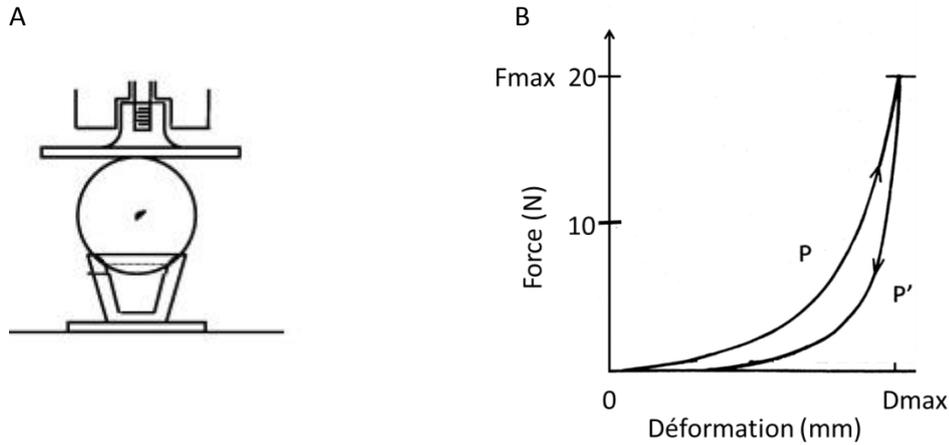


Figure 5 : **A :** Test de compression et relâchement sur fruit de tomate. **B :** Courbe force (N)/déplacement (mm) issue du test de compression après un cycle de compression (P) et relâchement (P'). F_{max} : force nécessaire pour une compression de x% de la hauteur initiale du fruit (D_{max}), d'après (Sirisomboon *et al.*, 2012).

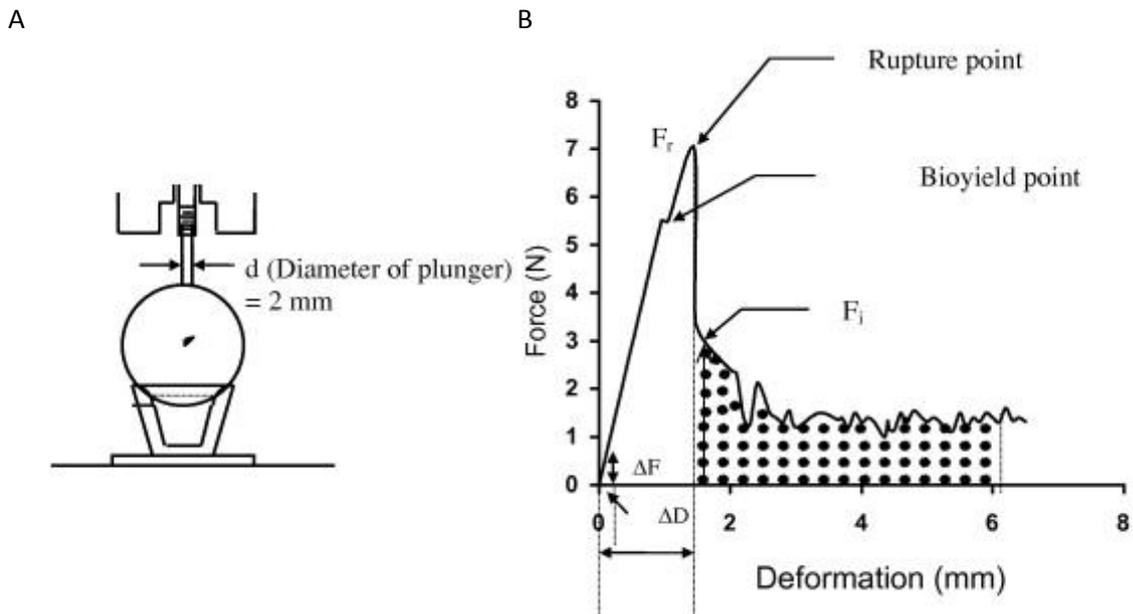


Figure 6 : **A :** Test de pénétrométrie sur fruit de tomate. **B :** Courbe force (N)/déplacement (mm) issue du test de pénétrométrie. ΔD : force nécessaire jusqu'au point de rupture de l'épiderme. F_r : Force maximale enregistrée. L'aire sous la courbe à partir du point de rupture correspond à l'énergie absorbée après la rupture (Sirisomboon *et al.*, 2012).

fondant et la fermeté en pénétrométrie chez la mangue. Contrairement à la fermeté, la jutosité est plus difficile à relier aux variables de texture instrumentales ; les travaux existants sont contradictoires : pour certains il existe une corrélation positive entre la fermeté en compression et la jutosité (Mehinagic *et al.*, 2004) alors que pour d'autres il n'y en a pas (Karlsen *et al.*, 1999; Valente *et al.*, 2011). La fermeté et le croquant semblent être les descripteurs de la texture des fruits les plus corrélés aux mesures par tests de pénétrométrie et de compression, car ces tests physiques se rapprochent du processus de mastication (Harker *et al.*, 2002; Mehinagic *et al.*, 2004).

Chez la pomme, des modèles statistiques (**tableau 3**) ont été construits par régression linéaire pas à pas pour prédire la farinosité d'un morceau de pomme à partir d'une combinaison de variables de compression et de sonométrie (**tableau 4**) (Barreiro *et al.*, 1998). Les résultats obtenus montrent de bonnes corrélations entre les valeurs estimées et les valeurs observées pour la jutosité au cours de la mastication et pour le croustillant.

I.2 Facteurs impliqués dans la texture du fruit :

La texture est un critère de qualité complexe. Au cours du développement et de la maturation du fruit, la texture implique un grand nombre de facteurs de nature différente, qui sont régulés à différents niveaux d'échelle du fruit : anatomique, histologique et physico-chimique (Harker *et al.*, 1997a; Barrett *et al.*, 1998; Saladie *et al.*, 2007; Vicente *et al.*, 2007).

Facteurs anatomiques

La **taille du fruit** a souvent été considérée comme liée à la texture (Harker *et al.*, 1997a) : les gros fruits sont moins fermes que les petits fruits, notamment chez la framboise (Robbins and Moore, 1990), le kiwi (Hopkirk *et al.*, 1990) et la pomme (Blanpied *et al.*, 1978). Cependant, la taille du fruit est un caractère intégré des nombre et taille de cellules qui le composent, et donc la fermeté mesurée serait plus liée aux propriétés histologiques que directement à la taille du fruit (Johnson, 1992). Généralement, les gros fruits sont composés de grosses cellules, il y a donc moins de parois par unité de volume du fruit, et ils sont donc moins fermes que les petits fruits composés de petites cellules.

Le fruit de tomate présente une structure hétérogène (**figure 7**). Les **proportions et épaisseurs des tissus** (péricarpe, columelle, gel et peau), la forme du fruit, le nombre de loges varient selon les génotypes et peuvent influencer la texture du fruit (Barrett *et al.*, 1998; Chaib *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2013). Ces auteurs suggèrent que le nombre et l'épaisseur des cloisons pourraient modifier la

Test	Variable	Définition
Compression	JUICE	Surface sur le papier filtre recouverte par le jus de l'échantillon compressé (mm ²)
	Area1	Aire sous la courbe, correspondant à la phase décompression
	Area2	Aire sous la courbe, correspondant à la phase de relâchement après la compression
	F1	Force maximale (en N) enregistrée au premier pic de la courbe avec un seuil de 0.5N
	D1	Déformation nécessaire pour atteindre F1 (en mm)
	FD1	Pente de la courbe force déplacement (N/m) pour F1 et D1
Sonométrie	FREQ	Fréquence de résonance
	STIFF	Indice de rigidité du fruit calculé en fonction du poids du fruit et de la fréquence de résonance choisie

Tableau 3 : Définitions des variables de texture instrumentales en compression et en sonométrie pour prédire les variables sensorielles (jutosité, farinosité et croustillant) à partir de modèles statistiques chez la pomme (extrait de (Barreiro *et al.*, 1998)).

Variables utilisées	Descripteur estimé	Modèle	Type de modèle	R ² ajusté
Compression	Jutosité (1ère morsure)	= f (JUICE, Area2, F1, D1)	linéaire	0,83
	Jutosité (au cours de la mastication)	= f (JUICE, Area2)	linéaire	0,74
	Croustillant	= f (FD1, JUICE)	linéaire	0,67
	Farinosité	= f (Area2, D1, JUICE)	exponentiel	0,67
Compression et sonométrie	Jutosité (1ère morsure)	pas d'amélioration par rapport au précédent modèle avec uniquement les variables de compression		
	Jutosité (au cours de la mastication)	= f (JUICE, FREQ)	linéaire	0,85
	Croustillant	= f (STIFF, Area1, Area2)	linéaire	0,71
	Farinosité	pas d'amélioration par rapport au précédent modèle avec uniquement les variables de compression		

Tableau 4 : Modèles statistiques pour prédire des variables sensorielles (jutosité, farinosité et croustillant) par des variables de texture instrumentales (compression et sonométrie) chez la pomme (extrait de (Barreiro *et al.*, 1998)).

résistance du fruit à la déformation. Nos précédents travaux (Aurand *et al.*, 2012) ont également montré des corrélations négatives entre le nombre de loges et la fermeté en compression et en pénétrométrie. Cependant, d'après Barrett *et al.*, (1998), aucun des tissus du fruit n'est capable d'expliquer à lui seul la fermeté globale du fruit, qui n'est pas la somme des forces maximales de chaque tissu mesurées en pénétrométrie. Au cours de la maturation, le ramollissement du fruit est progressif, la columelle est le premier tissu à perdre sa fermeté suivi par les tissus externes de l'apex vers le pédoncule (Barrett *et al.*, 1998).

Le fruit est recouvert par **la cuticule** : enveloppe non vivante produite par l'épiderme de tous les organes des plantes vasculaires primaires (Esau, 1977). Les propriétés de cette enveloppe contribuent à la texture du fruit (Saladie *et al.*, 2007). La cuticule est un assemblage moléculaire hydrophobe complexe déposé sur les parois des cellules épidermiques constituées par des fibres non-orientées, caractérisée par un biopolymère, la cutine (polyester de glycérol et d'acides gras en C16 ou C18), recouvert par des cires. La cuticule assure une résistance mécanique à la déformation, liée à son anatomie (Matas *et al.*, 2004), mais limite aussi les pertes en eau par transpiration et protège le fruit contre les pathogènes (Saladie *et al.*, 2007). Ses propriétés élastiques et viscoélastiques sont attribuées à la cutine et aux polysaccharides qui sont intégrés à la matrice cuticulaire. Les polysaccharides confèrent sa rigidité à la cuticule alors que la cutine influence le caractère plastique (Lopez-Casado *et al.*, 2007). L'augmentation de la quantité de cires et la densification de la matrice cuticulaire au cours de la maturation auraient une action probable sur la fermeté et sur la perméabilité de la cuticule (Saladie *et al.*, 2007).

Facteurs histologiques

Le péricarpe du fruit est composé de trois tissus distincts : l'exocarpe, le mésocarpe, et l'endocarpe. L'exocarpe présente des cellules de petites tailles et il est recouvert par la cuticule. Le mésocarpe et l'endocarpe sont constitués de grandes cellules parenchymateuses (jusqu'à 200µm) possédant une grande vacuole. **Les propriétés et l'agencement des cellules** qui composent les trois tissus du péricarpe (épaisseur des parois, taille des cellules) contribuent aux propriétés mécaniques du fruit notamment sa fermeté (Allende *et al.*, 2004; Devaux *et al.*, 2008; Legland *et al.*, 2009; Aurand *et al.*, 2012).

La présence de **tissus vasculaires** dans le péricarpe (xylème, phloème) peut contribuer au caractère fibreux de la texture (Harker *et al.*, 1997a). Les vaisseaux sont constitués de cellule

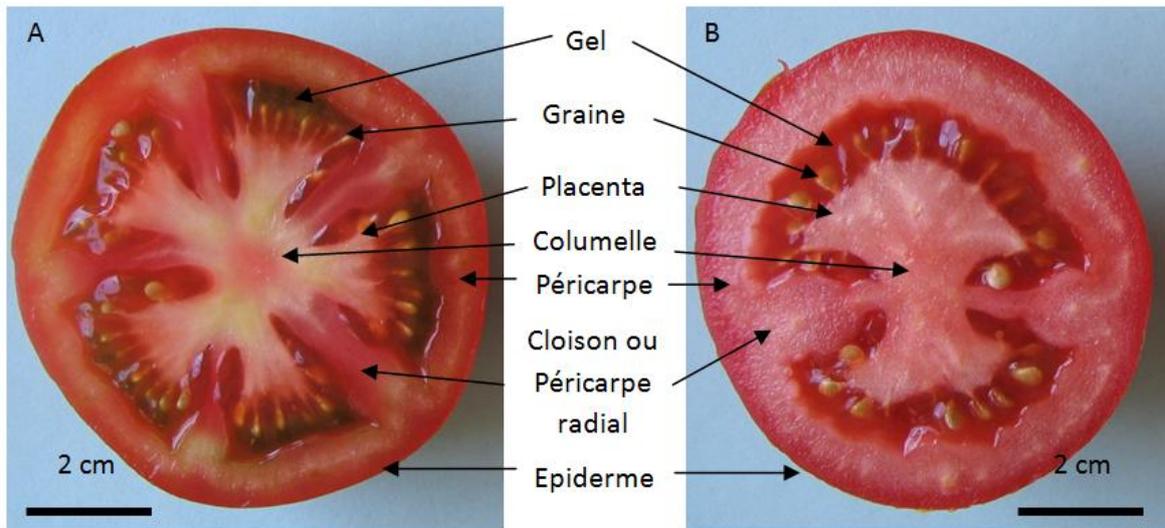


Figure 7 : Coupes transversales d'un fruit de tomate à maturité chez deux génotypes contrastés pour la texture : NIL-L4 (A) : génotype peu ferme et ViB (B) : génotype ferme.

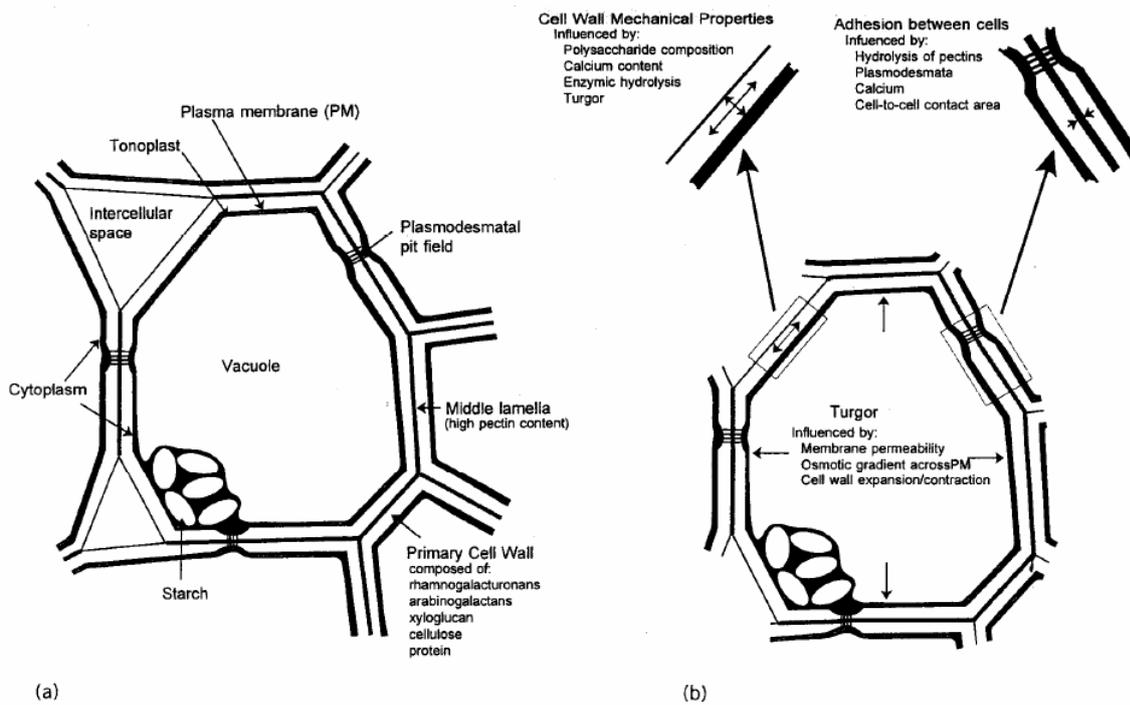


Figure 8 : Caractéristiques d'une cellule parenchymateuse du fruit (a) et mécanismes en lien avec les propriétés de texture du fruit (b), d'après Harker *et al.*, (1997).

allongées, lignifiées pour le xylème. Ils sont présents dans le péricarpe mais également dans les cloisons et la columelle du fruit.

La texture du fruit dépend également de la **cohésion cellulaire**. Celle-ci est due à trois facteurs : la rigidité de la lamelle moyenne, la proportion d'espaces intercellulaires, et la répartition des plasmodesmes (**figure 8**, (Harker *et al.*, 1997a)). La lamelle moyenne est une couche riche en pectine qui sépare les parois des cellules voisines. Les espaces intercellulaires déterminent la surface de contact entre cellules, et contribuent à l'adhésion cellulaire. Généralement, leur proportion dépend du type de fruit (la pomme présente de nombreux espaces intercellulaires, alors qu'ils sont très réduits chez la tomate). Ces espaces peuvent augmenter au cours de la conservation des pommes (Harker and Hallett, 1992). Ainsi, au cours de la maturation, la perte d'adhésion entre cellules voisines induit le fondant de la chair du fruit (bananes, pêches, kiwi), alors qu'une forte cohésion cellulaire comme celles des pommes ou des pastèques induit un caractère croustillant (Harker *et al.*, 1997a; Ghiani *et al.*, 2011).

Les facteurs liés aux parois

Les cellules parenchymateuses du fruit possèdent une paroi primaire peu épaisse et non lignifiée, dont les propriétés mécaniques contribuent à la texture du fruit. La paroi primaire est un assemblage de macromolécules (**tableau 5, figures 9 et 10**), composé de microfibrilles de **cellulose** enchevêtrées et liées par des liaisons non covalentes dans une matrice polysaccharidique composée de **pectine** et d'**hémicellulose** (Carpita and Gibeaut, 1993). La structure (liaison calcium-pectine) et les propriétés du réseau pectique seraient modulées par les concentrations en calcium (Rose *et al.*, 2003). Les hémicelluloses sont principalement constituées de xylanes, mannanes et xyloglucanes. Ces différentes macromolécules sont liées de façon non covalente et peuvent être séparées sous l'action d'enzymes (Cosgrove, 2005). Les polysaccharides pariétaux confèrent aux parois des propriétés mécaniques importantes : la plasticité et la rigidité, impliquées dans le contrôle de l'expansion cellulaire (Harker *et al.*, 1997a). Récemment, (Lahaye *et al.*, 2012) ont mis en évidence sur des génotypes de tomates contrastés pour leur texture (Levovil, NIL-L4, NIL-L9, VilB et NIL-B9) que nous utilisons pour notre étude, des compositions en polysaccharides pariétaux et des structures pariétales différentes, notamment au niveau de la structure fine des hémicelluloses et des pectines. Les résultats de ce travail soulignent une implication probable d'une région du chromosome 9 portant un QTL de fermeté dans la régulation du métabolisme du galactose au niveau des parois. Néanmoins, l'absence d'effet du QTL dans le fond génétique VilB suggère l'existence de phénomènes

Macromolécules	Sous-groupe
Cellulose	
Hémicelluloses	Xylanes
	Xyloglucane
	Mannane
	Glucomannane
	Galactomannane
	Callose
	Glucane
Pectines	Arabinogalactane II
	Arabinane
	Galactane
	Homogalacturonane
	Arabinogalactane I
Protéines structurales	Rhamnogalacturonane I et II
	Protéines riches en proline (PRP)
	Protéines riches en hydroxyproline (HRGP)
	Protéines riches en glycine (GRP)
Protéines enzymatiques	Protéines à arabinogalactane (AGP)
	Polygalacturonase (PG)
	Pectinméthylestérase (PME)
	β -galactosidase
	Xyloglucanes endotransglycosylase (XET)
	Endo- β -mannanase
	Endo- β -1,4-glucanase
Expansine	

Tableau 5 : Résumé des principaux constituants de la paroi primaire d'une cellule végétale.

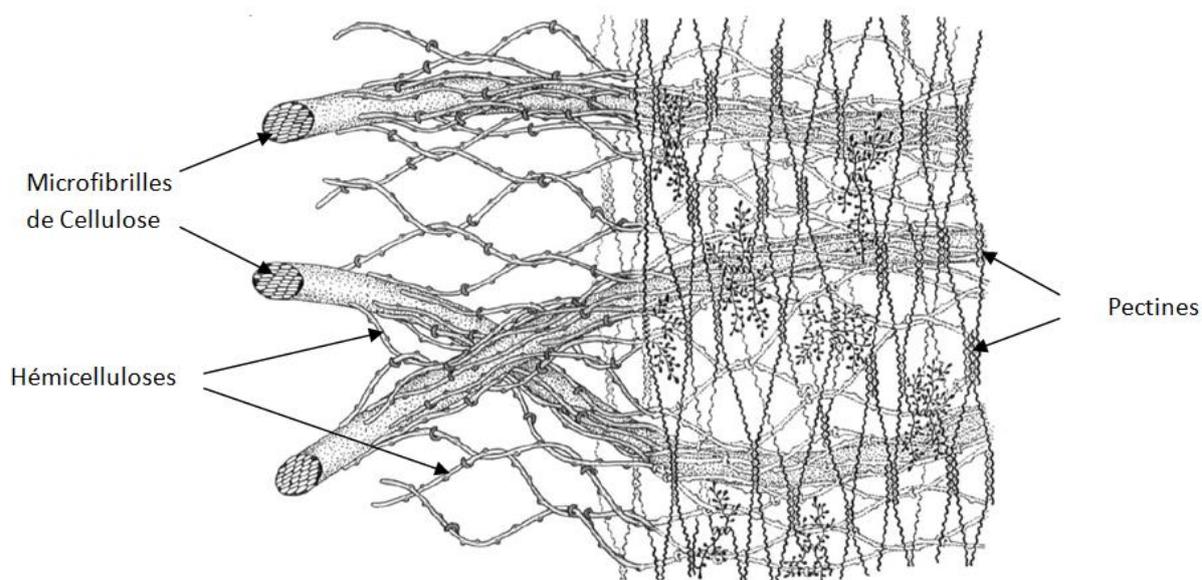


Figure 9 : Représentation schématique de la paroi primaire (Carpita and Gibeaut, 1993)

d'épistasie.

✓ En plus des polysaccharides pariétaux, les parois primaires contiennent également des protéines structurales et des protéines enzymatiques (Waldron *et al.*, 2003). Les **protéines structurales** sont classées en plusieurs groupes : les protéines riches en proline (PRP), riches en hydroxyproline (HRGP), riches en glycine (GRP) et les arabinogalactanes (AGP). Les HRGP, appelées extensines, sont impliqués dans la protection contre les agents pathogènes, le dessèchement et dans le renforcement mécanique des parois (consolidation du réseau fibrillaire). Le rôle des autres protéines structurales dans les parois cellulaires est peu connu. Les **protéines enzymatiques** sont également impliquées dans la texture du fruit. Elles présentent une large gamme de fonctions pour assurer la croissance des plantes, le développement, la maturation (remodelage des parois cellulaires) et la sénescence (Brummell and Harpster, 2001; Vicente *et al.*, 2002). Elles ont été largement étudiées notamment pour leur implication dans le ramollissement du fruit au cours de sa maturation (Crookes and Grierson, 1983; Seymour and Gross, 1996). Néanmoins aucune enzyme clé ne permet d'expliquer le ramollissement du fruit. Les **polygalacturonases** et les **pectines méthylestérases** ont été souvent considérées comme les enzymes principales pour la dépolymérisation et la dé-estérification des pectines (Matteo *et al.*, 2005). Cependant, des études à partir de tomates transgéniques rendant les gènes de ces enzymes inactifs montrent que leur suppression n'entraîne que de faibles effets sur le ramollissement du fruit (Brummell and Harpster, 2001; Powell *et al.*, 2003). De la même façon, l'action d'autres enzymes pariétales ne suffit pas à expliquer les modifications de texture (Rose, 2003). Parmi les enzymes, les **β -galactosidases** participent à la dégradation des polymères de galactoses liés aux polysaccharides pectiques. Chez la tomate, sept β -galactosidases ont été identifiées, qui s'expriment à différents stades de développement du fruit (Smith and Gross, 2000). Les **pectines lyases** et **acétylestérases** pourraient également être impliquées dans le recyclage des pectines (Vicente *et al.*, 2007). La dégradation des hémicelluloses est réalisée par des **endo- β -1,4-glucanases** qui dégradent les xyloglucanes et les polymères de glucanes associés aux microfibrilles de cellulose. Ces enzymes s'expriment à tous les stades (Saladie *et al.*, 2006). Les **xyloglucanes endotransglycosylases** (XET) coupent également les polymères de xyloglucanes et lient l'extrémité réduite obtenue à l'extrémité non réduite d'une autre molécule de xyloglucanes. Chez la tomate, leur activité est très élevée pendant la phase d'expansion cellulaire puis décroît jusqu'à la maturation où leur activité est à nouveau élevée (Vicente *et al.*, 2007). Les **Endo- β -mannanases** auraient aussi un rôle dans la maturation des tomates en participant à la dégradation des parois cellulaires, leur rôle exact n'est cependant pas établi (Bewley *et al.*, 2000). Leur activité n'est pas corrélée avec la fermeté du fruit, bien qu'elle augmente au niveau de l'épiderme et du péricarpe externe au cours de la maturation (dès le stade vert) (Wang *et al.*, 2009).

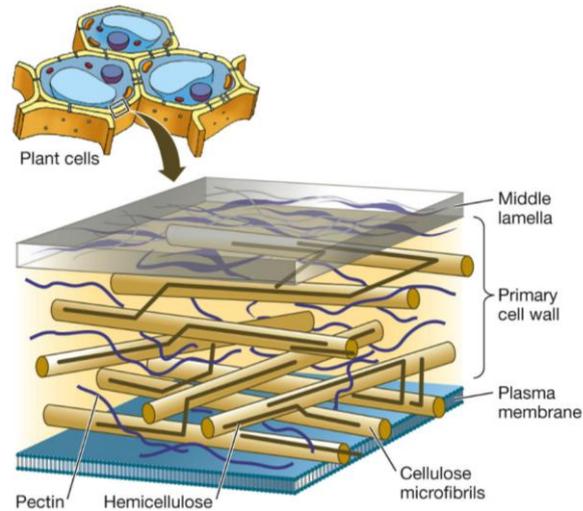


Figure 10 : Schéma de la paroi cellulaire des végétaux (Sadava *et al.*, 2009)

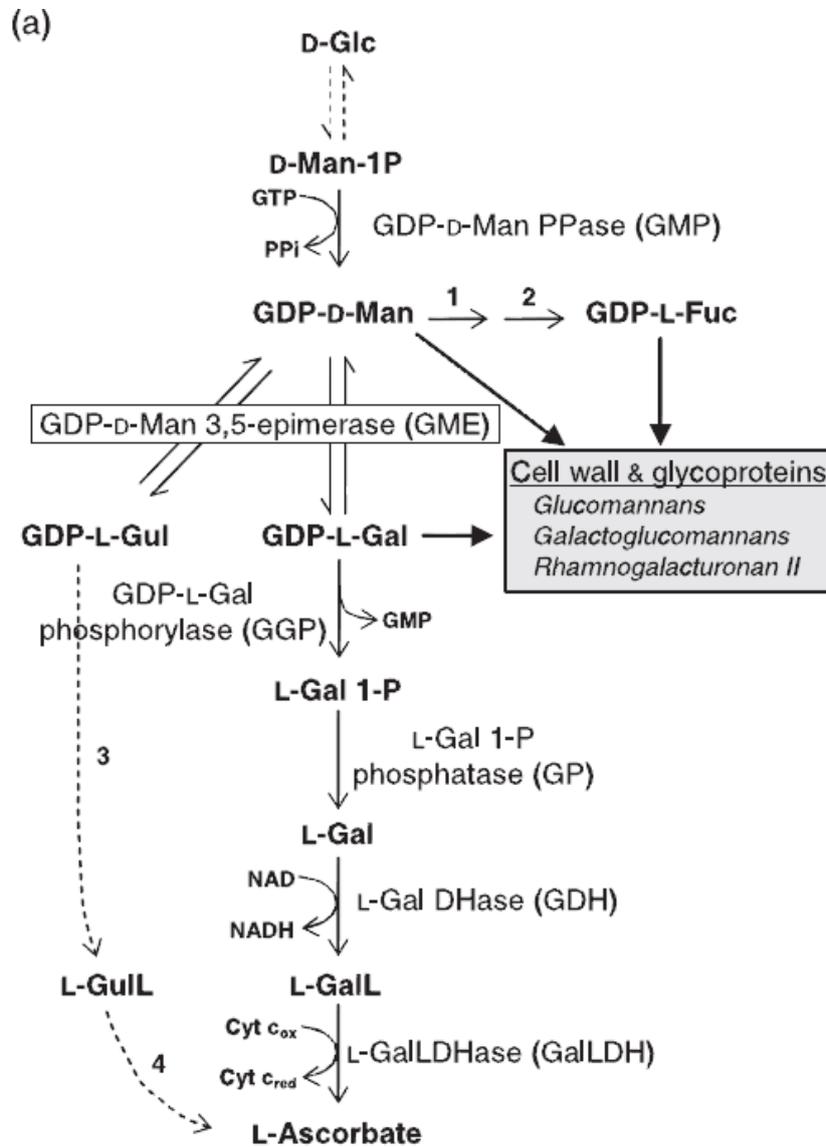


Figure 11 : Voie de biosynthèse de la vitamine C (L-Ascorbate) dans les feuilles et les fruits de tomate (Gilbert *et al.*, 2009).

Enfin, d'autres protéines, les **expansines**, ont un rôle déterminant dans le métabolisme des parois. Elles permettent la déformation de la paroi et facilitent ainsi l'accès des hémicellulases et pectinases. De cette façon, elles participent au désassemblage des parois au cours de la maturation (Cosgrove, 1999; Muller *et al.*, 2007).

Facteurs biochimiques

✓ **La turgescence cellulaire et l'état hydrique des tissus.**

La régulation de la turgescence est liée aux flux d'eau et au transport des solutés entre les différents compartiments cellulaires (Almeida and Huber, 1999). Au cours de la maturation, la diminution de la turgescence cellulaire accompagne la perte de fermeté des fruits (Shackel *et al.*, 1991). Le mutant de tomate DFD (delayed fruit deterioration) qui présente une cuticule modifiée limitant les pertes d'eau reste ferme pendant des mois. Chez ces fruits, la maturation se met en place normalement et les parois cellulaires se relâchent mais le fruit transpire peu et conserve une forte turgescence des cellules (Saladie *et al.*, 2007). La turgescence est fortement impliquée dans la fermeté mais ne peut pas expliquer seule les variations de fermeté en post récolte (Johnston *et al.*, 2002). De plus, une étude récente sur la comparaison des pêches à chair fondante et non fondante montre que les modifications des états hydriques de l'apoplasme (continuum extracellulaire formé par les parois pectocellulosiques et les espaces vides entre les cellules) et du symplasme semblent réguler la fermeté de la pêche (Ghiani *et al.*, 2011). Les mêmes observations ont été faites sur la tomate (Saladie *et al.*, 2007).

✓ **Synthèse de précurseurs pariétaux à partir de la voie de biosynthèse de vitamine C.**

Dans le fruit de tomate, la vitamine C (ascorbate) est le principal antioxydant, qui protège les cellules végétales contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui sont générées par des processus physiologiques mais aussi par les stress biotiques et abiotiques. Chez la pomme, le maintien des concentrations en vitamine C réduite assure une meilleure conservation des fruits (Davey and Keulemans, 2004). Chez la tomate, il existe également une corrélation positive entre la fermeté des fruits et la concentration en vitamine C réduite au cours de la conservation au froid (chilling stress) (Stevens *et al.*, 2008). Récemment, Gilbert *et al.*, (2009) ont proposé l'existence d'un lien entre les voies de biosynthèse de l'ascorbate et des composés pariétaux (**figure 11**). La synthèse de GDP-D-mannose est la première étape de la voie de biosynthèse de la vitamine C, or ce sucre est le précurseur du D-mannose, L-fucose, L-galactose, et donc le précurseur des hémicelluloses (Galactoglucomannans) et des pectines (rhamnogalacturonan II).

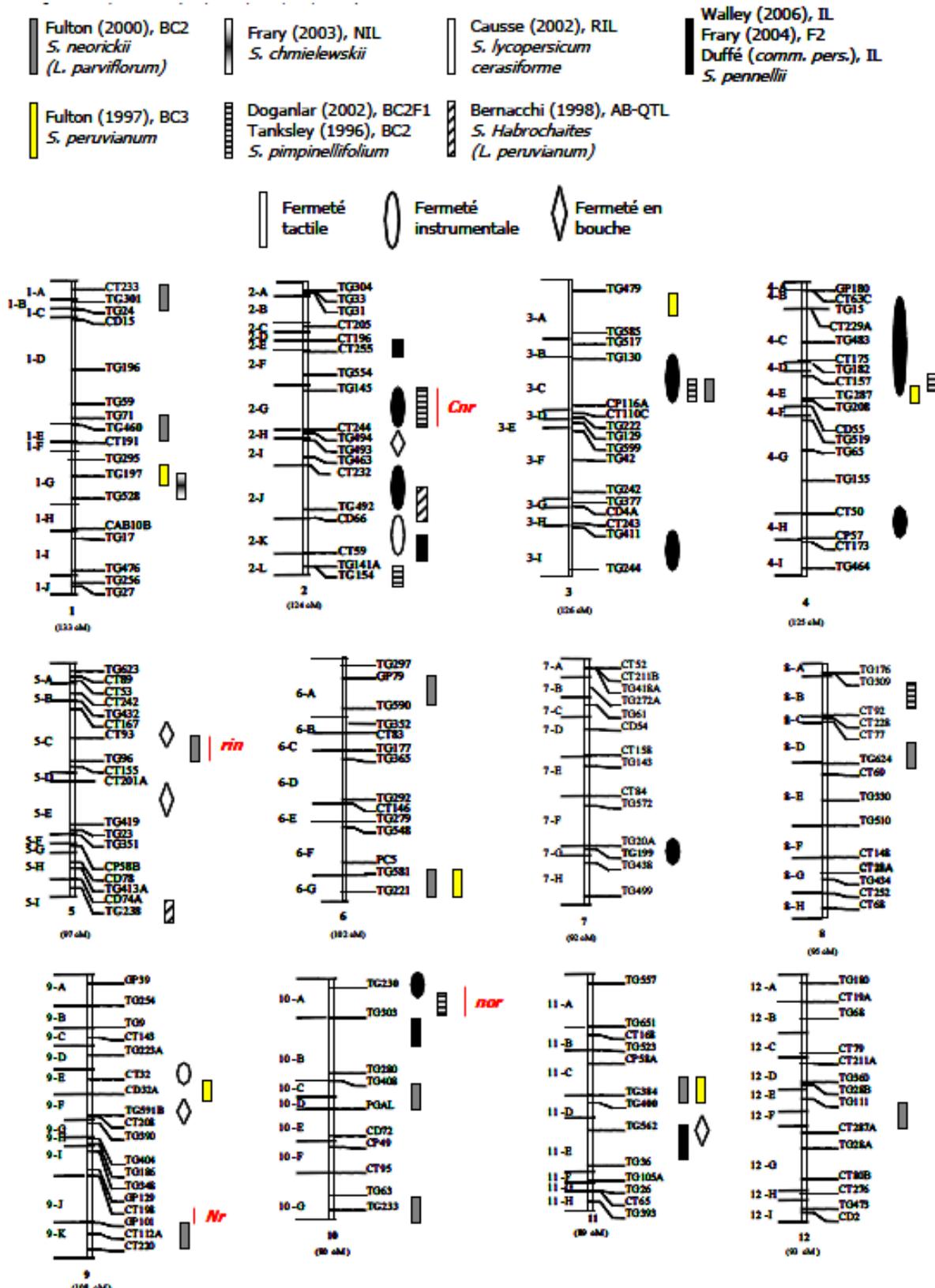


Figure 12 : Carte de synthèse des QTL contrôlant la fermeté du fruit, détectés dans différentes populations issues de croisement entre *Solanum lycopersicum* et *Solanum sp* (extrait de la thèse de J. Chaïb, 2007). La localisation des QTL et des mutations *Nr*, *rin*, *nor* et *Cnr* est représentée à droite de chaque chromosome. La forme du symbole fait référence à la méthode de mesure et le remplissage à l'espèce croisée avec *S. lycopersicum*. Le type de population utilisée pour la détection de QTL est précisé (F2, RIL, BC, IL, NIL).

II. Contrôle génétique de la texture du fruit de tomate

II.1 QTL de texture du fruit

Le développement des méthodes de biologie moléculaire a permis l'étude des bases génétiques de caractères quantitatifs via la recherche des régions du génome qui les contrôlent : les QTL (Quantitative Trait Loci) (Tanksley, 1993). Par cette approche, divers QTL contrôlant le rendement et la qualité des fruits de tomate ont été identifiés (Eshed and Zamir, 1995; Tanksley *et al.*, 1996; Chen *et al.*, 1999; Frary *et al.*, 2004). En règle générale, quelques QTL suffisent pour expliquer une large variation phénotypique (20 à 50%) (Causse, 2011). Ainsi, plusieurs études de génétique quantitative ont permis de détecter des QTL contrôlant la texture de fruits, notamment à partir de mesures de fermeté manuelles ou instrumentales (Tanksley *et al.*, 1996; Fulton *et al.*, 1997; Bernacchi *et al.*, 1998; Fulton *et al.*, 2000; Causse *et al.*, 2002; Doganlar *et al.*, 2002; Frary *et al.*, 2003; Frary *et al.*, 2004; Labate *et al.*, 2007). Pas moins de 46 QTL contrôlant la fermeté ont été cartographiés sur l'ensemble du génome de la tomate en utilisant sept populations différentes (**figure 12**) (Causse, 2011). Pour la tomate, plusieurs régions du génome sont particulièrement importantes dans le contrôle de la texture (Causse *et al.*, 2002; Chaib *et al.*, 2006; Chaib *et al.*, 2007). Leur introgression dans différents fonds génétiques montre que la stabilité des QTL doit être analysée. En effet, les QTL introgressés peuvent s'exprimer différemment en fonction des conditions environnementales ou bien du fond génétique sélectionné (Chaib *et al.*, 2006). Une étude réalisée sur des plantes de tomate cultivées à deux charges en fruits contrastées, confirme l'existence de fortes interactions QTL x environnement et révèle que le nombre de QTL stable en conditions variables est très faible (Prudent *et al.*, 2009).

Si l'analyse QTL permet d'orienter la sélection pour des critères de texture, elle ne permet pas à ce jour d'en comprendre les mécanismes génétiques et physiologiques, aucun QTL de texture n'ayant encore été cloné.

II.2 Gènes impliqués dans la texture du fruit

Les connaissances actuelles sur l'évolution de la texture au cours de la maturation et sur les mécanismes impliqués proviennent pour une part importante de travaux portant sur des mutants de maturation (Seymour *et al.*, 2002; Giovannoni, 2007; Vicente *et al.*, 2007). La tomate est un fruit climactérique, caractérisé par une activité respiratoire et une synthèse d'éthylène élevées au début de la maturation. De nombreux travaux sur les gènes impliqués dans la biosynthèse et les réponses à

l'éthylène ont montré qu'une diminution de la synthèse d'éthylène augmente la durée de vie du fruit (Hamilton *et al.*, 1990; Oeller *et al.*, 1991). Le gène Nr (Never ripe) a été le premier mutant de maturation décrit, inhibant la maturation du fruit (Rick, 1956), et codant pour un récepteur de l'éthylène. Plus récemment, un nouveau mutant GR (Green Ripe) réduisant la sensibilité à l'éthylène, a été identifié avec un phénotype semblable au mutant Nr (Barry and Giovannoni, 2006). Il s'agit d'une mutation dominante affectant la séquence 5' non codante d'un gène de protéine membranaire de fonction encore inconnue.

D'autres mutations (rin (ripening inhibitor) et nor (non-ripening)) ont été caractérisées par clonage positionnel. Elles affectent des facteurs de transcription et conduisent au blocage des processus de maturation, irréversible après un traitement à l'éthylène (Klee and Giovannoni, 2011). En plus de l'inhibition de la maturation, le phénotype induit par la mutation Cnr (colorless nonripening), présente un péricarpe farineux avec d'importantes pertes d'adhésion intercellulaire, et bloque la biosynthèse de caroténoïdes (Thompson *et al.*, 1999). Les travaux de Manning *et al.*, (2006) ont permis de montrer qu'il s'agit d'une mutation épigénétique affectant un facteur de transcription.

Des plantes transgéniques sous exprimant ou sur-exprimant des gènes impliqués dans la réception des signaux auxiniques, montrent des phénotypes affectés sur la texture du fruit. C'est le cas des plantes modifiées pour le facteur de réception à l'auxine DR12 dont le fruit reste vert et ferme. Ce fruit montre également des divisions cellulaires non conformes au niveau du péricarpe et une proportion plus importante de cellules du collenchyme sous épidermique en lien avec l'augmentation de fermeté du fruit (Guillon *et al.*, 2008).

Grâce aux données de séquence du génome de la tomate, il est possible de rechercher des gènes orthologues de gènes connus chez *Arabidopsis* pour leur rôle dans la structure de la paroi cellulaire, et de modifier par transgénèse leur expression dans le fruit afin d'en étudier les effets sur sa texture. Récemment Cao *et al.*, (2012) ont ainsi altéré l'expression fruit spécifique d'un gène (analogue du gène COBRA) codant pour une protéine membranaire comportant une ancre GPI (glycosylphosphatidylinositol) et jouant un rôle dans la structuration de la cellulose dans la paroi. Chez la tomate, le gène SICOBRA-like (porté par le chromosome 2) est très exprimé dans les organes végétatifs et dans les très jeunes fruits, et son expression diminue au cours de la maturation. Lors du développement du fruit, la sous expression du gène altère les parois cellulaires et favorise la synthèse de protéines responsables de la dégradation des parois. Au contraire sa surexpression permet une amélioration de la fermeté dès l'expansion cellulaire et de la durée de vie des fruits, ainsi qu'une augmentation de l'épaisseur des parois des cellules de l'épiderme et de la synthèse de

cellulose, enfin une réduction de la solubilisation des pectines du péricarpe (Cao *et al.*, 2012).

Ces approches faisant appel à la biologie moléculaire sont précieuses pour connaître les gènes clés de la texture mais s'avèrent lourdes et très ciblées. De nombreux gènes portant des mutations naturelles restent à identifier, comme par exemple dans le cas de la mutation DFD précédemment décrite qui présente des effets forts sur le phénotype du fruit en termes de texture.

III. Conditions de l'environnement et effets du stress hydrique sur la texture

La texture du fruit est modulée par les facteurs environnementaux, notamment les conditions de croissance, de récolte et les conditions post-récolte, qui impactent les processus physiologiques sous-jacents à la texture (Sams, 1999; Ketelaere *et al.*, 2004; Casierra-Posada and Aguilar-Avendano, 2008; Moneruzzaman *et al.*, 2008; Rosales *et al.*, 2009).

III.1 Facteurs de l'environnement pouvant affecter la texture du fruit

a) Conditions pré-récolte

Lors de sa croissance et de son développement, la texture du fruit est affectée par les conditions environnementales. La lumière (en dessous des seuils de saturation photosynthétique) est certes nécessaire au développement et à la croissance du fruit mais elle peut aussi améliorer sa texture (Sams, 1999). Raffo *et al.*, (2011), montrent que l'exposition des poires au soleil (rayonnement et température élevés), rend les fruits récoltés à maturité plus fermes que ceux qui sont ombragés. Les mêmes résultats ont été observés pour les mangues (Joas *et al.*, 2012) et pour les pommes (Blanpied *et al.*, 1978). La situation inverse est observée pour les prunes (Murray *et al.*, 2005). Il est cependant nécessaire de noter qu'un excès de lumière peut créer des brûlures, ce qui tend à réduire la fermeté des pommes (Adegroye *et al.*, 1989). L'approvisionnement en eau et la période d'application peuvent jouer un rôle majeur dans la texture du fruit, mais les effets sont controversés (cf paragraphe III.2). Par exemple, une irrigation déficitaire améliore la fermeté des pommes (Leib *et al.*, 2006; Hooijdonk *et al.*, 2007), mais pas celle des abricots (Perez-Pastor *et al.*, 2007).

b) Conditions post-récolte

Les conditions post récolte de stockage des fruits peuvent modifier la fermeté des fruits et

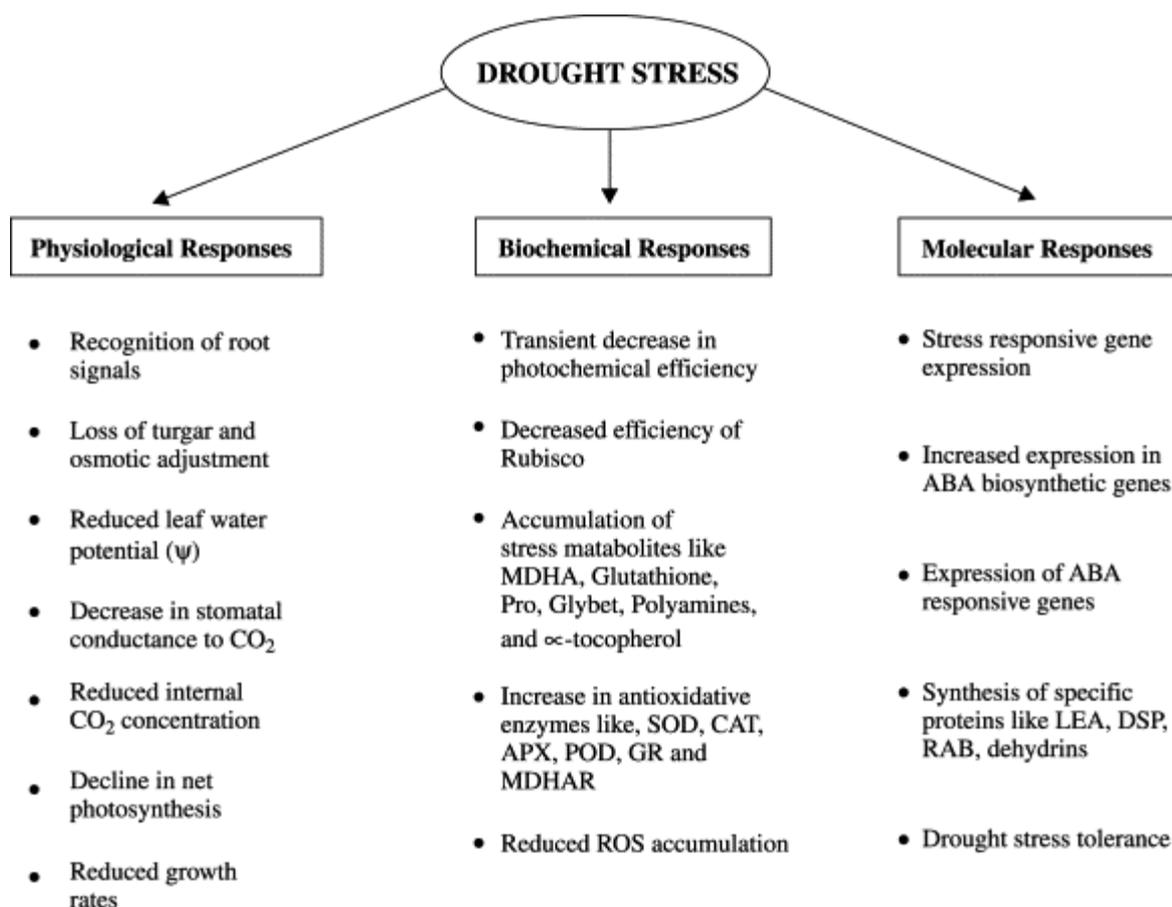


Figure 13 : Différents types de réponses au stress hydrique (Shao *et al.*, 2008).

donc leur ramollissement. Les pommes placées sous atmosphère contrôlée (réduction de l'O₂ de 21 à 2,5%) voient leur fermeté maintenue. Le ralentissement du ramollissement pourrait s'expliquer en partie par une réduction de la synthèse et de l'action de l'éthylène et par une diminution de la respiration mais les mécanismes précis restent encore peu connus (Johnston *et al.*, 2002). Des travaux plus récents sur les pommes (Kweon *et al.*, 2013), soulignent l'importance du taux de CO₂ pour maintenir la qualité des pommes au cours de la conservation. La température de conservation influence également la fermeté des fruits. La température (entre 2°C et 21°C) est corrélée négativement à la fermeté des fruits (tomate (Stevens *et al.*, 2008; Page *et al.*, 2010); pomme (Blanpied *et al.*, 1978; Kweon *et al.*, 2013)). Les effets de l'environnement sont nombreux, mais les mécanismes sous-jacents sont assez peu connus. Les résultats contradictoires sont probablement liés à de nombreuses interactions et facteurs impliqués.

III.2 Effets du stress hydrique

Parmi les facteurs environnementaux, l'alimentation en eau a un effet majeur sur la croissance et la qualité des fruits charnus. En particulier, plusieurs paramètres physiologiques peuvent être affectés à l'échelle de la plante ou du fruit : conductance, respiration, photosynthèse, transpiration, croissance (**figure 13**, (Shao *et al.*, 2008)). Ces modifications sont à relier aux caractéristiques des cellules (nombre, taille et turgescence), des flux d'eau au sein du fruit (Saladie *et al.*, 2007) et des métabolismes primaire et secondaire.

Dans la littérature, plusieurs termes sont utilisés pour décrire le niveau d'alimentation hydrique des plantes. On parle de déficit hydrique, quand l'eau disponible dans la plante n'est pas suffisante pour répondre à la demande climatique, de contrainte hydrique quand le fonctionnement de la plante est affecté mais que les tissus de la plante ne subissent pas de baisse de leur teneur en eau. Et puis, on utilise les termes de stress hydrique quand la teneur en eau des tissus de la plante est affectée ainsi que son fonctionnement (Lecoeur, 2007). Dans tous les cas, la durée du traitement est importante. Un stress hydrique long (effectif sur toute la période de culture) ou ponctuel (sur une phase courte du développement du fruit, de l'ordre de la semaine) n'aura pas les mêmes conséquences sur la plante et sur le fruit. Les voies de réponses au stress seront différentes : lors d'un stress long la plante met en place une réponse adaptative (réduction des surfaces foliaires, augmentation du potentiel osmotique), alors que face à un stress ponctuel, il s'agit plutôt d'une réponse de protection immédiate (fermeture des stomates).

a) Effets globaux du stress hydrique au niveau de la plante et aux niveaux cellulaire et moléculaire

A l'échelle de la plante, les effets du stress hydrique sont bien connus chez la tomate (Mitchell *et al.*, 1991; Pulupol *et al.*, 1996; Plaut *et al.*, 2004). Le stress hydrique entraîne la fermeture des stomates, ce qui permet de limiter les pertes en eau par transpiration (Blum, 1996). La régulation de la fermeture des stomates induit une diminution des échanges de gaz comme le CO₂, ce qui provoque un ralentissement de la photosynthèse (Xoconostle-Cazares *et al.*, 2010). Le stress hydrique induit également une diminution du potentiel hydrique de la plante, ce qui limite l'expansion cellulaire des organes. Le taux de division cellulaire est également réduit, notamment au niveau des feuilles. La croissance de la plante est ralentie (Skirycz and Inze, 2010; Tardieu *et al.*, 2011) et le système racinaire se densifie, mais dans certains cas, la croissance racinaire n'est pas affectée par le stress hydrique (Chaves *et al.*, 2003; Chaves and Oliveira, 2004). En cas de stress fort, un stress carboné et un stress oxydatif peuvent se superposer au stress hydrique. La plante modifie alors son développement, l'allocation des ressources et son métabolisme.

Les organes stressés mettent en place un ajustement osmotique, permettant ainsi de maintenir leur potentiel hydrique (Chaves *et al.*, 2003), comme dans le fruit (Mitchell *et al.*, 1991). L'ajustement osmotique se fait par une accumulation de solutés organiques comme les sucres (fructans, amidon, mono et di saccharides, tréhalose, raffinose, polyols), les ammoniums quaternaires (glycine bêtaïne, alanine bêtaïne), des protéines solubles et des acides aminés comme la proline. Chez les végétaux (et chez le fruit de tomate), ces différentes molécules ont la capacité de stabiliser les structures cellulaires, de maintenir la turgescence cellulaire par ajustement osmotique, et de maintenir l'équilibre rédox au sein de la cellule (Plaut and Ben-Hur, 2005; Krasensky and Jonak, 2012; da Silva, 2013).

Au niveau génétique, un grand nombre de gènes est sensible au stress hydrique. Parmi eux certains sont impliqués dans la production d'osmo-protecteurs, des enzymes détoxifiantes, des transporteurs, des protéines régulatrices de facteurs de transcription, des protéines kinases ou des phosphatases, des molécules de signalisation (ABA) et de sucres (Krasensky and Jonak, 2012).

b) Effets du stress hydrique sur la qualité et la texture du fruit

Les modes d'application du stress hydrique sont souvent différents selon les travaux présentés dans la littérature. Dans cette partie, nous exposerons les principaux effets du stress hydrique, en précisant le type de stress appliqué. Les effets du stress hydrique varient en fonction de

la phase de développement du fruit de tomate (Nuruddin *et al.*, 2003). Un stress appliqué uniquement lors de la floraison induit une plus faible production de fruits mais des fruits de plus grosse taille (Nuruddin *et al.*, 2003). Un stress hydrique (réduction 65% de la capacité au champ) tout au long de la saison de production réduit de manière significative le nombre et la taille des fruits (Nuruddin *et al.*, 2003). Un stress long peut également provoquer le flétrissement des fruits, ce qui les rend non commercialisables (Sams, 1999).

Plusieurs effets sont communs aux différents types de stress hydrique. Globalement, la qualité des fruits est améliorée en condition de stress. On constate une augmentation du taux de matière sèche, des sucres, des acides, des antioxydants, notamment de la vitamine C, et de l'intensité de la couleur des fruits (chez la tomate : (Barbagallo *et al.*, 2013): aucun arrosage après plantation tomate d'industrie, (Plaut *et al.*, 2004) : réduction de 40% des apports d'eau ; (Mitchell *et al.*, 1991) : arrêt de l'arrosage 50 jours et 75 jours avant récolte, (Patane and Cosentino, 2010) : réduction de 50% des apports d'eau à partir de la floraison, (Lenucci *et al.*, 2010) : arrêt de l'irrigation, après plantation, (Kang *et al.*, 2009) : stress hydrique modéré et fort, respectivement avec un potentiel hydrique du sol de -30kPa et -40kPa, appliqués après anthèse du premier bouquet) ; chez le citron : (Ballester *et al.*, 2013) : arrosage équivalent à 50% de l'évapotranspiration pendant 3 mois après floraison, puis retour à irrigation normale).

Le stress hydrique a également des effets négatifs pour les producteurs : le rendement est réduit par deux (pour une réduction 65% de la capacité au champ), de même que le nombre de fruits commercialisable (de 80% à 55% du rendement) et le poids des fruits (Nuruddin *et al.*, 2003; Kang *et al.*, 2009; Barbagallo *et al.*, 2013). Kang *et al.*, (2009) suggèrent également que le stress hydrique accélère la maturation des tomates.

En ce qui concerne la fermeté des fruits en condition de stress hydrique, les effets sont controversés. Pour Patane *et al.*, (2010), la fermeté du fruit de tomate augmente en condition de stress hydrique. Les mêmes résultats ont été observés chez la pomme avec une irrigation réduite à 50% de l'évapotranspiration 40 jours après floraison (Leib *et al.*, 2006). D'autres travaux sur la pomme, montrent que le stress hydrique appliqué 7 jours après floraison ne modifie pas la fermeté du fruit (Hooijdonk *et al.*, 2007). Chez l'abricot, Perez-Pastor *et al.*, (2007) confirme également l'absence d'effet induit par une irrigation réduite à 50% de l'évapotranspiration tout au long de la culture. Au contraire, chez la pêche (Vallverdu *et al.*, 2012), la réduction d'apport d'eau jusqu'à atteindre un potentiel hydrique de tige de -1.8 MPa au stade II de développement du fruit, réduit la fermeté des fruits.

IV. Le protéome du fruit de tomate

La protéomique est la science qui étudie les protéomes (**PRO**tein complement expressed by a gen**OME**), c'est-à-dire l'ensemble des protéines d'une cellule, d'un organe, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme à un moment donné et sous des conditions données (Wilkins *et al.*, 1996; James, 1997). Le protéome est dynamique contrairement au génome qui est statique.

L'approche combine généralement une étape d'extraction des protéines suivie de phases de séparation, par électrophorèse ou chromatographie, par exemple. Les protéines sont ensuite identifiées par spectrométrie de masse. Les avancées technologiques réalisées cette dernière décennie, en matière de spectrométrie de masse ainsi que l'explosion des bases de données de séquences nucléiques ou protéiques, ont contribué à l'essor considérable de la protéomique. La protéomique est une approche à la fois qualitative et quantitative, complémentaire d'autres approches « omics » : génomique, transcriptomique, métabolomique. Cette approche fournit un profil phénotypique dans des conditions environnementales données et permet par comparaison entre profils de mettre en évidence une ou plusieurs protéines surexprimées ou sous exprimées en lien avec un caractère observé ou une condition appliquée.

La recherche dans le domaine végétal profite pleinement de la protéomique ainsi qu'en attestent les nombreuses revues publiées (Zivy and de Vienne, 2000; Thiellement *et al.*, 2002; Rose *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2006; Rossignol *et al.*, 2006; Palma *et al.*, 2009; Job *et al.*, 2011; Hakeem *et al.*, 2012).

Les travaux portant sur les protéines du fruit et, notamment chez la tomate, ont longtemps porté de manière ciblée sur telle ou telle protéine s'exprimant essentiellement au cours du mûrissement et pouvant expliquer le ramollissement du fruit (Redgwell *et al.*, 1997; Brummell and Harpster, 2001; Rose *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2007).

Les premiers travaux de protéomique du fruit (climactérique ou non-climactérique) sont relativement récents et ont fait l'objet d'une publication de synthèse (Palma *et al.*, 2011). La plupart de ces travaux ont porté sur l'analyse des variations du protéome au cours du développement et de la maturation des fruits : chez la tomate (Rocco *et al.*, 2006; Faurobert *et al.*, 2007; Konozy *et al.*, 2013), le raisin (Grimplet *et al.*, 2009), le citron (Katz *et al.*, 2004), la pomme (Guarino *et al.*, 2007), la pêche (Nilo P *et al.*, 2012) et l'abricot (D'Ambrosio *et al.*, 2013).

Les premières données de protéomique du fruit de tomate sont issues des travaux de Rocco *et al.*, (2006) qui comparent les fruits de 2 variétés à 2 stades de développement (Rocco *et al.*, 2006). Les fonctions de 83 spots sont en relation avec certains processus physiologiques majeurs de la maturation : le statut redox, la réponse aux stress, le métabolisme carboné et la fourniture d'énergie. Quelques différences entre les 2 génotypes sont intéressantes à rapprocher des caractéristiques de qualité de ces génotypes. Ainsi la malate deshydrogénase voit son expression diminuer dans le fruit mature chez Ailsa Craig alors que sa quantité s'accroît chez San Marzano qui présente un goût particulièrement sucré et non acide.

Le premier suivi cinétique des variations du protéome au cours du développement et de la maturation du fruit de tomate provient des travaux de Faurobert *et al.*, (2007), reposant sur un génotype de tomate cerise : Cervil, génotype qui fait partie de ceux étudiés dans notre travail. Les protéines du péricarpe du fruit ont été extraites à 6 stades de développement du fruit. Ce travail a montré que les profils protéiques obtenus par électrophorèse bidimensionnelle sont bien en relation avec les différentes phases de développement du fruit : phase de divisions cellulaires, phase d'expansion cellulaire et enfin de maturation du fruit. Les protéines en lien avec la synthèse des acides aminés et des protéines sont principalement exprimées pendant la phase de division cellulaire et sont sous-exprimées ensuite. Les protéines en lien avec la photosynthèse et la formation de la paroi augmentent de façon transitoire pendant la phase d'expansion cellulaire. Enfin, les protéines du métabolisme des sucres et celles impliquées dans le stress oxydatif montrent leur abondance maximale pendant la phase de maturation, en particulier la β -fructofuranosidase (invertase acide qui hydrolyse le saccharose en glucose et fructose) et une protéine E8 (similaire à une oxydoréductase régulée par l'éthylène). Au cours de cette dernière phase, l'accumulation de nombreuses protéines de réponse au stress et liées à la sénescence du fruit a été observée (ascorbate peroxidase, peptide methionine sulfoxide reductase, lipoxygénase B, lipoprotein-like, lipocalin-like et HSP).

L'évolution du protéome du fruit en post-récolte, notamment au cours du stockage des fruits au froid, chez les génotypes Levovil, NIL-L9, ViB et NIL-B9 (Page *et al.*, 2010) a montré le ralentissement de l'accumulation des protéines impliquées dans la maturation. Elle suggère une probable régulation post-traductionnelle de la polygalacturonase et met en évidence la surexpression des protéines participant à la tolérance au froid. La différence de perte de fermeté au froid entre NIL-L9 et NIL-B9 est mise en regard de l'expression génotypique spécifique de certaines petites protéines HSP ainsi que de protéines intervenant dans la protection du réticulum endoplasmique vis-à-vis des stress.

IV.1 Protéines pariétales

Dans les résultats de Faurobert *et al.*, (2007) peu de protéines impliquées directement dans le métabolisme pariétal ont été identifiées. Ceci est essentiellement dû à la méthode d'extraction utilisée qui ne ciblait pas les protéines de la paroi. En effet, de part leurs caractéristiques physico-chimiques, les protéines pariétales, notamment les protéines de structure nécessitent l'utilisation de méthodes spécifiques de solubilisation. Toutefois, quelques hydrolases des parois ont été identifiées : β -xylosidase (LeXyl2), β -galactosidase, α -galactosidase et β -1,3-endoglucanase.

Dans leur revue récente sur le fruit de tomate, Riuz-May et Rose (2013) font le bilan des difficultés d'étude des protéines de la paroi et analysent les quelques travaux de protéomique publiés (4 publications). Yeats *et al.*, (2010) s'intéressent spécifiquement aux protéines de la cuticule, Catala *et al.*, (2011) isolent les glycoprotéines du fruit, Shah *et al.*, (2012) recherchent les protéines extracellulaires associées à l'interaction avec le champignon *Botrytis cinerea* et Konozy *et al.*, (2013) comparent les secrétomes de fruits mûrs de Cervil, Levovil et VilB en s'intéressant d'une part aux protéines solubles de l'apoplaste et d'autre part aux protéines faiblement liées à la matrice polysaccharidique. Dans ce travail, 75 protéines ont été identifiées dont plusieurs protéines interagissant avec les polysaccharides, ou impliquées dans le métabolisme des lipides, des protéines présentant des domaines d'interaction, des oxido-réductases et des protéases. Les résultats suggèrent l'existence d'une variabilité génétique au niveau des protéines de la paroi : des différences dans les répertoires de protéines identifiées ont pu être mises en évidence entre les 3 génotypes. Le rôle de ces protéines dans les caractéristiques de texture des 3 génotypes reste à explorer.

IV.2 Effet du stress hydrique sur le protéome

Au niveau des organes végétatifs

Les effets du stress hydrique sur le protéome des fruits ont été peu étudiés par rapport aux travaux existants sur les organes végétatifs (peuplier (Bonhomme *et al.*, 2009), blé (Caruso *et al.*, 2009), canne à sucre (Jangpromma *et al.*, 2010), maïs (Riccardi *et al.*, 2004; Virlouvét *et al.*, 2011)). Quels que soient les organes étudiés, les principales protéines impliquées dans la réponse au stress hydrique sont : 1) des déhydrines : les protéines LEA (Late Embryogenesis Abundant) (Vaseva *et al.*, 2011) qui stabilisent les membranes cellulaires ; 2) les aquaporines, canaux à eau qui facilitent le passage de l'eau à travers la membrane cellulaire ; 3) les Heat Shock Proteins (HSP) qui peuvent jouer un rôle de chaperones et assurent ainsi le maintien de la forme tridimensionnelle des autres protéines ; 4) les protéines anti-oxydantes comme les aldéhyde déhydrogénases qui protègent les

cellules contre l'accumulation excessive des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Chaves and Oliveira, 2004; Xoconostle-Cazares *et al.*, 2010). 5) Les annexines sont également des protéines régulées par le stress hydrique : elles jouent un rôle dans la transduction du signal stress (Clark *et al.*, 2010; Loukehaich *et al.*, 2012; Lu *et al.*, 2012) : ce qui initie à la résistance de la plante face au stress hydrique. 6) Les protéines ASR (Abscisic acid (ABA) Stress Ripening) sont également régulées par le stress hydrique, mais leur rôle physiologique n'est pas clairement identifié (Fischer *et al.*, 2011; Virilouvet *et al.*, 2011).

Au niveau du fruit

Les études réalisées sur le protéome des baies de raisin montrent que le stress hydrique double l'abondance d'environ 7% des protéines du péricarpe (pulpe et épiderme) (Grimplet *et al.*, 2009). Au niveau de l'épiderme du fruit, le stress hydrique augmente la proportion de certaines sous-unités du protéasome, de protéases, d'enzymes détoxifiantes des espèces réactives à l'oxygène et d'enzymes impliquées dans la synthèse des flavonoïdes. Au niveau du péricarpe, le stress hydrique augmente l'abondance d'enzymes impliquées dans la protection contre les stress biotiques : une isoflavone réductase, une endochitinase, et la glutamate décarboxylase (impliquée dans la synthèse du GABA (acide γ -aminobutyrique)).

Récemment, les travaux de Marjanovic *et al.*, (2012), proposent une première approche protéomique du fruit de tomate cultivé avec une irrigation réduite à 70% en alternance sur une moitié du système racinaire (Partial Root Drying). Cette méthode vise à réduire les apports d'eau tout en maintenant un bon rendement. La contrainte hydrique modifie le protéome du fruit dès le stade expansion cellulaire (15 jours après anthèse). Ainsi, les faibles intensités des protéines impliquées dans le métabolisme carboné et le métabolisme des acides aminés accompagnent un ralentissement observé de la croissance du fruit. Des protéines du métabolisme pariétal sont aussi affectées, elles sont moins abondantes sous la contrainte hydrique : une cinnamyl alcohol dehydrogénase (CAD) qui catalyse la réduction des dérivés de phenylpropenyl aldéhyde et des composés pariétaux; une prolyl 4-hydroxylase qui catalyse la formation de 4-hydroxyproline ; une UDP-glucose protein transglucosylase-like protein, impliquée dans la synthèse des glucanes ; la protéine SGRP-1 riche en glycine, appartenant à la famille des protéines structurales de la paroi ; et une UDP-L-rhamnose synthase qui joue un rôle dans la synthèse des polysaccharides pectiques. Plusieurs enzymes antioxydantes augmentent sous la contrainte hydrique dès la phase d'expansion cellulaire.

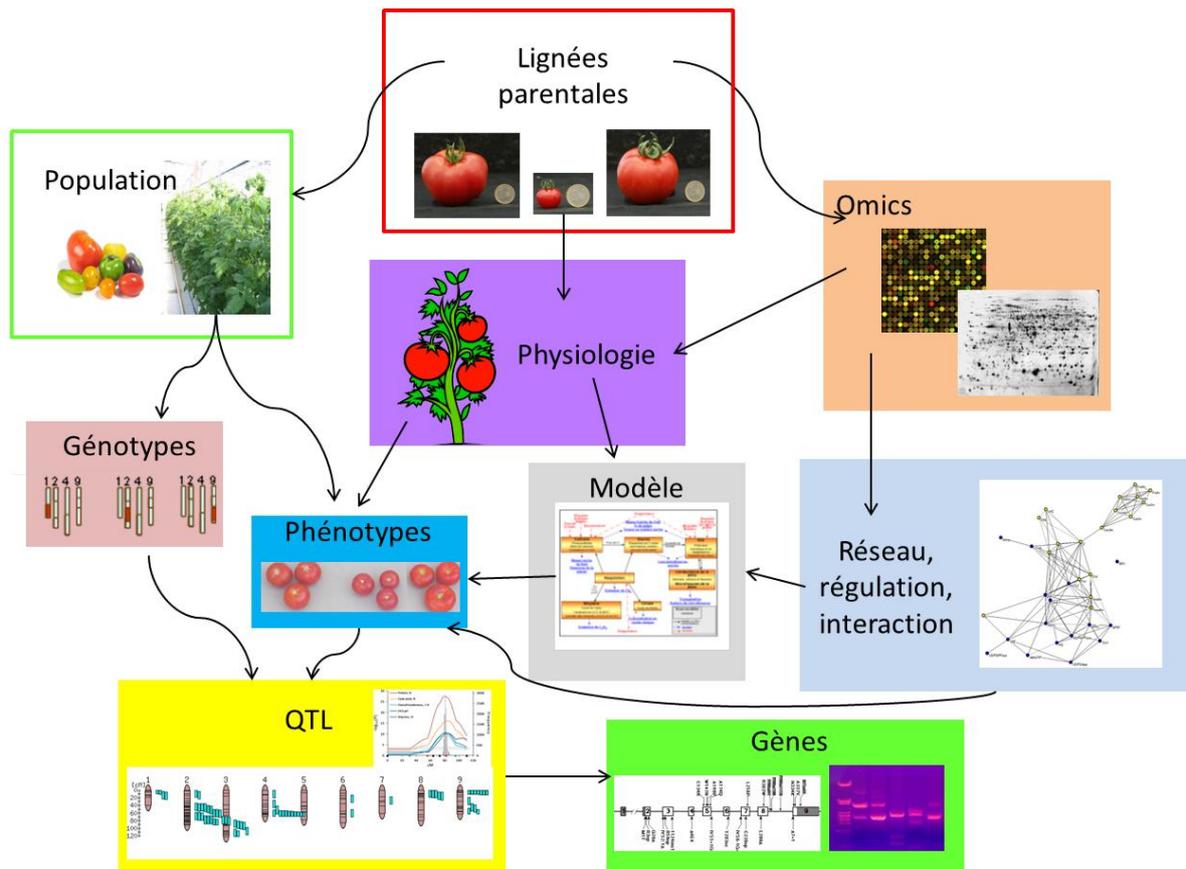


Figure 14 : Schéma représentant les différentes voies utilisant la physiologie, le développement de population, le phénotypage et différentes approches omics pour la découverte des gènes à partir des lignées parentales (adapté d'après Fleury *et al.*, 2010).

V. Intégration d'approches à différents niveaux d'échelles : Vers un couplage d'approches écophysiological et protéomique

Le développement de technologies haut débit a permis des avancées considérables dans le domaine de la génétique, en permettant par exemple de séquencer le génome de la tomate. Cependant, la biologie dite « intégrative » fait face à de nouveaux défis qui passent par l'interprétation de grandes masses de données mesurées au cours du temps à des échelles variées (données « omics » par exemple : métabolomique, protéomique et transcriptomique) pour comprendre l'organisation et le fonctionnement du vivant. Si ces avancées technologiques ont été très utiles pour l'amélioration génétique via par exemple la sélection assistée par marqueurs pour des caractères agronomiques simples (teneur en sucres), leurs retombées restent modestes pour des caractères plus complexes comme l'adaptation des plantes aux stress abiotiques ou la qualité des fruits (texture). Ce retard, peut s'expliquer par l'implication de nombreux processus complexes en interaction, co-régulés ou non à différentes échelles et par l'existence de fortes interactions génotype x environnement. De fait, des modifications du génome peuvent avoir de faibles effets sur les phénotypes (Yin *et al.*, 2004), ou des effets non désirables imprévus. Afin de mieux comprendre les liens entre génotype et phénotype, il est nécessaire de mieux décrire le fonctionnement du système dans sa globalité et d'analyser les liens entre les différents niveaux de régulation (**figure 14**, (Yin *et al.*, 2004; Struik *et al.*, 2005; Genard *et al.*, 2007; Fleury *et al.*, 2010)). Dans ce domaine, les modèles prédictifs capables de simuler le fonctionnement de systèmes complexes comme le fruit en interaction avec son environnement (Genard *et al.*, 2007), peuvent contribuer significativement à ce challenge. De plus, la prise en compte de paramètres génétiques peut aider à mieux comprendre et anticiper les interactions génotype x environnement (Quilot *et al.*, 2002; Struik *et al.*, 2005; Bertin *et al.*, 2010; Martre *et al.*, 2011). Néanmoins, le développement de ces approches est limité par des difficultés théoriques spécifiques issues des mathématiques, de la physique et de la biologie, notamment par la complexité des régulations génétiques et environnementales de caractères complexes impliquant de nombreux processus, comme dans le cas de la texture du fruit. Elles requièrent donc un formalisme mathématique spécifique nouveau, capable de traverser les niveaux d'organisation (Wake, 2003; Wake, 2008). A ce jour, expliciter les liens entre les modifications génétiques et le phénotype de la plante ou de l'organe reste difficile (Baldazzi *et al.*, 2012). Après avoir décrit le fruit à différentes échelles (par exemple : anatomique, histologique, métabolomique, protéomique, et génomique), il est nécessaire d'inférer des réseaux de régulation à chaque échelle, d'identifier les principaux acteurs et de comprendre comment les réseaux communiquent entre les différentes échelles. L'intégration des données omics (par exemple la protéomique) génère de grands réseaux, qu'il faut tenter de réduire soit sur la base d'hypothèses biologiques soit à l'aide

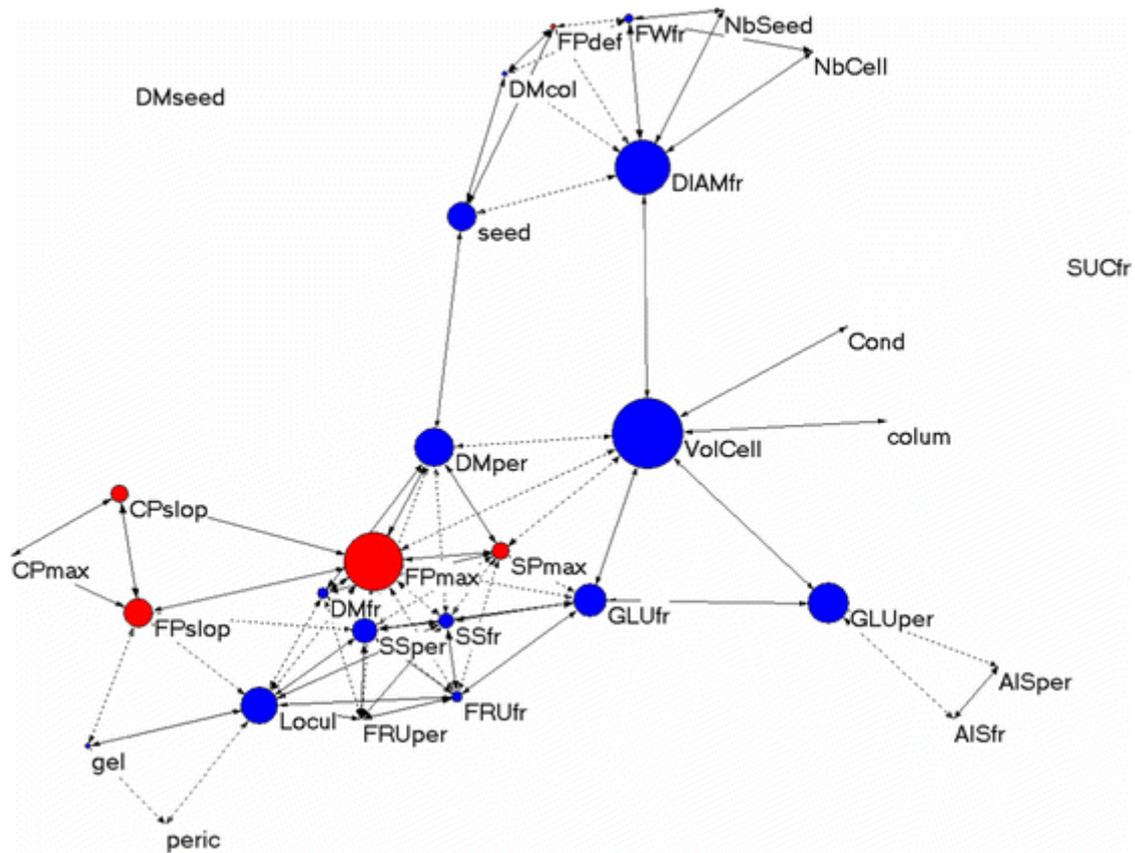


Figure 15 : Réseau de corrélations entre des variables de texture (rouge) et des variables anatomiques et biochimiques du fruit de tomate (bleu) (Aurand *et al.*, 2012). Forces maximales (N) et pentes (N m^{-1}) des tests de compression (CP) et de pénétrométrie avec (FP) et sans peau (SP) : CP_{max} , CP_{slope} , FP_{max} , FP_{slope} , SP_{max} ; Déformation maximale FP_{def} (m); poids frais du fruit (g) et diamètre (mm) : FW_{fr} , Diam_{fr} ; nombre de loges : Locul; nombre de graines du fruit : NbSeed; conductance du fruit (cm h^{-1}) : Cond. Proportions de péricarpe, columelle, gel et graines du fruit ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ fruit fresh weight): peri, colum, gel, seed; nombre de cellules du péricarpe (10^6) et volume d'une cellule moyenne (nl) : NbCell, VolCell. Poids sec (DM) et matières insolubles à l'alcool (AIS) ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ DM) du fruit, du péricarpe et de la columelle DM_{fr} , AIS_{fr} , DM_{per} , AIS_{per} , DM_{col} .; concentration en glucose, fructose, saccharose et sucres solubles totaux du fruit et du péricarpe ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ DM): GLU_{fr} , FRU_{fr} , SUC_{fr} , SS_{fr} , GLU_{per} , FRU_{per} , SUC_{per} , SS_{per} .

d'outils statistiques pour construire un réseau d'intérêt, interprétable, c'est-à-dire auquel on peut donner un sens biologique.

Les outils statistiques pour identifier la topologie des réseaux sont aujourd'hui limités. Ces réseaux sont essentiellement construits à partir de corrélations. Les corrélations de type « Pearson » sont couramment utilisées en biologie (Carli *et al.*, 2009; Phuc Thi *et al.*, 2010; Osorio *et al.*, 2011; Zushi and Matsuzoe, 2011; Aurand *et al.*, 2012; Osorio *et al.*, 2012; Toubiana *et al.*, 2013). Elles montrent l'existence d'un lien entre deux variables mais n'induisent pas une relation de causalité entre ces deux variables. De plus, une ou plusieurs variables peuvent fausser la corrélation entre deux variables, laissant penser à tort l'existence ou l'absence d'un lien de causalité. Pour limiter ce problème, l'utilisation des corrélations partielles permet de mesurer la corrélation entre deux variables tout en annulant (contrôlant) l'effet d'une troisième variable (Villers *et al.*, 2008). Les réseaux obtenus peuvent être observés directement par des logiciels de statistique comme R, ou bien par des logiciels de visualisation et d'exploration : Pajek (Batagelj and Mrvar, 2002), VisANT (Hu *et al.*, 2009), FORG3D (Paananen and Wong, 2009), Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003); mixOmics (Le Cao *et al.*, 2011).

Malgré des progrès réalisés sur la représentation des réseaux biologiques, la question de la validation des informations obtenues reste entière (Baldazzi *et al.*, 2012). Les réseaux sont souvent spécifiques des conditions (génotypiques et environnementales) de l'étude. Il faut alors tester d'autres jeux de données, obtenus dans des conditions expérimentales différentes pour valider la topologie du réseau.

Ce type d'approche globale intégrative pourrait être adapté à la texture du fruit, considérée comme une composante de qualité complexe, dont les acteurs se situent aux différentes échelles du fruit (gène, protéines, cellules, tissus). Aurand *et al.*, (2012) ont déjà réalisé une première analyse globale de la texture du fruit (**figure 15**), en intégrant des données anatomiques et biochimiques de génotypes à texture contrastées à partir de réseau de corrélation (Pearson). A plus long terme, un sous-modèle de la texture du fruit pourrait être intégré dans un modèle intégratif existant, le Fruit Virtuel (Genard *et al.*, 2007), capable de simuler les effets de l'environnement. La détermination des coefficients génétiques de ce modèle permettrait alors de prédire les interactions génotype x environnement.

Dans l'état actuel des connaissances, la texture des fruits est un caractère de qualité important pour l'ensemble de la filière, mais qui est complexe et reste encore mal compris. Sa

complexité est due dans un premier temps aux multiples façons de l'évaluer (instrumentales et sensorielles), mais également au grand nombre de processus impliqués qui interagissent au cours du développement du fruit et de sa vie post-récolte. Ces processus sont sous le contrôle des facteurs génétiques, environnementaux et de leurs interactions.

Au niveau génétique, plusieurs régions du génome impliquées dans le contrôle de la texture ont été identifiées. Au niveau environnemental, l'eau est sans doute un facteur important de régulation de la texture finale du fruit.

Afin d'améliorer la compréhension de la texture des fruits charnus et de ses fluctuations, ce travail de thèse a pour objectif de répondre à plusieurs questions de recherche :

- 1) Quels sont les effets du DHP, du génotype et de leurs interactions sur la qualité des fruits, et en particulier sur les variables de texture ?**
- 2) Quelles sont les variables clés sous-jacentes à la texture à l'échelle anatomique, histologique, biochimique et protéomique ?**
- 3) Peut-on mettre en évidence des réseaux de régulation de la texture à chaque échelle ?**
- 4) Comment ces réseaux communiquent-ils à l'échelle du fruit ?**

Pour répondre à ces questions, une expérimentation a été conduite en serre de production avec six génotypes à texture contrastée cultivés dans deux conditions hydriques contrastées. Puis, un phénotypage des fruits a été réalisé à trois stades de développement, ainsi qu'une analyse statistique exploratoire.

Chapitre 2 :

Matériels et Méthodes

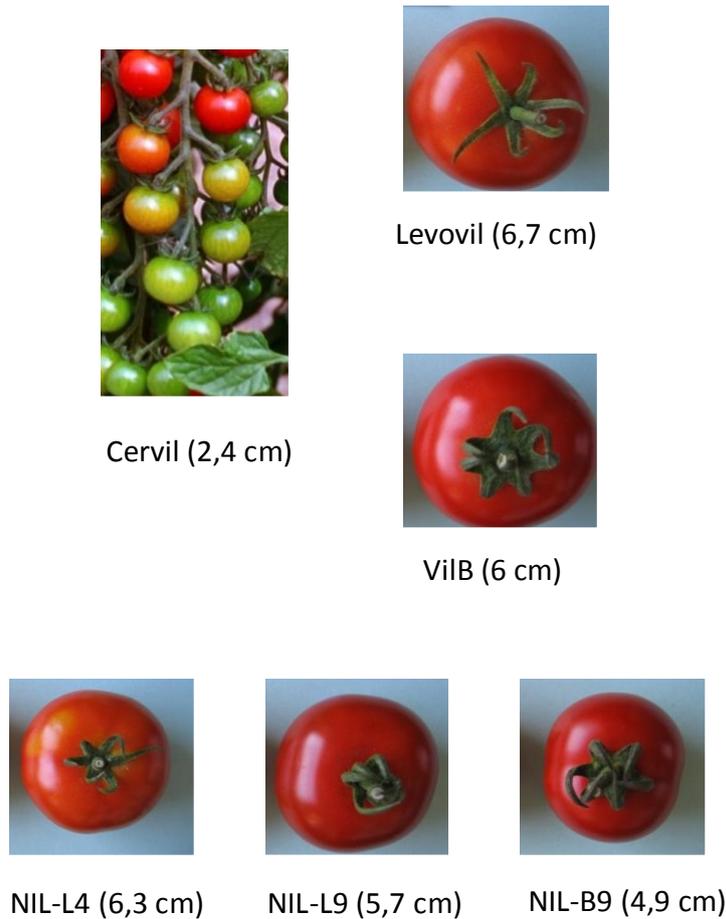


Figure 16 : Fruits des 6 génotypes étudiés, le diamètre équatorial moyen des fruits à maturité est indiqué entre parenthèses.

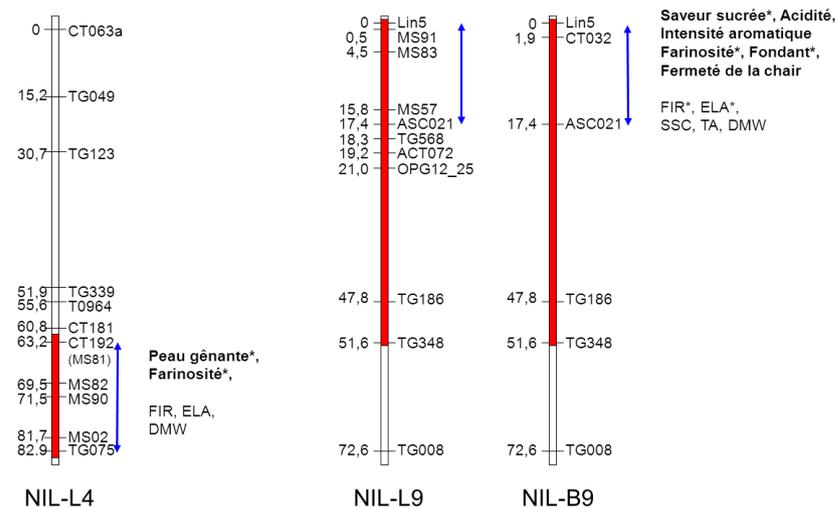


Figure 17 : Carte génétique représentant les deux régions d'intérêt où sont localisés les QTL associés aux composantes de la texture du fruit. Les distances génétiques sont exprimées en Kosambi centiMorgans. Les QTL détectés pour les caractères sensoriels sont représentés en gras, les abréviations font référence aux caractères physiques : fermeté (FIR (Pa)), élasticité (ELA (N/cm)), et aux caractères chimiques : acidité titrable (TA (meq/100g MF)), teneurs en solides solubles (SSC (Brix)) et en matière sèche (DMW (g/100g MF)). Les astérisques indiquent les caractères pour lesquels les allèles de Levovil apportent des valeurs élevées (d'après la thèse de J. Chaïb, 2007).

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Six génotypes ont été étudiés:

-Trois lignées parentales (**figure 16**) : Cervil (*Solanum lycopersicum*) une tomate de type cerise possédant de bonnes qualités organoleptiques et deux tomates à gros fruits sans caractéristique gustative particulière : Levovil (*Solanum lycopersicum*) fruit peu ferme et VilB (*Solanum lycopersicum*) fruit ferme présentant une bonne aptitude à la conservation et utilisé dans les programmes de sélection de la société Vilmorin. Les fruits de Cervil sont des petits fruits d'environ 8 g qui arrivent à maturité (stade 9 du code couleur) entre environ 40 à 52 jours après anthèse (52 jours en moyenne dans notre expérimentation). Selon les conditions de croissance, les fruits de Levovil et VilB ont un poids moyen respectif d'environ 145 g et 125 g, et nécessitent une période de 50 à 70 jours après anthèse (69 et 66 jours respectivement dans notre expérimentation) pour atteindre la maturité.

-Trois lignées d'introgression (**figure 16**) portant des QTL de texture sur le chromosome 4 ou le chromosome 9. Pour ces trois lignées, le parent donneur d'allèle de qualité est Cervil et le parent receveur est Levovil ou VilB. NIL-L4 (fragment introgressé : 19,7 cM sur le chromosome 4) est obtenu à partir du croisement entre Cervil et Levovil. De même pour NIL-L9 qui comprend une introgression sur le chromosome 9 de 51,6 cM. Quant à NIL-B9, il inclut également une introgression d'environ 51,6 cM sur le chromosome 9 et il est obtenu par croisement entre Cervil et VilB. Les fruits des lignées NIL-L4, NIL-L9 et NIL-B9 ont des poids frais finaux moyens de 115 g, 85 g et 55 g respectivement, et ils ont atteint dans notre expérience le stade maturité à 65 jours, 62 jours et 58 jours après anthèse. Les QTL de texture portés par les lignées d'introgression sont répartis en deux catégories en fonction de leur mode de détection (**figure 17**): les QTL de texture détectés en analyse sensorielle (QTL de farinosité, de fondant, de fermeté de la chair) et les QTL détectés par des méthodes instrumentales de compression (fermeté et élasticité). La région introgressée sur le chromosome 4 porte un QTL de farinosité et un QTL d'épaisseur de la peau. Cette même région comprend également des QTL détectés par des méthodes instrumentales et biochimiques, qui sont liés à la fermeté, l'élasticité, la couleur et au taux de matière sèche. La région introgressée sur le chromosome 9 dans les deux fonds génétiques étudiés inclut des QTL de saveur sucrée, acidité, farinosité, fondant et fermeté de la chair pour les QTL détectés par des analyses sensorielles. Des QTL de fermeté, d'élasticité, de couleur, de sucres solubles, d'acidité titrable et de taux de matière sèche, détectés par analyses instrumentales et biochimiques, sont présents sur la même région



Figure 18 : Expérimentation réalisée au CTIFL de Balandran, **A** : Phase d'adaptation (développement) des plantes avant le déficit hydrique. Cervil, le 17 décembre 2009, **B** : Plantes témoins en mars 2010, **C** : Effet du déficit hydrique sur le développement des plantes en fin de culture (juin 2010) dans le compartiment 6. Les plantes témoins sont à gauche de l'image, les plantes DHP à droite. Elles montrent des surfaces foliaires réduites et des entre-nœuds plus courts.

introgressée. En dehors des zones introgressées sur les chromosomes 4 et 9, ces lignées présentent également des résidus d'introgressions du génome de Cervil sur d'autres chromosomes (chromosomes 2, 3, 9 et 12 pour NIL-L4, chromosomes 1b, 4a et 12 pour NIL-L9, et chromosomes 1b, 2 et 7 pour NIL-B9). Cependant ces régions ne seraient pas impliquées dans les variations de texture du fruit.

II. Dispositif expérimental

II.1 Conditions de culture

La culture sous serre a été mise en place dans les serres du Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL) de Balandran à Bellegarde au mois de décembre 2009, et l'expérimentation s'est terminée en juillet 2010 (**figure 18C**). Les 6 génotypes, chacun d'entre eux représenté par 2 lots de 12 plantes, ont été cultivés en hors sol sur des pains de fibre de coco broyée dans deux compartiments de serre juxtaposés considérés comme des répétitions. 288 plantes ont été étudiées au total (**figure 19**). La densité de plantation était de 2,4 plantes par m². Les fleurs ont été pollinisées par des bourdons (*Bombus terrestris*) et la lutte biologique a été mise en place. Le palissage des plantes sur fil a eu lieu toutes les semaines, et l'effeuillage a été effectué une fois par mois. Les bouquets ont été taillés après la 15^{ième} fleur pour Cervil et après la 5^{ième} pour les génotypes à gros fruits.

II.2 Traitement : Déficit Hydrique Permanent (DHP)

Un mois après la plantation (temps nécessaire à l'installation de la plante), à la floraison du 5^{ième} bouquet, deux modes d'irrigation ont été appliqués en fonction des lignes de culture (**figure 19**) : -1) Une irrigation témoin, pour laquelle les quantités et fréquences des apports journaliers de solution nutritive ont été calculées en fonction de la demande climatique, pour assurer un taux de drainage moyen de 30% classique en serre de production.

-2) Une irrigation réduite de 40% en apports d'eau et de solution nutritive par rapport au témoin (**figure 20**), dans le but de créer un déficit hydrique long, que nous appellerons par la suite déficit hydrique permanent (DHP). La fréquence d'arrosage et le volume d'eau apporté ont été régulés en fonction du climat (**figures 20 A et B**). En moyenne sur la durée de la culture, les plantes ont été arrosées 7 fois par jour pour les témoins comme pour les DHP, par contre la quantité apportée s'est élevée à environ 420 mL par arrosage pour les témoins et 245 mL par arrosage pour les plantes en

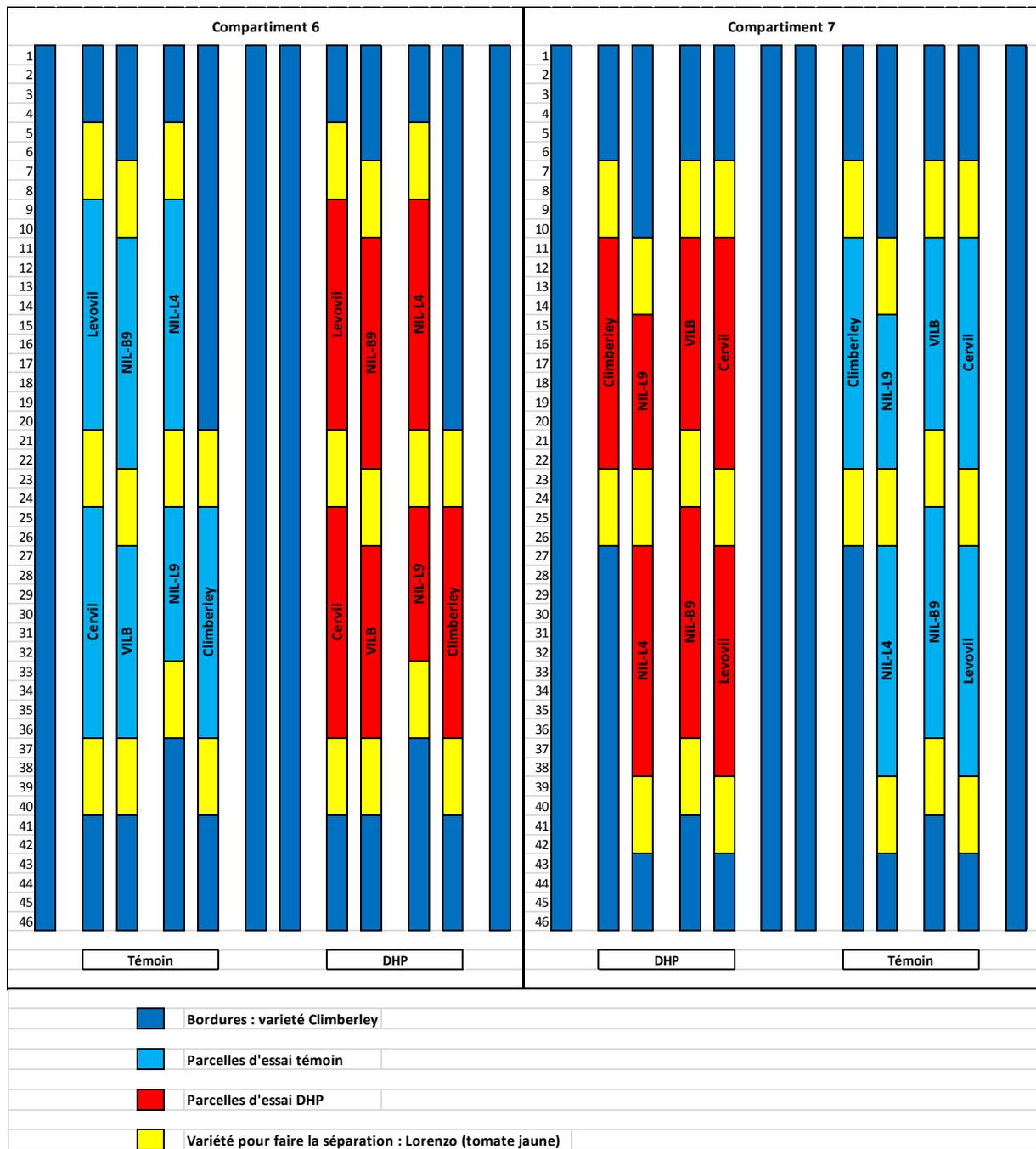
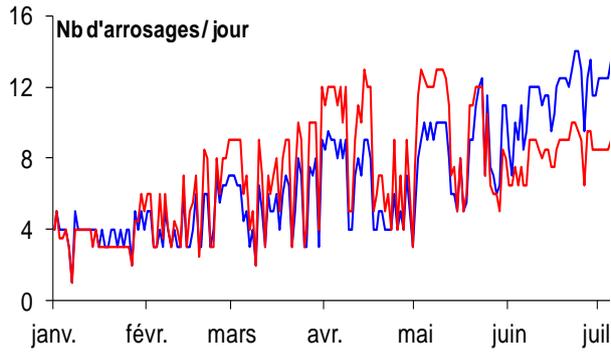
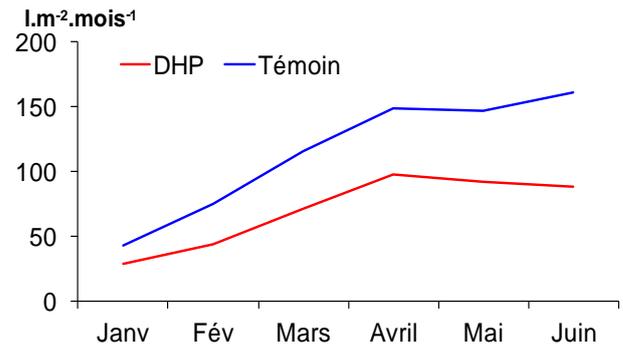


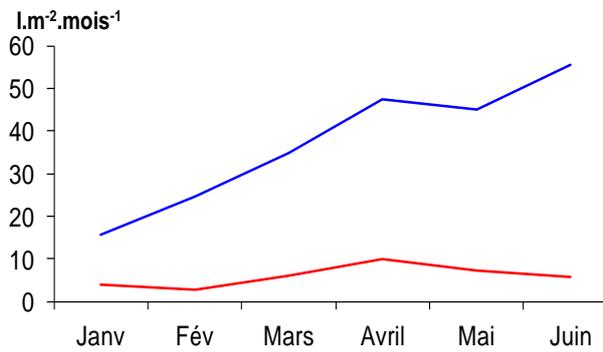
Figure 19 : Plan des deux compartiments de serre au CTIFL. Positionnement dans chaque compartiment des 12 plantes par génotype et par modalité hydrique (témoin (bleu) et DHP (rouge)). Le bleu foncé représente la variété Climberley utilisée comme bordure et en jaune la variété Lorenzo à fruits jaunes utilisée comme repère visuel pour la séparation des génotypes.



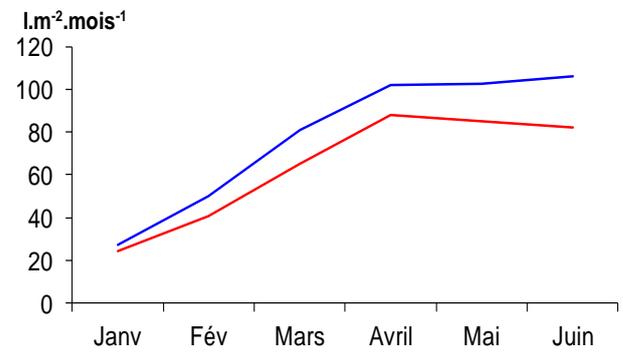
A : Nombre d'arrosages par jour au cours de la culture.



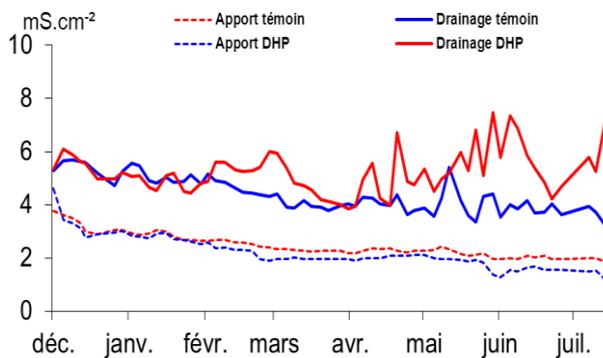
B : Volumes mensuels moyens d'apport en solution nutritive.



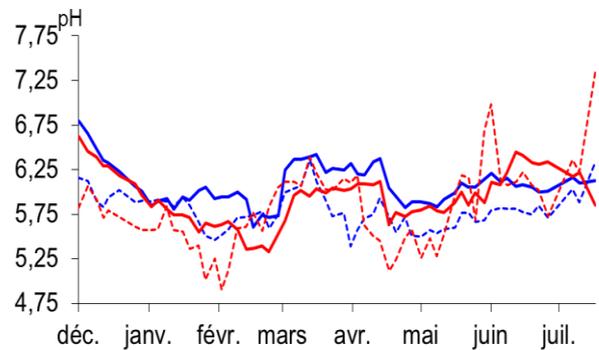
C : Volumes mensuels moyens des drainages.



D : Volumes mensuels moyens d'eau consommée



E : Electro-conductivité



F : pH

Figure 20: Indicateurs d'irrigation mesurés au cours de la culture. Le mode d'irrigation témoin est représenté en bleu, le mode DHP en rouge. Pour les graphiques E et F, les pointillés correspondent à l'apport des solutions nutritives et les traits pleins aux valeurs enregistrées au drainage 2 fois par semaine. **A :** Nombre d'arrosages par jour au cours de la culture, **B :** Volumes mensuels moyens d'apport en solution nutritive par m², **C :** volumes mensuels moyens des drainages par m², **D :** Volumes mensuels moyens d'eau consommée par m², **E :** électro conductivité, **F :** pH.

