



**HAL**  
open science

# Impact des interactions génotype-pratique sur la teneur et la séquestration des caroténoïdes dans les matrices végétales et sur les effets santé associés : Cas d'étude sur deux espèces de Solanacées : la tomate (*Solanum lycopersicum*) et la baie de goji (*Lycium barbarum*)

Thomas Breniere

## ► To cite this version:

Thomas Breniere. Impact des interactions génotype-pratique sur la teneur et la séquestration des caroténoïdes dans les matrices végétales et sur les effets santé associés : Cas d'étude sur deux espèces de Solanacées : la tomate (*Solanum lycopersicum*) et la baie de goji (*Lycium barbarum*). Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2024. Français. NNT : 2024AVIG0621 . tel-04573095

**HAL Id: tel-04573095**

**<https://theses.hal.science/tel-04573095v1>**

Submitted on 13 May 2024

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

**THÈSE DE DOCTORAT D'AVIGNON UNIVERSITÉ**

École Doctorale N°536 **Agrosciences et Sciences**  
Spécialité **Sciences Agronomiques**

Laboratoires

---

<b>Unité Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH) INRAE-UR-1115</b>	<b>Centre de recherche en Cardiovasculaire et Nutrition (C2VN) Aix-Marseille Université - INSERM 1263 - INRAE UMR 1260</b>	<b>Laboratoire de Physiologie Expérimentale Cardiovasculaire (LaPEC) UPR-4278, Avignon Université</b>
--	--	---

Présentée par  
**Thomas BRENIERE**

---

**Impact des interactions génotype-pratique sur la teneur et la  
séquestration des caroténoïdes dans les matrices végétales et  
sur les effets-santé associés - Cas d'étude sur deux Solanacées, la  
tomate (*Solanum lycopersicum*) et la baie de goji (*Lycium barbarum*).**

---

Soutenue publiquement le **02 Février 2024** devant le jury composé de :

<b>Yves Desjardins</b>	Professeur, Université de Laval, Québec, CA	<b>Rapporteur</b>
<b>Christine Morand</b>	Directrice de recherche, INRAE, Clermont Ferrand	<b>Rapporteuse</b>
<b>Emmanuel Geoffriau</b>	Professeur, Institut Agro, Angers	<b>Examineur</b>
<b>Philippe Obert</b>	Professeur, Avignon Université	<b>Examineur</b>
<b>Nadia Bertin</b>	Directrice de recherche, INRAE, Avignon	<b>Directrice de thèse</b>
<b>Jean-François Landrier</b>	Directeur de recherche, AMU, INSERM, INRAE, Marseille	<b>Co-directeur de thèse</b>
<b>Catherine Riva</b>	Maître de conférences HDR, Avignon Université	<b>Co-directrice de thèse</b>
<b>Anne-Laure Fanciullino</b>	Chargée de recherche, INRAE, Angers	<b>Co-encadrante de thèse</b>



Ce travail est sous licence CC BY-NC 4.0  
Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0  
International

“When we try to pick out anything by itself, we find  
it hitched to everything else in the Universe”

John Muir, *My First Summer In The Sierra*, 1911

# Remerciements

*Je remercie chaleureusement mes directeurs, co-directeurs et encadrants Nadia BERTIN, Jean-François LANDRIER, Anne-Laure FANCIULLINO et Catherine RIVA de m'avoir fait confiance pour travailler sur ce projet de thèse si original et motivant. Je vous remercie pour votre bienveillance, votre présence et vos remarques toujours constructives et pertinentes.*

*Je remercie Yves DESJARDINS et Christine MORAND d'avoir accepté d'être rapporteurs et par conséquent de consacrer beaucoup de leur temps à évaluer ce travail. Merci également à Emmanuel GEOFFRIAU et Philippe OBERT de vous rendre disponibles pour participer à l'évaluation de ces travaux en tant qu'examineurs.*

*Je remercie Mathieu LECHAUDEL, Agnès VINET-JULLIAN, Claudie DHUIQUE-MAYER, Michel GENARD et Hélène GAUTIER d'avoir participé à mes comités de thèse.*

*Je remercie également grandement Doriane DUMONT BANCEL, Sylvie SERINO, Patricia LAUGIER, Julien ASTIER, Charlotte HALIMI, Flavie SICARD, Thierry CHEYROL, Christine BOTHUAN et Sandrine GAYRARD pour tout le travail analytique et l'aide technique que vous avez pu apporter à ce projet. Il n'y aurait (presque) pas de données sans vous !*

*Je remercie aussi Patrick BOREL et Lisa MORAND LAFFARGUE pour m'avoir supervisé et aidé concernant les travaux en lien avec la bioaccessibilité des caroténoïdes. Merci aussi de m'avoir initié au potentiel des insectes comme aliment du futur.*

*Je remercie tout particulièrement Gregory « Greg » MEYER pour ta pertinence scientifique, ton implication sans faille qui ont été d'une grande aide pour la réalisation de ce projet.*

*Je n'oublie pas de remercier Alexandre VILLANOBA, Tom LINARES, Corentin DELPIROU, Mathieu CHANTELOUP, Nikyta VEN DEN ABBEEL, Ramzi CHERIF BENMOUSSA. Vous avez participé à ces travaux avec beaucoup d'intérêt lors de votre stage et votre présence a été d'une aide très précieuse. Je vous souhaite une très belle continuation dans vos projets personnels et professionnels !*

*Je tiens à remercier Valérie SERRA, Leila ASLANI, Béatrice BRUNEL, Guillaume GARCIA, Quentin BARRA, Didier ANATO, Eléonore COURTEAU pour votre présence et votre accompagnement précieux pour la mise en place des expérimentations et toutes les mesures effectuées en serre.*

*Merci à toi Isabelle BORNARD de m'avoir ouvert les portes de la petite salle obscure qui héberge le microscope confocal. Merci de m'avoir largement accompagné dans la mise au point de la prise d'images. Je te souhaite de beaux futurs projets autour des mitochondries avec Cyril, mais je te souhaite aussi de « capturer » d'autres merveilles du vivant...*

*Je tiens à remercier Valentina BALDAZZI et Caroline DJIAN-CAPORALINO pour avoir rendu ma première expérience de recherche si épanouissante et sans quoi je ne me serais jamais lancé dans l'aventure de la thèse.*

*Mes pensées et remerciements vont également à mes camarades spécial « bonne humeur » : Lucas, Perrine, Mathilda, Noé, Louise, Sophie, Alejandro, Léa, Lisa, Batoul, Lorraine, Angela, Thomas, Léa, Imene, Nicole, Léna, Yann, Florian, Louna, Gaëtan, Pauline, Quentin, Katherine, Julie, Matthieu, Mathilde, Doria, Maxime, Yan, et tous ceux que j'aurai pu oublier de citer...*

*Remerciements spéciaux à Ludivine pour avoir exploré ensemble les crêtes et les sommets qui nous entourent (Je ne citerai que le sommet du Mont Ventoux et le panorama magnifique du Mourre Nègre). Merci aussi de m'avoir mené jusqu'au four solaire d'Odeillo (1 MW).*

*Mes pensées et remerciements vont également à ma famille que je ne remercierai jamais assez. Merci pour votre présence !*



# Financements et collaborations



Cette thèse a été majoritairement financée par une bourse de la SFR Tersys d'Avignon Université, obtenue en 2020. Cette thèse bénéficie aussi du soutien financier de l'ANR pour le projet TomHealth et d'INRAE pour le projet Gojiquial qui s'inscrit dans le métaprogramme SYALSA « Systèmes alimentaires et santé humaine ».



Les travaux de cette thèse ont été réalisés en étroite collaboration entre les laboratoires LaPEC (Laboratoire de Physiologie Expérimentale Cardiovasculaire), le C2VN (Centre de recherche en Cardiovasculaire et Nutrition) et INRAE PSH (Plantes et Systèmes de culture Horticoles).



Le système d'imagerie confocale (Leica SP8) de la plateforme 3A a été financé par le Fonds de Développement Régional Européen, le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur, le Conseil Départemental du Vaucluse et la communauté d'agglomération du grand Avignon.

# Sommaire

Publications et communications .....	7
Abréviations .....	9
Liste des figures.....	10
Liste des tableaux .....	12
Introduction .....	13
Introduction générale .....	14
Revue de la littérature.....	18
La pandémie d'obésité .....	18
Les caroténoïdes : des phytomicroconstituants utiles à la santé animale.....	25
Les caroténoïdes : des matrices végétales à la circulation sanguine.....	32
Des matrices riches en caroténoïdes : cas de la tomate et de la baie de goji .....	44
Objectifs de la thèse .....	52
Schéma expérimental .....	54
Matériel et méthodes .....	55
Chapitre 1 - Impact du déficit hydrique sur la chronologie et la compartimentation de l'accumulation de la chlorophylle et des caroténoïdes dans le fruit de tomate .....	59
Introduction .....	60
Section 1 - Carotenoid content in mature tomatoes under water deficit: exploring the role of pre-maturity processes through chlorophyll kinetics across multiple irrigation treatments....	62
Section 2 - Localisation de la chlorophylle du fruit en développement et effet de la matrice cellulaire sur l'accumulation des CAR .....	75
Section 3 - Compartimentation des CAR de deux génotypes de tomate (H1311, Terradou) dans un contexte de déficit hydrique .....	86
Bilan graphique du chapitre 1.....	95
Chapitre 2 - Effets du déficit hydrique et/ou des traitements post-récolte sur la valeur santé et la bioaccessibilité in vitro des caroténoïdes de la tomate et la baie de goji.....	97
Introduction .....	98
Section 1 - Effect of long-term deficit irrigation on tomato and goji berry quality: from fruit composition to in vitro bioaccessibility of carotenoids .....	99
Section 2 - Données supplémentaires sur la composition et apport des traitements post-récolte sur bioaccessibilité et la micellisation des caroténoïdes .....	124

<b>Chapitre 3 - Supplémentation en poudre de tomate ou de goji dans un contexte d'obésité induite sur un modèle pré-clinique: influence du déficit hydrique, du génotype ou du traitement post-récolte sur la santé métabolique des animaux.....</b>	<b>133</b>
Introduction .....	134
Section 1 - Tomato genotype but not crop water deficit matters for tomato health benefits in diet-induced obesity of C57BL/6JRj male mice.....	136
Section 2 - Effets d'une supplémentation en baie de goji issues de lots contrastés (traitement post-récolte, déficit hydrique) dans un modèle d'obésité induite chez la souris mâle C57BL/6JRj.....	157
<b>Chapitre 4 - Modulation de la fonction vasculaire par supplémentation aiguë en tomate ou goji chez le rat hyperglycémique .....</b>	<b>166</b>
<b>Chapitre 5 - Discussion générale et perspectives de recherche .....</b>	<b>185</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>193</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>224</b>
Annexes de l'Introduction .....	225
Annexes du Chapitre 1 .....	226
Annexes du Chapitre 2 .....	229
Annexes du Chapitre 3 .....	232
Annexes du Chapitre 4 .....	233
<b>Résumé / Abstract.....</b>	<b>234</b>

# Publications et communications

## Communications issues de la thèse

### Actes de congrès internationaux

- Breniere T., Fanciullino A.-L., Brunel B., Laugier P., Landrier J.-F., Riva C., and Bertin N. (2022). **Carotenoid content in mature tomato fruit under soil water deficit: accounting the role of pre-maturing processes through chlorophyll kinetics and cell microscopy.** Acta Hort. 1353, 1-8  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1353.1>

### Congrès

- Breniere T., Fanciullino A.-L., Dumont D., Le Bourvellec C., Riva C., Borel P., Landrier J.-F., Bertin N. (2023). **La sécheresse du sol peut augmenter les teneurs en caroténoïdes des tomates mais diminue globalement leur bioaccessibilité *in vitro*.** Journées Francophones de Nutrition (Marseille).
- Breniere T., Bournot L., Sicard F., Laugier P., Brunel B., Fanciullino A.-L., Riva C., Bertin N., Landrier J.-F. (2023), **Toutes les tomates ne se valent pas ! Cas d'étude dans un contexte d'obésité induite chez la souris supplémentée en poudre de tomate.** Journées Francophones de Nutrition (Marseille).
- Breniere T., Fanciullino A.-L., Dumont D., Riva C., Borel P., Le Bourvellec C., Cherbuy C., Bruneau A., Landrier J.-F. (2023), **De l'impact des pratiques agricoles et des modalités de séchage sur la matrice végétale à la santé du microbiote intestinal et de l'animal - cas d'étude : la baie de goji.** Tersys-Implanteus Summer School 2 (Avignon).
- Breniere T., Bournot L., Sicard F., Laugier P., Brunel B., Fanciullino A.-L., Riva C., Bertin N., Landrier J.-F. (2022). **Supplémentation en poudre de tomate sur un modèle d'obésité induite chez la souris : impact de la sécheresse et du choix de génotype sur la santé des animaux.** Journées Francophones de Nutrition (Toulouse).
- Breniere, T. (2021). **Impact of genotype x practice interactions on carotenoid content and sequestration in plant matrices and on the associated health effects.** Tersys-Implanteus Summer School 1 (Avignon)

### Publications dans des revues à comité de lecture

- Breniere T., Fanciullino A.-L., Dumont D., Le Bourvellec C., Riva C., Borel P., Landrier J.-F., Bertin N. (2024). **Effect of long-term deficit irrigation on tomato and**

**goji berry quality: from composition of fruit to in vitro bioaccessibility of carotenoids.** *Frontiers in Plant Science* 15: 1339536.

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2024.1339536/abstract>

- Breniere T., Bournot L., Sicard F., Astier J., Fanciullino A.-L., Riva C., Borel P., Bertin N., Landrier J.-F. (2023). **Tomato genotype but not water deficit matters for tomato health benefits in diet-induced obesity in mice.** Manuscrit soumis pour publication.
- Aslani L., Breniere T., Fanciullino A. L., & Bertin N. (2023). **Evidence of the very early effects of water deficit on cell division and expansion processes in tomato ovaries.** *Environmental and Experimental Botany*, 207, 105227.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105227>

## Autres communications

### Congrès internationaux

- Fanciullino A.-L., Sinkora M., Breniere T., Conéjéro G., Page D. and Bertin N. (2022). **Improving crop sustainability and fresh and processed fruit quality through integrated analyses along the food chain.** *Acta Hort.* 1353, 163-174.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1353.21>
- Hamieh B., Raouch S., Bruzzese L., Adjriou N., Halimi C., Marconot G., Gillet G., Breniere T., Rostain J.-C., Guieu R., Borel P., Desmarchelier C. (2022). **Effect of post-harvest atmospheric pressure and composition on the concentration and bioaccessibility of  $\alpha$ - and  $\beta$ -carotene in carrots and sweet potatoes.** *Congrès International Scientifique 19-20 mai 2022 “Vitamines, Oligoéléments et Xénobiotiques Métalliques en Santé Humaine”* (Marrakech, Maroc)

### Publications dans des revues à comité de lecture

- Landrier, J.-F., Breniere, T., Sani, L., Desmarchelier, C., Mounien, L., & Borel, P. (2023). **Effect of tomato, tomato-derived products and lycopene on metabolic inflammation: from epidemiological data to molecular mechanisms.** *Nutrition Research Reviews*, p. 1-43.  
<https://doi.org/10.1017/S095442242300029X>
- Bournot L., Payet T., Marcotorchino J., Awada M., Rouquet T., Breniere T., Couturier C., Astier J., Halimi C., Reboul E., Sicard F., Mounien L., Roux J., Bariohay B., Landrier J.-F. (2023). **Vitamin D metabolism is altered during aging alone or combined with obesity in male mice.** Manuscrit soumis pour publication.
- Bournot L., Payet T., Sicard F., Breniere T., Astier J., Bariohay B., Landrier J.-F. (2023). **Aging alone or combined with obesity increases white adipose tissue inflammatory status in male mice.** Manuscrit soumis pour publication.

# Abréviations

<b>ACC</b>	Acetyl-CoA Carboxylase
<b>ACO</b>	Acyl-CoA oxidase
<b>CAR</b>	Caroténoïdes
<b>CD</b>	Control diet (EN) ; Régime alimentaire témoin (FR)
<b>CFDY</b>	Commercial fruit dry yield (EN) ; Rendement commercial sec (FR)
<b>CFFY</b>	Commercial fruit fresh yield (EN) ; Rendement commercial frais (FR)
<b>CI</b>	Control irrigation (EN) ; Irrigation témoin, irrigation non limitante (FR)
<b>CPT1</b>	Carnitine palmitoyltransferase 1
<b>DI</b>	Deficit irrigation (EN) ; Irrigation déficitaire ou déficit hydrique (FR)
<b>DW (EN) / MS (FR)</b>	Dry weight (EN), matière sèche (FR)
<b>FABP5</b>	Fatty Acid Binding Protein 5
<b>FAS</b>	Fatty Acid Synthase
<b>FW (EN) / MF (FR)</b>	Fresh weight (EN), Matière fraîche (FR)
<b>HFD</b>	High fat diet (EN) ; Régime alimentaire à haute teneur en lipides (FR)
<b>IL-6</b>	Interleukin-6
<b>MCPI</b>	Monocyte Chemoattractant Protein-1
<b>ROS (EN) / ERO (FR)</b>	Reactive oxygen species (EN) ; Espèces réactives de l'oxygène (FR)
<b>SAA3</b>	Serum Amyloid A3
<b>SNP</b>	Single Nucleotide Polymorphism
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tumor Necrosis Factor Alpha
<b>WUE</b>	Water use efficiency (EN) ; Efficience d'utilisation de l'eau (FR)

# Liste des figures

FIGURE 1 – PREVISIONS 2023 DU GIEC DE CHANGEMENT GLOBAL DE TEMPERATURE DE SURFACE (°C) SELON 5 SCENARIOS D’EMISSIONS DE GAZ A EFFET DE SERRE (A), JOUR LE PLUS CHAUD DANS L’ANNEE (°C) (B <sub>1</sub> ) ET CHANGEMENT DE POTENTIEL HYDRIQUE ANNUEL MOYEN DE LA COLONNE DE SOL (ECART-TYPE DE LA VARIABILITE INTERANNUELLE D’HUMIDITE DE LA COLONNE DE SOL PENDANT LA PERIODE 1850-1900) (B <sub>2</sub> ) POUR DEUX SCENARIOS LES PLUS OPTIMISTES (+1,5°C OU +2°C).....	15
FIGURE 2 – PREVALENCE DE L’OBESITE, OBEPI-ROCHE 2020. ....	19
FIGURE 3 - MISE EN PLACE DES DESORDRES METABOLIQUES ASSOCIES A L’OBESITE ; DIALOGUE TISSU ADIPEUX ET FOIE. ....	21
FIGURE 4 - VOIE DE BIOSYNTHESE DES CAROTENOÏDES. ....	27
FIGURE 5 - EFFET DES CAROTENOÏDES SUR LES PARAMETRES BIOLOGIQUES DU TISSU ADIPEUX, SUR LE CERVEAU ET LES INTERACTIONS ENTRE LES DEUX ORGANES.....	29
FIGURE 6 - MECANISMES D’ACTION DES CAROTENOÏDES DANS LES CONTEXTES DE MALADIES CHRONIQUES.....	31
FIGURE 7 - PRINCIPALES ETAPES DU DEVELOPPEMENT DU FRUIT DE LA TOMATE ( <i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i> ).....	33
FIGURE 8 - TYPES DE PLASTES ET STRUCTURES POUR LA SEQUESTRATION DES CAROTENOÏDES.....	35
FIGURE 9 - DE L’ALIMENT A L’ABSORPTION DES CAROTENOÏDES, LE CONCEPT DE BIOACCESSIBILITE. ....	42
FIGURE 10 - DISTINCTION ENTRE LA TOMATE DE BOUCHE GENERALEMENT CULTIVEE EN SERRE ET LA TOMATE D’INDUSTRIE CULTIVEE EN PLEIN CHAMP. ....	44
FIGURE 11 - PRODUCTION ET CONSOMMATION DE TOMATE PAR HABITANT EN UNION EUROPEENNE (2010-2031).....	46
FIGURE 12 - COMPOSITION GENERALE DU FRUIT DE TOMATE ( <i>SOLANUM L.</i> ) PAR GRAMME DE MATIERE SECHE.....	46
FIGURE 13 – ASPECT DES FLEURS, FRUITS ET D’UNE CULTURE EN PLEIN CHAMP. ....	48
FIGURE 14 - COMPOSITION GENERALE DU FRUIT DE GOJI ( <i>LYCIUM B.</i> ) ET LA REPARTITION EN COMPOSITION DE LA FRACTION SECHE. ....	50
FIGURE 15 - SCHEMA EXPERIMENTAL ET ORGANISATION DU MANUSCRIT. ....	54
FIGURE 16 - PAROIS ET PIGMENT ASSOCIES AUX PLASTES EN MICROSCOPIE CONFOCALE.....	78
FIGURE 17 - CORRELATION ENTRE LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE ET L’INTENSITE DE FLUORESCENCE PAR UNITE DE VOLUME D’ECHANTILLON. ....	80
FIGURE 18 - CINETIQUE DE LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE PAR GRAMME DE MATIERE SECHE DU PERICARPE DES FRUITS DANS LES 40 PREMIERS JOURS APRES ANTHESE.....	81
FIGURE 19 - CORRELATION ENTRE LA TENEUR EN CHLOROPHYLLE ET LA TENEUR EN CAR TOTAUX DU PERICARPE DES FRUITS. ....	82
FIGURE 20 - CORRELATIONS ENTRE (A) NOMBRE ET TAILLE DES CELLULES DU PERICARPE, (B) MASSE FRAICHE DU FRUIT ET NOMBRE DE CELLULES DU PERICARPE, (C) MASSE FRAICHE DU FRUIT ET TAILLE DES CELLULES DU PERICARPE, (D) LIEN ENTRE LES 3 VARIABLES.....	83
FIGURE 21 - CORRELATION ENTRE (A), EFFET RELATIF DU DEFICIT HYDRIQUE SUR LA TENEUR EN MATIERE SECHE (% DM) DES FRUITS ET LA TENEUR TOTALE EN CAR ENTRE LES FRUITS TEMOINS ET LES FRUITS STRESSES, (B) EFFET DU DEFICIT HYDRIQUE SUR LA BIOMASSE TOTALE DU FRUIT (G MS) ET LA QUANTITE TOTALE DE CAR ACCUMULEE DU FRUIT (G CAR FRUIT <sup>-1</sup> ) ENTRE LES FRUITS TEMOINS ET LES FRUITS STRESSES.....	84
FIGURE 22 - PLAN D’EXPERIMENTATION DE LA SECTION 3.....	87
FIGURE 23 - MASSE DE LYCOPENE (A), PHYTOENE (B), PHYTOFLUENE (C), B-CAROTENE (D) ET DE LA LUTEINE (E) ACCUMULEE DANS LES FRUIT DES GENOTYPES H1311 ET TERRADOU SOUMIS A UNE IRRIGATION CONTROLE (CI) OU DEFICITAIRE (DI).....	91
FIGURE 24 - POUR DES FRUITS TOURNANTS OU MATURES: RAPPORT SURFACE DU FRUIT (CM <sup>2</sup> ) / VOLUME DU FRUIT (CM <sup>3</sup> ) .....	92