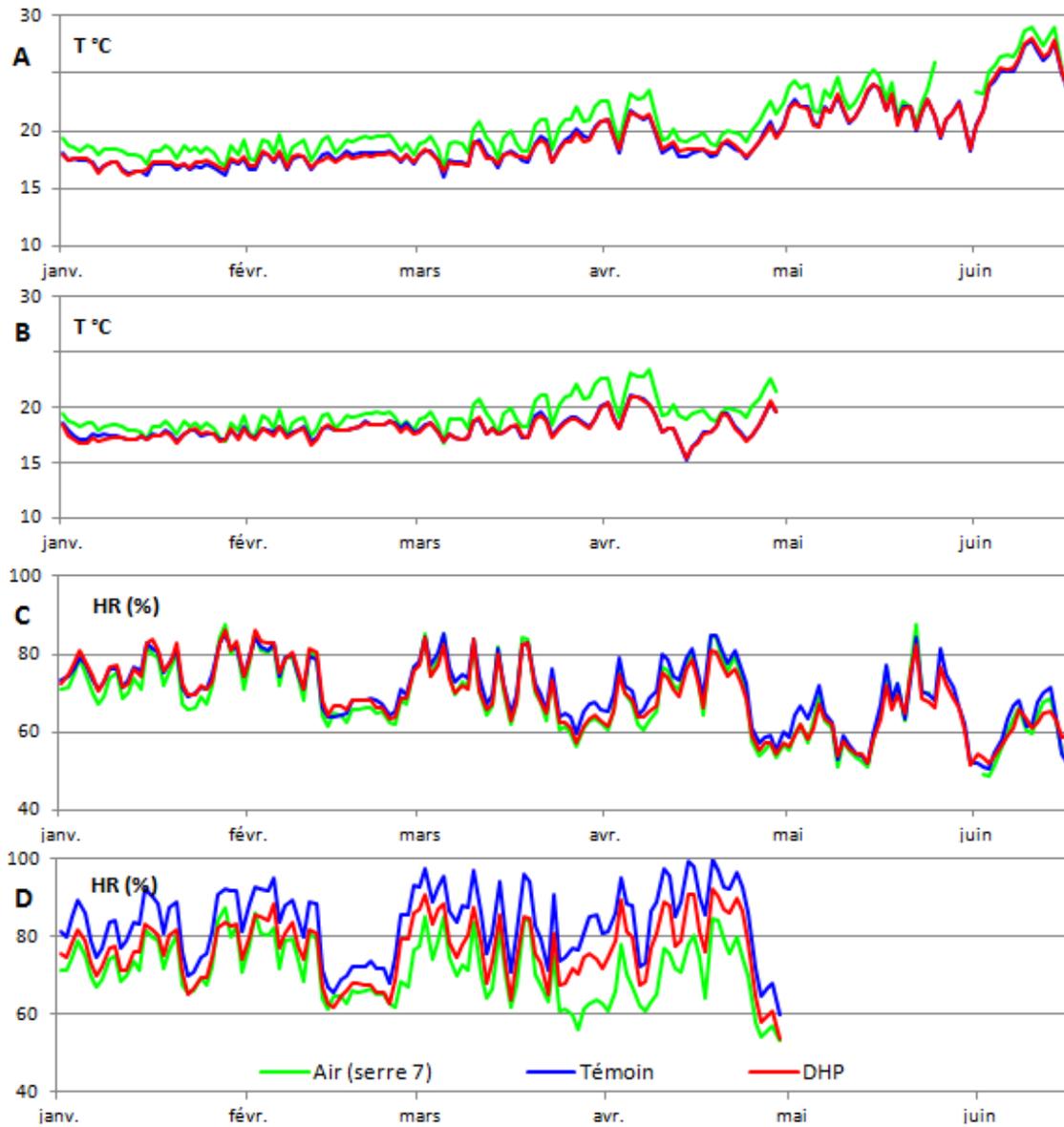


Figure 21 : Suivi des indicateurs climatiques de la serre (compartiments : 6 (**B** et **D**), et 7 (**A** et **C**)) au cours de la culture, réalisé à partir de plusieurs sondes placées à proximité du feuillage des plantes témoins (bleu) et DHP (rouge) et une sonde éloignée du feuillage à l'intérieur de la serre (vert), **A** et **B** : température (°C) et **C** et **D** : humidité relative (%).

condition DHP. Au cours de la culture, la consommation d'eau par les plantes a augmenté fortement jusqu'au mois de mai pour les deux conditions (**figure 20**). Sur l'ensemble de la période, les plantes DHP ont réduit leur consommation cumulée de 18% (83L/m²) sur 6 mois par rapport aux plantes témoins. A partir du mois de mai, le blanchiment de la serre a permis de stabiliser la demande en eau (**figure 20** : courbes d'apports et de consommation d'eau). Les solutions nutritives ont été ajustées au cours de la culture pour maintenir une électro-conductivité en dessous de 7 mS.cm⁻² au drain afin d'éviter une accumulation des sels et ainsi protéger les plantes d'un stress salin (**figure 20E**). Des études antérieures ont montré que des EC de 7 à 10 mS.cm⁻² à l'apport induisent un stress salin et qu'en conditions de production, les quantités de solutions nutritives apportées sont excédentaires par rapport aux besoins de la plante (Najla, 2009).

II.3 Climat de la serre :

La température et l'hygrométrie de la serre ont été enregistrées de façon continue au cours de la culture dans les deux compartiments de serre (**figure 21**). La température a varié en moyenne entre 16 et 20°C en hiver, puis a augmenté progressivement jusqu'à 28°C fin juin. L'humidité relative de l'air sous serre était comprise en moyenne entre 60 et 80%. En fin de culture, la température a augmenté et l'humidité relative a diminué tout en restant dans des gammes non stressantes pour la tomate. Ces relevés indiquent que les plantes témoins et DHP ont bien été placées dans des conditions de température et d'hygrométrie comparables dans les deux compartiments tout au long de la culture. On notera un petit écart d'humidité relative d'environ 5% pour les plantes témoins par rapport aux DHP dû à une transpiration plus importante des plantes témoins.

II.4 Indicateurs biologiques :

Afin de caractériser l'intensité du déficit hydrique subi par les plantes, nous avons mesuré plusieurs indicateurs biologiques :

La **masse surfacique** des feuilles a été évaluée à partir de 6 à 10 feuilles (entières sans les pétioles), en calculant le rapport entre la masse sèche des feuilles (en g) obtenue après 72h à l'étuve ventilée à 70°C, et la surface des feuilles (en cm²) déterminée le jour de leur récolte à l'aide d'un planimètre (LICOR Li-3100).

Le **taux de matière sèche** des feuilles a été obtenu par différence entre le poids frais des folioles (feuilles sans les pétioles) mesuré dès la récolte avec une balance de précision, et le poids sec



Figure 22: Capteur mesurant les variations (μm) du diamètre de tige des plantes, l'acquisition des données est réalisée automatiquement en continu (Huguet *et al.*, 1992).

obtenu après 72h à l'étuve ventilée à 80°C.

La **fermeté des feuilles** (liée à la pression de turgescence cellulaire) a été mesurée sur 6 à 10 feuilles entières détachées grâce à un appareil mis au point par Dr Adonai Calbo (EMBRAPA de Sao Carlos au Brésil). Ce dispositif évalue la résistance de la feuille en réponse à une contrainte exercée manuellement à l'aide d'un piston rempli d'eau. La mesure est faite immédiatement après la récolte.

Les **diamètres de tige**, indicateurs de vigueur de la plante, ont été mesurés de deux façons : 1) automatisée en continu à l'aide d'un capteur placé à la base des tiges de deux génotypes Levovil et VilB pour les conditions témoins et DHP (**figure 22**) (Huguet *et al.*, 1992). 2) manuellement pour tous les génotypes témoins et DHP. Pour cela nous avons repéré les apex des tiges sur les supports de culture, puis une semaine plus tard, le diamètre des tiges a été mesuré au niveau du repère. Cette mesure a été répétée sur 10 plantes de chaque génotype et traitement. Les diamètres obtenus ont été ensuite moyennés.

Le **potentiel hydrique de tige** a été évalué à l'aide d'une bombe de Scholander (Tyree and Hammel, 1972). Le principe consiste à placer la feuille détachée aussitôt récoltée dans une enceinte sous pression. La pression est augmentée jusqu'à ce que le flux de sève s'apprête à sortir du pétiole de la feuille. A ce moment, la pression exercée correspond au potentiel hydrique de la feuille. Les mesures ont été réalisées avant le lever du soleil quand la demande hydrique est la plus faible (potentiel de base) et au midi solaire (13h) quand la demande hydrique de la plante est la plus forte. Pour les mesures au midi solaire, les feuilles ont été ensachées avant le lever du soleil afin que le potentiel hydrique de la feuille soit en équilibre avec le potentiel hydrique de la tige.

II.5 Echantillonnage des fruits au cours du déficit hydrique :

La récolte des fruits a débuté le 15 février 2010 sur le bouquet 12 pour Cervil et sur le bouquet 10 pour les autres génotypes, donc sur des bouquets ayant subi le DHP sur l'ensemble de leur période de développement. Les fruits ont été récoltés à deux stades de développement :

✓ un stade vert ou expansion cellulaire correspondant à 15 jours après anthèse (15DPA) pour Cervil et 21 DPA pour les autres génotypes à gros fruits. Ce stade correspond à la phase de croissance rapide du fruit comme cela a été démontré dans des travaux antérieurs (Bertin *et al.*, 2009),

✓ un stade rouge ou maturité (stade 9 du code couleur du CTIFL).

Un stade supplémentaire visant à évaluer l'évolution du fruit après récolte a été étudié. Ce stade, R7, correspond à sept jours de conservation à 18-20°C à l'obscurité après récolte du fruit au stade rouge.

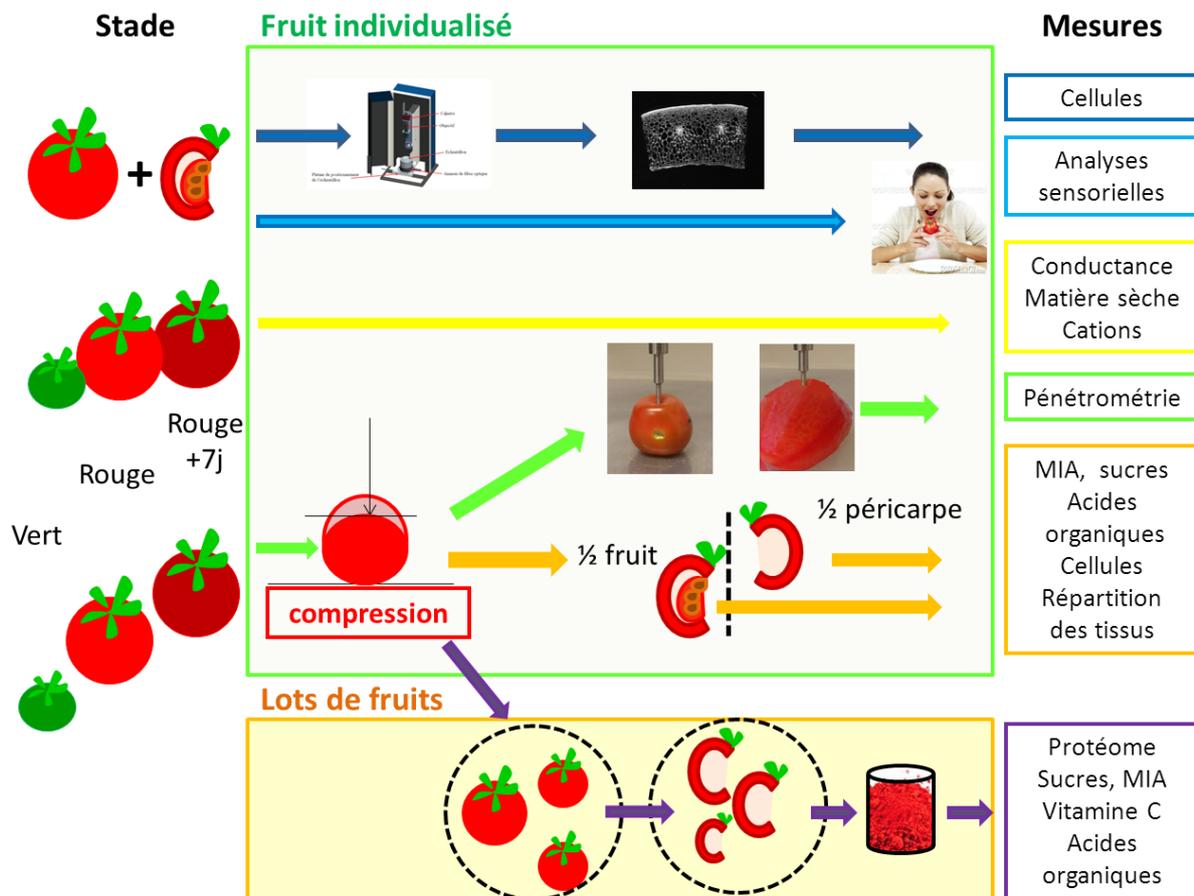


Figure 23 : Stratégie d'échantillonnage des fruits et analyses effectuées. Les fruits sont analysés soit individuellement, soit par lot (4 lots de 5 fruits au minimum), à trois stades de développement : expansion cellulaire (vert), maturité (rouge) et R7 (après sept jours de conservation à 18°C après récolte du fruit au stade rouge), en fonction du type de mesure. Les analyses de sucres et d'acides organiques sur les fruits individualisés ont été réalisées sur fruit entier et sur péricarpe issu du même échantillon, afin de comparer la composition du péricarpe à celle du fruit entier. La compression a été réalisée sur la quasi-totalité des fruits pour assurer une mesure commune, non destructive aux échantillons destinés aux différentes mesures.

Des mesures de compression et de pénétrométrie préalables à l'expérimentation ont montré que l'on pouvait travailler sans biais sur des fruits de position variable au sein du bouquet, mais en évitant le premier fruit (proximal) ainsi que le dernier fruit (distal).

L'échantillonnage des fruits a fait l'objet d'un soin tout particulier destiné à permettre l'application de différentes méthodes d'analyses statistiques sur les mesures réalisées (mesures de texture, mesures anatomiques, mesures physico-chimiques et biochimiques). Pour cela, nous nous sommes efforcés de réunir un maximum de mesures sur un même fruit correspondant à un « individu statistique ». Cependant, cet objectif a dû être adapté aux contraintes liées à la nature des mesures : certaines mesures comme la pénétrométrie sont destructives. D'autres comme la protéomique, nécessitent une congélation à -80°C immédiatement après la récolte. Pour ces raisons, nous avons conçu un échantillonnage fruit par fruit pour les mesures de texture, pour les mesures anatomiques, cellulaires et biochimiques (sucres solubles, amidon, acides organiques, matière sèche, matière insoluble à l'alcool (MIA)), et un échantillonnage par lot de péricarpes (afin d'homogénéiser les variations intra et inter plantes d'un même génotype) pour la protéomique, les dosages de vitamine C, des sucres solubles, d'amidon, d'acides organiques et de MIA (**figure 23**). Quatre lots de fruits ont été constitués par génotype et par traitement. Un lot étant un assemblage d'au minimum cinq péricarpes de fruits différents, souvent plus, jusqu'à vingt-cinq fruits pour Cervil.

III. Mesures de la texture :

III.1 La compression à 3% du diamètre du fruit, une mesure non destructive

Les fruits récoltés ont été compressés avec un texturomètre (Texture Analyser TAplus : Ametek, Lloyd Instrument Ltd., Fareham, UK). Ce test évalue la fermeté globale du fruit, prenant en compte la fermeté et la rigidité du fruit. La compression est exercée jusqu'à une réduction du diamètre du fruit de 3%. Il s'agit d'une mesure non destructive. Le fruit est incliné de façon à ce que son plan équatorial soit perpendiculaire au plateau de compression en évitant les cloisons (**figure 24A**). Les résultats obtenus se présentent sous la forme d'une courbe force / déplacement. Nous enregistrons deux valeurs : la force maximale (F_{maxCP} en Newton (N)) associée à la fermeté globale du fruit et la pente de la courbe (CP_{slope} en $\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$) associée à la rigidité du fruit (Abbott, 1999). La mesure de fermeté par compression a été effectuée sur la quasi-totalité des fruits récoltés (15 fruits au minimum par stade par traitement et par génotype) excepté sur les fruits destinés à l'étude de la conductance cuticulaire pour ne pas provoquer de micro-fissures au niveau de l'épiderme, ainsi que sur les fruits destinés à l'analyse sensorielle. Pour le stade R7, les mesures de compression ont été

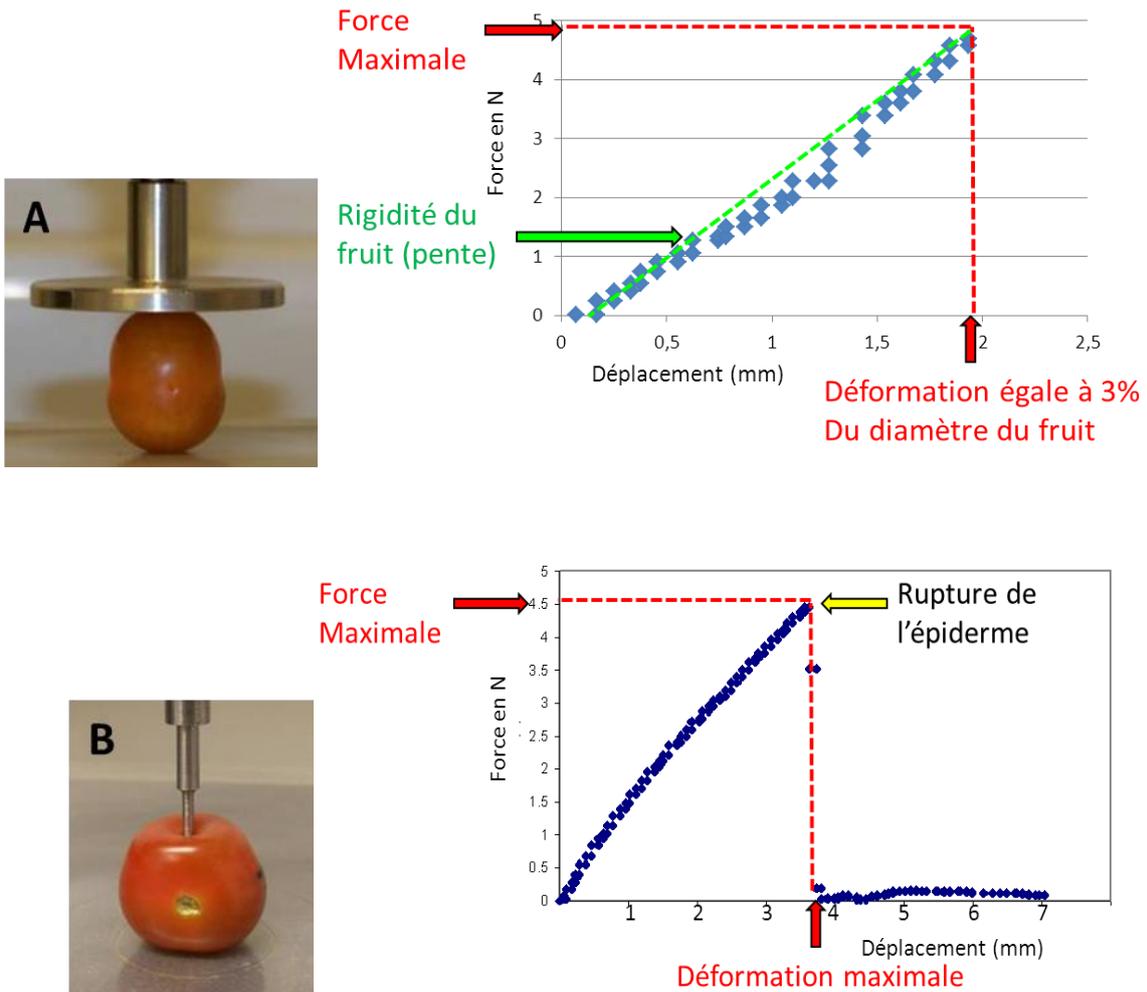


Figure 24 : Mesures de fermeté du fruit par compression (A) et par pénétration (B). Le test de compression est une mesure non destructive qui évalue la fermeté globale du fruit en enregistrant la force maximale (en N) nécessaire à une réduction de 3% du diamètre du fruit. La rigidité globale du fruit (ou coefficient d'élasticité) est évaluée grâce à la pente de la courbe force/déplacement (vert). Le test de pénétration est une mesure destructive, il est réalisé avec ou sans épiderme. Il donne une information sur la fermeté des tissus à un niveau plus local. A partir des courbes force/déplacement obtenues avec ce test, la force maximale jusqu'à rupture de l'épiderme est enregistrée pour les fruits avec épiderme, pour les fruits sans épiderme, on enregistre la plus grande force rencontrée sur les 7 premiers mm de périsperme.

faites au temps T0 correspondant au jour de la récolte des fruits et au temps T7 sur les mêmes fruits après sept jours de conservation à 18°C à l'obscurité.

III.2 La pénétrométrie avec et sans peau, une mesure destructive

Les mesures de pénétrométrie ont été réalisées avec le même appareil que la compression équipé d'un poinçon de 2 mm de diamètre et 7 mm de longueur (**figure 24B**). Trois mesures par fruit ont été réalisées au niveau du plan équatorial du fruit en évitant les cloisons des loges pour évaluer la fermeté et la rigidité locale du fruit. A partir des courbes force/déplacement obtenues, nous enregistrons : la force maximale avant rupture de l'épiderme ($F_{max.cuti}$ en N) correspondant à la fermeté locale du fruit (Harker *et al.*, 1997a). Trois mesures sont réalisées par fruit pour obtenir une valeur moyenne sur quinze fruits par génotype, par traitement et par stade.

Un deuxième test de pénétrométrie dit de « pénétrométrie sans peau », différent du premier (Aurand *et al.*, 2012), a été réalisé sur les mêmes fruits après avoir enlevé l'épiderme accompagné des quelques assises cellulaires sous épidermiques correspondant à une partie du fruit communément appelée la peau. Ce test donne une mesure de la fermeté de la chair (péricarpe) du fruit. Après avoir retiré la peau sur trois régions équatoriales différentes (toujours en évitant les cloisons du fruit), trois mesures par fruit ont été réalisées et la force maximale obtenue à partir de la courbe force-déplacement a été enregistrée. Elle est associée à la fermeté locale du fruit sans peau ($F_{max.sans.cuti}$ en N).

III.3 Analyses sensorielles

Les analyses sensorielles ont été réalisées par le laboratoire d'analyse sensorielle du CTIFL de Balandran. Un panel d'experts, composé de 14 personnes entraînées, a évalué les six génotypes de tomate pour les conditions témoin et DHP. Les fruits ont été récoltés au stade 9-10 du code couleur puis stockés deux jours à 20°C avant la dégustation. Les dégustateurs ont évalué des tomates entières et des péricarpes. Ils ont attribué une note de 0 à 10 selon deux lexiques. Le premier lexique « classique » comprenait 11 descripteurs : 2 descripteurs d'aspect (couleur externe et caractère côtelé), 6 descripteurs de texture (fermeté à la coupe, croquant, juteux, ferme, fondant, farineux) et 3 descripteurs de flaveur (sucré, acide, intensité de l'arôme global). Le deuxième lexique était un lexique spécifique au péricarpe isolé et comprenait 5 descripteurs dédiés à la texture : croquant, juteux, ferme, fondant et farineux. Chaque génotype et condition ont fait l'objet de deux évaluations pendant la période d'échantillonnage des fruits destinés aux autres mesures. Pour les analyses

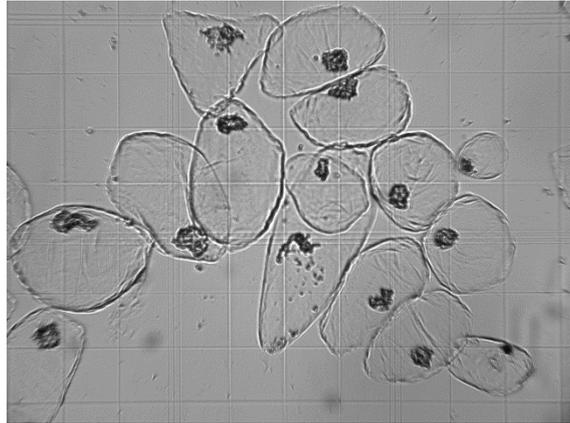


Figure 25 : Image de cellules de tomates observées à l'aide d'un microscope (grossissement environ x30).

sensorielles des lots de fruits ont été constitués provenant de bouquets identiques ou proches (bouquets 14 à 16) entres génotypes.

IV. Mesures anatomiques et physiques

Pour chaque stade, génotype et condition, plus de 750 fruits ont été pesés sur une balance de précision pour obtenir le poids frais et le nombre de loges a été enregistré (840 fruits pour le stade vert, 1230 pour le stade rouge et 750 pour le stade R7).

A partir de fruits entiers, les proportions des différents tissus ont été mesurées (6 fruits par génotype, traitement et stade) : péricarpe, gel, graines, columelle ont été isolés et pesés avant (poids frais) et après passage à l'étuve (poids sec). Le nombre de graines a également été compté.

Pour 8 fruits de chaque génotype, chaque traitement et chaque stade, la conductance cuticulaire a été mesurée par suivi des pertes d'eau de fruits détachés placés dans une enceinte climatique suivant le protocole de Gibert *et al.*, (2005). En fin de mesure, les fruits ont été placés à l'étuve ventilée à 80°C pendant 72H, et le poids sec a été mesuré, puis les échantillons séchés ont été broyés pour l'analyse minérale (cf. ci-dessous).

IV.1 Nombre et taille des cellules mesurés par digestion enzymatique du péricarpe

Le nombre et la taille des cellules des péricarpes ont été mesurés sur 6 demi-fruits au stade rouge pour chaque génotype et chaque traitement, selon la méthode décrite pas Bertin *et al.*, (2002). Le péricarpe est pesé, coupé puis mis à macérer dans une solution de pectinases, de mannitol et d'EDTA. Après agitation, les cellules sont comptées sous un microscope à l'aide d'une cellule de comptage de Fuchs-Rosenthal (**figure 25**). La taille moyenne d'une cellule est estimée à partir du volume total de péricarpe et du nombre de cellules extrapolé au péricarpe. Les demi-fruits restants ont été utilisés pour déterminer le taux de matière sèche du fruit après trois jours dans une étuve ventilée à 80°C.

IV.2 Analyse histologique du péricarpe de tomate par macrovision

Les observations histologiques ont été réalisées sur des péricarpes de fruits rouges-oranges (5 par génotype et par traitement). Un échantillon de péricarpe de tomate a été prélevé (1 cm³) au

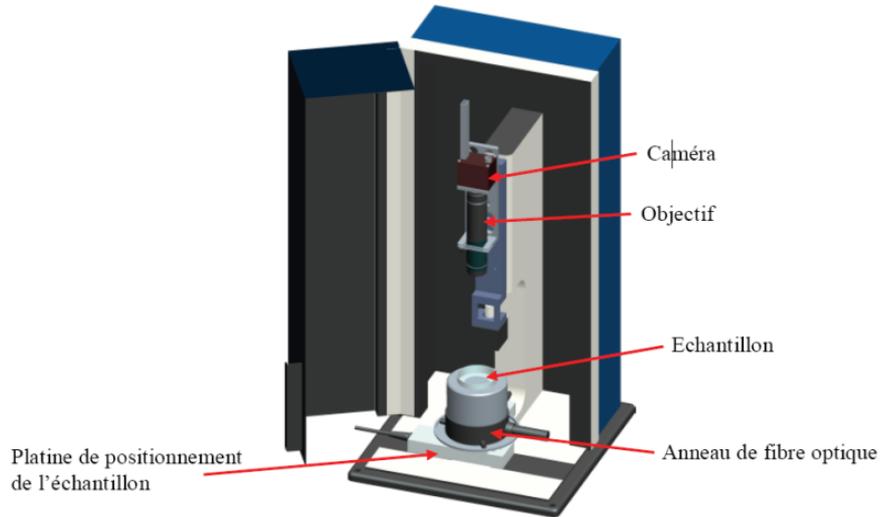


Figure 26: Système d'acquisition d'image pour Macro vision : La Blue Box (équipée d'une caméra Prosilica Digital Camera (DCAM 1.31) avec un objectif precise eye 0.6 X (adaptateur 0.67X lentille 0.5X). Avec une résolution d'image de 1620 pixels en largeur et 1220 pixels en hauteur).

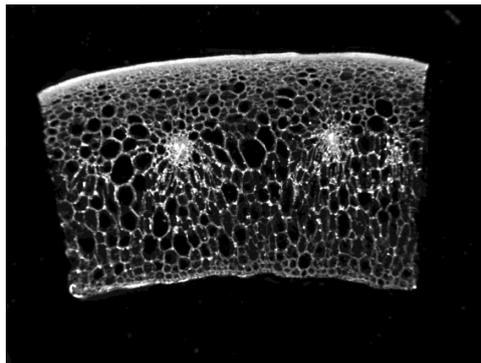


Figure 27 : Image d'une tranche de péricarpe de tomate de 250 μm d'épaisseur, enregistrée en 256 niveaux de gris à l'aide de la BlueBox (champ de vue : 11,973 x 9,029 mm).

niveau du plan équatorial du fruit, puis découpé en tranches de 250 μm d'épaisseur à l'aide d'un vibratome (Microm HM 650 V) afin de conserver deux coupes par échantillon. L'acquisition des images décrite par Devaux *et al.*, (2005), a été réalisée à l'aide de la BlueBox (**figure 26**) comprenant une caméra Prosilica Digital Camera (DCAM 1.31) avec un objectif precise eye 0.6 X (adaptateur 0.67X lentille 0.5X). Avec une résolution d'image de 1620 pixels en largeur et 1220 pixels en hauteur, le champ de vue obtenu est de 11,973 mm de largeur et 9,029 mm de hauteur. Les images ont été enregistrées en 256 niveaux de gris (**figure 27**). L'analyse d'image a été ensuite réalisée par granulométrie en se basant sur la morphologie mathématique.

Les courbes granulométriques ont été obtenues à partir des images en niveaux de gris, elles sont comparables à un tamisage de l'image (Soille, 2003). Les courbes granulométriques donnent des informations sur la taille des cellules. L'analyse a été réalisée dans le sens radial (perpendiculaire à la cuticule) et tangentiel (parallèle à la cuticule), ce qui a permis en associant les deux mesures d'obtenir un indice de forme globale de la cellule. L'épaisseur du péricarpe a été également déterminée sur les images, de même que la distance des faisceaux vasculaires à l'épiderme. Cette dernière information nous a permis de faire une analyse granulométrique plus précise en distinguant une zone avant faisceaux et une zone après faisceaux. Cette analyse par macrovision a été réalisée en collaboration avec l'unité de Biopolymères Interactions Assemblages du centre INRA de Nantes.

IV.3 Composition biochimique des fruits

Les analyses biochimiques ont été réalisées soit sur des fruits individuels (6 fruits par géotype par traitement et par stade), soit sur des lots de péricarpes (4 lots par géotype de fruits minimum par traitement et par stade) (**figure 23**). Dans le cas des analyses sur fruits individuels, à l'exception de Cervil, les fruits ont été coupés en deux. Un demi fruit a été conservé entier (péricarpe, gel, columelle, graines) alors que sur la deuxième moitié seul le péricarpe a été prélevé, afin de comparer la composition du péricarpe à celle du fruit entier. Les deux types d'échantillons ont été plongés dans l'azote liquide puis conservés à -20°C , avant d'être lyophilisés et broyés à l'aide d'un broyeur (IKA A11 basic). Dans le cas des lots de péricarpes, les fruits ont été broyés et conservés à -80°C .

Les **sucres solubles** (glucose, fructose, saccharose) et les **acides organiques** (acides citrique, malique et quinique) ont été dosés par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) après une extraction dans un mélange méthanol-chloroforme suivant le protocole de Gomez

et al., (2002). Les mesures ont été faites sur les lots de péricarpes mais aussi sur fruits entiers et sur les péricarpes individualisés aux trois stades et dans les deux conditions.

Le dosage de l'**amidon** a été réalisé sur les deux types d'échantillons collectés (fruit entier et péricarpe : individuels et lots) uniquement au stade expansion cellulaire, car généralement absent à maturité chez le fruit de tomate. Cependant, Cervil étant connu pour contenir encore de l'amidon à maturité (Bertin *et al.*, 2009), nous avons également effectué des analyses sur les fruits rouges et R7 pour ce génotype. Le dosage de l'amidon est un dosage colorimétrique, qui est réalisé après hydrolyse et dispersion de l'amidon par ajout d'amyloglucosidase. Le glucose ainsi libéré est mesuré sur microplaque par spectrophotométrie suivant la méthode de Gomez *et al.*, (2007).

Les **matières insolubles à l'alcool** (MIA) (Quemener *et al.*, 2007) ont été déterminées aux trois stades sur des poudres de péricarpe uniquement. Après lyophilisation des poudres, l'extraction des MIA a été effectuée après plusieurs éliminations des molécules solubles à partir d'un mélange éthanol-eau, puis après hydrolyse de l'amidon par l'amyloglucosidase et élimination du glucose obtenu. La quantité de MIA du péricarpe a été obtenue par différence de poids sec entre la prise d'échantillon initiale et la pesée finale après les différentes étapes d'élimination et d'hydrolyse.

La **vitamine C** a été dosée sur les quatre lots de péricarpes de fruit broyés et congelés à -80°C, dans les deux conditions et pour les trois stades, selon la méthode de Stevens *et al.*, (2006). Cette méthode colorimétrique par microplaque permet le dosage simultané de la forme réduite naturelle de la vitamine C (ascorbate) et de la vitamine C totale, dosée sous forme réduite après réduction de la forme oxydée par le DTT (agent réducteur).

Les teneurs en **cations** (calcium et potassium) ont été mesurées sur les péricarpes et sur les fruits entiers ayant servis à la mesure du taux de matière sèche. La première étape consiste à minéraliser les échantillons en détruisant la matière organique par calcination du matériel végétal. Le taux de cendres est alors le résidu minéral. Ainsi en éliminant la matière organique des échantillons, cette méthode permet de mettre en solution les cations, dont le dosage a été réalisé par spectrométrie d'absorption atomique. Les ions nébulisés sont soumis à une flamme (acétylène/air), sur laquelle est envoyée une lumière émise par une lampe appropriée émettant les longueurs d'onde caractéristiques de l'élément recherché, les atomes passent de l'état fondamental à un état excité et une partie du rayonnement est ainsi absorbée. L'absorption mesurée est directement proportionnelle à la concentration de l'élément.

V. Analyses protéomiques

V.1 Extraction des protéines pour l'analyse du protéome

L'extraction des protéines totales du péricarpe de fruit de tomate a été réalisée pour les 4 lots d'échantillons de chaque génotype, chaque traitement et chaque stade, soit 144 extractions, selon la méthode d'extraction au phénol décrite par Faurobert *et al.*, (2007). Cette méthode permet de travailler sur des organes récalcitrants comme les fruits en éliminant les acides nucléiques, les polysaccharides et les résidus pariétaux (Saravanan and Rose, 2004). Pour chaque échantillon 2,5g de poudre fraîche de péricarpe de fruit ont été pesés, puis remis en suspension dans 7,5mL de tampon d'extraction (700 mM de saccharose, 500 mM de Tris (pH8), 100 mM KCl, 2% (v/v) de béta-mercaptoéthanol, 2 mM de PMSF, pH 8,5), et incubés sous agitation pendant 15 min dans de la glace. Après ajout de 7,5mL de phénol saturé au Tris, les tubes ont été agités pendant 10 minutes à 4°C puis centrifugés pendant 10 min à 4°C à 5500g afin de séparer les phases aqueuse et phénolique. La phase phénolique a été prélevée et rincée avec 7,5mL de tampon d'extraction. Les échantillons ont été centrifugés à nouveau pendant 15 minutes à 4°C à 5525g. La phase phénolique obtenue a été prélevée (environ 5 ml) et précipitée à l'aide de cinq volumes (soit 25 ml) de solution de précipitation (0,1 M d'acétate d'ammonium dans du méthanol). Après précipitation pendant une nuit à -20°C, les tubes ont été centrifugés 15 min à 4°C à 5525g et le surnageant éliminé. Le culot de protéines obtenu, a été rincé trois fois avec la solution de précipitation et une fois avec de l'acétone. Chaque rinçage a été suivi d'une centrifugation de 15 minutes à 4°C à 5525g. Les culots ont été séchés sous la cloche à vide, puis solubilisés dans 250µl de tampon de solubilisation (9M d'urée, 4% (w/v) de CHAPS, 0,5% (v/v) de Triton X-100, 20 mM DTT, 1,2% (v/v) de pharmalytes pH 3-10). Les concentrations des échantillons protéiques ont été obtenues par la méthode de Bradford modifiée par Ramagli et Rodriguez (1985)).

V.2 Electrophorèse bi-dimensionnelle

L'électrophorèse bidimensionnelle permet de séparer les protéines selon deux caractéristiques physicochimiques : leur charge puis leur masse moléculaire.

Pour la focalisation isoélectrique une réhydratation passive des Immobiline dry strips de 24 cm pH 4-7 (Amersham Bioscience, Uppsala, Sweden) en présence de l'échantillon protéique 500µg de protéines resuspendues), de 9µl de tampon IPG pH 4-7 et du tampon de réhydratation (8 M d'urée, 2% (w/v) de CHAPS, 0,3% (w/v) de DTT, 2% (v/v) de pharmalytes, pH 3-10) ajusté pour un

volume final de 450 µl, a eu lieu pendant 16 heures. La focalisation isoélectrique a été réalisée avec l'appareil Ettan IPGphor 3 (GE-Healthcare Life Sciences) en utilisant le programme suivant : 1h à 500V, 1h avec une augmentation progressive du voltage de 500V à 1000V, 3h avec une augmentation de 1000V à 8000V, une étape à 8000V jusqu'à atteindre 30 000kVh cumulés, 3h avec une augmentation pour atteindre 10 000V, une étape à 10 000V en continu jusqu'à atteindre en cumulé 28 000 kVh, puis 12h à 50V. Après la migration, les bandelettes IPG ont été stockées à -20°C pour être ensuite soumises, avant la deuxième électrophorèse, à l'étape de réduction et alkylation des protéines. Celle-ci a eu lieu sous agitation douce dans un tampon d'équilibration: pendant 20 minutes dans la solution A (6 M d'urée, 50 mM de Tris-HCl pH 8.8, 30% de glycérol, 2% (w/v) de SDS et 2% (w/v) de DTT) , puis pendant 20 minutes dans la solution B (6 M d'urée, 50 mM de Tris-HCl pH 8.8, 30% de glycérol, 2% (w/v) de SDS et 2,5% (w/v) de iodoacétamide).

L'électrophorèse SDS-PAGE a été réalisée en gel d'acrylamide (13%) dans une cuve Biorad Protean II Dodecacell (Biorad Life Science Research, Hercules, CA, USA) contenant environ 23 l de tampon (25 mM de Tris, 192 mM de glycine, 1% (w/v) 0,1% de SD et permettant de faire migrer simultanément 12 gels. Les conditions de migration étaient : 2 h à 70 V, 2 h à 90 V et 12 h à 100 V. Les gels obtenus ont été coloré au bleu colloïdal. Ils ont été fixés sous agitation pendant deux heures dans 2 bains d'une heure, contenant chacun une solution de 2 % d'acide phosphorique et de 50 % d'éthanol. Puis les gels ont été rincés pendant 1 h sous agitation dans une solution contenant 2 % d'acide phosphorique. Une étape de pré-trempage de 20 minutes sous agitation a été ensuite réalisée dans une solution composée de 2 % d'acide phosphorique, 17 % d'éthanol et 15 % de sulfate d'ammonium. La coloration au Bleu Brillant de Coomassie G-250 a été effectuée ensuite par ajout de 0,5 g de colorant par gel dans la solution de pré-trempage : la coloration a duré 72h. Cette coloration permet une quantification reproductible des protéines car il existe une bonne corrélation entre l'abondance et la densité optique des spots (Neuhoff *et al.*, 1988). A la fin de la coloration, les gels ont été rincés toujours sous agitation dans deux bains de 10 minutes contenant de l'eau osmosée. Les gels ont été numérisés pour l'analyse d'image puis stockés à 4°C dans une solution composée de 15 % de sulfate d'ammonium.

V.3 Acquisition et analyse d'image

Les gels de protéines ont été numérisés à l'aide d'un scanner Image Scanner (Amersham Bioscience, Uppsala, Suède) avec le logiciel Labscan 5.0 en mode transmission avec une résolution de 300 dpi. Les spots de protéines ont été détectés et quantifiés grâce au logiciel d'analyse d'image Progenesis SameSpots version 2.0 (Nonlinear Dynamics Ltd, Newcastle upon Tyne, UK). Les volumes

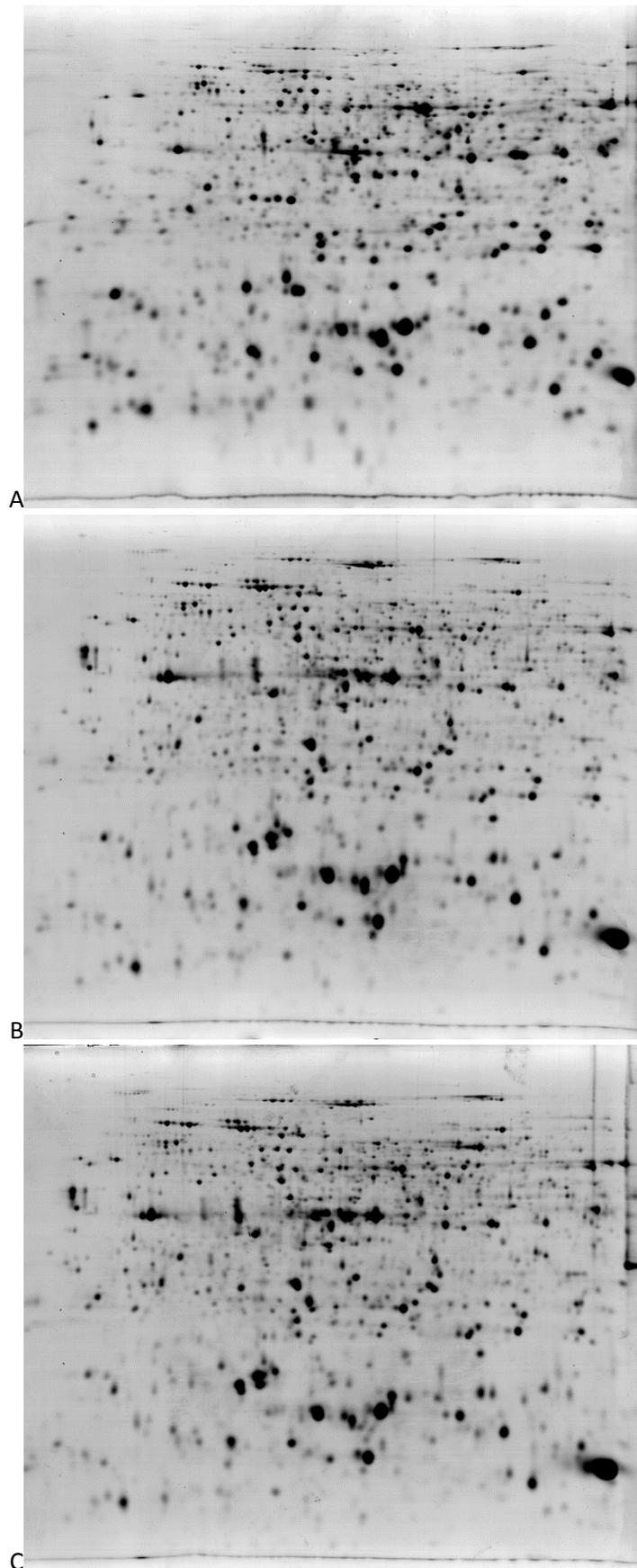


Figure 28 : Gels d'électrophorèse bi dimensionnelle, les protéines sont colorés au bleu Brillant de Coomassie, **A** : au stade vert (ViLB DHP), **B** : au stade rouge (ViLB DHP) et **C** : au stade R7 (ViLB témoin)

des spots ont été normalisés par rapport au volume total de tous les spots du gel, afin d'éviter des variations expérimentales entre gels. Pour comparer l'ensemble des gels dans les différentes conditions expérimentales, un gel de référence (comprenant le maximum de spot, avec la meilleure définition) a été déterminé pour chaque stade de développement étudié (**figure 28**) sur lequel les autres gels ont été alignés, mais également un gel de référence total, où ont été positionnés l'ensemble des spots étudiés.

V.4 Identification des protéines par spectrométrie de masse

L'identification des protéines a été réalisée par nano LC MS/MS par la Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud-Ouest (PAPPSO) selon le protocole décrit dans Xu *et al.*, (2013). La digestion des protéines en gel a été réalisée avec un robot d'hydrolyse Progest (Genomic Solution, East Lyme, CT, USA) selon le protocole standard utilisant la trypsine. Les peptides obtenus ont été séparés par une chaîne chromatographique liquide haute performance (NanoLC-Ultra system (Eksigent). Les peptides élués ont été ensuite analysés au spectromètre de masse à trappe ionique (LTQ XL ion trap, Thermo Electron) utilisant une source nanospray.

Les ions peptides ont été analysés à l'aide du logiciel Xcalibur 2.07. Le logiciel X!Tandem (version 2010.12.01.1, <http://www.thegpm.org/tandem/>) a été utilisé pour l'identification des protéines à partir de la base de données de la tomate : International Tomato Annotation Group (ITAG) Release 2.3 predicted proteins (SL2.40) (<http://solgenomics.net/>).

VI. Analyses statistiques :

Les effets génétiques, stade, et traitement ont été évalués par des analyses de variances (ANOVA) à trois facteurs avec un seuil de significativité de 5%. Pour compléter les ANOVA, des tests de Tukey ou Dunnett ont été effectués pour comparer les traitements et les génotypes lorsque les effets étaient significatifs. Des tests de Student ont été utilisés pour identifier les effets du déficit hydrique au sein d'un même génotype. Des analyses en composantes principales ont été réalisées pour évaluer la variabilité génétique et environnementale liée au déficit hydrique des variables de texture et des variables biochimiques, histologiques et anatomiques. Ces tests ont été effectués avec le logiciel R (<http://www.r-project.org>) notamment avec le package Ade4. Les corrélations (Pearson) entre les variables de texture et les autres variables analysées ont été sélectionnées selon leur niveau

de significativité déterminé par un taux de faux positifs (FDR) inférieur à 1%. Les corrélations ont été visualisées sous forme de réseaux à l'aide du logiciel Pajek version 2.02 (Batagelj and Mrvar, 2002). La représentation est basée sur l'algorithme de Fruchterman-Reingold.

Des analyses de corrélations partielles ont été faites lorsque les données le permettaient (nombre d'observations suffisamment grand par rapport au nombre de variables étudiées) afin d'inférer des réseaux de dépendance entre variables avec le package GGMselect du logiciel R, en collaboration avec l'unité de Mathématiques et Informatique Appliquées du centre INRA de Jouy-en-Josas. L'utilisation de la corrélation partielle permet d'évaluer une relation entre deux variables après avoir contrôlé l'effet perturbateur d'une ou plusieurs variables. Enfin, une analyse en co-inertie multiple (ACOM) a été effectuée. Elle est basée sur l'utilisation d'un critère de covariance pour identifier une structure commune aux données collectées au niveau protéomique, anatomique, histologique et biochimique. Cette analyse a été réalisée avec le logiciel Ade4 (Thioulouse *et al.*, 1997). Les travaux sur les analyses en co-inertie multiple ont été réalisés en collaboration avec les unités de Sciences pour l'œnologie du centre INRA de Montpellier et de Sensométrie et Chimiométrie (USC INRA) ONIRIS de Nantes.

Pour les données de protéomique, les volumes des spots ont été normalisés, puis testés avec une ANOVA à deux facteurs (déficit hydrique x génotype). Les spots significativement variants ($p < 0.05$) ont été contrôlés manuellement pour éliminer les faux positifs. Les données obtenues ont été regroupées par la méthode UPGMA à l'aide du logiciel EPCLUST (<http://ep.ebi.ac.uk>).

Résultats

Résultats :

L'originalité de mes travaux de thèse repose sur une analyse de la texture du fruit sous trois angles de lecture différents (génétique, environnemental : traitement hydrique et physiologique : stade de développement) appliqués à différents niveaux d'échelles (anatomique, histologique, biochimique et protéomique). Les nombreux résultats obtenus sont présentés en quatre parties. Dans la première partie sont étudiés les effets sur la texture de la tomate des facteurs génétique, traitement hydrique et stade de développement. Dans la seconde et troisième partie, je présenterai les effets de ces mêmes facteurs sur les variables anatomiques, histologiques, biochimiques et protéomiques. Dans la dernière partie, j'intégrerai les résultats obtenus aux différents niveaux d'étude (parties 3.1 et 3.2) à l'aide de différents outils statistiques pour identifier les liens entre variables d'un même niveau et entre les différents niveaux afin d'identifier des variables explicatives de la texture du fruit de tomate aux différentes échelles étudiées.

Pour l'ensemble des résultats, les effets génétiques sont analysés au travers des effets liés aux introgressions et aux QTL. Les fruits ont été prélevés à trois stades de développement (expansion cellulaire, maturité et post-récolte (conservé pendant 7 jours à 20°C (R7)), afin d'identifier des variables qui pourraient précocement déterminer des variations de qualité finale du fruit apparentes à maturité ou au stade post-récolte (R7), en réponse ou non au régime hydrique.

Chapitre 3 :

Indicateurs de perception du déficit hydrique par la plante et le fruit

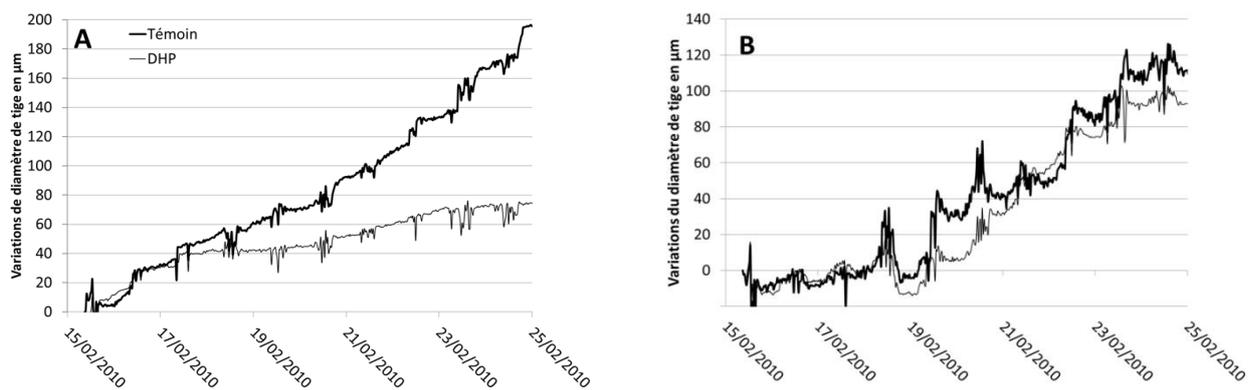


Figure 29 : Variations de diamètre de tige en μm pour Levovil (A) et ViilB (B) du 15/02/2010 au 25/02/2010, en trait gras les plantes témoins et en trait fin les plantes DHP. Le déficit hydrique commence à avoir des effets visibles sur Levovil à partir du 18 février 2010, son diamètre de tige augmente moins vite pour les plantes DHP par rapport aux témoins, alors que pour ViilB les courbes des plantes témoins et DHP ne se différencient pas ou peu.

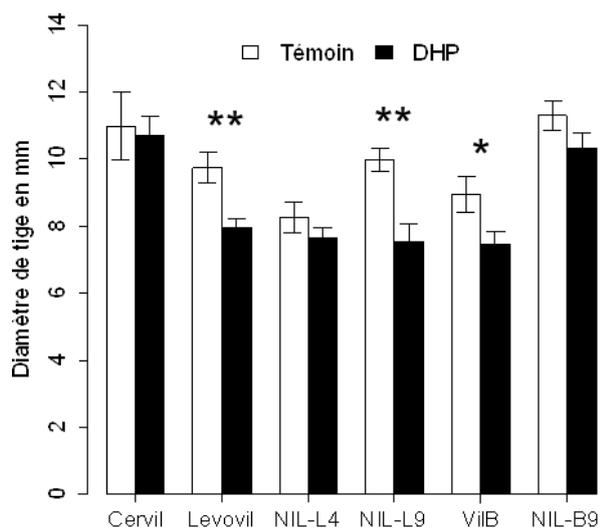


Figure 30 : Diamètres de tige exprimés en mm, relevés le 15 avril 2010, cette mesure a été répétée sur 10 plantes de chaque génotype et traitement. Les plantes DHP ont globalement des diamètres plus petits que les témoins, indiquant une moindre vigueur. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$, et $***p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative).

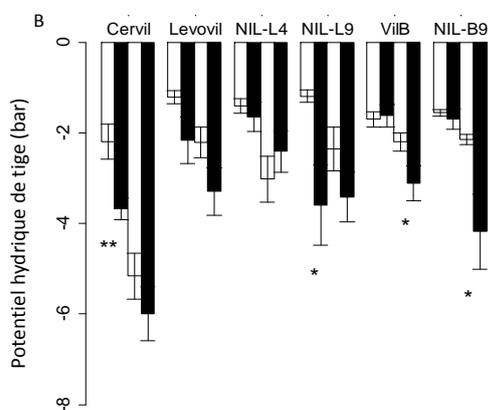
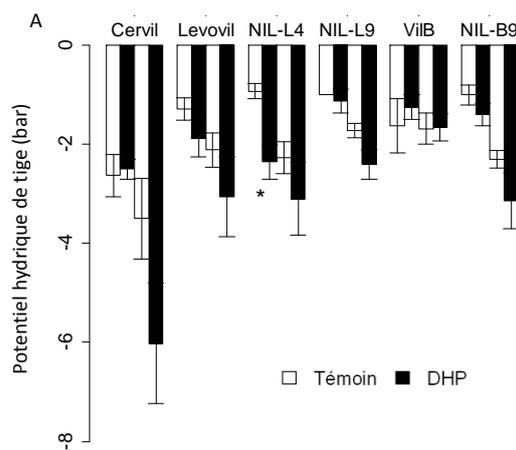


Figure 31 : Potentiel hydrique de tige A : le 22 03 2010, B : le 22 04 2010. Les deux premières barres de chaque groupe correspondent au potentiel de base (réalisé le matin avant le lever du soleil) et les deux suivantes au potentiel minimal de tige (réalisé au midi solaire).

Chapitre 3 : Indicateurs de perception du déficit hydrique permanent (DHP) par la plante et le fruit

Etant donné le peu de références dans la littérature sur les effets d'un déficit hydrique prolongé en culture hors sol, il s'agissait pour nous dans un premier temps de confirmer que le DHP avait impacté le phénotype de la plante et du fruit.

En raison de la taille de l'expérimentation (288 plantes étudiées), le choix des indicateurs de déficit hydrique a été orienté vers des indicateurs discriminants mais simples à mettre en œuvre.

Plusieurs mesures biologiques ont été effectuées, destinées à évaluer la perception du DHP : en début de culture (février) et en milieu de culture (avril) les diamètres de tige, indicateurs de la vigueur de la plante. En mars et avril, ont été mesurés les potentiels de tige, puis en mai, les surfaces et les masses des feuilles, pour déterminer la masse surfacique foliaire. Au niveau du fruit, entre les mois de mars et juin, nous avons établi des cinétiques de poids frais et de diamètre du fruit. Enfin, à l'issue de la culture (juillet), nous avons observé le système racinaire.

I. Diamètres de tige

Dans la mesure où nous ne disposions pas d'un nombre de capteurs suffisant, nous avons choisi de suivre de manière automatique et continue, les variations des diamètres de tiges des deux parents Levovil et VilB (**figure 29**). Les diamètres de tiges sont un bon indicateur de l'état hydrique de la plante et leur sensibilité a été démontrée en condition de déficit hydrique (Swafef *et al.*, 2009; Fernandez and Cuevas, 2010). Le DHP a été initié à partir de mi-janvier, les relevés ont été effectués sur la période du 15 au 25 février. Les deux génotypes montraient des comportements différents : la croissance en diamètre de tige était réduite chez Levovil en condition DHP un mois après le début du traitement (**figure 31A**). VilB ne montrait pas de différence entre les deux conditions (**figure 31B**). Par contre, il présentait une phase plateau pendant laquelle la croissance en diamètre est faible.

A mi-culture, les diamètres de tige mesurés manuellement (**figure 30**) montraient une réduction chez les plantes DHP par rapport aux plantes témoins. La vigueur des plantes a donc diminué en condition DHP pour tous les génotypes au bout de trois mois de traitement, en particulier pour Levovil, NIL-L9 et VilB, qui étaient les plus sensibles selon cet indice. VilB qui ne répondait pas au bout d'un mois de DHP (**figure 30**) montrait une diminution de vigueur significative au bout de trois mois.

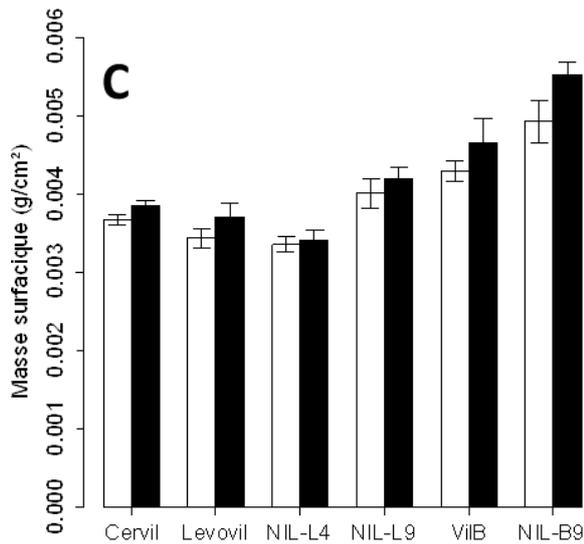
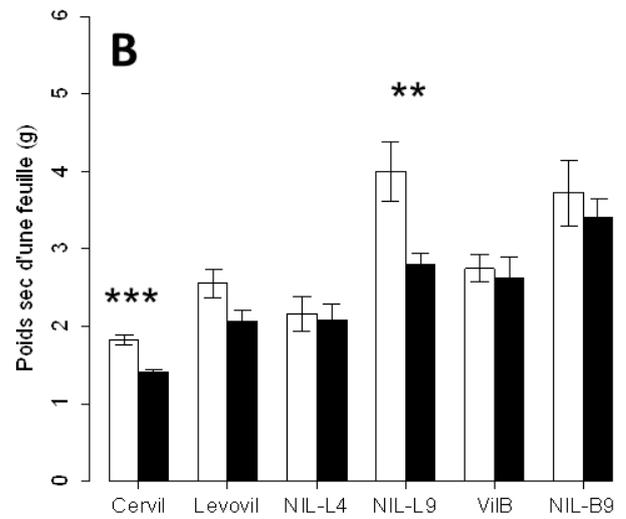
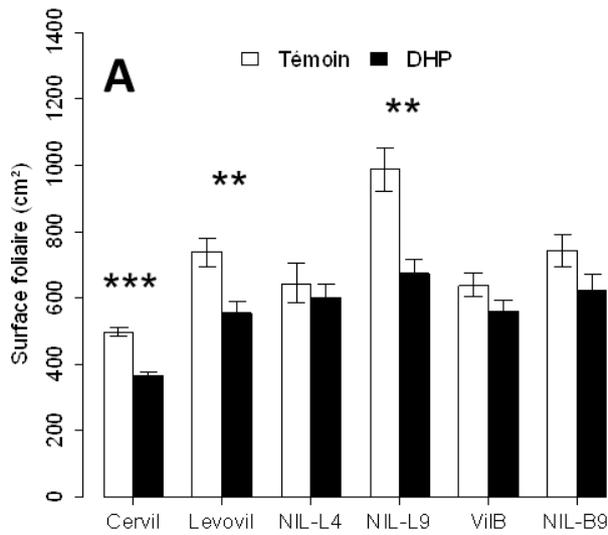


Figure 32 : Effet du DHP sur la surface moyenne d'une feuille (A), sur le poids sec d'une feuille (B) et sur la masse surfacique (C). Les moyennes ont été calculées à partir de 10 feuilles par génotype et par condition sauf pour Cervil (6 feuilles). Les feuilles étaient prélevées entre les bouquets 10 à 14, et entre les bouquets 18 à 22 pour Cervil entre le 10 et le 27 mai 2010 (en milieu de culture). La barre d'erreur correspond à l'erreur standard (SE). Les étoiles sur les barres correspondent aux résultats du test de Student entre feuilles des plantes témoins (en vert) et des plantes DHP (en rouge) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative) A : Surfaces foliaires des plantes témoins et DHP. Le déficit hydrique réduit la surface foliaire des plantes. C : Masses surfaciques des feuilles, les plantes DHP présentent des valeurs plus élevées résultant d'une augmentation de la masse sèche des feuilles et d'une diminution de la surface foliaire.

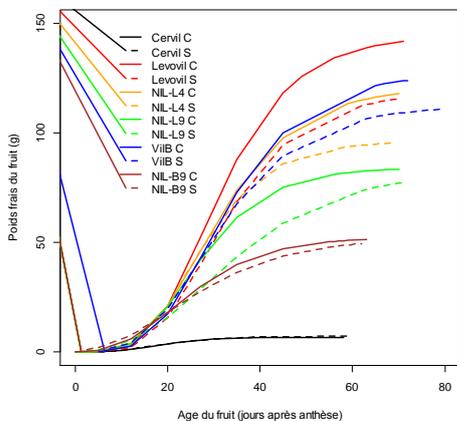


Figure 33 : Evolution du poids du fruit (g) au cours de son développement (ajustement non linéaire par une fonction de Gompertz trois paramètres, coefficient de détermination $R^2 > 0,81$). Les traits continus correspondent aux fruits témoins et les traits en pointillés représentent les fruits DHP. Les fruits cultivés en DHP ont un poids inférieur qu'en condition témoin, excepté pour Cervil.

II. Potentiel hydrique de tige

Les mesures de potentiel hydrique de tige ont été réalisées à deux dates différentes le 22 mars 2010 (journée pluvieuse, lumière diffuse), et le 22 avril 2010 (journée ensoleillée). Les mesures de potentiel hydrique de base ont été effectuées avant le lever du soleil sur 4 à 6 feuilles de chaque génotype et chaque traitement. Pour la première série de mesures, les valeurs du potentiel de base étaient comprises entre -0,93 et -2,63 bars (témoin) et entre -1,13 et -2,5 bars (DHP). Cervil avait un potentiel de base significativement plus faible que celui de Levovil, NIL-L4, NIL-L9 et NIL-B9 en condition témoin uniquement (**figure 31**). A cette date, le potentiel de base n'était pas affecté par le DHP sauf pour le génotype NIL-L4. Les mesures au midi solaire étaient comprises entre -1,69 et -3,5 bars (témoin) et -1,66 et -6,02 bars (DHP). Au midi solaire, Cervil avait un potentiel hydrique significativement plus bas que NIL-L9 et VilB dans les conditions témoin et DHP. En moyenne, le potentiel hydrique au midi solaire des plantes DHP diminuait par rapport aux plantes témoins, bien que les différences n'étaient pas significatives (**figure 31A**), ce qui traduit une plus faible disponibilité en eau dans la plante. Pour les plantes témoins, les comparaisons entre les deux mesures (base et midi solaire) montraient une baisse significative du potentiel au cours de la journée chez NIL-L4, NIL-L9 et NIL-B9. A l'inverse chez VilB, le potentiel restait stable et faible. Les plantes DHP présentaient un comportement similaire aux plantes témoins, mais la différence était plus marquée chez Cervil.

Au cours de la deuxième journée de mesure (**figure 31B**), les potentiels de base étaient compris entre -1,19 et -2,19 bars (témoin) et -1,62 et -3,67 bars (DHP). Quatre mois après le début du déficit hydrique, les plantes DHP Cervil et NIL-L9 avaient un potentiel hydrique de base significativement inférieur à celui des plantes témoins, alors que les différences n'étaient pas significatives pour Levovil, NIL-L4, VilB et NIL-B9. Avec des valeurs comprises entre -2,14 et -5,19 bars (témoin) et -2,41 et -5,99 bars (DHP), les potentiels hydriques évalués au midi solaire étaient plus faibles pour les différents génotypes en condition DHP, excepté chez NIL-L4 (différence non significative) suggérant alors un même statut hydrique dans les deux conditions.

III. Surface foliaire et masse surfacique

Le DHP a entraîné une diminution de la surface foliaire chez tous les génotypes (**figure 32 A**), significative pour les parents Cervil (-26%), Levovil (-25%) et NIL-L9 (-32%). Il est à noter qu'en condition témoin, NIL-L9 présentait les plus grandes feuilles, supérieures à celles de ses deux parents. Le poids sec des feuilles (**figure 32 B**) était réduit par le déficit hydrique de manière

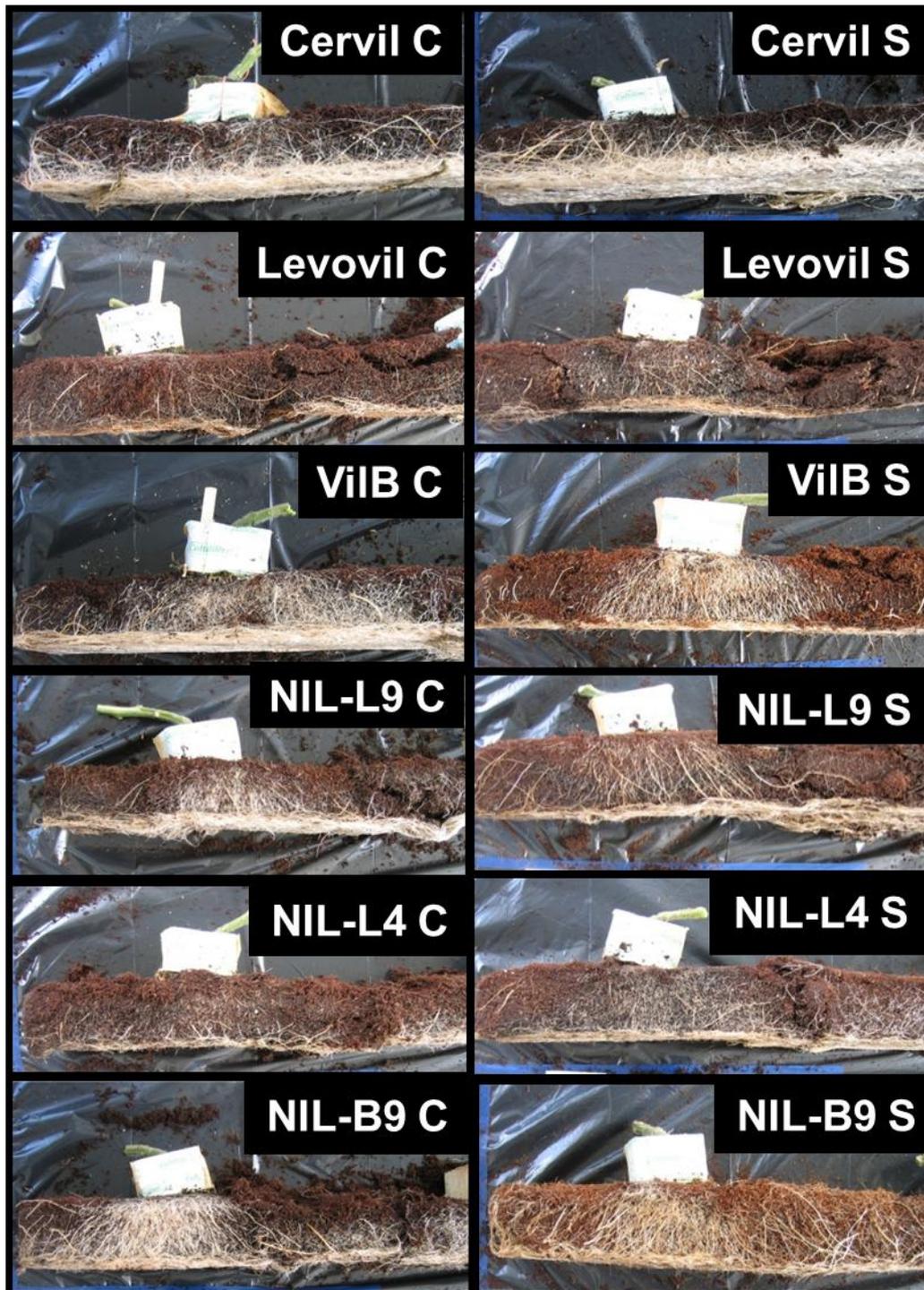


Figure 34 : Racines apparentes en surface du substrat des six géotypes dans les deux conditions (témoin : C et DHP : S), en fin de culture.

significative pour Cervil et NIL-L9. La masse surfacique foliaire obtenue montrait une légère augmentation en condition DHP (sauf NIL-L4) qui n'était cependant pas significative (**figure 32 C**).

Les mesures de fermeté des feuilles basées sur la pression de turgescence cellulaire n'ont pas mis en évidence d'effet du déficit hydrique sur cette variable.

IV. Poids des fruits

Pour le producteur le critère poids frais du fruit est le plus important. Il est donc fondamental d'évaluer les pertes de rendement liées au DHP. Les nombreuses mesures effectuées montraient une diminution du poids frais final de tous les géotypes (-12% en moyenne) sauf Cervil. Le diamètre et le poids du fruit étaient toujours bien corrélés ($R^2 > 0.9$). La cinétique des poids du fruit (**figure 33**) soulignait également une diminution du poids dès l'expansion cellulaire. Les diminutions de poids frais des fruits étaient également accompagnées par une diminution de la charge en fruit par m². Sur la variété Climberley (couramment utilisée en production), la charge en fruit a diminué de 69,5 à 62,1 fruits par m² sous l'effet du DHP, soit une perte de -11%. Le rendement a donc diminué d'environ -20%, perte que le producteur pourrait supporter par une amélioration de la qualité globale des fruits.

V. Développement racinaire

A la fin de la culture, le développement racinaire a été observé selon deux points de vue, tout d'abord une vision des racines sur le substrat intact, puis à l'intérieur du pain de fibre de coco après l'avoir découpé dans le sens longitudinal. Globalement la colonisation des racines a eu lieu préférentiellement à la base du pain (**figure 34**). Le DHP semblait diminuer la densité racinaire chez VilB, NIL-L9 et NIL-B9, et l'augmenter chez Cervil, Levovil et NIL-L4. On remarquera également de fortes différences entre les parents mais aussi entre les NILs. La densité racinaire était plus faible dans le fond L que dans le fond B. Le QTL9 pourrait augmenter la densité racinaire dans les deux fonds génétiques, alors que le QTL4 pourrait avoir un effet inverse.

Bilan des indicateurs hydriques :

Le traitement DHP a diminué la vigueur des plantes, la taille des feuilles et des fruits, et a augmenté la masse surfacique des feuilles. Ces variations témoignent d'une diminution de la disponibilité en eau qui est confirmée par les mesures de potentiel hydrique. Les plantes en condition DHP ont donc bien perçues un stress hydrique et ce de manière croissante au cours de l'avancement de la culture.

Tous les génotypes ont répondu au moins sur l'une des variables mesurées, sauf peut-être NIL-L4. Le fond génétique L avait une densité racinaire plus faible que le fond B, qui pourrait expliquer une réponse plus précoce au DHP observée sur les diamètres de tiges.

VI. Discussion : Effets du déficit hydrique sur la croissance et rendement

La diminution de vigueur observée chez les plantes DHP a révélé une adaptation des plantes à la faible disponibilité en eau. Pour survivre : la plante a réduit sa croissance pour économiser et redistribuer les ressources qui pouvaient devenir limitantes (Skirycz and Inze, 2010). Les diminutions du potentiel hydrique de tige ont confirmé une plus faible disponibilité en eau dans les plantes conduites en DHP. Cette faible disponibilité a diminué la turgescence et la croissance cellulaire, l'eau étant le moteur de la croissance, la croissance de tous les organes de la plante (tige, feuille, fruit) a été ralentie (Anjum *et al.*, 2011; da Silva, 2013). Chez *Arabidopsis* et chez le tournesol (*Helianthus annuus*), le ralentissement de croissance des feuilles induit par le déficit hydrique, résulte d'une réduction de l'expansion cellulaire mais également de la division cellulaire (Aguirrezabal *et al.*, 2006; Pereyra-Irujo *et al.*, 2008). A l'échelle du fruit, la diminution du poids frais confirme des résultats antérieurs sur le rendement en condition de déficit hydrique (Nuruddin *et al.*, 2003; Najla, 2009; Patane and Cosentino, 2010). Contrairement aux effets sur la partie aérienne et sur les fruits, les effets du déficit hydrique sur la croissance racinaire sont variables (Hooker and Thorpe, 1997). Sur *Catharanthus roseus*, le déficit hydrique augmente la croissance racinaire (Jaleel *et al.*, 2008), alors qu'elle est réduite chez le maïs (Sacks *et al.*, 1997). Au cours de notre étude, les effets du DHP n'ont pas été analysés de manière quantitative, mais une forte interaction DHP x génotype a pu être observée.

Dans le chapitre suivant, les effets du DHP et des QTL de texture sur les variables de texture instrumentale et sensorielle seront développés à différents stades du fruit : au cours de sa croissance, à maturité puis après une période de conservation de 7 jours.

Chapitre 4 :

Effets du déficit hydrique et des QTL de texture sur les variables sensorielles et instrumentales de la texture du fruit

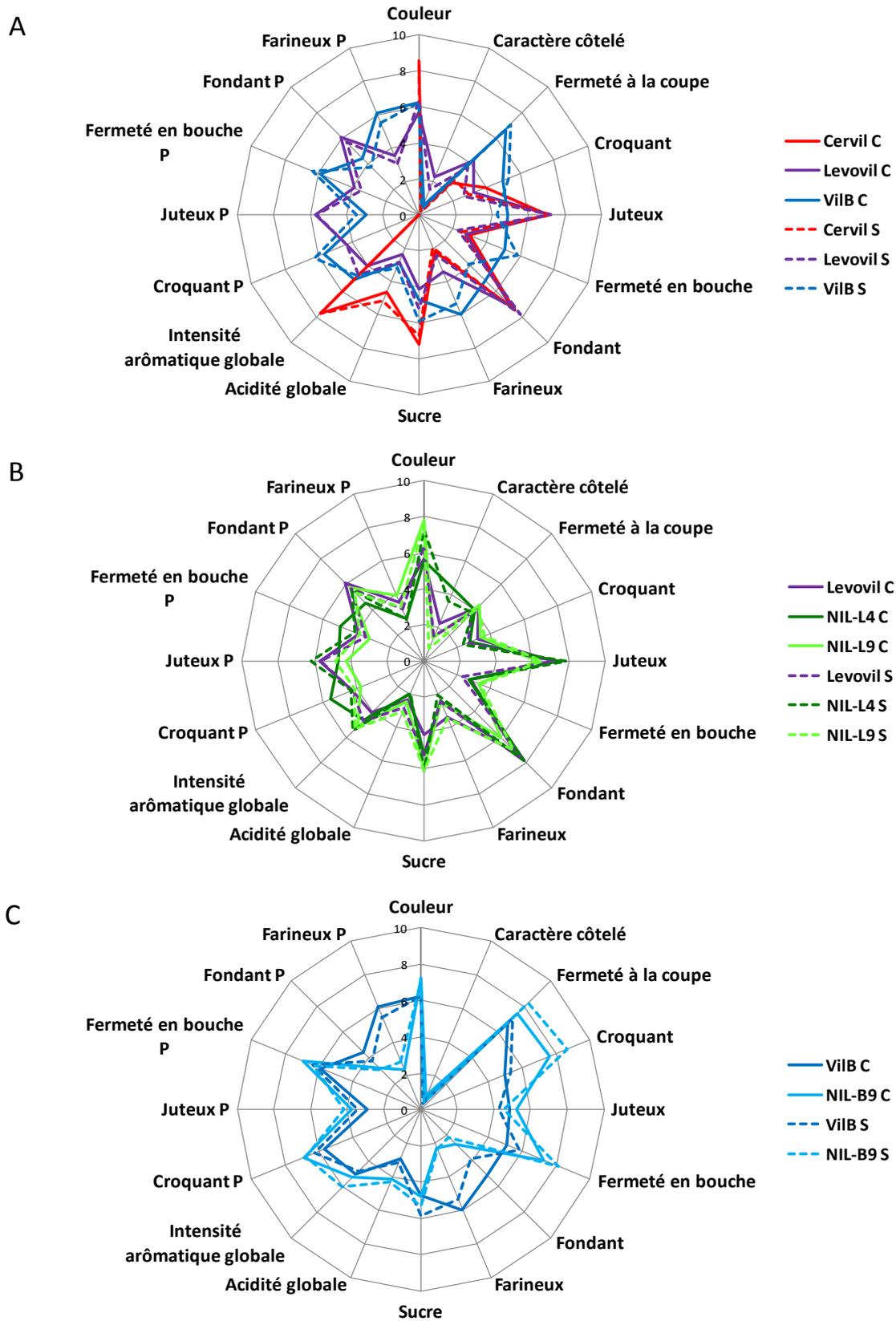


Figure 35 : Profils sensoriels des parents (A) des NILs et de leur parent respectif dans les fonds génétiques L (B) et B (C) dans les conditions témoin (C : trait plein) et DHP (S : trait discontinu) sur les descripteurs du fruit à droite de l'étoile et du péricarpe à gauche de l'étoile (P).

Chapitre 4 : Effets du DHP et des géotypes sur les variables sensorielles et instrumentales de la texture du fruit :

Cette partie s'intéresse aux effets du fond génétique, des QTL et du DHP sur la texture et la qualité sensorielle du fruit, évaluées par analyse sensorielle et par des mesures physiques de fermeté et de rigidité. Les travaux existants sur les effets de l'irrigation sur la texture du fruit sont assez controversés. Par exemple, l'irrigation déficitaire améliore la fermeté des fruits chez le pommier (Leib *et al.*, 2006; Hooijdonk *et al.*, 2007) et chez la tomate (Patane and Cosentino, 2010), mais pas chez l'abricot (Perez-Pastor *et al.*, 2007). Ces travaux font référence à la fermeté instrumentale (pénétrométrie ou compression), mais peu de travaux concernant la fermeté sensorielle en réponse au stress hydrique sont disponibles (Carli *et al.*, 2011; Vallverdu *et al.*, 2012). En ce qui concerne les effets des QTL de texture chez la tomate, ils ont peu été étudiés par analyse sensorielle (Causse *et al.*, 2002; Causse *et al.*, 2003; Chaib *et al.*, 2007). Dans mon travail, l'analyse sensorielle visait à déterminer si les effets du déficit hydrique et des QTL mesurés de manière instrumentale étaient perceptibles au cours de la dégustation du fruit. Pour les mesures instrumentales, les mesures ont été réalisées à trois stades de développement du fruit (expansion cellulaire, rouge et post-récolte) afin de savoir si les effets observés à maturité étaient déjà déterminés au stade vert (expansion cellulaire) et seraient aussi liés à des mécanismes de croissance et pas seulement à des mécanismes de maturation.

I. Effets du géotype et du déficit hydrique sur les composantes sensorielles de la texture du fruit :

Les résultats présentés ici ont été obtenus par un panel de dégustateurs entraînés (CTIFL de Balandran) qui a évalué des tomates mûres (stade 8-9 du code couleur) prélevées au cours de l'expérimentation, ainsi que des péricarpes isolés avec peau (sauf Cervil).

Perception des effets DHP par le jury

Le jury a noté différemment les fruits DHP et les fruits témoins, même si peu de différences étaient statistiquement significatives (**figure 35**). Certains descripteurs d'aspect ont été affectés comme la couleur des fruits qui était intensifiée par le DHP pour NIL-L4 ($p < 0.05$) et pour Levovil (non significatif). Cet effet a déjà été observé chez la tomate en condition de stress hydrique (Pulupol *et al.*, 1996; Nuruddin *et al.*, 2003). L'augmentation des concentrations en pigment comme le lycopène

chez la tomate, résulterait d'une augmentation de la biosynthèse d'antioxydants pour protéger le fruit des dommages créés par le stress oxydatif (Lenucci *et al.*, 2010). Dans le fond génétique L, les fruits DHP apparaissaient également moins côtelés que les fruits témoins. Au niveau de la flaveur des fruits (sucre, acidité globale et intensité aromatique globale), le déficit hydrique a globalement augmenté ou n'a pas modifié les valeurs des descripteurs. Le caractère sucré a augmenté significativement en condition DHP pour Levovil, NIL-L4 et VilB ; pour les autres génotypes les augmentations n'étaient pas significatives. Il en était de même du caractère acide, qui était accru (ns) en condition DHP pour Cervil, VilB, Levovil, NIL-L9 et NIL-B9. L'intensité aromatique a également été jugée significativement supérieure pour les fruits DHP de Levovil, NIL-L4 et NIL-B9. On a retrouvé des résultats similaires chez la pêche cultivée en condition de déficit hydrique (Vallverdu *et al.*, 2012). Chez la tomate, Carli *et al.*, (2011) montraient également des variations de la flaveur du fruit entre six écotypes cultivés dans différents sites en Italie. Pour ces auteurs, la flaveur est conditionnée par les conditions environnementales mais aussi par le fond génétique.

En ce qui concerne la texture, les fruits de Cervil et Levovil étaient dans l'ensemble moins fermes, moins farineux et plus fondant en condition DHP qu'en condition témoin (ns). Ces résultats étaient proches de ceux observés sur la pêche, où le déficit hydrique diminue la fermeté (Vallverdu *et al.*, 2012). Contrairement aux fruits de Cervil et Levovil, ceux de VilB et NIL-B9 étaient globalement plus fermes, plus croquants, moins fondants, moins farineux et moins juteux en condition DHP qu'en condition témoin (ns). Pour NIL-L4 et NIL-L9, les profils de texture étaient peu différents dans les deux conditions étudiées. On note toutefois en condition DHP une légère diminution de la fermeté à la coupe et du croquant pour NIL-L4, et une légère augmentation des caractères farineux et fondant pour NIL-L9. Le DHP a donc eu des effets différents sur la texture du fruit selon les génotypes. Dans la littérature, la majorité des travaux qui évaluent les effets du déficit hydrique sur la texture du fruit sont réalisés par mesures instrumentales (tomate (Patane and Cosentino, 2010); pomme : (Leib *et al.*, 2006; Hooijdonk *et al.*, 2007) ; abricot : (Perez-Pastor *et al.*, 2007)). Les travaux qui évaluent la texture des tomates par analyse sensorielle dans différentes conditions environnementales sont peu nombreux, mais confirment l'effet de l'environnement sur la fermeté des fruits (Causse *et al.*, 2003; Carli *et al.*, 2011). Carli *et al.*, (2011) montrent que les descripteurs de texture (jutosité, farinosité et fermeté) sont moins affectés par les facteurs environnementaux (différents lieux de culture en Italie) que par les facteurs génétiques.

Les résultats obtenus sur l'analyse du péricarpe seul montrent les mêmes tendances que celles observées sur le fruit entier, avec notamment pour NIL-L9 des différences plus marquées entre

les deux conditions au niveau du péricarpe pour les descripteurs : fermeté en bouche, croquant et juteux. Le panel a constaté également que les fruits cultivés en condition DHP présentaient plus souvent une peau gênante par rapport aux fruits témoins, particulièrement pour Levovil, NIL-L4 et VilB.

Perception des effets fond génétique et QTL par le jury

Le panel a différencié de manière statistiquement significative les trois parents pour les variables évaluées (**figure 35A**). En condition témoin, la comparaison entre les profils de Cervil (C) et Levovil (L) montrait des différences significatives pour six descripteurs sur les onze évalués sur le fruit (C>L : acidité globale, couleur, intensité aromatique et sucrosité; et L>C : caractère côtelé, et fermeté à la coupe). En condition DHP, globalement, les différences entre les deux génotypes étaient toujours visibles sauf pour la fermeté à la coupe. Les différences significatives concernant l'acidité et l'intensité aromatiques étaient identiques à celles obtenues par Causse *et al.*, (2002). Par contre, les différences concernant les descripteurs de texture (Cervil significativement plus ferme en bouche et moins fondant que Levovil) n'étaient pas significatives dans notre étude.

La comparaison des profils de Cervil (C) et VilB (B) a révélé dix différences significatives sur les onze critères testés sur le fruit (C>VilB : acidité globale, couleur, fondant, intensité aromatique, juteux, sucrosité ; et VilB>C : croquant, farineux, fermeté en bouche et fermeté à la coupe). En condition DHP, les différences précédemment observées entre Cervil et VilB étaient stables, sauf pour la sucrosité.

La comparaison entre les profils de Levovil (L) et VilB (B) en condition témoin a montré onze critères significativement différents sur les seize évalués sur le fruit et sur le péricarpe (L>B : caractère côtelé, fondant, juteux; B>L : croquant, farineux, fermeté en bouche, fermeté à la coupe). En condition DHP, les différences observées en condition témoin restaient significatives. Les critères évalués sur le fruit et sur le péricarpe ont permis de classer les parents de la même façon. Dans le fond génétique L (**figure 35B**), les QTL4 et QTL9 ont affecté significativement trois descripteurs du fruit : la couleur externe, le caractère côtelé et le gout sucré. Le QTL9 a augmenté significativement l'intensité de la couleur du fruit dans les deux conditions étudiées en accord avec les résultats de Causse *et al.*, (2002), de même que le caractère sucré en condition témoin. Contrairement aux effets du QTL9 qui avaient déjà été observés, le QTL4 a augmenté significativement le caractère côtelé des fruits dans les deux conditions, ce qui n'avait pas été identifié précédemment. Au contraire, les QTL de texture attendus (farinosité, fondant et fermeté de la chair) précédemment identifiés sur les

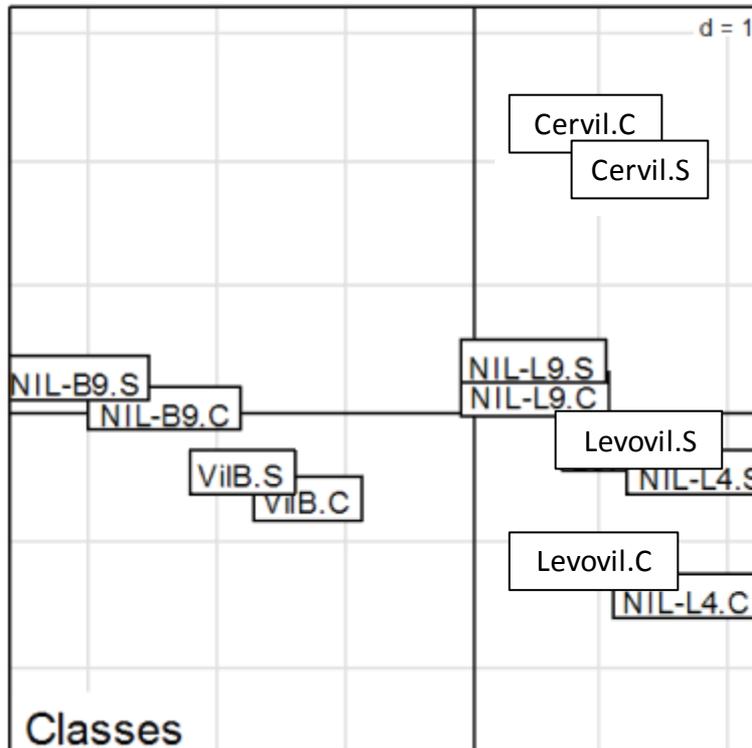


Figure 36 : ACP réalisée à partir des notes descripteurs sensoriels du fruit des six géotypes dans les conditions témoins (C) et DHP (S), pour chaque géotype par condition, seul le barycentre est représenté. (Axe 1 = 32%, axe 2= 19%)

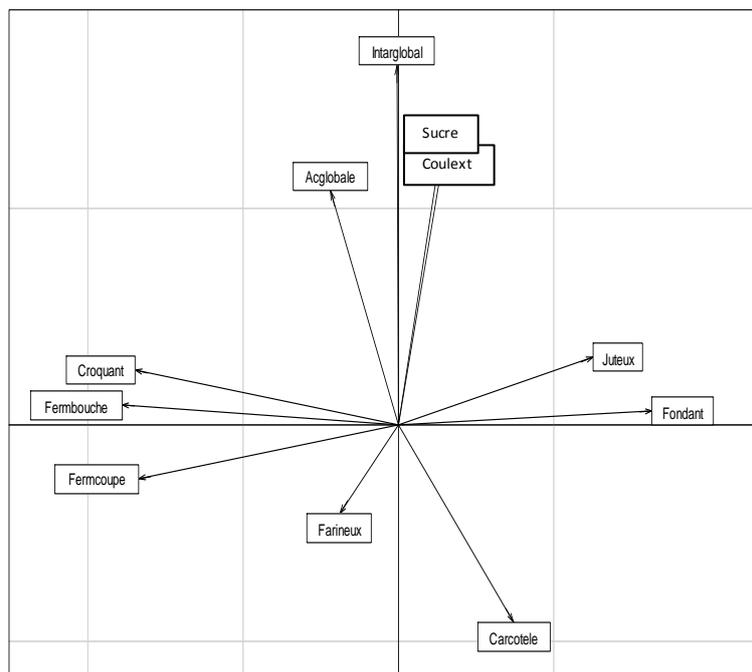


Figure 37 : Projection des descripteurs sensoriels (farineux, fermeté à la coupe (Fermcoupe), fermeté en bouche (Fermbouche), croquant, acidité globale (Acglobale), intensité aromatique globale (Intarglobal), caractère sucré (Sucre), couleur externe du fruit (Coulext), juteux, fondant et caractère côtelé (Carcotele) sur les axes 1 et 2 de l'ACP. Les critères de fermeté et de fondant sont corrélés avec l'axe 1 (32% d'inertie), l'intensité aromatique est bien corrélée avec l'axe 2 (19% d'inertie).

chromosomes 4 et 9 dans le fond génétique L n'ont pas été retrouvés (**figure 17** du Matériel et Méthodes, Chaib *et al.*, 2006, Causse *et al.*, 2002). L'absence d'effet significatif par rapport aux résultats attendus pourrait être liée à des interactions épistatiques : interactions entre QTL du fragment introgressé et ceux du fond génétique (Chaib *et al.*, 2006), ou à de fortes interactions génotype x environnement (et donc des effets QTL instables (Chaib *et al.*, 2007)).

Dans le fond génétique B (**figure 35C**), le QTL9 a modifié significativement sept descripteurs : la couleur externe, le caractère côtelé, le croquant, la fermeté en bouche, le fondant, la farinosité et l'acidité globale. Par rapport aux fruits de VILB, les fruits de NIL-B9 avaient une couleur plus intense (condition témoin), ils étaient plus croquants et plus fermes en bouche, moins fondants et moins farineux. Leur acidité globale était supérieure en condition témoins alors que leur intensité aromatique était augmentée en condition DHP. Des différences étaient également perçues au niveau du péricarpe. Ces résultats sont en accord avec les QTL précédemment identifiés dans le fond génétique L (**figure 17** du Matériel et Méthodes, Chaib *et al.*, 2006, Causse *et al.*, 2002).

Globalement, les effets des QTL tendent à disparaître en condition de déficit hydrique, les profils sensoriels des NILs étant plus proches de leur parent en condition DHP qu'en condition témoin. Le problème de la stabilité des QTL dans des différentes conditions environnementales a déjà été observé (Prudent *et al.*, 2009). Dans cette étude, les auteurs observaient des effets QTL très variables en faisant varier la charge en fruits.

Une analyse en composantes principales a été réalisée sur les descripteurs sensoriels du fruit sur les six génotypes dans les deux conditions, témoin et DHP (**figure 36**). Le premier axe de l'ACP (32% d'inertie) a séparé les génotypes en fonction de la fermeté (fermeté à la coupe, croquant, et fermeté en bouche) qui s'opposaient aux caractères juteux et fondant (**figure 37**). Le second axe (19% d'inertie) a opposé des caractères de flaveur (intensité aromatique, acidité et sucrosité) aux caractères côtelé et farineux. Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment observés par Saliba-Colombani *et al.*, (2001). Les effets génétiques sont prépondérants par rapports aux effets du déficit hydrique (**figure 36**). Les fruits du fond génétique B très fermes s'opposaient sur l'axe 1 à ceux du fond génétique L et de Cervil. L'ACP n'a pas permis de séparer clairement les fruits issus des deux conditions hydriques, bien que les fruits conduits en déficit hydrique avaient des descripteurs de flaveur supérieurs aux fruits témoins. Les fruits du fond génétique B en condition DHP étaient également plus fermes que les fruits témoins. L'axe 2 a séparé essentiellement Cervil (caractérisé par une forte intensité aromatique, un goût sucré et acidité globale élevée) d'une part et Levovil, NIL-L4 témoin d'autre part qui étaient les moins aromatiques, sucrés et acides.

Une deuxième ACP a été réalisée en éliminant le génotype Cervil et en prenant en compte les descripteurs du fruit mais aussi les descripteurs du péricarpe. Cette analyse a montré une séparation des génotypes identique à la précédente analyse, et elle a confirmé une bonne corrélation des descripteurs de la texture du fruit et de la texture du péricarpe.

Bilan de l'analyse sensorielle

Les descripteurs de la texture du fruit sont bien corrélés aux descripteurs de la texture du péricarpe.

Les profils sensoriels des fruits en condition DHP étaient différents de ceux des fruits en condition témoin sur certains descripteurs. Cependant peu de différences étaient significatives. Le déficit hydrique a globalement amélioré la flaveur des fruits et a eu des effets contraires sur la fermeté en fonction des génotypes (augmentation pour VilB et NIL-B9 et diminution pour Levovil, Cervil et NIL-L4).

Les profils sensoriels des trois parents ont confirmé de forts contrastes génétiques sur les critères évalués dont les différences significatives majeures concernaient les critères de texture (fermeté à la coupe, croquant, fermeté en bouche, farineux et fondant) et l'intensité aromatique. Les effets génotypes étaient globalement stables en condition DHP sauf pour le croquant, la fermeté en bouche qui avait tendance à diminuer pour Cervil et Levovil contrairement à VilB, et la sucrosité qui avait tendance à diminuer pour Cervil et à augmenter pour Levovil et VilB.

Le QTL4 a augmenté significativement le caractère côtelé des fruits. Le QTL9 a eu des effets variables dans les deux fonds génétiques et a induit plus de modifications des descripteurs de qualité dans le fond génétique B que dans le fond génétique L. Dans le fond génétique B, le QTL9 a eu des effets positifs sur la fermeté, l'acidité et la flaveur. Les effets des QTL sur les profils sensoriels des fruits ne semblent pas très stables en DHP où ils ont tendance à disparaître.

De façon générale, les effets des QTL 4 et 9 initialement identifiés par Causse *et al.*, (2002) et Chaib *et al.*, (2007) n'ont pas été tous retrouvés lors de l'analyse sensorielle dans le fond génétique L. Le QTL détecté sur le chromosome 4 pour le caractère peau gênante n'est pas ressorti, de même que le QTL de farinosité initialement présent sur les chromosomes 4 et 9, n'a été retrouvé que sur le chromosome 9 dans le fond génétique B. Par contre, nous confirmons les QTL détectés dans le fond génétique B pour : la saveur sucrée, l'acidité, le fondant, la fermeté de la chair. Les QTL4 et 9 ont modifié également significativement le caractère côtelé, ce qui n'avait pas été mis en évidence précédemment.

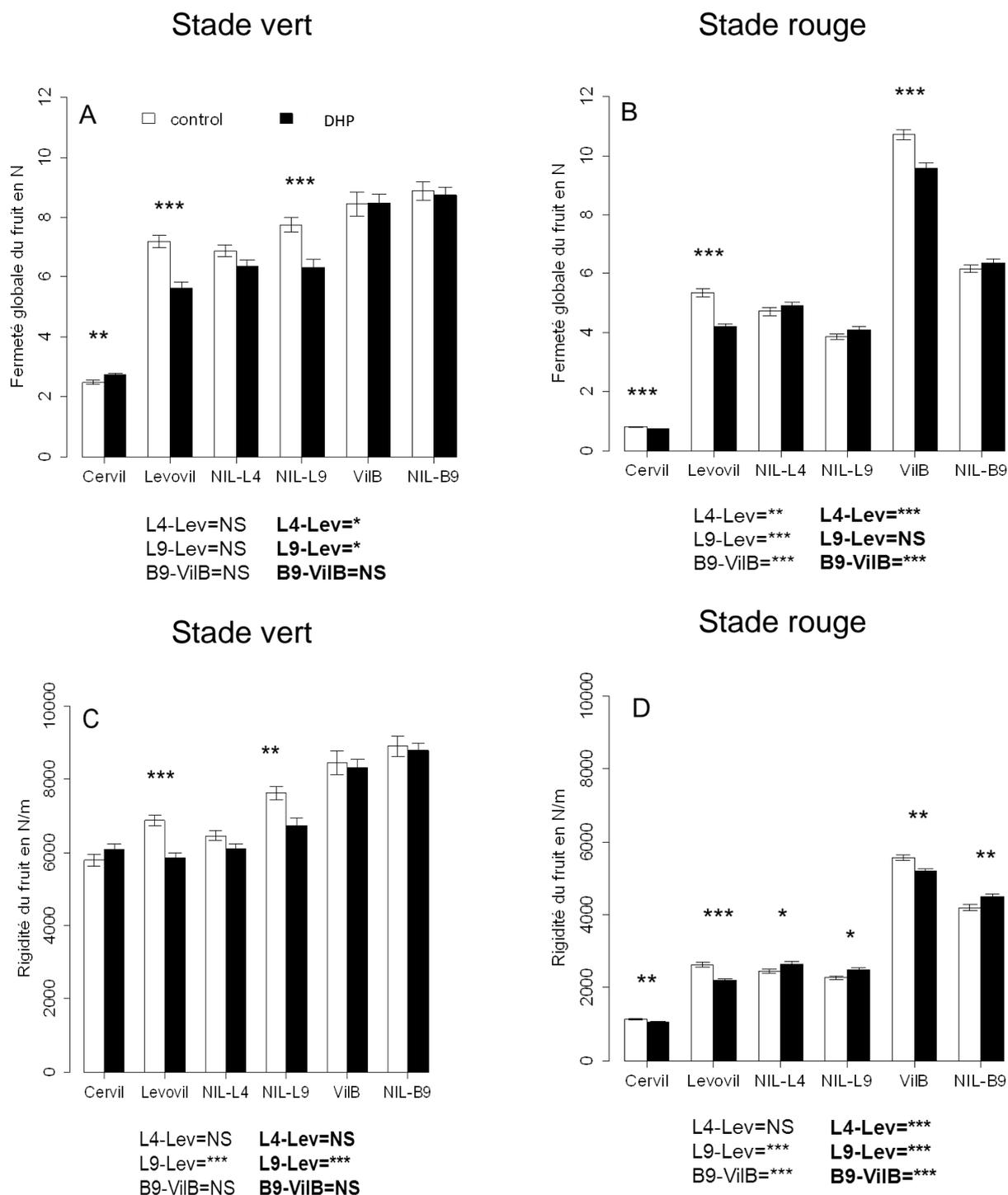


Figure 38 : Fermeté (A et B, exprimée en N) et rigidité du fruit (C et D, exprimée en N/m) évaluées par compression du fruit au stade expansion cellulaire (A et C) et au stade rouge (maturité) (B et D). Les histogrammes représentent la valeur moyenne pour la condition témoin (blanc), et pour la condition DHP (noir). Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student. Les indications sous les histogrammes résument les résultats du test de Dunnett qui compare les NILs avec leur parent respectif, en condition témoins (caractères fins) et en condition de déficit hydrique (caractères gras) (pour chaque test $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, et $***p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile ou NS la différence entre parent et NIL n'est pas significative).

II. Effets du génotype, du déficit hydrique et du stade sur les composantes physiques de la texture du fruit :

La texture du fruit regroupe plusieurs notions (fermeté, élasticité, farinosité, fondant) qui ont été évaluées dans leur ensemble par les tests sensoriels. Cette partie est plus spécifiquement dédiée à l'analyse de la fermeté et de l'élasticité (que nous appellerons ensuite rigidité) du fruit mesurées par des tests mécaniques de compression et de pénétrométrie. Ces tests produisent des courbes forces / déplacement : la fermeté correspond à la force maximale enregistrée (F_{max}) et la rigidité à la pente (slop) de la courbe (**figure 24**) : plus la pente de cette courbe est élevée (grande force/petit déplacement), plus le fruit est rigide. Les mesures ont été réalisées au niveau du fruit entier (test de compression : F_{maxCP} , CP_{slop}), mais aussi au niveau local (tests de pénétrométrie avec ($F_{max.cuti}$) et sans peau ($F_{max.sans.cuti}$)). Les mesures ont été réalisées à trois stades de développement du fruit (vert, rouge et R7). Les données ont été analysées par des ANOVA à deux facteurs pour évaluer les effets génétiques et du DHP ainsi que leurs interactions à chaque stade, par des tests de Student pour évaluer les effets du traitement DHP pour chaque génotype et chaque stade, puis par des tests de Dunnett pour évaluer les effets QTL. Le stade R7 fait l'objet d'un paragraphe spécifique concernant l'évolution de la texture après récolte à maturité.

Tests de compression

En condition DHP, la fermeté globale des fruits (F_{maxCP} , **figure 38B**) mesurée par compression au stade rouge a diminué significativement de 9%, 22% et 10% respectivement pour les fruits des parents Cervil, Levovil et VilB. La diminution de fermeté liée au DHP était significative dès le stade expansion cellulaire uniquement pour Levovil (**figure 38A**). Au contraire les fruits verts de Cervil étaient significativement plus fermes en condition DHP. Donc l'effet sur la fermeté de VilB intervient plutôt dans les phases de développement tardives du fruit contrairement à Levovil. C'est d'ailleurs le seul génotype pour lequel le F_{maxCP} a augmenté entre les stades vert et rouge.

Les effets du traitement DHP n'étaient pas significatifs chez les NILs au stade rouge. Au stade expansion cellulaire, le déficit hydrique a, en moyenne, diminué la fermeté des fruits des NILs, mais l'effet n'était significatif que pour NIL-L9.

L'ANOVA a montré une forte interaction QTL x traitement aux deux stades mais aussi des effets QTL plus marqués au stade rouge (**figures 38A et B**). Ainsi le QTL4 a diminué significativement la fermeté en compression (F_{maxCP}) des fruits rouges en condition témoin (-12%), alors qu'en

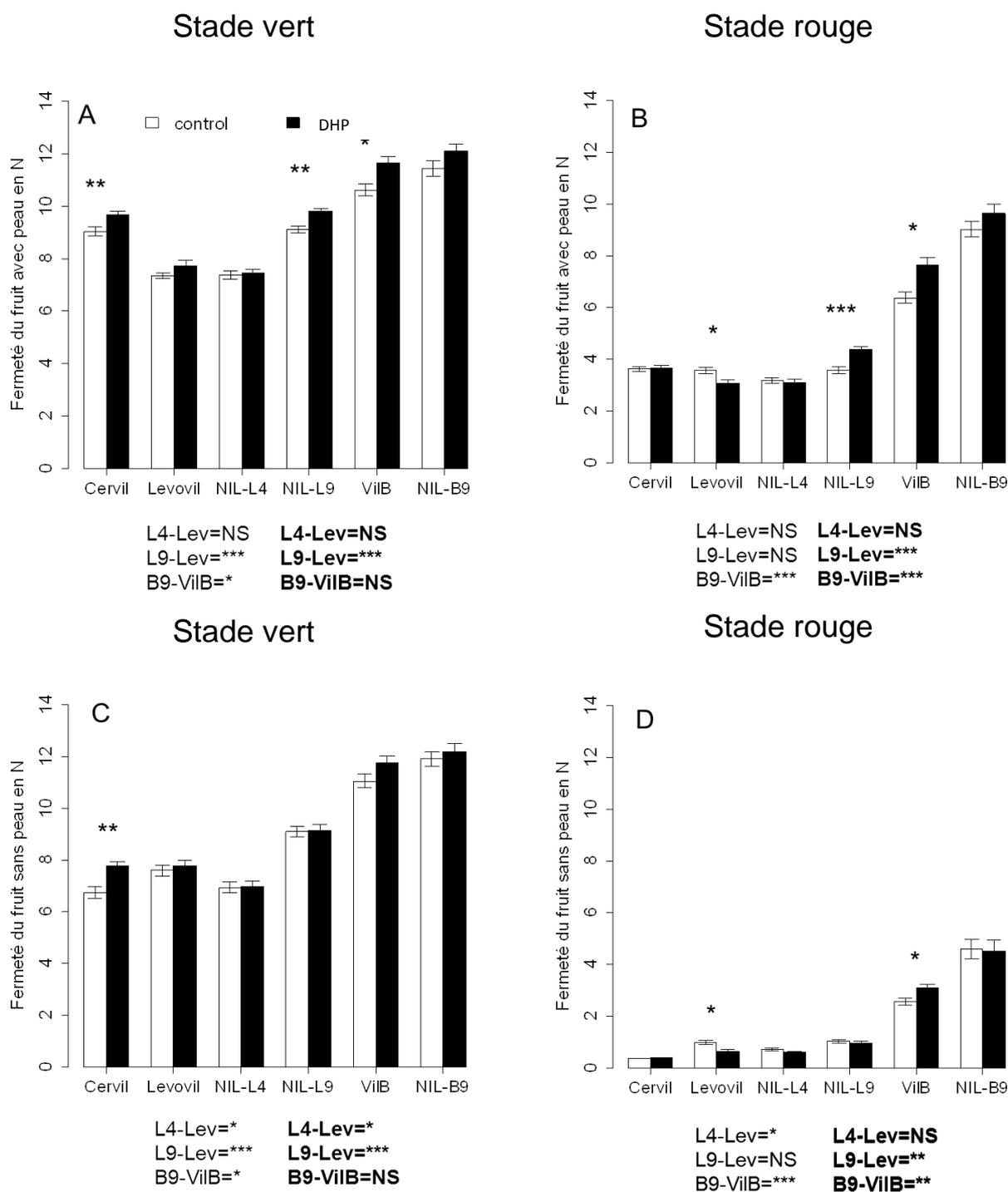


Figure 39 : Fermeté locale du fruit avec peau (A et B, exprimée en N) et sans peau (C et D, exprimée en N) évalués par pénétrométrie au stade expansion cellulaire (A et C) et au stade rouge (maturité) (B et D). Les histogrammes représentent la valeur moyenne pour la condition témoin (blanc), et pour la condition DHP (noir). Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student. Les indications sous les histogrammes résument les résultats du test de Dunnett qui compare les NILs avec leur parent respectif, en condition témoins (caractères fins) et en condition de déficit hydrique (caractères gras) (pour chaque test * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile ou NS la différence entre parent et NIL n'est pas significative).

condition DHP, il l'a augmenté significativement aux deux stades (+17% au stade rouge et +14% au stade vert).

Le QTL9 a montré des effets différents selon le fond génétique. Dans le fond génétique L, le QTL9 a diminué significativement la fermeté des fruits rouges en condition témoin (-27%) mais n'a pas eu d'effet en condition DHP. Au contraire au stade expansion cellulaire : le QTL9 a augmenté les valeurs de fermeté par rapport au parent Levovil, bien que l'augmentation n'était significative qu'en condition de déficit hydrique (+13%). Dans le fond génétique B, le QTL9 a diminué significativement (42% pour le témoin et 33% pour le DHP) la fermeté des fruits rouges uniquement.

La rigidité des fruits (CPslop) a été évaluée par le coefficient directeur de la courbe obtenue lors du test de compression des fruits (**figures 39 C et D**). Le DHP a réduit significativement la rigidité des fruits des parents Cervil, Levovil et VilB au stade rouge de 8%, 17% et 6% respectivement. Comme pour la fermeté, ces diminutions étaient significatives dès le stade expansion cellulaire pour Levovil seulement (-15%). Contrairement aux trois parents, la rigidité des fruits des NILs a augmenté significativement en condition DHP au stade rouge (environ +8%). Ces effets n'étaient pas visibles au stade expansion cellulaire ou même contraires chez NIL-L9 (-12%).

Comme pour la fermeté, de fortes interactions QTL x DHP ont été observées. Le QTL4 a augmenté significativement la rigidité des fruits (+20%) uniquement au stade rouge, et en condition DHP. Le QTL9 a diminué significativement la rigidité des fruits rouges en condition témoin pour les deux fonds génétiques L et B (respectivement -14% et -24%), alors qu'en condition DHP, la rigidité a augmenté significativement dans le fond génétique L (+13%), et elle a diminué significativement dans le fond génétique B (-13%). Dès le stade expansion cellulaire, les effets du QTL9 sur la rigidité des fruits étaient significatifs dans le fond génétique L en conditions témoin (+11%) et DHP (+15%). Par contre le QTL9 n'a pas eu d'effet significatif dans le fond génétique B au stade expansion cellulaire.

Tests de pénétrométrie avec et sans cuticule : Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti

Comme pour la fermeté globale mesurée en compression, la fermeté locale mesurée en pénétrométrie avec et sans peau dépendait des interactions GxE (**figure 39**). Parmi les parents, le déficit hydrique a diminué significativement la fermeté avec et sans peau (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) des fruits de Levovil au stade rouge de 14% et 33% respectivement (**figure 39**), et a augmenté significativement la fermeté (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) des fruits de VilB de 21% en moyenne. Au stade expansion cellulaire, seule l'augmentation de fermeté des fruits avec peau était

Stade	Génotype	Fermeté compression	Rigidité compression	Fermeté pénétrométrie avec peau	Fermeté pénétrométrie sans peau
Expansion cellulaire	Cervil	+11%	+5%	+7%	+15%
	Levovil	-22%	-15%	+5%	+2%
	ViIB	0%	-1%	+10%	+6%
	NIL-L4	-7%	-5%	+1%	+1%
	NIL-L9	-18%	-11%	+8%	0%
	NIL-B9	-2%	-1%	+6%	+2%
Rouge	Cervil	-9%	-8%	+1%	+4%
	Levovil	-22%	-17%	-14%	-33%
	ViIB	-10%	-6%	+20%	+21%
	NIL-L4	+4%	+9%	-3%	-15%
	NIL-L9	+6%	+9%	+22%	-8%
	NIL-B9	+3%	+7%	+7%	-2%

Tableau 6 : Récapitulatif des effets du DHP sur les génotypes, en fonction du stade de développement pour les variables de texture. Les nombres en gras indiquent un effet significatif ($p < 0.05$).

Stade	Génotype	Fermeté compression	Rigidité compression	Fermeté pénétrométrie avec peau	Fermeté pénétrométrie sans peau	
Expansion cellulaire	Témoin	QTL4	-4%	-6%	0%	-9%
		QTL9-L	+8%	+11%	+24%	+20%
		QTL9-B	+5%	+5%	+8%	+8%
	DHP	QTL4	+14%	+5%	-3%	-10%
		QTL9-L	+13%	+15%	+27%	+17%
		QTL9-B	+3%	+5%	+4%	+4%
Rouge	Témoin	QTL4	-12%	-7%	-10%	-27%
		QTL9-L	-27%	-14%	0%	+6%
		QTL9-B	-42%	-24%	+41%	+80%
	DHP	QTL4	+17%	+20%	+1%	-7%
		QTL9-L	-2%	+13%	+42%	+47%
		QTL9-B	-33%	-13%	+26%	+46%

Tableau 7 : Récapitulatif des effets des QTL sur les variables de texture pour les stades expansion cellulaire et rouge, en fonction du traitement : témoin et DHP. Les nombres en gras indiquent un effet significatif ($p < 0.05$).

Significative chez VilB (10%). Le déficit hydrique n'a pas eu d'effet sur la fermeté locale (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) des fruits de Cervil au stade rouge alors qu'une augmentation significative (respectivement +7% et +15%) a été observée au stade expansion cellulaire.

Parmi les NILs, le DHP a augmenté significativement la fermeté des fruits avec peau (Fmax.cuti) chez NIL-L9, au stade rouge (+22%) et au stade expansion cellulaire (+8%). Cet effet n'a pas été retrouvé sur la fermeté des fruits sans peau (Fmax.sans.cuti) et serait donc lié à un effet DHP sur les propriétés de la peau. Sur les NIL-L4 et NIL-B9, le déficit hydrique n'a pas eu d'effet significatif, malgré une légère augmentation de la fermeté des fruits de NIL-B9 DHP avec peau dès le stade expansion cellulaire (**tableau 6**).

Le QTL4 n'a pas modifié la fermeté des fruits avec peau (Fmax.cuti) dans les deux conditions au stade rouge comme au stade expansion cellulaire (**tableau 7**). Néanmoins, il a diminué significativement la fermeté sans peau des fruits (Fmax.sans.cuti) au stade vert (-9% et -10% respectivement pour les fruits témoins et DHP) et rouge (pour les fruits témoins uniquement (-27%)). En condition DHP, le QTL9 a augmenté significativement la fermeté avec peau (respectivement +42% dans le fond L et +26% dans le fond B) et sans peau (47% dans le fond L et 46% dans le fond B) au stade rouge (**tableau 7**). En condition témoin au même stade, seul NIL-B9 avait une fermeté (avec et sans peau) supérieure au parent VilB (+41% et +80%). Ces effets étaient significatifs dès le stade expansion cellulaire pour le fond génétique L dans les conditions témoin et DHP. Au contraire, dans le fond génétique B, les augmentations de fermeté avec et sans peau liées au QTL9 étaient uniquement significatives en condition témoin au stade vert.

Au stade rouge l'absence de peau a diminué les valeurs de fermeté d'environ 65% en moyenne alors qu'au stade expansion cellulaire seule une légère diminution a été observée (témoin -3%, DHP -5%). La peau du fruit a joué clairement un rôle dans la fermeté du fruit au niveau local au stade rouge, contrairement au stade expansion cellulaire où sa contribution était plus faible. Les effets du DHP sur la fermeté chez Levovil et VilB (diminution et augmentation) ont été observés avec et sans peau. Pour NIL-L9 et NIL-B9, il semble que l'effet du DHP sur la fermeté soit essentiellement lié à la peau, car les fruits DHP étaient plus fermes que les fruits témoins avec la peau, mais n'étaient pas différents en l'absence de peau. Au contraire chez VilB et Levovil, les effets du DHP étaient significatifs avec et sans peau au stade rouge, les variations de fermeté seraient donc liés à d'autres facteurs.

Bilan sur la fermeté du fruit mesurée par compression et pénétrométrie

L'évaluation de la texture du fruit par les mesures instrumentales de compression et de pénétrométrie a montré que les effets génotypes et DHP évoluent avec le stade de développement des fruits et interagissent. En condition DHP, F_{maxCP} et CP_{slop} ont globalement diminué au stade expansion cellulaire (sauf pour Cervil), alors qu'ils ont augmenté à maturité chez les NILs contrairement aux parents. Les tests de pénétrométrie avec et sans peau ($F_{max.cuti}$ et $F_{max.sans.cuti}$) suggèrent un rôle prépondérant de la peau sur l'effet du DHP. Globalement, le DHP a augmenté la fermeté mesurée avec peau (sauf chez NIL-L4 et Levovil) mais a diminué la fermeté sans peau (sauf chez VilB et Cervil).

Les effets des QTL de texture précédemment reportés (Chaib *et al.*, 2007) n'étaient pas toujours significatifs dans notre expérimentation et variaient selon le type de test et les conditions d'alimentation hydrique. Le QTL4 a eu peu d'effet significatif sur la fermeté et la rigidité du fruit mais ses effets étaient plus forts en condition DHP. Le QTL9 a eu des effets plus forts que le QTL4 sur la fermeté et sur la rigidité du fruit. De plus, nous avons observé de fortes interactions entre les QTL et la condition hydrique, et entre le QTL9 et le fond génétique. Le QTL9 a augmenté plus fortement la fermeté au stade expansion cellulaire dans le fond génétique L par rapport au fond génétique B pour les deux tests. Au contraire, au stade rouge, les effets du QTL9 étaient opposés entre compression et pénétrométrie. Le QTL9 a probablement un effet majeur au niveau « local » du fruit, sur le péricarpe principalement. Dans le fond génétique L, les effets du QTL9 sont surtout visibles en condition DHP.

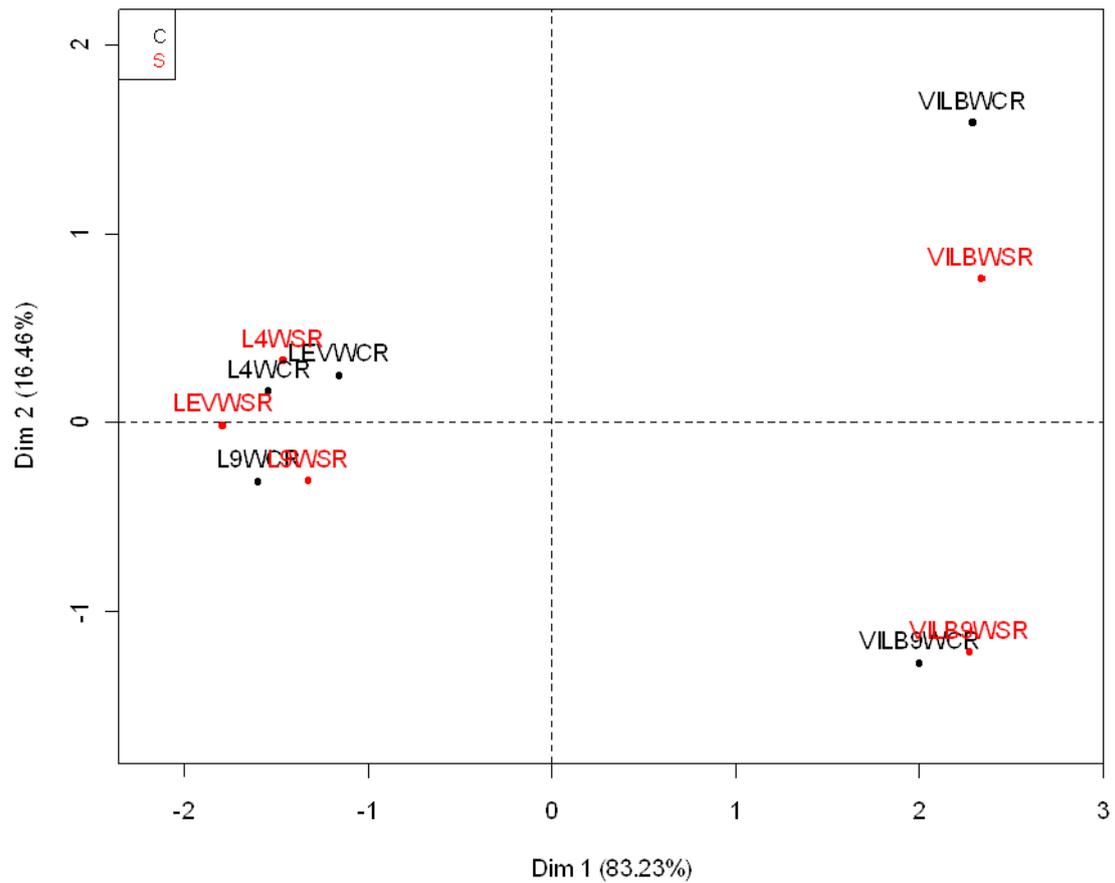


Figure 40 : ACP sur les variables de texture instrumentales en lien avec les descripteurs sensoriels. Les génotypes (Levovil (LE), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), VILB, et NIL-B9 (VILB9)) témoins (WC) sont en noir, et les DHP (WS) en rouge.

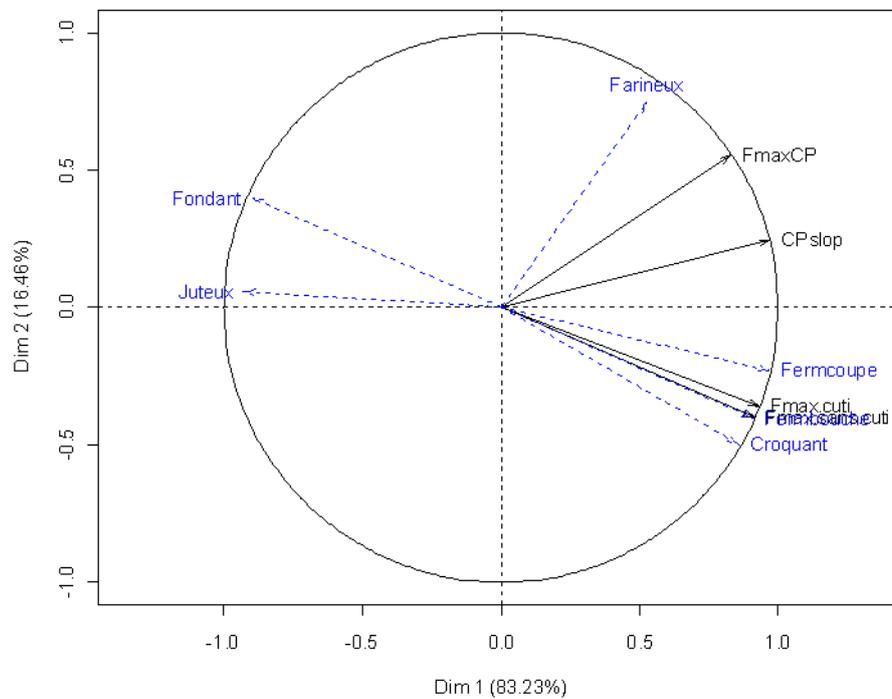


Figure 41 : Cercle des corrélations de l'ACP sur les variables de texture instrumentales en lien avec les descripteurs sensoriels. Les variables explicatives sont en noir et les variables illustratives en bleu.

Liens entre les descripteurs sensoriels et les variables de texture instrumentales, influence du DHP et du génotype

Nous avons recherché les liens entre descripteurs sensoriels d'une part, et variables de texture instrumentales d'autre part. Ceci est important pour bien décrire les perceptions sensorielles des consommateurs par des mesures instrumentales moins coûteuses, et plus faciles à mettre en œuvre.

Pour cela, nous avons réalisé une analyse en composantes principales (**figure 40**). L'axe 1 représentait 83% de la variabilité des données et séparait les échantillons en fonction du fond génétique. Le fond génétique B (VilB et NIL-B9) se caractérise par des valeurs élevées de fermeté (Fmax.cuti, Fmax.sans.cuti et FmaxCP) et de rigidité (CPslop) (**figure 41**). Cet axe rend compte des descripteurs sensoriels : croquant, fermeté à la coupe, fermeté en bouche. Le fond génétique L est caractérisé par les descripteurs juteux et fondant. L'axe 2 de l'ACP a capturé 16% de la variabilité des données et il a différencié les génotypes selon un effet QTL. Le QTL9 était associé à une diminution de la farinosité, cet effet était plus fortement exprimé dans le fond génétique B, que dans le fond génétique L. L'effet du QTL4 est faible, NIL-L4 se différenciant peu du parent Levovil. Les effets du DHP étaient différents selon les génotypes considérés, ils ont augmenté la fermeté des fruits chez NIL-L9 et NIL-B9 (déplacement sur l'axe 1). Chez VilB, le DHP a diminué la farinosité des fruits.

Les corrélations entre les variables de texture instrumentales et sensorielles, mesurées sur les fruits au stade rouge, sont illustrées par les figures 42, 43 et 44. La fermeté en compression (FmaxCP) était corrélée positivement avec la farinosité ($R^2=0,66$). La rigidité du fruit (CPslop) était corrélée positivement avec la fermeté à la coupe ($R^2=0,84$) et négativement avec le caractère juteux du fruit (CPslop) ($R^2=0,74$). Les fermetés en pénétration (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) étaient corrélées positivement avec la fermeté à la coupe (respectivement $R^2=0,88$ et $0,93$), la fermeté en bouche ($R^2=0,98$ et $0,97$), et le croquant ($R^2=0,94$ et $0,91$) et négativement avec le fondant ($R^2=0,96$ dans les deux cas) et la jutosité ($R^2=0,81$ et $0,77$).

Les liens entre variables sensorielles et instrumentales ont été illustrés par un réseau de corrélations partielles (**figure 44**), représentant ainsi les liens directs entre deux variables en tenant compte des autres variables. Ce réseau a été obtenu à partir de l'ensemble des génotypes dans les conditions témoin et DHP, excepté Cervil (tomate cerise), que nous avons écarté du fait de sa forte différence par rapport aux autres génotypes étudiées (tomates à gros fruits).

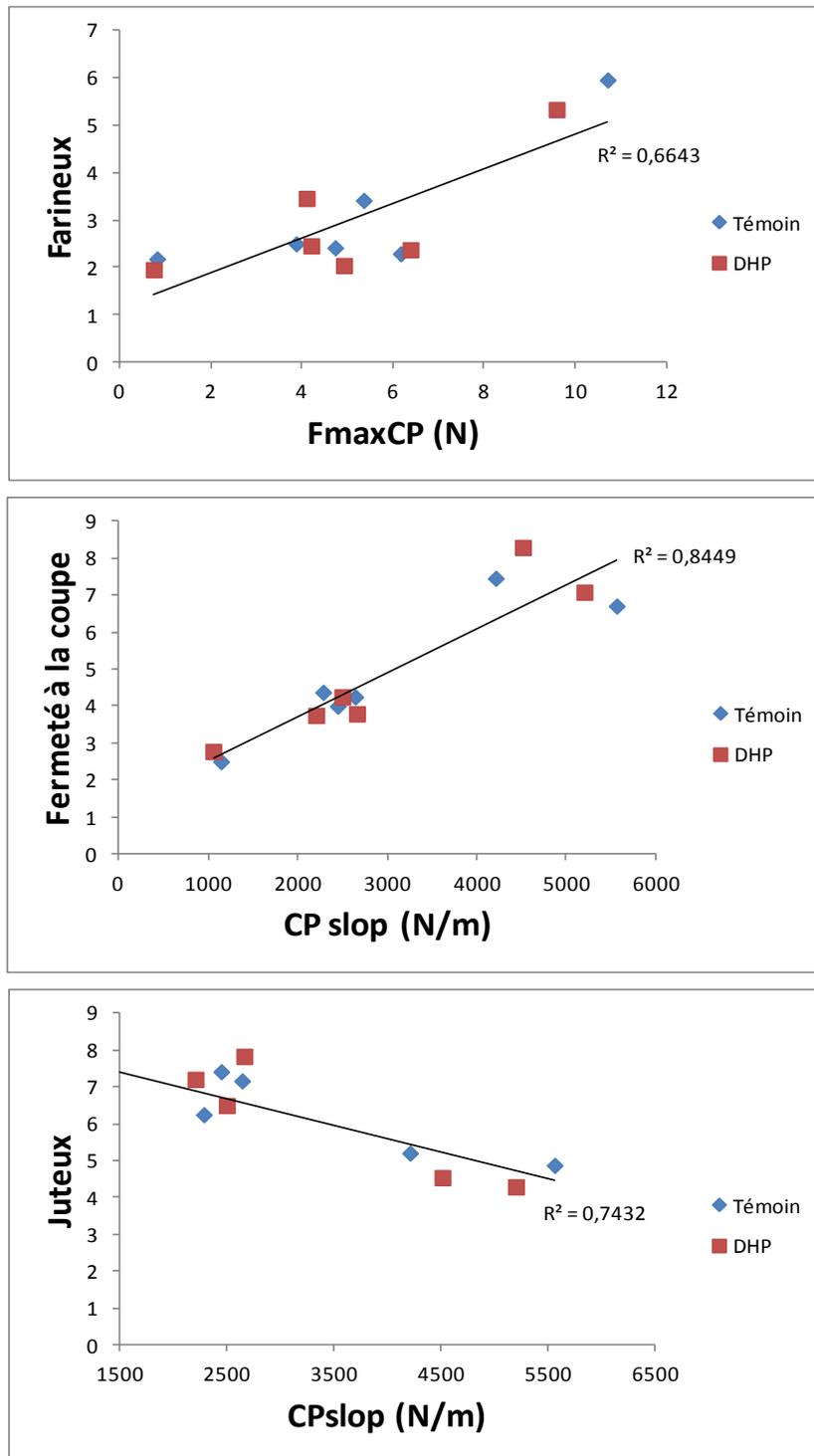


Figure 42 : Corrélations significatives ($p < 0.05$) entre les variables de texture sensorielles et les variables de texture instrumentales : test de compression (rigidité : CPslop et fermeté globale : FmaxCP), les points rouges sont les fruits DHP, les points noirs les fruits témoins

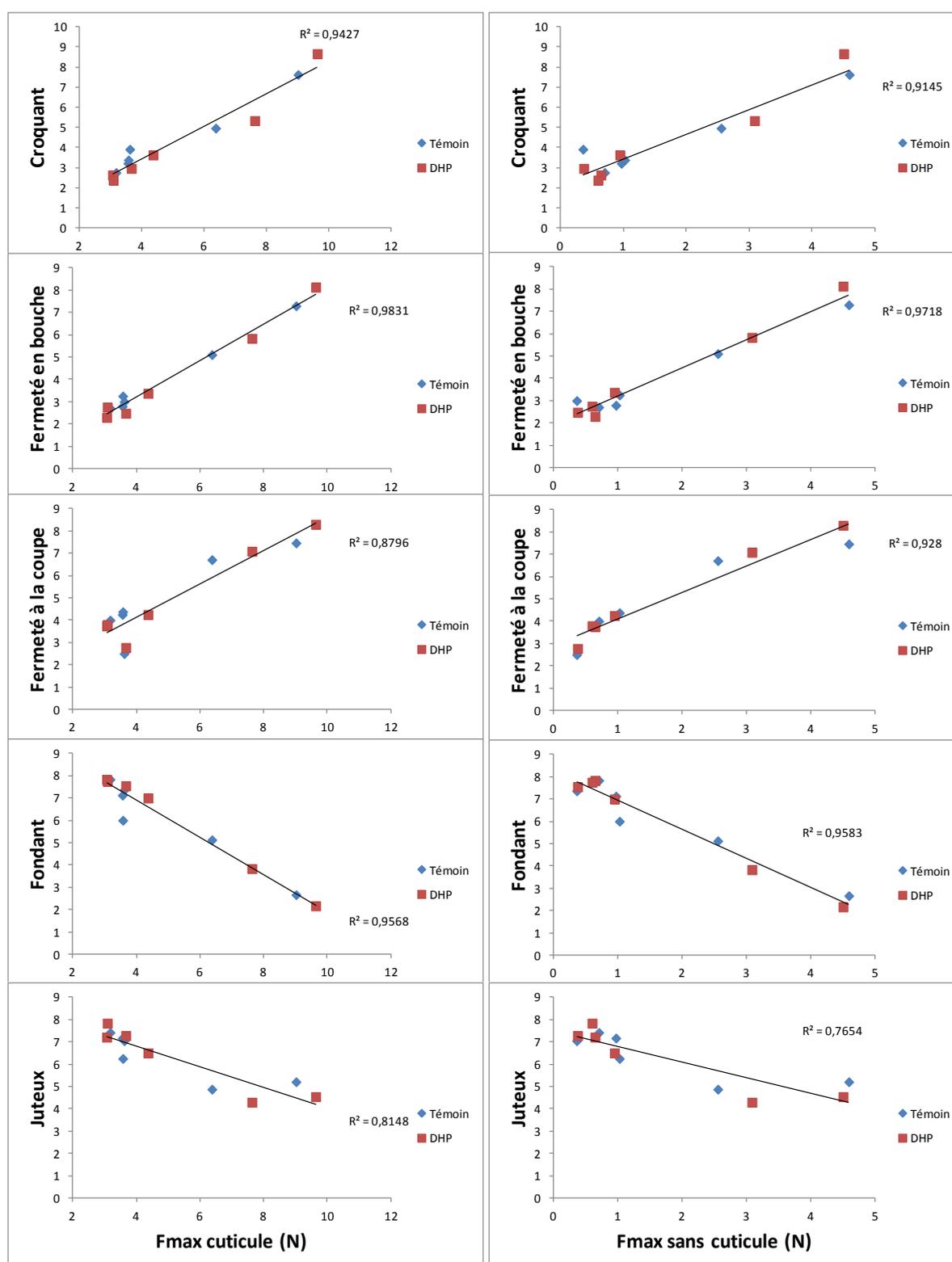


Figure 43 : Corrélations entre les variables de texture sensorielles et les variables de texture instrumentales : test de fermeté en pénétrométrie (Fmax avec et sans cuticule), les points rouges sont les fruits DHP, les points noirs les fruits témoins.

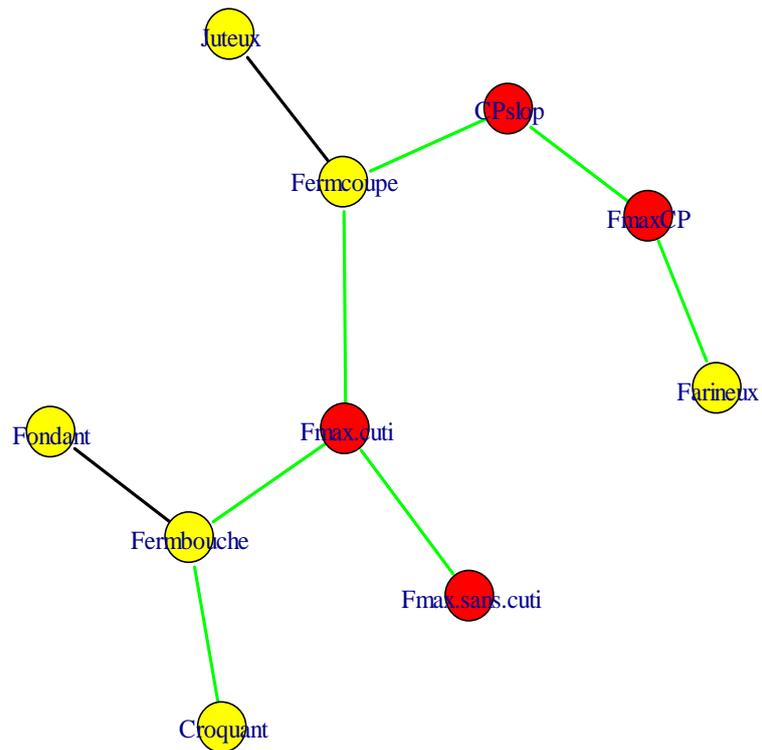


Figure 44 : Réseau de corrélations partielles entre les variables de texture instrumentales (rouge) et sensorielles (jaune). Les corrélations sont calculées à partir de données moyennes (cinq géotypes (Cervil exclu, considéré comme trop différent des tomates à gros fruits) dans les deux conditions (témoin et DHP), soit 10 observations). Les corrélations positives sont en vert et les corrélations négatives en noir.

Les variables sensorielles et instrumentales ont été intégrées au sein d'un même réseau de corrélations partielles. Le réseau a confirmé le lien étroit entre la farinosité et la fermeté en compression (FmaxCP). La fermeté en pénétrométrie avec épiderme (Fmax.cuti) était liée à la fermeté à la coupe et à la fermeté en bouche, contrairement à la fermeté en pénétrométrie sans épiderme (Fmax.sans.cuti), qui était simplement liée à la fermeté en pénétrométrie avec épiderme. L'épiderme a eu un impact fort sur la description sensorielle. Les corrélations entre les différentes variables étaient positives, excepté pour deux corrélations entre la fermeté en bouche et le fondant d'une part, et la fermeté à la coupe et le juteux d'autre part. Plus le fruit est ferme, moins il était fondant et juteux, en accord avec les travaux antérieurs de Chaib *et al.*, (2007).

Les quatre variables instrumentales seront retenues dans l'analyse qui suit bien que Fmax.sans.cuti soit ici redondante au Fmax.cuti (**figure 44**) et peu liée aux descripteurs sensoriels. Elle nous permettra de mieux évaluer les effets de la peau par différence avec Fmax.cuti.

Bilan des corrélations entre les variables de texture sensorielles et instrumentales.

Les analyses de corrélations entre variables de texture sensorielle et instrumentale ont montré de bonnes corrélations entre les deux types de variables. Le test de pénétrométrie avec épiderme était bien corrélé avec la fermeté en bouche, ce qui a confirmé l'efficacité de ce test pour percevoir la fermeté du fruit et a légitimé son utilisation.

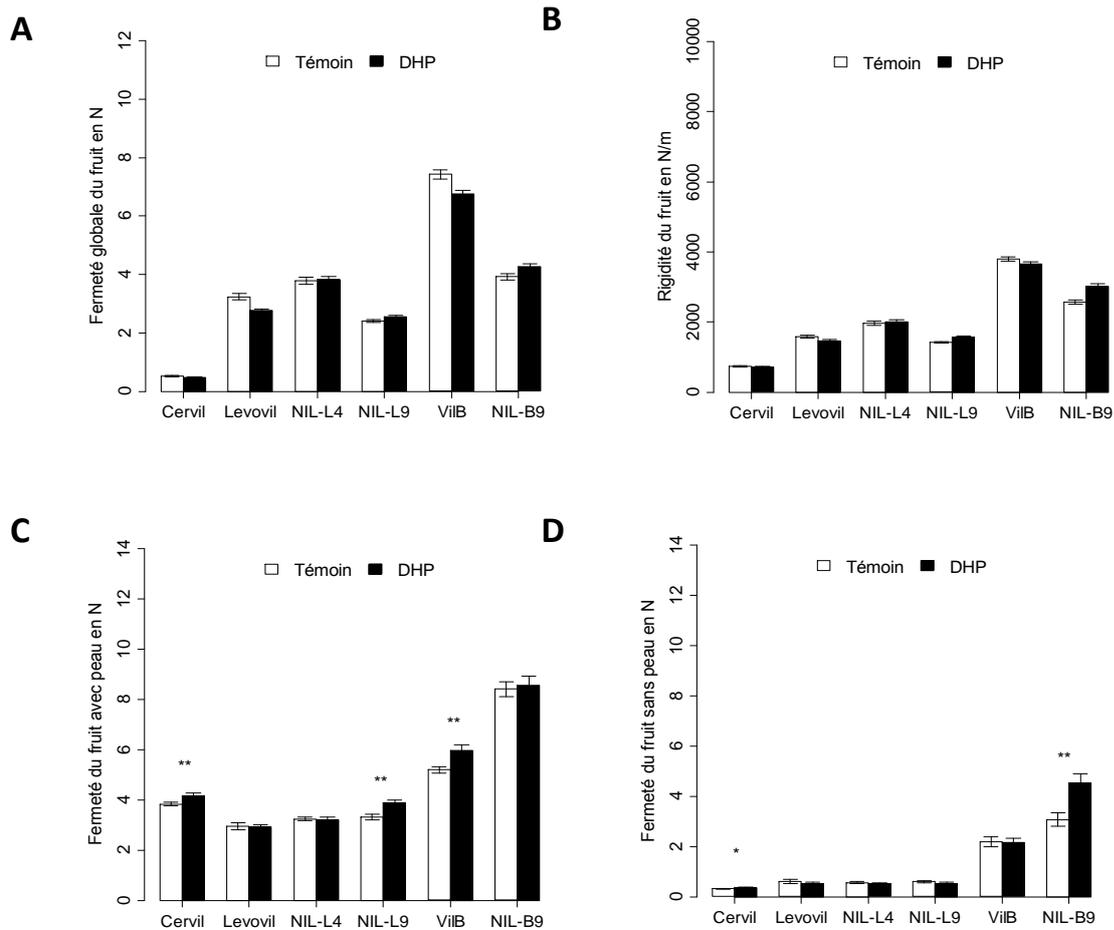


Figure 45 : Fermeté F_{maxCP} (A, exprimée en N) et rigidité du fruit CP_{slop} (B, exprimée en N/m) évaluées par compression du fruit, fermeté locale du fruit avec peau $F_{max.cut1}$ (C, exprimée en N) et sans peau $F_{max.sans.cut1}$ (D, exprimée en N) évaluées par pénétrométrie au stade R7. Les histogrammes représentent la valeur moyenne pour la condition témoin (blanc), et pour la condition DHP (noir). Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative).

Evolution de la texture du fruit après une période de conservation de 7 jours après récolte à 20°C :

La conservation des fruits après récolte à maturité a entraîné une diminution de la fermeté mesurée en compression (FmaxCP) et de la rigidité globale (CPslop) du fruit, mais elle n'a eu que peu d'effets sur la fermeté mesurée en pénétrométrie avec peau (Fmax.cuti) et sans peau (Fmax.sans.cuti) (excepté chez NIL-L9 qui perd 40% de fermeté de chair (Fmax.sans.cuti) pendant la conservation) (**figure 45**). La résistance de la peau du fruit après sept jours de conservation à 20°C a toujours eu un rôle important dans la fermeté du fruit et c'est essentiellement le péricarpe qui a évolué.

Les effets génétiques (fond génétique, QTL) sur la texture du fruit ont été stables après 7 jours de conservation, le classement des génotypes était très proche de celui observé au stade rouge (dans les conditions témoin et DHP), les effets du DHP étaient toujours visibles et identiques au stade rouge.

La conservation des fruits pendant 7 jours à 20°C a généré une baisse globale de la fermeté des fruits tout en préservant les effets génétiques. Le DHP n'a pas induit de perte de fermeté supplémentaire par rapport aux fruits témoins (**figure 46**).

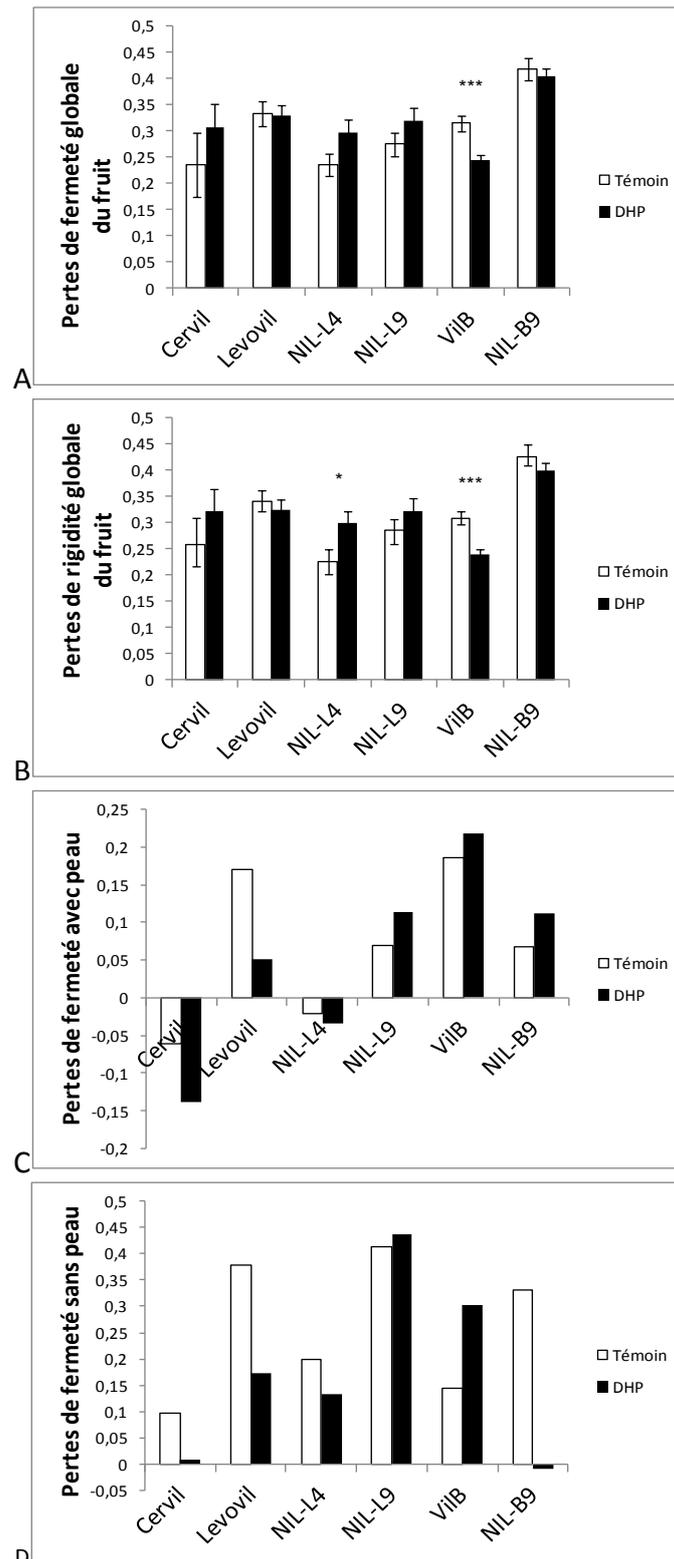


Figure 46 : Pertes de fermeté relatives (**A** : FmaxCP, **C** : Fmax.cut) et de rigidité du fruit (**B** : Cpslop) durant une période de 7 jours de conservation à 20°C. La fermeté et la rigidité du fruit sont évaluées à la récolte (T0) puis après 7 jours (T7) par des tests de compression et de pénétrométrie. Les pertes relatives sont calculées avec $(T0-T7)/T0$ sur fruit individuel pour la compression (FmaxCP et Cpslop), et sur les moyennes pour la pénétrométrie (Fmax.cut et Fmax.sans.cut). Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative).

III. Discussion

Compression et pénétrométrie : évaluations de différentes propriétés de la texture du fruit

La principale difficulté dans les études de la texture du fruit a été de trouver une méthode d'évaluation instrumentale objective, qui prendrait en compte toute sa complexité, comme pourraient le faire les analyses sensorielles, bien que ces dernières soient moins précises que les analyses instrumentales. En effet, les méthodes instrumentales sont plus quantitatives, et permettent de travailler sur des fruits non consommables (fruits verts, sur-matures). Du fait du grand nombre de variables impliquées dans la texture (Barrett *et al.*, 1998), nous avons préféré la caractériser par différentes méthodes. Dans la littérature, la texture instrumentale est souvent évaluée par compression (Causse *et al.*, 2002) ou par pénétrométrie (Chaib *et al.*, 2006), ou bien par les deux méthodes (Chaib *et al.*, 2007; Page *et al.*, 2010; Aurand *et al.*, 2012; Galvez-Lopez *et al.*, 2012), ce qui rend difficile la comparaison des résultats. De plus, quand la même méthode est utilisée comme la pénétrométrie, des différences de mesures existent entre du matériel portable (Durofel) ou fixe (Texture Analyser TApplus), des effets opérateurs pouvant de plus être facilement induits avec du matériel portable (Harker *et al.*, 1997a). Ayant utilisé le même matériel de mesure dans nos précédents travaux (Aurand *et al.*, 2012), nos résultats sont donc comparables et ont confirmé que la compression et la pénétrométrie ne mesurent pas les mêmes variables de texture. Le test de compression a classé le génotype VilB comme le plus ferme (FmaxCP), alors que d'après le test de pénétrométrie il s'agissait du génotype NIL-B9 (Fmax.cuti). De plus, les effets du DHP étaient globalement contraires entre les deux méthodes.

La question naturelle après ce constat, est de savoir ce que l'on mesure réellement à l'aide des différents tests. Malgré plusieurs études qui ont tenté de relier les variables instrumentales aux variables sensorielles, il est encore difficile de répondre clairement à cette question. Lors du test de compression, les deux principales variables exploitées à partir des courbes force / déplacement sont FmaxCP et CPslop. Les précédentes études sur la tomate ont montré une corrélation négative entre CPslop (rigidité) et la jutosité (Causse *et al.*, 2002), que nous retrouvons également. Nos résultats suggèrent également une corrélation positive entre CPslop et la fermeté à la coupe. D'après Chaib *et al.*, (2006), FmaxCP est corrélé positivement avec la fermeté et négativement avec la jutosité. Notre étude n'a pas confirmé ces résultats, mais a mis néanmoins en évidence un lien fort entre FmaxCP et la farinosité, comme cela a été démontré chez la pomme (Mehinagic *et al.*, 2004).

Le test de compression donne une vision globale de la fermeté du fruit, intégrant les

variables anatomiques du fruit (taille, proportion des tissus), contrairement au test de pénétrométrie, qui nous informe sur les propriétés locales des tissus liées notamment à la turgescence cellulaire (Barrett *et al.*, 1998; Camps, 2006). Le test de pénétrométrie est aussi un bon indicateur de la texture sensorielle puisque le $F_{max.cuti}$ est corrélé positivement à la fermeté en bouche, au croquant et au croustillant (Harker *et al.*, 2002; Mehinagic *et al.*, 2004; Chaib *et al.*, 2007).

Effets des QTL 4 et 9 sur la texture du fruit

Le matériel végétal de cette étude a été choisi à partir de travaux antérieurs pour ses valeurs contrastées de texture du fruit (souple à ferme), et pour ses QTL de texture sur les chromosomes 4 et 9 (Causse *et al.*, 2002; Chaib *et al.*, 2007). Les QTL de farinosité, de fondant, de fermeté (instrumentale et sensorielle) et de rigidité portés par les chromosomes 4 et 9 ont été détectés à partir d'une population de RIL (Recombinant Inbred Line) issue du croisement entre les géotypes Cervil et Levovil (Saliba-Colombani *et al.*, 2001). Le QTL détecté sur le chromosome 4 expliquerait pour les variables de texture instrumentales environ 30% de la fermeté (F_{maxCP}) et 10% de la rigidité du fruit (CP_{slop}). Le QTL porté par le chromosome 9 serait responsable d'environ 10% de la fermeté (F_{maxCP}) et 10% de la rigidité du fruit (CP_{slop}) (Saliba-Colombani *et al.*, 2001; Causse *et al.*, 2002). Ces pourcentages ont été établis pour les deux variables de texture (fermeté (F_{maxCP}) et rigidité (CP_{slop})) issues de la compression des fruits. Nos résultats n'ont pas permis de retrouver de telles variations induites par les QTL, comme l'ont montré Chaib *et al.*, (2007). Notre étude suggère que le QTL porté sur le chromosome 9 a un effet majeur sur la fermeté, contrairement au QTL porté sur le chromosome 4 qui n'a pas eu d'effet. Les différences observées entre les pourcentages de variations mesurés lors de la détection des QTL et nos résultats, peuvent s'expliquer par d'éventuelles interactions entre les QTL et le fond génétique dans lequel ils ont été introgressés (Chaib *et al.*, 2007), et par les conditions de culture. Les fragments de génome introgressés sont en effet de grande taille par rapport à la taille du QTL, ce qui augmente la probabilité d'interactions entre la région introgressée et le fond génétique (Chaib *et al.*, 2007; Aurand *et al.*, 2012) et l'environnement (Prudent *et al.*, 2009). Pour le géotype NIL-L4, le fragment introgressé était d'environ 20 cM, et 50 cM pour les géotypes NIL-L9 et NIL-B9.

Le déficit hydrique peut-il modifier la texture du fruit ?

Dans la littérature, les effets du déficit hydrique sur la texture du fruit sont controversés et dépendent de l'intensité du déficit. D'après certaines études, le déficit hydrique ne modifie pas significativement la fermeté des pommes mesurée à la récolte par pénétrométrie (Hooijdonk *et al.*,

2007), ni celle des abricots mesurée par compression (Perez-Pastor *et al.*, 2007). Par contre le déficit hydrique ralentit significativement la perte de fermeté des pommes au cours de la conservation (Hooijdonk *et al.*, 2007). Des résultats contraires ont également été observés. Patane *et al.*, (2010), ont montré que la fermeté des fruits de tomate (pénétrométrie) augmente en condition de déficit hydrique et d'autant plus que le déficit est intense. D'autres auteurs, ont montré des résultats identiques chez la pomme (Leib *et al.*, 2006). Ces derniers ont justifié l'augmentation de fermeté par une diminution de la taille des fruits. Dans notre étude, le DHP a également augmenté la fermeté mesurée par pénétrométrie pour les géotypes les plus fermes. Bien que les fruits DHP aient vu leur taille diminuer par rapport aux fruits témoins, la seule variable de taille du fruit nous paraît donc insuffisante pour expliquer l'augmentation de fermeté. Patane *et al.*, (2010), ont suggéré que l'augmentation de fermeté en pénétrométrie (force nécessaire pour rompre l'épiderme) était liée à une diminution de la turgescence cellulaire qui rendrait l'épiderme plus élastique. Néanmoins cette augmentation correspondait à une fermeté locale, qui ne signifiait pas une augmentation de fermeté globale, comme nous l'avons constaté d'après nos mesures en compression. Les résultats en pénétrométrie ont montré également un effet majeur de la peau du fruit en condition de déficit hydrique. En effet en condition de déficit hydrique, la fermeté du fruit a augmenté en pénétrométrie avec la peau (Fmax.cuti), alors que les variations étaient plus faibles voire même contraires sans la peau (Fmax.sans.cuti).

Evolution de la texture au cours de la conservation

Conservation : compromis entre température et durée

L'évolution de la texture des fruits après récolte est un facteur de qualité important pour la toute la filière (du producteur au consommateur en passant par le distributeur). Les circuits de distributions sont souvent longs et les conditions de stockage ne sont pas toujours optimales (entre 10 et 12°C, (Navez, 2011)). De plus, pour les circuits longs, les tomates sont récoltées généralement avant le stade rouge (stade 9 du code couleur). Il a été montré dans la littérature que le stade de récolte peut influencer la fermeté des fruits après une période de 6 jours de conservation à 24°C (Parker and Maalekuu, 2013). Les pertes de fermeté sont également proportionnelles à la température et la durée de conservation (Pinheiro *et al.*, 2013). Cependant, une température de conservation trop basse peut générer des désordres physiologiques et entraîner des pertes de qualité, notamment des pertes de fermeté (Lyons, 1973; Stevens *et al.*, 2008), et une diminution des arômes (Renard *et al.*, 2013). Un compromis est donc nécessaire entre le stade de récolte, la durée et la température de conservation. Dans notre étude, des conditions favorables à la qualité des fruits ont été choisies : récoltés à maturité puis conservés pendant 7 jours à une température comprise

entre 18 et 20°C, pour préserver la qualité organoleptique tout en limitant les pertes de fermeté du fruit (Renard *et al.*, 2013).

Pertes de fermeté au cours de la conservation mesurée par compression ou par pénétrométrie

Comme déjà observé dans nos précédents travaux (Aurand *et al.*, 2012), la fermeté du fruit après 7 jours de conservation, a globalement diminué avec un fort effet (de l'ordre de 25%) sur la fermeté globale mesurée par compression, alors que la perte de fermeté mesurée par pénétrométrie avec épiderme n'a été en moyenne que de 10%. Par ces mesures, des différences entre les mesures par compression et par pénétrométrie ont été à nouveau confirmées. La fermeté globale du fruit évoluerait plus en conservation que la fermeté locale liée aux propriétés des tissus.

Les différences entre les mesures avec et sans peau, ont montré que la fermeté évaluée sans peau était plus affectée que celles mesurées avec peau. Précédemment, nous avons constaté l'importance de la peau dans les mesures de fermeté au stade rouge ; son rôle dans le maintien de la texture est également important en conservation : alors que la chair du fruit (Fmax.sans.cuti) est affectée par la conservation (pertes de fermeté de l'ordre de 20%), l'épiderme (Fmax.cuti) semble moins affecté (pertes de fermeté de 10%). Nos résultats confirment les travaux de Saladie *et al.*, (2007), sur l'importance des propriétés de la cuticule tout au long de la durée de vie du fruit. Ces auteurs ainsi que Pinheiro *et al.*, (2013) suggèrent que les pertes de fermeté au cours de la conservation seraient liées aux pertes d'eau du fruit, donc en partie à la conductance cuticulaire du fruit.

Influence du déficit hydrique sur l'évolution de la fermeté au cours de la conservation

Dans la littérature, les effets du déficit hydrique sur l'évolution de la texture des fruits en post récolte sont controversés. Ces différences sont probablement liées à l'utilisation de méthodes de mesures différentes (compression ou pénétrométrie). Pour Sams *et al.*, (1999), la fermeté des fruits diminue significativement au cours de la conservation, si les plantes ont été cultivées en condition de stress hydrique prolongé. D'autres auteurs (Perez-Pastor *et al.*, 2007) ont montré chez l'abricot que le déficit hydrique n'induit pas de pertes supplémentaires de fermeté mesurée par compression après une conservation de 30 jours à 1°C suivie de 4 jours à 13°C. D'après nos résultats, les effets du DHP observés aux stades rouge et R7 sont comparables car l'évolution de la fermeté en post récolte ne semble pas affectée par le DHP à quelques exceptions. Les pertes de fermeté et de rigidité en compression étaient plus faibles pour le génotype le plus ferme (VilB), et la perte de

rigidité plus importante pour un génotype moins ferme (NIL-L4).

Lien entre la fermeté à la récolte et la fermeté après conservation, effet des QTL de texture

Dans les paragraphes précédents, nous avons montré que la conservation des fruits peut dégrader rapidement leur texture. Suite à cela, on peut s'interroger sur l'existence d'un lien entre la fermeté à la récolte et celle mesurée après la conservation. Knee and Smith (1989), ont suggéré une corrélation positive entre la fermeté à la récolte et celle mesurée en post-récolte, alors que d'autres auteurs (Ahrens and Huber, 1990; Page *et al.*, 2010; Aurand *et al.*, 2012) ont montré que l'intensité d'évolution de la fermeté au cours de la conservation ne dépend pas nécessairement de la fermeté évaluée à la récolte chez la tomate. Malgré tout, les résultats obtenus (en compression et en pénétrométrie) suggèrent que des effets génétiques observés à la récolte sont toujours significatifs après conservation malgré une diminution de fermeté variable selon les génotypes. Au stade R7, le QTL9 a toujours un effet positif sur la fermeté mesurée par pénétrométrie par rapport aux parents, mais l'effet est plus fort dans le fond génétique B, le plus ferme. Après conservation, la fermeté mesurée par compression a diminué plus chez NIL-B9 que chez son parent VilB, comme l'a remarqué Page *et al.*, (2010), mais l'effet QTL est toujours significatif. Nous n'avons pas noté d'effet comparable dans le fond génétique L. Les effets des QTL sont donc différents selon le fond génétique introgressé. Concernant le QTL4, bien qu'il n'ait eu que peu d'effet sur la fermeté, nous avons noté que la perte de fermeté de NIL-L4 était la plus faible en compression.

Dans ce chapitre, des différences entre la fermeté mesurée en compression ou en pénétrométrie ont été clairement mises en évidence. Le déficit hydrique ainsi que la présence des QTL de texture modifient la fermeté du fruit à la récolte mais aussi après une période de conservation des fruits. Dans le chapitre suivant, nous aborderons les effets induits par le DHP et par les QTL sur différentes variables potentiellement impliquées dans l'élaboration et la conservation de la texture du fruit.

Chapitre 5 :

Effets du déficit hydrique, du génotype,
et du stade sur l'anatomie, l'histologie
et la biochimie du fruit

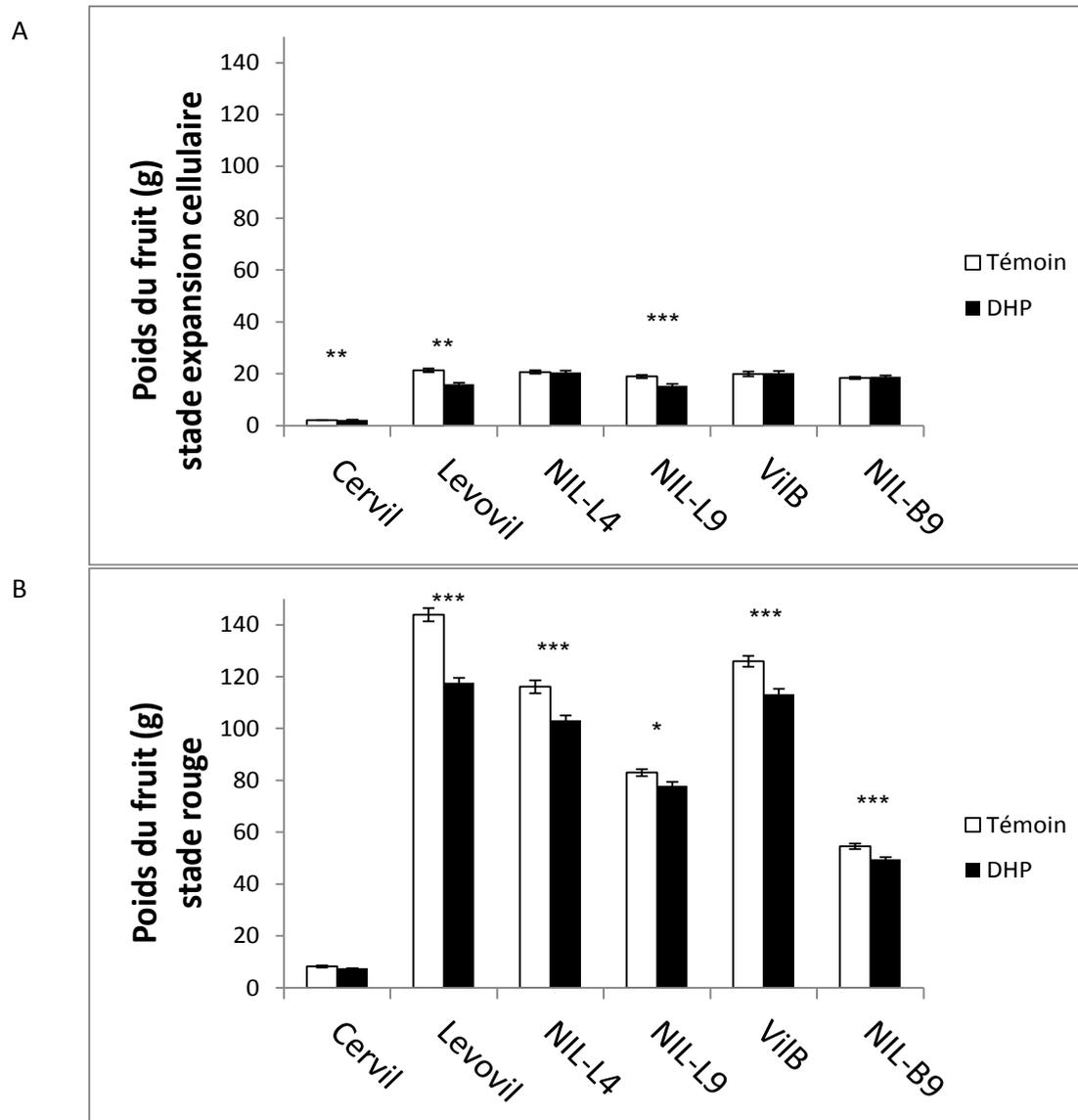


Figure 47 : Poids des fruits (exprimé en g) des génotypes, dans les conditions témoin et DHP, aux stades expansion cellulaire (**A**) et rouge (**B**). Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative)

Chapitre 5 : Effets du déficit hydrique, du génotype et du stade sur l'anatomie, l'histologie et la biochimie du fruit :

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à diverses variables anatomiques, histologiques et biochimiques du fruit qui ont un rôle potentiel sur le déterminisme de la texture, soit au travers de leur impact sur la rigidité du fruit, soit au travers de leur implication dans la régulation des pressions osmotique et de turgescence. Certaines de ces variables sont également des variables de qualité organoleptique. Les valeurs de ces variables en réponse au traitement DHP (appliqué sur la durée anthèse-maturation sur tous les fruits), et aux QTL sont présentées ci-dessous.

I. Poids du fruit

Le poids des fruits à maturité a diminué significativement en moyenne de 12% sous l'effet du déficit hydrique pour tous les génotypes à l'exception de Cervil (**figure 47B**). Des diminutions étaient significatives dès le stade expansion cellulaire pour les génotypes Levovil et NIL-L9. Contrairement aux autres génotypes, Cervil au stade expansion cellulaire avait un poids significativement supérieur en condition de déficit hydrique.

Au stade rouge, les QTL 4 et 9 (des deux fonds génétiques) ont induit une baisse significative des poids de fruits par rapport aux parents. Les diminutions de poids liées au QTL étaient de 19% (NIL-L4), de 42% (NIL-L9) et 57% (NIL-B9) en condition témoin. En condition DHP pour le même stade, les pertes étaient légèrement moins fortes, de 12% (NIL-L4), de 34% (NIL-L9) et 56% (NIL-B9). Le QTL9 a entraîné une baisse du poids frais plus forte que le QTL4 dans les deux conditions. Au stade vert en condition témoin, les effets du QTL9 étaient déjà visibles et significatifs, alors qu'ils ne l'étaient pas en condition DHP. Les effets du QTL4 étaient faibles en condition témoin, alors qu'en condition DHP les fruits de NIL-L4 étaient significativement plus gros que ceux de Levovil. Un QTL de taille (ou de poids) à proximité du QTL de fermeté pourrait être inclus dans la zone introgressée du chromosome 4 et 9 (**figure 17**).

Bilan sur le poids du fruit

Le déficit hydrique a diminué le poids frais du fruit et les effets se sont accentués au cours du développement du fruit.

Les QTL4 et QTL9 ont eu un effet négatif sur le poids frais final du fruit dans les deux conditions et les effets du QTL9 étaient déjà visibles au stade vert du fruit en condition témoin.

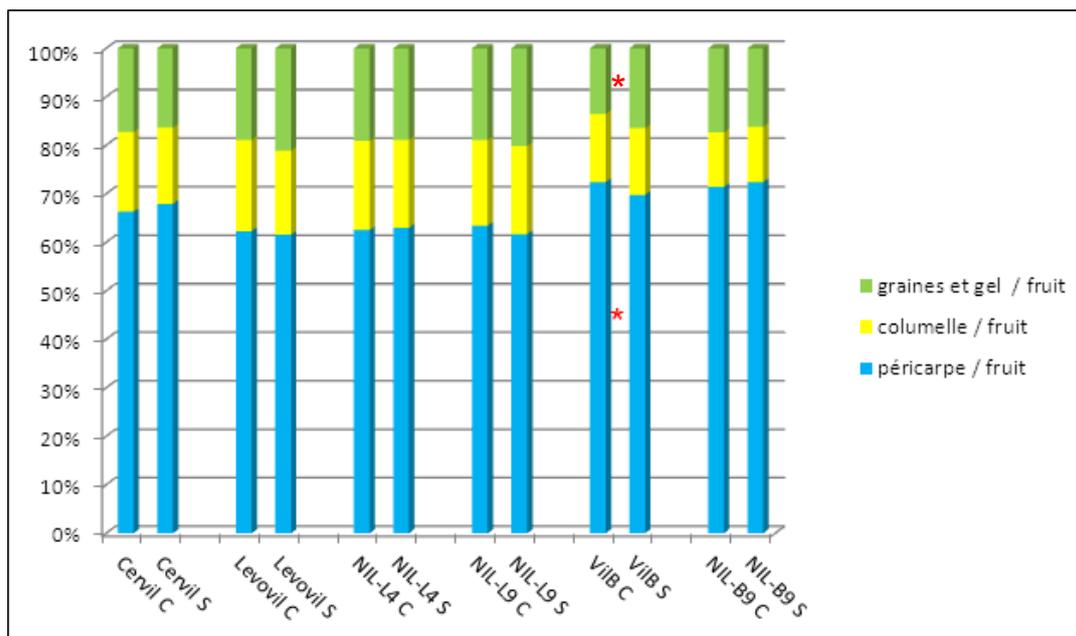


Figure 48 : Répartition des différents tissus du fruit columelle, péricarpe, graines et gel, pour les six géotypes étudiés dans les conditions témoin (C) et DHP (S) exprimée en pourcentage du poids frais du fruit au stade vert. Le DHP ne modifie pas la répartition des tissus du fruit sauf pour ViIB où la proportion de péricarpe est diminuée et compensée par une augmentation du tissu indifférencié gel et grains. Les étoiles entre les barres indiquent une différence significative entre témoin et DHP au test de Student ($p < 0.05$).

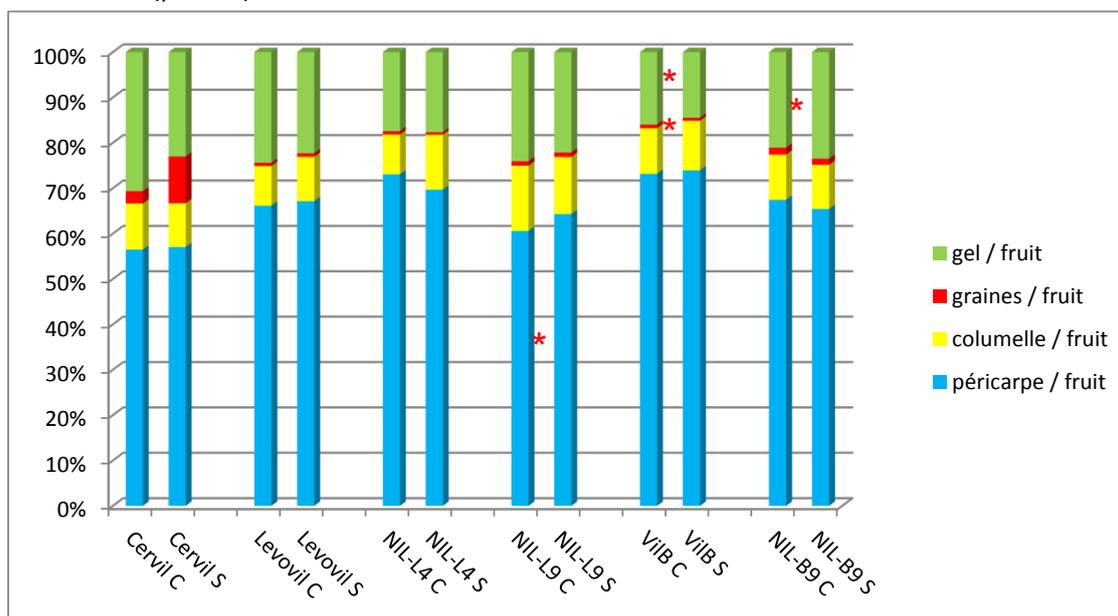


Figure 49 : Répartition des différents tissus du fruit columelle, péricarpe, graines et gel, pour les six géotypes dans les conditions témoin (C) et DHP (S) exprimée en pourcentage du poids frais du fruit au stade rouge. La proportion de péricarpe pour NIL-L9 est augmentée significativement par le DHP et compensée par une baisse de la proportion des autres tissus. Les géotypes du fond génétique B sont également affectés, la proportion de gel diminue pour ViIB alors qu'elle augmente pour NIL-B9 qui est compensée par une baisse de la proportion des graines. Les autres géotypes ne sont pas affectés significativement. Les étoiles entre les barres indiquent une différence significative entre témoin et DHP au test de Student ($p < 0.05$).

II. Anatomie du fruit

Nombre de loges

Au niveau anatomique, le nombre de loges du fruit n'a pas été affecté par le déficit hydrique, seul l'aspect génétique semblait gouverner ce caractère comme l'a confirmé l'étude sur l'existence de QTL de loges (Munos *et al.*, 2011). Le fond génétique B présentait des fruits avec peu de loges (entre 2 et 3) contrairement au fond génétique Levovil (entre 4 et 6). Au stade rouge comme au stade expansion cellulaire, il n'y avait aucun effet du QTL9 dans les deux fonds génétiques et dans les deux conditions étudiées, contrairement au QTL4 qui a augmenté le nombre de loges dans les deux conditions au stade rouge.

Proportions des tissus du fruit : péricarpe, columelle, gel et graines

La proportion et l'épaisseur des différents tissus peuvent jouer un rôle sur la texture du fruit (Barrett *et al.*, 1998). Dans notre étude, les proportions des différents tissus (exprimée en g MF tissu pour 100 g de MF fruit) : péricarpe, columelle, gel et graines, ont été peu affectées par le DHP (**figures 48 et 49**). Au stade expansion cellulaire la proportion du péricarpe a diminué significativement (-5%) dans les fruits de VilB en condition DHP, compensée par une augmentation de la proportion de gel et des graines. Au stade rouge, cet effet a disparu, et le DHP a diminué significativement les proportions de gel (-9%) et de graines (-18%) chez VilB. Au stade rouge, le DHP a également augmenté significativement la proportion de péricarpe chez NIL-L9 (+6%) et la proportion de gel chez NIL-B9 (+12%). Dans ces deux cas les augmentations ont été compensées par une diminution équivalente de la proportion des autres tissus. La répartition des tissus chez les autres génotypes n'a pas été affectée par le DHP.

Le QTL9 a induit des modifications significatives des proportions des tissus, variables avec le fond génétique introgressé et ses effets sont plus forts au stade rouge qu'au stade vert. Dans le fond L, le QTL9 a diminué significativement la proportion de péricarpe (-8%) et augmenté la proportion de columelle en condition témoin. Dans le fond B, le QTL9 a également diminué significativement la proportion de péricarpe (témoin : -8% et DHP :-12%) et il a augmenté la proportion de graines et de gel dans les deux conditions, une partie de ces effets étant déjà visibles au stade vert. Contrairement au QTL9, le QTL4 a induit au stade rouge une augmentation significative (+10%) de la proportion du péricarpe en condition témoin et une diminution significative de la proportion de gel dans les deux conditions. Les effets des QTL observés au stade rouge n'étaient visibles au stade vert que pour le fond génétique B.

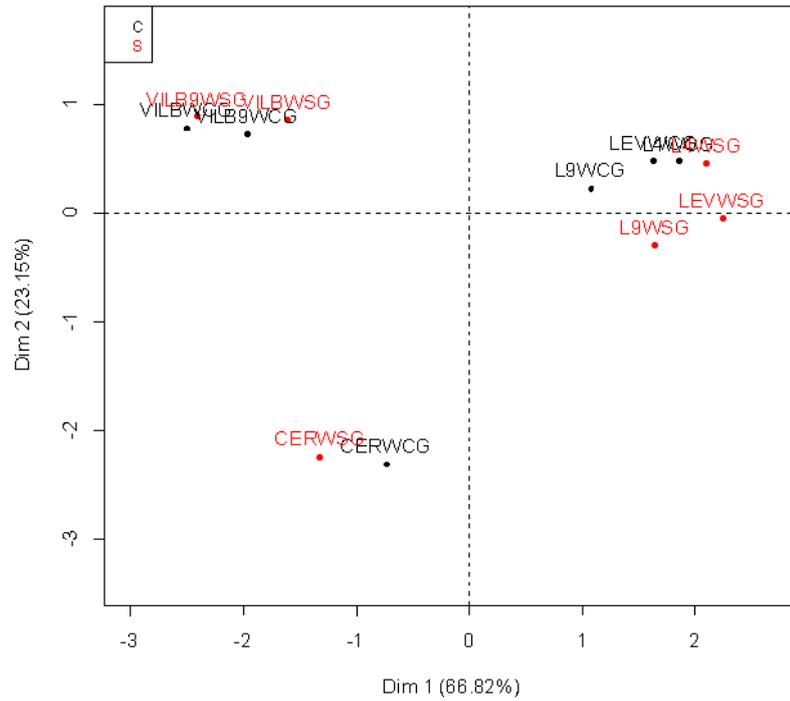


Figure 50 : ACP sur les variables anatomiques du fruit et le poids des 6 géotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade vert. Les géotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

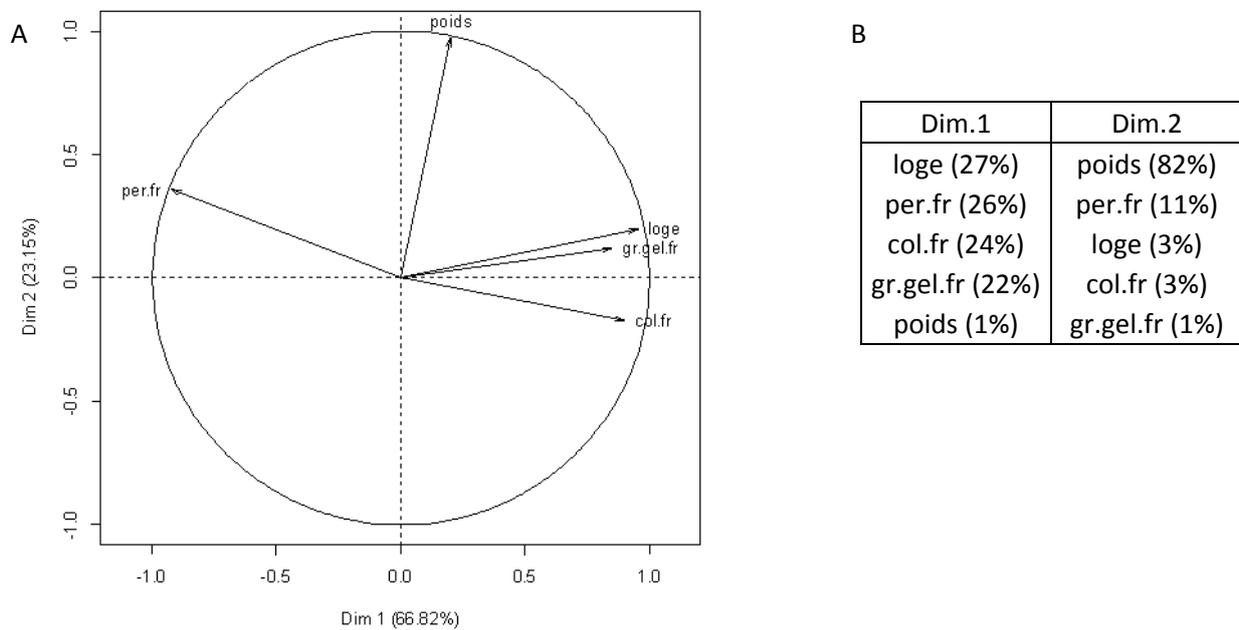


Figure 51 : **A** : Projection des variables anatomique du fruit et le poids au stade vert sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B** : Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. Loge : nombre de loge; per.fr : rapport du poids frais du péricarpe et du poids frais du fruit entier ; col.fr : rapport du poids frais de la columelle et du poids frais du fruit entier ; gr.gel.fr : rapport du poids frais du gel et des graines (gel et graines étant pesés ensemble) et du poids frais du fruit entier ; poids : poids frais du fruit.

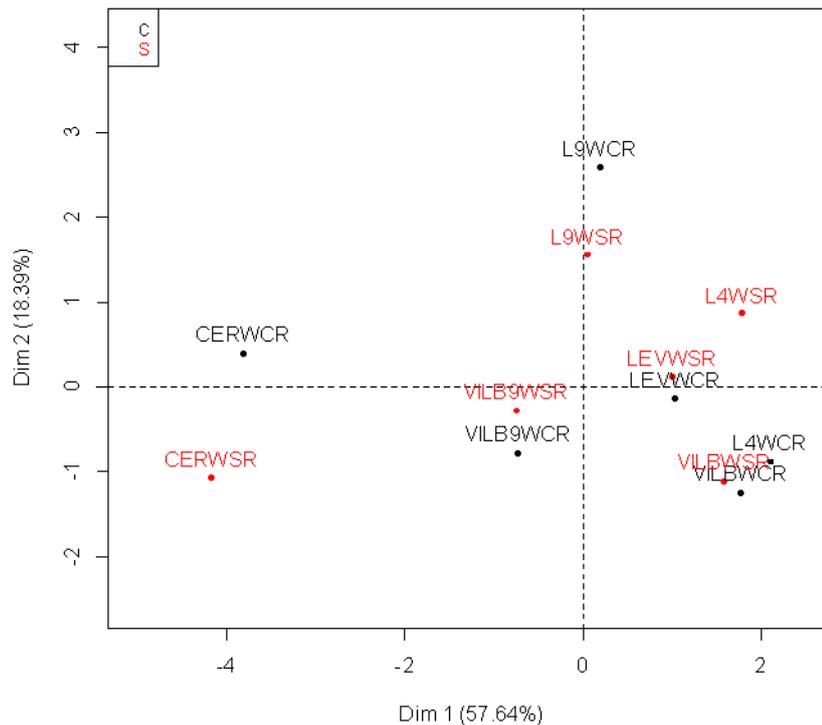


Figure 52 : ACP sur les variables anatomiques du fruit et le poids des 6 génotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade rouge. Les génotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

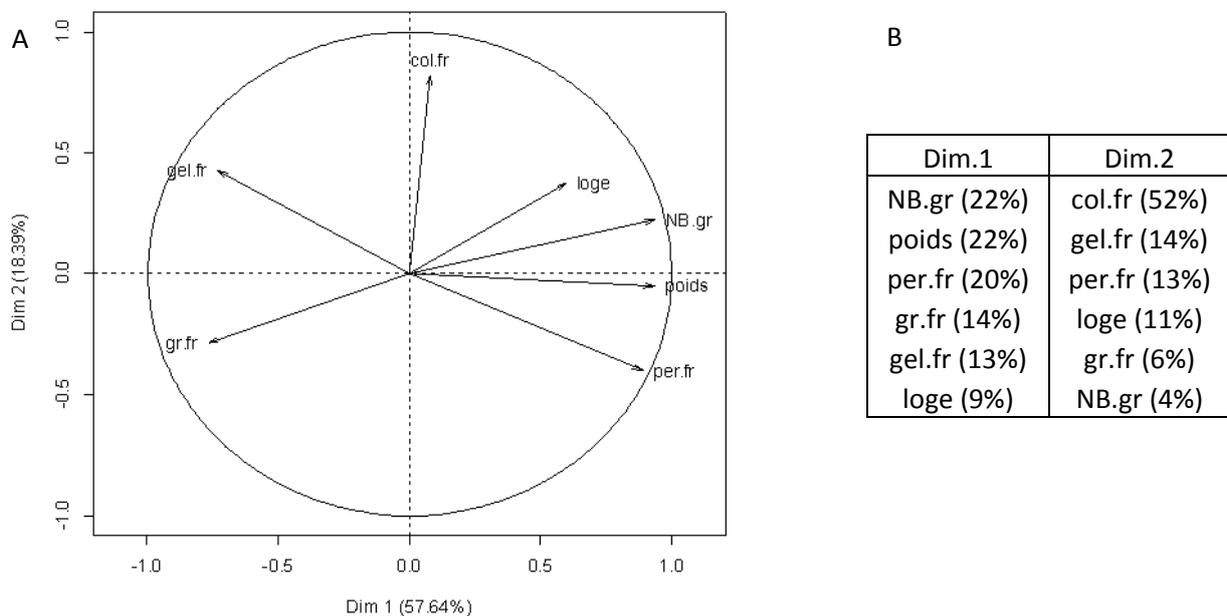


Figure 53 : **A** : Projection des variables anatomiques du fruit et le poids au stade rouge sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B** : Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. Loge : nombre de loge; per.fr : rapport du poids frais du péricarpe et du poids frais du fruit entier ; col.fr : rapport du poids frais de la columelle et du poids frais du fruit entier ; gr.fr : rapport du poids frais des graines et du poids frais du fruit entier; gel.fr : rapport du poids frais du gel et du poids frais du fruit entier; poids : poids frais du fruit ; NB.gr : nombre de graine du fruit.

Le nombre de graines des fruits mesurés au stade rouge n'a pas été affecté significativement par le DHP. Le QTL4 n'a pas eu d'effet sur le nombre de graines dans les deux conditions témoin et DHP.

Seul le QTL9 dans le fond génétique B en condition témoin a diminué le nombre de graines. Son action se limite au nombre de graines, l'effet du QTL9 ne modifie pas le poids moyen d'une graine. Par conséquent la part relative des graines dans le poids du fruit est plus importante pour NIL-B9 par rapport à VilB.

Impact global du DHP et des génotypes sur les variables anatomiques et le poids des fruits

Au stade vert, l'ACP a séparé les génotypes par fond génétique (Cervil, fond génétique L et fond génétique B) sur l'axe 1 avec 67% d'inertie (**figure 50**). Cet axe a été construit notamment à partir du nombre de loges (contribution de 27%), des proportions du péricarpe (26%) et de la columelle (24%), alors que l'axe 2 qui représentait 23% d'inertie a discriminé les génotypes selon le poids des fruits essentiellement (contribution de 82% à cet axe). Cervil a les plus petits fruits, le fond génétique B a la plus forte proportion de péricarpe et moins de loges que le fond génétique L (**figure 51**).

Au stade rouge, le positionnement des génotypes sur les deux axes principaux était différent de celui observé au stade vert qui séparait les génotypes essentiellement par fond génétique. Au stade rouge, sur l'axe 1, l'ACP a séparé les individus selon un effet génotype avec 58% d'inertie (**figure 52**). Cet axe a été construit essentiellement par le nombre de graines (contribution de 22%), par le poids (22%) et par la proportion de péricarpe (20%). L'axe 2 (18% d'inertie) a séparé les génotypes selon le traitement hydrique. Ce deuxième axe a été construit notamment par la proportion de columelle (contribution de 52%). Le cercle des corrélations (**figure 53**) a montré des corrélations positives entre le poids, le nombre de graines et la proportion de péricarpe. Cervil s'oppose au fond génétique L et à VilB avec sa petite taille et une plus forte proportion de gel et de graines. Les fruits stressés auraient légèrement moins de columelle que les fruits témoins.

Bilan sur l'anatomie du fruit

Le DHP n'a pas affecté significativement le nombre de loges. Son action sur les proportions des différents tissus semblait limitée à quelques génotypes (notamment VilB, NIL-B9 et NIL-L9 au stade rouge). Sur l'ensemble des génotypes le DHP a affecté (ns) principalement la proportion de

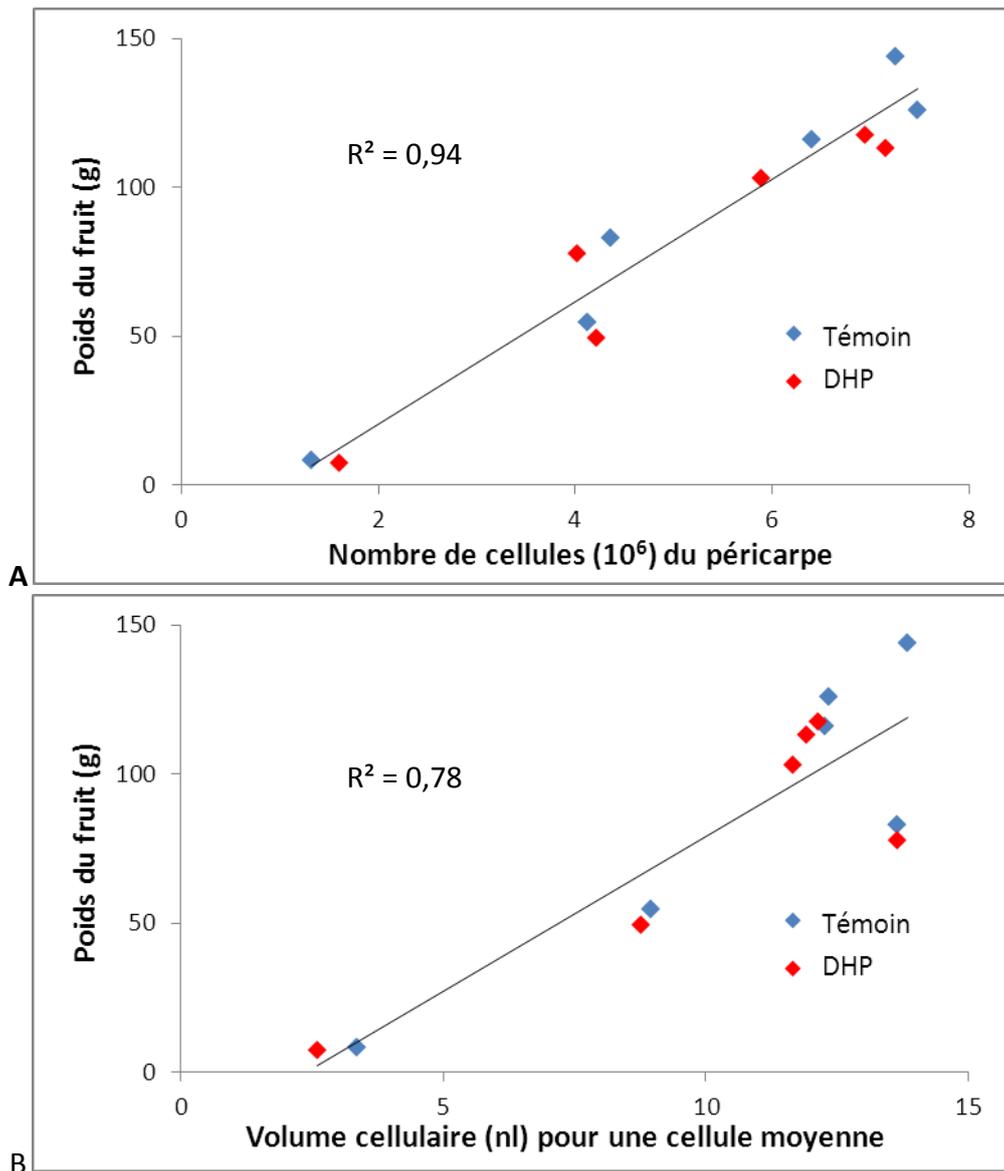


Figure 54 : **A** : Corrélation positive entre le nombre de cellules du péricarpe de tomate (en millions) et le poids du fruit (g). **B** : Corrélation positive entre le volume cellulaire (nl) pour une cellule moyenne et le poids du fruit (g). Chaque corrélation est obtenue à partir des fruits témoins (bleu) et DHP (rouge) des 6 génotypes étudiés : Cervil, Levovil, NIL-L4, NIL-L9, ViIB et NIL-B9.

columelle par rapport au fruit avec des effets différents selon les génotypes.

Le QTL9 semblait avoir davantage d'effets sur la répartition des tissus que le QTL4 et ces effets étaient plus marqués dans le fond B aux deux stades de développement : par rapport aux fruits des parents, les fruits de NIL-B9 avaient une plus faible proportion de péricarpe et une plus grande proportion de gel et de graines. Les fruits de NIL-L9 avaient moins de péricarpe et plus de columelle en conditions témoin. Les fruits de NIL-L4 avaient plus de péricarpe mais moins de gel.

III. Analyse histologique du péricarpe

Afin d'identifier les effets du déficit hydrique et des QTL sur l'organisation cellulaire du péricarpe du fruit, deux méthodes ont été utilisées. Ce travail étant très long, nous avons limité l'étude au stade rouge du fruit. Une première méthode quantitative a permis de déterminer le nombre de cellules du péricarpe et le volume moyen d'une cellule, à partir d'une digestion enzymatique du péricarpe, puis d'un comptage sous microscope (Bertin *et al.*, 2002). La deuxième méthode était une méthode qualitative, réalisée sur des coupes de tissus frais à l'aide de système d'acquisition d'image par caméra couplée à une analyse granulométrique (Devaux *et al.*, 2008), qui a permis d'obtenir des distributions de taille des cellules dans deux directions (radiale et tangentielle), de même qu'un indice de forme, et la position des faisceaux du péricarpe. Ces données ont été analysées sur l'ensemble du péricarpe, puis en fonction de la distance à la cuticule.

Méthode quantitative : nombre de cellules et volume moyen

Le nombre de cellules du péricarpe de tomate variait entre 1 million (Cervil) et 7 millions de cellules (Levovil et VilB). Le DHP n'a pas affecté significativement le nombre de cellules du péricarpe malgré une légère diminution pour les génotypes Levovil, NIL-L4, NIL-L9 et VilB, bien que le déficit hydrique ait été appliqué tout au long du développement de la fleur et du fruit, comprenant de ce fait la phase de division cellulaire (**figure 54**). Au contraire, le facteur génotype a affecté fortement les nombres de cellules. Dans les deux conditions témoin et DHP, les NIL-L9 et NIL-B9 présentaient significativement moins de cellules que leurs parents Levovil (-40%) et VilB (-47%) en lien avec des fruits de taille plus petite (**figures 54 A et B**). Par contre, le QTL4 n'a pas modifié le nombre de cellules. Concernant le volume cellulaire moyen, celui-ci a diminué significativement avec le DHP pour Levovil uniquement. Il n'y a pas eu d'effet significatif des QTL sur le volume cellulaire moyen dans le fond L. Dans le fond génétique B, NIL-B9 présentait des cellules significativement plus petites

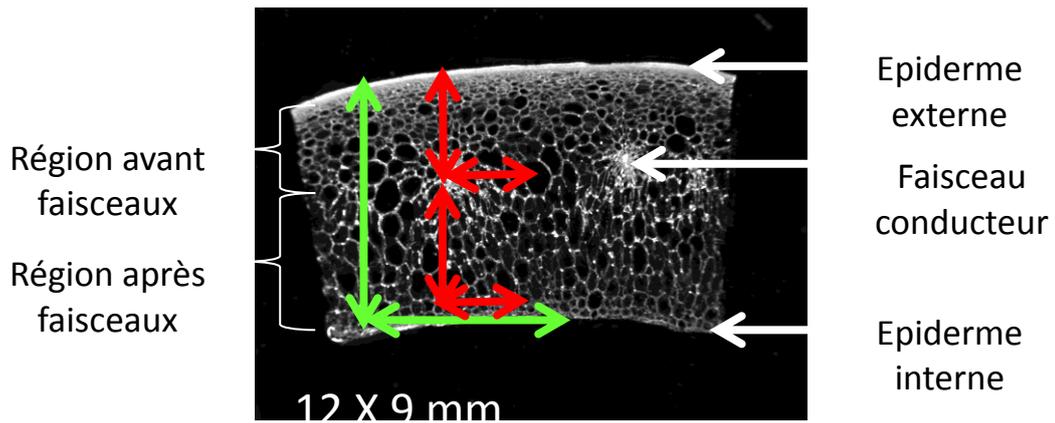


Figure 55 : Coupe de péricarpe de tomate en macro-vision avec les différentes régions étudiées dans deux directions : l'une perpendiculaire (radiale) et l'autre parallèle (tangentielle) à l'épiderme. Après l'analyse globale du péricarpe dans sa largeur (en vert), l'analyse a été faite dans deux régions en distinguant les régions avant et après faisceaux (en rouge).

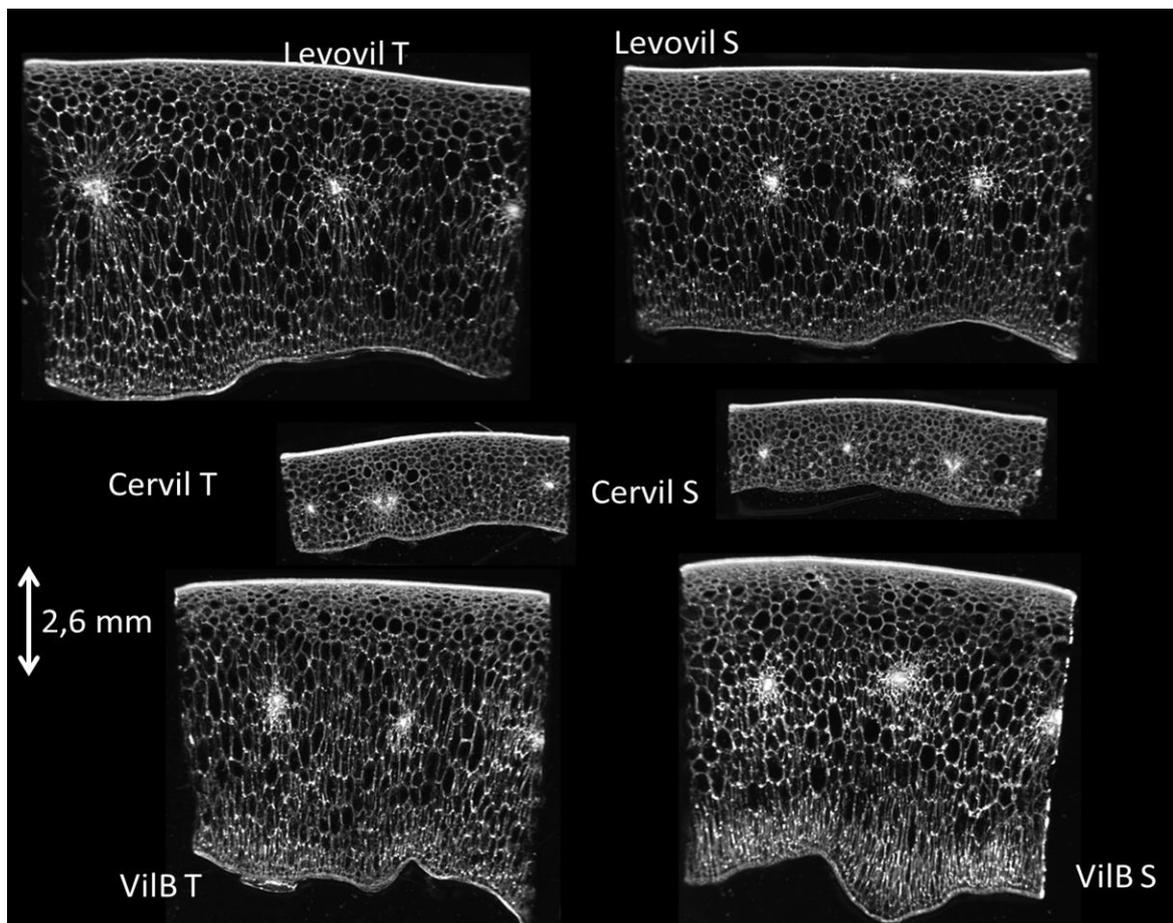


Figure 56 : Coupes de péricarpe de tomate en macro-vision des trois génotypes parentaux Cervil, Levovil et ViLB dans les conditions témoin (T) et DHP (S).

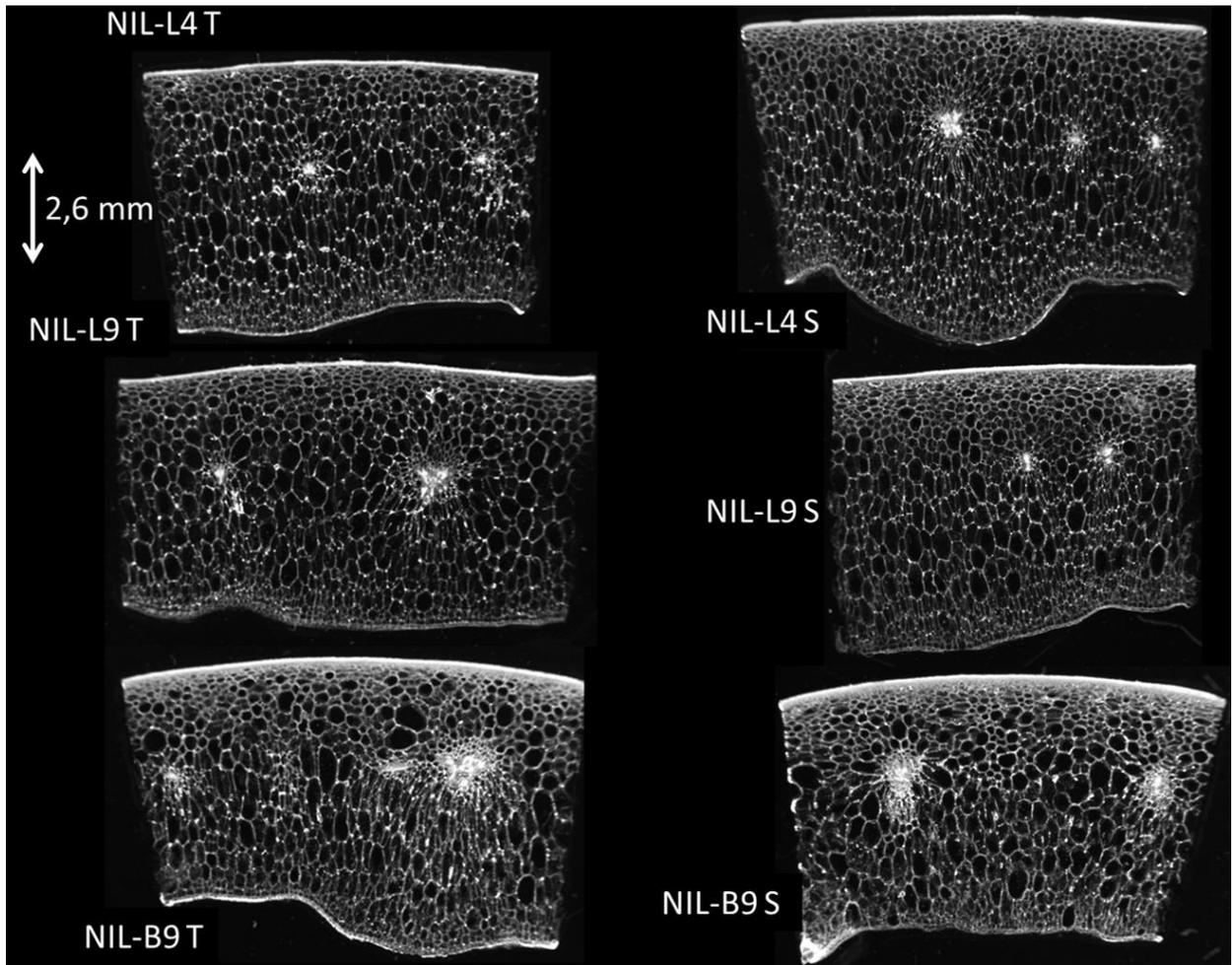


Figure 57 : Coupes de péricarpe de tomate en macro-vision des NILs dans les conditions témoin (T) et DHP (S).

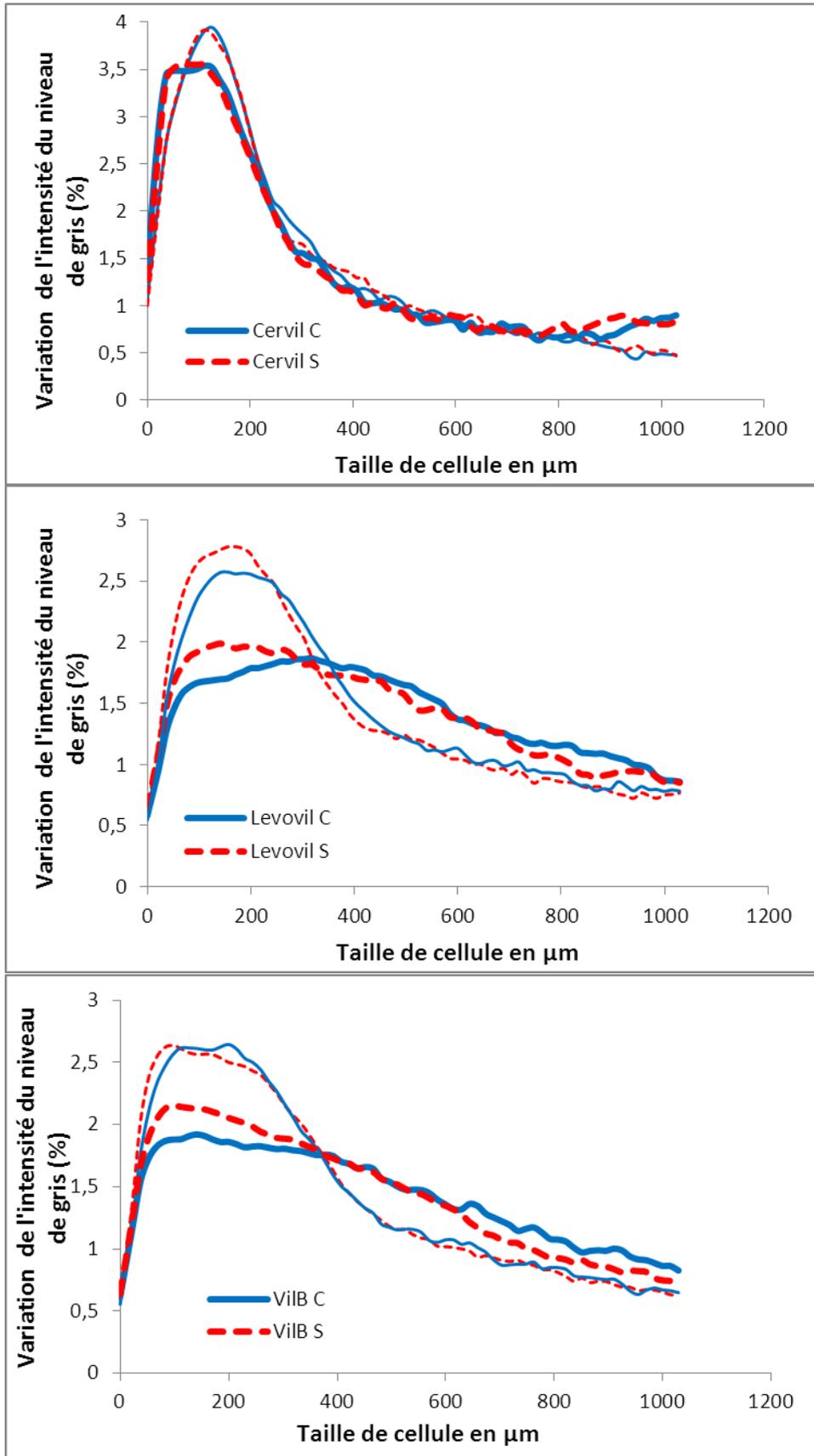


Figure 58 : Courbes granulométriques moyennes : indiquent la proportion relative de cellule en fonction de leur taille en μm pour les fruits témoin (en bleu) et DHP (en rouge) analysées sous deux axes : radial (trait gras) et tangential (trait fin) pour les trois parents.

que son parent VilB dans les deux conditions témoin et DHP. Toutefois le volume moyen des cellules estimé par cette méthode n'a pas rendu compte de la distribution des tailles cellulaires au sein des tissus. C'est pourquoi nous avons complété ces observations par des analyses granulométriques.

Méthode qualitative : analyse histologique et granulométrique du péricarpe

A partir de l'analyse histologique en macro-vision (**figure 55**), nous avons pu déterminer les tailles de cellules du péricarpe de tomate dans deux directions : radiale (perpendiculaire à l'épiderme) et tangentielle (parallèle à l'épiderme). Nous avons analysé les coupes dans la largeur du péricarpe, mais aussi par région : avant et après faisceaux. L'ensemble des génotypes a ainsi été analysé au stade rouge dans les conditions témoin et DHP (**figures 56 et 57**).

Le traitement DHP a diminué significativement (-5%) l'épaisseur du péricarpe chez Levovil uniquement (**figures 56 et 57**). Le QTL 9 a diminué les épaisseurs de péricarpe des NILs par rapport à leur parent dans les deux conditions (respectivement en condition témoin et DHP : pour le fond génétique L : -16% et -13%, et pour le fond génétique B : -29% et -34%), avec une diminution plus forte dans le fond génétique B que dans le fond génétique L. Le QTL 4 a également diminué (-9%) l'épaisseur du péricarpe mais de manière significative uniquement en condition témoin.

Grâce à l'identification de la position des faisceaux regroupant les vaisseaux du fruit, la distance faisceaux-cuticule a pu être calculée (**figures 55, 56 et 57**). Cette distance a diminué significativement en condition DHP pour les génotypes Levovil et NIL-L9, cependant il faut également prendre en compte la diminution de l'épaisseur du péricarpe, bien qu'elle ne fût pas toujours significative. Le rapport de la distance épiderme-faisceaux sur l'épaisseur du péricarpe donne alors une information plus précise prenant en compte la variation de l'épaisseur du péricarpe. Ce rapport a significativement diminué en condition DHP pour les génotypes Levovil et NIL-L9. Chez les autres génotypes, il a diminué légèrement mais non significativement, et il a augmenté chez Cervil. Cette diminution du rapport de la distance épiderme-faisceaux sur l'épaisseur du péricarpe était principalement liée à une réduction de la distance épiderme-faisceaux en condition DHP, l'épaisseur du péricarpe étant peu affectée. Il y a donc eu un réarrangement des structures du péricarpe (déplacement des faisceaux vers l'extérieur). Les QTL n'ont pas modifié ce rapport, sauf pour NIL-L9 en condition témoin, pour lequel le rapport a augmenté lié principalement à une épaisseur de péricarpe plus petite pour NIL-L9 par rapport à Levovil, la position des faisceaux (en distance absolue) étant peu différente.