FIGURE 25 – SCHEMA: EFFETS STRUCTURAUX PRÉCOCES POSSIBLES CAUSES PAR LE DEFICIT HYDRIQUE SUR L'ACCUMULATION DES CAROTÉNOÏDES.....	95
FIGURE 26 - RÉSUMÉ GRAPHIQUE. CHAPITRE 2, SECTION 1.....	98
FIGURE 27 – LES 3 TRAITEMENTS POST-RECOLTE GOJI RETENUS. FRUITS FRAIS, FRUITS SECHES (4.5J A 45°C), FRUITS PRETRAITES A LA VAPEUR (1MIN30S) PUIS SECHES (4.5J A 45°C).....	124
FIGURE 28 - ANALYSE DISCRIMINANTE PLS DE LA COMPOSITION DES BAIES DE GOJI FPW07 (G MS <sup>-1</sup> ) PRODUITES EN SERRE POUR LES TRAITEMENTS POST-RECOLTE SELECTIONNES (F = FRUIT FRAIS LYOPHILISE, S = FRUIT SECHE, V = FRUIT PRETRAITE A LA VAPEUR PUIS SECHE) ET LES REGIMES D'IRRIGATION APPLIQUES (CI = IRRIGATION CONTROLE, DI = IRRIGATION DEFICITAIRE).....	128
FIGURE 29 - QUANTITE DE CAROTENOÏDES INCORPOREE DANS LES MICELLES MIXTES PRODUITES LORS DE LA DIGESTION IN VITRO SELON LE TRAITEMENT POST-RECOLTE (F = FRAIS, S = SECHE, V = VAPEUR PUIS SECHE) ET LE REGIME D'IRRIGATION (■ = IRRIGATION CONTROLE, ■ = IRRIGATION DEFICITAIRE).....	131
FIGURE 30 - SCHEMA EXPERIMENTAL DU CHAPITRE 3.....	135
FIGURE 31 – PARAMETRES MORPHOMETRIQUES DES ANIMAUX ET PRISE ALIMENTAIRE.....	159
FIGURE 32 - IMPACT DE LA SUPPLEMENTATION EN POUVRE DE GOJI ISSU DU GENOTYPE FPW07 SUR L'HOMEOSTASIE GLUCIDIQUE.....	161
FIGURE 33 - CAPACITE ANTIOXYDANTE EVALUEE PAR H-ORAC EXPRIMEE EN EQUIVALENT TROLOX PAR GRAMME DE FRUIT FRAIS CRYOBROYE.....	169
FIGURE 34 – SCHEMA DU DEROULE EXPERIMENTAL. 1) RATS WISTAR SAIN CONTROLE NORMOGLYCEMIES (CTRL) OU TRAITES A LA STREPTOZOTOCINE (STZ). 2) GAVAGE (15 ML KG <sup>-1</sup> ) EN NaCl (0.9%) OU TOMATE OU GOJI. 3) ANESTHESIE ET CHIRURGIE POUR METTRE EN EVIDENCE LA ZONE DE L'ARTERE FEMORALE SUR CHAQUE PATTE. 4) SUIVI DE LA PERFUSION PAR LASER SPECKEL IMAGING (LSI). SUIVI DE LA PERFUSION APRES UNE DOSE DE PHENYLEPHRINE (PE) A 10 <sup>-5</sup> M PUIS DES DOSES CROISSANTES D'ACETYLCHOLINE (ACH, DE 10 <sup>-6</sup> A 10 <sup>-2</sup> M) EN MOYENNANT DEUX MESURES DE PERFUSION PAR PATTE.....	171
FIGURE 35 – ALLURE DE LA PERFUSION VASCULAIRE AU NIVEAU DU TERRITOIRE FEMORAL PAR LASER SPECKLE IMAGING SUR LES 2 PATTES EN PARALLELE AUX DIFFERENTES PHASES DE STABILISATION, CONTRACTION (PE, 10 <sup>-5</sup> M) ET RELAXATION (ACH, 10 <sup>-6</sup> M -10 <sup>-2</sup> M).....	172
FIGURE 36 – IMPACT DE LA STREPTOZOTOCINE (40 MG KG <sup>-1</sup> INTRAPERITONEAL, 4 JOURS AVANT L'EVALUATION) ET DE LA SUPPLEMENTATION (15ML KG <sup>-1</sup> ) EN TOMATE OU EN GOJI SUR LA MASSE CORPORELLE (A), LA GLYCEMIE (B) DES ANIMAUX LORS DE L'EVALUATION DE LA SENSIBILITE A L'ACETYLCHOLINE.....	174
FIGURE 37 - BENEFICES DE LA SUPPLEMENTATION EN TOMATE OU GOJI SUR LA PERFUSION OU LA REACTIVITE VASCULAIRE DANS DES CONDITIONS D'HYPERGLYCEMIE.....	176
FIGURE 38 – EVALUATION DE LA REPETABILITE DE LA MESURE DE LA PERFUSION ENTRE LA PATTE 2 (LEG 2) ET LA PATTE 1 (LEG 1) DE L'ANIMAL LORS DE L'EXPERIMENTATION.....	177
FIGURE 39 - SYNTHESE DES EFFETS-SANTE OBSERVES SUR LES SOURIS SUPPLEMENTEES EN HFD + POUVRE DE TOMATE ISSUES DES GENOTYPES M82, H1311, IL6-2, IL12-4 PROVENANT DES FRUITS PRODUITS SOUS IRRIGATION CONTROLE (CI) OU DEFICITAIRE (DI). .....	186
FIGURE 40 – SYNTHESE DE L'EFFET DU DEFICIT HYDRIQUE, APPLIQUE DE L'ANTHESE A LA RECOLTE, SUR LES VARIATIONS RELATIVES DES PARAMETRES DE QUALITE ENTRE LES FRUITS ISSUS DU DEFICIT HYDRIQUE ET CEUX ISSUS DE L'IRRIGATION CONTROLE CHEZ LES FRUITS DE TOMATE (GENOTYPES H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) ET DE GOJI (GENOTYPE FPW07).....	192



# Liste des tableaux

TABLEAU 1 - SYNDROME METABOLIQUE. DEFINITION DE LA FEDERATION INTERNATIONALE DU DIABETE, 2006.....	20
TABLEAU 2 - FACTEURS PRINCIPAUX A CONSIDERER DANS L'EVALUATION DE LA TENEUR EN CAR DES FRUITS DE TOMATE, DE FAÇON GENERALE OU DANS UN CONTEXTE DE DEFICIT HYDRIQUE, D'APRES LES DONNEES DE LA LITTERATURE.....	38
TABLEAU 3 - PRINCIPAUX FACTEURS IMPACTANT LA LIBERATION, BIOACCESSIBILITE, BIODISPONIBILITE ET BIOCONVERSION DES PHYTOMICROCONSTITUANTS. CAS D'ETUDE SUR LES CAROTENOÏDES. ....	43
TABLEAU 4 - CINQ SITUATIONS PEUVENT AMENER A L'AUGMENTATION DES TENEURS EN CAROTENOÏDES DU FRUIT... ..	86
TABLEAU 5 - BIOMASSE SECHE, CAR TOTAUX ET TENEURS PUIS DISTRIBUTION DES CAR DU FRUIT DANS LES TISSUS ET EFFET DU DEFICIT HYDRIQUE.. ..	89

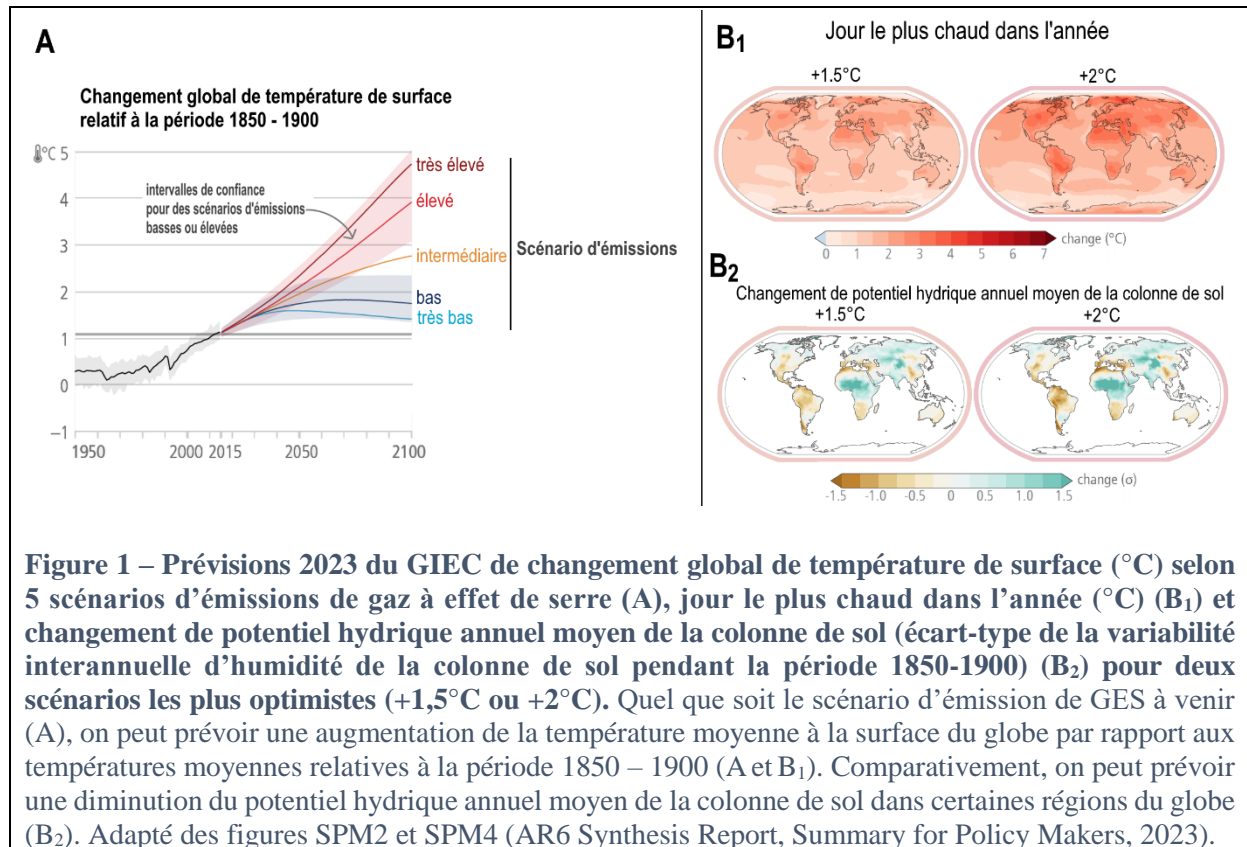
# Introduction

# Introduction générale

On estime que les activités humaines sont responsables du phénomène de réchauffement planétaire compris entre 0,8°C et 1,2°C par rapport à la température moyenne de la période préindustrielle (IPCC, 2018). D'après le dernier rapport (*AR6 Synthesis Report, 2023*) du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), le réchauffement global de la planète atteindra très probablement entre +1,5°C et +2,5°C d'ici à 2050 selon les différents scénarios plus ou moins optimistes sur nos émissions futures de gaz à effet de serre (Figure 1A) (IPCC, 2018; H. Lee et al., 2023). Cette augmentation générale des températures moyennes sera probablement associée à des changements de précipitations à l'échelle mondiale (Figure 1B<sub>1</sub>). Si on estime probable une augmentation des précipitations sur la majeure partie de l'Eurasie, l'Afrique tropicale et l'Amérique du Nord extra-tropicale, on projette en revanche une diminution des précipitations dans les régions subtropicales, notamment autour de la mer Méditerranée, dans le sud-ouest de l'Amérique du Nord, en Afrique du Sud, dans la majeure partie de l'Australie et dans certaines parties de l'Amérique du Sud (Dai et al., 2018; UNDP, 2021). De plus, l'augmentation des émissions de gaz à effet de serre rend plus probable la survenue d'événements climatiques extrêmes impliquant des phénomènes en lien avec l'absence ou la surabondance de précipitations, à savoir les inondations et les sécheresses (Lesk et al., 2016).

Concernant les sécheresses, plusieurs scénarios climatiques actuels indiquent qu'elles seront plus fréquentes et de plus forte intensité dans de vastes régions du monde (Naumann et al., 2021; Spinoni et al., 2018). Cela se traduit entre autres par des effets négatifs majeurs sur les rendements des systèmes de production agricoles, provoqué par des problèmes de disponibilité de l'eau (Figure 1B<sub>2</sub>) (FAO, 2015; Lee et al., 2023). Le bassin méditerranéen est souvent décrit comme un « point névralgique du changement climatique » en raison de sa vulnérabilité accrue aux sécheresses et à l'intensification de ces épisodes, une situation confirmée par de nombreuses études (Gu et al., 2020; Trambly et al., 2020). Les différents scénarios climatiques du programme mondial de recherche sur le climat prédisent une perte de -49% à -16% des quantités de précipitations hivernales et des hausses de températures moyennes pendant l'été qui augmenteront de +1,2 à +8,5°C à l'horizon 2100, ce qui aura des conséquences concrètes sur les systèmes de production (Cos et al., 2022; Tuel & Eltahir, 2020). Par exemple, une étude de 2022 portant sur l'évolution du rendement de la tomate d'industrie par rapport à différents

scénarios climatiques établis par le GIEC (SSP1, SSP3, SSP5) estime que la production de tomates d'industrie pourrait diminuer de 6% d'ici 2050 en raison de l'augmentation prévue de la température de l'air. Cette réduction de la production devrait survenir dans les principaux pays producteurs dont l'Italie, qui représentent 65 % de la production mondiale. L'étude suggère également que les régions de production moins chaudes, telles que la Californie du Nord et la Chine, pourraient avoir un avantage concurrentiel plus important à l'avenir (Cammarano et al., 2022).



En juin 2021, le représentant spécial du secrétaire général des Nations Unies pour la réduction des risques de catastrophe, a déclaré : "La sécheresse est sur le point de devenir la prochaine pandémie, et il n'existe pas de vaccin pour la guérir", en faisant un parallèle avec un des outils disponibles pour lutter contre la pandémie de COVID-19. Par ailleurs, plusieurs travaux de recherche ont dressé des liens directs ou indirects, à court, moyen ou à long terme, entre les principaux effets du changement climatique et la santé humaine (Koch et al., 2021; Myers et al., 2017; Swinburn et al., 2019; Woodward et al., 2014). Le constat selon lequel les effets du changement climatique sont étroitement liés à la santé humaine fait écho au concept d'une seule santé (*One Health*), qui a émergé au début des années 2000 et dont l'importance a été de

nouveau soulignée suite à la pandémie de COVID-19 (Lefrançois et al., 2023; Morgan et al., 2022). En parallèle de la « pandémie climatique », on peut considérer les pandémies d'obésité et de dénutrition comme parmi de graves menaces pour la santé de l'humanité. Ensemble, ces pandémies constituent une "syndémie mondiale" (*The global syndemic*), en raison de leur regroupement dans le temps et dans l'espace, de leurs interactions aux niveaux biologique, psychologique ou social, et de leurs facteurs sociétaux communs à petite ou grande échelle (Dietz & Pryor, 2022; Venegas Hargous et al., 2023). L'interconnexion de ces trois pandémies et leur influence par des facteurs communs mettent en évidence la nécessité d'intervenir simultanément sur plusieurs d'entre elles. On appelle cela des actions à double ou triple effet.

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse sont issus d'une collaboration entre le laboratoire PSH (INRAE, Plantes et Systèmes de culture Horticoles), le C2VN (AMU/INRAE/INSERM, Centre de recherche en CardioVasculaire et Nutrition) et le LaPEC (Avignon Université, Laboratoire de Physiologie Expérimentale Cardiovasculaire). L'objectif était de présenter des résultats de recherche traitant à la fois de certaines problématiques communes aux pandémies d'obésité et au changement climatique. Ce travail de thèse a donc été mené avec une approche interdisciplinaire, combinant la physiologie végétale et animale, la biochimie et la nutrition. Ce travail s'inscrit entre autres dans le cadre du projet TomHealth (ANR-20-CE21-0010) et du projet Gojiquil (Métaprogramme SYALSA, INRAE) qui contribueront à apporter des données supplémentaires aux résultats présentés dans ce manuscrit. Entre autres, ces projets apporteront aux résultats présentés ici un caractère plus translationnel, puisqu'une étude clinique de supplémentation en poudre de tomate sera réalisée (TomHealth).

Dans la littérature, on observe généralement une discontinuité entre l'étude de l'effet des pratiques sur la composition d'un fruit, et l'effet d'une supplémentation de ce fruit sur certains paramètres associés à la santé. Par exemple, bien qu'une supplémentation alimentaire avec un fruit ou un produit dérivé puisse être liée à des effets positifs sur la santé métabolique, plusieurs facteurs de confusion, souvent non divulgués et inconnus tels que le génotype de la variété cultivée ou le processus industriel utilisé pour produire l'article testé, pourraient influencer les résultats de l'étude. Cette discontinuité entre la génétique/agronomie et la biologie cellulaire/animale a déjà été relevée au sujet des études qui touchent à la tomate et aux effets-santés associés à la consommation de fruit ou de produits qui en sont dérivés (Tilesi et al., 2021). Dans la revue de Tilesi et al., les auteurs suggèrent que « la meilleure approche pour évaluer les bénéfices des tomates et des produits à base de tomates ne peut être atteinte qu'avec la contribution de tous les acteurs de la chaîne scientifique allant de la sélection aux essais

cliniques ». Ainsi, dans cette optique, ces travaux de thèse ont permis de mieux comprendre le lien entre les conditions de production et certains effets-santés associés à la consommation des fruits.

Les domaines de la biologie animale et de la médecine suggèrent que la consommation de phytomicroconstituants comme les caroténoïdes serait associée à des effets bénéfiques pour la santé, en impliquant différents mécanismes (Collins et al., 2022; Kumar et al., 2021; Roselló et al., 2011; Saini & Keum, 2018). La démarche a été menée avec deux fruits qui accumulent massivement des caroténoïdes, à savoir la tomate (*Solanum lycopersicum*) et la baie de goji (*Lycium barbarum*). Dans les domaines de la génétique/agronomie/écophysiologie, de nombreuses études suggèrent que l'accumulation des caroténoïdes dans les fruits est largement dépendante des interactions génotype x environnement. Dans notre cas, nous avons intégré l'impact du choix du génotype et la disponibilité en eau durant la culture sur l'étude des effets santé associés à la consommation de ces fruits.

# Revue de la littérature

## La pandémie d'obésité

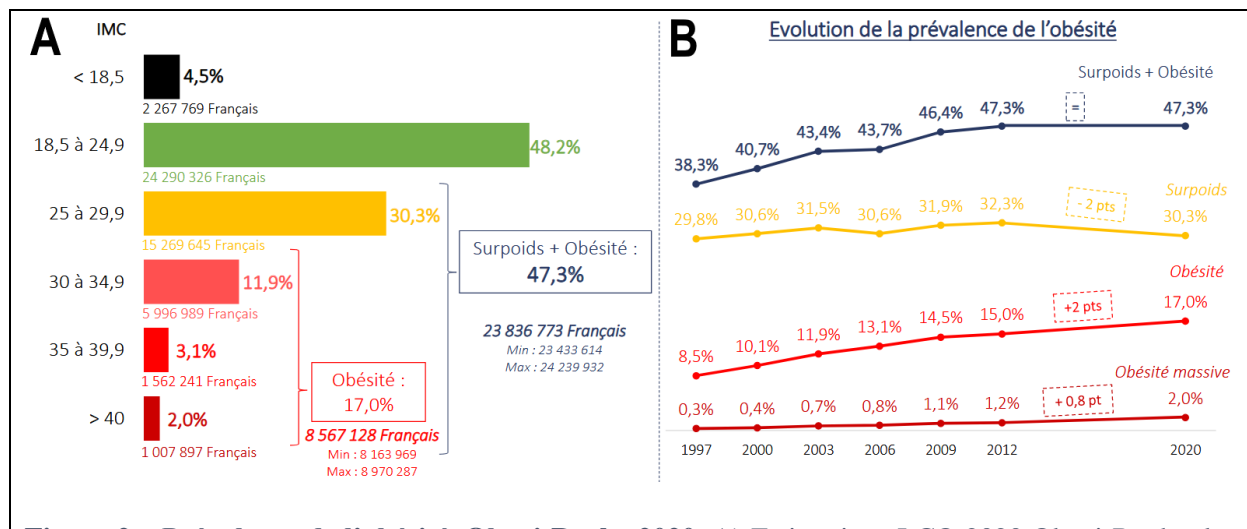
### Définition

L'obésité se définit comme une accumulation anormale ou excessive de masse grasse dans le tissu adipeux, pouvant entraîner des dommages à la santé et réduire l'espérance de vie. Les dommages à la santé peuvent concerner les maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2 (*diabetes mellitus*), la stéatose hépatique non alcoolique (*NAFLD*), et certains cancers (Sarma et al., 2021). Le diagnostic médical de l'obésité inclut en premier abord l'utilisation de l'indice de masse corporelle (IMC), un outil clinique très répandu car il s'agit d'une méthode simple permettant d'estimer le niveau de risque lié à la corpulence d'une personne. Il est calculé en divisant le poids (en kilogrammes) par le carré de la taille (en mètres). Pour les adultes de plus de 20 ans, l'OMS a proposé un découpage en classes qui permet d'apprécier le niveau de surpoids : IMC < 18,5 insuffisance pondérale ; 18,5 – 24,9 normale ; 25,0 – 29,9 pré-obésité (début du surpoids) ; 30,0 – 34,9 obésité, classe I ; 35,0 – 39,9 obésité, classe II ;  $\geq 40$  obésité, classe III. Pour la population en général, l'IMC est corrélé à la quantité de masse grasse. Cependant, cet indicateur doit être interprété dans le contexte épidémiologique spécifique pour lequel il a été développé. Il ne prend pas en compte d'autres facteurs importants tels que l'âge ou la pratique d'un exercice physique intensif. D'autre part, le tour de taille est un marqueur spécifique de l'accumulation de graisse abdominale, laquelle est associée au développement de complications métaboliques et vasculaires liées à l'obésité, indépendamment de l'IMC (Onat et al., 2004).