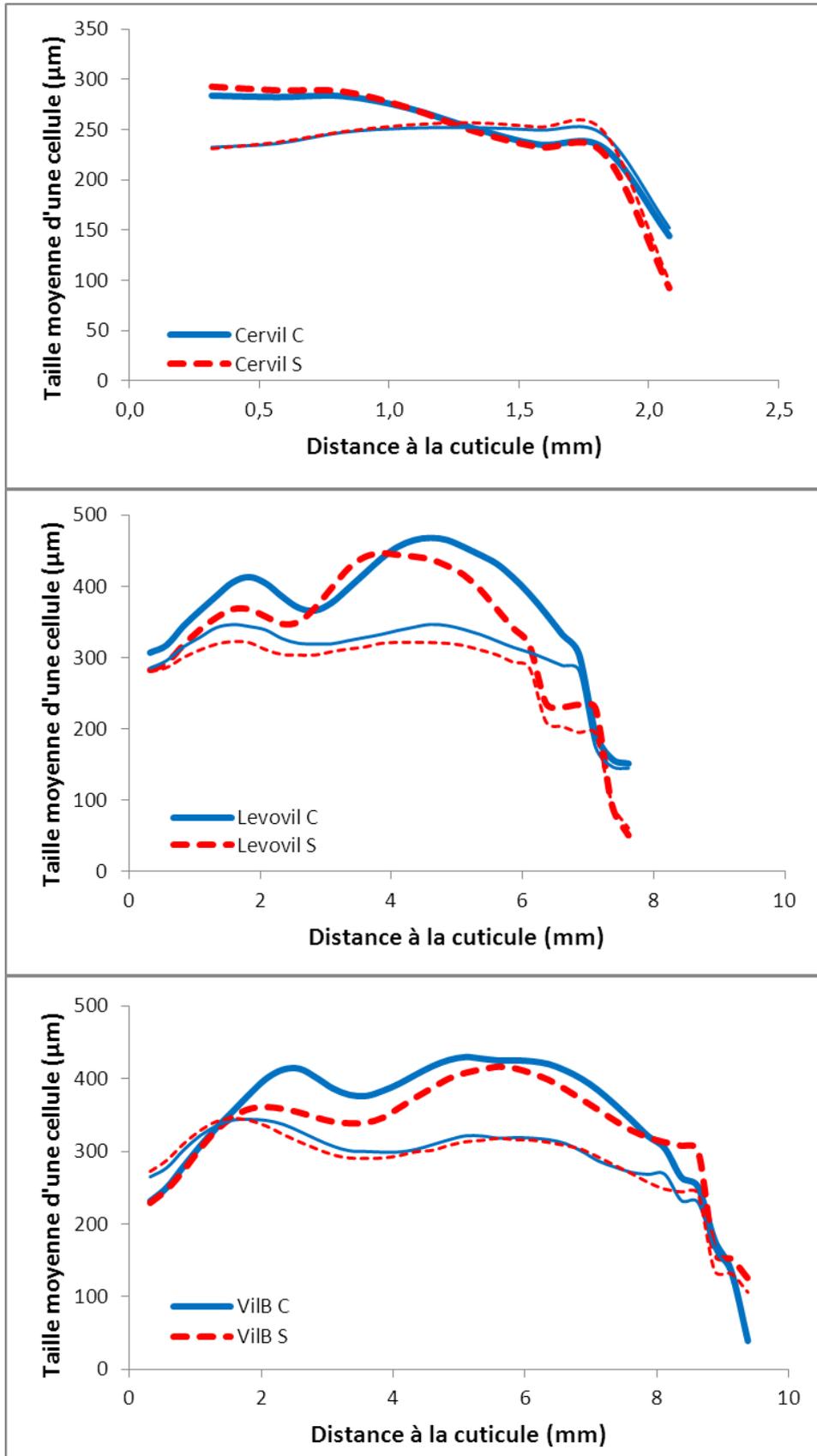


Figure 59 : Taille moyenne d'une cellule de péricarpe des 3 parents en µm selon deux directions radiale (trait gras) et tangentielle (trait fin), en fonction de la distance à la cuticule en mm dans les deux conditions témoin (C) et DHP (S).

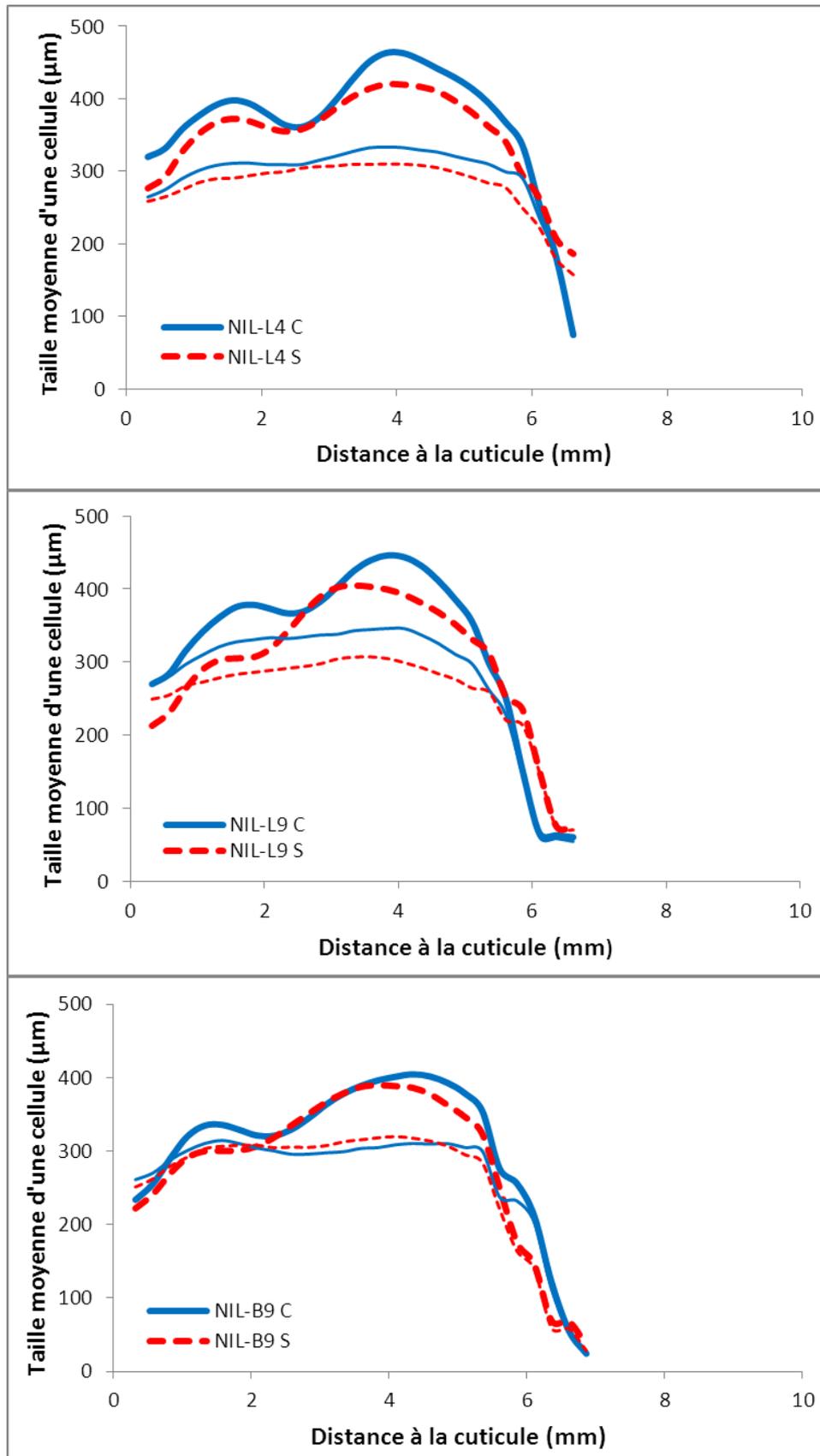


Figure 60 : Taille moyenne d'une cellule de péricarpe des NILs en µm selon deux directions radiale (trait gras) et tangentielle (trait fin), en fonction de la distance à la cuticule en mm dans les deux conditions témoin (C) et DHP (S).

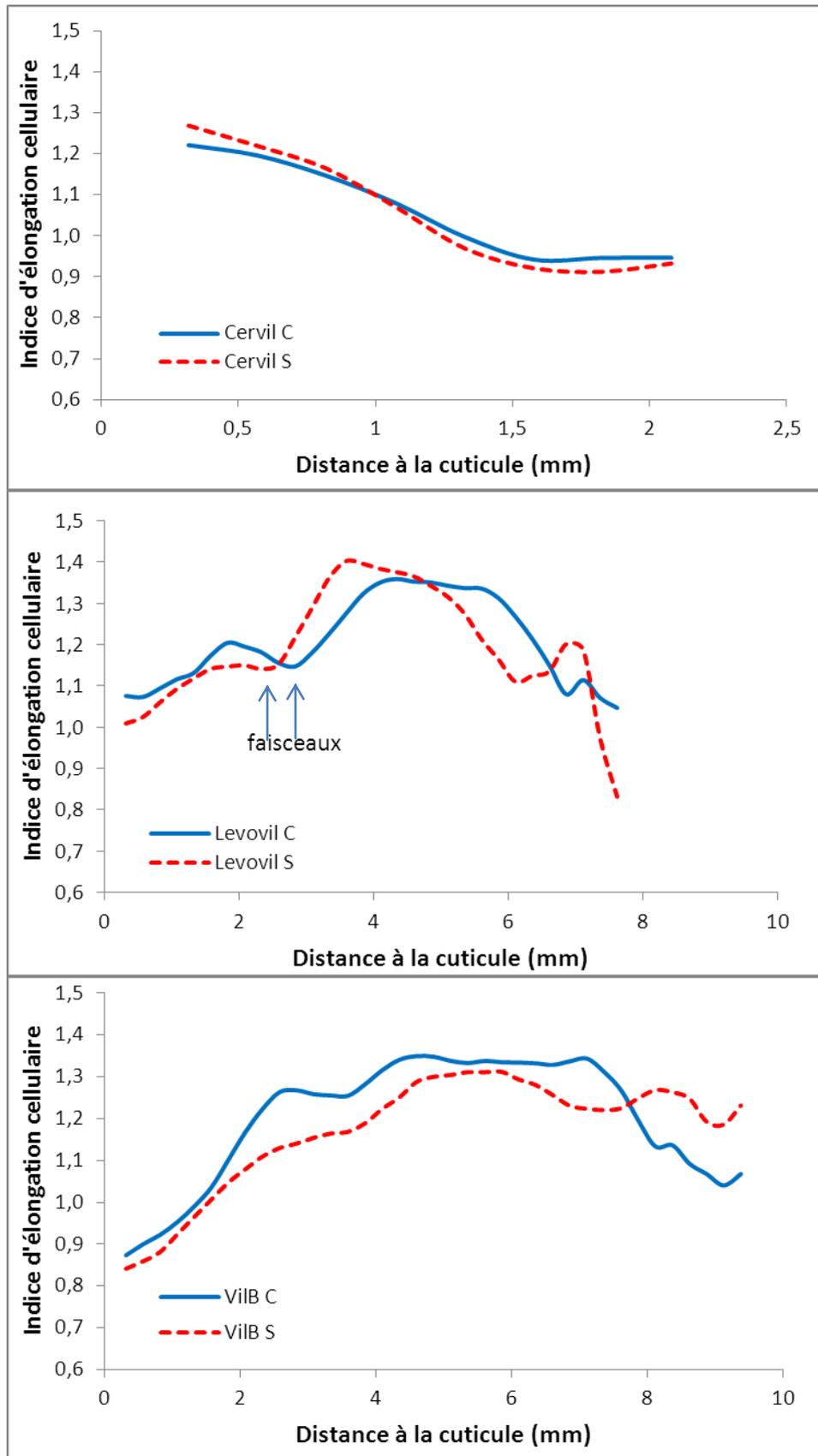


Figure 61 : Profil d'élongation cellulaire (taille moyenne d'une cellule radiale / taille moyenne d'une cellule tangentielle) en fonction de la distance à la cuticule en mm pour les 3 parents dans les deux conditions témoin (C) et DHP (S).

Courbes granulométriques :

Les courbes granulométriques (**figure 58**) ont été obtenues à partir des régions d'intérêts des images macroscopiques de péricarpe (**figures 56 et 57**). Les « éléments linéaires structurants » (masques de forme et de taille donné) ont été utilisés pour analyser les tailles de cellules dans deux directions : une direction perpendiculaire à la cuticule (direction radiale) et une direction parallèle à la cuticule (direction tangentielle). Les courbes granulométriques (**figure 58**) ont montré un pic important entre 0 et 400 μm (correspondant à la taille des éléments structurants, extrapolée à la gamme de tailles de cellules) dans la direction tangentielle. Chez Cervil, les courbes avaient un pic marqué dans les deux directions. Ces pics correspondaient à une proportion importante de cellules de petites tailles et de forme ronde, alors que pour les génotypes Levovil et VilB, on a observé dans la direction radiale une forte hétérogénéité de la taille des cellules. Les courbes granulométriques (**figure 58**) des fruits DHP à l'exception de Cervil, ont montré que la proportion de cellules de petite taille (comprises entre 0 et 350 μm) a augmenté par rapport au témoin dans les deux directions mais les gammes de variation étaient comparables.

Profils de tailles et formes cellulaires en fonction de la distance à la cuticule :

Etant donné l'hétérogénéité de la taille des cellules du péricarpe, nous avons établi des profils de « tailles » de cellules moyennes en fonction de leur distance à la cuticule dans les directions radiale et tangentielle pour évaluer d'éventuels effets localisés du DHP et des QTL (**figures 59 et 60**). Ces profils ont montré que la direction radiale était soumise à de plus grandes variations que la direction tangentielle. Les profils des fruits DHP avaient des valeurs de taille de cellules plus faibles que les témoins sauf chez Cervil, où les profils des fruits témoin et DHP étaient quasiment confondus quelle que soit la direction considérée. La différence entre les courbes témoins et DHP était forte notamment chez Levovil, NIL-L9 et VilB dans la direction radiale. A l'exception de Cervil, on a noté également pour tous les génotypes que les différences entre les courbes témoins et DHP apparaissaient préférentiellement dans les premiers millimètres de péricarpe en partant de la cuticule (entre 0 et 3 mm).

A partir du rapport des tailles radiales et tangentielles, nous avons calculé un indice d'élongation cellulaire ($IE = \text{tailles radiales} / \text{tangentielles}$) en fonction de la distance à l'épiderme (**figures 61 et 62**). Si l'indice est proche de 1, la cellule est circulaire, s'il est supérieur à 1 la cellule est allongée dans le sens radial, alors que s'il est inférieur à 1, la cellule est allongée dans le sens tangentiel. Les figures 61 et 62 ont montré que l'élongation cellulaire a été affectée par le DHP pour

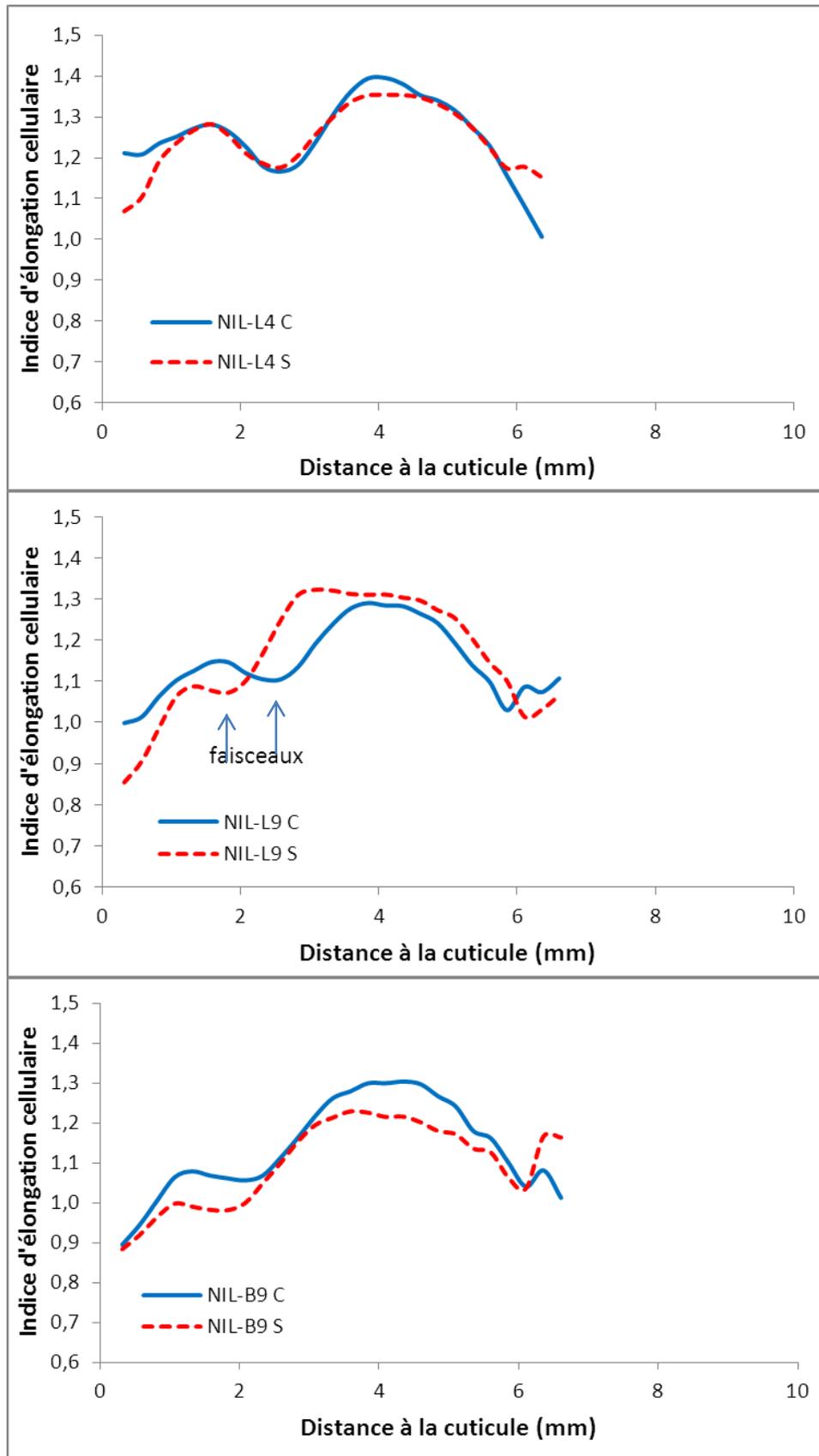


Figure 62 : Profil d'élongation cellulaire (taille moyenne d'une cellule radiale / taille moyenne d'une cellule tangentielle) en fonction de la distance à la cuticule en mm pour les NILs dans les deux conditions témoin (C) et DHP (S).

tous les génotypes sauf Cervil et NIL-L4. Dans le fond génétique B, le DHP a réduit l'élongation cellulaire sur toute l'épaisseur du péricarpe (excepté sur les cellules proches de l'épiderme interne), cet effet était significatif chez NIL-L9 et VilB mais uniquement dans la région cuticule-faisceaux. Les profils d'élongation cellulaire de Levovil et NIL-L9 (**figures 61 et 62**) ont montré que le DHP a réduit la distance cuticule-faisceaux (la position des faisceaux par rapport à la distance de la cuticule est représentée par une flèche sur les figures), ceci étant probablement lié à une diminution de l'élongation cellulaire dans cette région. Ces derniers résultats ont confirmé nos précédents résultats obtenus à partir de la détection automatique de la position des faisceaux. De plus, chez Levovil, l'IE des fruits DHP était plus faible que celui des témoins avant faisceau et plus important après faisceau. Alors que chez NIL-L9, l'IE était plus faible chez les fruits DHP par rapport aux fruits témoin uniquement avant faisceaux (région entre la cuticule et les faisceaux). L'analyse par région du péricarpe (avant et après faisceaux) a donc montré des effets du DPH variables sur la croissance cellulaire radiale et tangentielle et selon les régions d'étude du tissu.

En ce qui concerne les effets QTL, il semblerait que seul le QTL4 a augmenté significativement l'IE dans la région avant faisceau uniquement, alors que le QTL9 tendrait à réduire cet indice sur l'ensemble du péricarpe.

Taille moyenne d'une cellule en fonction de la région étudiée :

Contrairement aux précédentes parties où les résultats étaient exposés en fonction de la distance à la cuticule, nous nous sommes intéressés dans cette partie à la taille moyenne des cellules sur l'ensemble du péricarpe et par région en fonction de la position des faisceaux du fruit : une région épiderme externe-faisceaux (appelée « avant faisceaux »), et une région faisceaux-épiderme interne (appelée « après faisceaux ») (**figure 55**). Comme pour l'IE, les analyses ont été réalisées selon deux axes : radial et tangentiel.

Chez Cervil, la taille des cellules n'a pas été affectée par le DHP ni sur l'étude globale du péricarpe ni sur l'étude par région (avant et après faisceaux). Pour les tomates à gros fruits, dans le fond génétique L, le traitement DHP a diminué significativement la taille des cellules sur l'ensemble du péricarpe et dans les deux directions d'analyse (radiale et tangentielle). Par contre dans le fond génétique B seule la taille radiale a diminué significativement. Selon l'axe radial, la région épiderme externe-faisceaux semblait la plus sensible au DHP pour deux fonds génétiques. En effet la diminution de la taille radiale dans la région avant faisceaux était significative pour tous les génotypes alors qu'elle ne l'était pas dans la région après faisceaux chez Levovil et NIL-B9. Selon l'axe

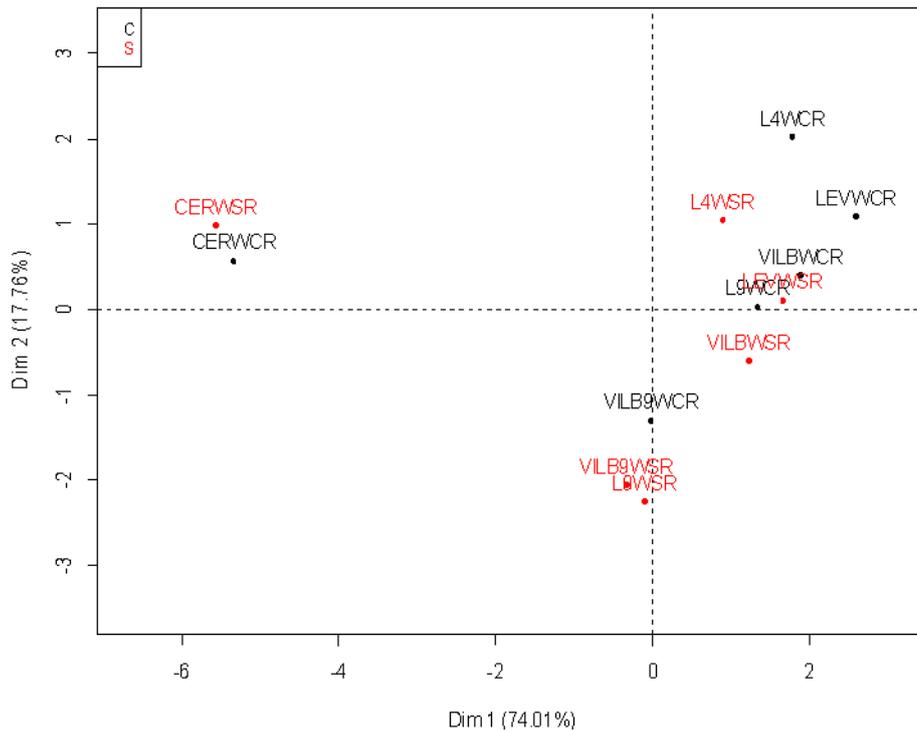


Figure 63 : ACP sur les variables histologiques du fruit des 6 génotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade rouge. Les génotypes témoins (WC) sont en noir, et les DHP (WS) en rouge.

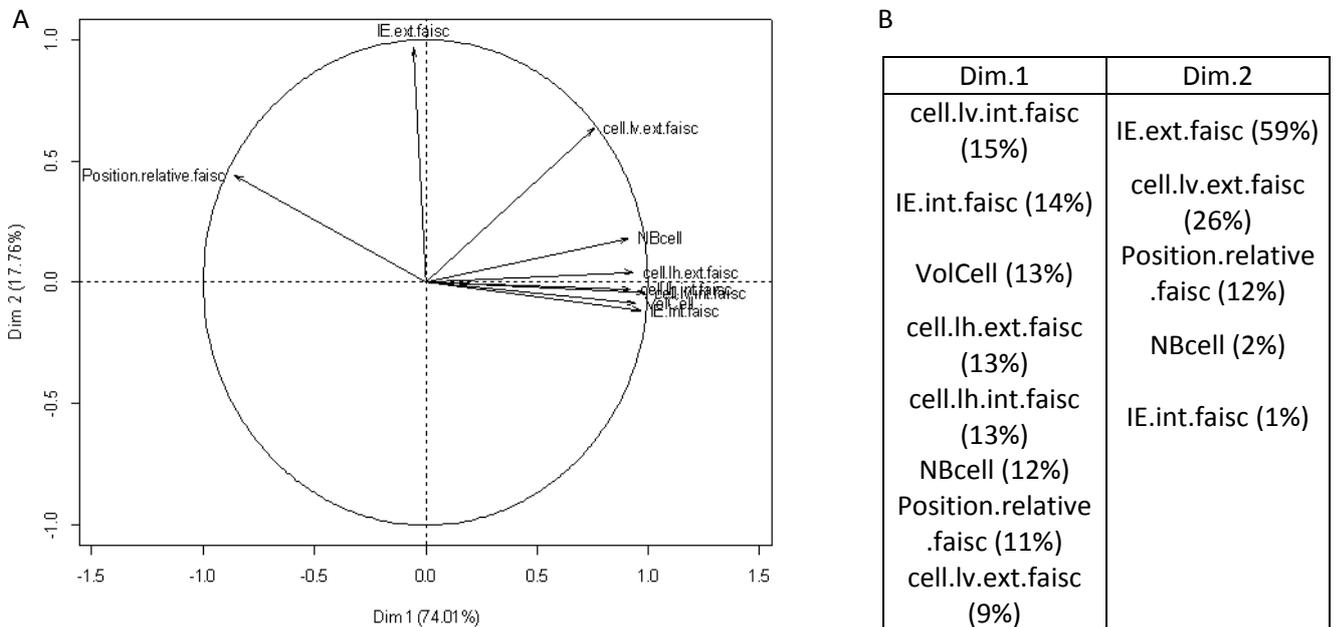


Figure 64 : **A :** Projection des variables histologiques du fruit au stade rouge sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B :** Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. Position.relative.faisc : position relative des faisceaux par rapport à la largeur du péricarpe ; IE.faisc : indice de forme des cellules du péricarpe dans sa région externe (ext) ou interne (int); cell.lv.faisc : taille radiale des cellules dans la région externe (ext) ou interne (int) du péricarpe ; cell.lh.faisc : taille tangentielle des cellules dans la région externe (ext) ou interne (int) du péricarpe ; NBcell : nombre moyen de cellule du péricarpe ; VolCell : volume moyen d'une cellule du péricarpe.

tangentielle, les deux régions avant et après faisceaux ont eu la même sensibilité au DHP.

Le QTL9 a diminué la taille radiale des cellules par rapport aux parents dans les deux fonds génétiques et dans les deux conditions témoin et DHP. Cet effet du QTL9 était significatif dans la région avant faisceaux pour les deux conditions alors que dans la région après faisceaux le QTL9 a interagi avec le traitement : chez NIL-B9 l'effet QTL sur la taille radiale n'était significatif qu'en condition témoin, et chez NIL-L9 il n'était significatif qu'en condition DHP. Le QTL4 n'a pas entraîné de modification de tailles des cellules dans le sens radial pour l'ensemble des analyses dans les deux conditions.

Dans le fond L, le QTL4 a diminué significativement la taille des cellules dans la direction tangentielle dans les deux conditions dans la région avant faisceaux uniquement. Toujours dans le fond L, le QTL9 a diminué significativement la taille des cellules dans la direction tangentielle dans les deux régions d'analyse mais uniquement en condition DHP. Dans le fond B, le QTL9 n'a pas d'effet sur la taille tangentielle moyenne des cellules sur l'ensemble du péricarpe, qui résultait en fait d'une diminution dans la région avant faisceaux et d'une augmentation de la région après faisceaux. Dans la région avant faisceaux l'effet du QTL9 était significatif dans les deux conditions, alors que dans la région après faisceaux, il ne l'était qu'en condition DHP.

Effets génotype et DHP sur l'ensemble des variables histologiques

L'analyse en composantes principales, réalisée avec l'ensemble des variables histologiques (des deux méthodes utilisées), a indiqué un rôle important de la taille et du nombre de cellules et a opposé les génotypes à gros fruits (fonds génétiques L et B) aux petits fruits (Cervil) sur l'axe 1 avec 74% d'inertie (**figure 63**). L'axe 2 (18% d'inertie) a opposé les génotypes parentaux aux NIL-9 (NIL-L9 et NIL-B9), et les fonds génétiques entre eux. Cet axe était corrélé à l'indice d'élongation (IE) dans la région externe du péricarpe, plus faible pour NIL-L9 et NIL-B9. Les fruits DHP étaient légèrement décalés sur cet axe, avaient globalement un IE plus faible. On a noté une corrélation positive forte entre l'indice de forme cellulaire dans la région interne du péricarpe (IE.int.faisc) et le volume cellulaire, mais aussi avec les tailles de cellules (de la région interne du péricarpe : tailles radiale et tangentielle, et de la région externe : taille tangentielle des cellules) (**figure 64**). Le DHP et le QTL9 ont diminué globalement la taille radiale des cellules et donc l'IE préférentiellement dans la région externe du péricarpe, néanmoins l'effet du QTL9 était plus fort que l'effet DHP.

Bilan des analyses cellulaires

Bien qu'appliqué avant la période des divisions cellulaires chez le très jeune fruit, le DHP n'a pas modifié significativement le nombre de cellules du péricarpe du fruit.

Les deux régions avant et après faisceaux étaient toutes deux affectées par les effets DHP ou QTL avec des effets en moyenne plus marqués dans la région avant faisceaux.

La méthode de digestion n'a pas permis de mettre en évidence d'effets importants du DHP sur le volume cellulaire moyen. Pourtant l'analyse granulométrique a montré que le DHP a réduit la croissance radiale des cellules pour tous les génotypes alors que la croissance tangentielle n'a diminué sous l'effet DHP que dans le fond L. Les cellules étaient moins allongées dans le plan de coupe chez NIL-B9 en condition DHP.

Le DHP a significativement réduit la distance entre la cuticule et les faisceaux, notamment chez Levovil et NIL-L9, alors que l'épaisseur du péricarpe n'a pas été affectée (sauf chez Levovil), ce qui a confirmé que la région avant faisceaux était préférentiellement affectée par le DHP.

D'après nos résultats, le DHP n'a pas d'effet significatif sur les caractères histologiques observés chez la tomate de type cerise Cervil, contrairement aux tomates à gros fruits.

Le QTL4 (fond L) a clairement réduit l'expansion tangentielle des cellules dans la région avant faisceaux du péricarpe, augmentant significativement l'indice d'élongation, les cellules étaient plus allongées dans le sens radial par rapport à son parent Levovil, dans les deux conditions d'irrigation.

Le QTL9 a eu des effets comparables dans les deux fonds génétiques, il a réduit le nombre de cellules. Il a réduit également l'expansion radiale des cellules avec des effets plus marqués dans la région avant faisceaux du péricarpe, qui ont expliqué globalement la diminution de l'épaisseur du péricarpe sous l'effet du QTL9. Le QTL9 a aussi réduit l'expansion tangentielle mais cet effet était surtout marqué en condition DHP sur l'ensemble du péricarpe. Dans le fond B le QTL9 a diminué la taille tangentielle des cellules dans la région avant faisceaux et l'a augmenté dans la région après faisceaux.

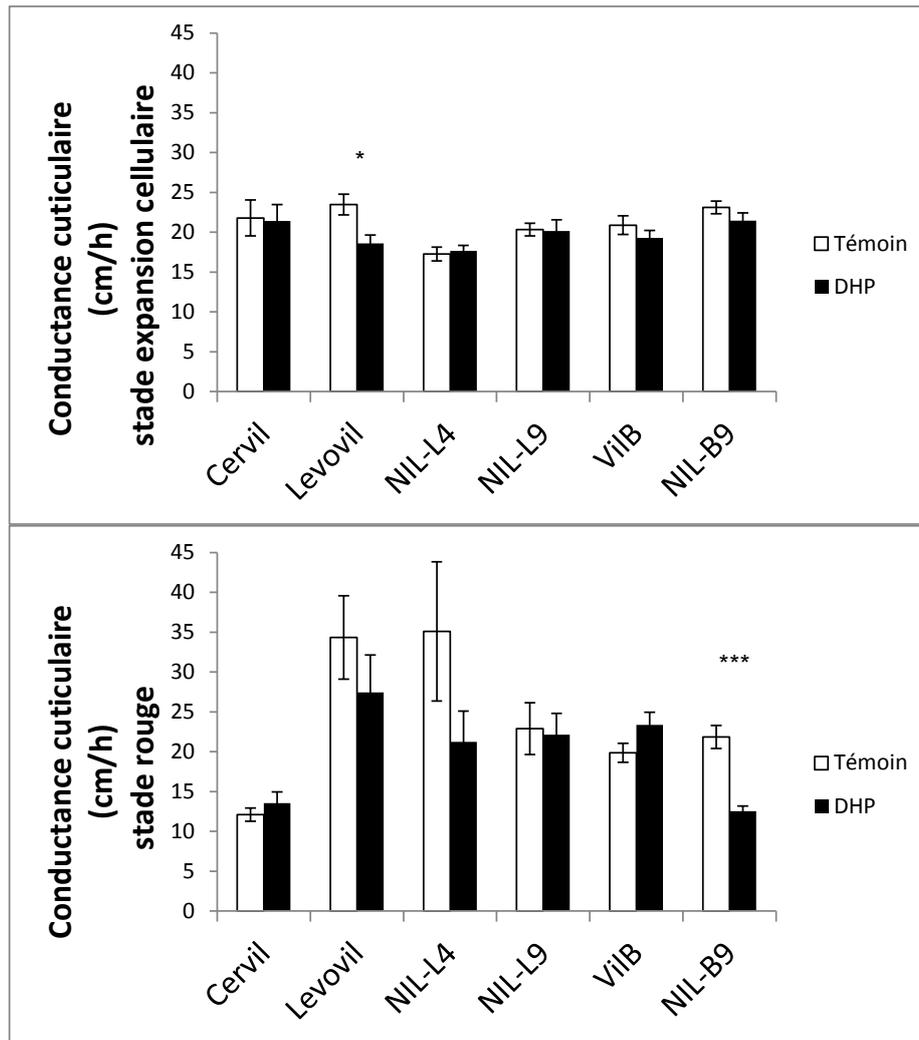


Figure 65 : Conductance cuticulaire (cm/h) pour les six génotypes dans les conditions témoin et DHP aux stades : expansion cellulaire et rouge. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative)

IV. Conductance cuticulaire et composition biochimique des fruits

Ce paragraphe présente les variations d'accumulation d'eau et de la matière sèche, ainsi que la répartition de cette dernière entre matières insolubles à l'alcool (MIA) et composés solubles comme les sucres, les acides organiques et la vitamine C. Les ions Ca^{2+} et K^+ ont également été analysés pour leur implication potentielle soit dans la structure globale du fruit, soit dans la régulation du potentiel osmotique (stabilité des membranes cellulaires) et donc des flux d'eau et de la turgescence cellulaire, soit plus généralement dans l'adaptation à la contrainte hydrique. Nous avons réalisé les dosages de sucres solubles et d'acides organiques sur différents types d'échantillon : péricarpe isolé ou fruit entier. Les résultats étant très corrélés, nous avons présenté dans les paragraphes suivants les résultats obtenus sur les péricarpes sur lesquels ont également été réalisées les analyses histologiques (chapitre 5 II) et protéomiques (chapitre 6).

Conductance cuticulaire

Les analyses de fermeté du fruit avec et sans peau aux stades vert et rouge ont suggéré l'implication de la peau (épiderme+cuticule+premières assises cellulaires) dans la texture du fruit. Son rôle peut être multiple : mécanique lié à l'épaisseur de la peau, ou biochimique lié à la composition cuticulaire. L'un des effets attendus était un effet sur la turgescence cellulaire via une limitation des pertes en eau par transpiration (Saladie *et al.*, 2007). Nous avons donc mesuré les effets des facteurs génétiques et hydriques sur la conductance cuticulaire aux stades vert et rouge (**figure 65**). La conductance était peu variable au stade vert mais beaucoup plus variable au stade rouge avec des valeurs faibles pour Cervil et fortes pour Levovil et NIL-L4 (le moins ferme). Au stade vert, le DHP a eu peu d'effets sur la conductance (réduction chez Levovil). Au stade rouge, une réduction plus marquée a été observée pour Levovil (-20%, ns), NIL-L4 (-39%, ns) et NIL-B9 (-43%, $p < 0,05$). Ces génotypes se sont adaptés au DHP en réduisant les pertes en eau et leur cuticule (notamment pour NIL-L4 et NIL-B9) a pu contribuer à une amélioration de la fermeté en compression (CPslop) en condition DHP. Les QTL 4 et 9 ont eu peu d'effets significatifs sur la conductance cuticulaire. Le QTL4 a entraîné une diminution significative de la conductance cuticulaire (-27%) au stade vert en condition témoin, de même que le QTL9 dans le fond génétique B a induit une diminution significative de la conductance cuticulaire (-46%) en condition DHP au stade rouge.

Accumulation de matière sèche du fruit et de ses différents tissus

Le taux de matière sèche du fruit correspond à l'accumulation de composés structuraux

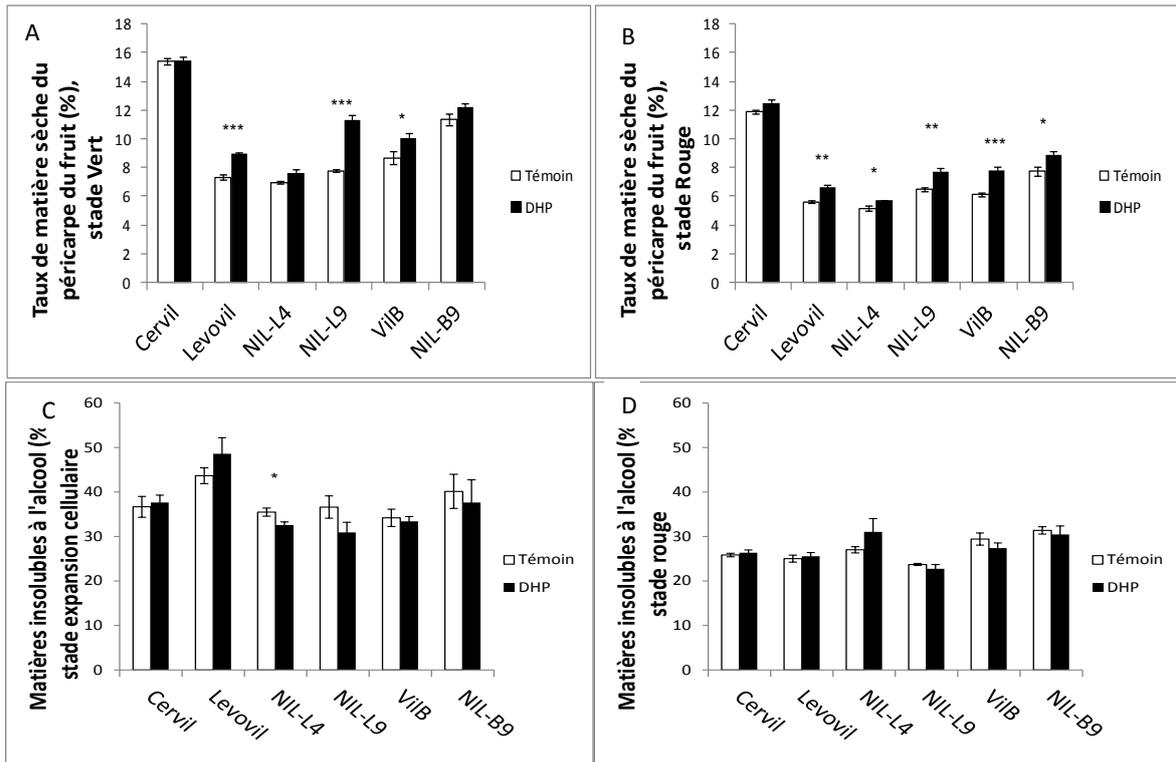


Figure 66 : A et B : Taux de matière sèche du péricarpe du fruit (en %), C et D : Taux de matières insolubles à l'alcool du péricarpe du fruit (en %) pour les six génotypes dans les conditions témoin et DHP aux stades : expansion cellulaire (vert) et rouge. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative)

comme les matières insolubles à l'alcool, et à celles de composés solubles comme les sucres et les acides organiques. La tomate est un fruit dont la structure anatomique est hétérogène, il est constitué de différents tissus (péricarpe, columelle, gel, graines) de composition variable. Certains de ces tissus pourraient jouer un rôle plus ou moins important dans les réponses au DHP et aux génotypes.

A l'échelle du fruit entier, le taux de matière sèche était compris entre 6,6% (NIL-L4 témoin) et 13,9% (Cervil DHP) au stade expansion cellulaire, puis il a diminué au stade rouge, entre 5% (Levovil témoin) et 12,4% (Cervil DHP). Le DHP a induit une augmentation significative du taux de matière sèche dès le stade d'expansion cellulaire pour les génotypes Levovil, NIL-L9 et VilB. Au stade rouge, cette augmentation était significative pour l'ensemble des génotypes (9% pour NIL-L4, 18,5% pour VilB, par exemple) sauf Cervil et NIL-B9 (+2% et +5%, seulement). Donc malgré des effets faibles du DHP sur la conductance, les teneurs en matière sèche étaient variables, liées essentiellement aux apports d'eau plutôt qu'aux pertes par transpiration.

Les effets des QTL, au stade vert, étaient significatifs mais contraires. Le QTL4 a entraîné une diminution significative du taux de matière sèche du fruit (-7% en condition témoin, et -11% en condition DHP) par rapport à Levovil, qui s'est inversée au stade rouge (de l'ordre de +6%). Le QTL9 a eu un effet significatif et stable aux deux stades et a induit une augmentation moyenne de 30% (fruits témoin et DHP du même ordre).

Le tissu le plus abondant dans le fruit est le péricarpe, et son taux de matière sèche reflète celui du fruit entier. Les mêmes effets du DHP et des QTL ont été observés aux deux échelles. Le taux de matière sèche du péricarpe variait entre 7% (NIL-L4 témoin) et 15,5% (Cervil DHP) au stade vert, puis a diminué à maturité pour atteindre 5,2% (NIL-L4 témoin) à 12,5% (Cervil DHP) (**figures 66 A et B**). Le péricarpe était le tissu du fruit le plus affecté par le DHP, les autres tissus n'étaient pas ou peu affectés. Le taux de matière sèche du péricarpe a augmenté significativement pour tous les génotypes de +10% (NIL-L4) à +28% (VILB) au stade rouge, sauf pour Cervil (+5% ns). Ces augmentations significatives du taux de matière sèche étaient visibles dès le stade vert pour les génotypes Levovil, NIL-L9 et VilB.

Au stade vert, les QTL 4 et 9 ont modifié le taux de matière sèche par des effets opposés essentiellement en condition DHP (NIL-L4 -15%, NIL-L9 +27%, NIL-B9 +22%) et en condition témoin uniquement chez NIL-B9 (+31%). Au stade rouge, ces effets QTL étaient stables bien que légèrement plus faibles : le QTL4 a diminué significativement le taux de matière sèche du péricarpe (-13%) en condition DHP au stade rouge (seule différence avec le fruit entier pour lequel l'effet inverse a été

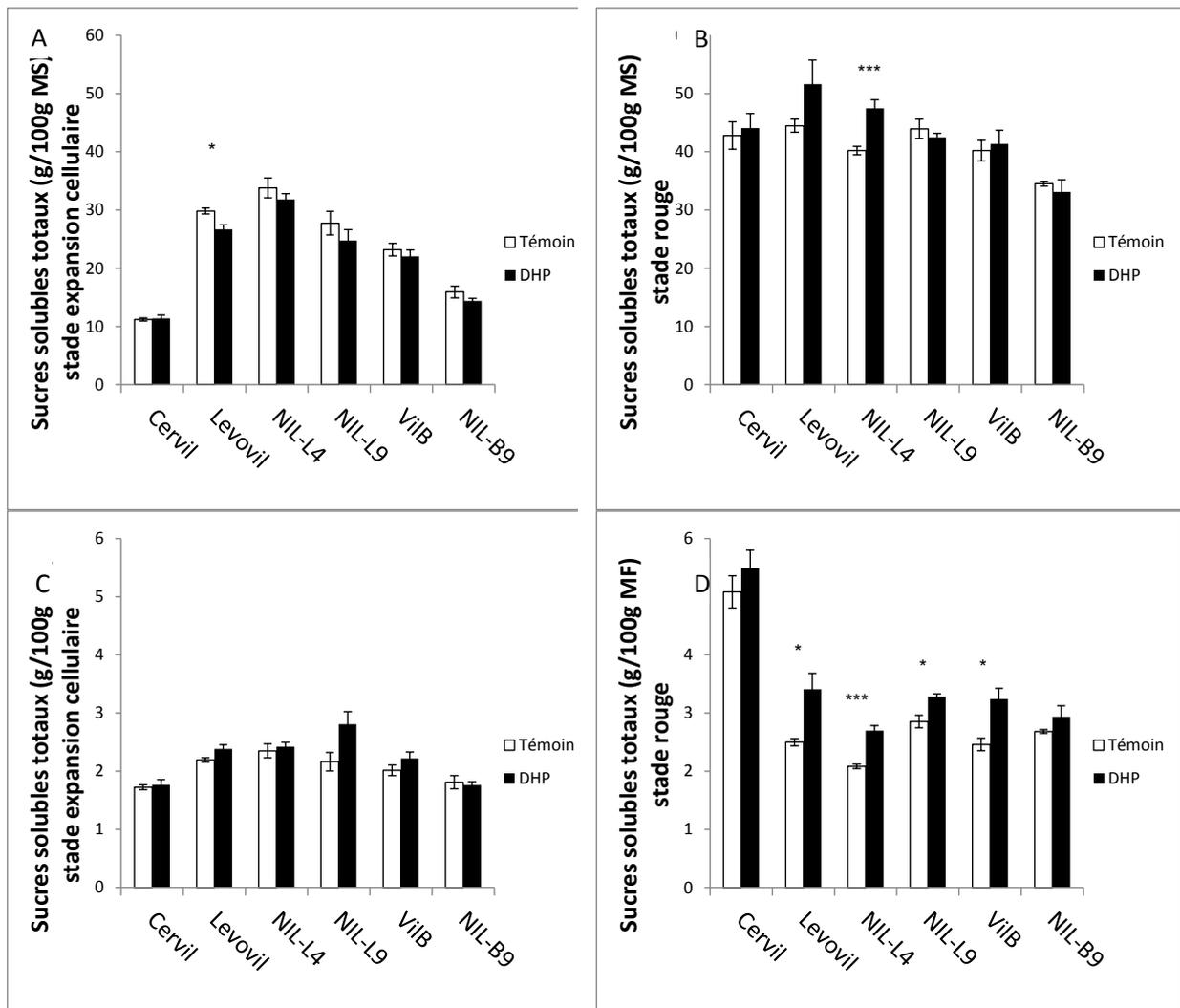


Figure 67 : Concentrations en sucres solubles du péricarpe du fruit, **A** et **B** : exprimées en g/100g de Matière Sèche, **C** et **D** : exprimées en g/100g de Matière Fraîche, pour les six génotypes dans les conditions témoin et DHP aux stades : expansion cellulaire et rouge. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative)

observé). Au stade rouge, le QTL9 a augmenté le taux de matière sèche dans les deux fonds génétiques et dans les deux conditions (dans le fond L +16% chez les témoins, +17% chez les fruits DHP; dans le fond B : +6% chez les témoins et +21% chez les fruits DHP). Le QTL9 a également augmenté significativement le taux de matière sèche de la columelle pour les fruits témoin et DHP (+35% pour les deux conditions), et a diminué significativement le taux de matière sèche des graines uniquement en condition DHP (-10%).

L'allocation de carbone entre structures et matières solubles pourrait affecter la fermeté du fruit. Ainsi nous avons déterminé le taux de matières insolubles à l'alcool (MIA) exprimé en $g.100gMS^{-1}$ du péricarpe (**figures 66C et D**), qui correspond au pourcentage de masse de poudre végétale après élimination des molécules solubles en milieu hydro-alcoolique et de l'amidon. Le MIA variait entre 31% (NIL-L9 DHP) et 49% (Levovil DHP) au stade vert, et entre 23% (NIL-L9 DHP) et 31% (NIL-B9 témoin) au stade rouge, cette évolution entre stade étant liée à l'augmentation des composés stockés sous formes solubles pendant la maturation. Le DHP a eu peu d'effet significatif sur les valeurs de MIA, excepté chez NIL-L4 au stade vert (-8%). Ce qui signifie que l'allocation de matière sèche entre structure et matières solubles n'a pas été affectée par le DHP.

Les QTL 4 et 9 ont eu des effets significatifs sur le taux de MIA uniquement au stade vert dans le fond génétique L : le QTL4 et le QTL9 ont diminué le taux de MIA du péricarpe du fruit respectivement de -19% et -16% pour les fruits témoins, et de -33% et -36% pour les fruits DHP. Le QTL9 a diminué la part de carbone structural et a augmenté le taux de matières solubles, alors que le QTL4 a diminué à la fois la matière sèche structurale et soluble dans des proportions variables. Dans le fond génétique B, le QTL9 pourrait induire une légère augmentation (ns) du taux de MIA.

Sucres : saccharose, glucose, fructose et amidon

L'analyse des sucres solubles a été effectuée sur le péricarpe des fruits aux stades vert et rouge (**figure 67**). Les résultats ont été exprimés en pourcentage de matière sèche (MS) et en pourcentage de matière fraîche (MF), afin de distinguer les effets portant sur l'accumulation et le métabolisme des sucres de ceux portant sur la dilution des sucres par l'eau. Les concentrations en sucres solubles totaux du péricarpe du fruit (glucose, fructose et saccharose) étaient comprises entre $1,72 g.100gMF^{-1}$ (Cervil témoin) et $2,81 g.100gMF^{-1}$ (NIL-L9 DHP) au stade vert, et entre $2,08 g.100gMF^{-1}$ (NIL-L4 témoin) et $5,49 g.100gMF^{-1}$ (Cervil DHP) au stade rouge. Des augmentations des teneurs en sucres solubles (ns) en condition DHP ont été observées dès le stade vert pour tous les génotypes. Au stade rouge, le DHP a augmenté la teneur en sucres solubles totaux du péricarpe ($g.100gMF^{-1}$) entre +8% chez Cervil et +36%

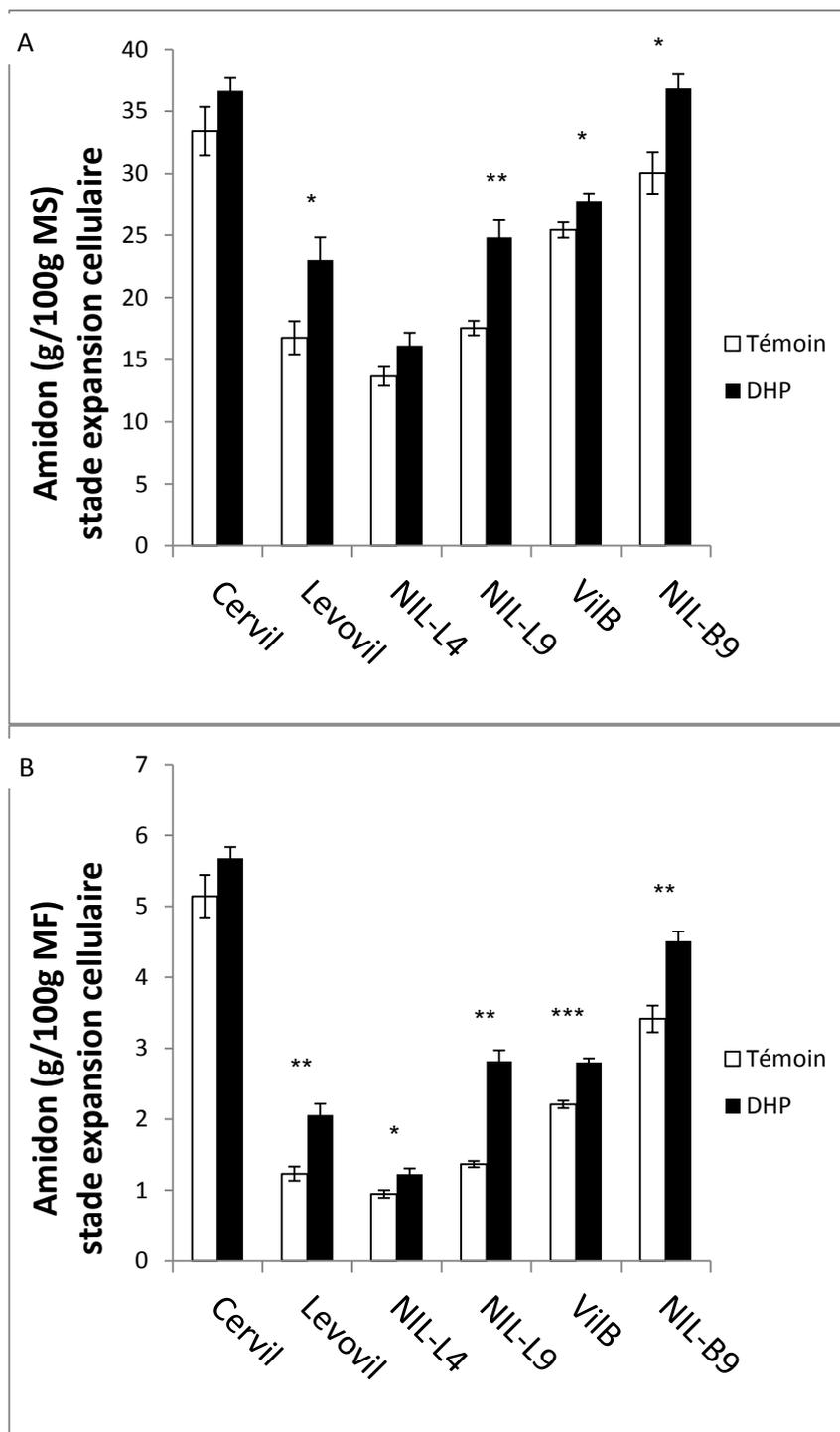


Figure 68 : Concentrations en amidon du péricarpe du fruit, exprimées en g/100g de Matière Sèche, (A) et en g/100g de Matière Fraîche (B), pour les six génotypes dans les conditions témoin et DHP au stade expansion cellulaire. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative)

chez Levovil. Les augmentations étaient significatives pour l'ensemble des génotypes sauf Cervil (+8%) et NIL-B9 (+9%). Les teneurs en sucres de la matière sèche ont augmenté en condition DHP au stade rouge (significativement chez NIL-L4 +18%) excepté chez NIL-L9 et NIL-B9, qui présentaient une légère diminution (ns) des teneurs en sucres. Ainsi l'augmentation de concentration en sucres solubles en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$ en condition DHP, résultait majoritairement d'un effet lié à leur dilution, et dans une moindre mesure d'une accumulation plus importante des sucres dans la matière sèche chez NIL-L4, probablement en lien avec une modification du métabolisme des sucres.

Dans le fond génétique L, en condition témoin, les QTL 4 et 9 ont respectivement diminué (-17%) et augmenté (+14%) significativement les concentrations en sucres solubles ($\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$) au stade rouge. En condition DHP, seul le QTL4 a diminué significativement les concentrations en sucres solubles totaux de -21%. Ces effets QTL n'étaient plus significatifs quand les concentrations étaient exprimées en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$. Les effets des QTL 4 et 9 dans le fond génétique L étaient donc également essentiellement liés à un effet de dilution. Par contre, nous avons constaté une interaction sur l'accumulation et la synthèse des sucres entre l'effet du QTL9 et le fond génétique. Dans le fonds B, le QTL9 a diminué significativement la concentration en sucres (uniquement en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$) dans les conditions témoin (-14%) et DHP (-20%) aux deux stades.

L'amidon est une forme de stockage transitoire, qui contribue à la synthèse de sucres solubles au cours de la maturation des fruits. L'amidon est présent au stade vert uniquement sauf chez certains génotypes comme Cervil (Bertin *et al.*, 2009). Le péricarpe du fruit contenait en moyenne entre 13,66 $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ (NIL-L4 témoin) et 36,85 $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ (NIL-B9 DHP) d'amidon (**figure 68**). Le DHP a augmenté significativement les concentrations en amidon de +10% (Cervil) à +105% (NIL-L9) en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$ et de +9% (VilB) à +37% (Levovil) en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ (non significatif chez Cervil et NIL-L4 en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$). L'effet DHP était donc bien lié à une stimulation de la synthèse d'amidon sans doute en lien avec des régulations osmotiques.

Les QTL 4 et 9 ont également modifié les concentrations en amidon du péricarpe. Le QTL4 a diminué significativement de -23% (témoin) et -40% (DHP) les concentrations en amidon en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$ et pourrait expliquer la diminution de la teneur en solubles à maturité. Contrairement au QTL4, le QTL9 a augmenté significativement d'environ +37% la concentration en amidon en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$ chez NIL-L9 en condition DHP uniquement, alors que dans le fond génétique B, le QTL9 a augmenté significativement la concentration en amidon des fruits témoins (+55%) et DHP (+61%). Ces effets étaient significatifs en rapport à la matière sèche notamment chez NIL-B9 et chez NIL-L4 (DHP) dans des proportions plus faibles. Les QTL ont donc montré des effets sur la dilution de l'amidon mais aussi

sur sa synthèse et son stockage au stade de croissance rapide du fruit.

Acides organiques : acide citrique, acide malique et acide quinique

Les acides organiques ont été dosés sur les péricarpes pour évaluer leur implication potentielle dans la texture du fruit, notamment dans le potentiel osmotique. Les acides citrique et quinique représentaient chacun environ 3% de la matière sèche du péricarpe et l'acide malique seulement 1% au stade rouge. Les concentrations de ces acides organiques étaient comprises globalement entre 0,12 g.100gMF⁻¹ (NIL-L4 témoin) et 0,36 g.100gMF⁻¹ (Cervil témoin) au stade vert, et entre 0,06 g.100gMF⁻¹ (ViLB témoin) et 0,47 g.100gMF⁻¹ (Cervil DHP) au stade rouge.

Au stade rouge, le DHP a globalement augmenté les concentrations en acide citrique et en acide quinique (en g.100gMF⁻¹) pour tous les génotypes à l'exception de l'acide quinique chez NIL-B9. Pour l'acide citrique, et l'acide quinique les augmentations sont significatives, chez Levovil (+21%, +24%), NIL-L4 (+8%, +19%) et ViLB (+19%, +23%). L'acide malique n'a pas été affecté significativement par le DHP. Pour les trois acides, le DHP a eu peu d'effet sur les teneurs exprimées en matière sèche ce qui traduisait essentiellement un effet de dilution. Les effets du DHP, étaient déjà visibles au stade vert, notamment pour l'acide citrique (en g.100gMF⁻¹).

Les QTL 4 et 9 ont eu un effet significatif mais contraire sur les concentrations en acides citrique et quinique (en g.100gMF⁻¹) au stade rouge. Le QTL4 a diminué les concentrations en acides (-24% : acide citrique, et -17% : acide quinique), alors que le QTL9 dans les deux fonds génétiques les a augmentées uniquement chez les fruits témoins (acide citrique : L +17%, B : +37%, et acide quinique +15% pour le fond L, non-significatif dans le fond B). Les QTL n'ont pas d'effet sur l'acide malique (en g.100gMF⁻¹). Les effets du QTL4 n'étaient pas significatifs sur les concentrations exprimées en g.100gMS⁻¹. Par contre le QTL9 a diminué significativement les concentrations en acides exprimées en g.100gMS⁻¹ : dans le fond génétique L, en acide malique -32% (témoin), en acide quinique -19% (DHP), et dans le fond génétique B en condition DHP, en acide citrique -15% (DHP) et en acide quinique -22%. Les effets du QTL9 étaient contraires sur les teneurs exprimées en g.100gMF⁻¹ (augmentation) et en g.100gMS⁻¹ (diminution). Il y a donc eu un effet négatif du QTL9 sur le métabolisme des acides.

Le calcium :

Il joue un rôle important notamment dans l'adhésion entre cellules en créant des liaisons entre les pectines et la matrice polysaccharidiques des parois cellulaires. De ce fait, il est impliqué dans la

texture du fruit (Harker *et al.*, 1997a). Nous avons dosé le calcium total sur les fruits entiers aux stades expansion cellulaire et rouge. Les concentrations en calcium étaient comprises entre 50 mg.100gMS⁻¹ (ViLB DHP) et 148 mg.100gMS⁻¹ (NIL-L4 témoin) au stade vert, et entre 80 mg.100gMS⁻¹ (Cervil témoin) et 126 mg.100gMS⁻¹ (Levovil témoin) au stade rouge. Il y avait donc plus de calcium dans les fruits les moins fermes.

Le DHP a affecté significativement les concentrations de calcium exprimées en g.100gMF⁻¹ aux deux stades étudiés avec des effets contraires selon les génotypes et selon le stade. Au stade vert, le DHP a diminué significativement la teneur en calcium de -16% chez NIL-L4 et ViLB, et l'a augmenté de 50% chez NIL-L9. Au stade rouge, le DHP a toujours eu le même effet chez ViLB (-19%) et chez Levovil (-20%). Le DHP a affecté également les processus d'accumulation dans la matière sèche puisque les quantités de calcium total exprimées en g.100gMS⁻¹ ont significativement diminué aux différents stades (au stade vert : chez NIL-L4 (-19%), chez ViLB (-23%), et au stade rouge : chez Levovil (-30%), chez ViLB (-34%).

Les QTL 4 et 9 ont augmenté les concentrations en calcium exprimées en g.100gMF⁻¹. Les augmentations significatives ont été observées essentiellement sur les fruits DHP dès le stade vert, chez NIL-L4 (+30% aux deux stades), chez NIL-L9 (+38% au stade vert), et chez NIL-B9 (+40% au stade vert, et +33% au stade rouge). Quand les concentrations en calcium étaient exprimées en g.100gMS⁻¹, les effets QTL observés précédemment s'inversaient notamment pour le QTL9. Au stade rouge, le QTL9 a diminué les concentrations des fruits DHP chez NIL-L9 (-30%) et NIL-B9 (-25%). Au stade rouge, le QTL9 avait une action antagoniste entre dilution (plus de matière sèche dans le fruit) et accumulation (moins de calcium dans la matière sèche) de calcium total. Au cours du développement et de la maturation du fruit, les variations des concentrations en calcium total étaient différentes selon les génotypes, il était donc très difficile de relier ces variations à des valeurs de fermeté qui étaient très contrastées.

Le potassium :

Le potassium peut être impliqué dans la régulation du potentiel osmotique et pourrait également influencer l'élongation cellulaire. En modifiant le potentiel osmotique des cellules, il contribuerait à la texture des fruits (fermeté et rigidité). Il a été dosé sur le fruit entier aux stades vert et rouge. A chaque stade, le DHP a augmenté les concentrations en potassium en g.100gMF⁻¹ des fruits fermes correspondant aux génotypes NIL-L9 (+25% au stade vert) et ViLB (+7% au stade vert et +21% au stade rouge). Pour les concentrations en potassium exprimées en g.100gMS⁻¹, le DHP a diminué

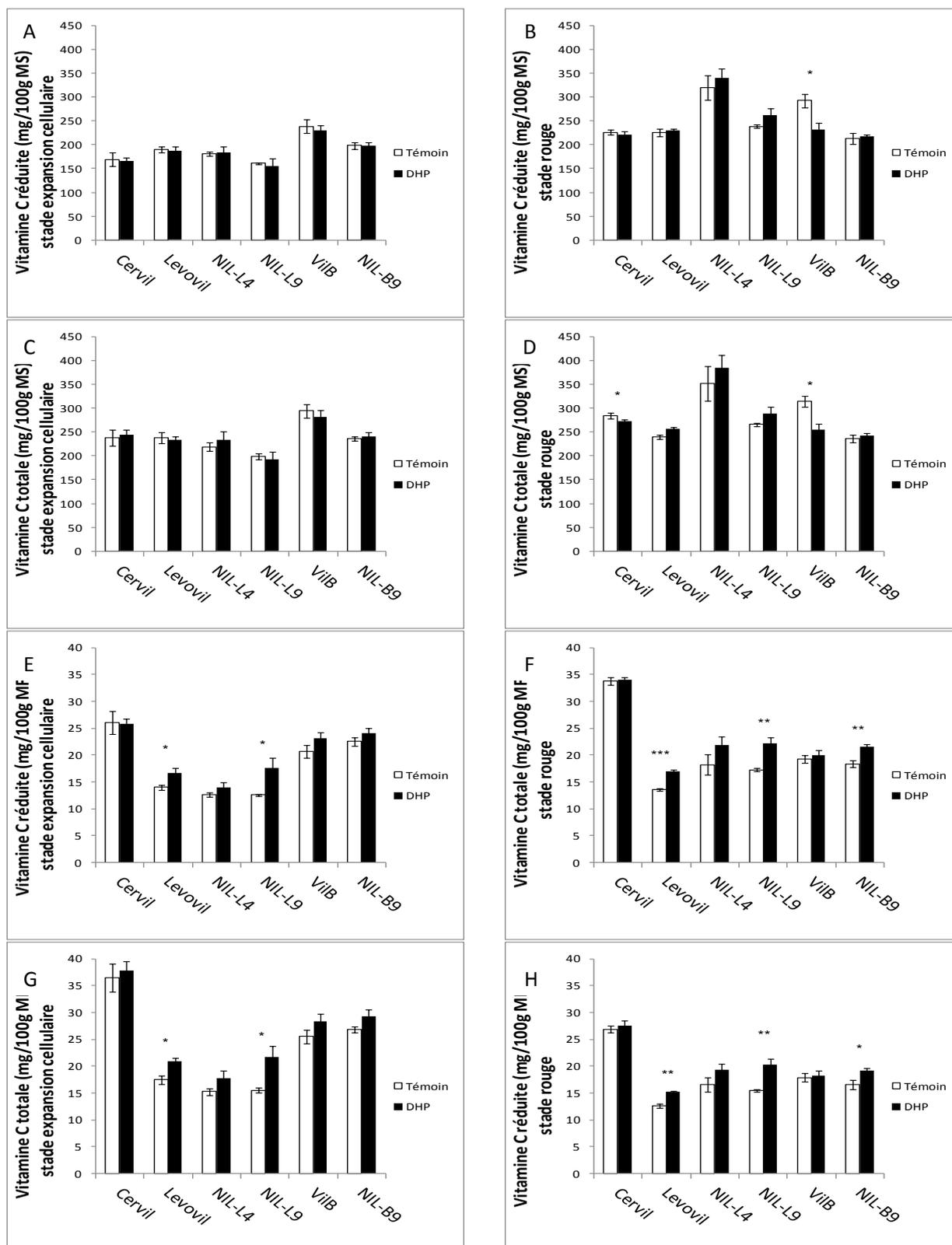


Figure 69 : Concentrations en vitamine C réduite (A, B, E et F) et totale (C, D, G et H) exprimées en matière sèche ($\text{mg} \cdot 100\text{gMS}^{-1}$) et en matière fraîche ($\text{mg} \cdot 100\text{gMF}^{-1}$) aux stades expansion cellulaire et rouge pour les six génotypes. Les barres représentent les erreurs standards. Les étoiles sur les barres indiquent que la différence testée par génotype entre les deux conditions hydriques (témoïn et DHP) est significative d'après le test de Student (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, et *** $p < 0.001$, s'il n'y a pas d'étoile la différence n'est pas significative).

significativement les valeurs du fond génétique L : chez NIL-L4 (-13% au stade vert), chez Levovil et NIL-L9 (-9% au stade rouge).

Le QTL4 n'a eu aucun effet sur le potassium aux deux stades, contrairement au QTL9 qui a globalement augmenté le taux de potassium exprimé en g.100gMF^{-1} (+30% aux deux stades) et les a diminué en g.100gMS^{-1} de -10% (stade rouge) à -16% (stade vert). Le QTL9 a modifié donc les effets de dilution et les mécanismes d'accumulation du potassium.

Vitamine C :

La vitamine C peut être impliquée dans la texture des fruits à deux niveaux, tout d'abord en jouant un rôle antioxydant au niveau des cellules et en agissant sur les parois au niveau de la synthèse des polysaccharides pariétaux (Gilbert *et al.*, 2009). En effet, l'un des composés de la voie de biosynthèse de la vitamine C pourrait être détourné au profit de la synthèse de polysaccharides pariétaux. La vitamine C a été dosée dans le péricarpe sous deux formes : réduite et totale, afin d'évaluer l'état rédox par le rapport vitamine C réduite sur totale, qui nous informe sur le stress oxydatif (**figure 69**).

Le DHP a augmenté significativement la concentration en vitamine C totale exprimée en mg.100gMF^{-1} dès le stade vert chez Levovil (+20%) et NIL-L9 (+40%). Ces effets significatifs ont été retrouvés au stade rouge, significativement chez Levovil (+26%), NIL-L9 (+29%) et NIL-B9 (+17%). Ces augmentations étaient probablement liées majoritairement à des effets de dilution, car elles disparaissaient lorsque les concentrations étaient exprimées en mg.100gMS^{-1} . Chez les génotypes Cervil et VilB, les fruits DHP contenaient significativement moins de vitamine C en mg.100gMS^{-1} que les fruits témoins. Chez ces génotypes, il y a eu un effet négatif du DHP sur la synthèse de la vitamine C au stade rouge, bien qu'exprimé en mg.100gMF^{-1} cet effet négatif soit annulé par un effet de dilution. Chez les autres génotypes, une légère stimulation (ns) de la synthèse de vitamine C totale a été observée. En ce qui concerne l'état rédox du fruit, le rapport vitamine C réduite sur vitamine C totale n'a pas été modifié par le DHP.

Le QTL4 a augmenté les concentrations en vitamine C totale (mg.100gMS^{-1}) au stade rouge (environ +50% fruits témoin et DHP). Ces augmentations étaient en partie liées à des effets de dilution, mais aussi à une stimulation de la synthèse car elles sont restées significatives en condition témoin (+35%) et en condition DHP (+29%) au stade rouge en mg.100gMS^{-1} . Au stade vert, le QTL4 n'a pas eu d'effet significatif sur le taux de vitamine C totale, cependant il a diminué significativement le taux de

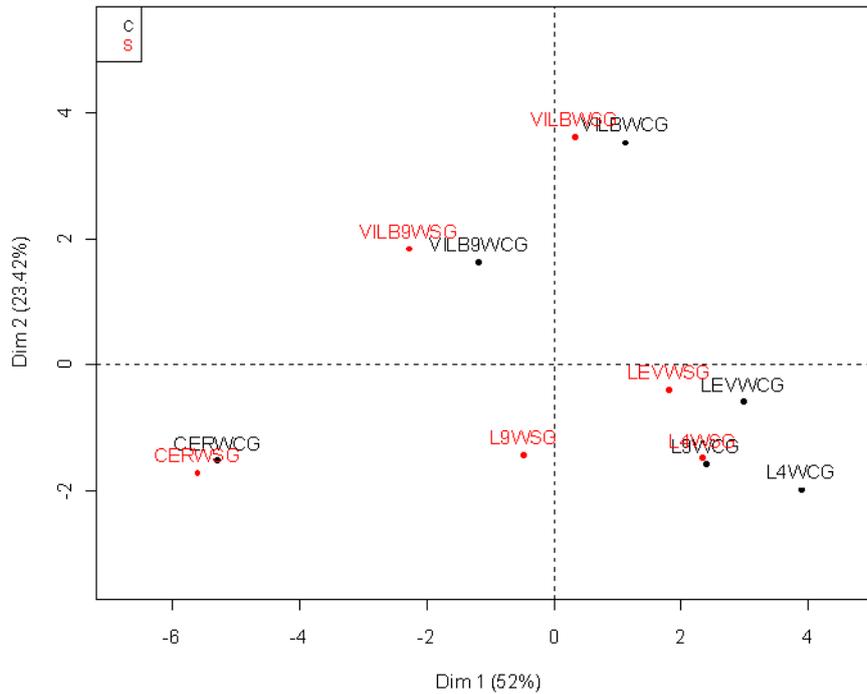


Figure 70 : ACP sur les variables biochimiques du fruit des 6 géotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade expansion cellulaire. Les géotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

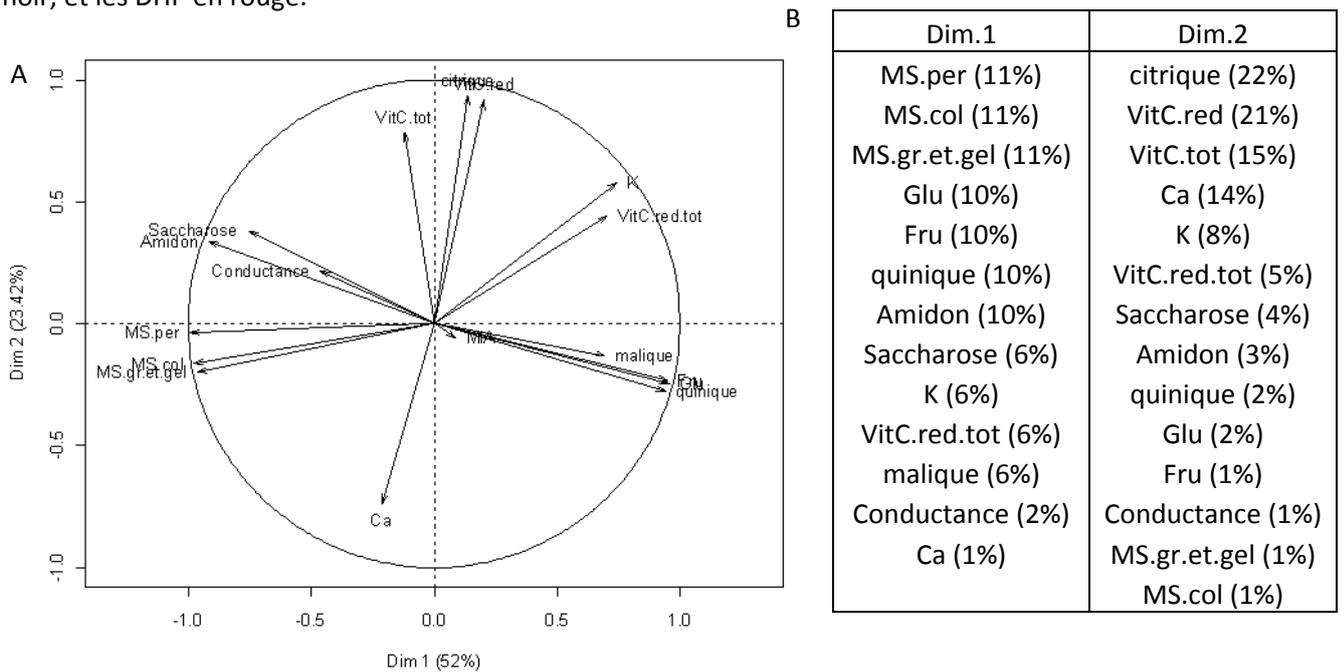


Figure 71 : **A** : Projection des variables biochimiques du fruit au stade expansion cellulaire sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B** : Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. MIA : matière insoluble à l'alcool, MS.per : taux de matière sèche du péricarpe, MS.col : taux de matière sèche de la columelle, MS.gr.gel : taux de matière sèche du gel et des graines, Glu : concentration en glucose du péricarpe ($\text{g} \cdot 100\text{gMS}^{-1}$), de même pour Fru : fructose, Saccharose, Amidon, Citrique : acide citrique, Malique (acide malique), Quinique : acide quinique, Ca : calcium (en $\text{mg} \cdot 100\text{gMS}^{-1}$), K : potassium. VitC.red : vitamine C réduite, VitC.tot : vitamine C totale, VitC.red.tot : rapport entre la concentration en vitamine C réduite et la vitamine C totale ; Conductance : conductance cuticulaire.

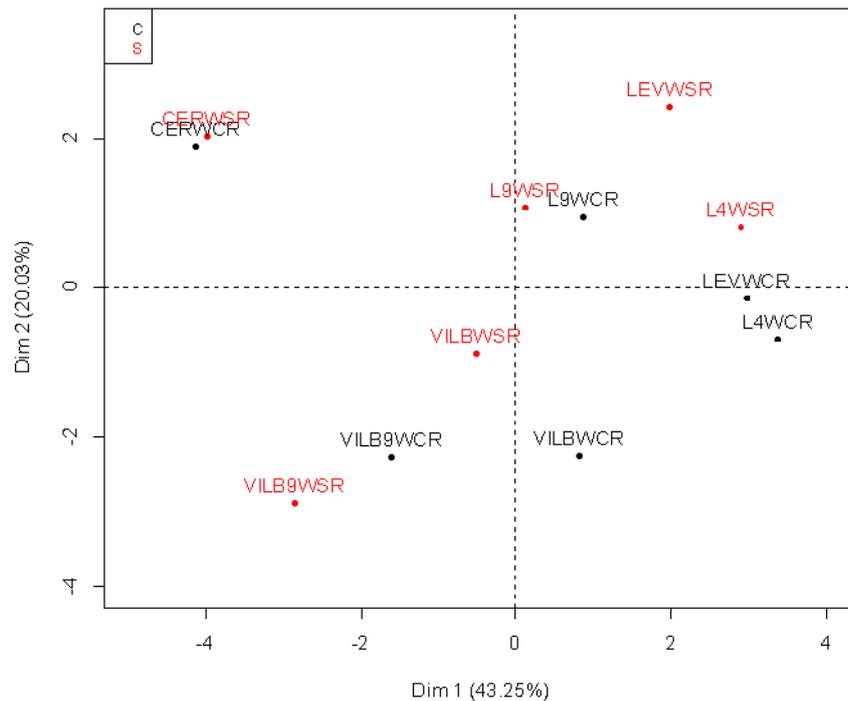
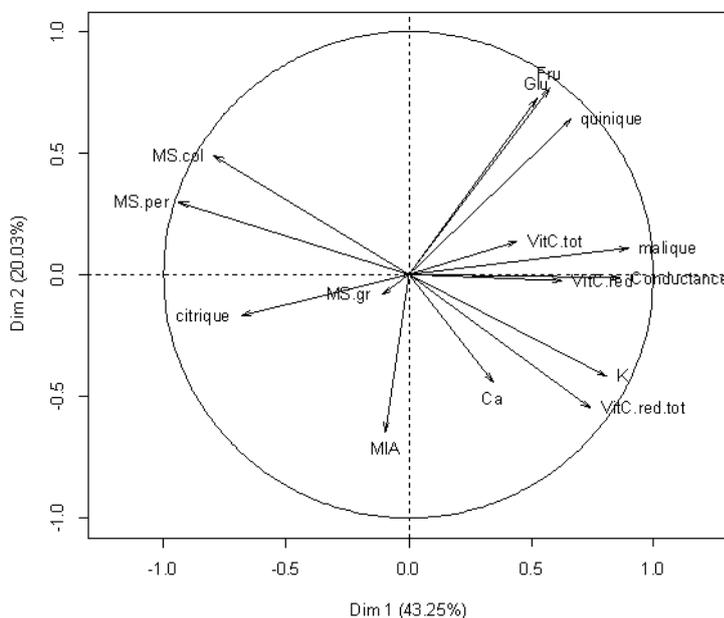


Figure 72 : ACP sur les variables biochimiques du fruit des 6 géotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade rouge. Les géotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

A



B

Dim.1	Dim.2
MS.per (14%)	Fru (20%)
malique (12%)	Glu (17%)
Conductance (12%)	MIA (14%)
K (10%)	quinique (14%)
MS.col (10%)	VitC.red.tot (10%)
VitC.red.tot (8%)	MS.col (8%)
citrique (7%)	Ca (6%)
quinique (7%)	K (6%)
VitC.red (6%)	MS.per (3%)
Fru (5%)	citrique (1%)
Glu (4%)	VitC.tot (1%)
VitC.tot (3%)	
Ca (2%)	

Figure 73 : **A** : Projection des variables biochimiques du fruit au stade rouge sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B** : Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. MIA : matière insoluble à l'alcool, MS.per : taux de matière sèche du péricarpe, MS.col : taux de matière sèche de la columelle, MS.gr : taux de matière sèche des graines, Glu : concentration en glucose du péricarpe ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), de même pour Fru : fructose, Citrique : acide citrique, Malique (acide malique), Quinique : acide quinique, Ca : calcium (en $\text{mg}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), K : potassium. VitC.red : vitamine C réduite, VitC.tot : vitamine C totale, VitC.red.tot : rapport entre la concentration en vitamine C réduite et la vitamine C totale; Conductance : conductance cuticulaire.

vitamine C réduite chez NIL-L4 témoin. Le QTL9 a eu des effets différents sur les concentrations en vitamine C selon le fond génétique considéré. Il a augmenté significativement la concentration en vitamine C totale uniquement en matière fraîche chez NIL-L9 au stade rouge, alors qu'au stade vert le QTL9 avait tendance à diminuer significativement les valeurs. Dans le fond génétique B, le QTL9 a diminué les concentrations aussi bien en $\text{mg}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$ qu'en $\text{mg}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$, indiquant une diminution de la synthèse de vitamine C ou une forte remobilisation pour la synthèse d'autres composés (par exemple, les composés pariétaux comme indiqué par l'effet du QTL9 sur le MIA dans le fond génétique B). Les QTL n'ont eu aucun effet sur le rapport vitamine C réduite sur totale et donc n'ont pas modifié l'état rédox des fruits.

Analyse en composantes principales sur les variables de composition du fruit

Au stade vert, les génotypes se sont répartis sur l'axe 1 (52%) de l'ACP (**figure 70**) selon un effet génotype, QTL mais aussi un effet DHP plus faible que l'effet génétique. L'axe 1 a été construit essentiellement par les taux de matière sèche du péricarpe (10%), de la columelle (11%), des graines et du gel (11%) et par la concentration en amidon (+10%) qui s'opposaient à des concentrations élevées en sucres solubles du péricarpe (glucose (10%) et fructose (10%)) et en acide quinique (10%) exprimées en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ (**figure 71**). Dès le stade vert Cervil s'est différencié par des taux de matière sèche et d'amidon élevés par rapport aux autres génotypes du fond L essentiellement qui étaient plus riches en sucres et en acides malique et quinique. Les fruits DHP avaient aussi des taux de matière sèche et d'amidon plus importants que les fruits témoins. L'axe 2 de l'ACP a séparé les génotypes selon un effet fond génétique et QTL (23% d'inertie). Opposé au fond génétique L et à Cervil, le fond génétique B s'est différencié par des concentrations en vitamine C réduite et totale élevées, mais aussi par de fortes concentrations en acide citrique et en calcium. A ce stade, les taux de matière sèche des tissus du fruit étaient corrélés positivement entre eux, et négativement aux concentrations en glucose et fructose. La concentration en vitamine C était corrélée positivement avec la concentration en acide citrique et négativement avec la concentration en calcium. Le taux de MIA n'est pas intervenu dans la construction des axes de l'ACP.

Au stade rouge, avec une contribution de 14%, le taux de matière sèche du péricarpe était la variable qui contribuait le plus à l'axe 1 de l'ACP comme au stade expansion cellulaire (**figure 72**). L'axe 1 représentait 43% d'inertie, Cervil et le fond génétique B montraient des fruits plus riches en matière sèche et s'opposaient aux génotypes du fond génétique L avec de plus faibles taux de matière sèche et une forte conductance cuticulaire. Ainsi les génotypes ont été séparés selon un fort effet génétique, mais aussi par un effet DHP, qui a été retrouvé également sur l'axe 2 (20% d'inertie). L'axe 2 a été construit essentiellement par les concentrations en sucres solubles (fructose (20%) et glucose (17%)),

Stade	Génotype	Matière sèche Du fruit	MIA	Sucres solubles g.100gMF ⁻¹	Sucres solubles g.100gMS ⁻¹
Expansion cellulaire	Cervil	+1%	+3%	+2%	+2%
	Levovil	+10%	+11%	+9%	-11%
	VilB	+9%	-2%	+10%	-5%
	NIL-L4	+5%	-8%	+3%	-6%
	NIL-L9	+36%	-16%	+30%	-11%
	NIL-B9	+8%	-6%	-3%	-10%
Rouge	Cervil	+2%	+2%	7%	+3%
	Levovil	+14%	+2%	27%	+14%
	VilB	+19%	-7%	24%	+3%
	NIL-L4	+9%	+13%	23%	+15%
	NIL-L9	+10%	-4%	13%	-3%
	NIL-B9	+5%	-3%	9%	-4%

Tableau 8 : Résumé des effets du DHP sur la composition des fruits en matière sèche, MIA et sucres solubles en fonction du stade de développement. Les nombres en gras indiquent un effet significatif ($p < 0.05$).

Stade	Génotype	Matière sèche Du fruit	MIA	Sucres solubles g.100gMF ⁻¹	Sucres solubles g.100gMS ⁻¹	
Expansion cellulaire	Témoin	QTL4	-7%	-19%	+7%	+13%
		QTL9-L	+8%	-16%	-1%	-7%
		QTL9-B	+37%	+17%	-10%	-31%
	DHP	QTL4	-11%	-33%	+2%	+19%
		QTL9-L	+34%	-36%	+18%	-7%
		QTL9-B	+35%	+13%	-21%	-35%
Rouge	Témoin	QTL4	+8%	+8%	-17%	-10%
		QTL9-L	+33%	-5%	+14%	-1%
		QTL9-B	+35%	+7%	+9%	-14%
	DHP	QTL4	+4%	+21%	-21%	-8%
		QTL9-L	+28%	-11%	-4%	-18%
		QTL9-B	+20%	+11%	-9%	-20%

Tableau 9 : Résumé des effets des QTL sur la composition des fruits en matière sèche, MIA et sucres solubles en fonction du stade de développement. Les nombres en gras indiquent un effet significatif ($p < 0.05$).

qui s'opposaient au taux de MIA (14%) (**figure 73**). On a observé également un fort effet du fond génétique sur cet axe, le fond génétique L et Cervil étant les plus riches en sucres solubles, et le fond B, le plus riche en MIA. Des corrélations positives entre les concentrations en glucose et en fructose, mais aussi avec l'acide quinique ont été observées.

Les fruits fermes (fond génétique B) avaient des taux de vitamine C (réduite et totale) et d'acide citrique élevés ainsi qu'un faible taux de calcium. Au stade rouge, ces mêmes génotypes ont été caractérisés par un fort taux de MIA et de faibles concentrations en sucres solubles.

Bilan sur la composition biochimique des fruits

Au niveau des variables biochimiques évaluées, notamment pour les concentrations en sucres solubles, et en vitamine C, de fortes différences ont été observées entre Cervil (tomate cerise) et les autres génotypes à gros fruits. Ces différences étaient essentiellement liées à des effets de dilution, Cervil possédant un taux de matière sèche deux fois plus élevé que les autres génotypes au stade rouge.

A l'échelle du fruit et du péricarpe, le DHP a augmenté significativement les taux de matière sèche dès le stade vert, ce qui a créé des effets de dilution et donc a augmenté les concentrations des différents composés analysés : sucres solubles, amidon, acides organiques (citrique et malique), potassium, ou encore vitamine C. Ces différentes augmentations laissent présager d'une augmentation du potentiel osmotique.

Le DHP n'a pas seulement eu des effets de dilution mais aussi des effets liés à la synthèse et à l'accumulation des composés dans la matière sèche (**tableaux 8 et 9**), notamment pour les sucres solubles dont la quantité a augmenté en condition DHP. Le DHP n'a pas eu d'effet sur le taux de MIA, excepté sur NIL-L9, dont le taux de MIA a diminué significativement avec le DHP.

Le QTL9 a augmenté significativement le taux de matière sèche du péricarpe du fruit dès l'expansion cellulaire, contrairement au QTL4 qui l'a diminué à ce même stade. Les QTL4 et 9 n'ont pas eu d'effet majeur sur les composés du fruit évalués, mais plutôt des interactions avec le DHP, qui ont augmenté les effets des QTL en affectant la synthèse et la dilution des composés biochimiques évalués.

Les fruits les plus fermes seraient caractérisés par de faibles concentrations en sucres solubles, de fort taux de MIA, et un rapport vitamine C réduite sur vitamine C totale élevé.

Les effets observés au stade vert ne sont pas toujours présents au stade rouge, les fruits évoluant fortement au cours de la maturation.

Stade	Génotype	Matière sèche Du fruit	MIA	Sucres solubles g.100gMF ⁻¹	Sucres solubles g.100gMS ⁻¹
Rouge	Cervil	+2%	+2%	7%	+3%
	Levovil	+14%	+2%	27%	+14%
	VilB	+19%	-7%	24%	+3%
	NIL-L4	+9%	+13%	23%	+15%
	NIL-L9	+10%	-4%	13%	-3%
	NIL-B9	+5%	-3%	9%	-4%
Post récolte R7	Cervil	+3%	-18%	-1%	0%
	Levovil	+23%	+8%	+26%	+10%
	VilB	+17%	-6%	+17%	+7%
	NIL-L4	+14%	-20%	+14%	+8%
	NIL-L9	+19%	-7%	+15%	-5%
	NIL-B9	+5%	-4%	+12%	0%

Tableau 10 : Résumé des effets du DHP sur les génotypes, en fonction du stade de développement pour les variables biochimiques. Les nombres en gras indiquent un effet significatif (p<0.05).

V. Evolution post-récolte des fruits après 7 jours de conservation à 20°C.

Généralement, les fruits de tomates sont récoltés avant maturité (stade 7-8 du code couleur, couleur orange) puis stockés dans une chambre de conservation à une température moyenne de 12°C, dans les meilleures conditions (Navez, 2011), mais souvent comprises entre 4 et 6°C. Cette conservation à basses températures dégrade la qualité gustative des tomates notamment en perturbant la synthèse des arômes. Notre objectif était donc de préserver la qualité organoleptique des fruits récoltés à maturité (stade 9) et d'évaluer les effets QTL et DHP des variables physico-chimiques après sept jours de conservation à 20°C (stade R7).

Evolution entre les stades rouge et R7

Après sept jours de conservation, les pertes de poids du fruit n'étaient pas significatives, excepté dans le fond génétique L en condition DHP (-5 à -10%). Les mesures de conductance n'ont pas montré d'évolution significative au cours de la conservation, néanmoins la conductance a légèrement augmenté chez Cervil et le fond génétique B par rapport au stade rouge, contrairement au fond génétique L. En condition témoin uniquement, la conservation semblait avoir modifié l'organisation interne des fruits chez les génotypes les plus fermes (fond génétique B et NIL-L9) en augmentant significativement d'environ +5% la proportion de périsperme (poids), cette augmentation étant compensée par une baisse proportionnelle de la columelle et du gel du fruit. L'augmentation de proportion de périsperme pourrait suggérer l'existence d'un transfert d'eau centrifuge entre compartiment du fruit généré par la transpiration, avec un stockage d'eau dans les cellules du périsperme au cours de ce transfert.

Le taux de matière sèche du fruit entier n'a pas été affecté significativement par la conservation, excepté chez VilB (+6%) en conditions témoin et DHP (lié à des pertes en eau par transpiration) (**tableau 10**). Cependant au niveau des compartiments du fruit, le taux de matière sèche du périsperme des fruits au stade R7 était significativement différent de celui des fruits à maturité pour les fruits témoins chez Cervil (+9%), VilB (+10%) et Levovil (-10% en condition DHP). Le taux de matière sèche de la columelle était également affecté par la conservation, il a diminué dans le fond L (significativement chez Levovil, NIL-L4 DHP) et chez Cervil, alors qu'il a augmenté (ns) dans le fond génétique B probablement en lien avec le transfert d'eau vers le périsperme évoqué précédemment. Les concentrations en sucres solubles et en acides organiques exprimées en $\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ ont augmenté (ns) au cours de la conservation, excepté l'acide quinique qui a diminué (ns). Par contre, chez Cervil, des variations significatives du taux de MIA (matière sèche structurale) ont été observées en condition témoin (+12%), et en condition DHP (-10%). Pour les autres génotypes le taux de MIA a diminué

significativement de -6% (NIL-L9 témoin) à -36% (NIL-L4 DHP) quelle que soit la condition hydrique considérée. Ces diminutions du taux de matière sèche structurale suggèrent une dégradation des parois au cours de la conservation.

La conservation a affecté les effets de dilution des sucres et des acides (perte d'eau). Les concentrations en sucres ($\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$) ont augmenté significativement de 4 à 27% pour l'ensemble des génotypes en condition témoin uniquement (chez VilB (ns)) contrairement à Levovil qui présentait une baisse significative (-7%). Les concentrations en acide malique ont eu tendance à diminuer alors que les concentrations en acides citrique et quinique augmentaient.

Entre les stades rouge et R7, les concentrations en vitamine C réduite et totale ($\text{mg}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ et $\text{mg}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$) ont augmenté significativement pour les fruits témoins et DHP notamment chez Cervil, Levovil et NIL-L4. Bien que les concentrations aient augmenté, l'état rédox du fruit (rapport entre la forme réduite et la forme totale) était constant entre R et R7. Ces augmentations significatives pourraient être liées à un besoin plus important d'antioxydant pour limiter la dégradation des tissus du fruit ce qui pourrait contribuer à un certain maintien de la texture du fruit (Massot, 2010).

Effets DHP et QTL au stade R7

Les effets du DHP et des QTL, sur le poids et la conductance cuticulaire, déjà remarqués au stade rouge étaient toujours notables au stade post-récolte, et dans les mêmes proportions.

Les augmentations induites par le DHP sur le taux de matière sèche du péricarpe étaient toujours significatives chez Levovil (+15%), NIL-L9 (+21%), VilB (+10%) et NIL-B9 (+12%) après conservation (**tableau 10**). Seuls les effets du QTL9 dans les deux fonds génétiques étaient toujours présents, avec des effets plus forts sur les taux de matière sèche du péricarpe : NIL-L9 +29% (témoin) et +35% (DHP), NIL-B9 +24% (témoin) et +27% (DHP), mais aussi sur le taux de matière sèche de la columelle : NIL-L9 +28% (témoin), +62% (DHP), NIL-B9 +37% (témoin), +31% (DHP). Les pourcentages de matière sèche des graines ont été aussi augmentés significativement (+11%) chez NIL-B9 dans les deux conditions. L'eau du fruit a été mobilisée dans tous les tissus, notamment au niveau de la columelle chez les NILs.

Au stade R7, contrairement au stade rouge, le taux de MIA a diminué significativement avec le DHP (-18%) chez Cervil, alors que chez Levovil le taux de MIA a augmenté de 8% chez les fruits DHP par rapport aux fruits témoins. Le DHP a donc eu des effets sur l'évolution de la matière sèche structurale

Stade		Génotype	Matière sèche Du fruit	MIA	Sucres solubles g.100gMF ⁻¹	Sucres solubles g.100gMS ⁻¹
Rouge	Témoin	QTL4	+8%	+8%	-17%	-10%
		QTL9-L	+33%	-5%	+14%	-1%
		QTL9-B	+35%	+7%	+9%	-14%
	DHP	QTL4	+4%	+21%	-21%	-8%
		QTL9-L	+28%	-11%	-4%	-18%
		QTL9-B	+20%	+11%	-9%	-20%
Post récolte R7	Témoin	QTL4	-4%	+5%	+14%	+9%
		QTL9-L	+13%	-6%	+37%	+7%
		QTL9-B	+3%	+23%	+12%	-10%
	DHP	QTL4	-4%	-23%	+3%	+7%
		QTL9-L	+1%	-19%	+25%	-8%
		QTL9-B	+15%	+25%	+6%	-16%

Tableau 11 : Résumé des effets des QTL sur les génotypes, en fonction du stade de développement pour les variables biochimiques. Les nombres en gras indiquent un effet significatif ($p < 0.05$).

de certains fruits en conservation. De même, les effets QTL qui n'étaient pas significatifs au stade rouge, sont devenus significatifs au stade R7 uniquement pour les fruits DHP (**tableau 11**), le QTL4 et le QTL9 ont induit une diminution respective de -23% et -19% sur le MIA dans le fond génétique L, alors que dans le fond génétique B, le QTL9 a augmenté les taux de MIA de +23% pour les fruits témoins et +25% pour les fruits DHP. Après sept jours de conservation, les effets du DHP ont toujours affecté la dilution des sucres dans le péricarpe, en augmentant significativement les concentrations en sucres en g.100gMF^{-1} de 11 à 28%, alors que les concentrations en g.100gMS^{-1} n'étaient pas significativement différentes excepté chez NIL-L4 en condition témoin.

Certains effets QTL ont été retrouvés et sont devenus plus forts après sept jours de conservation, notamment chez NIL-L9 dont les concentrations en sucres (g.100gMF^{-1}) étaient toujours supérieures à celles de Levovil en condition témoin (+37%), et des effets significatifs sont apparus en condition DHP (+25%). Les effets du QTL4 n'étaient plus significatifs au stade R7. Chez NIL-B9, les concentrations en sucres en g.100gMS^{-1} étaient toujours significativement inférieures à celles de VilB uniquement en condition DHP (-16%).

Les effets QTL sur les concentrations en calcium exprimées en mg.100gMS^{-1} étaient stables au stade R7 uniquement chez NIL-L9 (-29% en condition témoin). Chez NIL-B9, les effets observés au stade rouge sur les fruits témoins n'étaient plus significatifs, alors que sur les fruits DHP l'augmentation de calcium devient significative (+51%). Lorsque les concentrations sont exprimées en mg.100gMF^{-1} , l'effet du QTL4 était toujours significatif au stade R7 sur les fruits DHP, comme le QTL9 dans le fond génétique B. Le QTL4 agit uniquement sur la dilution du calcium en condition DHP, alors que le QTL9 modifie l'accumulation dans les deux fonds génétiques et la dilution uniquement dans le fond génétique B. Le QTL9 a maintenu également ses effets sur la dilution du potassium en augmentant les concentrations (g.100gMF^{-1}) dans les deux fonds génétiques dans les mêmes proportions.

Les effets des QTL4 et 9 dans le fond génétique L agissaient essentiellement sur la dilution de la vitamine C réduite et totale (mg.100gMF^{-1}) au stade rouge, ils étaient toujours significatifs au stade R7. Dans le fond génétique B, le QTL9 a augmenté significativement d'environ +15% les concentrations en vitamine C réduite et totale (mg.100gMF^{-1}) en condition témoin uniquement.

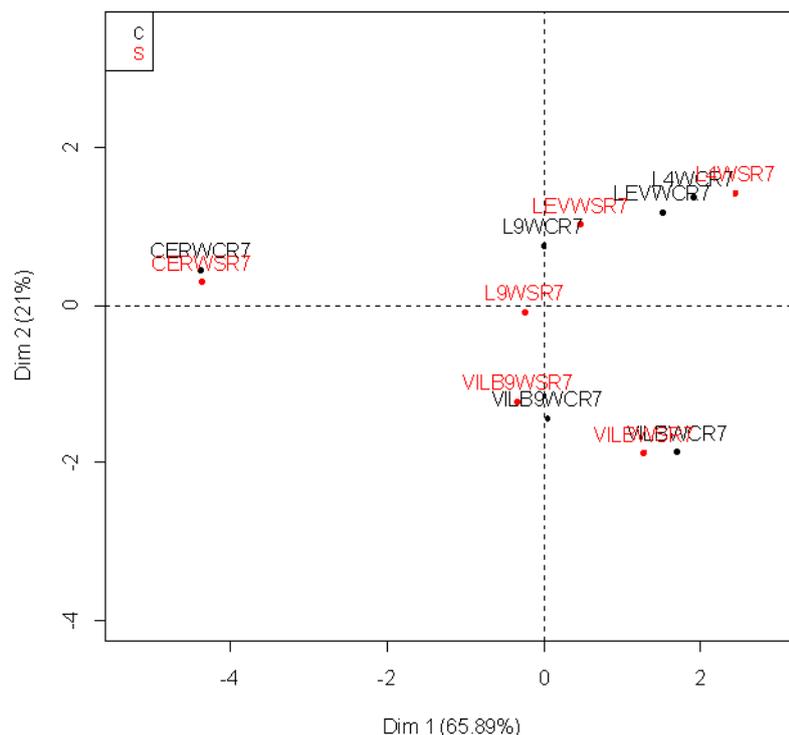


Figure 74 : ACP sur les variables anatomiques du fruit et le poids des 6 géotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade R7. Les géotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

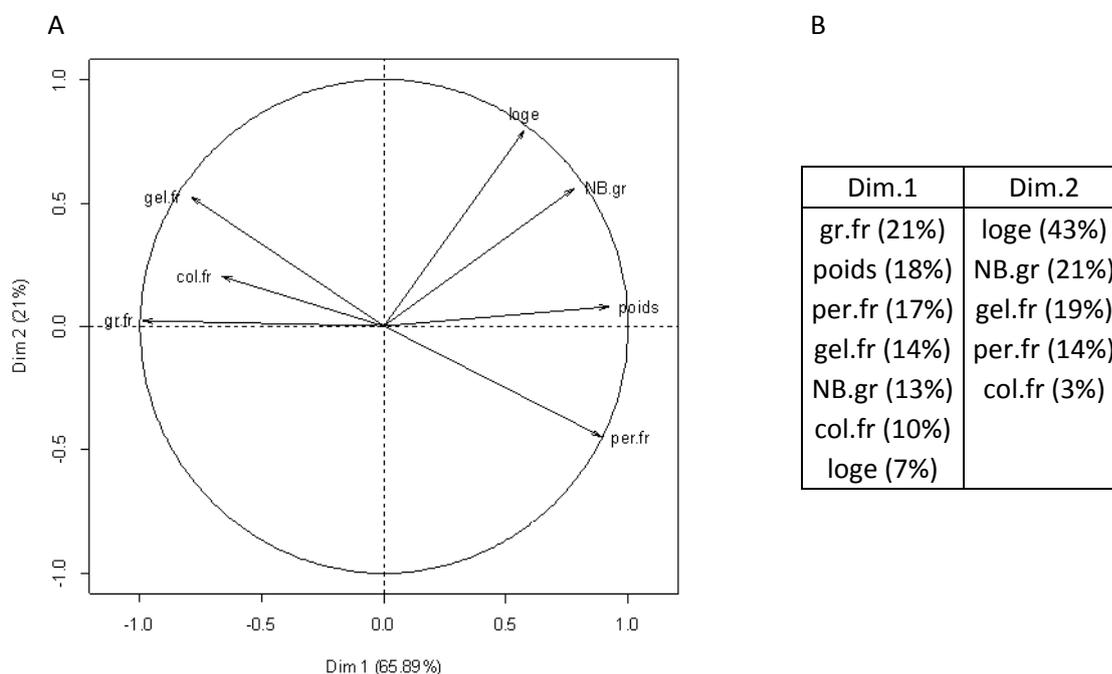


Figure 75 : A : Projection des variables anatomiques du fruit et le poids au stade R7 sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B :** Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. Loge : nombre de loge; per.fr : rapport du poids frais du péricarpe et du poids frais du fruit entier ; col.fr : rapport du poids frais de la columelle et du poids frais du fruit entier ; gr.fr : rapport du poids frais des graines et du poids frais du fruit entier; gel.fr : rapport du poids frais du gel et du poids frais du fruit entier; poids : poids frais du fruit ; NB.gr : nombre de graine du fruit.

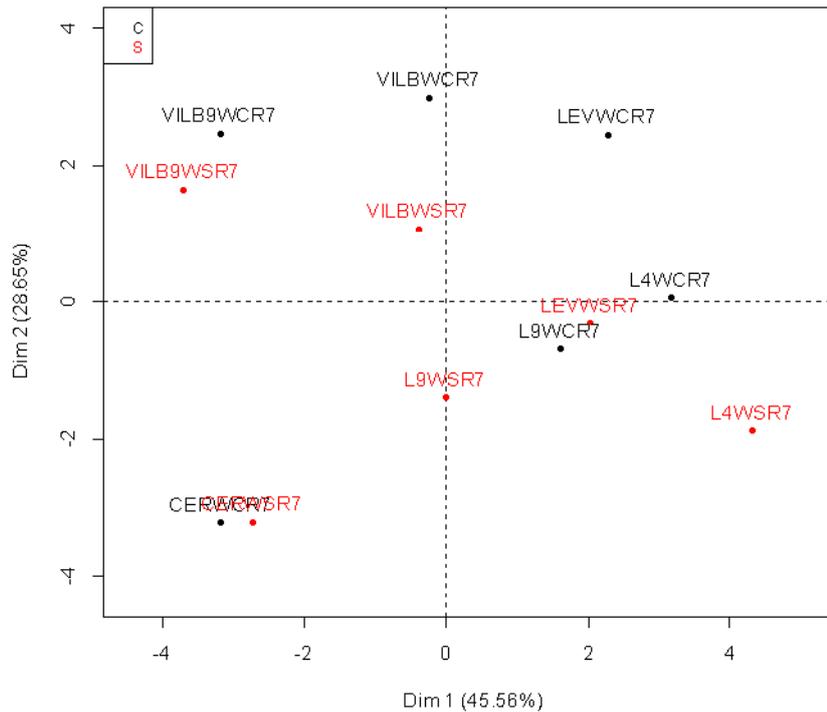


Figure 76 : ACP sur les variables biochimiques du fruit et le poids des 6 génotypes Cervil (CER), Levovil (LEV), NIL-L4 (L4), NIL-L9 (L9), ViLB et NIL-B9 (VILB9) au stade R7. Les génotypes témoins sont en noir, et les DHP en rouge.

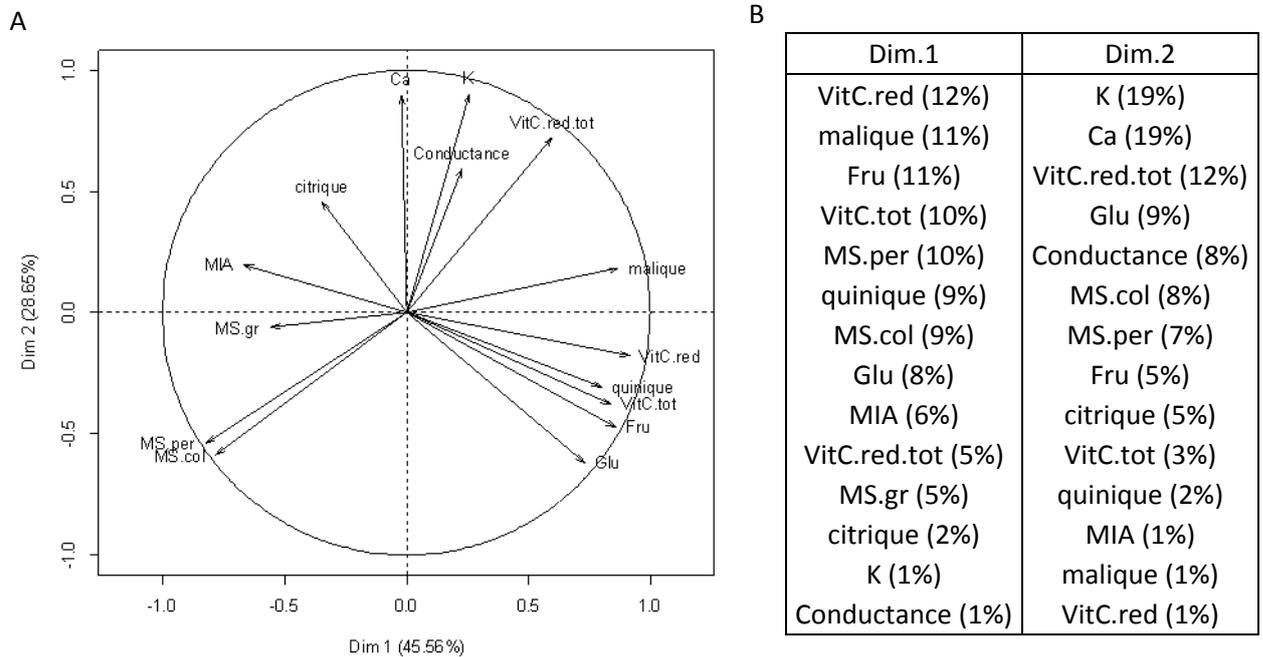


Figure 77 : **A** : Projection des variables biochimiques du fruit au stade R7 sur les axes 1 et 2 de l'ACP. **B** : Contributions des variables (%) à chaque axe de l'ACP. MIA : matière insoluble à l'alcool, MS.per : taux de matière sèche du péricarpe, MS.col : taux de matière sèche de la columelle, MS.gr : taux de matière sèche des graines, Glu : concentration en glucose du péricarpe ($g \cdot 100gMS^{-1}$), de même pour Fru : fructose, Citrique : acide citrique, Malique (acide malique), Quinique : acide quinique, Ca : calcium (en $mg \cdot 100gMS^{-1}$), K : potassium. VitC.red : vitamine C réduite, VitC.tot : vitamine C totale, VitC.red.tot : rapport entre la concentration en vitamine C réduite et la vitamine C totale ; Conductance : conductance cuticulaire

Analyses en composantes principales

L'analyse en composantes principales des variables anatomiques et biochimiques au stade R7 n'a pas montré de différence majeure avec celles réalisées au stade rouge. Au niveau anatomique (**figures 74 et 75**), le fond génétique B, le plus ferme, était toujours caractérisé par une proportion de péricarpe la plus importante par comparaison avec les autres génotypes. L'effet du QTL9, réduisant le poids des fruits par rapport aux parents était toujours visible. Au niveau des variables biochimiques (**figures 76 et 77**), Cervil se distinguait toujours des autres génotypes par sa teneur en matière sèche du péricarpe élevée. Le fond génétique L avait toujours les concentrations en sucres et en vitamine C ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$) les plus importantes. Par contre au stade R7, les concentrations en vitamine C (réduite et totale) avaient une contribution plus importante à l'axe 1 de l'ACP par rapport au stade rouge, au détriment du taux de matière sèche du péricarpe ou encore de la conductance.

Bilan sur la conservation post-récolte

Au cours de la conservation à l'obscurité à 20°C pendant sept jours après récolte, la maturation des fruits de tomate continue. Le fruit transpire, induisant des faibles pertes de poids (ns), et augmentant ainsi significativement le taux de matière sèche du péricarpe. La conservation a eu un effet sur la remobilisation de la matière sèche structurale (évaluée par le taux de MIA) au profit des solubles du fruit. La qualité des fruits est alors améliorée en termes de concentration en sucres solubles (glucose et fructose), en acides organiques (acides citrique et quinique) et en vitamine C du péricarpe ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$ et en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$).

Les fruits DHP se sont bien conservés par rapport aux fruits témoins, avec des taux de matière sèche identiques ou supérieurs aux témoins. Comme au stade rouge, ils ont présenté une amélioration de la qualité en termes de concentration en sucres solubles et en vitamine C (en $\text{g}\cdot 100\text{gMF}^{-1}$).

Les effets QTL sur les variables anatomiques et biochimiques ont été conservés (QTL9) ou ont disparu (QTL4) en conservation. Néanmoins, les forts effets des QTL 4 et 9 sur le poids du fruit étaient toujours visibles.

VI. Discussion

Facteurs anatomiques, histologiques, cellulaires et biochimiques : quels sont les acteurs impliqués dans la fermeté du fruit ?

De nombreux travaux suggèrent l'importance de différents facteurs impliqués dans la texture du fruit à différents échelles anatomiques, histologiques, cellulaires et biochimiques (Harker *et al.*, 1997a; Barrett *et al.*, 1998; Chaib *et al.*, 2007; Saladie *et al.*, 2007; Vicente *et al.*, 2007; Aurand *et al.*, 2012). Néanmoins à ce jour, la hiérarchisation de ces facteurs n'est pas claire. La taille du fruit a été énoncée comme un facteur de la fermeté : les petits fruits seraient plus fermes que les gros fruits (pomme (Harker *et al.*, 1997a), framboise (Robbins and Moore, 1990), kiwi (Hopkirk *et al.*, 1990)). Nos résultats ont montré que la taille, fortement corrélée au poids du fruit, ne jouait pas sur la fermeté. Les fruits des génotypes Levovil (peu fermes) et VilB (très fermes) ont des tailles et poids équivalents, mais présentent des fermetés très différentes. En outre, la taille du fruit est un caractère intégré des nombres et volumes de cellules (Bertin *et al.*, 2002), ce qui suggère l'importance des propriétés histologiques et cellulaires (Johnson, 1992).

La taille, le nombre, la densité, l'hétérogénéité et la cohésion cellulaire ont été identifiés comme des acteurs prépondérants de la texture (Chaib *et al.*, 2007; Nardoza *et al.*, 2011; Lahaye *et al.*, 2013). Chaib *et al.*, (2007) ont montré que les fruits les plus fermes présentent une grande hétérogénéité cellulaire au niveau du péricarpe. Nos résultats ont confirmé ces travaux. En effet, les coupes macroscopiques des fruits du fond génétique B (les plus fermes) présentaient une hétérogénéité dans la distribution cellulaire sur toute la largeur du péricarpe. Les cellules proches de la cuticule étaient très petites et denses, celles proches des faisceaux étaient de différentes tailles, puis celles proches de l'épiderme interne étaient très denses et allongées dans le sens radial notamment chez VilB. Cet agencement cellulaire particulier pourrait impliquer une densité cellulaire plus importante et donc une plus grande quantité de composés pariétaux, qui favoriseraient la fermeté du fruit. Pourtant, dans une étude récente, la densité cellulaire n'est pas apparue comme un déterminant majeur des propriétés mécaniques du péricarpe (Lahaye *et al.*, 2013). Si la fermeté du fruit était fortement liée à la densité cellulaire et à la quantité de composés pariétaux, on s'attendrait à ce que le taux de matières insolubles à l'alcool (représentant le carbone structural, associé aux parois) augmente dans les fruits fermes. Cette hypothèse a été confirmée dans notre étude, le fond génétique B (le plus ferme) présentant des taux de MIA significativement supérieurs à ceux des autres génotypes à maturité, ce qui est en accord avec les observations faites en macrovision. Cependant, nos précédents travaux sur la fermeté (Aurand *et al.*, 2012), n'ont pas mis en évidence de corrélation entre le taux de MIA et la fermeté. De plus certains auteurs (Naveen and Cheema, 2011) ont suggéré que

l'augmentation des taux de MIA serait liée préférentiellement à l'augmentation de l'épaisseur de péricarpe. Bien que les génotypes les plus fermes aient effectivement des épaisseurs de péricarpe plus importantes que les autres génotypes, nous n'avons pas pu confirmer cette hypothèse. Enfin, la taille des cellules serait impliquée dans la texture ; en effet d'après nos résultats les génotypes les plus fermes (fond génétique B) présentent des petites cellules dans la région du péricarpe entre les faisceaux et l'épiderme, ainsi qu'un faible indice d'élongation dans cette même région.

L'anatomie du fruit (proportions des différents tissus, nombre de loges) contribuent également à la fermeté du fruit (Barrett *et al.*, 1998; Aurand *et al.*, 2012). Nos résultats suggèrent que les fruits fermes (fond génétique B) présentent une proportion de péricarpe élevée, ce qui favoriserait une structure globale du fruit plus rigide. L'augmentation du nombre de loges, et de ce fait le nombre de cloisons radiales pourrait aussi accroître la résistance du fruit à la déformation. Pourtant d'après notre étude, il s'agirait plutôt du contraire : un faible nombre de loges est associé à des fruits fermes, comme déjà observé dans nos précédents travaux sur le même matériel génétique (Aurand *et al.*, 2012).

L'eau dans le fruit participerait également à la fermeté du fruit (Harker *et al.*, 1997a; Seymour *et al.*, 2002), notamment via la pression de turgescence (Shackel *et al.*, 1991; Saladie *et al.*, 2007; Vicente *et al.*, 2007). La perte de turgescence serait responsable de 25 à 30% du ramollissement du fruit au cours de la maturation (Jackman and Stanley, 1995). La cuticule, qui contribue à limiter les pertes en eau, aurait donc un rôle important dans le maintien de la turgescence cellulaire (Saladie *et al.*, 2007). Les mesures obtenues de conductance cuticulaire du fruit (évaluant les pertes d'eau par transpiration) n'ont pas permis de confirmer le lien entre fermeté et transpiration. En effet, les conductances des génotypes du fond génétique B (très fermes) étaient plus élevées que celles de Cervil (moins ferme), mais toutefois plus faibles que celles de Levovil et NIL-L4 qui sont peu fermes.

L'accumulation de solutés (comme les sucres) serait corrélée négativement avec la fermeté du fruit (Aurand *et al.*, 2012). Cette hypothèse est confirmée par nos travaux, les génotypes les moins riches en sucres exprimés en gramme de matière sèche (fond génétique B) sont les plus fermes. Un potentiel osmotique fort serait donc associé à une fermeté plus faible des fruits. Cependant, les concentrations en acides et en potassium, qui ne varient pas toujours dans le même sens que les sucres ont probablement un rôle important sur le potentiel osmotique. Des mesures du potentiel osmotique et du potentiel hydrique des fruits auraient permis une meilleure compréhension de cette corrélation négative.

La cohésion intercellulaire joue également sur la texture du fruit (Harker *et al.*, 1997a). Notre

analyse a révélé que les fruits les plus riches en calcium étaient les moins fermes, ce qui peut être surprenant, si l'on considère que le calcium favorise les liaisons entre les pectines et la matrice polysaccharides des parois cellulaires (Glenn and Poovaiah, 1990; Martin-Diana *et al.*, 2007). Néanmoins le lien entre le calcium mesuré et le calcium lié aux pectines est difficile à établir du fait des nombreuses implications du calcium dans la cellule (paroi, cofacteur d'enzymes, signalisation : il intervient dans la perméabilité des membranes cellulaires ; composant de la calmoduline, régulateur d'activités membranaires et enzymatiques) (Aghdam *et al.*, 2012).

En résumé, un fruit ferme présenterait une proportion de péricarpe importante, des cellules de petites tailles essentiellement dans la région épiderme faisceaux (forte densité), un taux de MIA élevé, et de faibles concentrations en sucres solubles et en acide quinique mais fortes en acide citrique.

Influence des QTL4 et 9 sur le nombre de loges, la taille, la composition et les propriétés histologiques des fruits à la récolte

Le premier phénotypage des fruits des QTL-NILs concernant les chromosomes 4 et 9 (Chaib *et al.*, 2006) a montré une diminution du poids frais (-15%) uniquement pour le QTL9, dans le fond génétique L au stade rouge. Nous avons retrouvé une diminution du poids frais des fruits, qui était visible dès le stade vert, dans les deux fonds génétiques (L et B). Contrairement aux précédentes études (Saliba-Colombani *et al.*, 2001; Chaib *et al.*, 2006), nous avons montré une augmentation significative du nombre de loges induite par le QTL4. Lors de l'identification des QTL de texture sur les chromosomes 4 et 9 de la tomate, des QTL de qualité ont été également identifiés pour le taux de matière sèche (+10% et +17% respectivement sur les chromosomes 4 et 9), et sur le chromosome 9 pour la concentration en acides (+22%) et pour la teneur en solides solubles (+13%) (**figure 17**, (Saliba-Colombani *et al.*, 2001)). Les résultats obtenus ont montré également une augmentation du taux de matière sèche induite par le QTL9 (+30% environ) dès le stade vert, alors que le QTL4 a induit une augmentation de +8%. L'augmentation du taux de matière sèche reflète généralement une augmentation des sucres solubles (Davies and Hobson, 1981). Dans cette étude, nous avons remarqué une interaction fond génétique x QTL9 : les concentrations en sucres ont augmenté significativement en g.100gMF⁻¹ pour le QTL9 dans le fond L contrairement au fond B, où il n'y a pas eu d'effet. Exprimées par gramme de matière sèche, les concentrations en sucres n'ont pas été modifiées par rapport au parent dans le fond génétique L, alors qu'elles ont diminué dans le fond génétique B. Bien que le QTL9 ait induit globalement la même augmentation de MS, la dilution et la synthèse ne sont pas affectées de la même façon dans les deux fonds génétiques. Nos résultats sont différents de ceux de Chaib *et al.*, (2006) qui a noté une augmentation des concentrations en sucres (par gramme de

matière fraîche) et en solides solubles uniquement pour le QTL9 dans le fond génétique B. Comme dans les travaux de Saliba-Colombani *et al.*, (2001), nous avons confirmé une augmentation par le QTL9 de l'acidité par gramme de matière fraîche (notamment de l'acide citrique) dans les deux fonds génétiques, alors que Chaib *et al.*, (2006) n'ont montré qu'un effet dans le fond génétique L.

Les QTL introgressés ont également eu des effets au niveau histologique. La région épiderme faisceaux est préférentiellement affectée par les QTL. Le QTL4 a réduit l'expansion tangentielle des cellules, contrairement au QTL9 qui a dans les deux fonds génétiques réduit l'expansion radiale des cellules. Chaib *et al.*, (2007) ont observé que le QTL9 générerait de plus petites cellules dans les fonds L et B, contrairement au QTL4 qui n'avait pas d'effet. Nous avons également montré que le nombre de cellules était significativement réduit par le QTL9 dans les deux fonds génétiques, ce qui est cohérent avec les diminutions précédemment énoncées.

Globalement, les différences de phénotypes observées sur les QTL-NILs au cours des différentes années confirment l'existence de fortes interactions entre les QTL, les fonds génétiques et l'environnement (Chaib *et al.*, 2006)

Influence du DHP sur la qualité des fruits à la récolte

Dans la littérature, le principal effet du déficit hydrique est une réduction du rendement et une augmentation du taux de matière sèche des fruits.

En effet le poids frais des fruits, ainsi que leur nombre sont très sensibles au déficit hydrique et notamment à son intensité (Nuruddin *et al.*, 2003; Kang *et al.*, 2009; Barbagallo *et al.*, 2013). Nous avons retrouvé des effets identiques induits par le DHP : les réductions de poids ont été observées dès le stade vert, puis ont été cumulées au cours du développement du fruit. Etant donné que le déficit hydrique a été appliqué avant la période de divisions cellulaires, les réductions de poids auraient pu être synonymes d'une diminution du nombre de cellules par fruit puisque le poids des fruits est fortement corrélé au nombre de cellules (Bertin *et al.*, 2002). De plus, une étude sur le stress hydrique chez l'olive (Gucci *et al.*, 2009) a montré que le nombre de cellules et leur taille sont réduits en condition de stress, les réductions étant proportionnelles à l'intensité du stress. Ces auteurs ont précisé également que la taille des cellules était plus sensible au stress hydrique que leur nombre. Dans notre étude, seule la taille des cellules a été affectée comme observé chez la poire en condition de stress hydrique (Marsal *et al.*, 2000). La taille des cellules a été affectée sur l'ensemble du péricarpe mais la région avant faisceau a été plus marquée. L'épaisseur de cette même région a été de ce fait, réduite en condition DHP. Néanmoins, nous n'avons pas trouvé d'effet du DHP sur les petits fruits

comme Cervil, seuls les gros fruits ayant été affectés.

Une autre conséquence importante du déficit hydrique, souvent citée dans la littérature est l'augmentation du taux de matière sèche du fruit. La matière sèche étant composée pour plus de la moitié par les sucres solubles et les acides (Davies and Hobson, 1981), l'augmentation du taux de matière sèche induit une augmentation de la qualité des fruits via une augmentation des concentrations en sucres solubles, acides organiques, antioxydants (notamment la vitamine C) (Mitchell *et al.*, 1991; Plaut *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2009; Patane and Cosentino, 2010; Barbagallo *et al.*, 2013). Nous avons retrouvé l'ensemble de ces observations : le taux de matière sèche du fruit a été affecté dès le stade vert.

Evolution de la qualité du fruit au cours de la conservation :

Les fruits conservés à une température de 20°C, continuent leur maturation normalement (émission d'éthylène, respiration). Les résultats obtenus ont montré qu'une période de stockage de 7 jours ne générerait pas de pertes de poids importantes, comme nous l'avions déjà observé (Aurand *et al.*, 2012), ce qui est un avantage pour le producteur et le distributeur. Généralement la conservation des fruits induit des pertes de poids, néanmoins une durée de conservation supérieure à 7 jours est nécessaire pour le constater. Si les pertes de poids sont minimales, le fruit a donc peu transpiré, mais suffisamment pour affecter la dilution du contenu cellulaire, et donc améliorer la qualité des fruits en termes de taux de matière sèche, de sucres solubles, d'acides citrique et quinique, et de vitamine (totale et réduite) (g.100gMS⁻¹). Stevens *et al.*, (2008) ont également démontré une augmentation des concentrations en vitamine C totale après un stockage des fruits de tomate à 20°C. Les transferts d'eau entre compartiments tissulaires suggérés par nos résultats n'ont jamais été observés à notre connaissance.

Effets du déficit hydrique sur la qualité post récolte

D'après la littérature (Hooijdonk *et al.*, 2007; Perez-Pastor *et al.*, 2007), le poids du fruit cultivé en condition de stress hydrique et conservé (14 jours minimum) à faibles températures (0 ou 1°C), diminue relativement moins que celui de fruits cultivés en condition témoin et conservés dans les mêmes conditions. La teneur en solides solubles est augmentée (Perez-Pastor *et al.*, 2007), ainsi que les concentrations en sucres solubles (Hooijdonk *et al.*, 2007). Nos travaux ont montré que le DHP n'a pas induit de perte de poids supplémentaire en conservation, excepté pour VilB qui a perdu moins de poids en condition DHP contrairement à NIL-L9. Le taux de matière sèche du péricarpe a augmenté pour l'ensemble des génotypes. Les concentrations en sucres solubles en g.100g.MF⁻¹ ainsi qu'en

vitamine C totale (ns) ont augmenté pendant la conservation pour les fruits DHP, liées à des effets de dilution mais aussi de stimulation de leur synthèse. Des différences du taux de MIA ont été observées pour deux génotypes entre les conditions témoin et DHP : pour Cervil, ce taux a diminué alors qu'il a augmenté pour Levovil.

Les conditions de culture améliorent donc la qualité post-récolte des fruits conservés à 20°C pendant 7 jours.

Chapitre 6 :

Variations du protéome de péricarpe de
tomate sous l'effet des facteurs
génotype et DHP à différents stades de
développement des fruits

Chapitre 6 : Variations du protéome de péricarpe de tomate sous l'effet des facteurs génotype et DHP à différents stades de développement des fruits

Le protéome mis en évidence ici est le protéome « total » issu de l'extraction des protéines du péricarpe selon un protocole permettant de maximiser le nombre de protéines obtenu. Nous n'avons pas visé un type de protéines particulières, par exemple des protéines provenant d'un compartiment cellulaire spécifique. L'électrophorèse bidimensionnelle permet de séparer les protéines et de les individualiser sous forme de spots après coloration des gels. L'analyse automatique des images conduit à la quantification de la quantité de protéines présente dans chaque spot. La spectrométrie de masse propose une ou des identifications, ce qui revient à nommer la protéine et à l'associer avec son gène de structure. L'angle de présentation des résultats ici respecte la structure de l'expérimentation. Des effets du génotype, du stade et du déficit hydrique y sont décrits sur la base d'analyses de variance à un, deux ou trois facteurs et le regroupement en cluster de spots covariants *via* la méthode UPGMA. La recherche d'une structure explicative des mécanismes de la texture *via* le développement d'approches statistiques et prenant en compte les autres paramètres du fruit étudiés fera l'objet du chapitre 7 de la thèse.

I. Caractérisation globale des variations du protéome

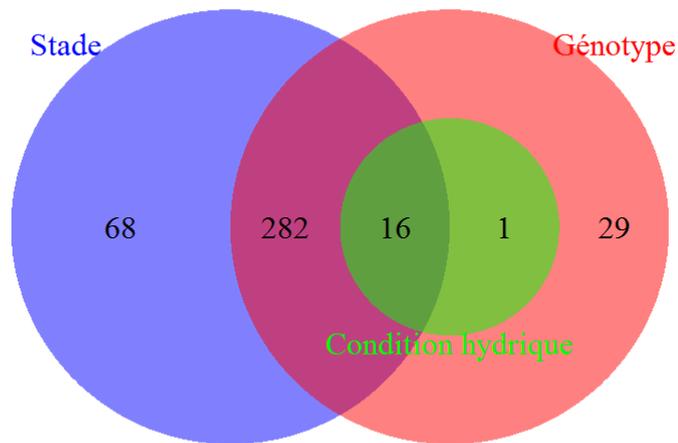
I.1 Nombre de spots variants.

Les effets des différents facteurs sont quantifiés dans un premier temps en termes de « nombre de spots présentant des variations quantitatives significatives de leur intensité » (évaluée à l'aide du pourcentage du volume de chaque spot).

L'analyse conjointe des 144 gels de l'expérimentation (6 génotypes x 2 conditions d'irrigation x 3 stades x 4 répétitions par condition) a permis de détecter 1077 spots au total dont 775 varient significativement au moins pour une des conditions selon l'ANOVA à un facteur ($p < 0,05$) proposée par le logiciel SameSpot.

Pour des raisons de coût et de temps des analyses de spectrométrie de masse, nous avons sélectionné parmi les 775 spots ceux qui montraient une corrélation significative avec la variation des variables de texture et de biochimie du fruit. Ceci a permis de réduire le nombre de spots à identifier à 396. Dans cette partie sont analysées les variations de ces 396 spots, positionnés sur le gel de référence (**annexe 2**).

A



B

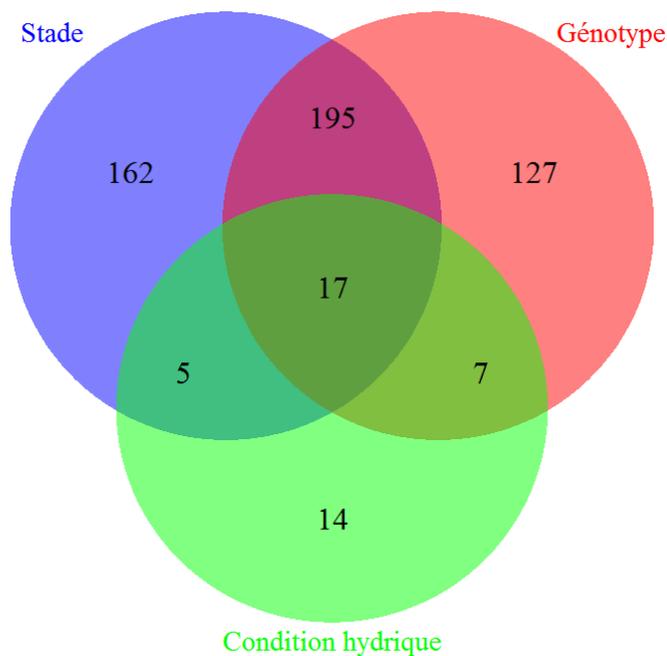


Figure 78 : Nombre de protéines variant significativement (p -value $<0,05$) avec les différents facteurs. Le premier diagramme (A) n'affiche pas les effets d'interaction entre facteur. Les 396 spots varient sous l'effet d'au moins un facteur stade (S), génotype (G) ou traitement hydrique (T). Dans le deuxième diagramme (B) sont comptabilisés les effets d'interaction. Pour les protéines qui dépendent de l'interaction entre deux ou trois facteurs, les effets simples des facteurs indépendants s'ils existent ne sont pas re-comptabilisés. Une protéine peut varier à la fois sous l'effet de de l'interaction GxS et de l'interaction GxT si elle ne dépend pas de l'interaction GxTxS. Inversement lorsqu'un effet simple est reporté, la protéine n'est comptabilisée que s'il n'y a pas d'interaction significative avec un autre facteur.

Les variations de ces 396 spots en fonction du génotype, du stade et du DHP, analysés par une ANOVA à trois facteurs ($p < 1\%$), sont résumées dans les diagrammes de Venn (**figure 78**). Le premier diagramme illustre les effets des facteurs individuels en excluant les effets d'interactions entre facteurs. Un même spot peut varier à la fois en fonction du génotype et en fonction du stade ou du traitement sans qu'il y ait d'effet d'interaction entre les deux facteurs. Les variations des spots sont essentiellement liées au stade, 68 spots ne varient que sous l'effet de ce facteur, et au génotype, 29 spots ne varient que sous l'effet de ce facteur. Il n'y a pas de spot variant uniquement avec le facteur DHP. La majorité des spots étudiés (282) varie significativement à la fois avec le facteur génotype et avec le facteur stade. Seul un spot varie avec le DHP et le facteur génotype à la fois, par contre 16 spots varient significativement pour les 3 facteurs à la fois.

Sur le deuxième diagramme (**figure 78B**) ont été ajoutés les nombres de spots variant sous l'effet d'interaction entre facteurs. Il est à noter qu'ici un même spot peut être comptabilisé deux fois s'il est variant avec le facteur génotype et le facteur stade sans présenter d'interaction entre ces deux facteurs. Dans ce cas les variations restent liées essentiellement aux facteurs stade ($162 + 195 + 17 + 5 = 379$ spots) et génotype ($127 + 195 + 17 + 7 = 346$ spots) et à leur interaction, alors que seulement 43 spots ($17 + 7 + 5 + 14$) varient avec le DHP en interaction ou non avec les deux autres facteurs. Seuls 162 spots varient avec le stade, 127 avec le facteur génotype et 14 spots avec le facteur hydrique sans interaction entre facteurs. La majorité des spots ne varie pas simplement avec un facteur, mais en interaction avec d'autres facteurs, et 17 spots varient en fonction de l'interaction entre les trois facteurs. 195 varient en interaction avec les facteurs génétique et stade.

Il apparaît donc que les principales sources de variations du protéome sont les facteurs génotype, stade, et leur interaction. Le DHP a un impact modéré sur le protéome du fruit, ce qui reflète une forte capacité du fruit et de la plante à s'adapter à une contrainte environnementale comme le DHP et conforte les observations faites dans ce sens au niveau écophysiologique.

I.2 Analyse en composante principale des variations du protéome

L'analyse en composante principale réalisée sur les données d'intensité des 396 spots pour toutes les conditions confirme l'effet majeur du stade de développement du fruit sur le protéome (**figure 79**). Sur le plan principal de l'ACP l'axe 1 représente 35% de la variabilité et sépare les échantillons selon le stade, le stade expansion cellulaire étant opposé aux stades rouge et R7 sur cet axe. Parmi les protéines qui contribuent le plus à la composante 1 de l'ACP (**figure 80**), nous trouvons pour les faibles valeurs de l'axe des protéines impliquées dans la photosynthèse (RA027 et RA029),

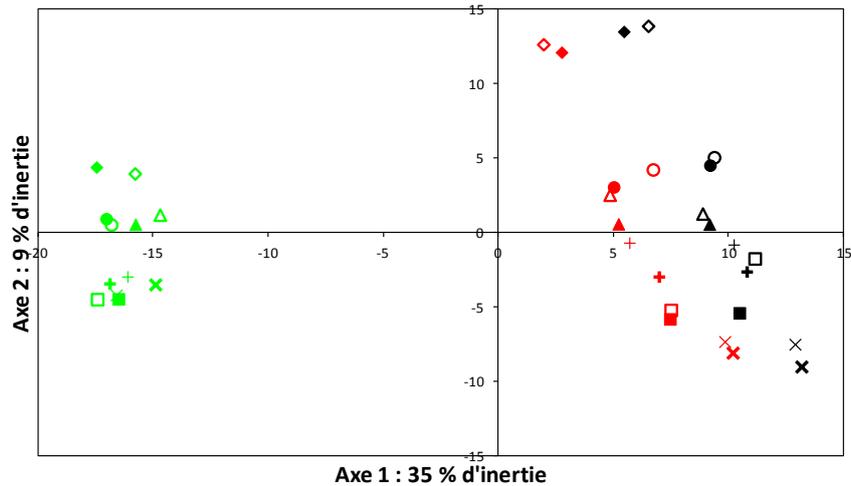


Figure 79 : ACP réalisée à partir des volumes des 396 spots. L'axe 1 (35% d'inertie) sépare les génotypes selon le stade : d'un côté le stade expansion cellulaire ■, et de l'autre les stades rouge ■ et R7 ■. Avec 9% d'inertie, l'axe 2 sépare les génotypes Cervil ◇, Levovil □, NIL-L4 ⊗, NIL-L9 +, VilB △ et NIL-B9 ○. Les symboles pleins représentent les fruits témoins et les symboles vides représentent les fruits DHP.

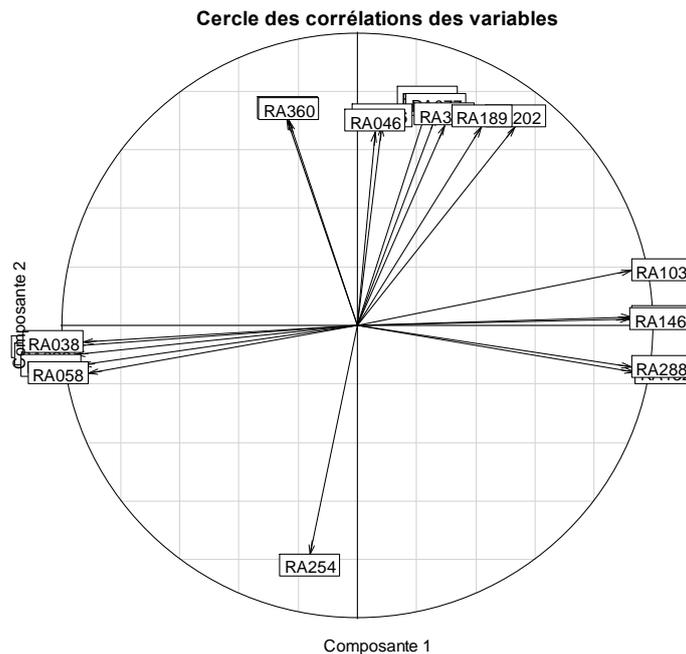


Figure 80 : Cercle des corrélations, réalisé à partir des 10 variables qui contribuent le plus à chaque axe de l'ACP. Les 10 protéines qui contribuent le plus à la composante 1 de l'ACP sont Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photosystem II (RA027 et RA029), 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein (RA152), UDP-glucose 4-epimerase (RA320), Acid beta-fructofuranosidase (RA103, RA093 et RA146), Carbonic anhydrase (RA288), Cold shock protein-1 (RA038), S-adenosylmethionine synthase (RA058). Les 10 protéines qui contribuent le plus à la composante 2 de l'ACP sont : NAD-dependent epimerase/dehydratase (RA254), Acid beta-fructofuranosidase (RA151 et RA202), Heat shock protein (RA077 et RA333), Major allergen Mal d 1 (RA076), Enoyl reductase (RA360), Protein disulfide isomerase (RA046 et RA326), Peptide methionine sulfoxide reductase msrA (RA189).

dans la construction des parois (RA320), dont l'effet sur l'axe s'oppose à celui des protéines impliquées dans le métabolisme des sucres comme l'invertase acide (RA093, RA103 et RA146) et une protéine impliquée dans la voie de biosynthèse de l'éthylène « 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein ». L'axe 2 représente 9% de la variabilité et sépare les échantillons selon un effet génotype, opposant Cervil aux autres génotypes, en particulier à ceux du fond génétique L. Les protéines qui contribuent le plus aux fortes valeurs de la composante 2 de l'ACP, sont des protéines de réponses au stress HSP (RA077 et RA333), Major allergen (RA076), des invertases acides (RA151 et RA202), des protéines disulfide isomérase (RA046 et RA326). Une protéine impliquée dans la voie de synthèse du galactose « NAD-dependent epimerase/dehydratase » (RA254) contribue fortement aux faibles valeurs de l'axe. Le résultat de l'ACP est cohérent avec la position phylogénétique de Cervil notamment. L'axe 2 sépare également chaque génotype/stade en fonction de la condition hydrique, les fruits DHP étant légèrement décalés vers le haut de l'axe. Toutefois cet effet reste très faible. Au stade expansion cellulaire, la séparation des génotypes selon l'axe 2 est plus réduite que la distribution des fonds génétiques aux stades rouge et R7.

En résumé l'impact du stade de développement est déterminant sur l'expression du protéome. Pour cette raison, dans la suite de ce chapitre, le commentaire des résultats sera essentiellement organisé par stade.

I.3 Identification des protéines et classification fonctionnelle.

En utilisant les séquences de protéines de la base de données ITAG (SL 2.40) Release 2.3 établie suite au séquençage du génome de la tomate (Sato *et al.*, 2012), nous avons identifié 392 des 396 spots. Certains spots bien que présents en différents points des gels correspondent à la même protéine. Au total 269 gènes, présentant des identifiants du type : « Solyc04g071620.2.1 », codent pour les 392 spots identifiés. La fréquence maximale observée pour un numéro d'accèsion est de 13 spots, c'est-à-dire qu'une même protéine a pu être identifiée dans 13 spots différents ce qui souligne l'ampleur des modifications post-traductionnelles accessible via l'analyse du protéome. Le tableau en annexe 1 présente tous les spots identifiés, le numéro d'accèsion du gène codant, la position physique du gène sur le génome de la tomate, la fonction de la protéine, le nombre de spots détectés pour cette fonction, les résultats de spectrométrie de masse (Log e-value, pourcentage de couverture, MW, nombre de spectres obtenus et index d'abondance), ainsi que les résultats d'analyse de variance en fonction des facteurs génotype, stade, traitement.

Pour avoir une vue d'ensemble des classes fonctionnelles représentées dans l'échantillon

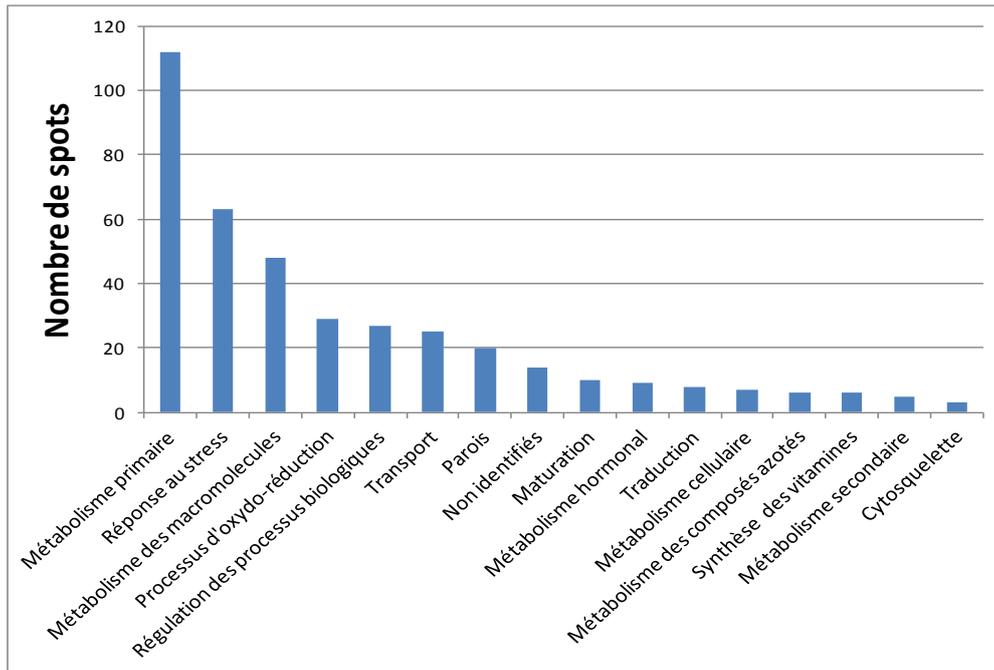


Figure 81 : Classification fonctionnelle des protéines identifiées dans les spots. La classification a été établie à l'aide du logiciel Blast2Go (Conesa *et al.*, 2005).

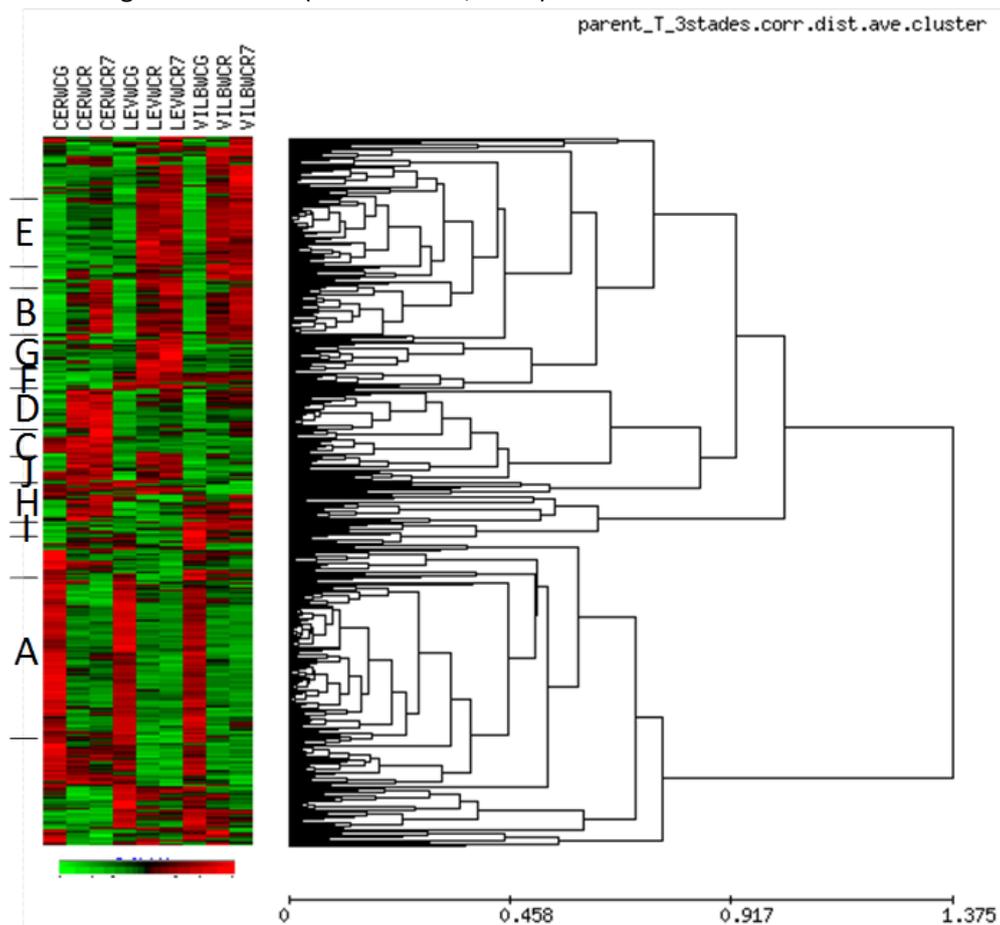


Figure 82 : Regroupement des spots en fonction de leur variation quantitative pour les génotypes parentaux. Cette figure synthétise les variations quantitatives des 396 spots pour les génotypes parentaux à partir des moyennes par stade. Les lettres représentent les différents groupes étudiés.

analysé toutes conditions confondues, une classification fonctionnelle a été réalisée (**figure 81**) à l'aide du logiciel Blast2Go (Conesa *et al.*, 2005). La majorité des spots variables correspondent à des protéines du métabolisme primaire (112 spots), de réponse au stress (63 spots) et du métabolisme des macromolécules (48 spots). Une autre part importante des spots identifiés (169) représente des protéines impliquées dans les processus d'oxydo-réduction, dans la régulation des processus biologiques, dans le transport cellulaire et dans le métabolisme des parois. La classification des protéines d'un échantillon selon leur fonction est un outil de visualisation des données classiquement utilisé en première approche. Toutefois, c'est une analyse qui reste imprécise car une protéine donnée peut être associée à plusieurs processus métaboliques. En outre, une classe fonctionnelle faiblement représentée dans un échantillon peut toutefois avoir une importance prépondérante dans le phénomène étudié.

II. Effets génétiques impactant le protéome en condition témoin

Dans cette partie, nous comparerons tout d'abord le protéome des génotypes parentaux de tomate en condition témoin par stade afin de déterminer quels groupes de protéines co-varient en fonction du stade de développement du fruit pour les trois génotypes. Ensuite nous présenterons les protéines dont les variations sont spécifiques d'un génotype parental donné. Dans un troisième temps, nous rechercherons les effets de l'introgession sur le protéome en comparant le protéome des NILs avec ceux de leur parent respectif. La répartition en classes fonctionnelles et le détail des fonctions importantes sont commentées dans les trois cas.

Tous les résultats ne seront pas détaillés dans cette partie, nous illustrerons les résultats principaux et commenterons les protéines spécifiques les plus intéressantes. Les clusters complets sont dans l'annexe 3.

II.1 Variations cinétiques du protéome des génotypes parentaux

Le regroupement des 396 protéines en cluster de protéines covariantes aux trois stades *via* la méthode UPGMA (**figure 82**) distingue des protéines aux profils de variations temporelles communs aux trois génotypes parentaux et que l'on peut interpréter comme étant liées aux processus cinétiques de développement et de maturation du fruit de tomate.

108 protéines varient dans le même sens au cours du développement du fruit pour les trois génotypes (**figure 83**). Elles sont clairement soit sur exprimées au stade expansion cellulaire par

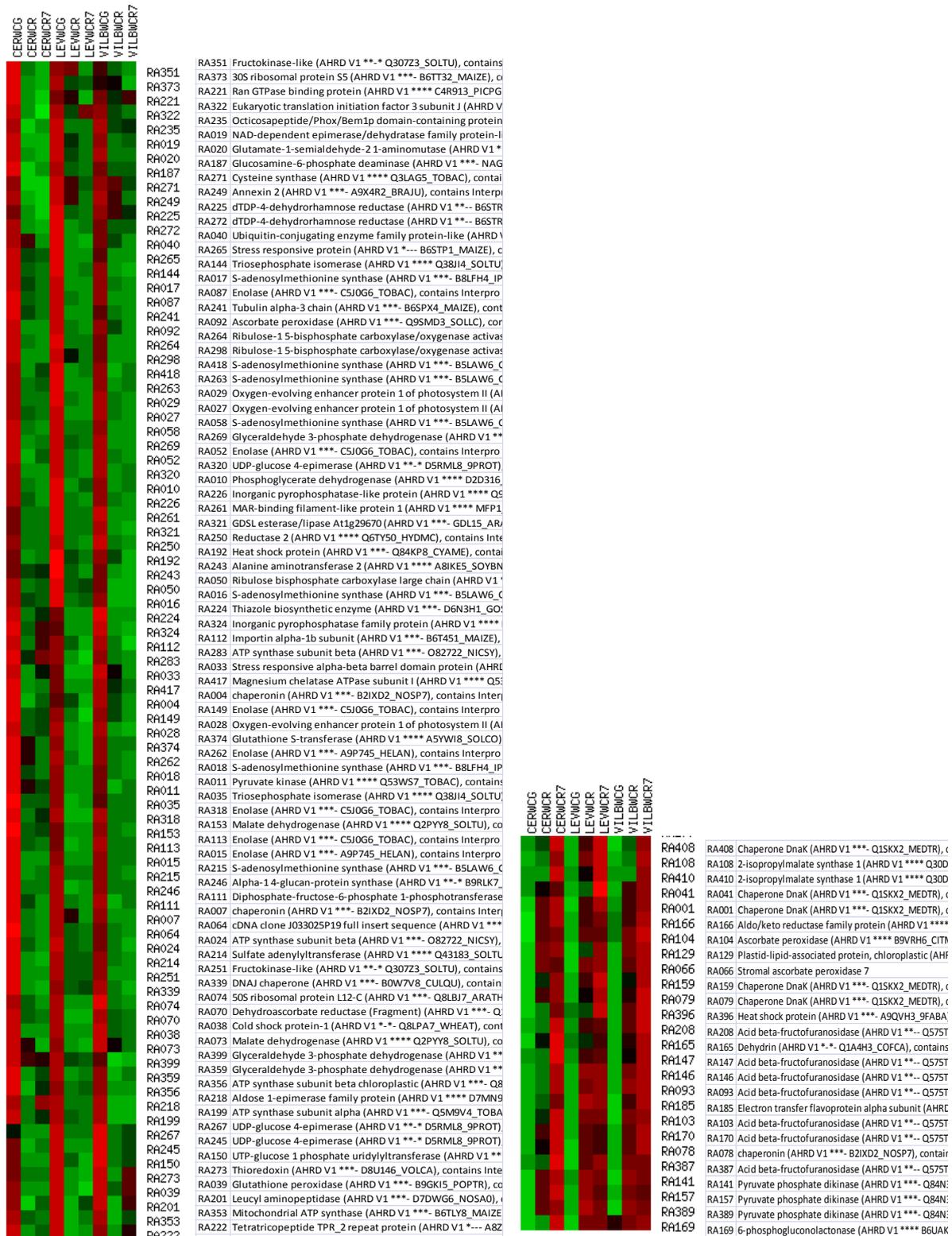


Figure 83 Protéines variant essentiellement sous l'effet du stade chez les 2 lignées parentales. **A** : Cluster de protéines surexprimées au stade fruit vert. **B** : Cluster de protéines surexprimées aux stades rouge et R7

rapport aux stades rouge et R7 (cluster A : 82 protéines), soit au contraire surexprimées au stade rouge et R7 (cluster B : 26 protéines). Il est à noter que les spots au stade R7 présentent globalement des intensités très proches de celles du stade rouge.

Les 82 protéines surexprimées au stade expansion cellulaire sont impliquées dans divers processus biologiques comme le métabolisme primaire (31 spots dont plusieurs « enolase » RA052, RA149, RA262, « glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase » RA269, RA399, RA359, « pyrophosphatase » RA324, « triosephosphate isomerase » RA144, RA035), la photosynthèse (« ribulose-1 5-biphosphate carboxylase/oxygenase activase » RA264, RA298, et « oxygen evolving protein » RA029, RA027), les processus d'oxydo-réduction RA092, RA250, RA070, la biosynthèse des parois (« UDP-glucose 4-epimerase » RA320, « NAD-dependent epimerase/dehydratase » RA019, « alpha-1 4-glucan-protein synthase » RA246), les processus de résistance au stress (6 spots dont des « stress responsive protein » RA265, RA033, « HSP » RA192 et « Cold shock protein » RA038) mais également dans la traduction (facteur d'initiation de la traduction RA322, protéines ribosomales RA373, RA074). L'abondance de ces dernières au stade expansion cellulaire est probablement en lien avec une machinerie cellulaire encore très active à ce stade, suite à la phase de division cellulaire.

Sur les 26 protéines qui sont sous exprimées au stade expansion cellulaire mais surexprimées aux stades rouge et R7, 13 sont impliquées dans le métabolisme primaire dont 7 spots de « acid beta-fructofuranosidase » (RA208, RA147, RA146, RA093, RA103, RA170, RA387). Cette invertase qui clive le saccharose en glucose fructose, est en relation l'accumulation des hexoses au cours du murissement du fruit. Sur les 11 spots impliqués dans la réponse aux stress, 5 correspondent à la « chaperone DnaK » (RA408, RA041, RA001, RA159, RA079). Cette dernière joue un rôle dans le maintien de la structure 3D des protéines lors de stress.

II.2 Protéines présentant des variations cinétiques spécifiques de chaque génotype parental

Nous avons recherché les protéines présentant des variations temporelles pouvant être spécifiques d'un des génotypes parentaux. Ainsi, un groupe de 9 protéines est surexprimé aux trois stades chez Cervil, alors qu'il est sous exprimé aux trois stades chez Levovil et VilB (**figure 84** cluster C). Parmi elles, deux protéines (une « acyltransferase » RA117 et une « enoyl reductase » RA360) interviennent dans le métabolisme des lipides et pourraient notamment jouer un rôle dans la synthèse de la cuticule (Zheng *et al.*, 2005) particulièrement épaisse chez ce génotype. Une « chloride intracellular channel 6 » (RA305) pourrait intervenir sur le potentiel osmotique en régulant le flux

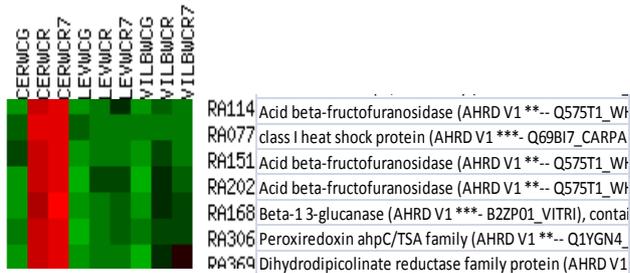
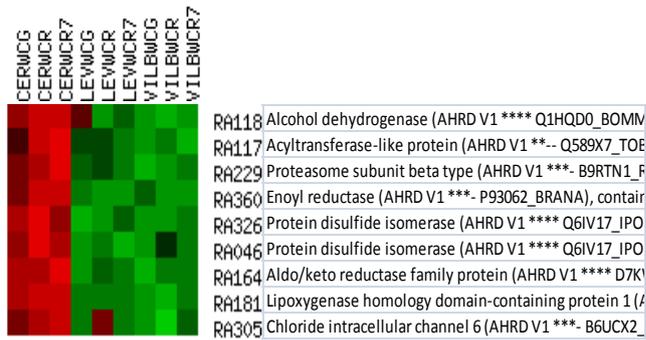


Figure 84 : Protéines surexprimées chez Cervil, **C** : Cluster de protéines surexprimées aux trois stades chez Cervil, **D** : Cluster de protéines surexprimées aux stades rouge et R7 chez Cervil

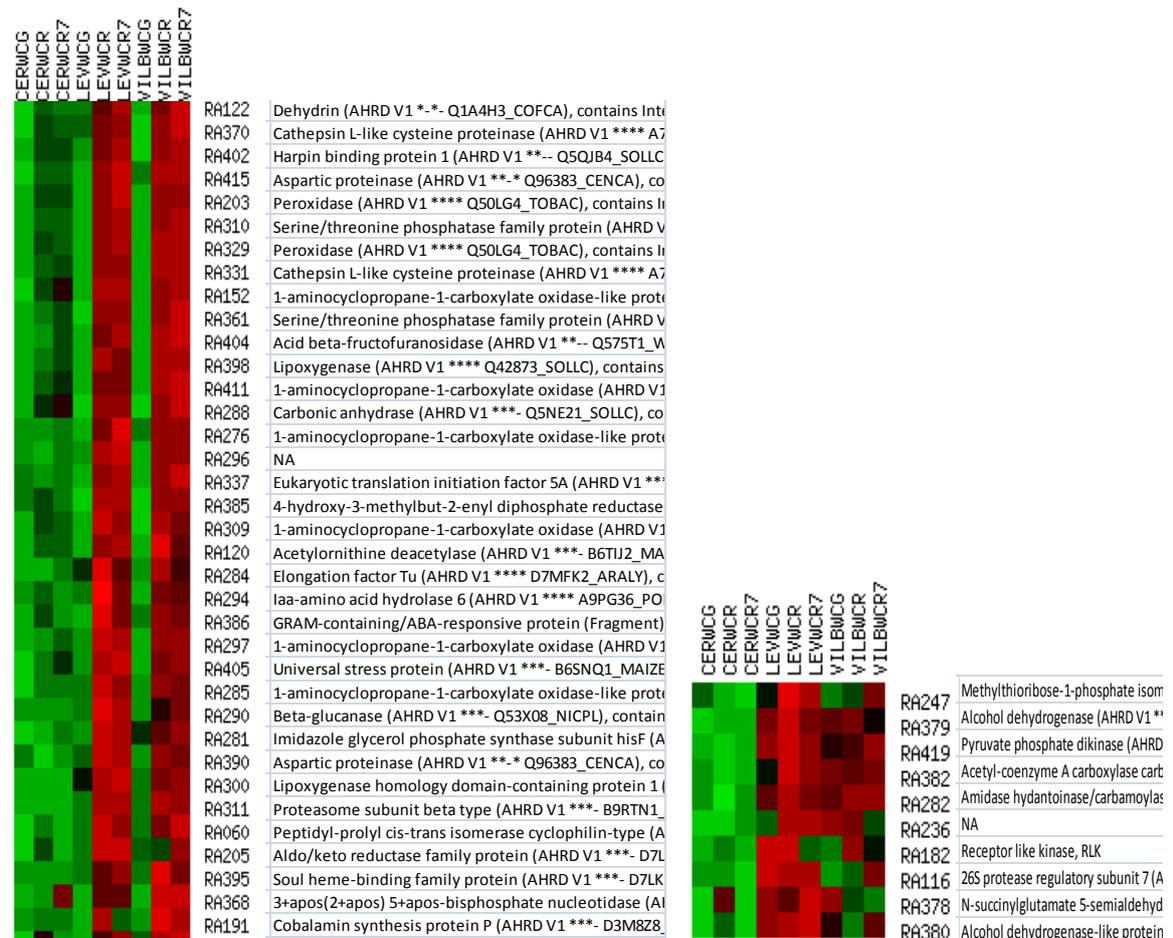


Figure 85 Protéines présentant des variations spécifiques de Cervil **E** et **F** : Cluster de protéines sous exprimées aux trois stades

d'anions transmembranaires (Berry and Hobert, 2006). Une « aldo/keto reductase » (RA164) régulée par le stress, pourrait jouer un rôle dans la réponse au stress osmotique ou oxydatif (Jin and Penning, 2007). La présence dans ce cluster de 2 spots de « protein disulfide isomerase » (RA326, RA046) spécifiques de Cervil ainsi que celle de l'« alcohol deshydrogenase » (ADH3) (RA118) confirme les résultats de Manaa *et al.*, (2011a), obtenus sur la racine. Certaines isoformes de « alcohol deshydrogenase » (Speirs *et al.*, 1998) et de « lipoxygenase » (Chen *et al.*, 2004) sont potentiellement impliquées dans la synthèse des arômes du fruit (ADH2 et LOX C). Toutefois, cela ne semble pas être le cas pour les isoformes identifiées ici qui montrent une surexpression dès le stade vert indépendamment du processus de maturation du fruit.

Cervil montre une grande divergence de son protéome aux stades rouge et R7 par rapport aux deux autres génotypes parentaux. Le cluster D (**figure 84**) regroupe 7 protéines spécifiquement surexprimées au stades rouge et R7 chez Cervil. On y trouve en particulier trois spots isoformes de la « acid beta-fructofuranosidase » (RA114, RA151 et RA202) ce qui est cohérent en termes de timing d'expression et pourrait être à rapprocher avec la plus forte teneur en sucre de Cervil à maturité. Nous remarquons également deux groupes de protéines spécifiquement sous exprimées chez Cervil alors qu'elles sont surexprimées chez les autres parents aux trois stades (**figure 85** cluster F), aux stades rouge et R7 (**figure 85** Cluster E). Le spot RA379 (« alcohol deshydrogenase ») du cluster F pourrait correspondre à un variant allélique de celui surexprimé chez Cervil (RA118). Le cluster E comprend 36 protéines parmi lesquelles 6 (RA152, RA411, RA276, RA309, RA297, RA285) correspondent à des isoformes de « 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase » impliquées dans la maturation *via* la biosynthèse de l'éthylène. Ces protéines pourraient être impliquées dans les différences de texture entre les génotypes parentaux, de même que les deux spots de peroxydase, les deux spots de protéinase pariétale (« Cathepsine like » RA370) et le spot de beta-glucanase (RA290) du fait de leur rôle respectif dans la structure de la paroi cellulaire. Plusieurs protéines de ce cluster sont classiquement impliquées dans les réponses au stress, par exemple la « dehydrine » (RA122) ou l'« universal stress protein » (RA405) qui protègent la membrane plasmique des dommages causés par la sécheresse ou le froid (Puhakainen *et al.*, 2004; Loukehaich *et al.*, 2012). L'« laa-amino acid hydrolase » (RA294) clive les conjugués d'IAA et libèrent l'hormone qui est connue pour retarder le murissement du fruit. D'autres protéines interviennent dans les phénomènes de sénescence ou de mort cellulaire programmée : l'aspartique protéinase (RA415) et une protéine induite par l'ABA possédant un domaine GRAM (Glucosyltransferases, Rab-like GTPase activators, And Myotubularins) (RA386). Les variations de ces protéines concernent ici la condition témoin, le murissement du fruit est une étape vers sa sénescence et s'accompagne de l'induction de nombreuses protéines de réponse aux stress (Faurobert *et al.*, 2007). Le mûrissement chez Cervil ne s'accompagne pas de la sur

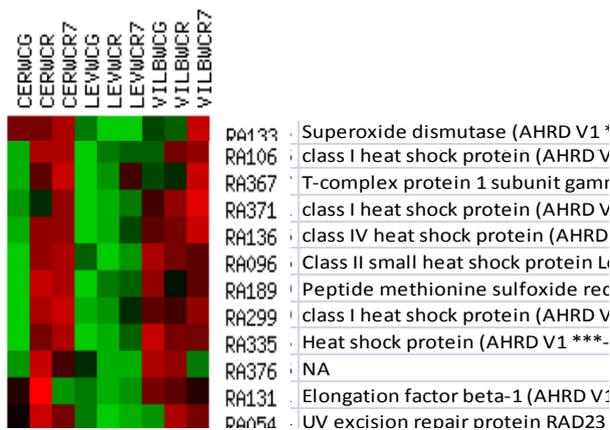
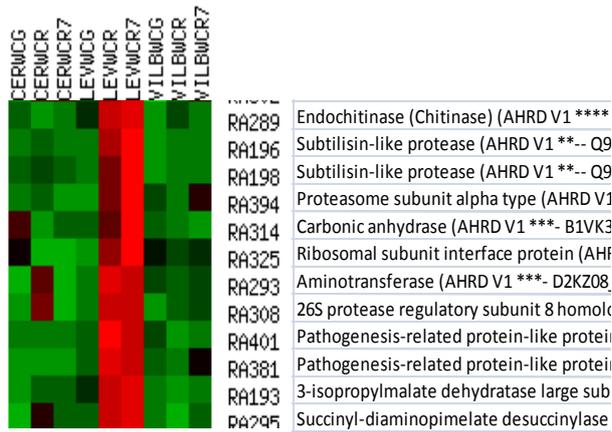


Figure 86 : Protéines présentant des variations spécifiques de Levovil. **G** : Cluster de protéines surexprimées aux stades rouge et R7. **H** : Cluster de protéines surexprimées aux trois stades.

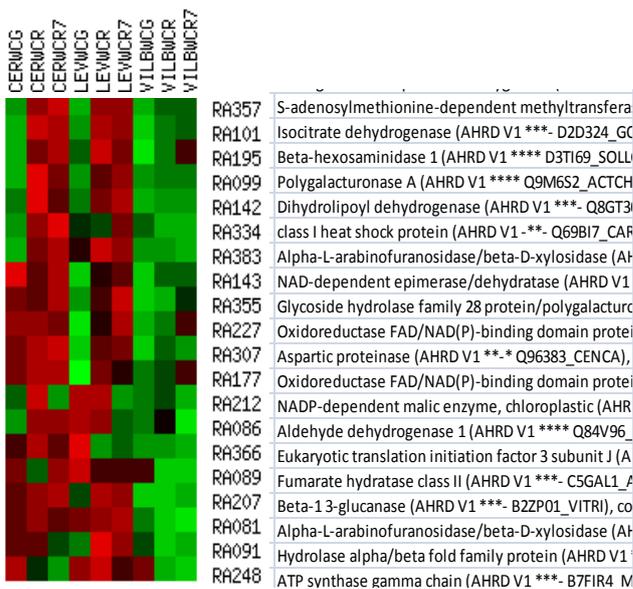
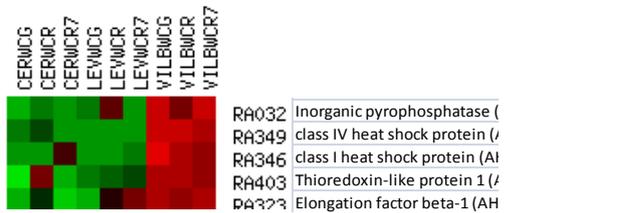


Figure 87 : Protéines aux variations spécifiques de ViilB. **I** : Cluster de protéines surexprimées aux trois stades. **J** : Cluster de protéines sous exprimées aux trois stades.

expression de ces protéines.

Chez Levovil (**figure 86**), il n'y a pas de protéine qui soit spécifiquement surexprimée aux trois stades. Le cluster G présente 12 protéines surexprimées aux stades rouge et R7 et qui sont sous exprimées chez les deux autres génotypes parentaux. On note deux spots de subtilisine (RA196 et RA198), protéase pariétale, ainsi que deux spots de « Pathogenesis Related protein » (RA401 et RA381).

Il a été montré que des protéines PR sont régulées au cours du développement du fruit notamment sous l'effet de l'éthylène. Le cluster H présente 12 protéines spécifiquement sous exprimées aux trois stades chez Levovil. Ce génotype semble dépourvu des spots de certaines HSP (6 protéines, RA106, RA371, RA136, RA096, RA299 et RA335) et de diverses protéines de résistance au stress oxydatif (« super oxyde dismutase » RA133, « peptide methionine sulfoxide reductase » RA189, « UV excision repair protein Rad23 » RA054, « T-complex protein » RA367) en comparaison aux deux autres génotypes parentaux.

Parmi les 5 protéines spécifiques surexprimées chez VilB quel que soit le stade, (**figure 87**, cluster I), figurent deux HSP (RA349 et RA346), qui peuvent jouer un rôle de chaperone en assurant le maintien des configurations 3D des autres protéines, mais aussi une « thioredoxin protein » (RA403) qui réduit les ponts disulfure des protéines oxydées après un stress. La présence d'une expression constitutive de protéines de résistance aux stress confirme les résultats obtenus par Page *et al.*, (2010) sur ce génotype.

Parmi les protéines sous exprimées aux stades rouge et R7 (cluster J), chez ce génotype particulièrement ferme, on trouve plusieurs protéines impliquées dans la dégradation des parois. Il faut souligner, notamment, la sous expression de la bêta-hexosaminidase 1 (RA195) au stade rouge qui est à mettre en lien avec les travaux de Meli *et al.*, (2010). Ces auteurs ont montré que des plants de tomates transgéniques sous exprimant une beta-hexosaminidase montrent un ralentissement de la dégradation de la paroi cellulaire et une augmentation de la survie du fruit en post-récolte.

L'alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase (RA081) est une enzyme bi-fonctionnelle qui montre à la fois une activité arabinofuranosidase et une activité beta-xylosidase, toutes deux participant au relâchement de la paroi à maturité du fruit. De la même manière, la « NAD-dependent epimerase/dehydratase » (RA143), la « glycoside hydrolase family 28 protein » (RA355), et une isoforme de la polygalacturonase (RA099) montrent une sous expression qui pourrait être associée

avec le phénotype de fermeté de VilB. A noter également, la sous expression d'une aspartique protéinase (RA307) qui peut être impliquée dans la maturation des fruits (Faurobert *et al.*, 2007).

II.3 Effets de l'introggression sur le protéome

a) Variations cinétiques du protéome des NILs

La comparaison des génotypes au sein d'un même fond génétique Levovil, NIL-L4, NIL-L9 d'une part et VilB, NIL-B9 d'autre part, montre qu'il y a plus de protéines co-variantes que dans la comparaison entre les trois parents. En effet, les lignées d'introggression ne diffèrent de leur parent que par une petite partie du génome de leur parent.

Dans le fond génétique L (Levovil, NIL-L4 et NIL-L9), 144 protéines covarient au cours du développement du fruit : 76 surexprimées au stade vert, et 68 surexprimées au stade Rouge et R7. Dans le fond génétique B, 132 protéines sont covariantes au cours du développement du fruit : 87 sont surexprimées au stade vert et 45 surexprimées aux stades rouge et R7. Comme pour le fond génétique L, ces protéines covariantes sont principalement impliquées dans le métabolisme primaire et les réponses au stress. Nous n'entrerons pas en détail dans le commentaire de ces variations qui recoupent celles des génotypes parentaux au cours de la cinétique de développement du fruit.

b) Variations au sein des lignées issues de Levovil

Nous nous sommes intéressés tout d'abord à la comparaison des nombres de protéines significativement variantes ($p < 0,05$) entre chaque NIL (L4 et L9) et le parent Levovil à chaque stade de développement. Il est respectivement de 40, 41 et 62 pour les stades expansion cellulaire, rouge et R7 pour NIL-L4/Levovil. De même pour NIL-L9/Levovil, on dénombre 22, 39 et 69 protéines variantes (dont une seule (une HSP) est commune aux 3 stades). Dans le fond génétique L, le nombre de protéines significativement différentes entre les NILs et Levovil est le plus fort au stade R7. Ceci est particulièrement intéressant et pourrait signifier que les introggressions présentent des effets possibles sur le comportement en post-récolte du fruit. Il faut noter également que le nombre de protéines variantes n'est pas corrélé avec la taille du fragment du génome de Cervil introggressé. En effet l'introggression sur le chromosome 9 est d'environ 51,6 cM alors que l'introggression sur le chromosome 4 est d'environ 19,7 cM pour un nombre de protéines variantes assez proche. De plus, en recherchant la position des gènes codants pour ces protéines différenciellement exprimées, il s'avère que peu d'entre elles sont issues de l'expression de gènes de structure portés par la portion de chromosome

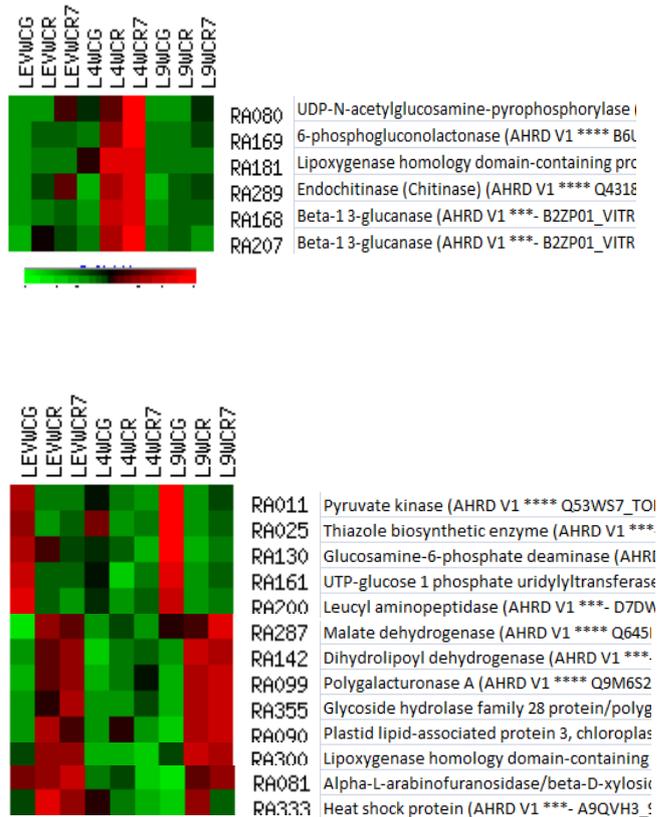


Figure 88 : Protéines spécifiques de NIL-L4, protéines surexprimées aux stades rouge et R7 (cluster C) et sous exprimées (cluster D) aux stades expansion cellulaire (RA011 à RA200) et aux stades rouge et R7 (RA287 à RA333)

introgressé.

Parmi les **protéines présentant des profils différents entre NIL-L4 et Levovil**, seules 4 protéines sont codées par des gènes qui co-localisent avec le QTL de texture du chromosome 4. Deux spots : RA181 et RA300 correspondent à une protéine de petit PM (20 kD) encodée par le gène « Solyc04g054980 » et comprenant un domaine lipoxygénase1. Le spot RA181 présente en outre un profil de variation cinétique spécifique de NIL-L4 surexprimé aux stades rouge et R7, comme chez le parent Cervil d'origine (**figure 88** cluster C). Le rôle exact de cette protéine reste à définir. Comme cité précédemment, les lipoxygénases sont des protéines impliquées dans le métabolisme des lipides qui répondent aux stress.

Le gène « Solyc04g058070 » codant pour une protéine annotée comme une « UDP-N-acetylglucosamine-pyrophosphorylase » est également situé dans la région du QTL. Cette protéine (RA080) est une transférase participant à la biosynthèse des nucléotides-sucres. Elle possède un domaine « UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase » et fait donc partie de la famille des UDP-glucose pyrophosphorylases, elle présente également un profil de variation spécifique de NIL-L4.

La dernière protéine dont le gène (Solyc04g076820) est localisé dans la région du QTL est l'ASR4 (RA278). Les ASR sont des protéines induites par l'acide abscissique notamment en réponse à la sécheresse. Des polymorphismes de séquence sont liés à l'adaptation à la sécheresse du milieu dans l'espèce *S. chilense* (Fischer *et al.*, 2011). Ce spot varie significativement avec le génotype et le stade mais, nous verrons plus loin, que ce spot ne présente pas de variation quantitative sous l'effet du stress hydrique dans nos conditions.

Sans être codées par des gènes situés dans la région du QTL certaines protéines montrent des profils de variations spécifiques de NIL-L4 (**figure 88** clusters C et D). Le cluster C présente les spots surexprimés aux stades rouge et R7. RA169 est une hydrolase de la voie des pentoses-phosphates, la 6-phosphogluconolactonase. Trois spots, deux Beta1-3 glucanases (RA168 et RA207) et une endochitinase (RA286), sont impliqués dans la réponse aux attaques de champignons. A l'inverse, certains spots sont faiblement exprimés dès le stade expansion cellulaire chez NIL-L4 alors qu'ils le sont fortement chez Levovil et NIL-L9 (cluster D). Une leucyl aminopeptidase (RA200) peut avoir le rôle de protéines peptidase dans le turn-over des protéines ou de chaperone, et est décrite comme pouvant participer à la réponse tardive des plantes à la blessure, le stress hydrique ou osmotique (Chao *et al.*, 1999). Une protéine impliquée dans le métabolisme des parois : UTP-glucose 1 phosphatase uridylyltransferase (RA161) et une Glucosamine-6-phosphate deaminase (RA025)

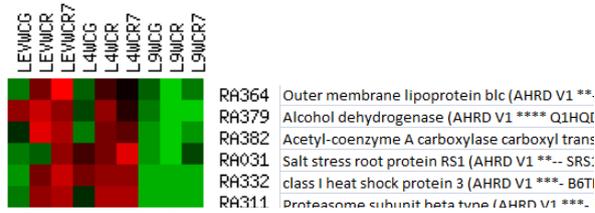
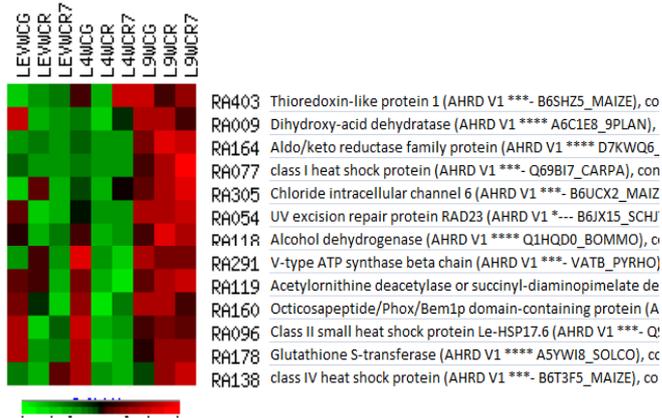


Figure 89 : Protéines spécifiques de NIL-L9, protéines surexprimées (cluster E) et sous exprimées aux trois stades (cluster F).

comprenant un domaine 6-phosphogluconolactonase sont également faiblement exprimées dès le stade expansion cellulaire chez NIL-L4. Dans ce cluster sont également regroupées des protéines toujours sous exprimées chez NIL-L4 mais surexprimées aux stades rouge et R7 chez Levovil et NIL-L9. Il faut mentionner notamment des protéines impliquées dans la dégradation de la paroi : polygalacturonase A (RA099), Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase (RA081), « Glycoside hydrolase family 28 protein/polygalacturonase family protein » (RA355). Dans ce cluster on trouve également un spot de lipoxygénase qui présente des variations opposées au spot RA181 décrit précédemment comme surexprimé uniquement chez NIL-L4 au stade rouge et R7. Le spot RA287 est identifié comme une Malate dehydrogenase de type 1, cette oxydoréductase est impliquée dans le cycle des acides tricarboxyliques (TCA). Centeno *et al.*, (2011), en étudiant des lignées de tomate antisens pour la MDH montrent que la teneur en malate augmente chez ces lignées qui voient, alors, leur teneur en sucres solubles diminuer ainsi que leur aptitude à la conservation post-récolte.

En ce qui concerne **les protéines présentant des profils de variation différents entre NIL-L9 et Levovil au stade expansion cellulaire**, aucune n'est codée par un gène situé dans la région introgressée, ni porté par le chromosome 9. Cependant on trouve quatre protéines variantes aux stades rouge et R7 qui sont codées par des gènes présents sur le chromosome 9 qui pourraient co-localiser avec le QTL de texture du chromosome 9. Deux HSP20, RA077 et RA332, situées à proximité l'une de l'autre sur le génome ne sont séparées entre elles que par un seul modèle de gène, une « Gamma hydroxybutyrate dehydrogenase-like protein » (RA275) uniquement variante au stade rouge et une Acetyl-coenzyme A carboxylase (ACC, RA382, Solyc09g013080) dont la fonction est de produire le composé substrat majeur de la biosynthèse des acides gras (malonyl-CoA).

Chez NIL-L9 (**figure 89**), 13 protéines sont surexprimées aux trois stades (cluster E) en comparaison avec Levovil et NIL-4. Ce sont principalement des protéines de réponses au stress (3 HSP : RA077, RA096, RA138, une aldo/keto reductase RA164) jouant un rôle de détoxification des groupements carbonyles produits par les stress oxydatifs (Turoczy *et al.*, 2011), une glutathione S-transferase RA178, une « UV excision repair protein » RA054), mais aussi des protéines pouvant réguler le potentiel osmotique par le transport des ions chlorures (« chloride intracellular channel 6 » RA305), ou par celui des protons « V-type ATP synthase beta chain » RA291). Les protéines sous exprimées aux trois stades chez NIL-L9 sont peu nombreuses (cluster F), parmi elles se trouvent des protéines de réponse au stress (« HSP » RA332, « salt stress root protein » RA031), une protéine du protéasome (RA311) et une « alcohol dehydrogenase » (RA379) probablement impliquée dans la maturation.

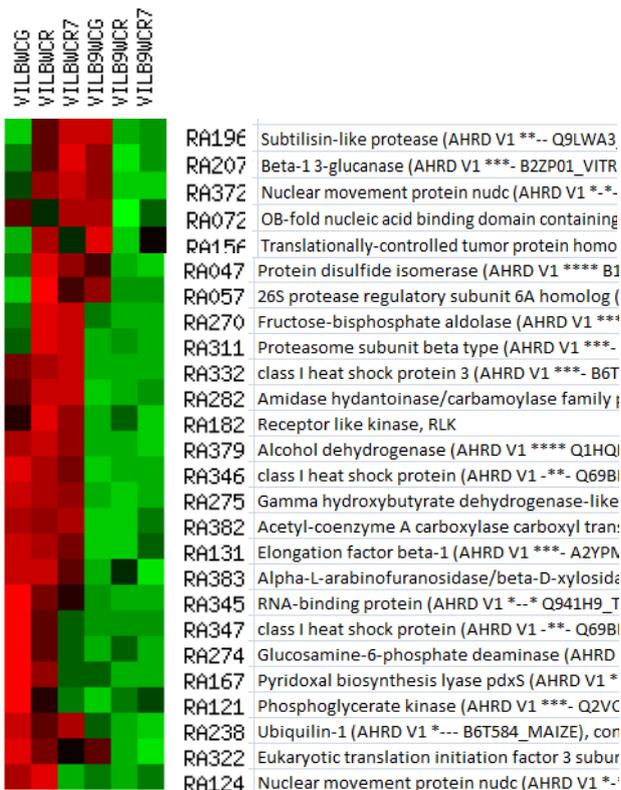
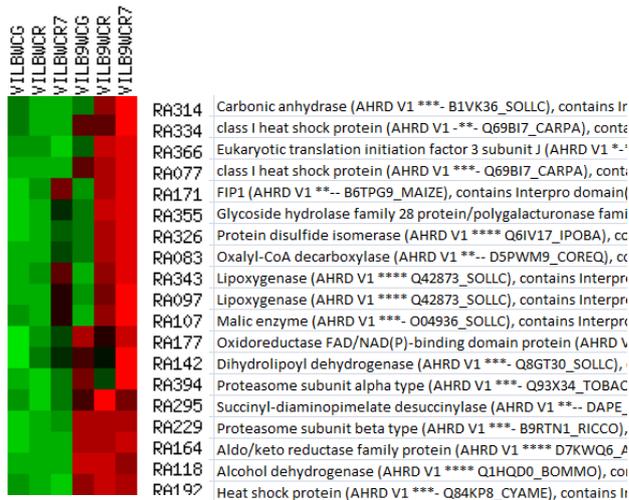


Figure 90 Protéines spécifiques NIL-B9. Protéines surexprimées principalement aux stades rouge et R7 (cluster C) et sous exprimées (cluster D)

c) Variations au sein des lignées issues de VilB

Le nombre de protéines variantes entre VilB et NIL-B9 est plus important que dans le fond génétique L. Il y a respectivement 62 protéines variantes au stade expansion cellulaire, 70 au stade rouge et 52 au stade R7. Comme observé dans le fond génétique L, relativement peu de protéines variantes (21) sont codées par des gènes de la région introgressée du chromosome 9. Toutefois, parmi elles, sept colocalisent avec le QTL de texture. On retrouve notamment les quatre protéines déjà remarquées dans le fond génétique L (RA382, RA077, RA332, RA275). Mais également deux spots d'HSP70 (RA055, RA088) produits d'un même gène (Solyc09g011030) et une aldo/keto réductase : RA250. Cette dernière pourrait également jouer un rôle dans la tolérance au stress hydrique par la production d'osmolytes (Mundree *et al.*, 2000).

Bien que non codées par des gènes localisés sur le chromosome 9, 19 protéines sont surexprimées chez VILB9 par comparaison avec VILB aux stades rouge et R7 et 26 protéines présentent la variation inverse. On retrouve (**figure 90** cluster C) la surexpression de deux spots déjà signalée pour NIL-L9 (RA118 et RA164), ce qui pose la question de la présence éventuelle d'un gène de régulation de ces fonctions sur le fragment introgressé. Parmi les protéines surexprimées chez NIL-B9 par rapport à VILB on note deux HSP (RA334, RA192), deux sous unités du protéasome (RA394, RA229), deux spots de lipoxigénase, une oxalyl-CoA decarboxylase (catabolisme de l'oxalate toxique) et une protéine du catabolisme des parois (polygacturonase, RA355) et FIP1 (RA171). Cette protéine (RA171) est l'homologue d'une protéine d'*Arabidopsis* impliquée dans la régulation négative de la division et l'expansion cellulaire (Caro *et al.*, 2007). Cette protéine pourrait expliquer la diminution de taille du fruit par le QTL9, en lien avec le nombre de cellules.

NIL-B9 sous exprime plusieurs protéines par rapport à son parent VilB (cluster D), parmi lesquelles des protéines de réponses au stress, des protéines du métabolisme des parois (alpha-L-arabinofuranosidase/ beta-D-xylosidase RA383) ou encore des protéines impliquées dans les divisions cellulaires (« nuclear movement protein » RA372, RA124) ou dans la régulation négative de ces dernières (« translationally controlled tumor protein » RA156).

III. Influence du DHP sur le protéome

Pour analyser les effets du DHP sur le protéome, nous avons sélectionné à partir des résultats obtenus avec l'analyse de variance à trois facteurs (paragraphe 1.1), 43 protéines variantes avec le facteur « condition hydrique » ou en interaction avec ce dernier (**figure 78B**). Des tests de Student ont

	Vert	R	R7
Cervil	Cold shock protein-1 RA038	Succinyl-diaminopimelate desuccinylase RA295	Polygalacturonase A RA099
	Major allergen Mal d 1 RA180	Nuclear movement protein nudc RA124	Acid beta- fructofuranosidase RA151
	Ribulose-1 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase 1 RA264	Octicosapeptide/Phox/Be m1p domain-containing protein RA160	Phosphoglycerate kinase RA121
	class I heat shock protein 3 RA332	class I heat shock protein RA334	Universal stress protein family protein RA137
Levovil	Remorin 1 RA030	Lipoxygenase RA280	Alpha-L- arabinofuranosidase/beta- D-xylosidase RA081
	Ribulose-1 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase 1 RA264	class I heat shock protein RA334	Polygalacturonase A RA099
	Beta-glucanase RA290	Lipoxygenase RA343	Subtilisin-like protease RA196
	class I heat shock protein RA334	Enolase RA113	Octicosapeptide/Phox/Be m1p domain-containing protein RA317
	Universal stress protein family protein RA388	Aldo/keto reductase family protein RA166	Superoxide dismutase RA133
	Acid beta- fructofuranosidase RA151		
VilB	Enolase RA113	Ferredoxin--NADP reductase RA223	
	class IV heat shock protein RA348	Beta-glucanase RA290	

Tableau 12 : Bilan des protéines dont la quantité est affectée par le DHP chez les parents (surexpression en fond rouge, sous-expression en fond vert).

été réalisés pour chaque protéine pour tester l'effet du DHP en fonction des génotypes et du stade de développement. Parmi les protéines variantes, on ne trouve pas de protéine spécifique du DHP commune à l'ensemble des génotypes, ni spécifique à un stade de développement. Les résultats (**tableaux 12 et 13**) seront présentés par catégorie fonctionnelle, en précisant les protéines surexprimées puis les protéines sous exprimées en condition DHP pour au moins un génotype à un stade de développement.

Protéines de réponses au stress :

Dans la littérature de nombreuses études montrent que les plantes surexpriment des protéines en réponse à des stress biotique ou abiotique. Notre étude révèle que le DHP a induit la surexpression de protéines de réponses au stress : HSP (RA334 chez Cervil et RA348 chez VilB), « universal stress protein » (RA137 chez Cervil et RA388 chez NIL-B9), protéine chaperone (RA339 chez NIL-L4), mais aussi la sous expression de certaines protéines de réponse au stress (HSP RA332 chez Cervil, HSP RA334 chez Levovil, chaperone RA001 chez NIL-L4). Une même protéine comme l'HSP RA334 est régulée différemment selon le génotype, dans notre étude, elle est sous exprimée en condition DHP chez Levovil, alors qu'elle est surexprimée chez Cervil. La fonction probable de ces protéines est de participer au maintien de la configuration 3D d'autres protéines et ainsi éviter les pertes de fonctions liées aux dénaturations éventuelles. Une autre protéine de stress « cold shock protein » (RA038 chez Cervil) est sous exprimée, dont la sous-expression induirait une sensibilité au froid (Kim *et al.*, 2009b). De plus, il est connu que des facteurs biotiques ou abiotiques génèrent des espèces réactives à l'oxygène (ROS), qui peuvent provoquer des dommages importants au niveau de la cellule et des acides nucléiques. Pour faire face à ce stress oxydatif potentiellement induit par le DHP des enzymes anti-oxydantes sont alors produites en abondance (Marquez-Garcia *et al.*, 2011). C'est ce que nous avons observé dans ce travail avec la surexpression de la superoxyde dismutase (RA133, chez NIL-L9), la peroxydase (RA329, chez NIL-B9) ou encore l'aldo/keto réductase (AKR) (RA166, chez Levovil et NIL-L9). Alors que la ferredoxin NADP-reductase (RA223 chez VilB, et NIL-B9), qui est également impliquée dans la régulation du stress oxydatif (Schurmann and Buchanan, 2008) est sous exprimée avec le DHP. En plus de son action détoxifiante sur le peroxyde d'hydrogène, l'AKR pourrait également jouer un rôle dans la tolérance au stress hydrique par la production d'osmolytes (Mundree *et al.*, 2000). La condition DHP pourrait modifier le dialogue inter cellulaire par la surexpression de protéines impliquées dans la perception de message comme la Remorin (RA030, chez NIL-B9) et la EF-hand containing protein (RA100, chez NIL-B9). La surexpression de la Remorin augmenterait la résistance aux attaques de pathogènes (Raffaele *et al.*, 2009). Nos travaux montrent également que des lipoxygénases sont surexprimées (RA300, chez NIL-L4) et sous exprimées (RA280 et RA343, deux

	Vert	R	R7
NIL-L4	Dihydrodipicolinate reductase family protein RA369	Chaperone DnaK RA001	Serine/threonine phosphatase family protein RA310
	DNAJ chaperone RA339	Beta-glucanase RA290	Malate dehydrogenase RA023
		ATP synthase subunit beta chloroplastique RA356	Acid beta-fructofuranosidase RA151
		Malate dehydrogenase RA023	Lipoxygenase homology domain-containing protein 1 RA300
	Polygalacturonase A RA099	Peroxidase RA329	
NIL-L9	Remorin 1 RA030	Beta-glucanase RA290	Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA081
	Major allergen Mal d 1 RA180	Alcohol dehydrogenase-like protein RA380	Subtilisin-like protease RA196
	Octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein RA317	Superoxide dismutase RA133	Methylcrotonoyl-CoA carboxylase alpha chain RA302
	Succinyl-diaminopimelate desuccinylase RA295	Aldo/keto reductase family protein RA166	
	Peroxidase RA329		
	Dihydrodipicolinate reductase family protein RA369		
NIL-B9	Remorin 1 RA030	Polygalacturonase A RA099	Ferredoxin--NADP reductase RA223
	Fumarate hydratase class II RA089	Ribulose-1 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase 1 RA264	Remorin 1 RA030
	Phosphoglycerate kinase RA121	Beta-glucanase RA290	Nuclear movement protein nudc RA124
		EF-Hand containing protein-like RA100	S-adenosylmethionine synthase RA215
		S-adenosylmethionine synthase RA215	Lipoxygenase homology domain-containing protein 1 RA300
		Peroxidase RA329	
		Universal stress protein family protein RA388	

Tableau 13 : Bilan des protéines dont la quantité est affectée par le DHP chez les NILs (surexpression en fond rouge, sous-expression en fond vert).

isoformes chez Levovil). Ces dernières pourraient avoir également un rôle de défense contre les attaques des pathogènes. Dans le même type de fonction, nous trouvons aussi une bêta-1-3-glucanase (RA290) sous exprimée chez Levovil, NIL-L4, NIL-L9, ViIB, et NIL-B9 ; cette enzyme dégrade les composés pariétaux des champignons (Vaiyapuri *et al.*, 2012).

Métabolisme primaire

Au niveau du métabolisme primaire, le DHP a augmenté l'abondance de protéines comme l'énolase (RA113 chez ViIB), la phosphoglycerate kinase (RA121 chez Cervil, chez NIL-B9) ou la malate déhydrogénase (RA023 chez NIL-L4), impliquées dans la production d'ATP. Ces surexpressions pourraient révéler un besoin énergétique supérieur en condition DHP par rapport à la condition témoin afin d'assurer la production de molécules chaperones ou détoxifiantes.

Parmi les protéines surexprimées en condition DHP, nous trouvons des protéines impliquées dans le métabolisme des sucres, comme déjà observé par Trouverie *et al.*, (2003). Parmi elles, l'« acid beta-fructofuranosidase » (RA151) pourrait participer à la régulation du potentiel osmotique en agissant sur le clivage du saccharose en glucose fructose, cette invertase est surexprimée chez Levovil, NIL-L4 et sous exprimée chez Cervil, comme observé en condition de stress «froid » (Page *et al.*, 2010). Cette invertase clive le saccharose en glucose fructose et donc modifie le taux de sucre. Une ATP-synthase (RA356 chez NIL-L4) est également sous exprimée en condition DHP, ce qui peut suggérer un ralentissement du métabolisme énergétique ou une modification du potentiel osmotique et donc de la fermeté par la modification du flux de protons.

Processus de croissance

Le DHP modifie les protéines impliquées dans les processus de croissance. L'« acid beta-fructofuranosidase » (RA151 surexprimée chez Levovil, NIL-L4 et sous exprimée chez Cervil) en plus de son rôle dans le métabolisme des sucres énoncé précédemment, affecterait l'élongation cellulaire (Gibeaut *et al.*, 1990). Le DHP affecte la photosynthèse en sous exprimant la RuBisCo activase (RA264, chez Cervil, Levovil et NIL-B9), qui protège et module la RuBisCO, Cette protéine a déjà été observée en réponse à des stress thermiques modérés (Chen *et al.*, 2010) mais aussi à des stress hydriques (Carmo-Silva *et al.*, 2012). Les travaux de Nunes-Nesi *et al.*, (2007), montrent que des mutants de tomate sous exprimant la fumarate hydratase présentent une réduction de la biomasse de la plante et particulièrement au niveau du fruit, en réduisant l'activité photosynthétique probablement liée à un défaut de l'efficacité des stomates de la plante. Ces mêmes mutants ont également une hauteur de

plantes plus grandes que les témoins, liée à des entre nœuds plus grands. L'altération de la fumarase semble donc avoir un impact sur le poids des fruits et sur la croissance cellulaire. Dans notre étude, la fumarate hydratase (RA089 chez NIL-B9) est sous exprimée par le DHP, pourrait être un élément d'explication pour expliquer la diminution de l'allongement vertical des cellules du péricarpe du fruit.

Métabolisme des parois

Une S-adenosylmethionine synthétase (RA215 chez NIL-B9) et une polygalacturonase A (RA099 chez NIL-L4) sont surexprimées en condition DHP aux stades rouge et R7. De plus, la polygalacturonase A (RA099) est sous exprimée en condition DHP chez Cervil Levovil et NIL-B9. La S-adenosylmethionine synthase catalyse la biosynthèse du S-adenosylmethionine, précurseur de la synthèse d'éthylène et du phénylpropanoïde constituant des parois (Breusegem *et al.*, 1994; Espartero *et al.*, 1994). La polygalacturonase A est fortement impliquée dans le métabolisme des parois, elle dégrade les polygalacturonans présents dans les parois cellulaires. Cette enzyme, qui possède un rôle indiscutable dans la déstructuration de la paroi (Fei *et al.*, 2004), n'est pas suffisante pour expliquer la fermeté des fruits (Smith *et al.*, 1990). En ce qui concerne la beta-glucanase (RA290 sous exprimée chez Levovil, NIL-L4-NIL-L9 et NIL-B9), Choudhury *et al.*, (2009) suggèrent que cette enzyme pourrait être impliquée directement dans le ramollissement des fruits. Une autre enzyme est sous exprimée en condition DHP : l'alpha-L-arabinofuranosidase/ beta-D-xylosidase (RA081 chez Levovil et NIL-L9). Cette dernière est une enzyme bi-fonctionnelle, responsable de l'hydrolyse des arabinoxylanes et des xylanes (constituants des hémicelluloses).

Maturation

La maturation du fruit de tomate est potentiellement affectée par la surexpression de la malate déshydrogénase, qui pourrait réduire la quantité de malate disponible dans le fruit (Centeno *et al.*, 2011). Le DHP sous exprime certaines protéines comme l'alcool déshydrogénase (ADH) (RA380 chez NIL-L9). Cette protéine est généralement citée pour être impliquer dans le développement de la flaveur ou dans la maturation des fruits (Speirs *et al.*, 1998), considérée comme protéine signal.

Nos travaux montrent également la surexpression d'une lipoxygénase (RA300, chez NIL-L4). Cette enzyme pourrait être l'une des cinq isoformes de lipoxygénase chez la tomate (Chen *et al.*, 2004). Sa surexpression par le DHP est observée uniquement au stade post-récolte R7, ce qui confirme l'idée de son implication dans le processus de maturation en lien avec l'éthylène (Griffiths *et al.*, 1999; Faurobert *et al.*, 2007), deux rôles lui sont potentiellement attribuables : rôle de production de

métabolite secondaire qui augmente la flaveur des fruits ou un rôle de défense contre les attaques des pathogènes.

Autres protéines influencées par le DHP

D'autres protéines ont été surexprimées en condition DHP, mais leur rôle n'est pas clairement identifié (Nuclear movement protein nudc (RA124), octicosapeptide (RA160), Dihydrodipicolinate reductase (RA369) et Succinyl-diaminopimelate (RA295)), ou alors sous exprimées en condition DHP (une protéase (substilisin-like protein RA196), un octicosapeptide (RA317), une méthylcrotonoyl-CoA carboxylase (RA302) et une sérine thréonine phosphatase (RA310)).

Bilan sur les effets du DHP sur le protéome du fruit :

Le DHP affecte différentes fonctions d'un génotype à l'autre. Il n'y a apparemment pas de protéines spécifiques régulées par le DHP, ce qui peut paraître surprenant, car plusieurs travaux antérieurs ont dans certains cas montré l'existence de protéines spécifiques pour la tolérance à la sécheresse, par exemple, les annexines, les ASR ou encore les dehydrines. Notre étude, réalisée à partir de fruits ayant subi un déficit hydrique long (généralement peu étudié), montre relativement peu de protéines variantes avec le DHP, ce qui suggère une adaptation importante des plantes de tomates pour maintenir la stabilité du protéome du fruit de tomate au cours de son développement, contrairement à d'autres organes qui sont plus sensibles au stress comme les racines (Manaa *et al.*, 2011a).

IV. Discussion

L'approche protéomique permet d'observer de très nombreuses variations des protéines d'un organe comme le fruit dans des conditions différentes (par exemple : génotype, condition hydrique, stade de développement). Pour notre étude, nous avons limité nos recherches aux protéines du péricarpe et plus précisément à une fraction de ces dernières, accessibles via l'EBD. Nous avons suivi l'approche développée par Faurobert *et al.*, (2007) portant sur le protéome total et non sur un protéome ciblé comme celui des parois, qui nécessite des méthodes spécifiques d'extraction et de solubilisation (Konozy *et al.*, 2012). Enfin, nous nous sommes intéressés à un sous ensemble de cette fraction, en étudiant les protéines qui montraient les plus fortes variations en réponse aux facteurs étudiés. Il n'était techniquement et financièrement pas possible de séquencer l'ensemble des protéines observées.

Evolution du protéome au cours du développement

Les plus grandes variations en termes de nombre de spots ont été observées pour l'effet stade, ce qui est cohérent avec la littérature sur la tomate et l'olive, notamment (Faurobert *et al.*, 2007; Bianco *et al.*, 2013) et en lien avec les importants changements physiologiques au niveau du fruit. La cinétique de variation du protéome respecte bien les différentes phases de développement du fruit ainsi que cela a été précédemment observé (Faurobert *et al.*, 2007). En effet, à partir d'une analyse en composantes principales, nous avons pu illustrer les variations quantitatives des protéines. Les protéines les plus impliquées dans la dispersion des génotypes (trois stades confondus) avaient des variations cohérentes avec le stade de développement. Les variations des quantités des protéines ont été plus fortement marquées entre les stades vert et rouge qu'entre les stades rouge et R7. Les variations du protéome entre ces deux stades sont faibles. Nous avons vu que les effets d'interaction entre génotype et stade sont importants. Il en résulte que l'ampleur de la variabilité génétique, à laquelle on peut accéder, varie en fonction du stade de développement considéré.

Spécificité des protéomes

Le protéome du fruit de Cervil a montré des différences importantes par rapport à ceux des deux autres génotypes parentaux à gros fruits, en particulier à partir du stade rouge. De nombreuses protéines ont été surexprimées chez Cervil alors qu'elles ne l'étaient pas pour les autres génotypes, ce qui suggère un métabolisme différent de celui des autres génotypes parentaux, en particulier au cours de la maturation. Parmi les différences observées, certaines fonctions spécifiques d'un génotype

semblent en rapport avec les caractéristiques du fruit. Par exemple, une « acyltransférase » RA117 et une « enoyl reductase » RA360 surexprimées chez Cervil, sont deux protéines connues notamment pour jouer un rôle dans la synthèse de la cuticule (Zheng *et al.*, 2005). Ceci est à rapprocher des plus faibles valeurs de conductance cuticulaire que nous avons observées chez Cervil. De plus, les taux de sucres élevés chez ce génotype pourraient être à rapprocher de l'intensité particulièrement forte, en comparaison aux autres génotypes parentaux, de plusieurs spots de beta fructofuranosidase (RA114, RA151 et RA202). Il est intéressant de noter que VilB, génotype très ferme, montre une expression plus faible de la « beta-hexosaminidase » ainsi que d'autres enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires, ce qui contribuerait à expliquer son phénotype (Meli *et al.*, 2010).

Protéines variantes suite aux introgressions des QTL, quelles origines ?

Dans la littérature, on trouve peu de travaux réalisés sur des NILs aussi bien en protéomique qu'en génomique (blé : (Wang *et al.*, 2012), riz : (Torabi *et al.*, 2009), tomate : (Mihr *et al.*, 2005; Page *et al.*, 2010)).

La comparaison des protéines variantes entre NIL et le parent récurrent a montré qu'ils présentent des protéomes assez similaires ce qui est cohérent avec la faible différence génétique qui les distingue (20 à 50 cM). Quelques protéines sont toutefois variantes sous l'effet de l'introgression et, parmi elles, certaines sont bien codées par des gènes localisés sur la région introgressée. Par exemple, un gène d'ASR porté par le fragment introgressé de Cervil, qui code pour une protéine (RA278) impliquée dans la résistance à la sécheresse (Fischer *et al.*, 2011). En plus de l'introgression de certains gènes de structures dont les produits ont pu être identifiés, nous avons mis en évidence la probable introgression d'éléments de régulation de certaines protéines dont les gènes de structure ne sont pas portés par le QTL. Ainsi, l'introgression du QTL9 dans les deux fonds génétiques (Levovil et VilB) module de façon similaire l'expression notamment d'une « alcool deshydrogenase » (RA118) et une « aldo/keto reductase » (RA164).