### Prévalence et épidémiologie

D'après l'OMS, 39 % des adultes âgés de 18 ans et plus dans le monde étaient en surpoids et 13 % étaient obèses en 2016 (WHO, 2021). Cela fait de l'obésité un problème de santé publique majeur. Actuellement, dans la zone des 53 États membres de l'OMS région « Europe », le surpoids et l'obésité touchent environ 60% de la population adulte. En 2016, la France est classée 13<sup>ème</sup> sur 53 en termes de prévalence de surpoids et 36<sup>ème</sup> sur 53 en termes de prévalence d'obésité (standardisé sur l'âge et tous sexes confondus) (Pineda et al., 2018; WHO Regional office for Europe, 2022). Dans un rapport publié en 2019 (*The heavy burden of obesity*),

l'Organisation de coopération et de développements économiques (OCDE) estime que les Français vivent en moyenne 2,3 ans de moins à cause de la surcharge pondérale, et que le surpoids et l'obésité représentent 4,9% des dépenses de santé (Cecchini & Vuik, 2019). Le rapport suggère également qu'« une réduction de 20 % des aliments riches en sucre, en sel, en calories et en graisses saturées permettrait de prévenir 582 000 maladies non transmissibles d'ici à 2050, d'économiser 228 millions d'euros par an en coûts de santé [...] ». L'Atlas mondial de l'obésité 2022 (*Obesity World Atlas 2022*), publié par la Fédération mondiale de l'obésité (*World Obesity Federation*), prévoit qu'une femme sur cinq et un homme sur sept dans le monde, soit un milliard de personnes, seront obèses d'ici à 2030. De manière générale, les conclusions de l'atlas estiment que non seulement la plupart des pays n'atteindront pas l'objectif fixé par l'OMS pour 2025 - à savoir stopper la progression de l'obésité aux niveaux de 2010 - mais également que le nombre de personnes souffrant d'obésité devrait doubler dans le monde entier d'ici à 2030 (Lobstein et al., 2022). Si les tendances actuelles se maintiennent, 33 des 53 pays devraient avoir une prévalence de l'obésité d'au moins 20 % d'ici à 2025 (WHO Regional office for Europe, 2022). L'étude Obepi-Roche de l'organisation non gouvernementale Française « Ligue contre l'obésité » réalisée en 2020 semble confirmer cette observation pour la France avec une prévalence du surpoids qui semble plafonner, alors que la prévalence de l'obésité augmente à un rythme beaucoup plus rapide que celui estimé par l'OMS pour la région européenne (Figure 2) (Fontbonne et al., 2023).



**Figure 2 – Prévalence de l'obésité, Obepi-Roche 2020.** A) Estimations LCO 2020 Obepi-Roche des prévalences du surpoids et/ou de l'obésité. Surpoids :  $25 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} < 30 \text{ kg/m}^2$  ; obésité :  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$  ; obésité sévère et complexe ("morbide") :  $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ . B) Évolution de la prévalence de l'obésité ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ), Obepi-Roche 1997-2012 avec ajout de l'étude Obepi-Roche LCO 2020. Source : Enquête épidémiologique nationale sur le surpoids et l'obésité pour la Ligue contre l'Obésité et tableaux de l'économie française édition 2020, estimations de population, INSEE. D'après Fontbonne et al. (2023).



## De l'obésité au syndrome métabolique

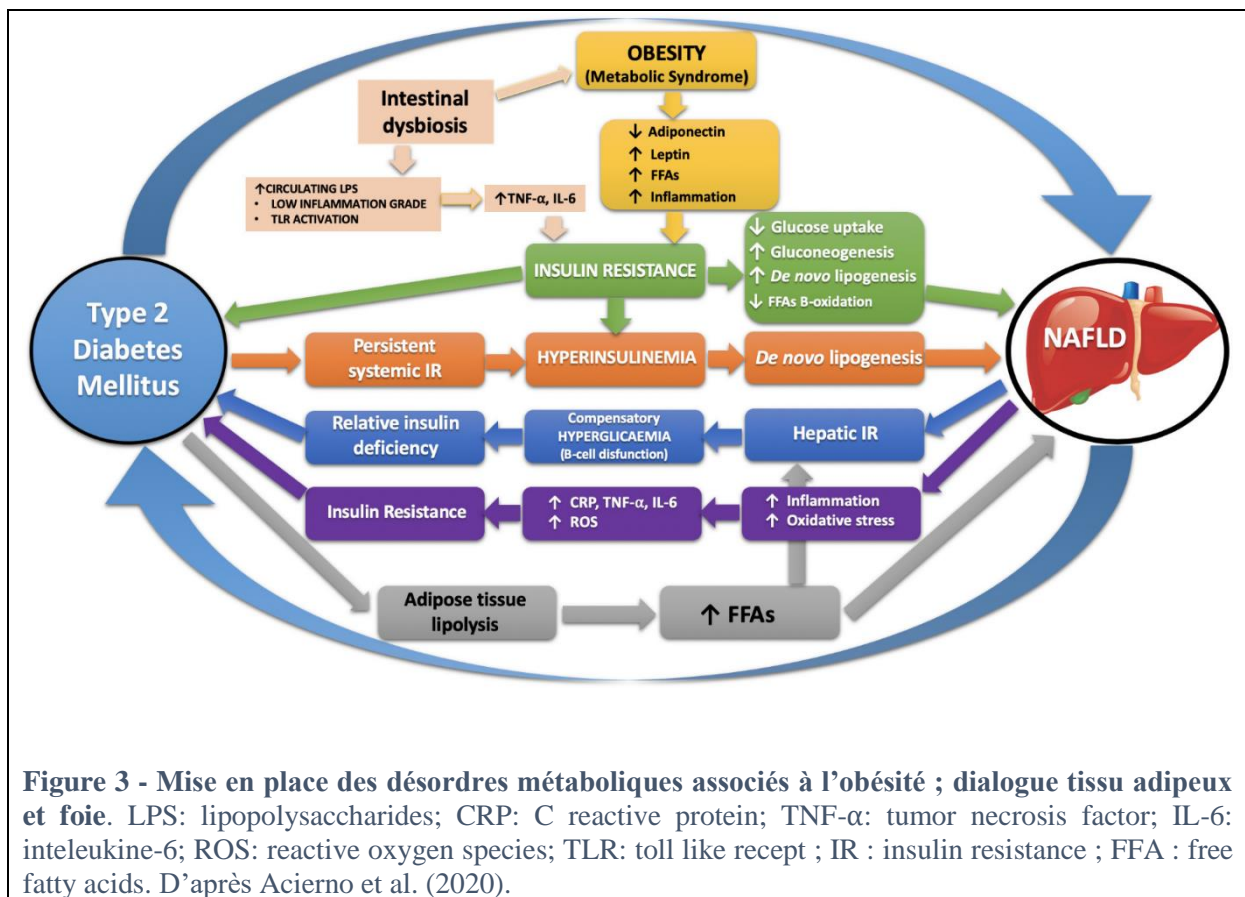
Au-delà de l'indice d'IMC, des indicateurs métaboliques qui attestent du fonctionnement normal ou altéré du métabolisme et stratifient le niveau de risque cardiovasculaire d'une personne ont été identifiés. Certains de ces indicateurs sont par exemple : la mesure de glycémie à jeun, le pourcentage de masse grasse (adiposité), ou l'accumulation de graisse ectopique (Corrales et al., 2021; Thissen, 2018). C'est la raison pour laquelle a été défini et décrit un « syndrome métabolique » associé à l'obésité. La définition a été amenée à évoluer par le passé et plusieurs propositions de définitions ont émergé (Saklayen, 2018). En 2006, la fédération internationale du diabète (FID) propose une nouvelle définition « consensus » du syndrome métabolique (Alberti et al., 2006). Le syndrome métabolique est alors caractérisé par : un tour de taille élevé (aussi appelé « obésité viscérale » ou « obésité abdominale »), une glycémie à jeun élevée, un taux de triglycérides circulants élevé, un faible taux de HDL-cholestérol ainsi qu'une hypertension. La fédération internationale du diabète suggère qu'une personne est atteinte du syndrome métabolique lorsqu'elle présente une obésité viscérale et au moins deux des autres facteurs cités. Les paramètres proposés pour l'évaluation du syndrome métabolique chez un individu sont rapportés dans la table associée (Tableau 1).

**Tableau 1 - Syndrome métabolique. Définition de la Fédération internationale du diabète, 2006.**

Obésité viscérale	Tour de taille > à 94 cm chez l'homme ou > à 80 cm chez la femme, <b>et au moins deux des paramètres suivants :</b>
Taux élevé de triglycérides	$\geq$ à 1,7 mmol/L (150 mg/dL)
Taux réduit de HDL-cholesterol	<1,03 mmol/L (40 mg/dl) chez l'homme ; < 1,29 mmol/l (50 mg/dl) chez la femme
Glycémie à jeun élevée	$\geq$ 5,6 mmol/l (100 mg/dl) ou un diabète de type 2 connu.
Pression artérielle élevée	Systole >130mmHg ou Diastole >85 mmHg ou une hypertension connue.

L'obésité viscérale est marquée par l'accumulation de tissu adipeux blanc viscéral. Au niveau du corps, à travers diverses zones de stockage, ce tissu adipeux blanc emmagasine à lui seul environ 80 à 90% des lipides du poids corporel sous forme de triglycérides (Heinonen et al., 2020). Le rôle de ce tissu dans le stockage et la redistribution des lipides est essentiel. Le rôle de stockage/redistribution du tissu adipeux blanc peut se résumer schématiquement de la façon

suivante : lorsque les apports caloriques et lipidiques sont en excès, la lipogenèse est activée, aboutissant au stockage du surplus d'acides gras. A l'inverse, quand les apports sont insuffisants, il se produit une activation de la lipolyse qui conduit le tissu à relarguer les acides gras dans la circulation où ils seront distribués vers les organes consommateurs pour être oxydés. Lorsque les capacités de stockage et d'expansion du tissu adipeux sous-cutané sont dépassées, il peut y avoir une fuite de lipides dans la circulation sanguine, participant à une augmentation de la concentration lipidique plasmatique (Ioannidou et al., 2022). Il s'en suit une accumulation ectopique de ces acides gras dans d'autres tissus tels que le tissu adipeux viscéral, le tissu adipeux épigastrique, le foie ou le muscle. Dans ce contexte, une interaction (*cross-talk*) entre le tissu adipeux et le foie exerce un rôle majeur dans la genèse du syndrome métabolique (Figure 3) (Acierno et al., 2020; Azzu et al., 2020).



Le syndrome métabolique est lié à un risque accru de développer un diabète de type 2 et des maladies cardiovasculaires, car les critères définissant ce syndrome sont eux-mêmes des facteurs de risque pour ces maladies (Grundy et al., 2004). Les taux élevés de triglycérides et réduits de HDL-cholestérol correspondent à une dyslipidémie. On peut citer également une tolérance au glucose altérée et une résistance à l'insuline comme facteurs de risque qui ne sont

pas évoqués dans la définition de la FID, qui traduisent des désordres métaboliques et qui peuvent faire partie du prédiabète ou du diabète de type 2 (DeFronzo & Abdul-Ghani, 2011).