Parmi les fonctions des protéines repérées dans ce travail certaines pourraient contribuer au phénotype des NILs. La protéine FIP1 (RA171, codée par un gène du chromosome 7) est surexprimée au stade rouge chez NIL-B9. FIP1, qui est connue pour être impliquée dans la régulation négative de la division et de l'expansion cellulaire (Caro *et al.*, 2007) et est fortement corrélée au nombre de cellules ($R^2=0,99$) et au volume cellulaire ($R^2=0,99$).

Il est intéressant de constater que pour le fond génétique Levovil, c'est au stade R7 que l'on

observe le plus de protéines variantes entre les NILs (L4, L9) et le parent Levovil. Ceci suggère que les effets de l'introgession sont plus importants à ce stade et qu'il serait éventuellement possible d'impacter le statut post récolte du fruit à ce stade.

Modifications du protéome induites par le DHP

Le choix des génotypes de notre étude a été réalisé en fonction de leur texture contrastée et non en fonction d'un différentiel de résistance au stress hydrique et nous ne nous attendions pas à des différences très contrastées entre génotypes pour ce facteur. Par contre, nous ne nous attendions pas à constater une relative stabilité du protéome de fruit en condition DHP par rapport aux témoins. Peu de protéines ont significativement varié en condition DHP ou en interaction avec le DHP par rapport aux autres facteurs étudiés (43 protéines variantes sur 1077 détectées). Il semblerait y avoir un effet « tampon », qui pourrait être dû à la durée d'application du stress ainsi qu'à une spécificité du compartiment fruit. Les travaux de Marjanovic *et al.*, (2012), sur le protéome du fruit de tomate en condition de déficit hydrique (PRD), ont également détecté relativement peu de variations significatives des quantités de protéines (52 protéines variantes sur 1679 spots identifiés) à partir d'une analyse de variance à deux facteurs : stade et traitement hydrique.

Nous avons constaté plusieurs effets d'interaction génotype x DHP, qui concernent des protéines impliquées dans différents voies métaboliques ou processus (croissance, métabolisme primaire, parois, maturation, réponses au stress). Par exemple, une « alpha-L-arabinofuranosidase / beta-D-xylosidase » (RA081) sous exprimée chez Levovil et NIL-L9 en condition DHP au stade R7. Cette enzyme bi-fonctionnelle, responsable de l'hydrolyse des arabinoxylanes et des xylanes (constituants des hémicelluloses) pourrait modifier la texture des fruits. De nombreuses interactions étaient liées à des surexpressions de protéines en condition DHP. L'« acid-beta fructofuranosidase » (RA151) a été surexprimée en condition de DHP, ce qui est cohérent avec les travaux de (Trouverie *et al.*, 2003). Cette surexpression pourrait suggérer une implication dans la régulation du potentiel osmotique. Par ailleurs, des enzymes anti-oxydantes ont été surexprimées en condition DHP : par exemple une « superoxyde dismutase » (RA133) chez NIL-L9, ou encore une peroxydase (RA329) chez NIL-B9. L'augmentation de ces enzymes permettrait de limiter le stress oxydatif potentiellement induit par le stress hydrique (Marquez-Garcia *et al.*, 2011), et de ce fait pourrait contribuer à l'augmentation de la fermeté des fruits observée chez NIL-B9 et NIL-L9 (en compression et en pénétrométrie (Fmax.cut)).

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'ensemble des variations du protéome de péricarpe sous l'effet de différents facteurs (génotype, DHP et stade). Dans le chapitre suivant, les liens entre les protéines et les autres échelles du fruit seront développés.

Chapitre 7 :

Intégration d'approches
écophysiologique et protéomique pour
la compréhension de la texture du fruit

Données	Nom de la variable	Définition	Unité
Texture	FmaxCP	Fermeté globale du fruit, évaluée par compression	N
	CPslop	Rigidité globale du fruit, évaluée par compression	N.m ⁻¹
	Fmax.cuti	Fermeté locale du péricarpe avec la peau, évalué par pénétrométrie	N
	Fmax.sans.cuti	Fermeté locale du péricarpe sans la peau, évalué par pénétrométrie	N
Biochimie	MS.per	Taux de matière sèche du péricarpe	%
	MS.col	Taux de matière sèche de la columelle	%
	MS.gr	Taux de matière sèche des graines	%
	Ca.MS	Concentration en calcium du fruit, exprimée en matière sèche	mg.100gMS ⁻¹
	K.MS	Concentration en potassium du fruit, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	Citrique.per.MS	Concentration en acide citrique du péricarpe, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	Malique.per.MS	Concentration en acide malique du péricarpe, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	Quinique.per.MS	Concentration en acide quinique du péricarpe, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	Glu.per.MS	Concentration en glucose du péricarpe, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	Fru.per.MS	Concentration en fructose du péricarpe, exprimée en matière sèche	g.100gMS ⁻¹
	MIA	Taux de matière insoluble à l'alcool du péricarpe	g.100gMS ⁻¹
	VitC.ox.MS	Concentration en vitamine C oxydée du péricarpe, exprimée en matière sèche	mg.100gMS ⁻¹
	VitC.red.MS	Concentration en vitamine C réduite du péricarpe, exprimée en matière sèche	mg.100gMS ⁻¹
Conductance	Conductance cuticulaire du fruit	cm.h ⁻¹	
Histologie	NBcell	Nombre moyen de cellule du fruit	10 ⁶
	VolCell	Volume d'une cellule moyenne du péricarpe	nl
	Position.relative.faisc	Rapport entre la distance cuticule-faisceaux vasculaires du péricarpe et l'épaisseur du péricarpe	sans unité
	cell.lv.ext.faisc	taille radiale des cellules dans la région externe du péricarpe (entre cuticule et faisceaux)	µm
	cell.lv.int.faisc	taille radiale des cellules dans la région interne du péricarpe (faisceaux et épiderme interne)	µm
	cell.lh.ext.faisc	taille tangentielle des cellules dans la région externe du péricarpe (entre cuticule et faisceaux)	µm
	cell.lh.int.faisc	taille tangentielle des cellules dans la région interne du péricarpe (faisceaux et épiderme interne)	µm
Anatomie	per.fr	Rapport entre le poids frais du péricarpe et le poids frais du fruit entier	sans unité
	col.fr	Rapport entre le poids frais de la columelle et le poids frais du fruit entier	sans unité
	gr.fr	Rapport entre le poids frais des graines et le poids frais du fruit entier	sans unité
	poids	Poids frais du fruit entier	g
	loge	Nombre de loge du fruit	-
	NB.gr	Nombre de graine du fruit	-
Protéome	396 protéines variant avec au moins le stade de développement ou avec le facteur hydrique. Parmi elles, 132 protéines varient avec le stade rouge.		

Tableau 14 : Nom et définition des variables étudiées

Chapitre 7 : Intégration d'approches écophysiological et protéomique pour une meilleure compréhension de la texture du fruit

Dans les chapitres précédents, nous avons montré que les mesures physiques de la texture varient en fonction du génotype et du déficit hydrique et sont représentatives pour certaines d'entre elles, de la texture sensorielle perçue au moment de la consommation du fruit. Nous avons également analysé la variabilité d'un certain nombre de variables anatomiques, histologiques et biochimiques en fonction du génotype et du déficit hydrique. Ces variables ont été mesurées à l'échelle moléculaire, tissulaire ou de l'organe. Dans ce chapitre, notre objectif a été d'identifier les variables ou groupes de variables déterminantes dans la régulation de la texture. Les questions auxquelles nous cherchons à répondre sont les suivantes :

- Quelle est la part du contrôle génétique et environnemental dans les variations de texture ?
- Comment hiérarchiser les rôles des variables anatomiques, biochimiques et histologiques sur la variabilité génétique et environnementale de la texture ?
- Peut-on identifier des liens entre les différents niveaux d'étude de la texture ?
- Peut-on identifier des réseaux de protéines et ou de variables anatomiques et biochimiques qui régulent la texture?
- Comment le génotype et le déficit hydrique perturbent-ils la topologie des réseaux ?

Cet ensemble de questions nous a amenés à collaborer avec deux équipes de statisticiens. En effet nous disposions d'un jeu de données complexe intégrant des variables hétérogènes, c'est-à-dire mesurées sur différents objets (tissu, fruit), qui reflétaient soit des processus cumulés dans le temps (accumulation de matière), soit des processus instantanés (expression du protéome). De plus ce jeu de données comportait un très grand nombre de variables (jusqu'à 438) pour un nombre d'observations relativement faible (4 à 6 observations par individu (6 génotypes), par condition hydrique (2) et par stade) malgré une analyse protéomique très lourde et coûteuse (144 gels). Ce dernier point (déséquilibre variables/individus) a été extrêmement pénalisant pour l'application des méthodes statistiques existantes.

Dans notre jeu de données, l'âge du fruit, le génotype et le déficit hydrique ont été des sources de variations des différentes variables mesurées. L'effet temps a pu être soit ignoré (en travaillant par stade), soit pris en compte selon les méthodes disponibles. Pour la suite nous avons considéré les cinq tableaux de données suivants désignés en fonction de la nature et du mode d'obtention des données (**tableau 14**) : texture, biochimie, histologie, anatomie et protéome. Les données ont pu être traitées

par table, dans ce cas nous disposons de 4 à 6 répétitions biologiques pour 6 génotypes pour chacune des 2 conditions hydriques et aux 3 stades. Néanmoins si l'on souhaite relier statistiquement les différentes tables, les mesures doivent être obtenues sur les mêmes échantillons, c'est-à-dire sur les mêmes fruits. Or certaines mesures ont été destructives, il était donc nécessaire de travailler sur des valeurs moyennes ce qui a réduit le nombre de répétitions à 1 par génotype par condition hydrique et par stade.

Plusieurs pistes d'analyse statistique ont été suivies et appliquées stade par stade :

- L'analyse en **composantes principales** (ACP) qui est classiquement utilisée pour l'analyse des données multiples et qui consiste à transformer des variables liées entre elles en nouvelles variables (composantes principales indépendantes expliquant au mieux la variabilité/variance des données) décorréliées les unes des autres. Elle permet de réduire le nombre de variables et de rendre l'information moins redondante. Ces analyses faites pour chaque tableau de données nous ont permis de sélectionner les variables les plus importantes à retenir pour la suite.
- L'analyse de **corrélations** (Pearson) entre variables, qui est largement utilisée dans des travaux dits intégratifs (Carli *et al.*, 2009; Zushi and Matsuzoe, 2011; Toubiana *et al.*, 2013). Le coefficient de corrélation linéaire mesure l'intensité de la liaison entre deux variables quantitatives et permet de résumer les principales informations portées par un fichier de données. Le coefficient de corrélation peut être trompeur : il ne témoigne pas forcément d'un lien de causalité entre deux variables, notamment parce qu'il peut y avoir une ou plusieurs variables supplémentaires, connues ou inconnues, qui influent sur les variations des variables étudiées. De plus un faible nombre d'observations ne permet pas des estimations précises des corrélations, ce qui est souvent le cas pour les approches intégratives qui exploitent des données obtenues par des technologies de pointe à haut débit (génomique, transcriptomique, protéomique, métabolomique). Malgré tout, le coefficient de corrélation est souvent utilisé pour mettre en évidence des réseaux de régulation, en raison du manque d'outils plus adaptés. Les réseaux de corrélation peuvent être construits avec des outils de type Pajek (Batagelj and Mrvar, 2002) permettant de visualiser avantageusement les corrélations entre de nombreuses variables. Le choix du seuil de significativité des corrélations est important ; différentes méthodes permettent d'ajuster les p-values pour contrôler le risque d'erreur global (Shaffer, 1995; Benjamini and Hochberg, 1997).

- L'analyse des **corrélations partielles** et l'**inférence graphique Gaussienne** de dépendances conditionnelles. Contrairement au coefficient de corrélation qui révèle la proximité entre deux variables prises isolément, les corrélations partielles permettent de connaître le lien entre deux variables en tenant compte des autres variables (lien entre deux variables qui n'est pas dû à la médiation d'une ou plusieurs variables intermédiaires). Le graphe de dépendances conditionnelles est un ensemble de nœuds (variables) et d'arêtes (lien entre deux variables). Un lien existe quand deux variables sont dépendantes conditionnellement à toutes les autres (matrice des corrélations partielles). Pour des variables gaussiennes, la matrice des corrélations partielles s'obtient après inversion de la matrice de covariance. Or quand le nombre d'observations est très supérieur au nombre de variables, la matrice de covariance empirique n'est pas inversible. Dans ce cas, des procédures de sélection des variables pertinentes et non colinéaires peuvent être appliquées qui mettent en œuvre des méthodes développées récemment comme la méthode C01 de Wille et Bühlmann (2006) ou les méthodes de régression pénalisée de type LASSO (Meinshausen and Bühlmann, 2006). La méthode C01 est basée sur des corrélations partielles d'ordre 1 (conditionnellement à une seule autre variable) conditionnelle. La méthode LASSO est basée sur une pénalisation des coefficients de régression dans la vraisemblance conditionnelle. Les graphes inférés par ces différentes approches peuvent être comparés entre eux sur la base d'un critère optimal proposé par Giraud *et al.*, (2008). L'ensemble de la procédure est disponible dans le package R GGMselect (Giraud *et al.*, 2012). Pour inférer un réseau de dépendances conditionnelles, les données doivent être distribuées identiquement, c'est à dire constituer des répétitions d'une même structure de covariance. Or les facteurs génotypiques et de déficit hydrique peuvent influencer sur la structure même du réseau (on peut avoir un lien direct entre A et B en condition témoin qui disparaît en condition DHP). Le réseau des dépendances conditionnelles devrait alors être analysé par génotype et par traitement, mais dans ce cas le nombre de données est insuffisant ! Certains logiciels (ex. SIMoNe, (Chiquet *et al.*, 2009)) permettent de prendre en compte les effets traitement mais ils sont encore plus exigeants en terme de nombre d'observations. Nous avons privilégié la robustesse (GGMselect) et travaillé sur les résiduelles pour éliminer les effets traitement. C'est pourquoi dans un premier temps nous avons analysé pour chaque tableau la part de variabilité liée au génotype et au DHP. Puis les analyses de corrélations partielles ont été faites sur les résiduelles, les effets génotypes et DHP ayant été retirés. Les réseaux obtenus sur les résiduelles sont supposés stables (liés à la structure biologique du système) ce que nous avons testé en analysant les réseaux de variables biochimiques sur différents lots de génotypes.

- **L'Analyse en Co-inertie Multiple ACOM** est une méthode d'ordination simultanée de k tableaux de données qui cherche à identifier une structure (typologie) commune aux différents tableaux, et qui prend en compte la structuration des données par tableau, ce qui peut apporter des informations nouvelles (Bougeard *et al.*, 2008). Cette méthode repose sur la constitution d'un « tableau de référence » par l'assemblage des variables latentes de chaque table. Chaque variable latente, appelée aussi variable canonique, est une caractéristique de la table, mais elle n'est pas directement observable. C'est une nouvelle variable synthétique qui permet une représentation fiable des données initiales dans un sous-espace de dimension réduite. A partir de ce tableau de référence, l'analyse recherche k systèmes d'axes de co-inertie qui maximisent chacun la covariance des coordonnées des projections des colonnes avec un système d'axes de référence, autrement dit c'est une recherche de variables globales qui expliquent au mieux l'ensemble des variables canoniques pour ensuite représenter un espace commun (Chessel, 1996; Thioulouse *et al.*, 1997). La structure commune obtenue dans cet espace commun est un compromis des structures existantes au sein de chaque table, qui peut être ensuite comparée à la structure propre à chaque table et permet de discuter des relations entre chaque table et le compromis (contribution de la table considérée au compromis). Ainsi, l'ACOM permet de déceler des similarités entre tableaux, fournit un « résumé » de l'ensemble des tableaux, et permet de décrire les écarts entre tableaux par comparaison des structures individuelles avec la structure de référence. Pour réaliser cette analyse, les k tableaux doivent avoir en commun soit les lignes soit les colonnes. Dans notre étude, nous disposons de quatre lots de fruits pour chaque génotype, chaque condition hydrique (témoin et DHP) et chaque stade de développement, sur lesquels nous avons réalisé différentes mesures à différents niveaux d'échelles de l'organe aux protéines en passant par les tissus, qui constituent les différents tableaux.

Ainsi, dans ce chapitre, après avoir évalué l'influence du génome et du DHP sur la texture du fruit, les différentes méthodes statistiques énoncées seront utilisées pour identifier les variables les plus déterminantes dans la texture, pour ensuite élaborer et tester un modèle prédictif de la texture de la tomate.

Variance totale expliquée par les effets					
	Données	Génotype (G)	Traitement (E)	Interaction (GxE)	Résiduelle
Texture	instrumentale	51%	8%	4%	37%
	solubles + MIA	65%	5%	4%	26%
Biochimie	minéraux	68%	6%	5%	21%
	MS des tissus	70%	8%	6%	16%
Anatomie	répartition des tissus	69%	1%	3%	27%
	conductance	22%	5%	7%	66%
Protéomique		61%	2%	4%	31%

Tableau 15 : Décomposition de la variabilité totale des différents tableaux en fonctions des facteurs étudiés au stade expansion cellulaire (20DPA)

Variabilité totale expliquée par les effets					
	Données	Génotype (G)	Traitement (E)	Interaction (GxE)	Résiduelle
Texture	sensorielle	52%	0%	2%	46%
	instrumentale	79%	1%	1%	19%
Biochimie	solubles + MIA	52%	4%	9%	35%
	minéraux	19%	22%	14%	55%
	MS des tissus	40%	10%	3%	47%
Histologie	granulométrie	29%	19%	10%	42%
	Nombre et volume cellulaire	64%	1%	1%	34%
Anatomie	répartition des tissus	49%	1%	5%	45%
	conductance	18%	5%	7%	70%
Protéomique		65%	2%	4%	29%

Tableau 16 : Décomposition de la variabilité totale des différents tableaux en fonctions des facteurs étudiés au stade rouge

Variabilité totale expliquée par les effets					
	Données	Génotype (G)	Traitement (E)	Interaction GxE	Résiduelle
Texture	instrumentale	84%	0%	1%	15%
	solubles + MIA	63%	3%	6%	28%
Biochimie	minéraux	26%	16%	11%	47%
	MS des tissus	59%	6%	3%	32%
Anatomie	répartition des tissus	55%	3%	7%	35%
	conductance	7%	4%	8%	81%
Protéomique		60%	2%	6%	32%

Tableau 17 : Décomposition de la variabilité totale des différents tableaux en fonctions des facteurs étudiés au stade R7 (stockés 7 jours à 18-20°C après récolte).

I. Décomposition de la variance de la texture et des variables sous-jacentes sous l'influence du génome et du DHP

Dans cette partie, nous allons évaluer l'influence des facteurs génétique et environnemental (le déficit hydrique) aux différents niveaux d'études du fruit de tomate, dans l'objectif d'identifier les variables clés de la texture et de proposer un premier modèle écophysiological de texture.

Sur les cinq tableaux de données (**tableaux 15 à 17**), la part de la variance totale de chaque variable expliquée par le facteur génétique (G), par le facteur déficit hydrique (E) et par l'interaction des deux facteurs (GxE) a été analysée stade par stade (expansion cellulaire, rouge et post récolte (R7)). La part de la variance restante après déduction des parts des facteurs précédents est appelée résiduelle. Cette part résiduelle est constituée de facteurs naturels biologiques, non induits par les facteurs étudiés (G, E, GxE). Ces facteurs naturels biologiques constituent la variabilité non contrôlée, appelée aussi la variance de différenciation, qui exprime les différences effectives entre les individus soumis à la mesure (Thissen *et al.*, 2009). Calculée à partir des écarts qui existent entre les scores de ces individus et la moyenne de la distribution, elle est "épurée" de l'influence imputable aux facteurs contrôlés. Pour déterminer, la part de variabilité de chaque facteur, nous avons utilisé la fonction DECOMP (package SAISIR (Bertrand, 2011), logiciel MATLAB®). L'ensemble des données est centré et réduit par table afin de donner à chaque variable la même importance. Certains tableaux sont décomposés en sous-tableaux car toutes les variables n'ont pas été mesurées sur les mêmes objets (fruit ou tissu).

Au stade expansion cellulaire, la part de variance expliquée par le facteur DHP et les interactions génotype x DHP était faible quelle que soit la variable (<10% ; **tableau 15**) et restait relativement stable au cours du développement du fruit et de la période post-récolte (**tableaux 16 et 17**). A quelques exceptions près (conductance, granulométrie cellulaire, et teneurs en minéraux aux stades rouge et R7), le génotype a expliqué la majeure part des variations observées. Cependant la part de variation résiduelle était élevée (entre 15 et 70%) et ce quel que soit le stade étudié. Cette variation intra-traitement n'a été expliquée ni par le génotype, ni par le DHP et on peut penser qu'elle résulte de la variabilité inter-plantes au sein d'un même traitement. On a supposé qu'elle était essentiellement liée aux propriétés intrinsèques du fruit dans son environnement local (non maîtrisé et non orienté) et qu'elle était donc homogène pour l'ensemble des observations.

La part la plus importante de la variabilité totale expliquée par le facteur génotype a été observée pour les variables de texture instrumentale (79% au stade rouge et 84% au stade R7), ce qui

a confirmé le poids fort de la génétique que nous avons induit par le choix des génotypes. Au stade rouge, la part expliquée par le génotype était de l'ordre de 47 % en moyenne sur l'ensemble des variables et la part de la variabilité résiduelle était de l'ordre de 42 %. Comme nous l'avons vu dans les précédentes analyses, l'effet du déficit hydrique modéré sur une culture longue de tomates était faible quelle que soit la variable étudiée. Les effets les plus forts du DHP au stade rouge concernaient surtout la granulométrie (19%) et la biochimie (composition des tissus en matière sèche (10%) et en minéraux (22%)). Il est intéressant de noter que pour certaines mesures, comme la conductance dont la variance résiduelle était élevée, ni le facteur génotype, ni le DHP n'ont pu expliquer la variabilité totale de cette mesure.

Dans une étude récente, Manaa *et al.*, (2011b), a montré également que l'effet génétique était plus élevé que l'effet environnemental (stress hydrique) sur le protéome de plantes de tomate. On peut également envisager l'hypothèse que le fruit serait une structure « protégée » par rapport aux effets de l'environnement sur la plante.

Le génome a donc eu globalement une influence majeure par rapport à l'influence du DHP sur la texture du fruit et ses variables sous-jacentes, excepté sur les variables histologiques et certaines variables biochimiques.

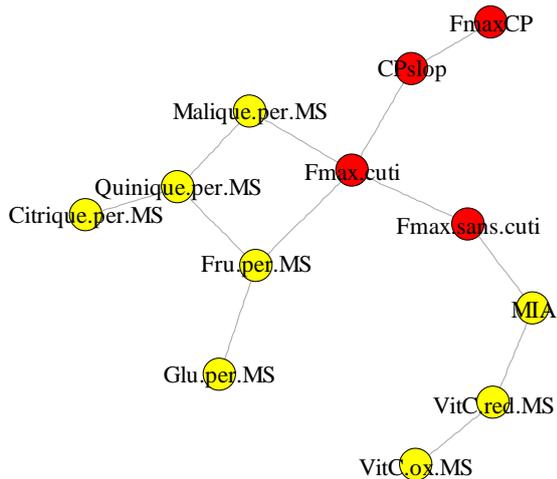


Figure 91 : Réseau de corrélations partielles sur données brutes à partir des 5 génotypes (Cervil exclu) au stade rouge. Les conditions témoin et DHP sont confondues (39 observations). Les variables de texture sont en rouge, les variables biochimiques en jaune.

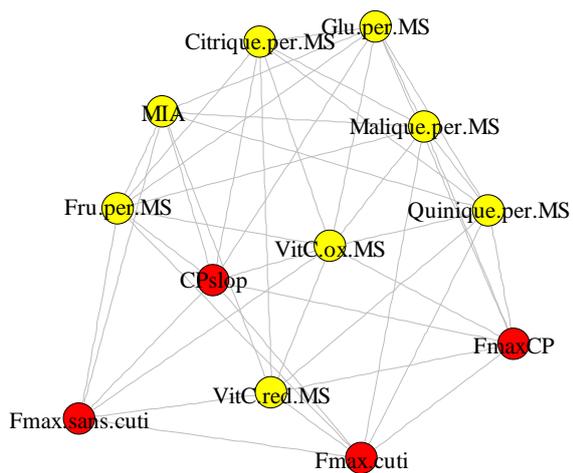


Figure 92 : Réseau de corrélations partielles sur données brutes à partir des 6 génotypes au stade rouge. Les conditions témoin et DHP sont confondues (46 observations). Les variables de texture sont en rouge, les variables biochimiques en jaune.

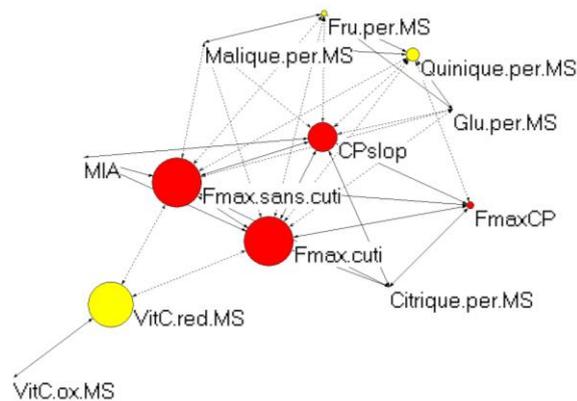


Figure 93 : Réseau de corrélations Pearson sur données brutes à partir des 5 génotypes (Cervil exclu) au stade rouge. Les conditions témoin et DHP sont confondues (39 observations). Les variables de texture sont en rouge, les variables biochimiques en jaune. Les traits continus représentent une corrélation positive, les traits en pointillés : une corrélation négative.

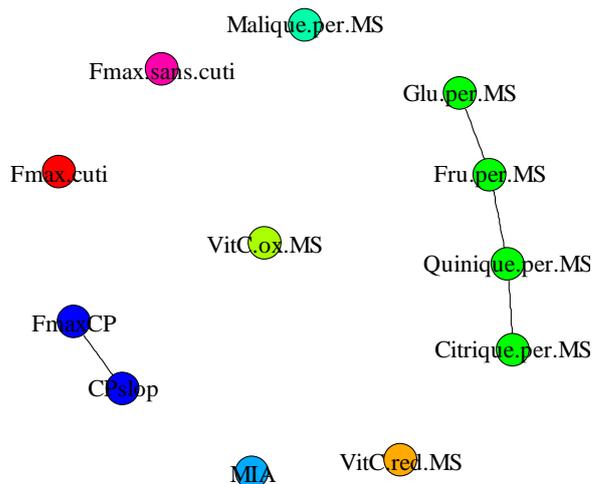


Figure 94 : Réseau de corrélations partielles sur données résiduelles (suppression effet génotype) à partir des 5 génotypes (Cervil exclu) au stade rouge. Les conditions témoin et DHP sont confondues (39 observations).

II. Test des méthodes d'inférence de réseaux de corrélations entre variables

Dans la suite des analyses nous avons travaillé sur l'inférence de réseaux à partir de corrélations partielles pour trouver des liens « fonctionnels » entre les différentes variables étudiées grâce à la procédure GGMselect de R. Les algorithmes sont robustes, mais s'appliquent dans des conditions précises et nécessitent de nombreuses observations. Les observations doivent être des répétitions biologiques homogènes, c'est-à-dire des répétitions d'un même schéma biologique. Dans la suite de notre étude, nous utiliserons différents termes pour caractériser le type de données utilisées pour les analyses : données brutes (données originales), données moyennes (moyennes des données brutes par génotype et par traitement), données résiduelles (données originales transformées pour supprimer les effets induits par les facteurs étudiés).

Afin d'illustrer les différences entre les corrélations partielles et les corrélations de Pearson, nous avons représenté les graphes correspondants (**figures 91 et 93**) obtenus à partir des mêmes données brutes de 5 génotypes (Cervil étant exclu) et de 12 variables biochimiques et de texture mesurées sur les mêmes échantillons de péricarpe. L'inférence du réseau de corrélation de Pearson a été effectuée en ajustant les p-values pour un taux de faux positifs nominal de 5%. Les conditions témoin et DHP ont été confondues considérant que l'effet déficit hydrique était négligeable d'après nos précédents résultats. Le réseau de corrélations de Pearson (**figure 93**) était composé de nombreuses arêtes (34) alors que le réseau de corrélations partielles (**figure 91**) en comprenait 12 dont 2 n'étaient pas dans le réseau de corrélations de Pearson, ce qui a suggéré que 24 liens seraient des liens induits et non des liens directs. On notera dans les deux cas la position centrale de la variable de texture « Fmax.cutu ». Néanmoins, la réalisation des réseaux de corrélations partielles à partir de données brutes, était très dépendante du jeu de données étudié comme l'ont illustré les figures 91 et 92. La figure 92 représentait un réseau de corrélations partielles obtenu à partir de 46 observations soit 6 génotypes (dont Cervil) sur les mêmes variables que la figure 91 obtenue sur 5 génotypes. L'ajout d'un génotype a entraîné une augmentation du nombre d'arêtes (45) sur les données non transformées. La présence de Cervil qui est relativement atypique (petit fruit riche en matière sèche) a généré de nombreux liens entre toutes les variables (**figure 92**), parmi lesquelles on peut présumer un nombre important de liaisons fortuites. En l'absence de Cervil, la comparaison des réseaux de corrélations partielles obtenus sur les résiduelles (**figure 94**) et sur les données brutes (**figure 91**) était cohérente mais il y avait plus de liaisons significatives entre variables dans le cas des données brutes (12 contre 4). Autrement dit, on peut travailler sur les données brutes si l'on est sûr que le jeu de données est homogène (même structure de réseau entre les différents génotypes) ce qui n'est pas

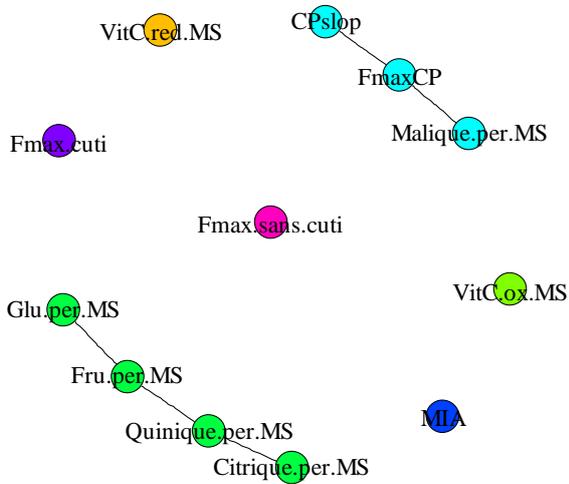


Figure 95 : Réseau de corrélations partielles sur données résiduelles (suppression effet génotype) à partir des 6 génotypes au stade rouge. Les conditions témoin et DHP sont confondues (46 observations).

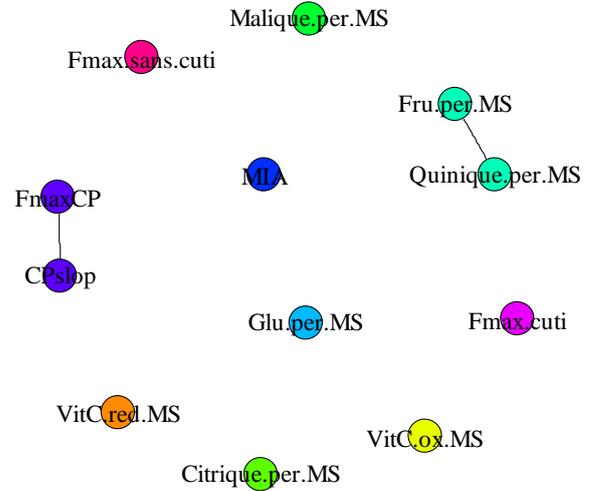


Figure 97 : Réseau de corrélations partielles sur données brutes à partir des 3 génotypes du fond génétique L (Levovil, NIL-L4 et NIL-L9) en condition DHP au stade rouge (12 observations).

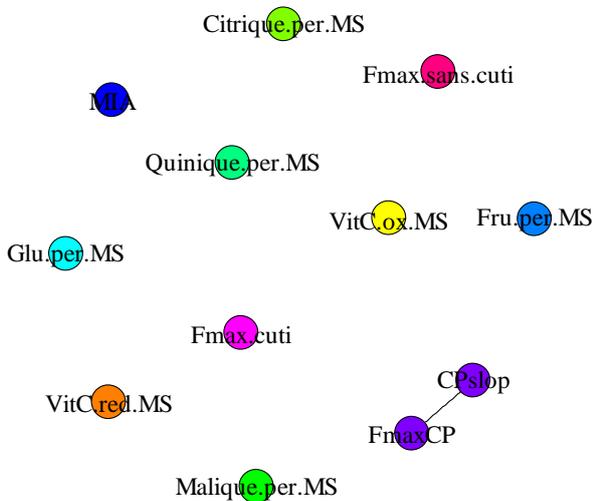


Figure 96 : Réseau de corrélations partielles sur données brutes à partir des 3 génotypes du fond génétique L (Levovil, NIL-L4 et NIL-L9) en condition témoin au stade rouge (11 observations).

facile à savoir a priori en particulier dans le cas du protéome. De plus, l'utilisation des algorithmes calculant les corrélations partielles à partir de données brutes (non résiduelles) a pu générer des faux liens (liens indirectes, sans lien de causalité) (**figures 91 et 92**) pouvant être liés au plan d'expérience (choix des génotypes). Le réseau de la figure 94 a illustré la typologie générale des liens entre les variables analysées, car il était indépendant des génotypes étudiés. Pour confirmer cette typologie, nous avons réalisé un réseau de corrélations partielles en ajoutant les données d'un autre génotype (Cervil) et en travaillant sur les données résiduelles. Le réseau obtenu (**figure 95**) était identique à celui de la figure 94, il a confirmé la stabilité de la typologie générale obtenue sur les résiduelles.

Pour poursuivre cette analyse, nous avons comparé la topologie obtenue sur les résiduelles et 5 génotypes (**figure 94**) avec le réseau de corrélations partielles (**figure 96**) obtenu à partir des données brutes du fond génétique L en condition témoin (fond génétique comportant le plus grand nombre d'observations par rapport au fond génétique B), soit trois génotypes très proches : Levovil, NIL-L4 et NIL-L9 pour lesquels les données étaient relativement homogènes, et étaient considérées comme des répétitions biologiques. Seul le lien entre les variables de texture en compression (FmaxCP et CPslop) était toujours significatif. Les liens entre les solubles (acides et sucres) n'étaient plus significatifs. Par contre, ce lien a été à nouveau mis en évidence en condition DHP (**figure 97**).

Les analyses sur les résiduelles ont donc donné des réseaux assez stables, indépendant des effets des traitements. Les mêmes réseaux ont été retrouvés sur des lots de données homogènes avec moins de liens à cause du nombre limitant de données. En résumé, si les données sont homogènes, on peut travailler sur les données brutes afin de privilégier le nombre d'observations, sinon il faut travailler sur les données résiduelles, auquel cas moins de liens sont mis en évidence, mais ces liens sont plus stables. Par exemple, le nombre d'observations (11 et 12) pour les figures 96 et 97 était faible, ce qui a réduit la puissance des algorithmes, c'est-à-dire la découverte des vrais liens entre variables.

Les réseaux de corrélations partielles peuvent être influencés également par un paramètre K apparaissant dans la pénalité de la procédure GGMselect. La valeur de K est inconnue a priori. Les auteurs de GGMselect ont proposé une valeur par défaut de 2,5 établie sur la base de simulations. Nous avons effectué de nouvelles simulations pour tenir compte des dimensions spécifiques de nos jeux de données. Nous avons ainsi pu étudier l'influence de K sur la puissance de détection de vrais liens (PUISS) et sur le taux de liens détectés par erreur (FDR). Nous avons également étudié l'effet de la structure des graphes que nous avons caractérisés par leurs degrés moyen (Dmoy) et maximum (Dmax), le degré étant le nombre de liens à chaque variable, calculés à partir de 1000 simulations.

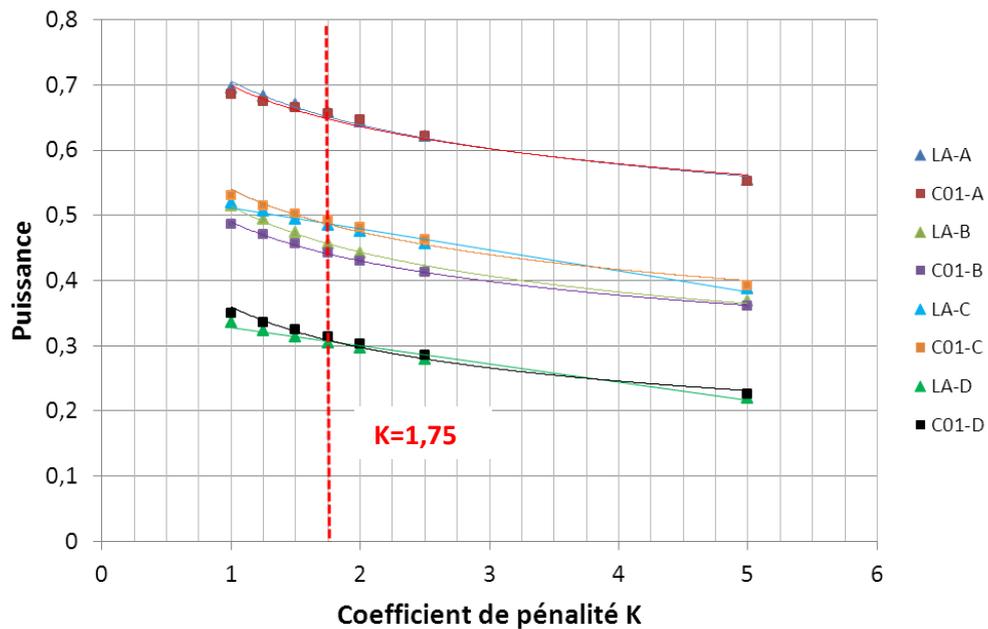
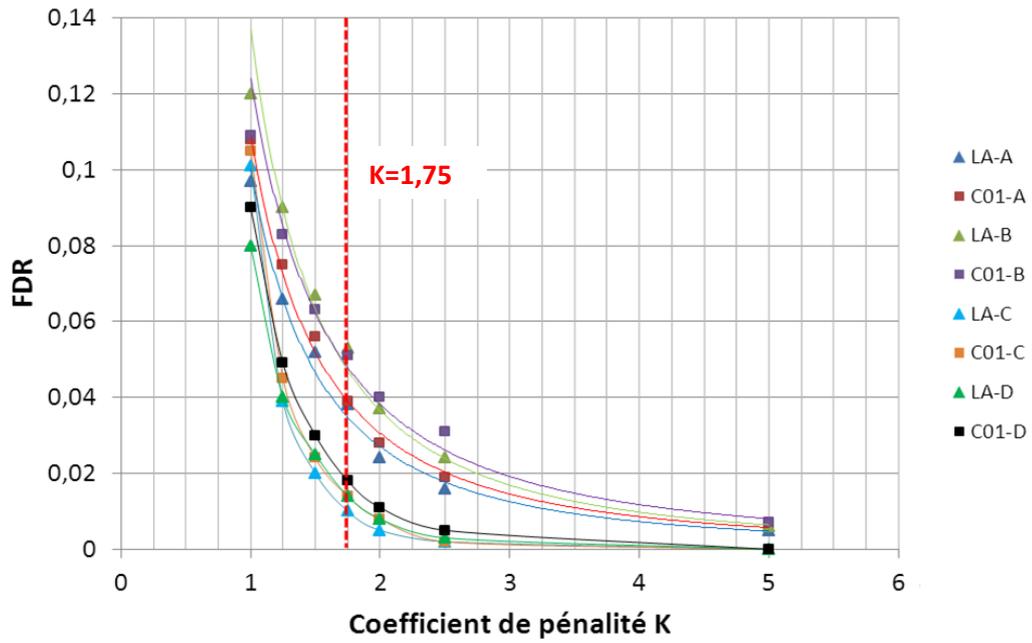


Figure 98 : FDR et puissance en fonction du coefficient de pénalité K , calculés à partir de graphes simulés avec les algorithmes LA et C01, A et B, ayant pour dimensions communes : $n = 39$ et $p = 12$ les graphes simulés ont pour caractéristiques : A : $D_{moy} = 1,1$ et $D_{max} = 3$, B : $D_{moy} = 1,9$ et $D_{max} = 4,4$; puis C et D ayant pour dimensions communes $n = 40$ et $p = 136$, les graphes simulés ont pour caractéristiques : C : $D_{moy} = 0,7$ et $D_{max} = 4,7$, D : $D_{moy} = 1,7$ et $D_{max} = 8$. En pointillés rouge est représentée la valeur de $K = 1,75$, retenue pour un FDR faible ($< 0,054$) et une puissance optimisée (augmenté de 3 et 5% par rapport à la valeur par défaut $K = 2,5$).

Pour chaque jeu de paramètres, nous avons simulé 20 jeux de données à partir de 20 graphes différents. La figure 98 a montré que, dans une configuration de dimensions ($n=39$ et $p=12$), qui correspondait à l'analyse des données biochimiques pour 5 génotypes au stade rouge (**figure 94**), pour $K = 1,75$, le FDR est resté inférieur à 0,05 et la puissance a été augmentée de 3% par rapport à la valeur par défaut ($K=2,5$). De même, dans la configuration de dimensions ($n=40$ et $p=136$), qui correspondait à l'analyse des données de types protéomique au stade rouge pour 5 génotypes, les deux types de graphes simulés ont montré que pour $K=1,25$, le FDR est resté inférieur à 0,05 et la puissance a été augmentée de 5% par rapport à la valeur par défaut ($K=2,5$). On notera que la puissance diminue fortement lorsque le degré moyen (D_{moy}) augmente. Pour un degré moyen de 0,7 la puissance est d'environ 50% alors qu'elle passe à 33% pour un degré moyen de 1,9.

Ainsi pour le calcul des corrélations partielles, étant donné l'hétérogénéité de nos données, nous travaillerons de préférence sur des données résiduelles quand les différentes variables étudiées ont été obtenues sur le même fruit (même individu statistique), ce qui nous permet de supprimer les effets génotypes (effet majeur). Si cela n'est pas possible, nous travaillerons sur des moyennes de données brutes par génotype et par condition. Dans ce dernier cas, étant donné le nombre insuffisant d'observations, nous ne pouvons faire l'inférence séparément pour chaque condition, nous agrégeons alors les deux conditions en supposant que les données sont homogènes afin de conserver un nombre d'observations raisonnable.

Nous utiliserons également un coefficient de pénalité K adapté en fonction des dimensions des jeux de données analysés pour augmenter la puissance des tests : $K=1,75$ pour les jeux de données de faibles dimensions ($n=39$ et $p=12$) et $K = 1,25$ pour les données de grandes dimensions ($n=40$ et $p=136$).

III. Analyses des liens entre les variables anatomiques, histologiques, biochimiques, protéomiques et la texture du fruit, pour essayer de mettre en évidence les variables les plus pertinentes dans l'élaboration et le maintien de la texture

L'objectif de cette partie était d'identifier parmi les variables mesurées, celles qui contribuaient le plus à l'élaboration et au maintien de la texture du fruit. Ainsi, pour chaque tableau de données (anatomique, histologique, biochimique et protéomique), nous avons étudié les liens avec la texture instrumentale par des analyses en composantes principales, par des réseaux de corrélations de Pearson et par des réseaux de corrélations partielles sur les données résiduelles quand il était possible de supprimer les effets génotypes et déficit hydrique. Les cercles des corrélations des ACP nous ont informés sur les corrélations entre variables en fonction de l'angle qui les séparaient sur le cercle. Un angle proche de 0° signifie une corrélation positive forte, de même qu'un angle de 180° signifie une forte corrélation négative entre variables, à condition que la variable soit proche du bord du cercle. Les corrélations de Pearson, représentées sous forme de réseaux, ont montré également des corrélations positive et négative entre variables avec un FDR inférieur à 0,05, ce qui a permis de réduire le nombre de corrélations aux plus positives par rapport au cercle de corrélations de l'ACP. Néanmoins, ce type de réseau ne donne pas d'information sur les liens de causalité entre variables contrairement au réseau de corrélations partielles. Ce dernier type de réseau, est cependant plus sévère, le nombre de faux positif est limité, mais nécessite de travailler sur des données homogènes (d'où l'intérêt de travailler sur les données résiduelles quand les données sont hétérogènes). Dans ce chapitre, les données ont toutes été centrées et seul le stade rouge a été analysé (seul stade « consommable »). Cervil a été exclu pour les ACP et les corrélations de Pearson car il réduisait fortement la lisibilité des effets plus faibles comme l'effet DHP. Nous avons donc travaillé uniquement sur 5 des 6 génotypes étudiés jusqu'à présent : Levovil, NIL-L4, NIL-L9, VilB et NIL-B9. Néanmoins, dans le cas des réseaux établis sur les résiduelles, Cervil a été conservé pour augmenter le nombre d'observations biologiques.

Conscient des limites (nombre d'observations limitant, nombre de variables important, taux de faux positifs élevé, données hétérogènes) de chaque type d'analyse utilisé (ACP, réseau de corrélations de Pearson, réseau de corrélations partielles), nous avons choisi d'appliquer ces différentes analyses qui se complètent pour mettre en évidence globalement les liens les plus forts entre les variables étudiées.

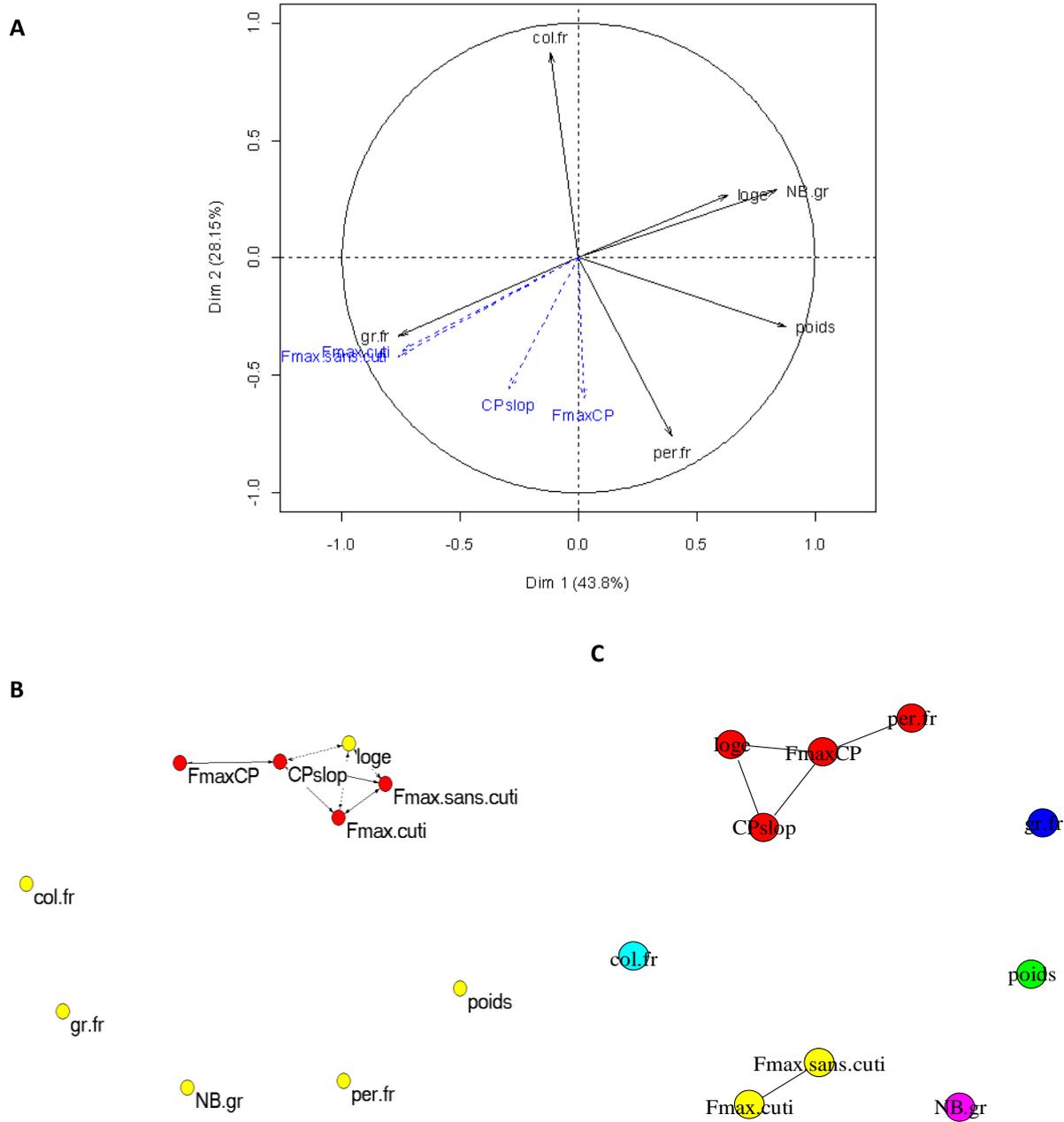


Figure 99 : Analyses réalisées sur les données brutes moyennes des **5 géotypes** dans **2 conditions hydriques** à partir des **variables anatomiques** et les **variables de texture** au stade rouge. **A** : **Cercle des corrélations** obtenu à partir d'une ACP entre les variables anatomiques (noir), les variables (illustratives) de texture sont en bleu. **B** : **Réseau de corrélations (Pearson)** entre les variables anatomiques (en jaune) et les variables de texture (en rouge). Seules les corrélations avec un FDR < 0,05 sont retenues. En pointillées sont représentées les corrélations négatives et en trait continu, les corrélations positives. **C** : **Réseaux de corrélations partielles**, avec K=1,75. Loge : nombre de loge; per.fr : rapport du poids frais du péricarpe et du poids frais du fruit entier ; col.fr : rapport du poids frais de la columelle et du poids frais du fruit entier ; gr.fr : rapport du poids frais des graines et du poids frais du fruit entier ; poids : poids frais du fruit.

III.1. Liens entre les variables anatomiques et les variables de texture

D'après l'analyse globale des figures 99 A, B et C, les variables de texture en pénétrométrie avec et sans épiderme ($F_{max.cuti}$ et $F_{max.sans.cuti}$) ont été corrélées positivement avec la proportion de graines par rapport au fruit, mais aussi négativement avec le nombre de graines (pour la position des génotypes, voir la **figure 50** du chapitre 5). Les fruits les plus fermes avaient aussi une proportion de graines élevée mais moins de graines, autrement dit, la fermeté serait corrélée aux grosses graines. Cependant, ce lien n'a pas été confirmé par le réseau de la figure 99 C et pourrait être fortuit. Le rôle des graines dans la fermeté n'est pas clairement établi. Néanmoins leur présence et leur maturité dans le fruit est nécessaire (sauf pour les fruits parthénocarpiques) pour déclencher la maturation des fruits climactériques comme la tomate via la production d'éthylène. Le processus de maturation commencé, le fruit change de couleur, produit des arômes, et les tissus charnus du fruit se ramollissent.

La fermeté en compression (F_{maxCP}) a été associée à de fortes proportions du péricarpe, et à de faibles proportions de columelle (**figures 99 A et C**). L'implication du nombre de loges dans la texture du fruit a été suggérée par une corrélation (Pearson) négative entre ces variables (**figure 99B**). Le réseau de corrélations partielles a confirmé que l'anatomie du fruit au travers du nombre de loges et de la proportion de péricarpe était déterminante sur les variables de texture en compression (**figure 99C**). Par contre, l'anatomie a peu influencé la texture mesurée en pénétrométrie. Un faible nombre de loges et une proportion du péricarpe importante par rapport au fruit créeront une architecture du fruit plus ferme en compression. Barrett *et al.*, (1998), ont souligné également, l'influence de la forme du fruit et des proportions des tissus sur les mesures de compression. Nos précédents travaux (Aurand *et al.*, 2012) ont également montré des corrélations négatives entre le nombre de loges et la fermeté en compression et en pénétrométrie. Barrett *et al.*, (1998), ont suggéré que le nombre et l'épaisseur des cloisons du fruit pourraient influencer la résistance du fruit à la déformation, alors que d'autres travaux indiquaient l'absence de lien entre fermeté et nombre de loges (Chaib *et al.*, 2007).

Un fruit avec peu de loges, des grosses graines peu nombreuses, une proportion de péricarpe importante et une faible proportion de columelle serait donc plus ferme en compression. Il est à noter également que les variables de texture mesurées en compression et en pénétrométrie n'étaient pas corrélées d'après les figures 99 A et C.

Les variables les plus importantes pour décrire la texture en compression étaient le nombre de loges et la proportion de péricarpe par rapport au fruit entier.

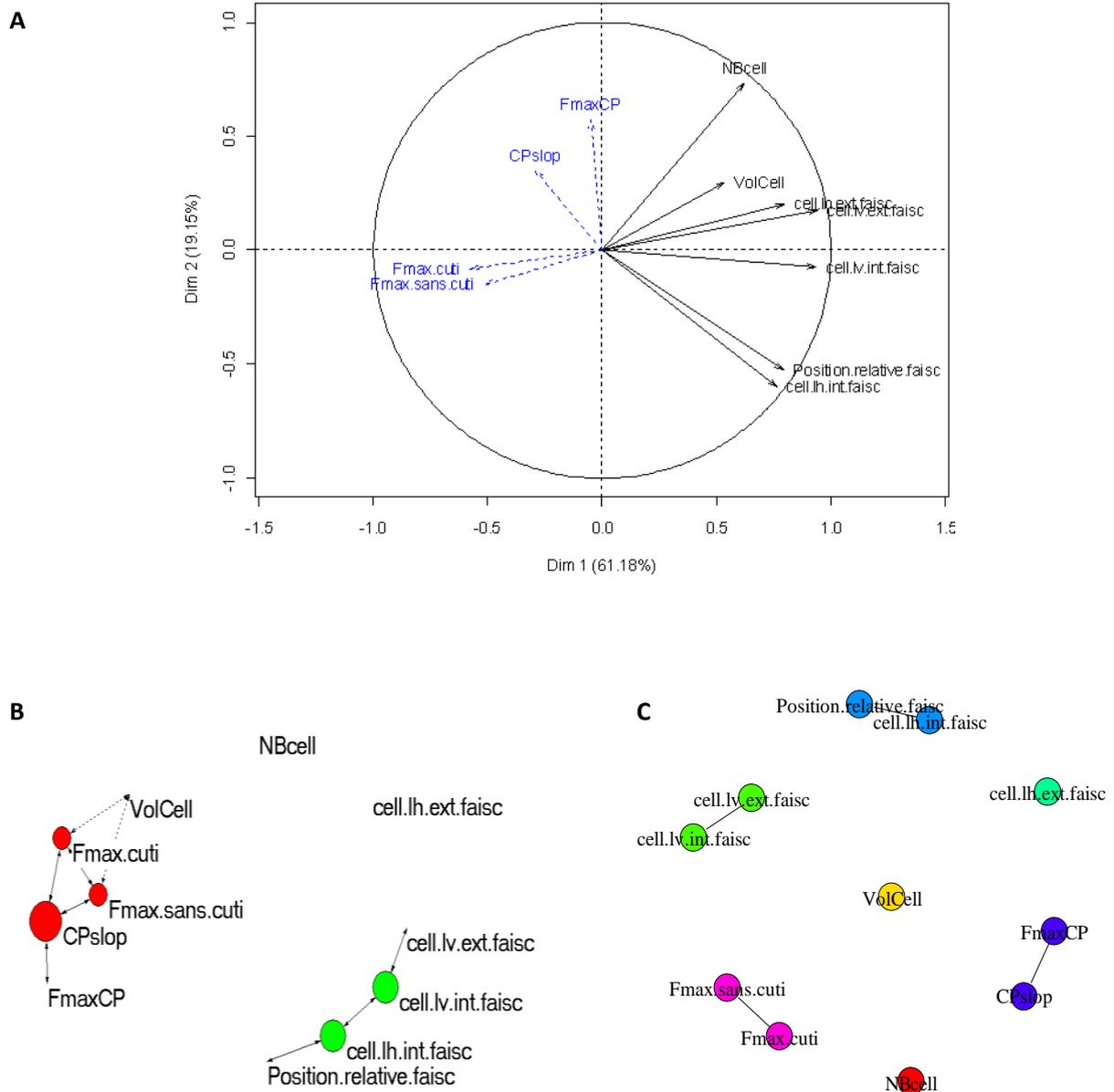


Figure 100 : Analyses réalisées sur les données brutes moyennes des **5 génotypes** dans **2 conditions hydriques** à partir des **variables histologiques** et des **variables de texture** au stade rouge. **A** : **Cercle des corrélations** obtenu à partir d'une ACP entre les variables histologiques (noir), les variables (illustratives) de texture sont en bleu. **B** : **Réseau de corrélations (Pearson)** entre les variables de texture (rouge) et les variables histologiques (vert), choisies avec un FDR <0,05. La taille des nœuds (variables) dépend de son nombre de corrélations avec les autres variables et de sa position au sein du réseau. Les traits continus représentent une corrélation positive, les traits en pointillés une corrélation négative. **C** : **Réseaux de corrélations partielles**, avec K=1,75. Position.relative.faisc : position relative des faisceaux par rapport à la largeur du péricarpe ; cell.lv.faisc : taille radiale des cellules dans la région externe (ext) ou interne (int) du péricarpe ; cell.lh.faisc : taille tangentielle des cellules dans la région externe (ext) ou interne (int) du péricarpe ; NBcell : nombre moyen de cellule du péricarpe ; VollCell : volume moyen d'une cellule du péricarpe.

III.2. Liens entre les variables histologiques et les variables de texture

La fermeté en pénétrométrie avec et sans épiderme était négativement corrélée avec le volume moyen d'une cellule (en accord avec Aurand *et al.*, 2012) et avec la taille des cellules (tangentielle et radiale) dans la région externe du péricarpe (**figure 100A**). D'après l'analyse des réseaux de corrélations, seul le réseau de corrélations (Pearson) a confirmé les corrélations négatives entre la Fmax avec et sans épiderme et le volume cellulaire, alors qu'aucune relation n'a été détecté par les corrélations partielles.

Un fruit ferme en pénétrométrie aurait donc des petites cellules. Dès 1970, Reeve avait suggéré l'hypothèse que des petites cellules avec peu d'espace intercellulaires génèrent une texture compacte, alors que des grosses cellules conduisent à une texture spongieuse. D'autres auteurs ont ensuite montré l'influence du nombre, de la taille et de la forme des cellules sur la texture des fruits charnus (Abbott and Lu, 1996; Mann *et al.*, 2005; Chaib *et al.*, 2007; Nardozza *et al.*, 2011; Lahaye *et al.*, 2013). Chaib *et al.*, (2007), ont suggéré que des cellules allongées seraient liées au caractère farineux du fruit. Ces auteurs ont précisé également l'existence d'une corrélation entre la fermeté et la présence de petites cellules sous la cuticule. Nos travaux ont confirmé le lien entre la petite taille des cellules situées entre la cuticule et les faisceaux sur la fermeté. Des récents travaux (Lahaye *et al.*, 2013), ont précisé que la densité cellulaire n'apparaissait pas comme un déterminant majeur des propriétés mécaniques du péricarpe.

Les variables de texture mesurées en compression (FmaxCP et CPslop) n'étaient pas associées aux variables histologiques d'après nos résultats.

La variable la plus déterminante dans la texture du fruit en pénétrométrie était donc le volume cellulaire et en particulier dans la région cuticule-faisceaux du péricarpe.

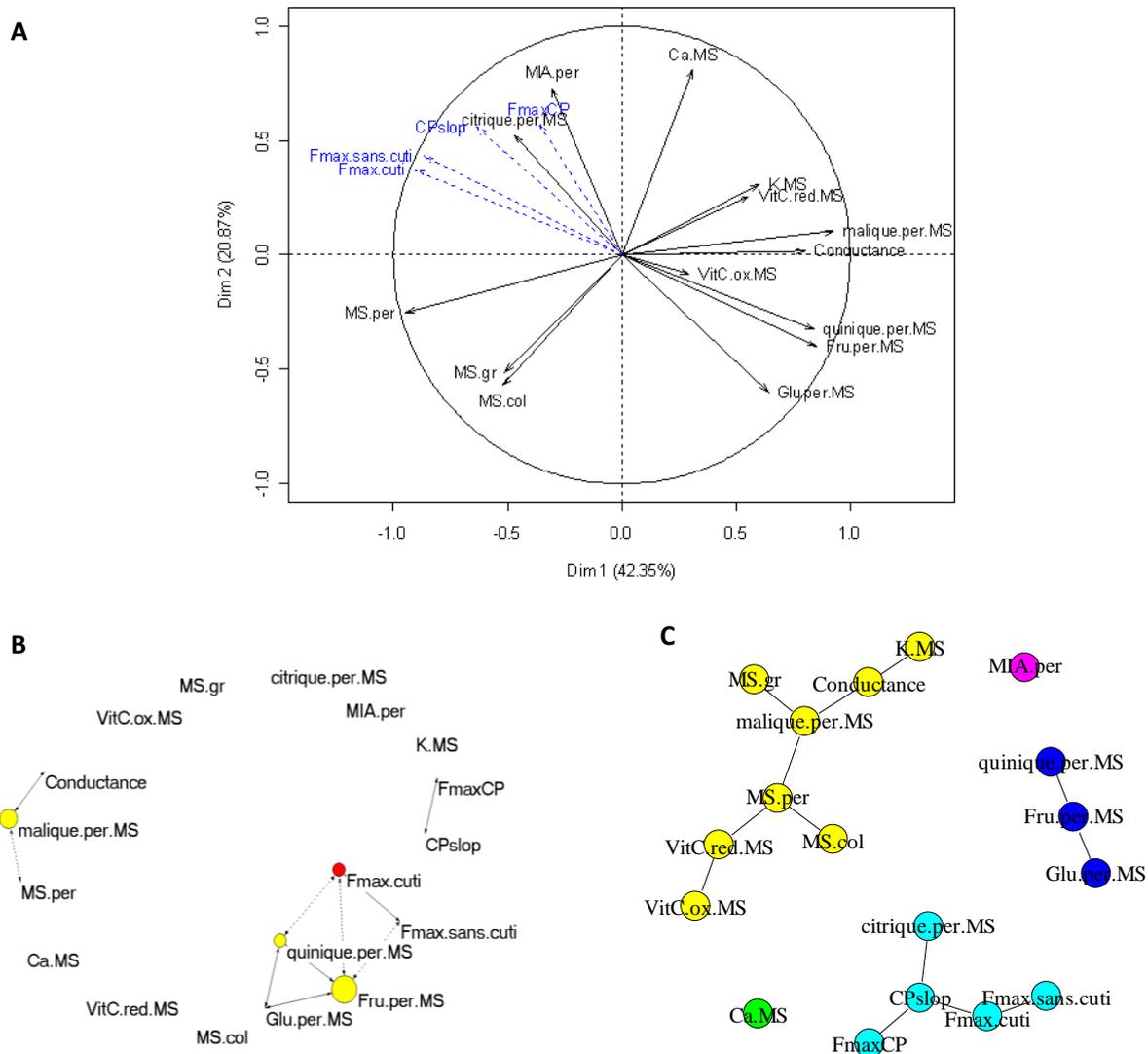


Figure 101 : Analyses réalisées sur les données brutes moyennes des **5 génotypes** dans **2 conditions hydriques** à partir des **variables biochimiques** et des **variables de texture** au stade rouge. **A** : **Cercle des corrélations obtenu** à partir d'une ACP entre les variables biochimiques (noir), les variables (illustratives) de texture sont en bleu. **B** : **Réseau de corrélations (Pearson)** entre les variables de texture (rouge) et les variables biochimiques (jaune), choisies avec un FDR <0,05. La taille des nœuds (variables) dépend de son nombre de corrélations avec les autres variables et de sa position au sein du réseau. Les traits continus représentent une corrélation positive, les traits en pointillés une corrélation négative. **C** : **Réseaux de corrélations partielles**, avec K=1,75. MIA : matière insoluble à l'alcool, MS.per : taux de matière sèche du péricarpe, MS.col : taux de matière sèche de la columelle, MS.gr.gel : taux de matière sèche du gel et des graines, Glu : concentration en glucose du péricarpe ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), de même pour Fru : fructose, Citrique : acide citrique, Malique (acide malique), Quinique : acide quinique, Ca : calcium (en $\text{mg}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), K : potassium. VitC.red : vitamine C réduite, VitC.ox : vitamine C oxydée. Conductance : conductance cuticulaire

III.3. Liens entre les variables biochimiques et les variables de texture

D'après l'ACP, les fermetés avec et sans épiderme (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) ont été associées à de faibles concentrations en acide quinique et en fructose (**figure 101A**). Le réseau de corrélations (**figure 101B**) a confirmé les corrélations négatives entre la fermeté en pénétrométrie avec et sans épiderme et la concentration en fructose, ainsi que la corrélation négative entre la fermeté avec épiderme et la concentration en acide quinique. Le réseau de corrélations partielles sur les données brutes moyennes (**figure 101C**) et sur les résiduelles (non présentées) n'a pas confirmé pas ces hypothèses.

La fermeté et la rigidité globale du fruit (FmaxCP et CPslop) semblaient être associées à de forts taux de MIA et d'acide citrique et négativement aux concentrations en acide quinique, fructose, glucose, eux-mêmes fortement liés (**figures 101 B et C**). Cependant, le réseau de corrélations partielles sur les données brutes moyennes a suggéré un lien entre la rigidité (CPslop) et la concentration en acide citrique. L'augmentation du taux de MIA contribuerait à renforcer l'architecture cellulaire, et de ce fait, augmenterait la fermeté et la rigidité globales du fruit mesurées en compression. Le taux de MIA qui représente généralement 27% du poids sec total du fruit, inclut 8% de protéines, 7% de substances pectiques, 4% d'hémicellulose et 6% de cellulose (Davies and Hobson, 1981). Le taux de MIA pourrait donc être associé à la proportion de composés pariétaux. Nous avons vu dans le paragraphe précédent la corrélation négative entre la fermeté et la taille des cellules. On peut donc supposer que s'il y a beaucoup de petites cellules dans le péricarpe des fruits fermes, il y aura également une forte proportion de composés pariétaux. Pourtant peu de travaux évoquent un lien entre le taux de MIA et la fermeté du péricarpe. Naveen *et al.*, (2011), ont supposé que l'augmentation des taux de MIA dans les fruits de tomates serait plutôt liée à l'augmentation de l'épaisseur du péricarpe plutôt qu'à la fermeté des fruits. D'autres auteurs (Barrett *et al.*, 1998), associaient ce taux à la viscosité du fruit. Plusieurs travaux ont déjà suggéré l'importance du potentiel osmotique sur les propriétés mécaniques du péricarpe (Shackel *et al.*, 1991; Harker *et al.*, 1997a; Barrett *et al.*, 1998; Saladie *et al.*, 2007). Au cours de ses travaux, Saladie *et al.*, (2007), ont montré que des mutants DFD (Delayed Fruit Deterioration), dont le ramollissement était ralenti au cours de la maturation, présentaient une pression de turgescence élevée par rapport à une variété à maturation normale. Shackel *et al.*, (1991) ont expliqué que la relation entre pression de turgescence cellulaire et potentiel osmotique était complexe au cours de la maturation de la tomate, du fait d'un changement probable de la répartition des solutés (principalement sucres ou les acides organiques) entre les compartiments symplasmique et apoplasmique. Ces modifications de répartition des solutés pourraient altérer la pression de turgescence cellulaire sans affecter la pression osmotique de

l'ensemble du tissu.

Nos résultats ont suggéré une corrélation négative entre fructose et fermeté, il était assez surprenant de voir que ce lien entre hexose et fermeté n'a pas été retrouvé pas pour le glucose, alors que généralement les concentrations en glucose et fructose sont fortement corrélés dans le fruit de tomate (cf **figure 101C** : les concentrations en fructose, glucose et acide quinique étaient liées). De même que la corrélation positive entre la rigidité et la concentration en acide citrique, et la corrélation négative entre la fermeté et l'acide quinique n'ont pas été identifiées à ce jour. Les acides organiques interviennent fortement dans la régulation osmotique, mais aussi connus comme précurseurs de composés phénoliques jouant ainsi sur la flaveur des fruits (Kader, 2008).

En résumé, un fruit ferme en pénétrométrie aurait une faible concentration en fructose et en acide quinique. Et la rigidité globale du fruit serait plus importante avec des faibles concentrations en acide quinique et avec de fortes concentrations en acide citrique. Le MIA pourrait avoir un lien positif avec la rigidité.

<p>Les variables les plus déterminantes pour décrire la texture en pénétrométrie étaient donc le fructose et l'acide quinique, et pour décrire la texture en compression : le taux de MIA et l'acide citrique.</p>
--

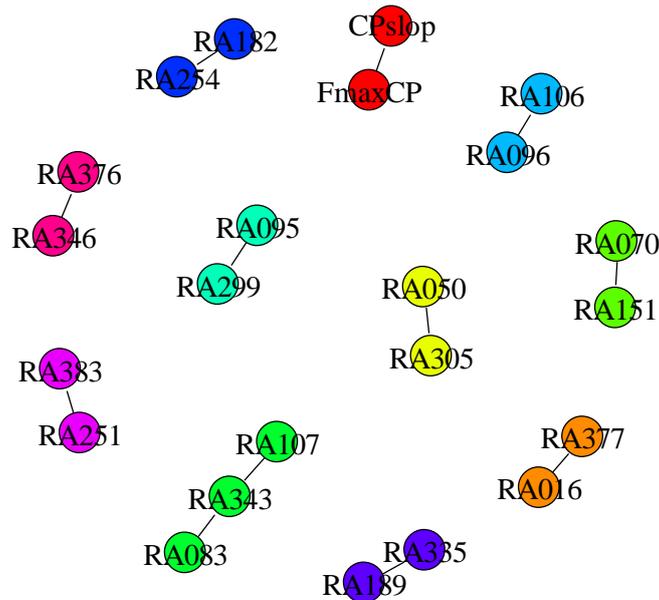


Figure 102 : Réseau de corrélations partielles entre les variables de texture et de protéomique (103), calculées à partir des résiduelles (suppression des effets génotype et DHP) $K=1,25$. (RA096 et RA106 : HSP ; RA335 : HSP et RA189 Peptide methionine sulfoxide reductase msrA ; RA346 : HSP et RA376 : NA ; RA083 : Oxalyl-CoA decarboxylase, RA343 : Lipoxygénase et RA107 : Malic enzyme ; RA016 : S-adenosylmethionine synthase et RA377 : Dihydrolipoyl dehydrogenase ; RA050 : Ribulose bisphosphate carboxylase et RA305 : Chloride intracellular channel 6 ; RA070 : Dehydroascorbate reductase et RA151 : Acid beta-fructofuranosidase ; RA182 : Receptor like kinase et RA254 : NAD-dependent epimerase/dehydratase ; RA095 et RA299 : HSP ; RA251 : Fructokinase et RA383 : Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase, FmaxCP : Fermeté en compression, CPslop : rigidité globale du fruit).

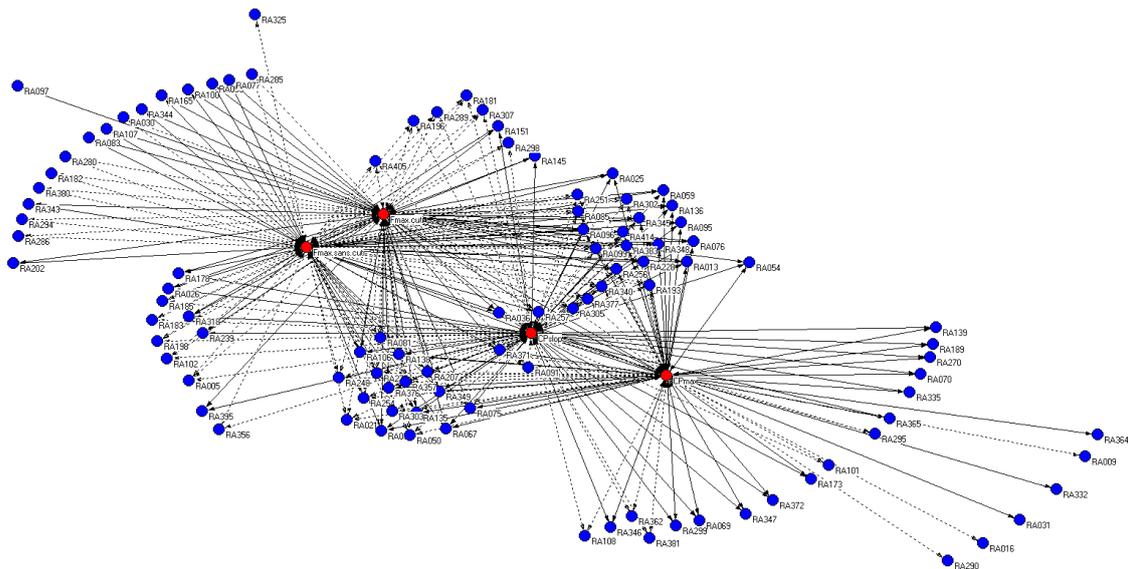


Figure 103 : Réseau de corrélations (Pearson) réalisé à partir des données brutes, entre 103 protéines (bleu) liées à au moins une des 4 variables de texture instrumentale (rouge), corrélations retenues avec un $FDR < 0,01$ (soit un coefficient de corrélation supérieur à 0,45 en valeur absolue). Les traits continus représentent une corrélation positive, les traits en pointillés une corrélation négative.

III.4. Liens entre les protéines et les variables de texture

L'utilisation des corrélations partielles calculées à partir des résiduelles (**figure 102**) n'a pas permis d'établir des liens directs entre les protéines et les variables de texture parmi les 132 protéines variantes au stade rouge. Nous avons donc travaillé avec des corrélations de Pearson. Ainsi nous avons sélectionné les protéines qui étaient corrélées significativement (FDR inférieur à 0,01) avec au moins une des 4 variables de texture (Fmax.cutu, Fmax.sans.cutu, FmaxCP et CPslop). Il y en avait 103 au total (**figure 103**), parmi lesquelles 42 étaient corrélées aux 4 variables de texture. Dans cette partie, nous étudierons donc les réseaux de corrélations (Pearson) entre protéines et variables de texture.

Corrélations entre les protéines et les 4 variables de texture (Fmax.cutu, Fmax.sans.cutu, FmaxCP et CPslop)

Parmi les 42 protéines qui étaient corrélées aux 4 variables de texture (**tableau 18**), 8 protéines étaient impliquées dans le métabolisme pariétal. Ces protéines participent à la dégradation des parois (composées notamment de pectines et d'hémicellulose), ce qui pourrait expliquer leurs corrélations négatives avec la fermeté du fruit. En effet, sept protéines étaient négativement corrélées à la texture : Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA081-RA383, Xylose isomerase RA085, Polygalacturonase A RA099, Beta-1 3-glucanase RA207, NAD-dependent epimerase/dehydratase RA254, Beta-hexosaminidase RA277 et une positivement : NAD-dependent epimerase/dehydratase RA257. Ce spot correspond à une isoforme de RA254 (codée par le même gène). L'Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase est une enzyme bi-fonctionnelle qui hydrolyse les arabinoxylanes et les xylanes (constituant des hémicelluloses). La xylose isomérase catalyse la réversible isomérisation du D-xylose en D-xylulose, le D-xylose provenant de la décomposition des hémicelluloses (Haldrup *et al.*, 2001). La polygalacturonase est une enzyme souvent étudiée, qui participe au ramollissement des fruits en dégradant les polygalacturonans présents dans les parois cellulaires (Smith *et al.*, 1990; Brummell and Harpster, 2001; Fei *et al.*, 2004; Goulao and Oliveira, 2008). La Bêta-hexosaminidase est également liée à la fermeté du fruit ; (Meli *et al.*, 2010) ont montré que les fruits qui présentaient une sous-expression de la protéine Beta-hexosaminidase, présentaient également un ramollissement ralenti. La bêta-1 3-glucanase, qui est une enzyme qui hydrolyse les liaisons glucosidiques des 1,3 bêta-D-glucans pour libérer des monomères de glucose, notamment en réponse à l'attaque de la plante par les champignons pathogènes. Mais elle peut intervenir dans d'autres processus comme la division cellulaire, le développement du pollen, la germination, la dormance ou encore la maturation des fruits (Peumans *et al.*, 2000; Faurobert *et al.*, 2007).

N°spot	Nom	Groupe fonctionnel
RA340	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	Maturation
RA050	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	Métabolisme cellulaire
RA357	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	Métabolisme hormonal
RA021	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase B	Métabolisme primaire
RA193	3-isopropylmalate hydratase large subunit	Métabolisme primaire
RA251	Fructokinase-like	Métabolisme primaire
RA302	Methylcrotonoyl-CoA carboxylase alpha chain	Métabolisme primaire
RA377	Dihydrolipoyl dehydrogenase	Métabolisme primaire
RA081	Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase	Parois
RA085	Xylose isomerase	Parois
RA099	Polygalacturonase A	Parois
RA207	Beta-1 3-glucanase	Parois
RA254	NAD-dependent epimerase/dehydratase	Parois
RA277	Beta-hexosaminidase 1	Parois
RA383	Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase	Parois
RA303	Thylakoid-bound ascorbate peroxidase 6	Processus d'oxydo-reduction
RA091	Hydrolase alpha/beta fold family protein	Réponse au stress
RA248	ATP synthase gamma chain	Transport
RA305	Chloride intracellular channel 6	Transport
RA345	RNA-binding protein	Métabolisme des macromolécules
RA013	Enolase	Métabolisme primaire
RA228	Adenine phosphoribosyltransferase-like protein	Métabolisme primaire
RA036	Cupin superfamily	Non identifié
RA376	Non identifié	Non identifié
RA257	NAD-dependent epimerase/dehydratase	Parois
RA067	Ascorbate peroxidase	Processus d'oxydo-reduction
RA038	Cold shock protein-1	Réponse au stress
RA075	Major allergen Mal d 1	Réponse au stress
RA076	Major allergen Mal d 1	Réponse au stress
RA095	class II heat shock protein	Réponse au stress
RA096	Class II small heat shock protein Le-HSP17.6	Réponse au stress
RA106	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA135	Heat shock protein 22	Réponse au stress
RA136	class IV heat shock protein	Réponse au stress
RA138	class IV heat shock protein	Réponse au stress
RA256	Activator of heat shock protein ATPase homolog 1	Réponse au stress
RA348	class IV heat shock protein	Réponse au stress
RA349	class IV heat shock protein	Réponse au stress
RA371	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA414	Glutathione peroxidase	Réponse au stress
RA025	Thiazole biosynthetic enzyme	Synthèse des vitamines
RA059	30S ribosomal protein S1	Traduction

Tableau 18 : Nom et fonction de 42 protéines corrélées négativement (rouge) et positivement (noir) aux 4 variables de texture (FmaxCP, CPslop, Fmax.cut1 et Fmax.sans.cut1) avec un FDR<0,01.

D'autres protéines étaient corrélées négativement avec les 4 variables de texture, comme des protéines impliquées dans la maturation du fruit par la synthèse de précurseurs de l'éthylène : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340, et S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase RA357 (Bleecker and Kende, 2000). Ces protéines favorisent la maturation et donc entraînent une diminution de fermeté. Di Matteo *et al.*, (2010), ont indiqué qu'une sous expression de S-adenosylmethionine methyltransferase était associée à une plus faible consommation d'adenosylmethionine pour faire des méthylations, au profit de la biosynthèse d'éthylène.

Dans le précédent paragraphe lors de l'étude des liens entre les variables biochimiques et la texture, nous avons émis l'hypothèse d'une corrélation négative entre les variables de fermeté et la concentration en fructose. Cette hypothèse a été confirmée par une corrélation négative avec une fructokinase (RA251), enzyme qui phosphoryle le fructose, ce qui pourrait expliquer une diminution de la concentration en fructose (Pego and Smeeckens, 2000). En effet le glucose-6-phosphate est le substrat majeur de la glycolyse et de la voie des pentoses phosphates. Nos résultats suggèrent que la concentration en fructose pourrait être impliquée dans la fermeté du fruit. La régulation du potentiel osmotique pourrait également influencer la fermeté du fruit, comme le suggère la présence de deux protéines corrélées négativement avec les 4 variables de texture : Chloride intracellular channel 6 RA305 : régulations des flux d'ions chlorure (Berry and Hobert, 2006) et ATP synthase RA248 qui fonctionne grâce aux flux de protons, protons qui peuvent ensuite servir au co-transport actif de certains solutés comme le saccharose (Lemoine *et al.*, 1999).

Nous avons vu que de nombreuses protéines étaient corrélées négativement à la texture, mais d'autres protéines étaient corrélées positivement avec la texture, parmi lesquelles on a pu identifier 14 protéines de stress (HSP, small HSP, Major allergen). Le lien entre les protéines de réponse au stress et la texture du fruit n'est pas clairement identifié dans la littérature. Néanmoins certains auteurs ont indiqué une augmentation de l'expression de certaines HSP au cours de la maturation (Faurobert *et al.*, 2007), dont certaines comme les small HSP, auraient un rôle dans la dépolymérisation des pectines au cours de la maturation, et augmenteraient la viscosité du jus de tomate (Ramakrishna *et al.*, 2003).

Les autres protéines corrélées positivement aux quatre variables de texture appartenaient à différents groupes fonctionnels (métabolisme cellulaire, métabolisme primaire, processus d'oxydo-réduction, traduction, synthèse de vitamine). Leurs liens avec la texture du fruit restent encore difficiles à établir.

Protéines corrélées uniquement aux variables de compression FmaxCP et CPslop		
N°spot	Nom	Groupe fonctionnel
RA362	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	Métabolisme hormonal
RA101	Isocitrate dehydrogenase	Métabolisme primaire
RA108	2-isopropylmalate synthase 1	Métabolisme primaire
RA295	Succinyl-diaminopimelate desuccinylase	Métabolisme primaire
RA381	Pathogenesis-related protein-like protein	Réponse au stress
RA270	Fructose-bisphosphate aldolase	Métabolisme primaire
RA069	Heme-binding protein 2	Non identifié
RA189	Peptide methionine sulfoxide reductase msrA	Processus d'oxydo-reduction
RA139	Regulator of ribonuclease activity A	Régulation des processus biologiques
RA372	Nuclear movement protein nudc	Régulation des processus biologiques
RA173	Glutathione S-transferase	Réponse au stress
RA299	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA335	Heat shock protein	Réponse au stress
RA346	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA347	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA070	Dehydroascorbate reductase	Synthèse des vitamines
RA365	Eukaryotic translation initiation factor 5A	Traduction
Protéines corrélées uniquement aux variables de pénétrométrie Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti		
RA285	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein	Maturation
RA286	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein	Maturation
RA380	Alcohol dehydrogenase-like protein	Métabolisme cellulaire
RA294	laa-amino acid hydrolase 6	Métabolisme de macromolécules
RA280	Lipoxygenase	Métabolisme primaire
RA030	Remorin 1	Non identifié
RA182	Receptor like kinase, RLK	Régulation des processus biologiques
RA344	Endoribonuclease E-like protein	Métabolisme des macromolécules
RA083	Oxalyl-CoA decarboxylase	Métabolisme primaire
RA107	Malic enzyme	Métabolisme primaire
RA202	Acid beta-fructofuranosidase	Métabolisme primaire
RA343	Lipoxygenase	Métabolisme primaire
RA100	EF-Hand containing protein-like	Non identifié
RA055	Hsp70 nucleotide exchange factor fes1	Réponse au stress
RA077	class I heat shock protein	Réponse au stress
RA165	Dehydrin	Réponse au stress

Tableau 19 : Nom et fonction des protéines corrélée significativement uniquement aux 2 variables de texture en compression (FmaxCP, CPslop) ou aux 2 variables de texture en pénétrométrie (Fmax.cuti et Fmax.sans.cuti) avec un FDR<0,01. Les corrélations négatives sont en rouges et les corrélations positives en noir.

Protéines corrélées soit à la texture en compression (FmaxCP, CPslop) soit à la fermeté en pénétrométrie (Fmax.cuti, Fmax.sans.cuti)

Certaines protéines (ou fonctions protéiques) étaient corrélées au FmaxCP ou au CPslop mais pas au Fmax.cuti ou au Fmax.sans.cuti et inversement (**tableau 19**).

17 protéines étaient corrélées uniquement aux variables de texture en compression, dont 5 corrélations étaient négatives. Parmi elles on a trouvé des protéines du métabolisme primaire (S-adenosylmethionine-dependent méthyltransferase favorisant la synthèse d'éthylène). Parmi les 12 protéines corrélées positivement aux variables de compression (FmaxCP et CPslop), on a trouvé des protéines de réponse au stress (HSP), et une protéine, la déhydro-ascorbate réductase, protéine essentielle au recyclage de la vitamine C, puisqu'elle permet de régénérer la forme active (forme réduite) de la vitamine C après son utilisation pour réduire les espèces réactives de l'oxygène (Chen *et al.*, 2003; Ishikawa *et al.*, 2006) et donc protège, entre autres, les structures pariétales.

16 protéines étaient corrélées uniquement aux variables de fermeté en pénétrométrie : 7 protéines étaient négativement corrélées parmi lesquelles on a trouvé des protéines impliquées dans la synthèse de précurseur d'éthylène (RA285 et RA286) et probablement dans la synthèse des arômes (une lipoxigénase (RA280) (Chen *et al.*, 2004) et une alcool deshydrogénase (RA380) (Speirs *et al.*, 1998). Neuf autres protéines étaient corrélées positivement avec la fermeté parmi lesquelles il y avait des protéines des stress (HSP, dehydrin qui protégeraient les membranes plasmiques (Puhakainen *et al.*, 2004)), mais aussi des protéines du métabolisme primaire qui contribuent à l'augmentation du potentiel osmotique (malic enzyme RA107, Acid beta fructofuranosidase RA202, qui clive le saccharose en glucose et fructose), ce qui influencerait la fermeté locale.

Protéines corrélées à une seule des deux variables de fermeté en pénétrométrie (Fmax.cuti ou Fmax.sans.cuti)

La comparaison entre les protéines corrélées aux variables de fermeté évaluées par pénétrométrie avec et sans épiderme (**tableau 20**), a montré que cinq protéines n'étaient pas corrélées avec les deux variables de texture mais seulement à l'une des deux. Parmi ces cinq protéines, trois étaient corrélées positivement avec la fermeté avec épiderme (UV excision repair protein RAD23 (RA054), lipoxigénase RA097 et Soul heme-binding family protein RA395) et 2 étaient corrélées négativement avec la fermeté sans épiderme (Ribosomal protein RA325 et ATP synthase RA356). La spécificité de certaines protéines par rapport à la présence de l'épiderme, pourrait suggérer l'importance de ces protéines dans les mécanismes de défense du fruit. L'UV excision repair

Protéines corrélées au Fmax.cut1		
N°spot	Nom	Groupe fonctionnel
RA054	UV excision repair protein RAD23	Métabolisme des macromolécules
RA097	Lipoxygenase	Métabolisme primaire
RA395	Soul heme-binding family protein	Non identifié
Protéines corrélées au Fmax.sans.cut1		
RA325	Ribosomal subunit interface protein	Métabolisme de macromolécules
RA356	ATP synthase subunit beta chloroplastic	Transport

Tableau 20 : Protéines corrélées significativement à une seule des deux variables de fermeté en pénétrométrie (Fmax.cut1 et Fmax.sans.cut1) avec un FDR<0,01. Les corrélations négatives sont en rouges et les corrélations positives en noir.

Protéines corrélées au FmaxCP		
RA016	S-adenosylmethionine synthase	Métabolisme hormonal
RA009	Dihydroxy-acid hydratase	Métabolisme primaire
RA290	Beta-glucanase	Parois
RA031	Salt stress root protein RS1	Réponse au stress
RA332	class I heat shock protein 3	Réponse au stress
RA364	Outer membrane lipoprotein blc	Réponse au stress
Protéines corrélées au CPslop		
RA298	Ribulose-1 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase 1	Métabolisme cellulaire
RA196	Subtilisin-like protease subtilisin	Métabolisme des macromolécules
RA198	Subtilisin-like protease	Métabolisme des macromolécules
RA289	Endochitinase (Chitinase)	Métabolisme des macromolécules
RA307	Aspartic proteinase	Métabolisme des macromolécules
RA181	Lipoxygenase	Métabolisme primaire
RA183	Glucan endo-1 3-beta-glucosidase 6	Parois
RA102	Aldo/keto reductase family protein	Processus d'oxydo-reduction
RA185	Electron transfer flavoprotein alpha subunit	Processus d'oxydo-reduction
RA005	Chaperone DnaK	Réponse au stress
RA405	Universal stress protein	Réponse au stress
RA356	ATP synthase	Transport
RA145	Acid beta-fructofuranosidase	Métabolisme primaire
RA151	Acid beta-fructofuranosidase	Métabolisme primaire
RA239	Enolase	Métabolisme primaire
RA318	Enolase	Métabolisme primaire
RA395	Soul heme-binding family protein	Non identifié
RA178	Glutathione S-transferase	Réponse au stress
RA026	Annexin	Transport

Tableau 21: Protéines corrélées significativement à une seule des deux variables de texture en compression (FmaxCP, CPslop) avec un FDR<0,01. Les corrélations négatives sont en rouges et les corrélations positives en noir.

proteïn jouerait un rôle protecteur au niveau des cellules de l'épiderme, en réparant l'ADN suite à des stress abiotiques (Badillo-Vargas *et al.*, 2012). De même que des lipoxygénases pourraient agir comme enzyme de défense contre les pathogènes (Vanitha and Umesha, 2011).

Protéines corrélées à une seule des deux variables de texture en compression (FmaxCP ou CPslop)

Relativement peu de protéines étaient corrélées uniquement au FmaxCP (6) contrairement au CPslop (19) (**tableau 21**). Parmi les protéines corrélées négativement au FmaxCP on a trouvé notamment une protéine impliquée dans la maturation (SAM RA016), et une protéine liée au métabolisme pariétal (RA290 beta glucanase). Les protéines corrélées positivement et uniquement au FmaxCP étaient toutes des protéines de stress. En ce qui concerne le CPslop, parmi les protéines négativement corrélées, on a trouvé également des protéines impliquées dans les mécanismes pariétaux (endochitinase RA289, Glucan endo1-3 beta glucosidase RA183) souvent rencontrées en réponses à des attaques de champignons (Vaiyapuri *et al.*, 2012), mais aussi des protéines de réponses au stress (universal stress protein RA405, chaperone RA005). Les protéines chaperones protègent généralement d'autres protéines, leur permettant ainsi de maintenir leur fonction, qui seraient modifiées en condition de stress induit par la maturation des fruits (début de la sénescence). Les protéines positivement corrélées aux variables de compression (FmaxCP ou CPslop) étaient des protéines du métabolisme primaire contribuant à l'augmentation du potentiel osmotique (métabolisme des sucres : acid beta fructofuranosidase RA145-RA151, enolase RA239-RA318). On notera également la présence d'une annexine corrélée positivement au CPslop, connue comme une protéine de réponse au stress conférant une amélioration de la résistance au stress abiotique, notamment au stress hydrique en limitant les pertes en eau (Loukehaich *et al.*, 2012).

Bilan sur les liens entre protéines et texture :

La majorité des protéines variantes au stade rouge (78%) était liée à au moins une des quatre variables de texture (FmaxCP, CPslop, Fmax.cutu et Fmax.sans.cutu). Les protéines corrélées simultanément à ces quatre variables ont confirmé l'implication de différents processus responsables de la maturation des fruits : synthèse d'éthylène, dégradations des parois, modification du potentiel osmotique, surexpression de protéines de réponse au stress dont l'abondance a été observée au cours de la maturation des fruits.

Les différences de corrélations entre protéines et variables de texture mesurées soit par

compression soit par pénétrométrie n'étaient pas exclusivement liées des protéines pariétales. Les mesures par compression, évaluant la fermeté « globale » du fruit, étaient liées davantage avec des protéines de réponses au stress impliquées dans la protection des structures cellulaires et pariétales. Contrairement aux protéines du métabolisme primaire qui pourraient être impliquées dans le maintien du potentiel osmotique, plus spécifiquement liées aux variables de pénétrométrie qui évaluent la fermeté « locale ».

Les protéines corrélées au Fmax.cutu ou au Fmax.sans.cutu n'étaient globalement pas différentes, à l'exception de quelques protéines notamment deux protéines en lien avec l'épiderme (une « UV excision repair protein » et une « lipoxygenase »).

La comparaison entre les variables de texture FmaxCP et CPslop a montré que relativement peu de protéines semblaient avoir un lien spécifique avec FmaxCP (fermeté globale), alors que celles corrélées avec CPslop (rigidité) était plus nombreuses.

III.5 Liens entre les protéines et les variables anatomiques, histologiques, biochimiques et les variables de texture.

Nous avons recherché des corrélations partielles entre les différentes variables mesurées sur le péricarpe du fruit : c'est-à-dire entre les variables de texture, de biochimie, d'histologie et les protéines pour tenter d'identifier des liens fonctionnels entre ces différentes variables, qui pourraient contribuer à l'élaboration de la texture du fruit. Dans notre analyse, certaines variables n'étaient pas obtenues sur les mêmes fruits à cause du caractère destructif des mesures, ce qui nous a contraints à travailler sur des données brutes moyennes et non des données résiduelles et de ce fait, la puissance des tests est devenue limitée par un grand nombre de variables (154) pour un faible nombre d'observations (10). Malgré cette contrainte, nos résultats ont montré des corrélations entre protéines et les différentes variables étudiées, dans trois réseaux de corrélations partielles différant par le nombre d'observations analysées afin d'augmenter la puissance des tests (**figures 104, 105 et 106**).

Globalement, les variables s'associaient par nature dans les réseaux de corrélations partielles (texture : Fmax.cutu/Fmax.sans.cutu, histologie : Position.relative.faisc/cell.lh.int.faisc, biochimie : Fru.per.MS/quinique, protéines : RA076/RA091). De même que les protéines s'associaient entre elles par groupe fonctionnel (réponse au stress, métabolisme primaire). Toutefois, on a remarqué également l'association de certaines protéines avec des variables de texture ou des variables biochimiques. La figure 104 représentait les liens entre les 132 protéines variantes au stade rouge et les différentes variables étudiées. Parmi ces liens, la rigidité du fruit (CPslop) était liée avec une protéine de stress HSP (RA349), la concentration en fructose était corrélée avec une protéine impliquée dans le métabolisme des sucres (l'acid beta-fructofuranosidase RA202) et la concentration en acide malique est corrélée avec la Rubisco RA298 (métabolisme primaire).

Afin d'augmenter la puissance des algorithmes utilisés, nous avons réduit le nombre de protéines à 103 (**figure 105**), c'est-à-dire aux protéines corrélées à au moins une des quatre variables de texture (FmaxCP, CPslop, Fmax.cutu et Fmax.sans.cutu) d'après nos précédentes analyses. Les mêmes corrélations sont apparues plus une nouvelle corrélation négative, significative entre le nombre de cellules et une protéine de stress HSP (RA077). Plus cette protéine est exprimée (codée par un gène du chromosome 9), plus le nombre de cellule du fruit est petit. Enfin, toujours dans le même but d'augmenter la puissance des outils utilisés, un dernier réseau de corrélations partielles (**figure 106**) a été réalisé à partir des 42 protéines corrélées simultanément aux quatre variables de texture. Ce réseau a confirmé le lien fort entre la rigidité du fruit (CPslop) et la protéine de stress HSP

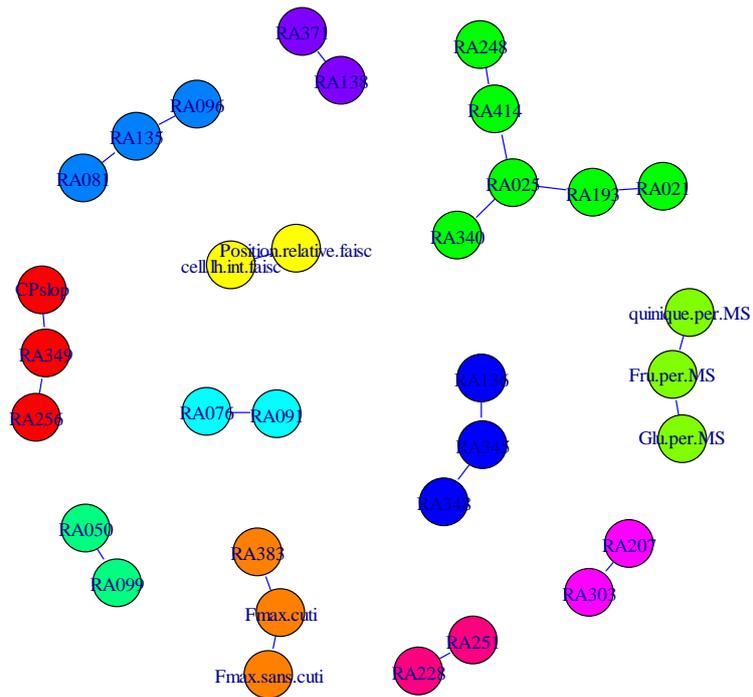


Figure 106 : Réseaux de corrélations partielles entre 42 protéines (corrélées aux 4 variables de texture) et les variables histologiques, biochimiques et les variables de texture (données brutes moyennes) avec $K=1,25$.

(RA349), elle-même corrélée à une autre protéine de stress (RA256), et a montré une corrélation négative entre la fermeté en pénétrométrie avec épiderme (Fmax.cut) et une protéine du métabolisme pariétale (Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA383).

Bien qu'il soit encore techniquement difficile de se placer dans des conditions optimales d'utilisation des outils statistiques pour analyser les liens entre les différents niveaux d'étude du fruit et la texture, cette première approche intégrative par des réseaux de corrélations a permis de proposer des liens entre les protéines et les variables de texture, biochimiques et histologiques :

CPslop / protéines de stress (HSP),

Fmax.cut / protéine pariétale (Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase),

Fructose / protéine du métabolisme des sucres (acid beta-fructofuranosidase),

NBcell / protéines de stress (HSP).

IV. Description et analyse de l'influence des variables anatomiques, histologiques, biochimiques et protéomiques par une méthode d'analyse multivariée : l'analyse en Co-inertie multiple

Nous avons tenté dans cette partie, d'aborder le problème différemment par rapport à la partie précédente, en utilisant une méthode d'analyse multivariée : l'Analyse de CO-inertie Multiple (ACOM), qui a été faite en collaboration avec des statisticiens de l'unité de Recherche de Sensométrie et Chimiométrie (USC INRA), ONIRIS (Nantes) et de l'unité INRA-SPO (Montpellier). De nombreux travaux, utilisent des analyses multivariées (ACOM, Generalized Procrustes Analysis GPA, Structuration des Tableaux à trois Indices de la Statistique STATIS (Derks *et al.*, 2003)) notamment pour analyser des systèmes biologiques complexes. Les analyses de co-inertie multiple fournissent un outil intégratif, qui reflète rapidement une description globale (structure de référence) du caractère à expliquer, en prenant en compte la structuration des données initiales par tableau, et qui permet de mesurer l'influence de chaque tableau de variables explicatives dans l'explication du caractère à expliquer. L'analyse de co-inertie multiple a déjà été utilisée dans différents domaines : en sensométrie lorsque les évaluations des jurés sont analysées en lien avec les caractéristiques des produits évalués (Qannari *et al.*, 2000), en chimiométrie pour relier un ensemble de mesures physico-chimiques réalisées sur les mêmes échantillons (Hanafi *et al.*, 2006) ou encore, en écologie pour étudier la stabilité des systèmes biologiques en rapprochant des populations écologiques et des environnements (Dray *et al.*, 2003; Bady *et al.*, 2004). L'analyse de tableaux multiples a également servi en épidémiologie afin d'identifier les facteurs contribuant à une maladie (Bougeard *et al.*, 2008). Plus récemment, l'analyse multi-tableaux a été utilisée pour caractériser rapidement les compositions phénoliques du vin en fonction des variables génétique et environnementale (tel que l'âge du vin ou les procédés techniques utilisés) (Mazerolles *et al.*, 2010).

Ce type d'analyse est approprié à nos données et à notre approche globale de compréhension de la texture du fruit. Nous disposons de nombreuses données où le nombre de variables est très supérieur au nombre d'observations, collectées à des niveaux différents du fruit (protéomique, biochimique, histologique et anatomique). L'ACOM peut répondre à nos objectifs de description globale de la texture du fruit dans un premier temps, puis de compréhension de l'influence des différents niveaux sur la texture.

Cinq tables de données (texture, biochimie, histologie, anatomie et protéomique) collectées à différents niveaux d'échelle du fruit ont été utilisées pour l'ACOM (**tableau 14**). Une première table comprenait les quatre variables de texture instrumentale : la fermeté (FmaxCP) et la rigidité globale

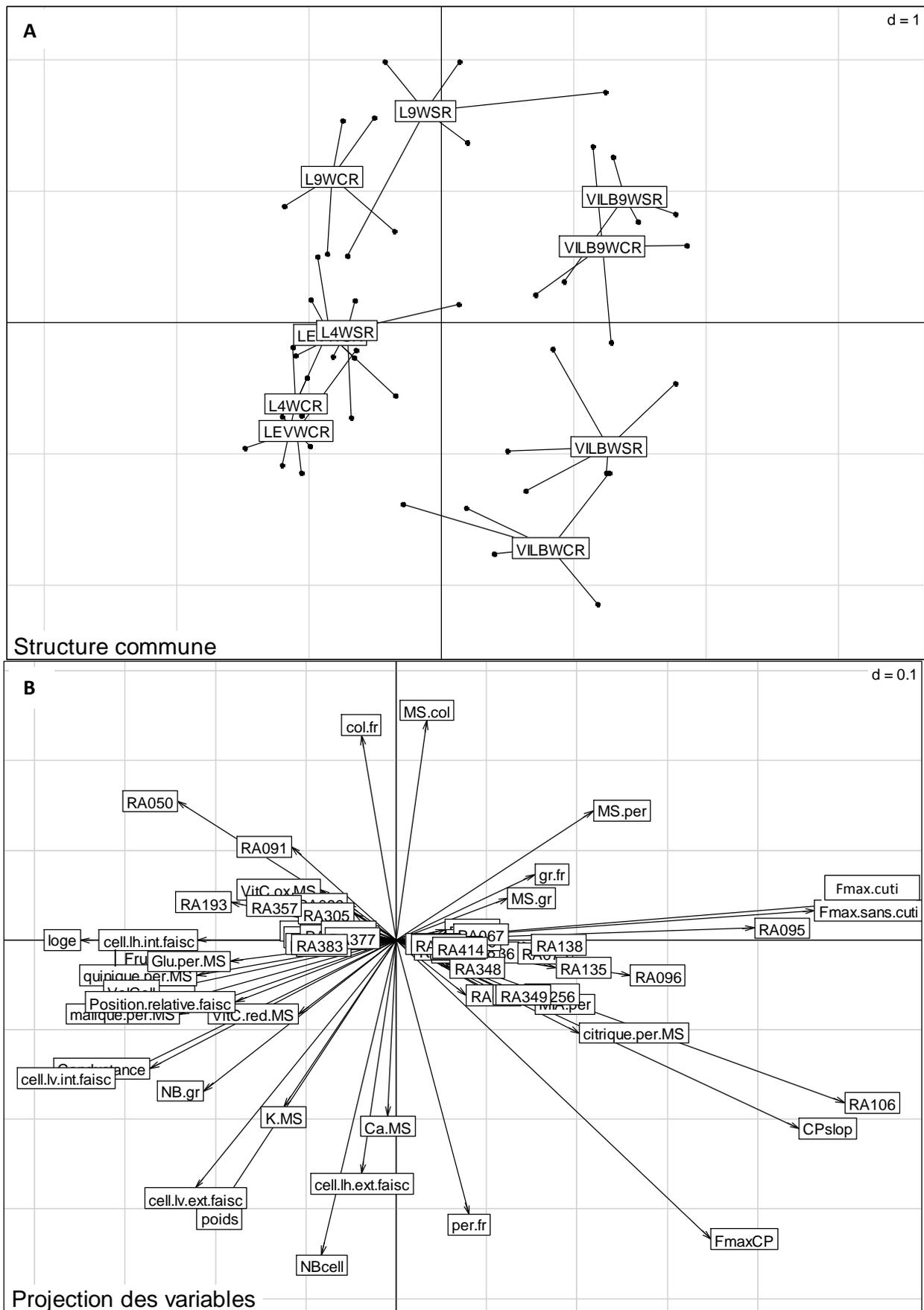


Figure 107 : Projections des génotypes (LE : Levovil, L4 : NIL-L4, L9 : NIL-L9, VILB et VILB9 : NIL-B9), témoins (WC) et DHP (WS) (A) et des variables (dont 42 protéines) (B) sur les axes 1 et 2 de la structure commune qui représentent respectivement 60% et 19% de l'inertie totale, au stade rouge (R).

(CPslop) du fruit, et la fermeté avec (Fmax.cutiti) et sans épiderme (Fmax.sans.cutiti). Une deuxième table comprenait les variables histologiques : taille de cellules avant et après faisceaux dans les directions radiales et tangentielles, volume moyen d'une cellule et nombre de cellule. La troisième comprenait les variables anatomiques : poids, loges, proportions relatives des tissus, nombre de graines, conductance cuticulaire. Une quatrième était composée de variables biochimiques : concentration en acides organiques, sucres, vitamine C, minéraux, MIA, et les différents taux de matières sèches des tissus étudiés. Puis une dernière table contenait 132 protéines variantes significativement au stade rouge avec un FDR inférieur à 1 %. Nous avons choisi de donner le même poids à chaque table analysée. Néanmoins le nombre important de variables au sein d'une table (400) peut réduire la contribution individuelle de chaque variable si aucune variable à un rôle prépondérant par rapport aux autres. Notre première analyse a révélé cette situation. Les protéines étaient toutes centrées sur l'origine des axes du compromis, contrairement aux autres variables, ce qui a suggéré une faible implication des protéines dans la structure commune. Cette première analyse était difficile à interpréter à cause du nombre important de protéines dont le potentiel d'expression est limité. Pour optimiser notre analyse, nous avons réalisé une deuxième analyse (**figure 107**) avec les mêmes variables en réduisant la table du protéome à 42 protéines (corrélées à au moins une des 4 variables de texture).

L'analyse en co-inertie multiple des cinq tables a révélé une structure commune (compromis) à chaque niveau d'étude (**figure 107**). Le compromis était représenté par les projections des génotypes sur deux axes synthétiques 1 et 2, qui représentaient respectivement 60 % et 19 % d'inertie. L'axe 1 séparait les deux fonds génétiques. L'axe 2 séparait les génotypes en fonction des QTL et de l'effet du DHP. Les génotypes avec le QTL9 s'opposaient aux génotypes parentaux. Les génotypes du fond génétique B étaient associés à de fortes fermetés (Fmax.cutiti, Fmax.sans.cutiti, FmaxCP, CPslop) et à de faibles concentrations en sucres et acides organiques (Glu.per.MS, Fru.per.MS, quinine.per.MS, malique.per.MS), et inversement pour les génotypes du fond génétique L. Les 42 protéines sélectionnées étaient réparties essentiellement sur l'axe 1. De nombreuses protéines de réponses au stress (RA095, RA096, RA106, RA135, RA138, RA256, RA348, RA349) étaient associées avec les variables de fermeté (Fmax.cutiti, Fmax.sans.cutiti, CPslop) et au fond génétique B, parmi lesquelles on a retrouvé les protéines RA256 et RA349 qui étaient liées au CPslop sur les réseaux de corrélations partielles (**figure 107**). Alors que les protéines associées au fond génétique L appartenaient au métabolisme primaire (RA193, RA377) et au métabolisme des parois (RA383). Le lien entre cette dernière protéine Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase (RA383) et le Fmax.cutiti a également été mis en évidence sur les réseaux de corrélations partielles (**figure 107**). Les tableaux 22 et 23 présentent deux indicateurs, le premier est la covariance carrée

Covariance carrée	Axe 1	Axe 2
Biochimie	0,35	0,17
Anatomie	0,31	0,25
Histologie	0,3	0,2
Texture	0,76	0,12
Protéome	0,77	0,04

Tableau 22 : Variabilité de chaque table capturée par les axes 1 et 2 du compromis (covariance carrée).

RV	Axe 1	Axe 2
Biochimie	0,9	0,83
Anatomie	0,84	0,93
Histologie	0,58	0,93
Texture	0,92	0,7
Protéome	0,9	0,81

Tableau 23 : Coefficient de corrélation (RV) entre la table considérée et les axes 1 et 2 du compromis

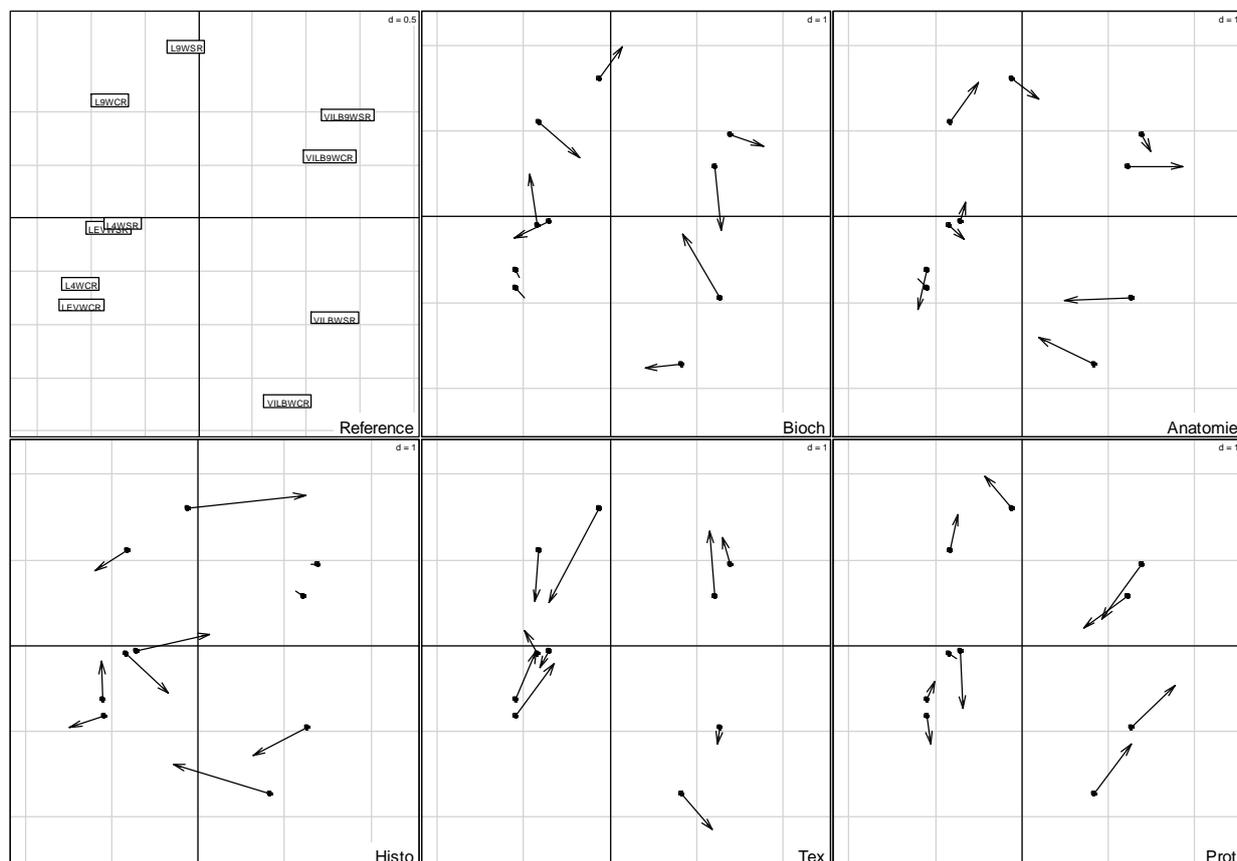


Figure 108 : Structure commune au sein de chaque table, composée des génotypes (LE : Levovil, L4 : NIL-L4, L9 : NIL-L9, VILB et VILB9 : NIL-B9), dans les conditions témoins (WC) et DHP (WS) (A) au stade rouge (R). Le point représente le positionnement du génotype dans une condition sur la structure commune (Reference) et l'extrémité de la flèche indique le génotype au sein de la table considérée (Biochimie, Anatomie, Histologie, Texture et Protéome (42 protéines)). La flèche indique le déplacement nécessaire des génotypes entre la structure commune et la table considérée.

qui reflète le pourcentage de variance capturée par le compromis au sein de chaque table. La table protéome était la mieux représentée avec 77% de sa variabilité initiale sur l'axe 1, suivie par la table texture avec 76% de sa variabilité sur le même axe. Pour les autres tables entre 30 à 35% de leur variabilité étaient représentées. L'axe 2 du compromis a plus difficilement capturé les variabilités des tables initiales, même pour celles faiblement représentées par l'axe 1. Les maxima de variabilité étant captés sur les tables anatomie et histologie à hauteur de 20 à 25%. Le deuxième indicateur (**tableau 23**) est appelé RV (Robert and Escoufier, 1976), il correspond au coefficient de corrélation entre les axes du compromis et chaque tableau considéré. Cet indicateur a montré une bonne corrélation entre les tables et le compromis pour les deux axes, néanmoins la table histologie a présenté un coefficient de corrélation (0,58) plus faible que les autres sur l'axe 1. La figure 108 nous a montrés le positionnement de chaque table par rapport au compromis et le déplacement nécessaire pour l'atteindre à partir de la structure de chaque table. Plus les flèches sont courtes, plus la structure propre à chaque table est proche de la structure commune. Globalement, les structures de chaque table étaient proches de la structure commune comme nous l'avions observé avec les coefficients de corrélations RV (**tableau 23**), à l'exception de la structure de la table histologie. On a pu également observer une meilleure représentation du génotype ou du fond génétique par le compromis (flèche très courte) selon la table considérée. Les génotypes Levovil et NIL-L4 étaient bien représentés par le compromis au niveau anatomique, de même que le fond génétique L au niveau protéomique, alors que NIL-B9 est mieux représenté au niveau histologique, de même pour le fond génétique B au niveau de la texture.

Ainsi nous avons pu observer une structure commune aux différents niveaux d'échelle du fruit que nous avons étudié. Cette structure a pu représenter plus ou moins fortement la variabilité présente à chaque niveau. On a constaté également la présence d'effets génétiques forts et stables à chaque niveau d'étude comme l'effet du fond génétique et l'effet du QTL9 : les deux fonds génétiques étaient toujours séparés de la même façon sur l'axe 1, et l'effet du QTL9 séparait les génotypes selon l'axe 2, quelle que soit la table considérée. Les effets du DHP étaient quant à eux plus faibles que les effets génétiques mais également stables sur les différents niveaux d'étude.

Pour conclure, la texture du fruit (décrite par deux variables de fermeté $F_{max.cut}$ et $F_{max.sans.cut}$) et deux variables en compression (F_{maxCP} et CP_{slop}) a été influencée majoritairement par le protéome (avec une covariance carrée de 0,77). Chaque niveau d'étude a permis de caractériser les effets génétiques et les effets DHP. Les résultats de cette ACOM ont confirmé nos précédents résultats et ont mis en évidence un lien fort entre les variables de texture et les protéines de réponses au stress.

	Fermeté avec épiderme	Fermeté sans épiderme	Fermeté globale en compression	Rigidité du fruit
Anatomie	Nombre de loges Nombre de graines		Proportion du péricarpe Proportion de columelle	Nombre de loges Nombre de graines
Histologie	Volume cellulaire moyen			Position des faisceaux
Biochimie	Fructose Acide quinique		Acide citrique MIA	
Protéome	Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase - RA081 RA383 Xylose isomerase RA085 Polygalacturonase A RA099 Beta-1 3-glucanase RA207 NAD-dependent epimerase/dehydratase RA254-RA257 Beta-hexosaminidase 1 - RA277 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340 S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase RA357			

Tableau 24 : Bilan des variables les plus pertinentes pour étudier la texture du fruit de tomate par niveau d'étude. En noir, sont représentées les variables qui contribuent positivement à la texture, en rouge, celles qui y contribuent négativement.

V. Bilan des variables les plus pertinentes pour décrire la texture du fruit

Les analyses précédentes ont permis d'améliorer la compréhension de la texture du fruit en identifiant des variables contribuant à ce caractère complexe de qualité à différents niveaux d'échelle au sein du fruit (**tableau 24**).

D'un point de vue anatomique, les proportions des différents tissus (péricarpe et columelle) et le nombre de loges du fruit ont influencé majoritairement les variables de compression (FmaxCP et CPslop). Il semblerait également que le nombre de graines ait eu une action défavorable sur la fermeté avec et sans épiderme (Fmax.cutu, Fmax.sans.cutu).

Au niveau histologique, le volume moyen cellulaire et la taille des cellules (radiale et tangentielle) dans la région externe du péricarpe étaient négativement corrélés avec les Fmax.cutu et Fmax.sans.cutu. La position des faisceaux a influencé la rigidité du fruit (CPslop). Plus les faisceaux étaient proches de l'épiderme, plus le fruit était rigide.

Au niveau biochimique, les concentrations en fructose et en acide quinique ont contribué négativement à la texture mesurée en pénétrométrie (Fmax.cutu et Fmax.sans.cutu). Le taux de matière insoluble à l'alcool a contribué à la fermeté en compression et à la rigidité du fruit, de même que la concentration en acide citrique à contribuer à la rigidité du fruit.

Au niveau du protéome, certaines protéines du métabolisme des parois (Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA081-RA383, Xylose isomerase RA085, Polygalacturonase A RA099, Beta-1 3-glucanase RA207, NAD-dependent epimerase/dehydratase RA254, Beta-hexosaminidase RA277) étaient corrélées négativement avec la fermeté (en pénétrométrie et en compression) et avec la rigidité du fruit. Mais, il y a aussi eu des protéines corrélées positivement avec la fermeté (NAD-dependent epimerase/dehydratase RA257). On a noté également des corrélations négatives entre les quatre variables de texture et des précurseurs de la synthèse d'éthylène, donc impliqués dans la maturation du fruit (1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340, S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase RA357). Plus globalement, il semblerait que les variables de texture étaient associées avec des protéines de réponse au stress.

Les analyses intégratives réalisées (inférence de corrélations partielles et analyse en co-inertie multiple) ont permis d'identifier les variables les plus pertinentes que nous avons

Utilisées pour construire un modèle prédictif de la texture du fruit de la tomate. Les mêmes approches auraient pu être développées aux autres stades de développement.

Avec la même approche que nous avons développée dans le paragraphe IV de ce chapitre, des analyses de co-inertie multiples ont été réalisées aux trois stades de développement, les résultats obtenus aux stades vert et R7 ont également présenté des structures semblables à chaque niveau d'étude, représentant les effets génétique et DHP. Globalement les structures communes des trois stades étudiés étaient relativement stables au cours du développement du fruit.

VI. Modèle de prédiction de la texture de la tomate

L'objectif de cette partie était d'élaborer et tester un modèle de prédiction de la texture du fruit de tomate. Dans nos précédentes analyses, nous avons décrit ce caractère complexe par quatre variables : deux en pénétrométrie ($F_{\max.cuti}$ et $F_{\max.sans.cuti}$), et deux en compression du fruit ($F_{\max.CP}$ et CP_{slop}). Pour la construction d'un modèle prédictif, nous avons limité le travail à la prédiction de la fermeté du fruit en pénétrométrie avec épiderme : $F_{\max.cuti}$ (corrélé positivement en analyse sensorielle avec la fermeté en bouche). Les variables explicatives du modèle ont été sélectionnées à partir des analyses précédentes (**tableau 24**).

VI.1. Méthode utilisée pour la construction et test du modèle

A partir de la sélection de descripteurs de la texture du fruit de tomate (partie V de ce chapitre), nous avons construit un modèle linéaire additif prédictif de la $F_{\max.cuti}$ en appliquant la méthode « stepwise backward elimination ». Cette méthode élimine les descripteurs les moins significatifs à partir du modèle proposé (construit avec les descripteurs sélectionnés), autrement dit, élimine les descripteurs ne permettant pas la diminution du Critère d'information d'Akaike (AIC) (Akaike, 1973), jusqu'à proposer le modèle le plus performant. Le Critère d'information d'Akaike est un indice de performance, qui prend en compte la performance du modèle et sa complexité. Le modèle qui obtient la plus petite valeur du critère est retenu. Cet indice de performance permet également de comparer les différents modèles. Pour chaque modèle, le coefficient de corrélation R^2 ajusté est donné. L'ajustement du R^2 prend en compte le ratio $(n-1)/(n-k-1)$, où n est le nombre d'observations et k le nombre de variables explicatives. Chaque modèle a été construit à partir des données de l'ensemble de cinq génotypes (Levovil, NIL-L4, NIL-L9, VILB et NIL-B9), Cervil étant exclu, dans les deux conditions (témoin et DHP). Pour obtenir les valeurs estimées d'un génotype, nous avons construit le modèle avec les quatre autres génotypes dans les deux conditions. Nous avons procédé de cette façon pour obtenir des valeurs estimées de fermeté ($F_{\max.cuti}$) pour chaque génotype dans chaque condition.

VI.2 Test de 3 modèles biochimique, protéomique et anatomique

A partir de 39 observations au stade rouge (10 pour le troisième modèle), nous avons construit trois modèles additifs, avec différents descripteurs (variables explicatives) mesurés au niveau du péricarpe du fruit de tomate. Le premier modèle a été construit avec des variables

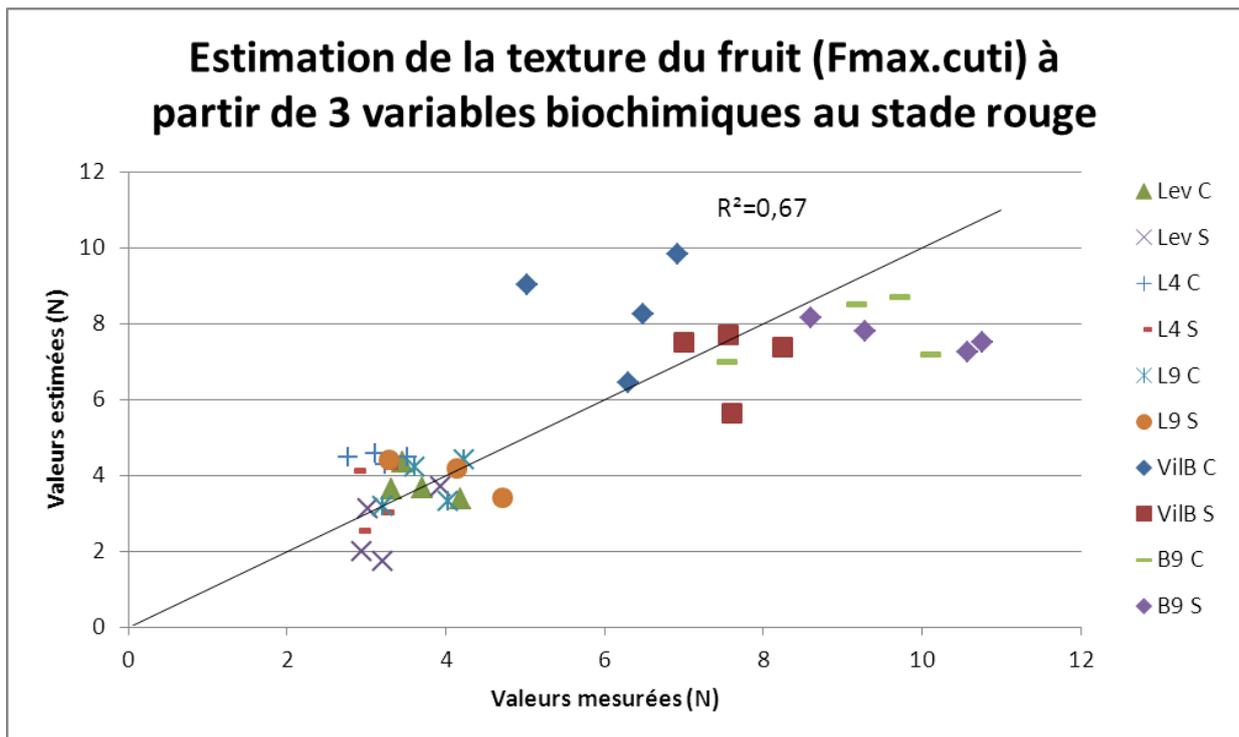


Figure 109 : Corrélations entre les valeurs de fermeté du fruit mesurées en pénétrométrie avec épiderme (Fmax.cut) et les valeurs de fermeté estimées par le modèle de texture décrit par trois variables biochimiques (taux de MIA, concentrations en acides quinique et citrique en $g \cdot 100gMS^{-1}$) au stade rouge. Chaque génotype (Lev : Levovil, L4 : NIL-L4, L9 : NIL-L9, ViIB, B9 : NIL-B9) par condition (contrôle (C) ou DHP (S)) est représenté par quatre points.

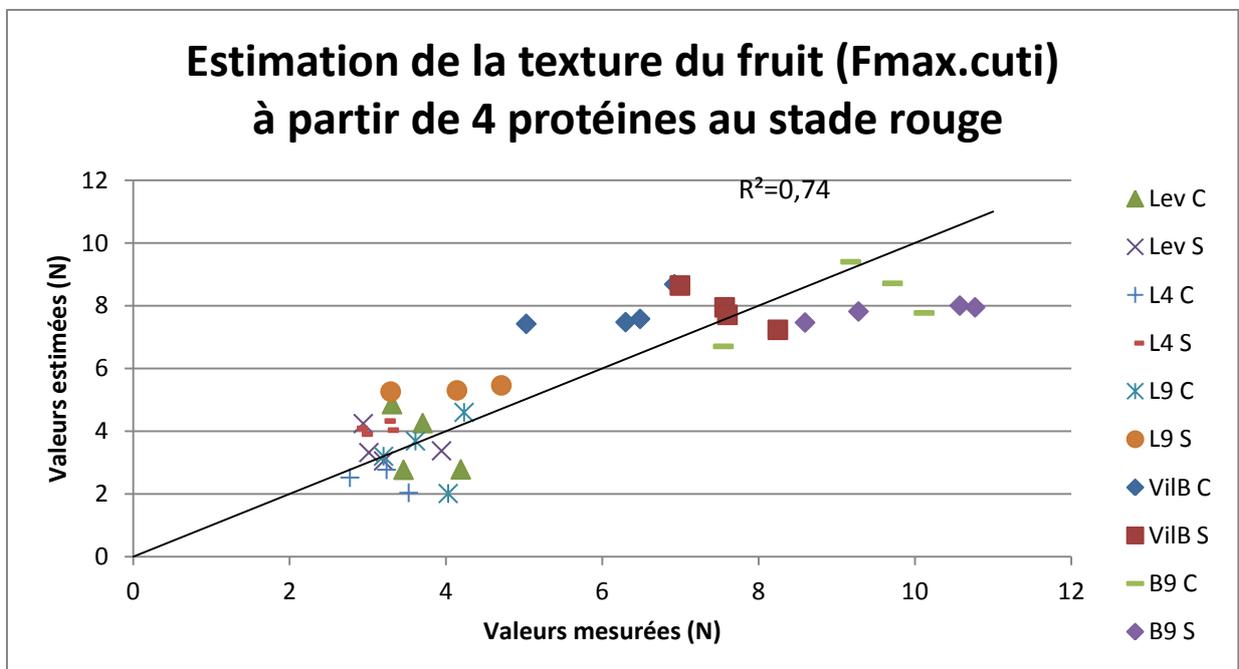


Figure 110 : Corrélations entre les valeurs de fermeté du fruit mesurées en pénétrométrie avec épiderme (Fmax.cut) et les valeurs de fermeté estimées par le modèle de texture décrit par quatre protéines (Beta-1 3-glucanase RA207, NAD-dependent epimerase/dehydratase RA257, Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA383 et 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340) au stade rouge. Chaque génotype par condition est représenté par quatre points.

biochimiques seulement, le deuxième avec des quantités de protéines et le troisième avec une variable intégrative (somme des composés solubles) et une variable histologique.

Les variables entrées dans le modèle biochimique étaient : le taux de MIA, et les concentrations en fructose, acide quinique, et acide citrique (exprimés en g.100gMS⁻¹). Pour le modèle protéomique, nous avons utilisées pour variables d'entrées dix protéines : huit impliquées dans le métabolisme des parois (Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA081, Xylose isomerase RA085, Polygalacturonase A RA099, Beta-1 3-glucanase RA207, NAD-dependent epimerase/dehydratase RA254-RA257, Beta-hexosaminidase 1 RA277 et Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA383) et deux protéines impliquées dans la synthèse de précurseurs d'éthylène et donc dans la maturation du fruit (1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340 et S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase RA357). Puis pour le troisième modèle, deux variables ont été utilisés, la première était la somme des concentrations des composés « Solubles » en g.100gMS⁻¹ (glucose, fructose, acide citrique, acide malique et acide quinique), et la deuxième, le volume cellulaire moyen (VolCell, en nl).

Les trois modèles obtenus sont les suivants :

Modèle	n	R ² ajusté	AIC	Equation	R ² : valeur estimée / valeur mesuré
Biochimique	39	0,77	20,27	Fmax.cuti = 7,0364 - 3.8959 x Quinique + 0,1012 x MIA + 2,3394 x Citrique	0,67
Protéomique	39	0,8	15,86	Fmax.cuti = 16,4655 - 1,0456 x RA207 - 0,4234 x RA257 - 0,4619 x RA383 - 0,7996 x RA340	0,74
Intégratif	10	0,77	6,77	Fmax.cuti = 24.49147 - 0,25578 x Solubles - 0,57125 x VolCell	0,74

A partir de ces trois modèles, nous avons estimé les valeurs de Fmax.cuti pour les cinq génotypes étudiés : Levovil, NIL-L4, NIL-L9, VILB et NIL-B9. Les corrélations entre les valeurs estimées et mesurées sont bonnes, comprises entre 0,67 et 0,74 (**figures 109, 110 et 111**). Nous avons testé les trois modèles avec les données de Cervil témoin et DHP et seul le modèle protéomique a donné des estimations proches des valeurs mesurées (**tableau 25**).

Les modèles proposés constituent une première approche statistique prédictive de la texture des fruits charnus à partir de données de tomate. A notre connaissance, peu de modèles statistiques ou mécanistes existent pour prédire la texture des fruits. Camps (2006) a proposé des modèles prédictifs de la texture de la pomme, notamment pour la rigidité des pommes (en pénétrométrie) à partir de longueurs d'ondes appartenant à la gamme du visible et proche infrarouge (660-680 nm). Le choix des variables explicatives était justifié par deux hypothèses. Le changement de couleur des fruits (dégradation des pigments chlorophylliens et augmentation du taux d'anthocyane) serait associé à la perte de rigidité du fruit. Puis, par la capacité de diffusion de la lumière dans le fruit, qui

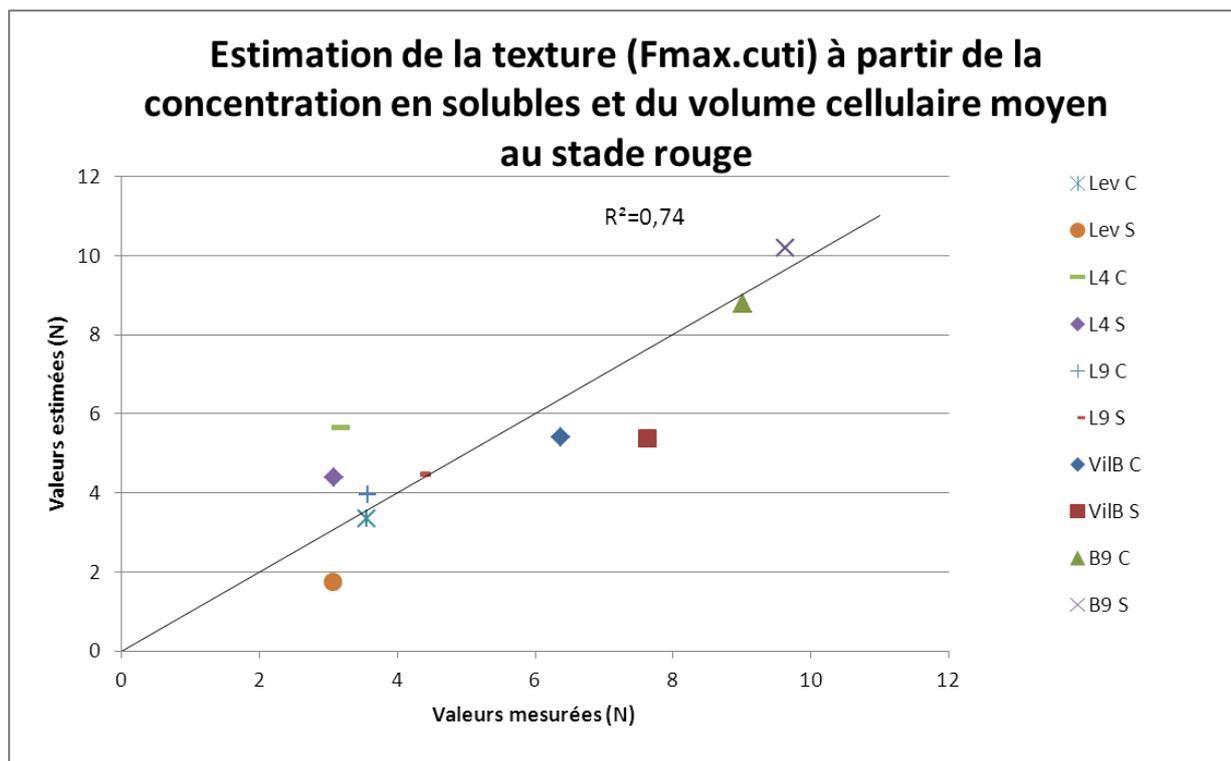


Figure 111 : Corrélations entre les valeurs de fermeté du fruit mesurées en pénétrométrie avec épiderme (Fmax.cuti) et les valeurs de fermeté estimées par le modèle de texture décrit par une variable biochimique intégrative (concentration des solubles en $\text{g}\cdot 100\text{g}\cdot \text{MS}^{-1}$: glucose, fructose, acides citrique, malique et quinique), et une variable histologique : le volume cellulaire moyen (nl) au stade rouge. Chaque génotype par condition est représenté par un point.

Modèle	Génotype	Fmax.cuti mesuré	Fmax.cuti estimé	Ecart : estimation - mesuré
Biochimique	Cervil témoin	3,62	5,36	+48%
	Cervil DHP	3,67	7,24	+97%
Protéomique	Cervil témoin	3,62	3,97	+10%
	Cervil DHP	3,67	3,82	+4%
Intégratif	Cervil témoin	3,62	8,73	+141%
	Cervil DHP	3,67	8,57	+134%

Tableau 25 : Estimation des Fmax.cuti pour le génotype Cervil dans les conditions témoin et DHP en utilisant le modèle protéomique. Le modèle protéomique (jaune) semble le plus pertinent pour décrire le Fmax.cuti.

caractérisait les propriétés internes du fruit (Hother *et al.*, 1995; Lammertyn *et al.*, 2000).

Nos modèles doivent être affinés et validés avec plus de données et avec des données de fruits différents (pêche, pomme). Ensuite ils pourront être intégrés dans des modèles plus complexes comme le fruit virtuel (Genard *et al.*, 2010) puisque ils prédisent des variables comme le volume cellulaire (modèle « eau » (Fishman and Genard, 1998)), la pression de turgescence et la pression osmotique), les concentrations en sucres solubles (modèle « sucres » (Genard *et al.*, 2003)), la concentration en acide citrique (modèle acide citrique (Lobit *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2007)) et la production d'éthylène (Modèle Ethylène (Genard and Gouble, 2005)). De plus ces modèles intègrent les effets de l'environnement (rayonnement, température, humidité relative) et de la plante (potentiel hydrique de tige). D'autres modèles prédictifs de la texture pourraient être construits ; en effet de la même façon que nous avons travaillé sur la fermeté en pénétrométrie avec épiderme, nous pourrions travailler sur les variables de texture obtenues par compression, dans ce cas il faudrait privilégier les variables anatomiques dans le modèle.

Nous avons également essayé de construire un modèle prédictif, intégratif, prenant en compte l'ensemble des variables de différents niveaux d'études (fruit, tissus, molécules, protéines). Cette approche n'a pas été concluante du fait d'un nombre d'observations trop faible.

Le modèle prédictif de la texture de la tomate construit à partir de quatre protéines semblerait être le plus fiable. Ce modèle implique des protéines du métabolisme des parois, mais également des protéines liées à la maturation, confirmant ainsi que la texture du fruit ne se résume pas seulement aux parois cellulaires. Les protéines utilisées pour la construction de ce modèle fournissent de nouvelles pistes de recherche pour de futurs travaux afin de comprendre la texture des fruits charnus : Beta-1 3-glucanase RA207, NAD-dependent epimerase/dehydratase RA257, Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase RA383 et 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase RA340.

A l'échelle du tissu, un modèle basé sur des variables biochimiques et histologiques semble une piste intéressante notamment pour prédire des interactions géotypes x environnement, mais nécessite des approfondissements.

Chapitre 8 :

Synthèse et perspectives

Chapitre 8 : Synthèse et perspectives

L'objet de mes travaux était l'analyse de la texture du fruit, caractère complexe de qualité, par une approche globale et intégrative combinant des approches écophysiologique et protéomique. Cette approche pluridisciplinaire fait partie des défis de la biologie intégrative.

L'étude réalisée avait pour objectifs scientifiques:

- d'améliorer la compréhension de la texture des fruits charnus qui est une variable clé de la qualité
- d'évaluer les effets des interactions génotype x apports en eau sur cette variable
- d'identifier par une approche globale sans a priori les variables clés sous-jacentes à la texture
- de proposer une approche intégrative permettant de construire un réseau de régulation multi-échelles pouvant être intégré dans un modèle prédictif.

Outre ses objectifs scientifiques, l'une des finalités importantes du projet était de proposer à la profession des stratégies durables d'irrigation permettant d'améliorer la qualité des fruits sans pertes excessives de rendement. Le travail présenté a effectivement apporté un certain nombre de réponses mais il a aussi généré des questions nouvelles liées à la complexité de l'approche globale.

Le DHP permet d'améliorer la qualité des fruits charnus en particulier leur texture

L'étude a permis de montrer qu'une réduction des apports d'eau et de solutions nutritives de -40% sur toute la durée de la culture est possible et permet de réduire fortement voire d'annuler le taux de drainage en culture sous serre. La qualité des fruits est améliorée dans ces conditions de déficit hydrique : augmentation des taux de matière sèche, teneurs en sucres, et en vitamine C, augmentation de la fermeté. De plus le déficit hydrique n'altère pas la qualité des fruits récoltés à maturité après une période de conservation de sept jours à 20°C. Dans certains cas, les fruits DHP présentaient même une évolution moindre de la fermeté en post-récolte. Cependant il faut accepter une baisse de rendement de l'ordre de 20% (évaluée sur une variété commerciale) qui pourrait être compensée par un prix de vente plus élevé.

Concernant la texture, les effets induits par le DHP ont été perçus au cours de l'analyse sensorielle et de bonnes corrélations ont été observées entre variables de texture sensorielles et instrumentales. Concernant ces dernières, le DHP augmente majoritairement la fermeté mesurée en pénétrométrie sur les génotypes les plus fermes, pour lesquels la peau semble jouer un rôle important. Les différences de fermeté observées à maturité se construisent dès le stade expansion

cellulaire. Les effets du DHP sur la fermeté mesurée en compression sont différents selon les géotypes (diminution pour les parents contrairement aux NILs). L'introgression de QTL portés par le chromosome 9 améliore la fermeté mesurée par pénétrométrie et par compression, contrairement à ceux portés par le chromosome 4, soulignant ainsi des effets au niveau local (tissu) et au niveau global du fruit (architecture, proportions des différents tissus).

Les proportions relatives des différents tissus, le nombre de loges, les concentrations en sucres et en acides, la matière sèche structurale, le volume cellulaire et la position des vaisseaux sont des variables clés sous-jacentes à la texture du fruit

Plusieurs variables ont été identifiées comme des déterminants importants de la fermeté. Au niveau anatomique, les proportions du péricarpe et de la columelle influencent respectivement positivement et négativement la fermeté globale (compression), alors que les nombres de graines et de loges influencent négativement la fermeté locale (pénétrométrie). Au niveau histologique, la fermeté est influencée négativement par le volume cellulaire moyen et la taille radiale et tangentielle des cellules dans la région externe du péricarpe (fermeté locale) et par la position des faisceaux (rigidité globale). A l'échelle biochimique, la fermeté mesurée en pénétrométrie est corrélée négativement avec les concentrations en fructose et en acide quinique (en gramme de matière sèche) alors que la fermeté mesurée en compression est corrélée positivement avec la concentration en acide citrique (en gramme de matière sèche) et au taux de MIA.

Les protéines liées à la texture du fruit sont impliquées dans le métabolisme primaire, la réponse aux stress, le métabolisme des parois et la maturation

Au niveau protéomique, les protéines corrélées simultanément aux quatre variables de fermeté ont confirmé l'implication de différents processus liés à la maturation des fruits : synthèse d'éthylène, dégradations des parois, modification du potentiel osmotique, réponse au stress. En effet plusieurs protéines du métabolisme des parois étaient corrélées négativement avec la fermeté (Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase (RA081-RA383), Xylose isomerase (RA085), Polygalacturonase A (RA099), Beta-1 3-glucanase (RA207), NAD-dependent epimerase/dehydratase (RA254), Beta-hexosaminidase (RA277)). D'autres protéines, impliquées dans la synthèse d'éthylène étaient également corrélées négativement à la fermeté du fruit (1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxydase (RA340), S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase (RA357)). Enfin, il semblerait que des protéines de réponse au stress (HSP) qui sont surexprimées pendant la maturation soient associées positivement à la fermeté. Certaines protéines sont liées préférentiellement à la fermeté

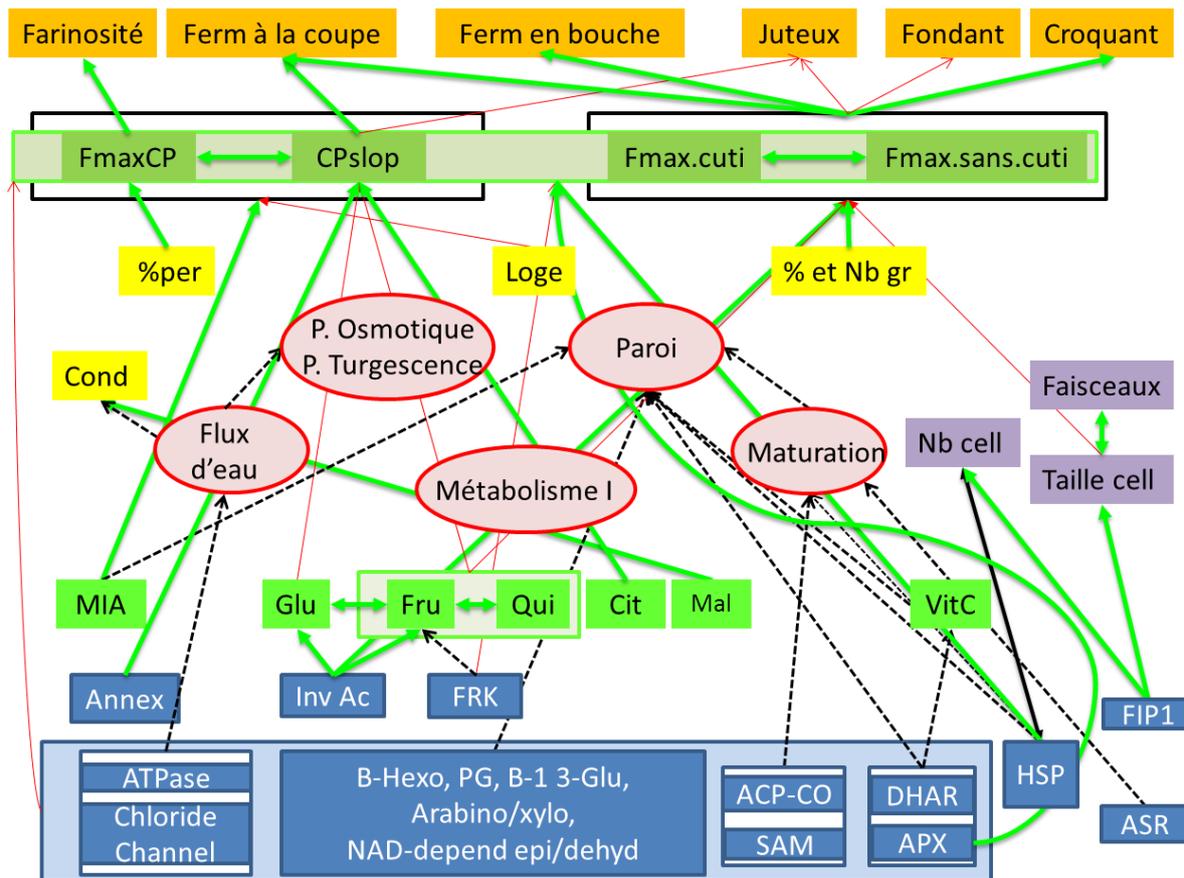


Figure 112 : Réseau de régulation de la texture du fruit inter et intra échelles, (en vert : corrélation positive, en rouge : corrélation négative et en noir (pointillé) : lien probable (non mis en évidence dans notre étude)). Quand les variables sont corrélées aux 4 variables de texture instrumentale, il n'y a qu'une seule flèche vers le cadre. De même pour les protéines qui sont toutes corrélées à la même variable. Variables sensorielle (cadre orange) : Farinosité, Ferm à la coupe : fermeté à la coupe, Ferm en bouche : fermeté en bouche, Juteux, Fondant, Croquant ; Variables instrumentales : FmaxCP : fermeté en compression, CPslop : rigidité en compression, Fmax.cuti : fermeté en pénétrométrie avec peau, Fmax.sans.cuti : fermeté en pénétrométrie sans peau ; Variables anatomiques : Cond : conductance, % per : proportion de péricarpe, Loge : nombre de loges, % et Nb gr : proportion et nombre de graines ; Variables histologiques : Nb cell : nombre de cellules, Taille cell : taille cellulaire, Faisceaux : position relative des faisceaux ; Variables biochimiques : MIA : taux de matière insoluble à l'alcool, Glu : concentration en glucose ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), Fru : concentration en fructose ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), Qui : concentration en acide quinique ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), Cit : concentration en acide citrique ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), Mal : concentration en acide malique ($\text{g}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$), VitC : concentration en vitamine C réduite ($\text{mg}\cdot 100\text{gMS}^{-1}$) ; Protéines : Annex : annexine, Chloride Channel : Chloride intracellulaire channel, B-Hexo : Beta-hexosaminidase, PG : polygalacturonase, B-1 3-Glu : Beta-1 3-glucanase, Arabino/xylo : Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase, NAD-depend epi/dehyd : NAD-dépendant épimérase/déhydratase, ACP-CO : 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxydase, SAM : S-adenosylmethionine-dépendant méthyltransférase, DHAR : Déhydroascorbate réductase, APX : ascorbate peroxydase, HSP : Heat Shock Protein, FIP1 : protéine impliquée dans la régulation négative de la division et de l'expansion cellulaire, ASR : abscisic acid, stress and ripening-induced protein.

mesurée en compression (protéines de réponse au stress impliquées dans la protection des structures cellulaires et pariétales) alors que d'autres sont plutôt liées à la fermeté mesurée en pénétrométrie (protéines impliquées dans le maintien du potentiel osmotique).

L'inférence graphique Gaussienne de dépendances conditionnelles et l'Analyse en Co-inertie Multiple sont des méthodes intéressantes d'intégration de données multi-échelles

L'étude niveau par niveau a permis d'observer de nombreux liens entre les variables de texture et les variables anatomiques, histologiques, biochimiques et protéomiques. Pour permettre de hiérarchiser ces variables et de comprendre leurs interactions, la collaboration avec les statisticiens nous a amenés à privilégier deux approches. L'ACOM a permis de montrer qu'il existe une structure commune aux différentes échelles qui suggère bien une régulation globale de l'ensemble des variables observées en réponse au génotype et au DHP, les effets génétiques étant plus forts que les effets du DHP.

L'analyse des corrélations et l'inférence graphique de réseaux a permis de mieux structurer l'ensemble des informations déjà mentionnées et de sélectionner les variables fortement impliquées dans le déterminisme génétique (parmi les génotypes étudiés) de la texture du fruit (**figure 112**). Ce travail nous a permis de construire un schéma multi-échelles de régulation de la texture dans lequel des processus de croissance et de maturation interagissent aux différentes échelles d'étude, du gène à l'organe. Il est clair que les réseaux de dépendances obtenus sont dépendants du matériel étudié et nécessitent donc une validation sur d'autres génotypes.

Enfin ces résultats ont permis de tester plusieurs modèles statistiques prédictifs de la fermeté (Fmax.cut) des fruits charnus, basés sur des variables protéomiques, biochimiques et/ou histologiques sélectionnées parmi les variables clés de la texture précédemment identifiées. Deux modèles semblent particulièrement intéressants et mériteraient d'être évalués dans des conditions variables: 1) un modèle basé sur quatre protéines : une « Beta-1 3-glucanase », une « NAD-dependent epimerase/dehydratase », une « Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase » et une « 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase ». 2) un modèle mixte intégrant la somme des concentrations en composés solubles exprimées en $g \cdot 100gMS^{-1}$ (glucose, fructose, acide citrique, acide malique et acide quinique) ainsi que le volume cellulaire.

Malgré des résultats très intéressants, ce travail a aussi permis d'identifier de nombreux verrous. En effet, plusieurs difficultés sont apparues au cours de ce travail exploratoire : réaliser

l'ensemble des mesures sur un même individu statistique (ici le fruit) est quasiment impossible, certaines mesures étant destructives ou contraignantes (mesures immédiates, conservation à -80°C, ...). Le nombre de répétitions (observations statistiques) doit être suffisamment grand par rapport au nombre de mesures réalisées, ce qui est difficile et très coûteux. Malgré l'attention que nous avons apportée pour optimiser à ce dernier point, il est resté limitant. De plus, les méthodes existantes ne permettent pas de prendre en compte les interactions géotypes x environnement.

Apport pour les différentes disciplines

Les analyses écophysiological réalisées ont mis en lumière différents processus sous-jacents à la texture du fruit (transpiration, pression de turgescence, pression osmotique, synthèse des sucres et acides, croissance cellulaire). Ces processus étant déjà modélisés (modèle écophysiological : « fruit virtuel »), le premier modèle « écophysiological » de texture du fruit pourrait donc être développé assez facilement, pouvant ainsi prédire la texture du fruit en fonction des conditions environnementales. Nos résultats obtenus sur la tomate, modèle d'étude pour les fruits charnus, seront transférables chez d'autres espèces pour la compréhension de la texture des fruits.

Les analyses protéomiques des fruits des différents géotypes cultivés dans deux conditions hydriques, ont révélé la variation de spots protéiques par rapport aux facteurs génétique, déficit hydrique et stade de développement. Les effets du déficit hydrique sont essentiellement détectés au stade fruit rouge et demeurent faibles par rapport aux effets génétiques. L'analyse protéomique (sans a priori) couplée à l'approche intégrative, a permis d'identifier certaines protéines clés. Ces gènes pourraient être éventuellement des gènes candidats qui agiraient en interaction pour contribuer à la texture du fruit.

D'un point de vue méthodologique, ce travail a questionné les statisticiens sur la puissance des méthodes existantes avec un nombre limité d'observations, ainsi que sur l'intégration de différents effets (génétiques et environnementaux).

Perspectives

Au cours de ce travail, les propriétés rhéologiques, histologiques et biochimiques ont révélé des pistes intéressantes et suscité de nombreuses questions nouvelles pour la compréhension de la texture des fruits charnus. L'approfondissement de ces questions pourrait générer plusieurs questions de recherche.

L'inférence de réseaux a nécessité de nombreuses observations biologiques, il faudrait donc s'interroger sur l'optimisation des méthodes en collaboration avec des statisticiens. Faut-il privilégier le nombre de répétitions ou la variabilité des traitements (sources de variation) ? Un seul traitement avec de nombreuses répétitions biologiques semble une solution à privilégier. La prise en compte simultanée des données mesurées à différents stades de développement est également souhaitable.

Un premier modèle statistique de la texture a été proposé. Ce modèle pourrait être développé à partir des mesures faites aux autres stades de développement (expansion cellulaire, post-récolte) pour tenir compte du caractère évolutif de la texture. Enfin, il serait nécessaire de valider les modèles proposés sur d'autres génotypes et dans d'autres conditions. Enfin un modèle plus élaboré pourrait être couplé au modèle fruit virtuel et permettre de prédire les effets de l'environnement sur l'évolution de la texture des fruits.

Annexes

Annexe 1 : Liste des 396 protéines étudiés, avec les propriétés des spots et les résultats des anova à un et plusieurs facteurs : génotype (G), stade (S) et traitement hydrique (T).

RA	N° séquence du gène	gene region en pb	Rép.	Fonction	log(E value)	Coverage	MW	Spectra	PAI	G	S	T	GxS	GxT	SxT	GxSxT
RA001	Solyc11g020040.1.1	10015582-10019521	3	Chaperone DnaK	-79,17	26	74,300	17	0,61	***	***	-	-	***	-	-
RA002	Solyc06g076020.2.1	43582389-43585486	1	heat shock protein	-117,20	50	70,900	30	1,45	***	***	-	***	-	-	-
RA003	Solyc12g055800.1.1	47132031-47139706	1	V-type ATP synthase alpha chain	-236,79	70	68,400	54	1,88	***	***	-	-	-	-	-
RA004	Solyc11g069790.1.1	51502451-51507359	3	chaperonin	-146,11	51	61,800	30	1,19	***	***	-	-	-	-	-
RA005	Solyc01g106260.2.1	85976768-85981140	1	Chaperone DnaK	-115,14	39	71,700	29	1,11	***	***	-	***	-	-	-
RA007	Solyc06g075010.2.1	42927697-42932331	1	chaperonin	-298,13	72	62,100	54	1,87	***	***	-	***	-	-	-
RA008	Solyc03g113800.2.1	57894787-57902443	1	Betaine aldehyde dehydrogenase	-70,54	34	55,800	14	0,83	***	***	-	***	-	-	-
RA009	Solyc12g043020.1.1	44067590-44080483	1	Dihydroxy-acid dehydratase	-81,87	36	65,800	16	0,81	***	***	-	***	-	-	-
RA010	Solyc03g123830.2.1	64593806-64596894	1	Phosphoglycerate dehydrogenase	-147,80	54	66,000	38	1,34	***	***	-	***	-	-	-
RA011	Solyc08g077180.2.1	58254085-58261125	1	Pyruvate kinase	-108,92	49	63,500	24	0,96	-	***	-	-	-	-	-
RA012	Solyc05g008460.2.1	2805741-2809779	3	ATP synthase subunit beta	-178,98	61	59,500	34	1,17	***	***	-	-	-	-	-
RA013	Solyc09g009020.2.1	2370061-2375045	6	Enolase	-264,52	63	47,700	62	3,32	***	***	-	-	-	-	-
RA014	Solyc01g111760.2.1	89701090-89706839	2	V-type ATP synthase beta chain	-192,88	68	53,200	35	1,61	-	***	-	***	-	-	-
RA015	Solyc03g114500.2.1	58538109-58542525	2	Enolase	-184,90	55	52,000	33	1,80	-	***	-	***	-	-	-
RA016	Solyc10g083970.1.1	62989745-62990917	2	S-adenosylmethionine synthase	-140,44	66	42,500	33	1,79	***	***	-	***	-	-	-
RA017	Solyc12g099000.1.1	64658262-64659443	1	S-adenosylmethionine synthase	-178,84	84	43,000	44	2,32	***	***	-	***	-	-	-
RA018	Solyc01g101060.2.1	82678819-82681422	1	S-adenosylmethionine synthase	-227,02	74	43,200	56	3,39	***	***	-	-	-	-	-
RA019	Solyc01g097340.2.1	7999429-80002633	2	NAD-dependent epimerase/dehydratase family protein-like protein	-137,08	57	42,300	24	1,35	***	***	-	-	-	-	-
RA020	Solyc04g009200.2.1	2695320-2699163	1	Glutamate-1-semialdehyde-2 1-aminomutase	-183,24	66	51,400	43	2,44	-	***	-	-	-	-	-
RA021	Solyc04g082630.2.1	63844019-63847151	1	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase B	-125,91	43	50,800	22	1,10	***	***	-	-	-	-	-
RA022	Solyc03g007940.2.1	1440058-1444221	1	Adenosine kinase	-60,01	47	37,300	13	0,93	***	***	-	***	-	-	-
RA023	Solyc09g090140.2.1	65031288-65034684	3	Malate dehydrogenase	-194,54	65	35,300	49	4,42	***	***	-	***	-	***	-
RA024	Solyc05g008460.2.1	2805741-2809779	3	ATP synthase subunit beta	-20,04	10	59,500	2	0,07	-	***	-	-	-	-	-
RA025	Solyc07g064160.2.1	63644226-63646402	2	Thiazole biosynthetic enzyme	-152,57	56	37,400	36	3,70	***	***	-	***	-	-	-
RA026	Solyc04g073990.2.1	57610227-57612650	2	Annexin	-93,73	55	35,700	29	1,71	***	***	-	-	-	-	-
RA027	Solyc02g090030.2.1	46276521-46278207	1	Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photosystem II	-195,96	55	35,200	52	3,25	***	***	-	***	-	-	-
RA028	Solyc02g065400.2.1	31151784-31154764	2	Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photosystem II	-146,61	55	34,800	37	2,17	***	***	-	***	-	-	-
RA029	Solyc02g065400.2.1	31151784-31154764	2	Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photosystem II	-222,65	62	34,800	66	3,94	***	***	-	***	-	-	-
RA030	Solyc03g025850.2.1	7627656-7630095	3	Remorin 1	-33,17	25	21,800	10	1,25	***	***	-	-	-	***	-
RA031	Solyc10g005100.2.1	92148-94188	2	Salt stress root protein RS1	-56,16	49	21,800	11	1,83	***	***	-	***	-	-	-
RA032	Solyc12g055830.1.1	47184732-47187107	1	Inorganic pyrophosphatase	-28,53	35	24,300	8	1,60	***	***	-	-	-	-	-
RA033	Solyc07g041490.1.1	50632738-50633541	1	Stress responsive alpha-beta barrel domain protein	-85,85	59	29,000	23	2,27	***	***	-	-	-	-	-
RA034	Solyc01g111120.2.1	89253979-89260194	1	Triosephosphate isomerase	-128,10	60	34,600	49	3,19	-	***	-	-	-	-	-
RA035	Solyc04g011510.2.1	3944572-3949105	3	Triosephosphate isomerase	-104,83	82	27,400	25	2,36	***	***	-	-	-	-	-
RA036	Solyc12g009180.1.1	2477766-2480583	1	Cupin superfamily	-78,83	63	21,700	17	2,13	***	***	-	-	-	-	-
RA037	Solyc06g083810.2.1	45406955-45411773	1	Glycolipid transfer protein domain-containing protein 1	-54,93	53	20,100	13	1,00	***	***	-	-	-	-	-
RA038	Solyc01g111300.2.1	89348859-89349828	2	Cold shock protein-1	-77,59	48	18,300	20	2,10	***	***	-	***	-	-	***
RA039	Solyc12g056230.1.1	47552627-47555308	2	Glutathione peroxidase	-58,11	77	19,200	16	1,89	-	***	-	-	-	-	-
RA040	Solyc01g083120.1.1	62310434-62314944	1	Ubiquitin-conjugating enzyme family protein-like	-79,20	76	16,500	25	3,00	-	***	-	-	-	-	-
RA041	Solyc01g103450.2.1	83821528-83826037	2	Chaperone DnaK	-133,50	45	74,700	27	1,07	***	***	-	-	-	-	-
RA042	Solyc11g069790.1.1	51502451-51507359	3	chaperonin	-387,88	69	61,800	90	3,62	-	***	-	***	-	-	-
RA043	Solyc06g005940.2.1	921114-925482	4	Protein disulfide isomerase	-120,98	57	55,600	25	1,12	***	***	-	***	-	-	-
RA044	Solyc06g060290.2.1	34649921-34655100	2	Protein disulfide isomerase	-147,07	66	49,100	37	1,58	-	***	-	***	-	-	-
RA045	Solyc08g074620.1.1	55911248-55913011	1	Polyphenol oxidase	-62,91	29	66,100	15	0,74	-	***	-	***	-	-	-
RA046	Solyc06g005940.2.1	921114-925482	4	Protein disulfide isomerase	-127,34	53	55,600	35	1,46	***	***	-	-	-	-	-
RA047	Solyc06g060290.2.1	34649921-34655100	2	Protein disulfide isomerase	-69,89	32	49,100	17	0,65	-	***	-	-	-	-	-
RA048	Solyc01g094200.2.1	77521221-77531982	1	NAD-dependent malic enzyme 2	-146,48	54	66,100	28	1,00	***	***	-	-	-	-	-
RA050	Solyc01g007330.2.1	1851938-1853783	1	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	-110,74	47	52,800	27	1,60	***	***	-	-	-	-	-
RA052	Solyc09g009020.2.1	2370061-2375045	6	Enolase	-198,27	63	47,700	54	2,95	-	***	-	***	-	-	-
RA053	Solyc02g063130.2.1	29750711-29757113	1	UV excision repair protein RAD23	-176,26	72	40,400	42	3,82	-	***	-	-	-	-	-
RA054	Solyc04g007120.2.1	832713-843272	1	UV excision repair protein RAD23	-125,99	55	42,500	25	2,17	***	***	-	***	-	-	-
RA055	Solyc09g011030.2.1	4368272-4373182	3	Hsp70 nucleotide exchange factor fes1	-154,00	61	43,300	34	2,27	***	***	-	-	-	-	-
RA056	Solyc03g031720.2.1	8453484-8459499	1	RNA Binding Protein 45	-169,17	63	44,700	35	4,50	***	***	-	-	-	-	-
RA057	Solyc01g099760.2.1	81668247-81673265	1	26S protease regulatory subunit 6A homolog	-98,64	62	47,400	21	1,10	***	***	-	***	-	-	-
RA058	Solyc09g008280.1.1	1749950-1751122	3	S-adenosylmethionine synthase	-281,59	79	42,500	84	5,00	***	***	-	***	-	-	-
RA059	Solyc01g057830.2.1	56934925-56939761	1	30S ribosomal protein S1	-140,52	73	45,100	31	1,38	***	***	-	-	-	-	-
RA060	Solyc02g086910.2.1	44078232-44082017	1	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase cyclophilin-type	-80,63	35	49,200	14	0,70	***	***	-	-	-	-	-
RA061	Solyc07g008720.2.1	3694316-3696017	1	Nascent polypeptide-associated complex subunit beta	-138,91	71	17,400	34	7,20	***	***	-	-	-	-	-
RA062	Solyc07g062650.2.1	62561877-62565142	3	Malate dehydrogenase	-117,95	70	36,000	19	2,10	***	***	-	-	-	-	-
RA063	Solyc03g115990.1.1	59594180-59595418	1	Malate dehydrogenase	-229,16	63	43,100	55	3,73	***	***	-	-	-	-	-
RA064	Solyc04g073970.2.1	57593055-57595973	1	cDNA clone J033025P19 full insert sequence	-58,13	53	30,600	11	1,09	-	***	-	-	-	-	***
RA065	Solyc08g062660.2.1	48903019-48905978	2	Ran GTPase binding protein	-142,01	64	24,900	36	4,33	***	***	-	-	-	-	-
RA066	Solyc06g060260.2.1	34615474-34625952	1	Stromal ascorbate peroxidase 7	-125,54	50	37,700	33	1,83	-	***	-	-	-	-	-
RA067	Solyc06g005150.2.1	170218-173338	2	Ascorbate peroxidase	-172,88	81	27,200	48	4,64	***	***	-	***	-	-	-
RA068	Solyc04g011510.2.1	3944572-3949105	3	Triosephosphate isomerase	-62,42	53	27,400	15	1,73	***	***	-	-	-	-	-
RA069	Solyc07g061790.2.1	61964267-61965352	1	Heme-binding protein 2	-181,21	60	25,800	44	3,13	***	***	-	***	-	-	-
RA070	Solyc05g054760.2.1	63753656-63758079	1	Dehydroascorbate reductase	-145,33	82	23,500	56	3,87	***	***	-	-	-	-	-
RA071	Solyc05g052150.2.1	61597939-61598511	1	ATP synthase subunit	-28,60	68	10,300	6	1,00	***	***	-	-	-	-	-
RA072	Solyc07g053690.2.1	59452115-59454660	1	OB-fold nucleic acid binding domain containing protein	-51,77	43	16,400	16	2,43	-	***	-	-	-	-	-
RA073	Solyc09g090140.2.1	65031288-65														

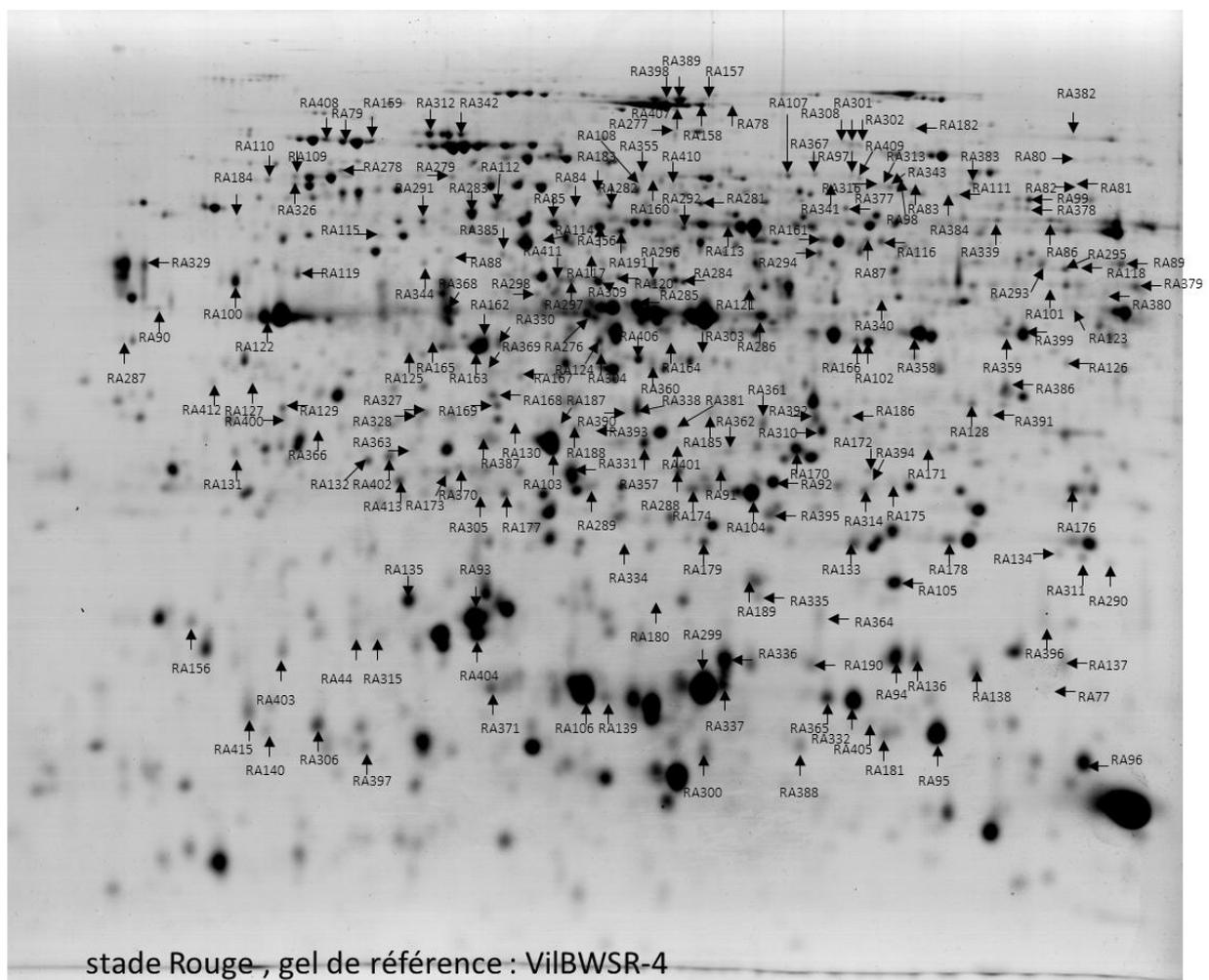
RA101	Solyc01g005560.2.1	394402-399248	1	Isocitrate dehydrogenase	-140,74	63	46,600	45	2,24	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA102	Solyc09g082720.2.1	63816287-63819690	2	Aldo/keto reductase family protein	-172,13	78	38,200	56	3,69	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA103	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-97,29	24	71,200	26	1,13	-	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA104	Solyc09g007270.2.1	865197-869322	2	Ascorbate peroxidase	-128,49	75	27,500	40	3,15	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA105	Solyc03g111720.2.1	56431489-56432545	2	Peptide methionine sulfoxide reductase msrA	-145,14	67	21,800	39	5,13	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA106	Solyc06g076570.1.1	43954001-43954465	2	class I heat shock protein	-98,01	60	17,500	35	5,29	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA107	Solyc05g050120.2.1	59250938-5925250	1	Malic enzyme	-165,39	53	64,000	32	1,55	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA108	Solyc08g014130.2.1	3734998-3744536	2	2-isopropylmalate synthase 1	-215,78	60	66,800	47	1,96	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA109	Solyc06g005940.2.1	921114-925482	4	Protein disulfide isomerase	-65,04	32	55,600	20	0,81	-	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA110	Solyc07g008170.2.1	2882629-2893614	1	Methyl binding domain protein	-79,26	54	36,500	20	1,05	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA111	Solyc02g081160.2.1	39802521-39809198	1	Diphosphate-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase	-79,32	43	61,600	20	1,15	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA112	Solyc01g060470.2.1	63867613-63872933	1	Importin alpha-1b subunit	-212,54	61	58,600	58	2,76	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA113	Solyc09g009020.2.1	2370061-2375045	6	Enolase	-165,96	56	47,700	33	1,74	***	***	***	***	-	-	-	-	-	-
RA114	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-122,80	34	71,200	29	1,29	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA115	Solyc09g011030.2.1	4368272-4373182	3	Hsp70 nucleotide exchange factor fes1	-88,67	54	43,300	19	1,33	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA116	Solyc06g063140.2.1	36272039-36278473	1	26S protease regulatory subunit 7	-97,78	59	47,700	33	1,40	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA117	Solyc08g067510.1.1	56497821-56499095	1	Acytransferase-like protein	-124,55	54	46,900	26	1,65	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA118	Solyc09g064370.2.1	57150099-57154745	2	Alcohol dehydrogenase	-157,04	61	41,200	32	1,89	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA119	Solyc08g076970.2.1	58078222-58080829	1	Acetylornithine deacetylase or succinyl-diaminopimelate desuccinylase	-98,07	61	43,000	28	1,76	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA120	Solyc08g076990.2.1	58097110-58102792	1	Acetylornithine deacetylase	-154,02	62	48,000	37	2,22	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA121	Solyc07g066600.2.1	65205704-65208684	1	Phosphoglycerate kinase	-107,02	57	42,200	25	1,09	***	***	-	***	-	-	-	-	-	***
RA122	Solyc04g082200.2.1	63550865-63552237	3	Dehydrin	-52,15	43	23,000	17	2,00	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA123	Solyc02g086880.2.1	44063088-44067604	1	Formate dehydrogenase	-146,41	54	42,000	28	1,71	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA124	Solyc03g083930.2.1	46783589-46788273	2	Nuclear movement protein nudc	-89,64	54	33,500	22	1,60	***	***	***	***	-	-	-	-	-	-
RA125	Solyc05g026050.2.1	39648364-39651972	1	Charged multivesicular body protein 4b	-42,51	45	24,300	12	1,88	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA126	Solyc03g116110.2.1	59675160-59679638	1	Alpha/beta hydrolase fold protein	-90,78	50	40,700	15	0,89	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA127	Solyc06g036110.1.1	22246752-22247498	1	C2 domain-containing protein	-41,93	36	26,700	8	2,00	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA128	Solyc04g079200.2.1	61339502-61344701	1	26S proteasome regulatory subunit	-132,90	72	34,600	35	3,70	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA129	Solyc02g081170.2.1	39810752-39812645	2	Plastid-lipid-associated protein, chloroplastic	-117,73	61	35,500	21	1,53	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA130	Solyc03g082580.2.1	46048220-46052563	2	Glucosamine-6-phosphate deaminase	-91,96	36	34,800	15	1,25	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA131	Solyc11g072190.1.1	52501034-52504379	2	Elongation factor beta-1	-111,12	73	24,400	27	2,08	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA132	Solyc01g097460.2.1	80067637-80074843	1	Ribose-5-phosphate isomerase	-132,11	59	31,000	23	2,40	-	-	-	***	-	-	-	-	-	-
RA133	Solyc06g049080.2.1	28852597-28854592	1	Superoxide dismutase	-84,93	65	25,200	20	3,00	***	***	***	***	-	-	-	-	-	-
RA134	Solyc02g079750.2.1	38774685-38777292	1	Flavoprotein wrbA	-47,84	43	21,900	17	2,57	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA135	Solyc08g078700.2.1	59635844-59637072	1	Heat shock protein 22	-75,62	45	23,700	30	3,44	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA136	Solyc03g113930.1.1	58031590-58032156	1	class IV heat shock protein	-48,53	46	21,400	20	2,09	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA137	Solyc01g057000.2.1	50798585-50800960	1	Universal stress protein family protein	-98,96	66	18,800	28	4,00	***	***	-	-	-	-	-	-	-	***
RA138	Solyc01g102960.2.1	83371681-83372561	1	class IV heat shock protein	-34,30	40	21,600	23	2,27	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA139	Solyc04g008280.2.1	1954623-1957620	1	Regulator of ribonuclease activity A	-43,79	40	27,700	11	1,08	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA140	Solyc01g083650.1.1	62763114-62763800	2	Peroxioredoxin ahpC/TSA family	-89,34	61	24,300	17	1,50	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA141	Solyc01g080460.2.1	72206073-72214485	4	Pyruvate phosphate dikinase	-267,98	54	105,700	65	1,58	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA142	Solyc05g053300.2.1	62572547-62577624	1	Dihydropyridyl dehydrogenase	-105,63	58	52,700	19	0,95	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA143	Solyc09g010930.2.1	4264025-4269432	3	NAD-dependent epimerase/dehydratase	-84,26	47	27,500	20	2,00	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA144	Solyc04g011510.2.1	3944572-3949105	3	Triosephosphate isomerase	-196,26	84	27,400	65	5,91	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA145	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-20,52	9	71,200	6	2,05	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA146	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-96,20	18	71,200	28	1,21	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA147	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-15,06	8	71,200	5	0,21	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA148	Solyc04g011440.2.1	3894918-3898067	1	heat shock protein	-249,84	59	71,200	57	2,91	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA149	Solyc09g009020.2.1	2370061-2375045	6	Enolase	-326,63	75	47,700	102	5,47	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA150	Solyc11g011960.1.1	4912805-4919067	2	UTP-glucose 1 phosphate uridylyltransferase	-166,69	68	51,700	52	2,00	-	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA151	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-156,51	35	71,200	44	2,04	***	***	-	***	-	-	-	-	-	***
RA152	Solyc09g089590.2.1	64646856-64649117	4	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein	-177,43	64	41,000	47	3,20	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA153	Solyc09g090140.2.1	65031288-65034684	3	Malate dehydrogenase	-266,93	78	35,300	78	6,75	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA154	Solyc09g090980.2.1	65698002-65700023	4	Major allergen Mal d 1	-113,31	76	17,300	39	3,73	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA155	Solyc01g099770.2.1	81675491-81677536	1	Translationally-controlled tumor protein homolog	-34,85	39	18,800	8	1,14	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA156	Solyc01g080460.2.1	72206073-72214485	4	Pyruvate phosphate dikinase	-199,87	48	105,700	50	1,26	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA157	Solyc11g02040.1.1	10015582-10019521	3	Chaperone DnaK	-147,92	40	74,300	30	1,11	-	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA160	Solyc01g106320.2.1	86005942-86007808	3	Octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein	-109,20	54	53,900	23	1,26	***	***	-	-	-	-	-	-	-	***
RA161	Solyc11g011960.1.1	4912805-4919067	2	UTP-glucose 1 phosphate uridylyltransferase	-144,66	71	51,700	41	1,67	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA162	Solyc07g049530.2.1	57154220-57156391	3	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	-150,97	65	35,700	40	2,67	***	***	***	***	-	-	-	-	-	-
RA164	Solyc09g082720.2.1	63820711-63824566	1	Aldo/keto reductase family protein	-127,46	72	38,100	36	2,38	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA165	Solyc04g082200.2.1	63550865-63552237	3	Dehydrin	-77,78	49	23,000	13	1,44	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA166	Solyc09g082720.2.1	63816287-63819690	2	Aldo/keto reductase family protein	-176,72	78	38,200	48	3,31	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA167	Solyc03g120090.1.1	62641034-62641951	1	Pyridoxal biosynthesis lyase pdxS	-103,74	63	32,600	21	2,00	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA168	Solyc04g016470.2.1	7303341-7305043	2	Beta-1,3-glucanase	-205,50	70	38,300	58	4,50	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA169	Solyc06g053200.2.1	32435446-32437176	1	6-phosphogluconolactonase	-97,22	62	28,600	30	2,46	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA170	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-65,34	17	71,200	13	0,54	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA171	Solyc07g021540.2.1	19310213-19316385	1	FIP1	-24,89	28	28,500	6	0,67	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA172	Solyc12g006870.1.1	1315304-1322819	1	Acyl-protein thioesterase 2	-57,06	30	27,100	15	1,88	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA173	Solyc10g084400.1.1	63281886-63284225	2	Glutathione S-transferase	-98,51	65	27,100	26	2,07	***	***	-	***	-	-	-	-	-	-
RA174	Solyc09g007270.2.1	865197-869322	2	Ascorbate peroxidase	-99,60	64	27,500	22	1,69	***	***	-	-	-	-	-	-	-	-
RA175	Solyc06g005150.2.1	170218-173338	2	Ascorbate peroxidase	-95,61	66	27,200	24	2,18	***									

RA201	Solyc12g010040.1.1	3180908-3187436	2	Leucyl aminopeptidase	-128,03	41	60,100	17	0,57	-	***	-	-	-	-	-
RA202	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-148,84	35	71,200	43	2,00	***	***	-	***	-	-	-
RA203	Solyc02g079500.2.1	38618009-38620468	3	Peroxidase	-138,25	46	38,600	40	3,73	***	***	-	***	-	-	-
RA205	Solyc11g067160.1.1	49978029-49981767	1	Aldo/keto reductase family protein	-95,81	56	44,300	23	1,41	-	***	-	-	-	-	-
RA206	Solyc10g080210.1.1	60883700-60890335	2	Polygalacturonase A	-47,36	26	49,900	11	0,71	***	***	-	***	-	-	-
RA207	Solyc04g016470.2.1	7303341-7305043	2	Beta-1-3-glucanase	-66,61	44	38,300	19	1,36	***	***	-	***	-	-	-
RA208	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-68,09	23	71,200	11	0,50	-	***	-	***	-	-	-
RA209	Solyc06g005360.2.1	372206-374775	1	Actin depolymerizing factor 3	-41,19	58	15,800	12	3,00	***	***	-	***	-	-	-
RA210	Solyc09g091000.2.1	65708207-65709306	1	Major allergen Mal d 1	-35,09	60	17,300	11	0,92	***	***	-	***	-	-	-
RA212	Solyc12g044600.2.1	45079934-45087825	1	NADP-dependent malic enzyme, chloroplastic	-99,70	37	70,100	22	1,14	***	***	-	***	-	-	-
RA213	Solyc10g049890.1.1	42590722-42594292	1	Phosphoglycerate dehydrogenase	-120,20	43	62,400	25	0,97	-	***	-	***	-	-	-
RA214	Solyc03g005260.2.1	148411-153101	1	Sulfate adenylyltransferase	-99,04	46	52,100	22	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA215	Solyc09g008280.1.1	1749950-1751122	3	S-adenosylmethionine synthase	-147,20	70	42,500	30	1,78	-	***	-	***	-	-	***
RA216	Solyc01g097340.2.1	79994429-80002633	2	NAD-dependent epimerase/dehydratase family protein-like protein	-84,85	42	42,300	18	1,05	***	***	-	***	-	-	-
RA217	Solyc12g009400.1.1	2682210-2685916	1	Pyruvate dehydrogenase E1 component alpha subunit	-107,30	48	48,600	22	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA218	Solyc07g017900.2.1	8283617-8294010	1	Aldose 1-epimerase family protein	-88,26	59	35,300	16	0,89	-	***	-	***	-	-	-
RA219	Solyc04g073990.2.1	57610227-57612650	2	Annexin	-45,31	39	35,700	10	0,65	***	***	-	***	-	-	-
RA220	Solyc02g088790.2.1	45342858-45345771	1	RNA-binding protein	-54,91	35	38,200	9	1,25	-	***	-	***	-	-	-
RA221	Solyc08g062660.2.1	48903019-48905978	2	Ran GTPase binding protein	-25,01	33	24,900	5	0,67	-	***	-	***	-	-	-
RA222	Solyc01g005520.2.1	349916-352687	1	Tetratricopeptide TPR_2 repeat protein	-68,44	36	37,000	13	0,68	-	***	-	***	-	-	-
RA223	Solyc02g083810.2.1	41646719-41650004	1	Ferredoxin-NADP reductase	-77,63	30	41,500	13	0,81	***	***	-	***	-	-	***
RA224	Solyc07g064160.2.1	63644226-63646402	2	Thiazole biosynthetic enzyme	-88,06	43	37,400	20	2,30	***	***	-	***	-	-	-
RA225	Solyc08g080140.2.1	60644754-60646888	2	dTDP-4-dehydrothiamine reductase	-85,16	56	33,700	23	1,53	***	***	-	***	-	-	-
RA226	Solyc09g010380.2.1	3768116-3770648	1	Inorganic pyrophosphatase-like protein	-54,05	47	24,600	13	1,56	***	***	-	***	-	-	-
RA227	Solyc05g008450.2.1	2800495-2805716	2	Oxidoreductase FAD/NAD	-31,39	28	32,600	7	0,50	***	***	-	***	-	-	-
RA228	Solyc08g079020.2.1	59830669-59836240	1	Adenine phosphoribosyltransferase-like protein	-34,59	40	19,900	8	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA229	Solyc09g082320.2.1	63473246-63478374	2	Proteasome subunit beta type	-68,73	62	22,500	18	1,64	***	***	-	***	-	-	-
RA230	Solyc01g100030.2.1	81869800-81871185	1	Deoxyuridine 5-apos-triphosphate nucleotidohydrolase	-67,93	77	17,800	13	1,40	***	***	-	***	-	-	-
RA231	Solyc12g005630.1.1	334079-336443	1	Cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit	-53,43	38	24,200	12	1,50	***	***	-	***	-	-	-
RA232	Solyc03g025340.1.1	7153156-7154205	1	C2 domain-containing protein	-75,94	48	36,300	19	3,17	***	***	-	***	-	-	-
RA233	Solyc06g083190.2.1	45004847-45008910	1	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	-116,91	41	63,400	24	1,09	-	***	-	***	-	-	-
RA234	Solyc06g050550.2.1	29742430-29749862	1	Sorting nexin 1	-75,57	36	60,500	13	0,64	***	***	-	***	-	-	-
RA235	Solyc01g106320.2.1	86005942-86007808	3	Occticosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein	-50,40	21	53,900	8	0,53	***	***	-	***	-	-	-
RA236	NA	NA	4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	***	***	-	***	-	-	-
RA237	Solyc07g044840.2.1	55217173-55222925	1	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase	-151,03	51	61,000	34	1,36	***	***	-	***	-	-	-
RA238	Solyc02g082800.2.1	41021911-41031456	1	Ubiquitin-1	-208,67	54	58,500	42	2,93	***	***	-	***	-	-	-
RA239	Solyc09g009020.2.1	2370061-2370545	6	Enolase	-183,68	60	47,700	46	2,58	***	***	-	***	-	-	-
RA240	Solyc12g098420.1.1	64267844-64273580	1	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase	-100,95	42	46,800	22	1,57	***	***	-	***	-	-	-
RA241	Solyc04g077020.2.1	59583881-59586708	1	Tubulin alpha-3 chain	-249,03	72	49,600	49	2,78	-	***	-	***	-	-	-
RA242	Solyc11g067240.1.1	50060665-50065903	1	Vacuolar sorting protein 4b	-75,78	40	48,000	14	0,58	***	***	-	***	-	-	-
RA243	Solyc05g013380.2.1	6451782-6457884	1	Alanine aminotransferase 2	-112,22	50	53,300	25	1,19	***	***	-	***	-	-	-
RA244	Solyc10g078930.1.1	59896781-59900058	2	Activator of heat shock protein ATPase homolog 1	-86,44	55	39,300	30	2,38	***	***	-	***	-	-	-
RA245	Solyc04g011400.2.1	3868800-3872796	3	UDP-glucose 4-epimerase	-97,00	59	38,500	22	1,29	***	***	-	***	-	-	-
RA246	Solyc05g012070.2.1	5295089-5298245	1	Alpha-1,4-glucan-protein synthase	-88,09	61	41,100	24	1,30	***	***	-	***	-	-	-
RA247	Solyc08g022210.2.1	14105526-14113435	2	Methylthioribose-1-phosphate isomerase	-90,32	42	39,300	20	1,62	***	***	-	***	-	-	-
RA248	Solyc02g080540.1.1	39325443-39326576	1	ATP synthase gamma chain	-58,39	24	41,400	11	0,61	***	***	-	***	-	-	-
RA249	Solyc04g055170.2.1	52933311-52937146	1	Annexin 2	-126,74	70	36,100	42	2,44	***	***	-	***	-	-	-
RA250	Solyc09g011240.2.1	4573233-4578442	1	Aldo/keto reductase, Reductase 2	-78,49	44	35,500	20	1,18	***	***	-	***	-	-	-
RA251	Solyc06g073190.2.1	41483219-41485991	2	Fructokinase-like	-149,64	69	34,700	52	2,95	***	***	-	***	-	-	-
RA252	Solyc08g067160.2.1	53325912-53329825	1	Acyl-protein thioesterase 2	-36,31	37	27,100	8	0,80	***	***	-	***	-	-	-
RA253	Solyc12g056110.1.1	47434718-47440701	1	V-type proton ATPase subunit E	-34,11	42	26,000	8	0,90	***	***	-	***	-	-	-
RA254	Solyc09g010930.2.1	4264025-4269432	3	NAD-dependent epimerase/dehydratase	-120,24	63	27,500	22	2,20	***	***	-	***	-	-	-
RA255	Solyc09g011140.2.1	4499977-4502723	1	Tropinone reductase I	-34,51	32	29,400	7	0,58	***	***	-	***	-	-	-
RA256	Solyc10g078930.1.1	59896781-59900058	2	Activator of heat shock protein ATPase homolog 1	-8,00	11	39,300	2	0,15	***	***	-	***	-	-	-
RA257	Solyc09g010930.2.1	4264025-4269432	3	NAD-dependent epimerase/dehydratase	-127,09	64	27,500	29	3,00	***	***	-	***	-	-	-
RA258	Solyc08g065220.2.1	50293331-50300381	1	Glycine dehydrogenase P protein	-170,93	46	112,900	43	1,26	***	***	-	***	-	-	-
RA259	Solyc02g082840.2.1	41059268-41070574	1	Protein GRIP	-44,76	14	90,400	9	0,24	-	***	-	***	-	-	-
RA261	Solyc03g120230.2.1	62741263-62746412	1	MAR-binding filament-like protein 1	-63,36	21	81,300	13	0,39	-	***	-	***	-	-	-
RA262	Solyc03g114500.2.1	58538109-58542525	2	Enolase	-134,61	48	52,000	24	1,12	***	***	-	***	-	-	-
RA263	Solyc09g008280.1.1	1749950-1751122	3	S-adenosylmethionine synthase	-157,06	69	42,500	34	1,94	-	***	-	***	-	-	-
RA264	Solyc10g086580.1.1	64688483-64690961	2	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase 1	-214,66	54	49,100	48	2,57	***	***	-	***	-	-	-
RA265	Solyc01g010750.2.1	5783031-5788195	1	Stress responsive protein	-70,98	64	37,500	19	1,82	-	***	-	***	-	-	-
RA267	Solyc04g011400.2.1	3868800-3872796	3	UDP-glucose 4-epimerase	-114,78	68	38,500	29	1,76	***	***	-	***	-	-	-
RA268	Solyc08g014340.2.1	4063851-4071314	1	Cysteine synthase	-116,21	45	40,800	22	1,28	***	***	-	***	-	-	-
RA269	Solyc05g014470.2.1	8322381-8324881	3	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	-136,96	58	36,600	33	2,64	***	***	-	***	-	-	-
RA270	Solyc02g062340.2.1	28530062-28532470	1	Fructose-bisphosphate aldolase	-91,05	57	42,600	18	1,12	***	***	-	***	-	-	-
RA271	Solyc09g082060.2.1	63298831-63303187	1	Cysteine synthase	-230,48	70	34,100	52	3,86	***	***	-	***	-	-	-
RA272	Solyc08g080140.2.1	60644754-60646888	2	dTDP-4-dehydrothiamine reductase	-122,46	63	33,700	33	2,20	***	***	-	***	-	-	-
RA273	Solyc04g081970.2.1	63392195-63394296	1	Thioredoxin	-43,79	34	33,400	10	0,79	-	***	-	***	-	-	-
RA274	Solyc07g066270.2.1	64973786-64976784	1	Glucosamine-6-phosphate deaminase	-66,46	47	28,000	14	1,40	***	***	-	***	-	-	-
RA275	Solyc09g018790.2.1	17001628-17004264	1	Gamma hydroxybutyrate dehydrogenase-like protein	-94,26	50	30,300	19	1,43	***	***	-	***	-	-	-
RA276	Solyc09g089580.2.1	64646856-64649117	4	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein	-50,45	41	41,000	15	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA277	Solyc01g081610.2.1	73313897-73316705	2	Beta-hexosaminidase 1	-101,72	38	63,900	23	1,26	***	***	-	***	-	-	-
RA278	Solyc04g071620.2.1	56178656-56180338	1	ASR4	-115,19	56	32,900	20	1,24	***	***	-	***	-	-	-
RA279	Solyc04g076820.2.1	59289748-59291172	1	Occticosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein	-55,53	33	52,200	12	0,57	-	***	-	***	-	-	-
RA280	Solyc01g099190.2.1	81251679-81256014	6	Lipoxygenase	-134,60	35	96,800	28	0,63	***	***	-	***	-	-	-
RA281	Solyc07g064810.2.1	64017711-64025505	1	Imidazole glycerol phosphate synthase subunit hisF	-165,23	54	64,000	36	1,16	***	***	-	***	-	-	-
RA282	Solyc09g083410.2.1	64466144-64472295	1	Amidase hydantoinase	-199,57	64	50,700	49	2,17	***	***	-	***	-	-	-
RA283	Solyc05g008460.2.1	2805741-2809779	3	ATP synthase subunit beta	-269,06	64	59,500	76	2,60	***	***	-	***</			

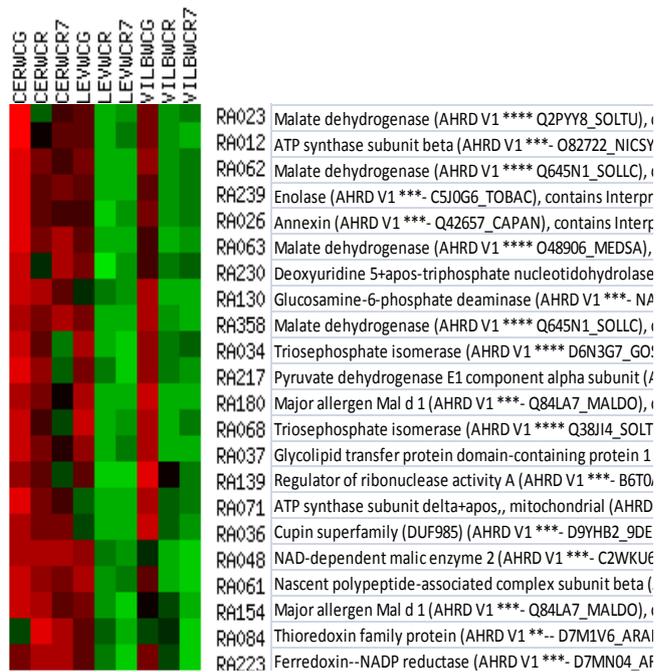
RA302	Solyc09g065540.2.1	59258116-59272301	1	Methylcrotonoyl-CoA carboxylase alpha chain	-46,60	25	80,500	11	0,41	***	***	***	-	-	-	-
RA303	Solyc11g018550.2.1	8668547-8674999	1	Thylakoid-bound ascorbate peroxidase 6	-83,41	38	46,000	21	1,16	***	***	-	***	-	-	-
RA304	Solyc10g005110.2.1	96242-103626	1	Coproporphyrinogen III oxidase aerobic	-95,31	48	44,700	26	1,33	***	***	-	***	-	-	-
RA305	Solyc11g011250.1.1	4291341-4296684	1	Chloride intracellular channel 6	-51,49	45	29,800	16	0,94	***	***	-	-	-	-	-
RA306	Solyc10g083650.1.1	62763114-62763800	2	Peroxioredoxin ahpC	-92,35	48	24,300	20	1,67	***	***	-	***	-	-	-
RA307	Solyc07g051850.2.1	57713505-57718748	3	Aspartic proteinase	-181,14	41	55,000	48	2,08	***	***	-	***	-	-	-
RA308	Solyc01g104920.2.1	85004629-85013296	1	26S protease regulatory subunit 8 homolog	-123,90	48	75,900	26	0,75	***	***	-	***	-	-	-
RA309	Solyc01g108880.2.1	87786634-87788179	3	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	-162,03	55	40,600	35	2,50	***	***	-	***	-	-	-
RA310	Solyc07g062970.2.1	62819985-62823101	2	Serine/threonine phosphatase family protein	-100,71	63	30,800	36	3,17	***	***	-	***	-	***	-
RA311	Solyc09g082320.2.1	63473246-63478374	2	Proteasome subunit beta type	-77,76	69	22,500	22	2,09	***	***	-	***	-	-	-
RA312	Solyc03g082920.2.1	46341372-46345339	1	Heat shock protein	-108,95	39	73,300	23	1,00	***	***	-	-	-	-	-
RA314	Solyc02g067750.2.1	32439990-32442359	1	Carbonic anhydrase	-66,66	54	28,500	14	1,13	***	***	-	***	-	-	-
RA315	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-57,52	18	71,200	11	0,46	-	***	-	-	-	-	-
RA317	Solyc01g106320.2.1	86005942-86007808	3	Octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein	-137,88	65	53,900	34	1,84	***	***	***	***	-	-	-
RA318	Solyc09g009020.2.1	2370061-2375045	6	Enolase	-224,22	66	47,700	59	3,21	***	***	-	***	-	-	-
RA319	Solyc11g011380.1.1	4456053-4460206	1	Glutamine synthetase	-146,59	55	38,500	42	4,09	***	***	-	-	-	-	-
RA320	Solyc04g011400.2.1	3868800-3872796	3	UDP-glucose 4-epimerase	-163,13	70	38,500	44	2,76	-	***	-	-	-	-	-
RA321	Solyc02g071700.2.1	35644262-35647481	1	GDSL esterase/lipase At1g29670	-49,01	28	39,900	8	1,25	***	***	-	***	-	-	-
RA322	Solyc02g079060.2.1	38263644-38270218	2	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit J	-47,28	53	24,900	9	0,91	***	***	-	-	-	-	-
RA323	Solyc11g072190.1.1	52501034-52504379	2	Elongation factor beta-1	-86,33	64	24,400	18	1,38	***	***	-	-	-	-	-
RA324	Solyc01g106430.2.1	86088310-86092110	1	Inorganic pyrophosphatase family protein	-111,75	48	32,300	28	2,90	***	***	-	***	-	-	-
RA325	Solyc06g073090.2.1	41417554-41421363	1	Ribosomal subunit interface protein	-53,76	35	34,700	13	1,30	***	***	-	***	-	-	-
RA326	Solyc06g005940.2.1	921114-925482	4	Protein disulfide isomerase	-60,72	32	55,600	15	0,62	***	***	-	-	-	-	-
RA329	Solyc02g079500.2.1	38618009-38620468	3	Peroxidase	-80,20	35	38,600	24	2,18	***	***	***	***	-	-	***
RA330	Solyc07g049530.2.1	57154220-57156391	3	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	-75,09	41	35,700	19	1,27	-	***	-	***	-	-	-
RA331	Solyc07g041900.2.1	51828739-51831068	2	Cathepsin L-like cysteine proteinase	-193,98	47	38,800	41	2,93	***	***	-	-	-	-	-
RA332	Solyc09g015020.1.1	7440133-7440597	1	class I heat shock protein 3	-8,44	20	17,600	3	0,80	***	***	-	***	***	-	***
RA333	Solyc03g082420.2.1	45898742-45898928	2	Heat shock protein	-38,77	38	26,100	12	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA334	Solyc12g042830.1.1	43709595-43709834	3	class I heat shock protein	-21,37	30	8,900	5	3,00	***	***	-	***	***	-	-
RA335	Solyc03g082420.2.1	45898742-45898928	2	Heat shock protein	-51,88	38	26,100	16	1,33	***	***	-	***	-	-	-
RA337	Solyc12g010060.1.1	3203778-3206781	1	Eukaryotic translation initiation factor 5A	-132,34	72	17,400	43	6,71	***	***	-	***	-	-	-
RA339	Solyc05g055160.2.1	64069121-64073511	1	DNAJ chaperone	-37,51	32	46,600	11	0,87	-	***	-	-	-	-	***
RA340	Solyc07g049530.2.1	57154220-57156391	3	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	-80,78	48	35,700	26	1,87	***	***	-	***	-	-	-
RA343	Solyc01g099190.2.1	81251679-81256014	6	Lipoxygenase	-242,22	37	96,800	57	1,27	***	***	-	***	-	-	***
RA344	Solyc04g072400.2.1	57015439-57020648	1	Endoribonuclease E-like protein	-142,88	36	49,500	28	1,75	***	***	-	***	-	-	-
RA345	Solyc02g066930.2.1	31762776-31764561	1	RNA-binding protein	-114,47	56	21,900	20	5,00	***	***	-	-	-	-	-
RA346	Solyc12g042830.1.1	43709595-43709834	3	class I heat shock protein	-23,63	35	8,900	8	4,50	***	-	***	-	-	-	-
RA347	Solyc12g042830.1.1	43709595-43709834	3	class I heat shock protein	-37,01	57	8,900	10	5,50	***	***	-	***	-	-	-
RA348	Solyc11g020330.1.1	10856316-10856888	3	class IV heat shock protein	-39,95	34	21,400	8	1,50	***	-	-	***	***	-	-
RA349	Solyc11g020330.1.1	10856316-10856888	3	class IV heat shock protein	-45,25	51	21,400	16	2,83	***	-	-	***	-	-	-
RA350	Solyc08g022210.2.1	14105526-14113435	2	Methylthioribose-1-phosphate isomerase	-129,02	61	39,300	31	2,46	***	***	-	-	-	-	-
RA351	Solyc06g073190.2.1	41483219-41485991	2	Fructokinase-like	-118,73	63	34,700	38	2,11	-	***	-	***	-	-	-
RA352	Solyc05g050800.2.1	60131934-60136497	1	Phosphoglycerate mutase family protein	-88,42	52	28,200	21	1,91	***	***	-	-	-	-	-
RA353	Solyc00g009020.2.1	8742084-8746574	2	Mitochondrial ATP synthase	-52,53	43	27,600	14	1,15	-	***	-	-	-	-	-
RA354	Solyc12g009140.1.1	2453127-2457231	1	Proteasome subunit alpha type	-56,55	54	27,200	16	1,21	***	***	-	-	-	-	-
RA355	Solyc03g007950.2.1	2439038-2441907	1	Glycoside hydrolase family 28 protein/polygalacturonase family protein	-27,84	10	50,800	5	0,40	***	***	-	***	-	-	-
RA356	Solyc01g007320.2.1	1849252-1851757	1	ATP synthase subunit beta chloroplastic	-270,25	57	65,400	100	3,61	***	***	-	-	-	-	***
RA357	Solyc04g040180.2.1	31093421-31095617	2	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	-157,32	73	29,800	42	3,00	***	***	-	-	-	-	-
RA358	Solyc07g062650.2.1	62561877-62565142	3	Malate dehydrogenase	-274,09	72	36,000	58	6,20	***	***	-	***	-	-	-
RA359	Solyc05g014470.2.1	8322381-8324881	3	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	-64,40	45	36,600	11	0,79	-	***	-	-	-	-	-
RA360	Solyc10g078740.1.1	59792276-59795246	1	Enoyl reductase	-111,37	49	41,500	27	1,59	***	***	-	***	-	-	-
RA361	Solyc07g062970.2.1	62819985-62823101	2	Serine/threonine phosphatase family protein	-48,04	52	30,800	19	1,92	***	***	-	***	-	-	-
RA362	Solyc04g040180.2.1	31093421-31095617	2	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase	-49,07	60	29,800	14	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA363	Solyc10g005110.2.1	92148-94188	2	Salt stress root protein RS1	-30,98	30	21,800	7	1,17	***	***	-	-	-	-	-
RA364	Solyc07g005210.2.1	202269-203546	1	Outer membrane lipoprotein blc	-28,39	37	21,200	8	1,13	***	***	-	-	-	-	-
RA365	Solyc07g005560.2.1	446870-450798	1	Eukaryotic translation initiation factor 5A	-89,12	63	17,500	30	4,86	***	***	-	***	-	-	-
RA366	Solyc02g079060.2.1	38263644-38270218	2	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit J	-45,15	43	24,900	8	0,73	***	-	-	-	-	-	-
RA367	Solyc05g056310.2.1	64792047-64799309	1	T-complex protein 1 subunit gamma	-100,94	50	60,600	28	0,94	***	***	-	-	-	-	-
RA368	Solyc05g056490.2.1	64907109-64913076	1	bisphosphate nucleotidase HAL2	-162,81	57	37,100	30	4,57	-	***	-	-	-	-	-
RA369	Solyc01g098380.2.1	80665607-80671287	1	Dihydrodipicolinate reductase family protein	-76,02	47	36,100	19	1,90	***	***	-	***	***	-	-
RA370	Solyc07g041900.2.1	51828739-51831068	2	Cathepsin L-like cysteine proteinase	-99,22	42	38,800	21	1,50	***	***	-	-	-	-	-
RA371	Solyc06g076570.1.1	43954001-43954465	2	class I heat shock protein	-70,43	54	17,500	17	2,43	***	-	-	-	-	-	-
RA372	Solyc03g083390.2.1	46783589-46788273	2	Nuclear movement protein nudc	-42,62	36	33,500	14	1,00	***	***	-	***	-	-	-
RA373	Solyc02g077990.2.1	37374128-37377628	1	30S ribosomal protein S5	-90,62	44	33,300	21	1,62	-	***	-	-	-	-	-
RA374	Solyc06g009020.2.1	2965668-2967884	2	Glutathione S-transferase	-74,73	56	23,600	23	2,30	***	***	-	-	-	-	-
RA375	Solyc01g111300.2.1	89348859-89349828	2	Cold shock protein-1	-68,88	53	18,300	18	1,90	***	***	-	-	-	-	-
RA376	NA	NA	4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	***	***	-	***	-	-	-
RA377	Solyc12g099100.1.1	64711180-64716181	1	Dihydrodipicolinate dehydrogenase	-86,29	51	53,300	20	0,91	***	***	-	***	-	-	-
RA378	Solyc06g071000.2.1	40003245-40009711	1	N-succinylglutamate 5-semialdehyde dehydrogenase	-99,56	39	61,400	23	0,77	***	-	-	***	-	-	-
RA379	Solyc09g064370.2.1	57150099-57154745	2	Alcohol dehydrogenase	-100,29	42	41,200	22	1,28	***	-	-	***	-	-	-
RA380	Solyc05g056540.2.1	64952197-64957183	1	Alcohol dehydrogenase-like protein	-79,70	39	46,000	18	0,86	***	***	-	***	-	-	-
RA381	Solyc02g031950.2.1	17912940-17915049	2	Pathogenesis-related protein-like protein	-43,20	41	28,800	9	0,85	***	***	-	***	-	-	-
RA382	Solyc09g013080.2.1	5484876-5491347	1	Acetyl-coenzyme A carboxylase carboxyl transferase subunit alpha	-93,41	37	84,700	22	0,83	***	-	-	-	-	-	-
RA383	Solyc01g104950.2.1	85031292-85035396	2	Alpha-L-arabinofuranosidase/beta-D-xylosidase	-149,14	38	85,000	28	0,94	***	***	-	-	-	-	-
RA384	NA	NA	4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	***	***	-	***	-	-	-
RA385	Solyc01g109300.2.1	88049244-88054027	1	4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate reductase	-96,21	44	51,800	17	0,68	***	***	-	-	-	-	-
RA386	Solyc08g078510.2.1	59454948-59456978	1	GRAM-containing/ABA-responsive protein	-106,61	57	30,900	26	1,93	***	***	-	-	-	-	-
RA387	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-58,22	20	71,200	10	0,42	***	***	-	***	-	-	-
RA388	Solyc04g076200.2.1	58724666-58728561	1	Universal stress protein family protein	-57,31	61	16,100	17	3,60	***	***	-	-	-	-	***
RA389	Solyc01g080460.2.1	722060														

RA400	Solyc02g081170.2.1	39810752-39812645	2	Plastid-lipid-associated protein	-56,47	37	35,500	9	0,67	-	***	-	-	-	-
RA401	Solyc02g031950.2.1	17912940-17915049	2	Pathogenesis-related protein-like protein	-20,78	19	28,800	4	0,31	***	***	-	***	-	-
RA402	Solyc09g090330.2.1	65188896-65193572	1	Harpin binding protein 1	-74,32	50	30,000	23	2,09	***	***	-	***	-	-
RA403	Solyc01g097450.2.1	80067623-80073617	1	Thioredoxin-like protein 1	-38,78	42	19,500	8	2,25	***	-	-	-	-	-
RA404	Solyc03g083910.2.1	47397595-47401871	13	Acid beta-fructofuranosidase	-39,64	13	71,200	19	0,79	***	***	-	***	-	-
RA405	Solyc01g100370.2.1	82186051-82188666	1	Universal stress protein	-41,60	47	17,900	11	1,57	***	***	-	***	-	-
RA406	Solyc02g062460.2.1	28653823-28656374	1	2-oxoglutarate-dependent dioxygenase	-132,30	72	36,400	36	2,12	***	***	-	***	-	-
RA408	Solyc01g103450.2.1	83821528-83826037	2	Chaperone DnaK	-136,40	41	74,700	32	1,21	-	***	-	-	-	-
RA409	Solyc01g099190.2.1	81251679-81256014	6	Lipoxygenase	-45,67	12	96,800	9	0,21	***	***	-	***	-	-
RA410	Solyc08g014130.2.1	3734998-3744536	2	2-isopropylmalate synthase 1	-59,48	33	66,800	14	0,64	***	***	-	-	-	-
RA411	Solyc01g108880.2.1	87786634-87788179	3	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase	-53,47	47	40,600	12	1,00	***	***	-	***	-	-
RA412	Solyc02g079500.2.1	38618009-38620468	3	Peroxidase	-23,32	13	38,600	10	1,09	***	***	-	***	-	-
RA413	Solyc10g084400.1.1	63281886-63284225	2	Glutathione S-transferase	-76,91	47	27,100	14	1,07	***	***	-	-	-	-
RA414	Solyc12g056230.1.1	47552627-47555380	2	Glutathione peroxidase	-18,69	31	19,200	6	0,67	***	***	-	***	-	-
RA415	Solyc07g051850.2.1	57713505-57718748	3	Aspartic proteinase	-61,26	12	55,000	20	0,84	***	***	-	***	-	-
RA416	Solyc04g082200.2.1	63550865-63552237	3	Dehydrin	-78,57	48	23,000	28	3,11	***	***	-	-	-	-
RA417	Solyc10g008740.2.1	2822974-2826287	1	Magnesium chelatase ATPase subunit I	-109,98	48	46,300	27	1,45	-	***	-	-	-	-
RA418	Solyc10g083970.1.1	62989745-62990917	2	S-adenosylmethionine synthase	-138,56	67	42,500	34	1,84	-	***	-	-	-	-
RA419	Solyc01g080460.2.1	72206073-72214485	4	Pyruvate phosphate dikinase	-16,08	4	105,700	2	0,05	***	-	-	***	-	-

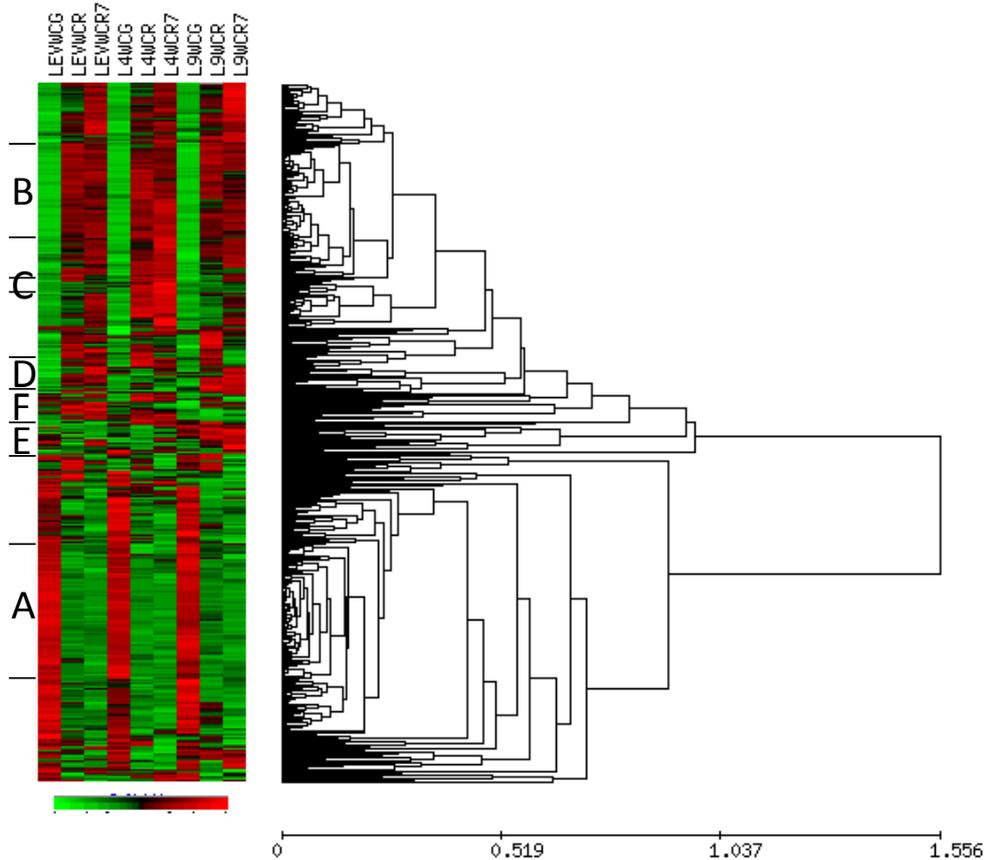
Annexe 2 : Gel de référence au stade rouge présentant les positions des 396 protéines.