### **Obésité et dysfonction endothéliale**

L'endothélium vasculaire joue un rôle clé dans la régulation de divers processus physiologiques, notamment le tonus vasculaire et l'interaction entre la paroi vasculaire et les constituants sanguins. Dans des conditions normales, l'homéostasie vasculaire est assurée par un équilibre entre les facteurs endothéliaux, qui peuvent soit induire la relaxation (vasorelaxation), soit provoquer la contraction (vasoconstriction). La synthèse de l'oxyde nitrique (NO<sup>\*</sup>) est cruciale pour maintenir cet équilibre, contribuant ainsi à minimiser le risque d'athérosclérose et d'hypertension artérielle. En condition pathologique, la balance de régulation entre facteurs vasorelaxants et vasocontractants étant altérée, on parle alors de dysfonction endothéliale (Xu et al., 2021). Cette dysfonction est caractérisée par une prédominance des effets vasocontractants sur les effets vasorelaxants. Les facteurs de risque cardiovasculaires, incluant la dyslipidémie, l'hypertension, l'insulino-résistance et l'hyperglycémie qui contribuent au développement de l'athérosclérose et augmentent la mortalité sont liés à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (EROs). Une diminution de la relaxation dépendante de l'endothélium est associée à une baisse de la biodisponibilité du NO dans les cellules endothéliales (Touyz et al., 2020). L'hyperglycémie produit des EROs par plusieurs mécanismes : i) en lien avec les mitochondries avec une surproduction de radicaux libres par la chaîne de transport d'électrons, via l'activité de la NADPH oxydase ou ii) le détournement du métabolisme du glucose dans d'autres voies métaboliques qui génèrent des EROs (Battault et al., 2020). En outre, l'accumulation de tissu adipeux viscéral en lien avec l'obésité favorise la dysfonction endothéliale par une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires qui participent également à cette dysfonction (Engin, 2017; Viridis, 2016).

### **Lien entre alimentation et obésité**

Les causes de l'obésité sont complexes et multifactorielles. On peut citer le facteur génétique comme facteur de risque. Il s'agit la plupart du temps de mutations causant la perte de fonction de protéines clés dans la régulation de la prise alimentaire (Loos & Yeo, 2022). Cependant, il semble peu probable que ce facteur explique le développement de la pandémie d'obésité observée actuellement (Albuquerque et al., 2017). D'autres facteurs biologiques (âge, sexe, microbiote intestinal) et environnementaux au sens large (localisation géographique, pollution environnementale, pression socio-économique...) prédisposent à l'obésité (Wells, 2013). De

nombreuses études suggèrent que l'alimentation et le mode de vie sédentaire semblent être des facteurs importants contribuant au développement d'une obésité précoce chez l'enfant ou plus tardive chez l'adulte (Kontochristopoulou et al., 2023; Seng Lee, 2009). Cela est décrit dans le paradigme de déséquilibre de « balance énergétique » (Energy Balance Model, EBM) à l'origine de la pandémie d'obésité (Speakman & Hall, 2021). Dans ce paradigme, la pandémie d'obésité aurait comme origine un déséquilibre énergétique dû à l'augmentation de l'apport énergétique causée par un environnement alimentaire obésogène : une consommation accrue de calories, via la nature (trop de glucides, lipides) ou la quantité de la ration alimentaire, la présence d'aliments ultratransformés, le manque de protéines et de fibres alimentaires ainsi qu'un déséquilibre qualitatif comme un rapport acides gras poly-insaturés  $\omega 6/\omega 3$  trop élevé ou l'abus d'aliments à fort index glycémique. Les aliments, par des mécanismes partiellement élucidés, interfèrent avec le fonctionnement du système d'homéostasie du système nerveux central, notamment en ce qui concerne la régulation glycémique. La dérégulation des voies impliquées peut entraîner un déséquilibre entre l'apport et la dépense d'énergie, ce qui se traduit par une prise de poids, un surpoids et, à terme, sans intervention impliquant un changement d'alimentation ou d'activité, l'obésité (Lister et al., 2023). Le progrès technique qui a globalement amélioré la qualité de vie et provoqué des changements dans l'offre alimentaire, notre alimentation et mode de vie, semble avoir contribué à de tels changements (Hill & Peters, 1998; James, 2008; Sarma et al., 2021; Wells, 2013).

À l'heure actuelle, un autre paradigme « glucides-insuline » (Carbohydrate Insulin Model, CIM) est proposé pour expliquer la (dé)régulation du poids corporel en fonction de l'alimentation (Flier, 2023). Les défenseurs de ce paradigme suggèrent qu'un environnement alimentaire favorisant une consommation accrue de glucides rapidement digestibles est principalement à l'origine de la pandémie d'obésité, indépendamment des lipides consommés (Ludwig et al., 2021). L'apport de glucides rapidement digestibles (saccharose, glucose, fructose principalement) stimule la production d'insuline postprandiale, qui transforme et répartit l'énergie ingérée (glucides, lipides, protéines) dans les différents dépôts de tissus adipeux. Cela réduirait le flux de ces sources d'énergie métabolisées dans les tissus non adipeux (muscles) et entraînerait un signal de famine cellulaire transmis au système nerveux central. La différence fondamentale entre ces deux paradigmes réside dans la distinction entre cause et conséquence en ce qui concerne l'accumulation de masse grasse dans les tissus adipeux ectopiques. Malgré un désaccord encore exacerbé à l'heure actuelle entre les partisans des deux modèles, le rôle du cerveau en tant que principal organe régissant le contrôle de la prise

alimentaire a été intégré (Flier, 2023). Pour les deux paradigmes, le contrôle homéostatique est exercé par des signaux de rétroaction en périphérie, notamment la leptine, principalement produite par le tissu adipeux et dont les niveaux circulants reflètent le niveau de stockage de l'énergie dans le tissu adipeux interprété par le cerveau. De plus, dans les deux cas, le régime alimentaire peut induire une réponse inflammatoire ou insulinémique qui jouera un rôle dans le développement de l'obésité et du T2D (SS, 2023). En ce qui concerne l'alimentation et le mode de vie, l'OMS se positionne dans le paradigme « Energy Balance Model » et recommande : « de manger beaucoup de fruits et de légumes, de réduire la consommation de graisses, de sucre et de sel et de pratiquer une activité physique régulière » pour diminuer les risques liés à l'obésité (WHO, 2020).

### **Apports et limites des modèles animaux dans les études concernant l'obésité**

Les modèles murins sont précieux pour tester les hypothèses relatives à l'alimentation et ses effets sur la santé, car ils se prêtent à une connaissance rigoureuse de l'alimentation pendant de longues périodes et sont indépendants de facteurs potentiellement confondants comme des changements comportementaux. Par exemple, les études sur les rongeurs ont été essentielles pour démontrer le rôle causal de l'insuline sur certains aspects du métabolisme, de la prise alimentaire et du dépôt de masse grasse (Hall et al., 2022) et restent une référence dans le domaine de l'obésité et du diabète du type 2 (Kleinert et al., 2018). De nombreuses recherches ont révélé que les rongeurs de laboratoire ont tendance à devenir obèses lorsqu'ils sont soumis à des régimes riches en lipides ou à une combinaison élevée de lipides et de glucides (Rosini et al., 2012), un phénomène qui semble également se manifester chez les humains. Ces modèles permettent de connaître et modifier précisément la ration alimentaire, pour comprendre d'où proviennent les effets obésogènes de la composition du bol alimentaire (ratio lipides:sucres, type de sucres et type de lipides) (Tordoff & Ellis, 2022). Un modèle murin où 45% de l'apport énergétique provient des lipides peut être considéré comme approprié pour être transposé à la physiologie humaine (Speakman, 2019). Chez l'humain, les facteurs comportementaux ou cognitifs ajoutent des facteurs confondants qui peuvent être difficiles à maîtriser (Poppitt et al., 1998), même s'ils peuvent être exploités comme une stratégie complémentaire pour changer durablement les habitudes alimentaires dans un contexte de lutte contre l'obésité (Navas et al., 2021).

## Les caroténoïdes : des phytomicroconstituants utiles à la santé animale

### Définition et voie de biosynthèse

Les caroténoïdes, des molécules lipophiles faisant partie de la famille des terpènes, présentent une grande variété de structures chimiques. Ces variations structurelles déterminent en grande partie leurs propriétés physico-chimiques. À quelques exceptions près, ils figurent parmi les molécules pigmentaires (offrant des nuances de jaune, d'orange à rouge foncé) les plus répandues dans la nature, aux côtés des anthocyanes. Les caroténoïdes se trouvent dans une vaste gamme d'organismes vivants, incluant les plantes, les champignons (mycètes) et les animaux. La plupart des caroténoïdes sont constitués de huit unités d'isoprène avec un squelette de 40 atomes de carbone. Leur structure générale consiste généralement en une chaîne polyène avec un nombre variable de doubles liaisons conjuguées et un groupe terminal à chacune des deux extrémités de la chaîne polyène (Vershinin, 1999). En septembre 2020, 1204 caroténoïdes issus de 722 organismes sont identifiés et recensés dans la *Carotenoids database* (<http://carotenoiddb.jp>) (Yabuzaki, 2017).

Les caroténoïdes sont divisés en deux groupes : les carotènes et les xanthophylles. Les carotènes, tels que l' $\alpha$ -carotène, le  $\beta$ -carotène, et le lycopène, sont des hydrocarbures. On estime qu'environ 50 types de carotènes sont présents dans la nature (Maoka, 2020). L'autre groupe (xanthophylles) est majoritairement représenté dans le monde du vivant par la  $\beta$ -cryptoxanthine, la lutéine, l'astaxanthine ou la zéaxanthine, qui sont des caroténoïdes contenant des atomes d'oxygène sous diverses formes (groupes hydroxyle, carbonyle, aldéhyde ou carboxylique). Certaines xanthophylles sont présentes sous forme d'esters d'acides gras, de glycosides, de sulfates et de complexes protéiques (Meléndez-Martínez et al., 2019). Dans le règne végétal, les caroténoïdes qui présentent une pigmentation sont associés à la photosynthèse et à la photoprotection en tant qu'antioxydants (Rodriguez-Concepcion et al., 2018). Ils jouent également un rôle dans un contexte reproductif pour les plantes entomogames en attirant les insectes pollinisateurs. Leur rôle est aussi très marqué après la pollinisation, en assurant la dissémination des graines par les consommateurs animaux attirés par la couleur des fruits (Rodriguez-Concepcion et al., 2018).

### Isomérisation

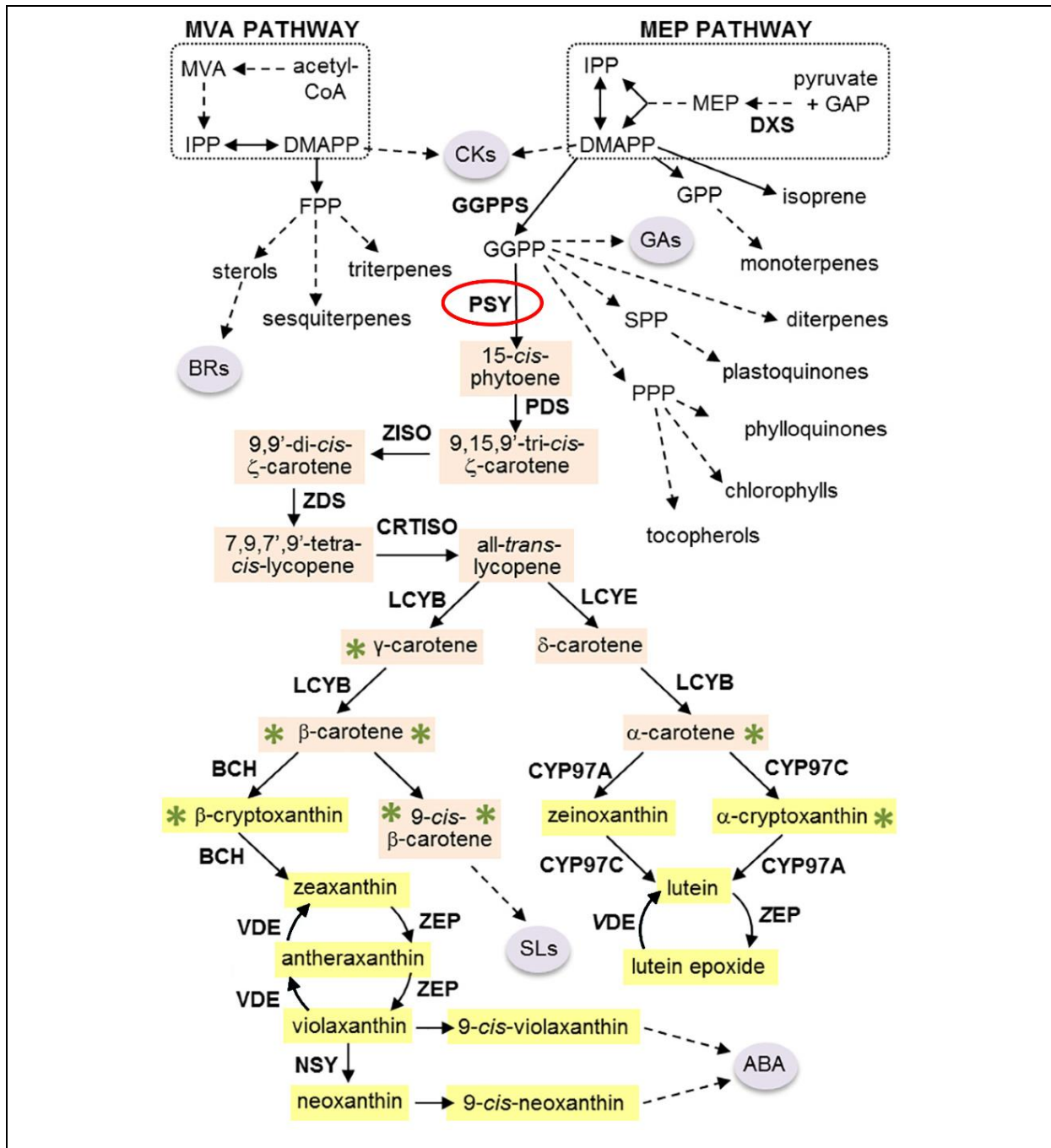
La configuration des doubles liaisons conjuguées dans le squelette carboné des caroténoïdes détermine leurs propriétés d'absorption de la lumière et influence leur activité antioxydante (Böhm et al., 2002). Selon le nombre de doubles liaisons, plusieurs configurations *cis/trans*

(E/Z) sont possibles pour une molécule donnée. Les caroténoïdes ont tendance à s'isomériser et à former un mélange de mono- et poly-*cis*-isomères en plus de la forme tout-*trans*. En général, en raison de sa stabilité thermodynamique, la forme tout-*trans* est prédominante dans la nature (Stahl & Sies, 2003). Certaines études suggèrent que ce n'est pas systématiquement le cas du lycopène, du phytoène et du phytofluène. De façon générale, les isomères *cis* sont favorisés par une exposition à la lumière ou à la chaleur (Rodriguez-Concepcion et al., 2018; Schieber & Carle, 2005).

#### *Présence dans le monde du vivant*

Les animaux supérieurs ne sont pas capables de synthétiser les caroténoïdes et en bénéficient exclusivement par leur alimentation (Maoka, 2020). Par le métabolisme des caroténoïdes, ils peuvent en revanche produire des apocaroténoïdes qui ont des squelettes de moins de 40 carbones (Harrison, 2022). Environ 200 types d'apocaroténoïdes sont présents chez les animaux et plantes en tant que produits de dégradation des caroténoïdes. Chez les plantes, les apocaroténoïdes sont principalement impliqués dans la régulation de la croissance et du développement, ainsi que dans la réponse aux stress environnementaux (Felemban et al., 2019). Les organismes photosynthétiques synthétisent les caroténoïdes dans les plastes à partir des précurseurs isoprénoïdes que sont l'isopentényl diphosphate (IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP), dérivés de la voie du méthylérythritol 4-phosphate (MEP) (Figure 4). Trois molécules d'IPP et une molécule de DMAPP sont condensées par la géranylgeranyl diphosphate synthase pour former le GGPP, qui est le précurseur commun des caroténoïdes et d'autres isoprénoïdes des plastes liés à la photosynthèse, tels que les chlorophylles, la plastoquinone, les phylloquinones et les tocophérols, mais aussi des gibbérellines. La première réaction spécifique de la voie des caroténoïdes est la condensation de deux molécules de GGPP pour la synthèse du caroténoïde 15-*cis*-phytoène, catalysée par l'enzyme phytoène synthase (PSY) (Rodriguez-Concepcion et al., 2018). Cette réaction est considérée comme un goulot d'étranglement et une étape de contrôle majeure du flux métabolique vers les caroténoïdes (X. Zhou et al., 2022). Différentes enzymes catalysent les réactions séquentielles de désaturation et d'isomérisation qui convertissent le 15-*cis*-phytoène en lycopène tout-*trans* (Liu et al., 2015). La formation de cycles  $\beta$ - ou/et  $\epsilon$ -ionone aux extrémités de la molécule linéaire de lycopène représente un point d'embranchement de la voie, conduisant soit à l' $\alpha$ -carotène (branche  $\beta,\epsilon$ ), soit au  $\beta$ -carotène (branche  $\beta,\beta$ ). L'hydroxylation et l'époxydation des cycles de ces carotènes donnent différents types de xanthophylles, comme la lutéine à partir de l' $\alpha$ -carotène ou la zéaxanthine, la violaxanthine et la néoxanthine à partir du  $\beta$ -carotène (Figure 4).





**Figure 4 - Voie de biosynthèse des caroténoïdes.** Caroténoïdes majeurs de la voie de biosynthèse, enzymes impliquées avec distinction des phytohormones (●), carotènes (○), xanthophylles (●) et caroténoïdes pro-vitaminiques A (\*). *En anglais* : ABA, abscisic acid; BRs, brassinosteroids; CKs, cytokinins; GAs, gibberellins; SLs, strigolactones. Les lignes discontinues représentent plusieurs étapes. GAP, glyceraldehyde 3-phosphate; MEP, methylerythritol 4-phosphate; MVA, mevalonic acid; IPP, isopentenyl diphosphate; DMAPP, dimethylallyl diphosphate; GPP, geranyl diphosphate; FPP, farnesyl diphosphate; GGPP, geranylgeranyl diphosphate; SPP, solanesyl diphosphate; PPP, phytyl diphosphate. Les enzymes sont représentées en caractères gras : DXS, deoxyxylulose 5-phosphate synthase; GGPPS, GGPP synthase; PSY, phytoene synthase; PDS, phytoene desaturase; ZISO, ζ-carotene isomerase; ZDS, ζ-carotene desaturase; CRTISO, carotenoid isomerase; LCYE, lycopene ε-cyclase; LCYB, lycopene β-cyclase; CYP97C, carotene ε-hydroxylase; CYP97A, cytochrome P450 carotene β-hydroxylase; BCH, non-heme di-iron carotene β-hydroxylase; ZEP, zeaxanthin epoxidase; VDE, violaxanthin de-epoxidase; NSY, neoxanthin synthase. D'après Rodriguez-Concepcion et al. (2018)



Les caroténoïdes sont également présents dans le monde animal où ils exercent une large diversité de fonctions biologiques (Maoka, 2020; Toews et al., 2017).

### Effets biologiques et métaboliques des caroténoïdes chez l'animal

#### *Provitamine A*

Une méta-analyse réalisée en 2012 indique que les caroténoïdes représentent environ 35% des apports en vitamine A issus de l'alimentation (Weber & Grune, 2012). D'autres recherches avancent que les caroténoïdes constituent la source majeure de vitamine A, tout particulièrement pour les personnes suivant un régime végétarien. Parmi la contribution de ces pro-vitamines A, il est estimé que le  $\beta$ -carotène représente environ 86%, l' $\alpha$ -carotène 10%, et la  $\beta$ -cryptoxanthine environ 4% des apports totaux. Ainsi, au final, le  $\beta$ -carotène serait en moyenne responsable de 30,4% de nos apports alimentaires en vitamine A (Grune et al., 2010; Xavier & Pérez-Gálvez, 2016). Les caroténoïdes provitaminique A présentent au moins un cycle  $\beta$ -ionone («  $\beta$ -ring ») dans leur structure. Pour les carotènes, c'est le cas de l' $\alpha$ -carotène, du  $\beta$ -carotène, du  $\gamma$ -carotène et pour les xanthophylles c'est le cas de la  $\beta$ -cryptoxanthine (Figure 4). Le  $\beta$ -carotène présente deux cycles  $\beta$ -ionone à chacune de ses extrémités, d'où sa contribution majeure à nos apports en provitamine A. Dans notre organisme, les caroténoïdes provitamine A subissent un clivage oxydatif, catalysé principalement par une enzyme appelée  $\beta$ -carotène-15,15'-dioxygénase (BCO1). Une autre enzyme de clivage, la  $\beta$ -carotène 9',10'-oxygénase (BCO2), localisée dans la membrane interne des mitochondries, clive de manière asymétrique le  $\beta$ -carotène, générant du  $\beta$ -apo-10'-caroténal, qui peut être converti en rétinoïdes par la BCO1 (Bradley et al., 2023; Spiegler et al., 2018). Ce clivage conduit à la formation de deux molécules de  $\beta$ -ionone, converties en rétinal-tout-*trans*. Une fois formé, le rétinal-tout-*trans* peut être utilisé dans différentes voies métaboliques. Il est particulièrement impliqué dans la vision, où il sert de chromophore dans les photorécepteurs de la rétine (Bohn et al., 2021; Boulton et al., 2001). Le rétinal tout-*trans* peut être converti en rétinol par une enzyme rétinol-réductase, et le rétinol peut ensuite être estérifié pour être stocké majoritairement dans le foie (Harrison, 2019). Il convient de noter que l'efficacité de la bioconversion du  $\beta$ -carotène en vitamine A est largement dépendante d'autres facteurs en lien avec la matrice et l'hôte. Par exemple, la bioconversion semble plus élevée dans les fruits que les légumes verts (Rodriguez-Concepcion et al., 2018). BCO1 et BCO2 peuvent également produire des apocaroténoïdes non provitaminiques A qui portent très probablement une partie des fonctions biologiques des caroténoïdes (Harrison, 2022; Liu et al., 2022).

### *Antioxydant / Stress oxydant*

Les caroténoïdes sont caractérisés par des propriétés antioxydantes et ils peuvent interagir de façon synergique avec d'autres antioxydants qui sont métabolisés de façon similaire comme les tocophérols (Morelli & Rodriguez-Concepcion, 2023; Shi et al., 2004; Stahl & Sies, 2003). Si ce rôle antioxydant bénéfique a été cité ci-dessus dans le contexte de la photosynthèse, il est également relevé dans les organismes animaux. Les effets bénéfiques d'une alimentation riche en caroténoïdes sont attribués à leur capacité antioxydante lorsqu'il existe un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes (stress oxydant). Le stress oxydant déclenche des dommages cellulaires et tissulaires pouvant activer des facteurs de transcription qui peuvent affecter de nombreux gènes et molécules impliqués dans les cycles cellulaires, la régulation des cytokines inflammatoires, et entraîner finalement une inflammation chronique avec, à long terme, le développement de plusieurs maladies telles que le cancer, les maladies ou les pathologies cardiovasculaires (Meléndez-Martínez, Böhm et al., 2021).