Annexe 3 : Détail des clusters de protéines des différents génotypes dans les deux conditions (témoin et DHP), la surexpression est représentée par le rouge, la sous-expression par le vert.

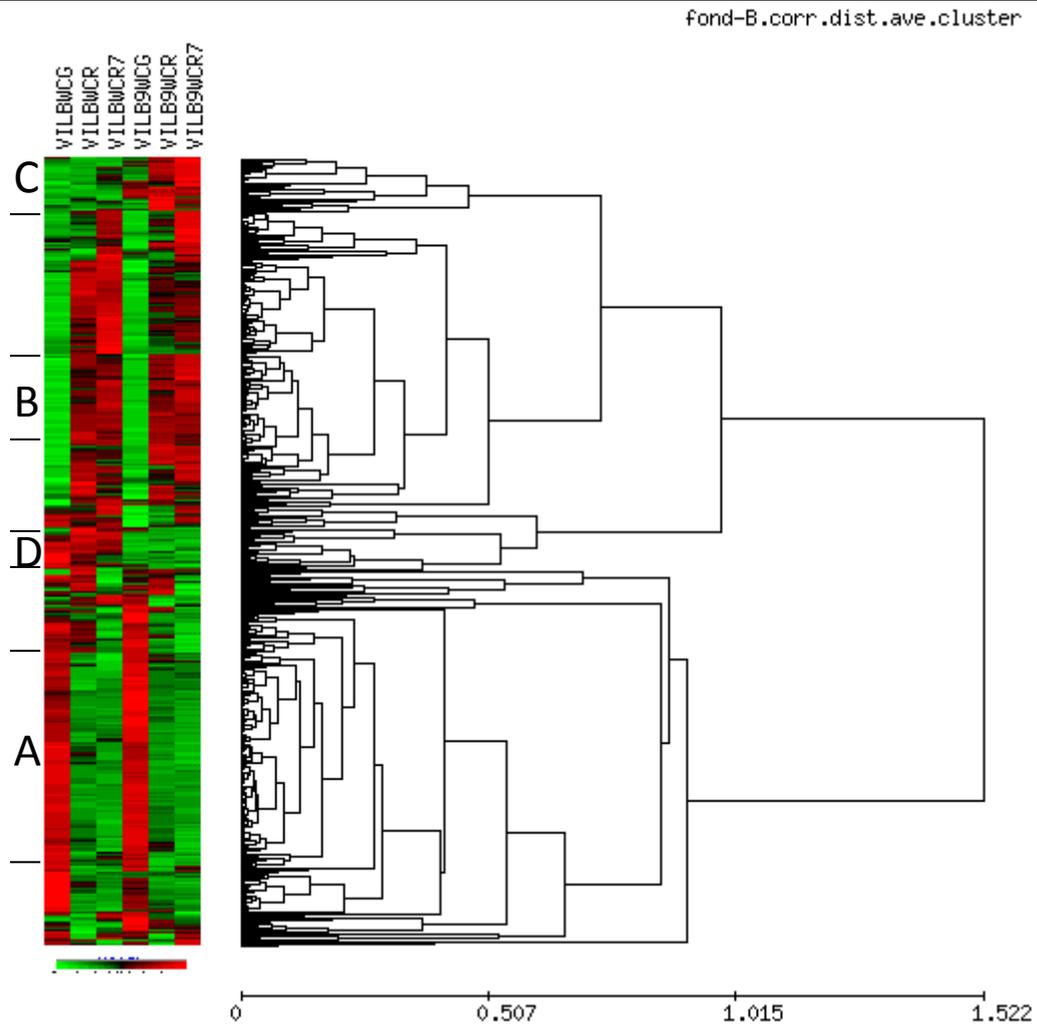


Cluster de protéines surexprimées aux trois stades chez Cervil



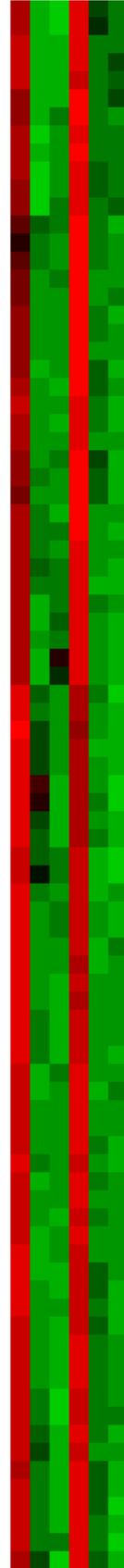
Variations des 396 protéines au cours du développement dans le fond L.





Variations des 396 protéines dans le fond B.

VILB9MCR7
VILB9MCR
VILB9MCR7
VILB9MCR
VILB9MCR7



RA358 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q645N1_

RA217 Pyruvate dehydrogenase E1 component alpha s

RA089 Fumarate hydratase class II (AHRD V1 ***- C5GA

RA180 Major allergen Mal d 1 (AHRD V1 ***- Q84LA7_M

RA218 Aldose 1-epimerase family protein (AHRD V1 **

RA062 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q645N1_

RA359 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (A

RA026 Annexin (AHRD V1 ***- Q42657_CAPAN), contain

RA418 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

RA399 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (A

RA011 Pyruvate kinase (AHRD V1 **** Q53WS7_TOBAC

RA201 Leucyl aminopeptidase (AHRD V1 ***- D7DWG6

RA232 C2 domain-containing protein (AHRD V1 *- Q5

RA225 dTDP-4-dehydroorhamnose reductase (AHRD V1

RA187 Glucosamine-6-phosphate deaminase (AHRD V

RA023 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q2PYY8_

RA272 dTDP-4-dehydroorhamnose reductase (AHRD V1

RA318 Enolase (AHRD V1 ***- C5J0G6_TOBAC), contain

RA034 Triosephosphate isomerase (AHRD V1 **** D6N

RA224 Thiazole biosynthetic enzyme (AHRD V1 ***- Dc

RA175 Ascorbate peroxidase (AHRD V1 ***- Q52QQ4_5

RA246 Alpha-1,4-glucan-protein synthase (AHRD V1 **

RA356 ATP synthase subunit beta chloroplastic (AHRD

RA144 Triosephosphate isomerase (AHRD V1 **** Q38

RA113 Enolase (AHRD V1 ***- C5J0G6_TOBAC), contain

RA239 Enolase (AHRD V1 ***- C5J0G6_TOBAC), contain

RA052 Enolase (AHRD V1 ***- C5J0G6_TOBAC), contain

RA200 Leucyl aminopeptidase (AHRD V1 ***- D7DWG6

RA253 V-type proton ATPase subunit E (AHRD V1 ***-

RA254 NAD-dependent epimerase/dehydratase (AHRD

RA154 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

RA070 Dehydroascorbate reductase (Fragment) (AHRD

RA087 Enolase (AHRD V1 ***- C5J0G6_TOBAC), contain

RA068 Triosephosphate isomerase (AHRD V1 **** Q38

RA353 Mitochondrial ATP synthase (AHRD V1 ***- B6T

RA150 UTP-glucose 1 phosphate uridylyltransferase (A

RA230 Deoxyuridine 5+apos-triphosphate nucleotidof

RA222 Tetratricopeptide TPR_2 repeat protein (AHRD

RA096 Class II small heat shock protein Le-HSP17.6 (A

RA250 Reductase 2 (AHRD V1 **** Q6TY50_HYDMC), cc

RA139 Regulator of ribonuclease activity A (AHRD V1 *

RA248 ATP synthase gamma chain (AHRD V1 ***- B7F

RA226 Inorganic pyrophosphatase-like protein (AHRD

RA352 Phosphoglycerate mutase family protein (AHRD

RA112 Importin alpha-1b subunit (AHRD V1 ***- B6T45

RA073 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q2PYY8_

RA417 Magnesium chelatase ATPase subunit I (AHRD \

RA256 Activator of heat shock protein ATPase homolo

RA317 Octacosapeptide/Phox/Bem1p domain-containi

RA015 Enolase (AHRD V1 ***- A9P745_HELAN), contain

RA267 UDP-glucose 4-epimerase (AHRD V1 ***- D5RM

RA360 Enoyl reductase (AHRD V1 ***- P93062_BRANA)

RA037 Glycolipid transfer protein domain-containing f

RA071 ATP synthase subunit delta+apos-, mitochondri

RA058 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

RA324 Inorganic pyrophosphatase family protein (AHR

RA028 Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photos

RA027 Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photos

RA029 Oxygen-evolving enhancer protein 1 of photos

RA320 UDP-glucose 4-epimerase (AHRD V1 ***- D5RM

RA245 UDP-glucose 4-epimerase (AHRD V1 ***- D5RM

RA264 Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygen

RA251 Fructokinase-like (AHRD V1 ***- Q30723_SOLTU

RA038 Cold shock protein-1 (AHRD V1 *- Q8LPA7_WF

RA298 Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygen

RA063 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q48906_

RA269 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (A

RA007 chaperonin (AHRD V1 ***- B2IXD2_NOSP7), con

RA050 Ribulose bisphosphate carboxylase large chain

RA263 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

RA244 Activator of heat shock protein ATPase homolo

RA321 GDSL esterase/lipase At1g29670 (AHRD V1 ***-

RA261 MAR-binding filament-like protein 1 (AHRD V1

RA243 Alanine aminotransferase 2 (AHRD V1 **** A8I

RA283 ATP synthase subunit beta (AHRD V1 ***- O827

RA377 Dihydropyridyl dehydrogenase (AHRD V1 ***- Qc

RA012 ATP synthase subunit beta (AHRD V1 ***- O827

RA339 DNAJ chaperone (AHRD V1 ***- B0W7V8_CULQI

RA061 Nascent polypeptide-associated complex subu

RA017 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

RA033 Stress responsive alpha-beta barrel domain prc

RA067 Ascorbate peroxidase (AHRD V1 ***- Q52QQ4_5

RA018 S-adenosylmethionine synthase (AHRD V1 ***-

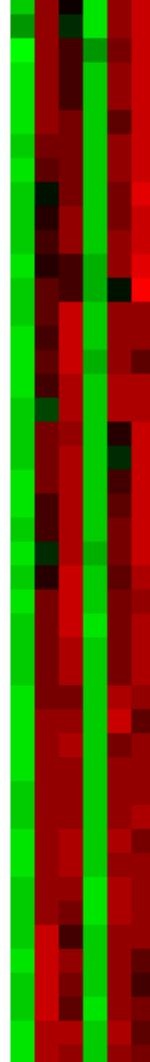
RA153 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q2PYY8_

RA064 cDNA clone J033025P19 full insert sequence (A

RA262 Enolase (AHRD V1 ***- A9P745_HELAN), contain

RA092 Ascorbate peroxidase (AHRD V1 ***- Q95MD3_5

VILB9MCR7
VILB9MCR
VILB9MCR7
VILB9MCR
VILB9MCR7



RA100 EF-Hand containing protein-like (AHRD V1 *

RA287 Malate dehydrogenase (AHRD V1 **** Q64

RA099 Polygalacturonase A (AHRD V1 **** Q9M6S

RA304 Coproporphyrinogen III oxidase aerobic (A

RA386 GRAM-containing/ABA-responsive protein

RA183 Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 6 (AHRD

RA412 Peroxidase (AHRD V1 **** Q50LG4_TOBAC)

RA148 heat shock protein (AHRD V1 ***- B2D2G5_1

RA041 Chaperone DnaK (AHRD V1 ***- Q1SKX2_MI

RA145 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA129 Plastid-lipid-associated protein, chloroplas

RA115 Hsp70 nucleotide exchange factor fes1 (AHI

RA140 Peroxiredoxin ahpC/TSA family (AHRD V1 *

RA104 Ascorbate peroxidase (AHRD V1 **** B9VRI

RA302 Methylcrotonoyl-CoA carboxylase alpha ch.

RA066 Stromal ascorbate peroxidase 7

RA170 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA165 Dehydrin (AHRD V1 *- Q1A4H3_COFC), c

RA400 Plastid-lipid-associated protein, chloroplas

RA402 Harpin binding protein 1 (AHRD V1 ***- Q5C

RA369 Dihydrodipicolinate reductase family prote

RA137 Universal stress protein family protein (AHI

RA078 chaperonin (AHRD V1 ***- B2IXD2_NOSP7),

RA362 S-adenosylmethionine-dependent methylt

RA315 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA370 Cathepsin L-like cysteine proteinase (AHRD

RA337 Eukaryotic translation initiation factor 5A (A

RA288 Carbonic anhydrase (AHRD V1 ***- Q5NE21

RA146 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA385 4-hydroxy-3-methylbut-2-enyl diphosphate

RA203 Peroxidase (AHRD V1 **** Q50LG4_TOBAC)

RA179 Flavoprotein wrbA (AHRD V1 ***- B6U724_1

RA093 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA103 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA387 Acid beta-fructofuranosidase (AHRD V1 **-

RA319 Glutamine synthetase (AHRD V1 ***- Q4295

RA331 Cathepsin L-like cysteine proteinase (AHRD

RA105 Peptide methionine sulfoxide reductase m

RA143 NAD-dependent epimerase/dehydratase (A

RA406 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (A

RA125 Charged multivesicular body protein 4b (A

RA309 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidas

RA162 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidas

RA329 Peroxidase (AHRD V1 **** Q50LG4_TOBAC)

RA094 Outer membrane lipoprotein blc (AHRD V1

Protéines communes dans le fond B. Protéines surexprimées au stade expansion cellulaire (cluster A) et aux stades rouges et R7 (cluster B)

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abbott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3): 207-225.
- Abbott, J. A., & Lu, R. 1996. Anisotropic mechanical properties of apples. *Transactions of the Asae*, 39(4): 1451-1459.
- Adegoroye, A. S., Jolliffe, P. A., & Tung, M. A. 1989. TEXTURAL CHARACTERISTICS OF TOMATO FRUITS (LYCOPERSICON-ESCULENTUM) AFFECTED BY SUNSCALD. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49(1): 95-102.
- Aghdam, M. S., Hassanpouraghdam, M. B., Paliyath, G., & Farmani, B. 2012. The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. *Scientia Horticulturae*, 144: 102-115.
- Aguirrezabal, L., Bouchier-Combaud, S., Radziejwoski, A., Dautat, M., Cookson, S. J., & 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(12): 2216-2227.
- Ahrens, M. J., & Huber, D. J. 1990. Physiology and firmness determination of ripening tomato fruit. *Physiologia Plantarum*, 78(1): 8-14.
- Akaike, H. 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. *Second International Symposium on Information Theory*: 267-281.
- Allende, A., Desmet, M., Vanstreels, E., Verlinden, B. E., & Nicolai, B. M. 2004. Micromechanical and geometrical properties of tomato skin related to differences in puncture injury susceptibility. *Postharvest Biology and Technology*, 34(2): 131-141.
- Almeida, D. P. F., & Huber, D. J. 1999. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: A potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. *Physiologia Plantarum*, 105(3): 506-512.
- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C., & Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9): 2026-2032.
- Aurand, R., Faurobert, M., Page, D., Maingonnat, J. F., Brunel, B., Causse, M., & Bertin, N. 2012. Anatomical and biochemical trait network underlying genetic variations in tomato fruit texture. *Euphytica*, 187(1): 99-116.

B

- Badillo-Vargas, I. E., Rotenberg, D., Schneweis, D. J., Hiromasa, Y., Tomich, J. M., & Whitfield, A. E. 2012. Proteomic analysis of *Frankliniella occidentalis* and differentially expressed proteins in response to Tomato spotted wilt virus infection. *Journal of Virology*, 86(16): 8793-8809.
- Bady, P., Doledec, S., Dumont, B., & Fruget, J. F. 2004. Multiple co-inertia analysis: a tool for assessing synchrony in the temporal variability of aquatic communities. *Comptes Rendus Biologies*, 327(1): 29-36.
- Baldazzi, V., Bertin, N., Jong, H. d., & Genard, M. 2012. Towards multiscale plant models: integrating cellular networks. *Trends in Plant Science*, 17(12): 728-736.
- Ballester, C., Castel, J., Intrigliolo, D. S., & Castel, J. R. 2013. Response of Navel Lane Late citrus trees to regulated deficit irrigation: yield components and fruit composition. *Irrigation Science*, 31(3): 333-341.
- Barbagallo, R. N., Di Silvestro, I., & Patane, C. 2013. Yield, physicochemical traits, antioxidant pattern, polyphenol oxidase activity and total visual quality of field-grown processing tomato cv. Brigade as affected by water stress in Mediterranean climate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(6): 1449-1457.

- Barreiro, P., Ortiz, C., Ruiz-Altisent, M., De Smedt, V., Schotte, S., Andani, Z., Wakeling, I., & Beyts, P. K. 1998. Comparison between sensory and instrumental measurements for mealiness assessment in apples. A collaborative test. *Journal of Texture Studies*, 29(5): 509-525.
- Barreiro, P., Ortiz, C., Ruiz-Altisent, M., Ruiz-Cabello, J., Fernandez-Valle, M. E., Recasens, I., & Asensio, M. 2000. Mealiness assessment in apples and peaches using MRI techniques. *Magnetic Resonance Imaging*, 18(9): 1175-1181.
- Barreiro, P., Ruiz-Cabello, J., Fernandez-Valle, M. E., Ortiz, C., & Ruiz-Altisent, M. 1999. Mealiness assessment in apples using MRI techniques. *Magnetic Resonance Imaging*, 17(2): 275-281.
- Barrett, D. M., Garcia, E., & Wayne, J. E. 1998. Textural modification of processing tomatoes. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(3): 173-258.
- Barry, C. S., & Giovannoni, J. J. 2006. Ripening in the tomato Green-ripe mutant is inhibited by ectopic expression of a protein that disrupts ethylene signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(20): 7923-7928.
- Batagelj, V., & Mrvar, A. 2002. Pajek - Analysis and visualization of large networks. In P. Mutzel, M. Junger, & S. Leipert (Eds.), *Graph Drawing*, Vol. 2265: 477-478.
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. 1997. Multiple hypotheses testing with weights. *Scandinavian Journal of Statistics*, 24(3): 407-418.
- Bernacchi, D., Beck-Bunn, T., Emmatty, D., Eshed, Y., Inai, S., Lopez, J., Petiard, V., Sayama, H., Uhlig, J., Zamir, D., & Tanksley, S. 1998. Advanced backcross QTL analysis of tomato. II. Evaluation of near-isogenic lines carrying single-donor introgressions for desirable wild QTL-alleles derived from *Lycopersicon hirsutum* and *L. pimpinellifolium*. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(1/2): 170-180.
- Berry, K. L., & Hobert, O. 2006. Mapping functional domains of chloride intracellular channel (CLIC) proteins in vivo. *Journal of Molecular Biology*, 359(5): 1316-1333.
- Bertin, N., Causse, M., Brunel, B., Tricon, D., & Genard, M. 2009. Identification of growth processes involved in QTLs for tomato fruit size and composition. *Journal of Experimental Botany*, 60(1): 237-248.
- Bertin, N., Gautier, H., & Roche, C. 2002. Number of cells in tomato fruit depending on fruit position and source-sink balance during plant development. *Plant Growth Regulation*, 36(2): 105-112.
- Bertin, N., Martre, P., Genard, M., Quilot, B., & Salon, C. 2010. Under what circumstances can process-based simulation models link genotype to phenotype for complex traits? Case-study of fruit and grain quality traits. *Journal of Experimental Botany*, 61(4): 955-967.
- Bertrand, D., Cordella, C. 2011. SAISIR package . Free toolbox for chemometrics in the Matlab, Octave or Scilab environments.
- Bewley, J. D., Banik, M., Bourgault, R., Feurtado, J. A., Toorop, P., & Hilhorst, H. W. M. 2000. Endo-beta-mannanase activity increases in the skin and outer pericarp of tomato fruits during ripening. *Journal of Experimental Botany*, 51(344): 529-538.
- Bianco, L., Alagna, F., Baldoni, L., Finnie, C., Svensson, B., & Perrotta, G. 2013. Proteome Regulation during *Olea europaea* Fruit Development. *Plos One*, 8(1).
- Blanpied, G. D., Bramlage, W. J., Dewey, D. H., LaBelle, R. L., Massey, L. M., Jr., Mattus, G. E., Stiles, W. C., & Watada, A. E. 1978. A standardized method for collecting apple pressure test data. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*(No. 74).
- Bleecker, A. B., & Kende, H. 2000. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16: 1-+.
- Blum, A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*, 20(2): 135-148.
- Bonhomme, L., Monclus, R., Vincent, D., Carpin, S., Lomenech, A.-M., Plomion, C., Brignolas, F., & Morabito, D. 2009. Leaf proteome analysis of eight *Populus xeuramericana* genotypes: Genetic variation in drought response and in water-use efficiency involves photosynthesis-related proteins. *Proteomics*, 9(17): 4121-4142.

- Bougeard, S., Qannari, E. M., Hanafi, M., Madec, F., & Rose, N. 2008. Proposal of a multiblock factorial analysis for data traiting in animal epidemiology. In B. Dufour (Ed.), *Epidemiologie Et Sante Animale*, 2008, No 53: 1-10.
- Bourne, M. C. 2002. Relationship between rheology and food texture. *Engineering and Food for the 21st Century*: 291-306.
- Breusegem, F. v., Dekeyser, R., Gielen, J., Montagu, M. v., & Caplan, A. 1994. Characterization of a S-adenosylmethionine synthetase gene in rice. *Plant Physiology*, 105(4): 1463-1464.
- Brummell, D. A., & Harpster, M. H. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*, 47(1 - 2): 311-339.

C

- Camps, C. 2006. *Etude de la texture des pomme, Caractérisation des propriétés rhéologique et structurale de la texture et mesure non destructive par spectroscopie visible et proche infrarouge.*, Angers.
- Camps, C., Guillermin, P., Mauget, J. C., & Bertrand, D. 2005. Data analysis of penetrometric force/displacement curves for the characterization of whole apple fruits. *Journal of Texture Studies*, 36(4): 387-401.
- Camps, C., Guillermin, P., Mauget, J. C., & Bertrand, D. 2007. Discrimination of storage duration of apples stored in a cooled room and shelf-life by visible-near infrared spectroscopy. *Journal of near Infrared Spectroscopy*, 15(3): 169-177.
- Cao, Y., Tang, X., Giovannoni, J., Xiao, F. M., & Liu, Y. 2012. Functional characterization of a tomato COBRA-like gene functioning in fruit development and ripening. *BMC Plant Biology*, 12(211): (10 November 2012).
- Carli, P., Arima, S., Fogliano, V., Tardella, L., Frusciante, L., & Ercolano, M. R. 2009. Use of network analysis to capture key traits affecting tomato organoleptic quality. *Journal of Experimental Botany*, 60(12): 3379-3386.
- Carli, P., Barone, A., Fogliano, V., Frusciante, L., & Ercolano, M. R. 2011. Dissection of genetic and environmental factors involved in tomato organoleptic quality. *BMC Plant Biology*, 11(58): (31 March 2011).
- Carmo-Silva, A. E., Gore, M. A., Andrade-Sanchez, P., French, A. N., Hunsaker, D. J., & Salvucci, M. E. 2012. Decreased CO₂ availability and inactivation of Rubisco limit photosynthesis in cotton plants under heat and drought stress in the field. *Environmental and Experimental Botany*, 83: 1-11.
- Caro, E., Castellano, M. M., & Gutierrez, C. 2007. A chromatin link that couples cell division to root epidermis patterning in Arabidopsis. *Nature (London)*, 447(7141): 213-217.
- Carpita, N. C., & Gibeaut, D. M. 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *Plant Journal*, 3(1): 1-30.
- Caruso, G., Cavaliere, C., Foglia, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., & Lagana, A. 2009. Analysis of drought responsive proteins in wheat (*Triticum durum*) by 2D-PAGE and MALDI-TOF mass spectrometry. *Plant Science*, 177(6): 570-576.
- Casierra-Posada, F., & Aguilar-Avendano, O. E. 2008. Quality of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) harvested at different maturity stages. *Agronomia Colombiana*, 26(2): 300-307.
- Catala, C., Howe, K. J., Hucko, S., Rose, J. K. C., & Thannhauser, T. W. 2011. Towards characterization of the glycoproteome of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit using Concanavalin A lectin affinity chromatography and LC-MALDI-MS/MS analysis. *Proteomics*, 11(8): 1530-1544.
- Causse, M., Buret, M., Robini, K., & Verschave, P. 2003. Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*, 68(7): 2342-2350.

- Causse, M., Friguet, C., Coiret, C., Lepicier, M., Navez, B., Lee, M., Holthuysen, N., Sinesio, F., Moneta, E., & Grandillo, S. 2010. Consumer preferences for fresh tomato at the European scale: a common segmentation on taste and firmness. *Journal of Food Science*, 75(9): S531-S541.
- Causse, M., Saliba-Colombani, V., Lecomte, L., Duffe, P., Rousselle, P., & Buret, M. 2002. QTL analysis of fruit quality in fresh market tomato: a few chromosome regions control the variation of sensory and instrumental traits. *Journal of Experimental Botany*, 53(377): 2089-2098.
- Causse, M., Stevens, R., Amor, B. B., Faurobert, M. and Muños, S. 2011. Breeding for Fruit Quality in Tomato, *Breeding for Fruit Quality*: John Wiley & Sons.
- Centeno, D. C., Osorio, S., Nunes-Nesi, A., Bertolo, A. L. F., Carneiro, R. T., Araujo, W. L., Steinhauser, M. C., Michalska, J., Rohrmann, J., Geigenberger, P., Oliver, S. N., Stitt, M., Carrari, F., Rose, J. K. C., & Fernie, A. R. 2011. Malate plays a crucial role in starch metabolism, ripening, and soluble solid content of tomato fruit and affects postharvest softening. *Plant Cell*, 23(1): 162-184.
- Chaib, J. 2007. *Caractérisation des déterminants génétiques et moléculaires de composantes de la texture du fruit de tomate.*, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Chaib, J., Devaux, M. F., Grotte, M. G., Robini, K., Causse, M., Lahaye, M., & Marty, I. 2007. Physiological relationships among physical, sensory, and morphological attributes of texture in tomato fruits. *Journal of Experimental Botany*, 58(8): 1915-1925.
- Chaib, J., Lecomte, L., Buret, M., & Causse, M. 2006. Stability over genetic backgrounds, generations and years of quantitative trait locus (QTLs) for organoleptic quality in tomato. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 112(5): 934-944.
- Chao, W. S., Gu, Y., Pautot, V., Bray, E. A., & Walling, L. L. 1999. Leucine aminopeptidase RNAs, proteins, and activities increase in response to water deficit, salinity, and the wound signals systemin, methyl jasmonate, and abscisic acid. *Plant Physiology*, 120(4): 979-992.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. 2003. Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30(3): 239-264.
- Chaves, M. M., & Oliveira, M. M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany*, 55(407): 2365-2384.
- Chen, F. Q., Foolad, M. R., Hyman, J., St. Clair, D. A., & Beelman, R. B. 1999. Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* * *L. pimpinellifolium* cross and comparison of QTLs across tomato species. *Molecular Breeding*, 5(3): 283-299.
- Chen, G., Hackett, R., Walker, D., Taylor, A., Lin, Z., & Grierson, D. 2004. Identification of a specific isoform of tomato lipoxygenase (TomloxC) involved in the generation of fatty acid-derived flavor compounds. *Plant Physiology*, 136(1): 2641-2651.
- Chen, J., Wang, P., Mi, H., Chen, G., & Xu, D. 2010. Reversible association of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase with the thylakoid membrane depends upon the ATP level and pH in rice without heat stress. *Journal of Experimental Botany*, 61(11): 2939-2950.
- Chen, L., & Opara, U. L. 2013. Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review. *Food Research International*, 51(2): 823-835.
- Chen, S., Zhu, Y., & Hu, C. 2006. Effects of NaCl stress on growth and photosynthetic characteristics in grafted tomato seedlings. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 22(2): 145-149.
- Chen, Z., Young, T. E., Ling, J., Chang, S. C., & Gallie, D. R. 2003. Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(6): 3525-3530.
- Chessel, D., and Hanafi, M. 1996. Analyses de la co-inertie de K nuages de points. *Revue de Statistique Appliquée*, 44(2): 35-60.
- Chiquet, J., Smith, A., Grasseau, G., Matias, C., & Ambroise, C. 2009. SIMoNe: Statistical Inference for MODular NETworks. *Bioinformatics*, 25(3): 417-418.
- Choudhury, S. R., Sujit, R., & Sengupta, D. N. 2009. Characterization of cultivar differences in beta-1,3 glucanase gene expression, glucanase activity and fruit pulp softening rates during fruit ripening in three naturally occurring banana cultivars. *Plant Cell Reports*, 28(11): 1641-1653.

- Clark, G., Konopka-Postupolska, D., Hennig, J., & Roux, S. 2010. Is annexin 1 a multifunctional protein during stress responses? *Plant signaling & behavior*, 5(3): 303-307.
- Conesa, A., Gotz, S., Garcia-Gomez, J. M., Terol, J., Talon, M., & Robles, M. 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18): 3674-3676.
- Corey, H. 1970a. Texture in foodstuffs. *Critical Reviews in Food Technology*, 1: 161-198.
- Corollaro, M. L., Endrizzi, I., Bertolini, A., Aprea, E., Dematte, M. L., Costa, F., Biasioli, F., & Gasperi, F. 2013. Sensory profiling of apple: Methodological aspects, cultivar characterisation and postharvest changes. *Postharvest Biology and Technology*, 77: 111-120.
- Cosgrove, D. J. 1999. Enzymes and other agents that enhance cell wall extensibility. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 391-417.
- Cosgrove, D. J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(11): 850-861.
- Costa, F., Cappellin, L., Longhi, S., Guerra, W., Magnago, P., Porro, D., Soukoulis, C., Salvi, S., Velasco, R., Biasioli, F., & Gasperi, F. 2011. Assessment of apple (*Malus x domestica* Borkh.) fruit texture by a combined acoustic-mechanical profiling strategy. *Postharvest Biology and Technology*, 61(1): 21-28.
- Crookes, P. R., & Grierson, D. 1983. ULTRASTRUCTURE OF TOMATO FRUIT RIPENING AND THE ROLE OF POLYGALACTURONASE ISOENZYMES IN CELL-WALL DEGRADATION. *Plant Physiology*, 72(4): 1088-1093.

D

- D'Ambrosio, C., Arena, S., Rocco, M., Verrillo, F., Novi, G., Viscosi, V., Marra, M., & Scaloni, A. 2013. Proteomic analysis of apricot fruit during ripening. *Journal of Proteomics*, 78: 39-57.
- da Silva, E. C. 2013. Drought and Its Consequences to Plants - From Individual to Ecosystem. In InTech (Ed.).
- Davey, M. W., & Keulemans, J. 2004. Determining the potential to breed for enhanced antioxidant status in *Malus*: Mean inter- and intravarietal fruit vitamin C and glutathione contents at harvest and their evolution during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26): 8031-8038.
- Davies, J. N., & Hobson, G. E. 1981. The constituents of tomato fruit - the influence of environment, nutrition, and genotype. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 15(3): 205-280.
- Derks, E., Westerhuis, J. A., Smilde, A. K., & King, B. M. 2003. An introduction to Multi-block Component Analysis by means of a flavor language case study. *Food Quality and Preference*, 14(5-6): 497-506.
- Devaux, M. F., Barakat, A., Robert, P., Bouchet, B., Guillon, F., Navez, B., & Lahaye, M. 2005. Mechanical breakdown and cell wall structure of mealy tomato pericarp tissue. *Postharvest Biology and Technology*, 37(3): 209-221.
- Devaux, M. F., Bouchet, B., Legland, D., Guillon, F., & Lahaye, M. 2008. Macro-vision and grey level granulometry for quantification of tomato pericarp structure. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2): 199-209.
- Doganlar, S., Frary, A., Daunay, M. C., Lester, R. N., & Tanksley, S. D. 2002. Conservation of gene function in the Solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. *Genetics*, 161(4): 1713-1726.
- Dray, S., Chessel, D., & Thioulouse, J. 2003. Co-inertia analysis and the linking of ecological data tables. *Ecology*, 84(11): 3078-3089.

E

- Ercolano, M. R., Carli, P., Soria, A., Cascone, A., Fogliano, V., Frusciante, L., & Barone, A. 2008. Biochemical, sensorial and genomic profiling of traditional Italian tomato varieties. *Euphytica*, 164(2): 571-582.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. New York: John Wiley and Sons.
- Eshed, Y., & Zamir, D. 1995. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. *Genetics*, 141(3): 1147-1162.
- Espartero, J., Pintor-Toro, J. A., & Pardo, J. M. 1994. Differential accumulation of S-adenosylmethionine synthetase transcripts in response to salt stress. *Plant Molecular Biology*, 25(2): 217-227.

F

- Faurobert, M., Mihr, C., Bertin, N., Pawlowski, T., Negroni, L., Sommerer, N., & Causse, M. 2007. Major proteome variations associated with cherry tomato pericarp development and ripening. *Plant Physiology*, 143(3): 1327-1346.
- Fei, Z. J., Tang, X., Alba, R. M., White, J. A., Ronning, C. M., Martin, G. B., Tanksley, S. D., & Giovannoni, J. J. 2004. Comprehensive EST analysis of tomato and comparative genomics of fruit ripening. *Plant Journal*, 40(1): 47-59.
- Fernandez, J. E., & Cuevas, M. V. 2010. Irrigation scheduling from stem diameter variations: a review. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(2): 135-151.
- Fischer, I., Camus-Kulandaivelu, L., Allal, F., & Stephan, W. 2011. Adaptation to drought in two wild tomato species: the evolution of the *Asr* gene family. *New Phytologist*, 190(4): 1032-1044.
- Fishman, S., & Genard, M. 1998. A biophysical model of fruit growth: simulation of seasonal and diurnal dynamics of mass. *Plant, Cell and Environment*, 21(8): 739-752.
- Fleury, D., Jefferies, S., Kuchel, H., & Langridge, P. 2010. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 61(12): 3211-3222.
- Frary, A., Doganlar, S., Frampton, A., Fulton, T., Uhlig, J., Yates, H., & Tanksley, S. 2003. Fine mapping of quantitative trait loci for improved fruit characteristics from *Lycopersicon chmielewskii* chromosome 1. *Genome*, 46(2): 235-243.
- Frary, A., Fulton, T. M., Zamir, D., & Tanksley, S. D. 2004. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* * *L. pennellii* cross and identification of possible orthologs in the Solanaceae. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(3): 485-496.
- Fulton, T. M., Beck-Bunn, T., Emmatty, D., Eshed, Y., Lopez, J., Petiard, V., Uhlig, J., Zamir, D., & Tanksley, S. D. 1997. QTL analysis of an advanced backcross of *Lycopersicon peruvianum* to the cultivated tomato and comparisons with QTLs found in other wild species. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(5/6): 881-894.
- Fulton, T. M., Grandillo, S., Beck-Bunn, T., Fridman, E., Frampton, A., Lopez, J., Petiard, V., Uhlig, J., Zamir, D., & Tanksley, S. D. 2000. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* * *Lycopersicon parviflorum* cross. *Theoretical and Applied Genetics*, 100(7): 1025-1042.

G

- Galvez-Lopez, D., Laurens, F., Devaux, M. F., & Lahaye, M. 2012. Texture analysis in an apple progeny through instrumental, sensory and histological phenotyping. *Euphytica*, 185(2): 171-183.
- Genard, M., Bertin, N., Borel, C., Bussieres, P., Gautier, H., Habib, R., Lechaudel, M., Lecomte, A., Lescourret, F., Lobit, P., & Quilot, B. 2007. Towards a virtual fruit focusing on quality: modelling features and potential uses. *Journal of Experimental Botany*, 58(5): 917-928.
- Genard, M., Bertin, N., Gautier, H., Lescourret, F., & Quilot, B. 2010. Virtual profiling: a new way to analyse phenotypes. *Plant Journal*, 62(2): 344-355.

- Genard, M., & Gouble, B. 2005. ETHY. A theory of fruit climacteric ethylene emission. *Plant Physiology*, 139(1): 531-545.
- Genard, M., Lescourret, F., Gomez, L., & Habib, R. 2003. Changes in fruit sugar concentrations in response to assimilate supply, metabolism and dilution: a modeling approach applied to peach fruit (*Prunus persica*). *Tree Physiology*, 23(6): 373-385.
- Ghiani, A., Onelli, E., Aina, R., Cocucci, M., & Citterio, S. 2011. A comparative study of melting and non-melting flesh peach cultivars reveals that during fruit ripening endo-polygalacturonase (endo-PG) is mainly involved in pericarp textural changes, not in firmness reduction. *Journal of Experimental Botany*, 62(11): 4043-4054.
- Gibeaut, D. M., Karuppiyah, N., Chang, S. R., Brock, T. G., Vadlamudi, B., Kim, D., Ghosheh, N. S., Rayle, D. L., Carpita, N. C., & Kaufman, P. B. 1990. Cell wall and enzyme changes during the graviresponse of the leaf-sheath pulvinus of oat (*Avena sativa*). *Plant Physiology*, 94(2): 411-416.
- Gibert, C., Lescourret, F., Genard, M., Vercambre, G., & Perez Pastor, A. 2005. Modelling the effect of fruit growth on surface conductance to water vapour diffusion. *Annals of Botany*, 95(4): 673-683.
- Gilbert, L., Alhag Dow, M., Nunes-Nesi, A., Quemener, B., Guillon, F., Bouchet, B., Faurobert, M., Gouble, B., Page, D., Garcia, V., Petit, J., Stevens, R., Causse, M., Fernie, A. R., Lahaye, M., Rothan, C., & Baldet, P. 2009. GDP-d-mannose 3,5-epimerase (GME) plays a key role at the intersection of ascorbate and non-cellulosic cell-wall biosynthesis in tomato. *Plant Journal*, 60(3): 499-508.
- Giovannoni, J. J. 2007. Fruit ripening mutants yield insights into ripening control. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3): 283-289.
- Giraud, C. 2008. Estimation of Gaussian graphs by model selection. *Electronic Journal of Statistics*, 2: 542-563.
- Giraud, C., Huet, S., & Verzelen, N. 2012. Graph selection with GGMselect. *Statistical applications in genetics and molecular biology*, 11(3): 3-Article 3.
- Glenn, G. M., & Poovaiah, B. W. 1990. Calcium-mediated postharvest changes in texture and cell wall structure and composition in Golden Delicious apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(6): 962-968.
- Gomez, A. H., Wang, J., Hu, G. X., & Pereira, A. G. 2007. Discrimination of storage shelf-life for mandarin by electronic nose technique. *Lwt-Food Science and Technology*, 40(4): 681-689.
- Gomez, L., Bancel, D., Rubio, E., & Vercambre, G. 2007. The microplate reader: an efficient tool for the separate enzymatic analysis of sugars in plant tissues - validation of a micro-method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(10): 1893-1905.
- Gomez, L., Rubio, E., & Auge, M. 2002. A new procedure for extraction and measurement of soluble sugars in ligneous plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(4): 360-369.
- Goulao, L. F., & Oliveira, C. M. 2008. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science & Technology*, 19(1): 4-25.
- Griffiths, A., Barry, C., Alpuche-Solis, A. G., & Grierson, D. 1999. Ethylene and developmental signals regulate expression of lipoxygenase genes during tomato fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 50(335): 793-798.
- Grimplet, J., Wheatley, M. D., Jouira, H. B., Deluc, L. G., Cramer, G. R., & Cushman, J. C. 2009. Proteomic and selected metabolite analysis of grape berry tissues under well-watered and water-deficit stress conditions. *Proteomics*, 9(9): 2503-2528.
- Guarino, C., Arena, S., De Simone, L., D'Ambrosio, C., Santoro, S., Rocco, M., Scaloni, A., & Marra, M. 2007. Proteomic analysis of the major soluble components in Annurca apple flesh. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(2): 255-262.
- Gucci, R., Lodolini, E. M., & Rapoport, H. F. 2009. Water deficit-induced changes in mesocarp cellular processes and the relationship between mesocarp and endocarp during olive fruit development. *Tree Physiology*, 29(12): 1575-1585.

Guillon, F., Philippe, S., Bouchet, B., Devaux, M. F., Frasse, P., Jones, B., Bouzayen, M., & Lahaye, M. 2008. Down-regulation of an Auxin Response Factor in the tomato induces modification of fine pectin structure and tissue architecture. *Journal of Experimental Botany*, 59(2): 273-288.

H

Hakeem, K. R., Chandna, R., Parvaiz, A., Muhammad, I., & Ozturk, M. 2012. Relevance of proteomic investigations in plant abiotic stress physiology. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 16(11): 621-635.

Haldrup, A., Noerremark, M., & Okkels, F. T. 2001. Plant selection principle based on xylose isomerase. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 37(2): 114-119.

Hamilton, A. J., Lycett, G. W., & Grierson, D. 1990. ANTISENSE GENE THAT INHIBITS SYNTHESIS OF THE HORMONE ETHYLENE IN TRANSGENIC PLANTS. *Nature*, 346(6281): 284-287.

Hanafi, M., Mazerolles, G., Dufour, E., & Qannari, E. M. 2006. Common components and specific weight analysis and multiple co-inertia analysis applied to the coupling of several measurement techniques. *Journal of Chemometrics*, 20(5): 172-183.

Harker, F. R., & Hallett, I. C. 1992. PHYSIOLOGICAL-CHANGES ASSOCIATED WITH DEVELOPMENT OF MEALINESS OF APPLE FRUIT DURING COOL STORAGE. *Hortscience*, 27(12): 1291-1294.

Harker, F. R., Maindonald, J., Murray, S. H., Gunson, F. A., Hallett, I. C., & Walker, S. B. 2002. Sensory interpretation of instrumental measurements 1: texture of apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3): 225-239.

Harker, F. R., Redgwell, R. J., Hallett, I. C., & Murray, S. H. 1997a. Texture of fresh fruit. *Horticultural Reviews*, 20: 121-224.

Harker, F. R., Redgwell, R. J., Hallett, I. C., Murray, S. H., & Carter, G. 1997b. Texture of fresh fruit. *Horticultural Reviews*, 20: 121-224.

Hooijdonk, B. M. v., Dorji, K., & Behboudian, M. H. 2007. Fruit quality of 'Pacific Rose'™ apple grown under partial rootzone drying and deficit irrigation. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 5(3/4): 173-178.

Hooker, T. S., & Thorpe, T. A. 1997. Effects of water deficit stress on the developmental growth of excised tomato roots cultured in vitro. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 33(3): 245-251.

Hopkirk, G., Harker, F. R., & Harman, J. E. 1990. CALCIUM AND THE FIRMNESS OF KIWIFRUIT. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 18(4): 215-219.

Hother, K., Herold, B., & Geyer, N. 1995. DETECTING QUALITY DEFECTS IN APPLE TISSUE USING SPECTRAL REFLECTION MEASUREMENT. *Gartenbauwissenschaft*, 60(4): 162-166.

Hu, Z., Hung, J.-H., Wang, Y., Chang, Y.-C., Huang, C.-L., Huyck, M., & Delisi, C. 2009. VisANT 3.5: multi-scale network visualization, analysis and inference based on the gene ontology. *Nucleic Acids Research*, 37: W115-W121.

Huguet, J. G., Li, S. H., Lorendeau, J. Y., & Pelloux, G. 1992. Specific micromorphometric reactions of fruit trees to water stress and irrigation scheduling automation. *Journal of Horticultural Science*, 67(5): 631-640.

I

Ishikawa, T., Dowdle, J., & Smirnoff, N. 2006. Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants. *Physiologia Plantarum*, 126(3): 343-355.

J

Jackman, R. L., & Stanley, D. W. 1995. PERSPECTIVES IN THE TEXTURAL EVALUATION OF PLANT FOODS. *Trends in Food Science & Technology*, 6(6): 187-194.

- Jaleel, C. A., Ragupathi, G., Beemarao, S., Muthiah, G., & Rajaram, P. 2008. Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. **Comptes Rendus Biologies**, 331(1): 42-17.
- James, P. 1997. Of genomes and proteomes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 231(1): 1-6.
- Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Lomthaisong, K., Daduang, S., Jaisil, P., & Thammasirirak, S. 2010. A proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, 6(2): 89-102.
- Jin, Y., & Penning, T. M. 2007. Aldo-keto reductases and bioactivation/detoxication, **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, Vol. 47: 263-292.
- Joas, J., Vulcain, E., Desvignes, C., Morales, E., & Lechaudel, M. 2012. Physiological age at harvest regulates the variability in postharvest ripening, sensory and nutritional characteristics of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Cogshall due to growing conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 92(6): 1282-1290.
- Job, D., Haynes, P. A., & Zivy, M. 2011. Special Issue: Plant proteomics. **Proteomics**, 11(9): 1557-1850.
- Johnson, D. S. 1992. THE EFFECT OF FLOWER AND FRUIT THINNING ON THE FIRMNESS OF COX ORANGE PIPPIN APPLES AT HARVEST AND AFTER STORAGE. **Journal of Horticultural Science**, 67(1): 95-101.
- Johnston, J. W., Hewett, E. W., & Hertog, M. 2002. Postharvest softening of apple (*Malus domestica*) fruit: a review. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, 30(3): 145-160.

K

- Kader, A. A. 2008. Flavor quality of fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 88(11): 1863-1868.
- Kang, N., Cho, M., & Kang, K. 2009. Accumulation of soluble solids and activation of antioxidant enzymes by deficit irrigation in fresh tomato fruits. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology**, 27(3): 343-352.
- Karlsen, A. M., Aaby, K., Sivertsen, H., Baardseth, P., & Ellekjaer, M. R. 1999. Instrumental and sensory analysis of fresh Norwegian and imported apples. **Food Quality and Preference**, 10(4-5): 305-314.
- Katz, E., Lagunes, P. M., Riov, J., Weiss, D., & Goldschmidt, E. E. 2004. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric Citrus fruit. **Planta**, 219(2): 243-252.
- Ketelaere, B. d., Lammertyn, J., Molenberghs, G., Desmet, M., Nicolai, B., & Baerdemaeker, J. d. 2004. Tomato cultivar grouping based on firmness change, shelf life and variance during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, 34(2): 187-201.
- Kim, K. B., Lee, S., Kim, M. S., & Cho, B. K. 2009a. Determination of apple firmness by nondestructive ultrasonic measurement. **Postharvest Biology and Technology**, 52(1): 44-48.
- Kim, M., Sasaki, K., & Imai, R. 2009b. Cold shock domain protein 3 regulates freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Biological Chemistry**, 284(35): 23454-23460.
- Klee, H. J., & Giovannoni, J. J. 2011. Genetics and control of tomato fruit ripening and quality attributes. **Annual Review of Genetics**, 45: 41-59.
- Knee, M., & Smith, S. M. 1989. Variation in quality of apple fruits stored after harvest on different dates. **Journal of Horticultural Science**, 64(4): 413-419.
- Konozy, E. H. E., Causse, M., & Faurobert, M. 2012. Cell wall glycosidase activities and protein content variations during fruit development and ripening in three texture contrasted tomato cultivars. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 19(3): 277-283.
- Konozy, E. H. E., Rogniaux, H., Causse, M., & Faurobert, M. 2013. Proteomic analysis of tomato (*Solanum lycopersicum*) secretome. **Journal of Plant Research**, 126(2): 251-266.

- Krasensky, J., & Jonak, C. 2012. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany*, 63(4): 1593-1608.
- Kweon, H.-J., Kang, I.-K., Kim, M.-J., Lee, J., Moon, Y.-S., Choi, C., Choi, D. G., & Watkins, C. B. 2013. Fruit maturity, controlled atmosphere delays and storage temperature affect fruit quality and incidence of storage disorders of 'Fuji' apples. *Scientia Horticulturae*, 157: 60-64.

L

- Labate, J. A., Grandillo, S., Fulton, T., Munos, S., Caicedo, A. L., Peralta, I., Ji, Y. F., Chetelat, R. T., Scott, J. W., Gonzalo, M. J., Francis, D., Yang, W. C., Knaap, E. v. d., Baldo, A. M., Smith-White, B., Mueller, L. A., Prince, J. P., Blanchard, N. E., Storey, D. B., Stevens, M. R., Robbins, M. D., Wang, J. F., Liedl, B. E., O'Connell, M. A., Stommel, J. R., & Aoki, K. 2007. Tomato, *Vegetables*: 1-125.
- Lahaye, M., Devaux, M. F., Poole, M., Seymour, G. B., & Causse, M. 2013. Pericarp tissue microstructure and cell wall polysaccharide chemistry are differently affected in lines of tomato with contrasted firmness. *Postharvest Biology and Technology*, 76: 83-90.
- Lahaye, M., Quemener, B., Causse, M., & Seymour, G. B. 2012. Hemicellulose fine structure is affected differently during ripening of tomato lines with contrasted texture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4): 462-470.
- Lammertyn, J., Peirs, A., De Baerdemaeker, J., & Nicolai, B. 2000. Light penetration properties of NIR radiation in fruit with respect to non-destructive quality assessment. *Postharvest Biology and Technology*, 18(2): 121-132.
- Le Cao, K.-A., Boitard, S., & Besse, P. 2011. Sparse PLS discriminant analysis: biologically relevant feature selection and graphical displays for multiclass problems. *BMC bioinformatics*, 12: 253.
- Lecoeur, J., 2007. Influence d'un déficit hydrique sur le fonctionnement d'un couvert végétal cultivé. *Observatoire viticole*, http://www.obs-viti-cg34.com/viti/download_file.jsp?id_doc=964
- Legland, D., Guillon, F., Kieu, K., Bouchet, B., & Devaux, M. F. 2009. Stereological estimation of cell wall density of DR12 tomato mutant using three-dimensional confocal imaging. *Annals of Botany*, 105(2): 265-276.
- Leib, B. G., Caspari, H. W., Redulla, C. A., Andrews, P. K., & Jabro, J. J. 2006. Partial rootzone drying and deficit irrigation of 'Fuji' apples in a semi-arid climate. *Irrigation Science*, 24(2).
- Lemoine, R., Burkle, L., Barker, L., Sakr, S., Kuhn, C., Regnacq, M., Gaillard, C., Delrot, S., & Frommer, W. B. 1999. Identification of a pollen-specific sucrose transporter-like protein NtSUT3 from tobacco. *FEBS Letters*, 454(3): 325-330.
- Lenucci, M. S., Caccioppola, A., Durante, M., Serrone, L., Leonardo, R., Piro, G., & Dalessandro, G. 2010. Optimisation of biological and physical parameters for lycopene supercritical CO₂ extraction from ordinary and high-pigment tomato cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(10): 1709-1718.
- Li, Z. G., Yang, H. L., Li, P. P., Liu, J. Z., Wang, J. Z., & Xu, Y. F. 2013. Fruit biomechanics based on anatomy: a review. *International Agrophysics*, 27(1): 97-106.
- Lobit, P., Genard, M., Wu, B. H., Soing, P., & Habib, R. 2003. Modelling citrate metabolism in fruits: responses to growth and temperature. *Journal of Experimental Botany*, 54(392): 2489-2501.
- Lopez-Casado, G., Matas, A. J., Dominguez, E., Cuartero, J., & Heredia, A. 2007. Biomechanics of isolated tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit cuticles: the role of the cutin matrix and polysaccharides. *Journal of Experimental Botany*, 58(14): 3875-3883.
- Loukehaich, R., Wang, T., Ouyang, B., Ziaf, K., Li, H., Zhang, J., Lu, Y., & Ye, Z. 2012. SpUSP, an annexin-interacting universal stress protein, enhances drought tolerance in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 63(15): 5593-5606.

- Lu, Y., Ouyang, B., Zhang, J., Wang, T., Lu, C., Han, Q., Zhao, S., Ye, Z., & Li, H. 2012. Genomic organization, phylogenetic comparison and expression profiles of annexin gene family in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Gene*, 499(1): 14-24.
- Lyons, J. M. 1973. Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 24: 445-466.

M

- Machado, N. P., Fachinello, J. C., Galarca, S. P., Betemps, D. L., Pasa, M. S., & Schmitz, J. D. 2012. Pear quality characteristics by Vis/NIR spectroscopy. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 84(3): 853-863.
- Manaa, A., Ahmed, H. B., Valot, B., Bouchet, J. P., Aschi-Smiti, S., Causse, M., & Faurobert, M. 2011a. Salt and genotype impact on plant physiology and root proteome variations in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 62(8): 2797-2813.
- Manaa, A., Ben Ahmed, H., Smiti, S. & Faurobert, M. 2011b. Salt-stress induced physiological and proteomic changes in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 15(11): 801-809.
- Mann, H., Bedford, D., Luby, J., Vickers, Z., & Tong, C. 2005. Relationship of instrumental and sensory texture measurements of fresh and stored apples to cell number and size. *Hortscience*, 40(6): 1815-1820.
- Manning, K., Tor, M., Poole, M., Hong, Y., Thompson, A. J., King, G. J., Giovannoni, J. J., & Seymour, G. B. 2006. A naturally occurring epigenetic mutation in a gene encoding an SBP-box transcription factor inhibits tomato fruit ripening. *Nature Genetics*, 38(8): 948-952.
- Marjanovic, M., Stikic, R., Vucelic-Radovic, B., Savic, S., Jovanovic, Z., Bertin, N., & Faurobert, M. 2012. Growth and proteomic analysis of tomato fruit under partial root-zone drying. *OMICS A Journal of Integrative Biology*, 16(6): 343-356.
- Marquez-Garcia, B., Horemans, N., Cuypers, A., Guisez, Y., & Cordoba, F. 2011. Antioxidants in *Erica andevalensis*: A comparative study between wild plants and cadmium-exposed plants under controlled conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(1): 110-115.
- Marsal, J., Rapoport, H. F., Manrique, T., & Girona, J. 2000. Pear fruit growth under regulated deficit irrigation in container-grown trees. *Scientia Horticulturae*, 85(4): 243-259.
- Martin-Diana, A. B., Rico, D., Frias, J. M., Barat, J. M., Henahan, G. T. M., & Barry-Ryan, C. 2007. Calcium for extending the shelf life of fresh whole and minimally processed fruits and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(4): 210-218.
- Martre, P., Bertin, N., Salon, C., & Genard, M. 2011. Modelling the size and composition of fruit, grain and seed by process-based simulation models. *New Phytologist*, 191(3): 601-618.
- Massot, C. 2010. *Analyse des variations de la teneur en vitamine C dans le fruit de tomate et rôle de l'environnement lumineux*. Avignon.
- Matas, A. J., Cobb, E. D., Paolillo, D. J., & Niklas, K. J. 2004. Crack resistance in cherry tomato fruit correlates with cuticular membrane thickness. *Hortscience*, 39(6): 1354-1358.
- Matteo, A. d., Giovane, A., Raiola, A., Camardella, L., Bonivento, D., Lorenzo, G. d., Cervone, F., Bellincampi, D., & Tsernoglou, D. 2005. Structural basis for the interaction between pectin methylesterase and a specific inhibitor protein. *Plant Cell*, 17(3): 849-858.
- Matteo, A. d., Sacco, A., Anacleria, M., Pezzotti, M., Delledonne, M., Ferrarini, A., Frusciante, L., & Barone, A. 2010. The ascorbic acid content of tomato fruits is associated with the expression of genes involved in pectin degradation. *BMC Plant Biology*, 10(163): (6 August 2010).
- Matz, S. A. 1962. *Food Texture*: Avi Publishing Company.
- Mazerolles, G., Preys, S., Bouchut, C., Meudec, E., Fulcrand, H., Souquet, J. M., & Cheynier, V. 2010. Combination of several mass spectrometry ionization modes: a multiblock analysis for a rapid characterization of the red wine polyphenolic composition. *Analytica Chimica Acta*, 678(2): 195-202.

- Mehinagic, E., Royer, G., Symoneaux, R., Bertrand, D., & Jourjon, F. 2004. Prediction of the sensory quality of apples by physical measurements. *Postharvest Biology and Technology*, 34(3): 257-269.
- Meinshausen, N., & Buehlmann, P. 2006. High-dimensional graphs and variable selection with the Lasso. *Annals of Statistics*, 34(3): 1436-1462.
- Meli, V. S., Sumit, G., Prabha, T. N., Niranjana, C., Subhra, C., & Asis, D. 2010. Enhancement of fruit shelf life by suppressing N-glycan processing enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(6): 2413-2418.
- Mihr, C., Faurobert, M., Bouchet, J. P., Causse, M., Negroni, L., Pawowski, T., Rossignol, M., & Sommerer, M. 2005. Proteome analysis of organoleptic quality in tomato. In F. Mencarelli, & P. Tonutti (Eds.), *Acta Horticulturae*: 277-283.
- Mitchell, J. P., Shennan, C., Grattan, S. R., & May, D. M. 1991. TOMATO FRUIT YIELDS AND QUALITY UNDER WATER DEFICIT AND SALINITY. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(2): 215-221.
- Mizrach, A., Bechar, A., Grinshpon, Y., Hofman, A., Egozi, H., & Rosenfeld, L. 2003. Ultrasonic classification of mealiness in apples. *Transactions of the Asae*, 46(2): 397-400.
- Mizrach, A., & Flitsanov, U. 1999. Nondestructive ultrasonic determination of avocado softening process. *Journal of Food Engineering*, 40(3): 139-144.
- Moneruzzaman, K. M., Hossain, A. B. M. S., Sani, W., & Saifuddin, M. 2008. Effect of stages of maturity and ripening conditions on the physical characteristics of tomato. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(4): 329-335.
- Muller, B., Bourdais, G., Reidy, B., Bencivenni, C., Massonneau, A., Condamine, P., Rolland, G., Conejero, 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(1): 278-290.
- Mundree, S. G., Whittaker, A., Thomson, J. A., & Farrant, J. M. 2000. An aldose reductase homolog from the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker. *Planta*, 211(5): 693-700.
- Munos, S., Ranc, N., Botton, E., Berard, A., Rolland, S., Duffe, P., Carretero, Y., Paslier, M. C. I., Delalande, C., Bouzayen, M., Brunel, D., & Causse, M. 2011. Increase in tomato locule number is controlled by two single-nucleotide polymorphisms located near WUSCHEL. *Plant Physiology*, 156(4): 2244-2254.
- Muramatsu, N., Sakurai, N., Yamamoto, R., Nevins, D. J., Takahara, T., & Ogata, T. 1997. Comparison of a non-destructive acoustic method with an intrusive method for firmness measurement of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 12(3): 221-228.
- Murray, X. J., Holcroft, D. M., Cook, N. C., & Wand, S. J. E. 2005. Postharvest quality of 'Laetitia' and 'Songold' (*Prunus salicina* Lindell) plums as affected by preharvest shading treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 37(1): 81-92.
- Musse, M., Quéllec, S., Cambert, M., Devaux, M. F., Lahaye, M., & Mariette, F. 2009. Monitoring the postharvest ripening of tomato fruit using quantitative MRI and NMR relaxometry. *Postharvest Biology and Technology*, 53(1/2): 22-35.

N

- Najla, S. 2009. *Analyse et modélisation de la croissance de la plante et du fruit de tomate. Application à des niveaux de salinité et de disponibilité hydrique variables.*, Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon.
- Nardoza, S., Gamble, J., Axten, L. G., Wohlers, M. W., Clearwater, M. J., Feng, J., & Harker, F. R. 2011. Dry matter content and fruit size affect flavour and texture of novel *Actinidia deliciosa* genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(4): 742-748.
- Naveen, G., & Cheema, D. S. 2011. Assessment of fruit quality attributes of tomato hybrids involving ripening mutants under high temperature conditions. *Scientia Horticulturae*, 131: 29-38.
- Navez, B. 2011. *Tomate Qualité et préférences* (CTIFL ed.): CTIFL.

- Neuhoff, V., Arold, N., Taube, D., & Ehrhardt, W. 1988. IMPROVED STAINING OF PROTEINS IN POLYACRYLAMIDE GELS INCLUDING ISOELECTRIC-FOCUSING GELS WITH CLEAR BACKGROUND AT NANOGRAM SENSITIVITY USING COOMASSIE BRILLIANT BLUE G-250 AND R-250. *Electrophoresis*, 9(6): 255-262.
- Nilo P, R., Campos-Vargas, R., & Orellana, A. 2012. Assessment of Prunus persica fruit softening using a proteomics approach. *Journal of Proteomics*, 75(5): 1618-1638.
- Nunes-Nesi, A., Carrari, F., Gibon, Y., Sulpice, R., Lytovchenko, A., Fisahn, J., Graham, J., Ratcliffe, R. G., Sweetlove, L. J., & Fernie, A. R. 2007. Deficiency of mitochondrial fumarase activity in tomato plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function. *Plant Journal*, 50(6): 1093-1106.
- Nuruddin, M. M., Madramootoo, C. A., & Dodds, G. T. 2003. Effects of water stress at different growth stages on greenhouse tomato yield and quality. *Hortscience*, 38(7): 1389-1393.

O

- Oeller, P. W., Wong, L. M., Taylor, L. P., Pike, D. A., & Theologis, A. 1991. REVERSIBLE INHIBITION OF TOMATO FRUIT SENESCENCE BY ANTISENSE RNA. *Science*, 254(5030): 437-439.
- Osorio, S., Alba, R., Damasceno, C. M. B., Lopez-Casado, G., Lohse, M., Zanor, M. I., Tohge, T., Usadel, B., Rose, J. K. C., Fei, Z. J., Giovannoni, J. J., & Fernie, A. R. 2011. Systems biology of tomato fruit development: combined transcript, protein, and metabolite analysis of tomato transcription factor (nor, rin) and ethylene receptor (Nr) mutants reveals novel regulatory interactions. *Plant Physiology*, 157(1): 405-425.
- Osorio, S., Alba, R., Nikoloski, Z., Kochevenko, A., Fernie, A. R., & Giovannoni, J. J. 2012. Integrative comparative analyses of transcript and metabolite profiles from pepper and tomato ripening and development stages uncovers species-specific patterns of network regulatory behavior. *Plant Physiology*, 159(4): 1713-1729.

P

- Paananen, J., & Wong, G. 2009. FOR3D: Force-directed 3D graph editor for visualization of integrated genome scale data. *Bmc Systems Biology*, 3.
- Page, D., Gouble, B., Valot, B., Bouchet, J. P., Callot, C., Kretschmar, A., Causse, M., Renard, C. M. C. G., & Faurobert, M. 2010. Protective proteins are differentially expressed in tomato genotypes differing for their tolerance to low-temperature storage. *Planta*, 232(2): 483-500.
- Palma, J. M., Corpas, F. J., & Rio, L. A. d. 2009. Proteome of plant peroxisomes: new perspectives on the role of these organelles in cell biology. *Proteomics*, 9(9): 2301-2312.
- Palma, J. M., Corpas, F. J., & Rio, L. A. d. 2011. Proteomics as an approach to the understanding of the molecular physiology of fruit development and ripening. *Journal of Proteomics*, 74(8): 1230-1243.
- Parker, R., & Maalekuu, B. K. 2013. The effect of harvesting stage on fruit quality and shelf-life of four tomato cultivars (Lycopersicon esculentum Mill). *Agriculture and Biology Journal of North America*, 4(3): 252-259.
- Patane, C., & Cosentino, S. L. 2010. Effects of soil water deficit on yield and quality of processing tomato under a Mediterranean climate. *Agricultural Water Management*, 97(1): 131-138.
- Pego, J. V., & Smeekens, S. C. M. 2000. Plant fructokinases: a sweet family get-together. *Trends in Plant Science*, 5(12): 531-536.
- Peirs, A., Schenk, A., & Nicolai, B. M. 2005. Effect of natural variability among apples on the accuracy of VIS-NIR calibration models for optimal harvest date predictions. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1): 1-13.
- Pereyra-Irujo, G. A., Velazquez, L., Lechner, L., & Aguirrezabal, L. A. N. 2008. Genetic variability for leaf growth rate and duration under water deficit in sunflower: analysis of responses at cell, organ, and plant level. *Journal of Experimental Botany*, 59(8): 2221-2232.

- Perez-Pastor, A., Ruiz-Sanchez, M. C., Martinez, J. A., Nortes, P. A., Artes, F., & Domingo, R. 2007. Effect of deficit irrigation on apricot fruit quality at harvest and during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(13).
- Peumans, W. J., Barre, A., Derycke, V., Rouge, P., Zhang, W., May, G. D., Delcour, J. A., Leuven, F. v., & Damme, E. J. M. v. 2000. Purification, characterization and structural analysis of an abundant beta-1,3-glucanase from banana fruit. *European Journal of Biochemistry*, 267(4): 1188-1195.
- Phuc Thi, D., Prudent, M., Sulpice, R., Causse, M., & Fernie, A. R. 2010. The influence of fruit load on the tomato pericarp metabolome in a *Solanum chmielewskii* introgression line population. *Plant Physiology*, 154(3): 1128-1142.
- Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Goncalves, E. M., & Silva, C. L. M. 2013. Kinetics of changes in the physical quality parameters of fresh tomato fruits (*Solanum lycopersicum*, cv. 'Zinac') during storage. *Journal of Food Engineering*, 114(3): 338-345.
- Plaut, Z., & Ben-Hur, M. 2005. Irrigation management of peanut with a moving sprinkler system: Runoff, yield, and water use efficiency. *Agronomy Journal*, 97(4): 1202-1209.
- Plaut, Z., Grava, A., Yehezkel, C., & Matan, E. 2004. How do salinity and water stress affect transport of water, assimilates and ions to tomato fruits? *Physiologia Plantarum*, 122(4): 429-442.
- Powell, A. L. T., Kalamaki, M. S., Kurien, P. A., Gurrieri, S., & Bennett, A. B. 2003. Simultaneous transgenic suppression of LePG and LeExp1 influences fruit texture and juice viscosity in a fresh market tomato variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25): 7450-7455.
- Prudent, M., Causse, M., Genard, M., Tripodi, P., Grandillo, S., & Bertin, N. 2009. Genetic and physiological analysis of tomato fruit weight and composition: influence of carbon availability on QTL detection. *Journal of Experimental Botany*, 60(3): 923-937.
- Puhakainen, T., Hess, M. W., Makela, P., Svensson, J., Heino, P., & Palva, E. T. 2004. Overexpression of multiple dehydrin genes enhances tolerance to freezing stress in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 54(5): 743-753.
- Pulupol, L. U., Behboudian, M. H., & Fisher, K. J. 1996. Growth, yield, and postharvest attributes of glasshouse tomatoes produced under deficit irrigation. *Hortscience*, 31(6): 926-929.

Q

- Qannari, E., Wakeling, I., Courcoux, P., & MacFie, H. J. H. 2000. Defining the underlying sensory dimensions. *Food Quality and Preference*, 11(1-2): 151-154.
- Quemener, B., Bertrand, D., Marty, I., Causse, M., & Lahaye, M. 2007. Fast data preprocessing for chromatographic fingerprints of tomato cell wall polysaccharides using chemometric methods. *Journal of Chromatography, A*, 1141(1): 41-49.
- Quilot, B., Genard, M., Kervella, J., & Lescourret, F. 2002. Ecophysiological analysis of genotypic variation in peach fruit growth. *Journal of Experimental Botany*, 53(374): 1613-1625.

R

- Raffaele, S., Bayer, E., Lafarge, D., Cluzet, S., Retana, S. G., Boubekeur, T., Leborgne-Castel, N., Carde, J.-P., Lherminier, J., Noirot, E., Satiat-Jeunemaitre, B., Laroche-Traineau, J., Moreau, P., Ott, T., Maule, A. J., Reymond, P., Simon-Plas, F., Farmer, E. E., Bessoule, J.-J., & Mongrand, S. 2009. Remorin, a Solanaceae Protein Resident in Membrane Rafts and Plasmodesmata, Impairs Potato virus X Movement. *Plant Cell*, 21(5): 1541-1555.
- Raffo, M. D., Rodriguez, R., & Manueco, L. 2011. The effects of centrifugal pruning on fruiting structure production in Royal Gala apples. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 38(2): 227-232.
- Ramagli, L. S., & Rodriguez, L. V. 1985. QUANTITATION OF MICROGRAM AMOUNTS OF PROTEIN IN TWO-DIMENSIONAL POLYACRYLAMIDE-GEL ELECTROPHORESIS SAMPLE BUFFER. *Electrophoresis*, 6(11): 559-563.
- Ramakrishna, W., Deng, Z. P., Ding, C. K., Handa, A. K., & Ozminkowski, R. H., Jr. 2003. A novel small heat shock protein gene, *vis1*, contributes to pectin depolymerization and juice viscosity in tomato fruit. *Plant Physiology*, 131(2): 725-735.

- Redgwell, R. J., Fischer, M., Kendal, E., & MacRae, E. A. 1997. Galactose loss and fruit ripening: high-molecular-weight arabinogalactans in the pectic polysaccharides of fruit cell walls. *Planta*, 203(2): 174-181.
- Reeve, R. M. 1970. Relationships of histological structure to texture of fresh and processed fruits and vegetables. *Journal of Texture Studies*, 1(247-84).
- Renard, C. M. G. C., Ginies, C., Gouble, B., Bureau, S., & Causse, M. 2013. Home conservation strategies for tomato (*Solanum lycopersicum*): storage temperature vs. duration - is there a compromise for better aroma preservation? *Food Chemistry*, 139(1/4): 825-836.
- Riccardi, F., Gazeau, P., Jacquemot, M. P., Vincent, D., & Zivy, M. 2004. Deciphering genetic variations of proteome responses to water deficit in maize leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(12): 1003-1011.
- Rick, C. 1956. New mutants. *Rep Tomato Genet Coop*, 6: 22-23.
- Robbins, J. A., & Moore, P. P. 1990. RELATIONSHIP OF FRUIT MORPHOLOGY AND WEIGHT TO FRUIT STRENGTH IN MEEKER RED RASPBERRY. *Hortscience*, 25(6): 679-681.
- Robert, P., & Escoufier, Y. 1976. UNIFYING TOOL FOR LINEAR MULTIVARIATE STATISTICAL-METHODS - RV-COEFFICIENT. *Journal of the Royal Statistical Society Series C-Applied Statistics*, 25(3): 257-265.
- Rocco, M., D'Ambrosio, C., Arena, S., Faurobert, M., Scaloni, A., & Marra, M. 2006. Proteomic analysis of tomato fruits from two ecotypes during ripening. *Proteomics*, 6(13): 3781-3791.
- Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Rios, J. J., Blasco, B., Sanchez-Rodriguez, E., Romero, L., & Ruiz, J. M. 2009. Environmental conditions affect pectin solubilization in cherry tomato fruits grown in two experimental Mediterranean greenhouses. *Environmental and Experimental Botany*, 67(2): 320-327.
- Rose, J. K. C., Bashir, S., Giovannoni, J. J., Jahn, M. M., & Saravanan, R. S. 2004. Tackling the plant proteome: practical approaches, hurdles and experimental tools. *Plant Journal*, 39(5): 715-733.
- Rose, J. K. C. C., Gonzalez-Carranza, Z.H.; et al. 2003. *Cell wall disassembly*: Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.
- Ross, C. F., Chauvin, M. A., & Whiting, M. 2009. FIRMNESS EVALUATION OF SWEET CHERRIES BY A TRAINED AND CONSUMER SENSORY PANEL. *Journal of Texture Studies*, 40(5): 554-570.
- Rosignol, T., Postaire, O., Storai, J., & Blondin, B. 2006. Analysis of the genomic response of a wine yeast to rehydration and inoculation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(5): 699-712.
- Ruiz-May, E., & Rose, J. K. C. 2013. Progress toward the tomato fruit cell wall proteome. *Frontiers in plant science*, 4: 159-159.

S

- Sacks, M. M., Silk, W. K., & Burman, P. 1997. Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. *Plant Physiology*, 114(2): 519-527.
- Sadava, D., Hillis, D. M., Heller, H. C., & Berenbaum, M. 2009. *Life: the science of biology*: Macmillan.
- Saladie, M., Matas, A. J., Isaacson, T., Jenks, M. A., Goodwin, S. M., Niklas, K. J., Ren, X. L., Labavitch, J. M., Shackel, K. A., Fernie, A. R., Lytovchenko, A., O'Neill, M. A., Watkins, C. B., & Rose, J. K. C. 2007. A reevaluation of the key factors that influence tomato fruit softening and integrity. *Plant Physiology*, 144(2): 1012-1028.
- Saladie, M., Rose, J. K. C., Cosgrove, D. J., & Catala, C. 2006. Characterization of a new xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) from ripening tomato fruit and implications for the diverse modes of enzymic action. *Plant Journal*, 47(2): 282-295.
- Saliba-Colombani, V., Causse, M., Langlois, D., Philouze, J., & Buret, M. 2001. Genetic analysis of organoleptic quality in fresh market tomato. 1. Mapping QTLs for physical and chemical traits. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(2/3): 259-272.

- Sams, C. E. 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3): 249-254.
- Saravanan, R. S., & Rose, J. K. C. 2004. A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of recalcitrant plant tissues. *Proteomics*, 4(9): 2522-2532.
- Sato, S., Tabata, S., Hirakawa, H., Asamizu, E., Shirasawa, K., Isobe, S., Kaneko, T., Nakamura, Y., Shibata, D., Aoki, K., Egholm, M., Knight, J., Bogden, R., Li, C. B., Shuang, Y., Xu, X., Pan, S. K., Cheng, S. F., Liu, X., Ren, Y. Y., Wang, J., Albiero, A., Dal Pero, F., Todesco, S., Van Eck, J., Buels, R. M., Bombarely, A., Gosselin, J. R., Huang, M. Y., Leto, J. A., Menda, N., Strickler, S., Mao, L. Y., Gao, S., Teclé, I. Y., York, T., Zheng, Y., Vrebalov, J. T., Lee, J., Zhong, S. L., Mueller, L. A., Stiekema, W. J., Ribeca, P., Alioto, T., Yang, W. C., Huang, S. W., Du, Y. C., Zhang, Z. H., Gao, J. C., Guo, Y. M., Wang, X. X., Li, Y., He, J., Li, C. Y., Cheng, Z. K., Zuo, J. R., Ren, J. F., Zhao, J. H., Yan, L. H., Jiang, H. L., Wang, B., Li, H. S., Li, Z. J., Fu, F. Y., Chen, B. T., Han, B., Feng, Q., Fan, D. L., Wang, Y., Ling, H. Q., Xue, Y. B. A., Ware, D., McCombie, W. R., Lippman, Z. B., Chia, J. M., Jiang, K., Pasternak, S., Gelley, L., Kramer, M., Anderson, L. K., Chang, S. B., Royer, S. M., Shearer, L. A., Stack, S. M., Rose, J. K. C., Xu, Y. M., Eannetta, N., Matas, A. J., McQuinn, R., Tanksley, S. D., Camara, F., Guigo, R., Rombauts, S., Fawcett, J., Van de Peer, Y., Zamir, D., Liang, C. B., Spannagl, M., Gundlach, H., Bruggmann, R., Mayer, K., Jia, Z. Q., Zhang, J. H., Ye, Z. B. A., Bishop, G. J., Butcher, S., Lopez-Cobollo, R., Buchan, D., Filippis, I., Abbott, J., Dixit, R., Singh, M., Singh, A., Pal, J. K., Pandit, A., Singh, P. K., Mahato, A. K., Dogra, V., Gaikwad, K., Sharma, T. R., Mohapatra, T., Singh, N. K., Causse, M., Rothan, C., Schiex, T., Noirot, C., Bellec, A., Klopp, C., Delalande, C., Berges, H., Mariette, J., Frasse, P., Vautrin, S., Zouine, M., Latche, A., Rousseau, C., Regad, F., Pech, J. C., Philippot, M., Bouzayen, M., Pericard, P., Osorio, S., del Carmen, A. F., Monforte, A., Granell, A., Fernandez-Munoz, R., Conte, M., Lichtenstein, G., Carrari, F., De Bellis, G., Fuligni, F., Peano, C., Grandillo, S., Termolino, P., Pietrella, M., Fantini, E., Falcone, G., Fiore, A., Giuliano, G., Lopez, L., Facella, P., Perrotta, G., Daddiego, L., Bryan, G., Orozco, M., Pastor, X., Torrents, D., van Schriek, K., Feron, R. M. C., van Oeveren, J., de Heer, P., daPonte, L., Jacobs-Oomen, S., Cariaso, M., Prins, M., van Eijk, M. J. T., Janssen, A., van Haaren, M. J. J., Jo, S. H., Kim, J., Kwon, S. Y., Kim, S., Koo, D. H., Lee, S., Hur, C. G., Clouser, C., Rico, A., Hallab, A., Gebhardt, C., Klee, K., Jocker, A., Warfsmann, J., Gobel, U., Kawamura, S., Yano, K., Sherman, J. D., Fukuoka, H., Negoro, S., Bhutty, S., Chowdhury, P., Chattopadhyay, D., Datema, E., Smit, S., Schijlen, E. W. M., van de Belt, J., van Haarst, J. C., Peters, S. A., van Staveren, M. J., Henkens, M. H. C., Mooyman, P. J. W., Hesselink, T., van Ham, R., Jiang, G. Y., Droege, M., Choi, D., Kang, B. C., Kim, B. D., Park, M., Yeom, S. I., Lee, Y. H., Choi, Y. D., Li, G. C., Gao, J. W., Liu, Y. S., Huang, S. X., Fernandez-Pedrosa, V., Collado, C., Zuniga, S., Wang, G. P., Cade, R., Dietrich, R. A., Rogers, J., Knapp, S., Fei, Z. J., White, R. A., Thannhauser, T. W., Giovannoni, J. J., Botella, M. A., Gilbert, L., Gonzalez, R., Goicoechea, J. L., Yu, Y., Kudrna, D., Collura, K., Wissotski, M., Wing, R., Schoof, H., Meyers, B. C., Gurazada, A. B., Green, P. J., Mathur, S., Vyas, S., Solanke, A. U., Kumar, R., Gupta, V., Sharma, A. K., Khurana, P., Khurana, J. P., Tyagi, A. K., Dalmay, T., Mohorianu, I., Walts, B., Chamala, S., Barbazuk, W. B., Li, J. P., Guo, H., Lee, T. H., Wang, Y. P., Zhang, D., Paterson, A. H., Wang, X. Y., Tang, H. B., Barone, A., Chiusano, M. L., Ercolano, M. R., D'Agostino, N., Di Filippo, M., Traini, A., Sanseverino, W., Frusciante, L., Seymour, G. B., Elharam, M., Fu, Y., Hua, A., Kenton, S., Lewis, J., Lin, S. P., Najar, F., Lai, H. S., Qin, B. F., Qu, C. M., Shi, R. H., White, D., White, J., Xing, Y. B., Yang, K. Q., Yi, J., Yao, Z. Y., Zhou, L. P., Roe, B. A., Vezzi, A., D'Angelo, M., Zimbello, R., Schiavon, R., Caniato, E., Rigobello, C., Campagna, D., Vitulo, N., Valle, G., Nelson, D. R., De Paoli, E., Szinay, D., de Jong, H. H., Bai, Y. L., Visser, R. G. F., Lankhorst, R. M. K., Beasley, H., McLaren, K., Nicholson, C., Riddle, C., Gianese, G., & Tomato Genome, C. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*, 485(7400): 635-641.
- Schurmann, P., & Buchanan, B. B. 2008. The ferredoxin/thioredoxin system of oxygenic photosynthesis. *Antioxidants & Redox Signaling*, 10(7): 1235-1273.

- Seymour, G. B., & Gross, K. C. 1996. Cell wall disassembly and fruit softening. *Postharvest News and Information*, 7(3): 45N-52N.
- Seymour, G. B., Manning, K., Eriksson, E. M., Popovich, A. H., & King, G. J. 2002. Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. *Journal of Experimental Botany*, 53(377): 2065-2071.
- Shackel, K. A., Greve, C., Labavitch, J. M., & Ahmadi, H. 1991. CELL TURGOR CHANGES ASSOCIATED WITH RIPENING IN TOMATO PERICARP TISSUE. *Plant Physiology*, 97(2): 814-816.
- Shaffer, J. P. 1995. MULTIPLE HYPOTHESIS-TESTING. *Annual Review of Psychology*, 46: 561-584.
- Shah, P., Powell, A. L. T., Orlando, R., Bergmann, C., & Gutierrez-Sanchez, G. 2012. Proteomic Analysis of Ripening Tomato Fruit Infected by *Botrytis cinerea*. *Journal of Proteome Research*, 11(4): 2178-2192.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. 2003. Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11): 2498-2504.
- Shao, G.-C., Zhang, Z.-Y., Liu, N., Yu, S.-E., & Xing, W.-G. 2008. Comparative effects of deficit irrigation (DI) and partial rootzone drying (PRD) on soil water distribution, water use, growth and yield in greenhouse grown hot pepper. *Scientia Horticulturae*, 119(1): 11-16.
- Sinesio, F., Cammareri, M., Moneta, E., Navez, B., Peparaiò, M., Causse, M., & Grandillo, S. 2010. Sensory quality of fresh French and Dutch market tomatoes: a preference mapping study with Italian consumers. *Journal of Food Science*, 75(1): S55-S67.
- Sirisomboon, P., Tanaka, M., Kojima, T., & Williams, P. 2012. Nondestructive estimation of maturity and textural properties on tomato 'Momotaro' by near infrared spectroscopy. *Journal of Food Engineering*, 112(3): 218-226.
- Skirycz, A., & Inze, D. 2010. More from less: plant growth under limited water. *Current Opinion in Biotechnology*, 21(2): 197-203.
- Smith, C. J. S., Watson, C. F., Morris, P. C., Bird, C. R., Seymour, G. B., Gray, J. E., Arnold, C., Tucker, G. A., Schuch, W., Harding, S., & Grierson, D. 1990. Inheritance and effect on ripening of antisense polygalacturonase genes in transgenic tomatoes. *Plant Molecular Biology*, 14(3): 369-379.
- Smith, D. L., & Gross, K. C. 2000. A family of at least seven beta-galactosidase genes is expressed during tomato fruit development. *Plant Physiology*, 123(3): 1173-1183.
- Soille, P. (Ed.). 2003. *Morphological Image Analysis: Principles and Applications*: Springer-Verlag, Berlin.
- Speirs, J., Lee, E., Holt, K., Kim, Y., Scott, N. S., Loveys, B., & Schuch, W. 1998. Genetic manipulation of alcohol dehydrogenase levels in ripening tomato fruit affects the balance of some flavor aldehydes and alcohols. *Plant Physiology*, 117(3): 1047-1058.
- Stevens, R., Buret, M., Garchery, C., Carretero, Y., & Causse, M. 2006. Technique for rapid, small-scale analysis of vitamin C levels in fruit and application to a tomato mutant collection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17): 6159-6165.
- Stevens, R., Page, D., Gouble, B., Garchery, C., Zamir, D., & Causse, M. 2008. Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. *Plant Cell and Environment*, 31(8): 1086-1096.
- Struik, P. C., Yin, X. Y., & de Visser, P. 2005. Complex quality traits: now time to model. *Trends in Plant Science*, 10(11): 513-516.
- Subedi, P. P., & Walsh, K. B. 2009. Non-invasive techniques for measurement of fresh fruit firmness. *Postharvest Biology and Technology*, 51(3): 297-304.
- Swaef, T. d., Steppe, K., & Lemeur, R. 2009. Determining reference values for stem water potential and maximum daily trunk shrinkage in young apple trees based on plant responses to water deficit. *Agricultural Water Management*, 96(4): 541-550.
- Szczesniak, A. S. 2002. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(4): 215-225.

T

- Taglienti, A., Massantini, R., Botondi, R., Mencarelli, F., & Valentini, M. 2009. Postharvest structural changes of Hayward kiwifruit by means of magnetic resonance imaging spectroscopy. *Food Chemistry*, 114(4): 1583-1589.
- Tanksley, S. D. 1993. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*, 27: 205-233.
- Tanksley, S. D., Grandillo, S., Fulton, T. M., Zamir, D., Eshed, Y., Petiard, V., Lopez, J., & Beck-Bunn, T. 1996. Advanced backcross QTL analysis in a cross between elite processing line of tomato and its wild relative *L. pimpinellifolium*. *Theoretical and Applied Genetics*, 92(2): 213-224.
- Tardieu, F., Granier, C., & Muller, B. 2011. Water deficit and growth. Co-ordinating processes without an orchestrator? *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3): 283-289.
- Thiellement, H., Zivy, M., & Plomion, C. 2002. Combining proteomic and genetic studies in plants. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 782(1-2): 137-149.
- Thioulouse, J., Chessel, D., Doledec, S., & Olivier, J. M. 1997. ADE-4: A multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, 7(1): 75-83.
- Thissen, U., Wopereis, S., Berg, S. A. A. v. d., Bobeldijk, I., Kleemann, R., Kooistra, T., Dijk, K. W. v., Ommen, B. v., & Smilde, A. K. 2009. Improving the analysis of designed studies by combining statistical modelling with study design information. *BMC bioinformatics*, 10(52): (7 February 2009)-(2007 February 2009).
- Thompson, A. J., Tor, M., Barry, C. S., Vrebalov, J., Orfila, C., Jarvis, M. C., Giovannoni, J. J., Grierson, D., & Seymour, G. B. 1999. Molecular and genetic characterization of a novel pleiotropic tomato-ripening mutant. *Plant Physiology*, 120(2): 383-389.
- Torabi, S., Wissuwa, M., Heidari, M., Naghavi, M. R., Gilany, K., Hajirezaei, M. R., Omid, M., Yazdi-Samadi, B., Ismail, A. M., & Salekdeh, G. H. 2009. A comparative proteome approach to decipher the mechanism of rice adaptation to phosphorous deficiency. *Proteomics*, 9(1): 159-170.
- Toubiana, D., Fernie, A. R., Nikoloski, Z., & Fait, A. 2013. Network analysis: tackling complex data to study plant metabolism. *Trends in Biotechnology*, 31(1): 29-36.
- Trouverie, J., Thevenot, C., Rocher, J. P., Sotta, B., & Prioul, J. L. 2003. The role of abscisic acid in the response of a specific vacuolar invertase to water stress in the adult maize leaf. *Journal of Experimental Botany*, 54(390): 2177-2186.
- Turoczy, Z., Kis, P., Torok, K., Cserhati, M., Lendvai, A., Dudits, D., & Horvath, G. V. 2011. Overproduction of a rice aldo-keto reductase increases oxidative and heat stress tolerance by malondialdehyde and methylglyoxal detoxification. *Plant Molecular Biology*, 75(4/5): 399-412.
- Tyree, M. T., & Hammel, H. T. 1972. The Measurement of the Turgor Pressure and the Water Relations of Plants by the Pressure-bomb Technique. *Journal of Experimental Botany*, 23(1): 267-282.

V

- Vaiyapuri, B., Divya, V., Jean, C., & Natarajan, S. 2012. Plant beta-1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters*, 34(11): 1983-1990.
- Valente, M., Ribeyre, F., Self, G., Berthiot, L., & Assemat, S. 2011. INSTRUMENTAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF MANGO FRUIT TEXTURE. *Journal of Food Quality*, 34(6): 413-424.
- Vallverdu, X., Girona, J., Echeverria, G., Marsal, J., Behboudian, M. H., & Lopez, G. 2012. Sensory quality and consumer acceptance of 'Tardibelle' peach are improved by deficit irrigation applied during stage II of fruit development. *Hortscience*, 47(5): 656-659.

- Vanitha, S. C., & Umesha, S. 2011. Pseudomonas fluorescens mediated systemic resistance in tomato is driven through an elevated synthesis of defense enzymes. *Biologia Plantarum*, 55(2): 317-322.
- Vaseva, I., Akiscan, Y., Demirevska, K., Anders, I., & Feller, U. 2011. Drought stress tolerance of red and white clover-comparative analysis of some chaperonins and dehydrins. *Scientia Horticulturae*, 130(3): 653-659.
- Vicente, A. R., Martinez, G. A., Civello, P. M., & Chaves, A. R. 2002. Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*, 25(1): 59-71.
- Vicente, A. R., Saladie, M., Rose, J. K. C., & Labavitch, J. M. 2007. The linkage between cell wall metabolism and fruit softening: looking to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(8): 1435-1448.
- Villers, F., Schaeffer, B., Bertin, C., & Huet, S. 2008. Assessing the validity domains of graphical Gaussian models in order to infer relationships among components of complex biological systems. *Statistical applications in genetics and molecular biology*, 7(1): 14-Article 14.
- Virlouvet, L., Jacquemot, M.-P., Gerentes, D., Corti, H., Bouton, S., Gilard, F., Valot, B., Trouverie, J., Tcherkez, G., Falque, M., Damerval, C., Rogowsky, P., Perez, P., Noctor, G., Zivy, M., & Coursol, S. 2011. The ZmASR1 Protein Influences Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis and Maintains Kernel Yield in Maize under Water-Limited Conditions. *Plant Physiology*, 157(2): 917-936.

W

- Wake, M. H. 2003. What is "integrative biology"? *Integrative and Comparative Biology*, 43(2): 239-241.
- Wake, M. H. 2008. Integrative biology: Science for the 21st century. *Bioscience*, 58(4): 349-353.
- Waldron, K. W., Parker, M. L., & Smith, A. C. 2003. Plant cell walls and food quality. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2: 101-119.
- Wang, A., Li, J., Zhang, B., Xu, X., & Bewley, J. D. 2009. Expression and location of endo-beta-mannanase during the ripening of tomato fruit, and the relationship between its activity and softening. *Journal of Plant Physiology*, 166(15): 1672-1684.
- Wang, B., Xie, C., Xin, M., Song, N., Ni, Z., & Sun, Q. 2012. Comparative proteomic analysis of wheat response to powdery mildew infection in wheat Pm30 near-isogenic lines. *Journal of Phytopathology*, 160(5): 229-236.
- White, A., de Silva, N., Requejo-Tapia, C., & Harker, F. R. 2005. Evaluation of softening characteristics of fruit from 14 species of Actinidia. *Postharvest Biology and Technology*, 35(2): 143-151.
- Wilkins, M. R., Pasquali, C., Appel, R. D., Ou, K., Golaz, O., Sanchez, J. C., Yan, J. X., Gooley, A. A., Hughes, G., HumpherySmith, I., Williams, K. L., & Hochstrasser, D. F. 1996. From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Bio-Technology*, 14(1): 61-65.
- Wille, A., & Buehlmann, P. 2006. Low-order conditional independence graphs for inferring genetic networks. *Statistical applications in genetics and molecular biology*, 5.
- Wu, B. H., Genard, M., Lobit, P., Longuenesse, J. J., Lescouret, F., Habib, R., & Li, S. H. 2007. Analysis of citrate accumulation during peach fruit development via a model approach. *Journal of Experimental Botany*, 58(10): 2583-2594.

X

- Xoconostle-Cazares, B., Ramirez-Ortega, F. A., Flores-Elenes, L., & Ruiz-Medrano, R. 2010. Drought tolerance in crop plants. *American Journal of Plant Physiology*, 5(5): 241-256.
- Xu, J., Pascual, L., Aurand, R., Bouchet, J.-P., Valot, B., Zivy, M., Causse, M., & Faurobert, M. 2013. An extensive proteome map of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit pericarp. *Proteomics*, 13(20): 3059-3063.

Y

- Yeats, T. H., Howe, K. J., Matas, A. J., Buda, G. J., Thannhauser, T. W., & Rose, J. K. C. 2010. Mining the surface proteome of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit for proteins associated with cuticle biogenesis. *Journal of Experimental Botany*, 61(13): 3759-3771.
- Yin, X. Y., Struik, P. C., & Kropff, M. J. 2004. Role of crop physiology in predicting gene-to-phenotype relationships. *Trends in Plant Science*, 9(9): 426-432.

Z

- Zdunek, A., Cybulska, J., Konopacka, D., & Rutkowski, K. 2011. Evaluation of apple texture with contact acoustic emission detector: A study on performance of calibration models. *Journal of Food Engineering*, 106(1): 80-87.
- Zheng, H., Rowland, O., & Kunst, L. 2005. Disruptions of the Arabidopsis enoyl-CoA reductase gene reveal an essential role for very-long-chain fatty acid synthesis in cell expansion during plant morphogenesis. *Plant Cell*, 17(5): 1467-1481.
- Zivy, M., & de Vienne, D. 2000. Proteomics: a link between genomics, genetics and physiology. *Plant Molecular Biology*, 44(5): 575-580.
- Zushi, K., & Matsuzoe, N. 2011. Utilization of correlation network analysis to identify differences in sensory attributes and organoleptic compositions of tomato cultivars grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 129(1): 18-26.

ABSTRACT

Tomato fruit texture is one of the most critical quality traits for both the consumer and the production chain. In this work, texture was analyzed via an integrative approach combining ecophysiology and proteomics. The aims were 1) To improve knowledge of the texture of fleshy fruit, 2) To evaluate the effects of genotype x water deficit interactions, 3) To identify by a holistic approach without a priori key variables underlying texture and 4) To propose an integrative approach to build a network of multi-scale controls which could be integrated into a predictive model. Fruits from six texture contrasted genotypes (3 parents and 3 QTL-NILs), greenhouse grown under two water conditions (control and decreased water supply by 40%), were analyzed for firmness at cell expansion, at red ripe stage and after 7-days post-harvest storage at 20°C, by instrumental (compression, penetrometer) and sensory methods. Several anatomical, histological and biochemical traits were analyzed as well as changes in fruit proteome (two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry). Statistical analysis implemented two innovative methods: 1) multiple co-inertia analysis, multi-table analysis based on a criterion of covariance, which allows the simultaneous processing of large datasets, 2) inference network, based on the research of conditional dependencies among variables. Results showed a tomato production is possible by reducing the water supply and accepting a lower yield (20%), due to reduced fruit size by limiting cell enlargement. Fruit quality was improved by increasing solids content, vitamin C, sugars and increased firmness for some QTL-NILs. Water deficit was associated with the variation of 128 protein spots in interaction with genotype and stage factors. The effects of water deficit were mainly detected at the red ripe stage and remained low compared to genetic effects. The analysis of data from different levels in multiple co-inertia, showed a common structure at different scales, which suggests a good overall control of the measured variables. Correlation analysis and graphical inference networks helped selecting key-variables involved in the genetic determinism of fruit texture, to draw a multi-scale control scheme variable. Finally, these results were used to propose several statistical models to predict the firmness of fleshy fruits, based on proteomic, biochemical and / or histological data, which can be coupled to the virtual fruit model, to predict environmental effects on fruit texture.

KEYWORDS: *Lycopersicon esculentum*, fruit, quality, texture, firmness, water deficit, proteomic, integration, anatomical, histological, partial correlation, multiple co-inertia analysis.

RESUME

La texture du fruit, caractère complexe de qualité, est un critère majeur pour le consommateur mais aussi pour la filière. Au cours de cette thèse, la texture a été analysée par une approche globale et intégrative combinant des approches écophysiological et protéomique. Les objectifs étaient : 1) d'améliorer la compréhension de la texture des fruits charnus, 2) d'évaluer les effets des interactions génotype x apports en eau sur cette variable, 3) d'identifier par une approche globale sans à priori les variables clés sous-jacentes à la texture et 4) de proposer une approche intégrative permettant de construire un réseau de régulation multi-échelles pouvant être intégré dans un modèle prédictif. Les fruits de six génotypes contrastés pour la texture (3 parents et 3 QTL-NILs), cultivés en serre sous deux conditions hydriques (témoin et réduction des apports d'eau (-40%)), ont été phénotypés pour la fermeté au stade expansion cellulaire, fruit rouge et une semaine à 20°C après récolte, par des méthodes instrumentales (compression, pénétrométrie) et sensorielles. Divers caractères anatomiques, histologiques et biochimiques ont été analysés en parallèle ainsi que les variations du protéome du fruit (électrophorèse bidimensionnelle et spectrométrie de masse). L'analyse statistique a mis en œuvre deux méthodes : 1) l'Analyse de Co-inertie Multiple, analyse multi-tableaux basée sur un critère de covariance, qui permet le traitement simultané d'un très grand nombre de données ; 2) l'inférence de réseau, basée sur la recherche de dépendances conditionnelles entre variables. Les résultats montrent qu'une réduction des apports d'eau est possible moyennant une baisse de rendement de 20% pour une production de tomate hors sol, baisse essentiellement liée à la réduction de la taille des fruits due à un moindre grandissement cellulaire. En revanche, la qualité des fruits est améliorée par une augmentation des taux de matières sèches, de vitamine C, de sucres ainsi qu'une augmentation de la fermeté pour certaines lignées QTL-NILs. Le déficit hydrique a induit la variation de 128 spots protéiques en interaction avec le génotype et le stade de développement. Le déficit hydrique affecte essentiellement le stade fruit rouge et les effets sont faibles par rapport aux effets génétiques. L'analyse des données des différents niveaux d'échelles en co-inertie multiple, a montré l'existence d'une structure commune aux différentes échelles qui suggère bien une régulation globale de l'ensemble des variables observées en réponse au génotype et au déficit hydrique. L'analyse des corrélations et l'inférence graphique de réseaux ont permis de mieux structurer l'ensemble des informations et de sélectionner les variables fortement impliquées dans le déterminisme génétique de la texture du fruit afin de construire un schéma multi-échelles de régulation. Enfin ces résultats ont permis de proposer plusieurs modèles statistiques prédictifs de la fermeté des fruits charnus, basés sur des variables protéomiques, biochimiques et/ou histologiques, qui pourront être couplés au modèle fruit virtuel, permettant de prédire les effets de l'environnement sur l'évolution de la texture des fruits.

MOTS CLES : *Lycopersicon esculentum*, Fruit, Qualité, Texture, Fermeté, Déficit hydrique, Protéome, Intégration, Anatomie, Histologie, corrélation partielle, co-inertie multiple