### *Rôle dans l'inflammation*

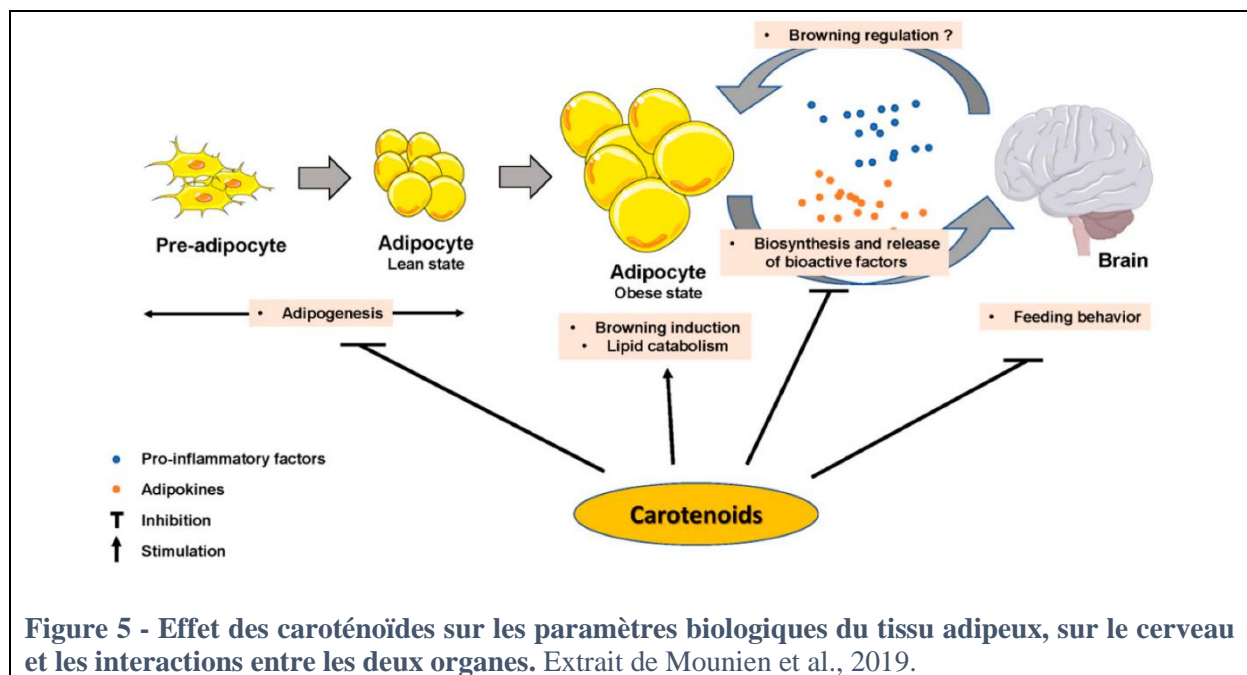
L'action anti-inflammatoire des caroténoïdes est intimement liée à la capacité de ces substances à réduire le stress oxydatif. En effet, la production excessive de ROS dans le tissu adipeux hypertrophié est un mécanisme pro-inflammatoire nocif dans le cadre du syndrome métabolique associé à l'obésité. Les propriétés antioxydantes des caroténoïdes découlent aussi de leur capacité à activer la voie NRF2, qui stimule les défenses antioxydantes cellulaires. Par ailleurs, les caroténoïdes contribuent à diminuer ou supprimer l'activation du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, un acteur clé dans l'inflammation métabolique, inhibant ainsi la production en aval de cytokines pro-inflammatoires. Au niveau de l'adipocyte, la fonction antioxydante a été mise en évidence pour le  $\beta$ -carotène, l'astaxanthine, la fucoxanthine et la crocine. Quant à l'action anti-inflammatoire, elle a été confirmée pour le lycopène, la fucoxanthine (ou leurs métabolites potentiels) et l'acide rétinoïque tout *trans* (Bohn et al., 2021; Gouranton, Aydemir, et al., 2011; Gouranton, Thabuis, et al., 2011). Dans des modèles de cellules vasculaires, le lycopène purifié et l'oléorésine de tomate ont réduit la voie de signalisation de NF- $\kappa$ B et réduit de façon significative l'expression de plusieurs molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM1) impliquée dans l'inflammation liée à la réponse immunitaire (Armoza et al., 2013; Hung et al., 2008; Ucci et al., 2019). Les effets anti-inflammatoires du lycopène ou des produits dérivés de la tomate ont été partiellement confirmés dans des études cliniques au niveau systémique, bien qu'il soit difficile d'attribuer ces effets au lycopène seul (Burton-Freeman & Sesso, 2014; Landrier et al.,

2023). Bien que les mécanismes de l'inflammation métabolique demeurent complexes, leur implication dans l'aggravation des déséquilibres métaboliques est largement reconnue. Par conséquent, cibler l'inflammation apparaît comme une stratégie prometteuse dans la prévention des maladies métaboliques (Kaulmann & Bohn, 2014).

#### *Caroténoïdes dans un contexte d'obésité et du syndrome métabolique*

De nombreuses études épidémiologiques ont identifié des déficiences en micronutriments lipophiles chez les personnes obèses (García et al., 2009; Kimmons et al., 2006). Parmi les micronutriments lipophiles, on peut citer les vitamines A, E et D, ainsi que les caroténoïdes. Plusieurs pathologies liées à l'obésité, telles que l'inflammation de bas grade et l'insulino-résistance/diabète de type 2, sont fortement corrélées à des concentrations plasmatiques réduites en micronutriments (Beydoun et al., 2011; Landrier et al., 2012; Pittas et al., 2007).

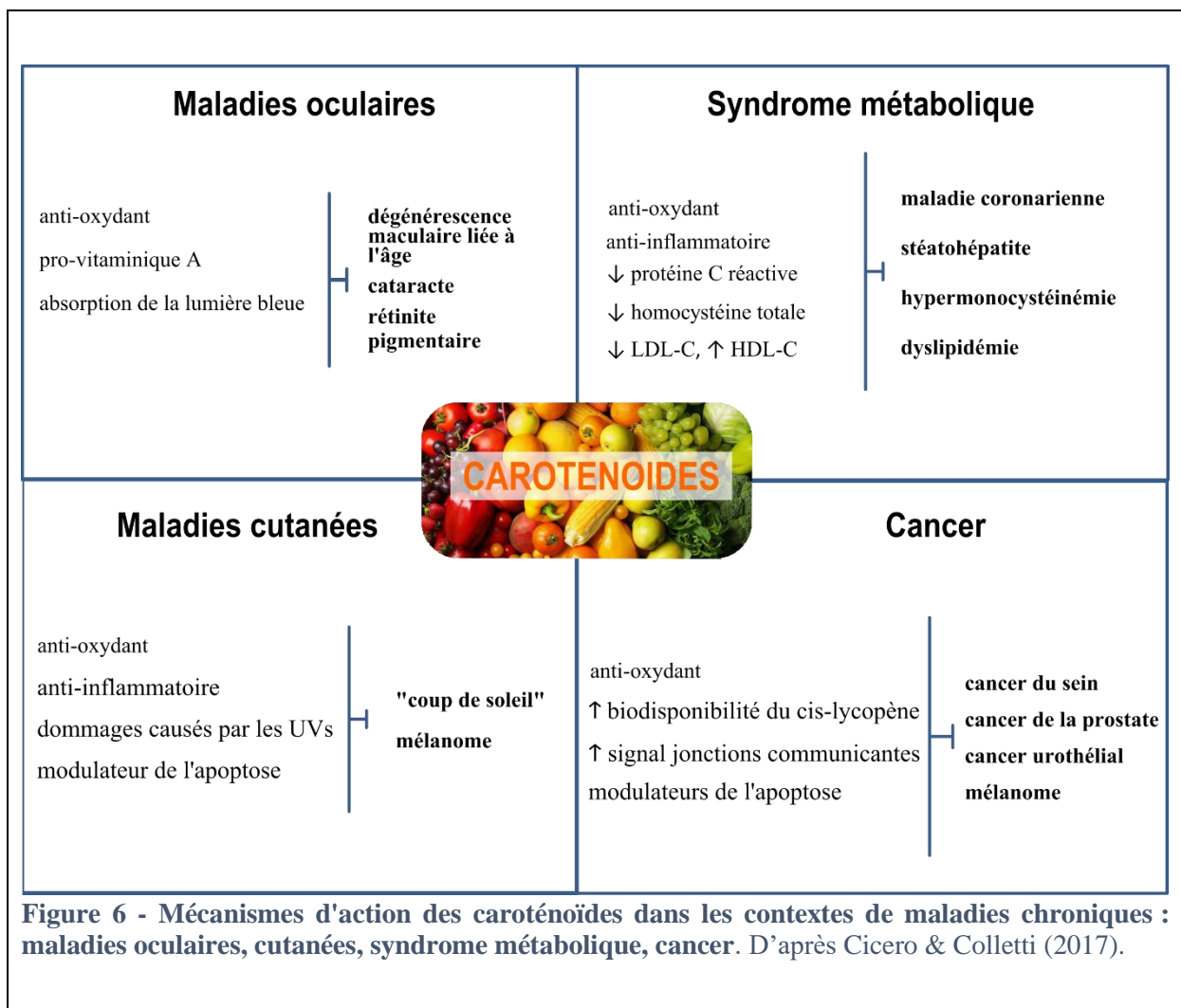
On peut notamment citer la corrélation inverse entre syndrome métabolique et caroténoïdes plasmatiques (Beydoun et al., 2019; Mounien et al., 2019). De nombreux essais cliniques randomisés et contrôlés sur la supplémentation en caroténoïdes indiquent une réduction du poids corporel, du tour de taille, de l'indice de masse corporelle (IMC) et de l'indice d'adiposité (Yao et al., 2021). Les différentes études suggèrent que les principaux effets sont médiés par le tissu adipeux, où les caroténoïdes sont accumulés et métabolisés. Cette métabolisation pourrait limiter l'adipogenèse, favoriser la beigisation du tissu adipeux et le catabolisme des lipides, et interagir avec la voie de signalisation de la leptine, qui joue un rôle dans la régulation de la faim et de la prise alimentaire (Coronel et al., 2019; Mounien et al., 2019) (Figure 5).



**Figure 5 - Effet des caroténoïdes sur les paramètres biologiques du tissu adipeux, sur le cerveau et les interactions entre les deux organes.** Extrait de Mounien et al., 2019.

Autres rôles (œil, cancer...)

D'autres rôles relatifs à des effets-santé positifs sont associés aux caroténoïdes et leurs métabolites en dehors d'un contexte métabolique. Certaines études suggèrent, entre autres, leur rôle antitumoral dans un contexte de cancer, la prévention des maladies neurodégénératives, ou leur implication éventuelle dans la protection de la dégénérescence maculaire liée à l'âge, particulièrement concernant les pigments maculaires lutéine et zéaxanthine (Carpentier et al., 2009; Cicero & Colletti, 2017; Rowles & Erdman, 2020; Sharoni et al., 2012) (Figure 6).



## **Les caroténoïdes : des matrices végétales à la circulation sanguine**

### **Rôle et localisation chez les plantes supérieures**

Les caroténoïdes sont produits et accumulés dans les plastes, des organites endosymbiotiques subcellulaires essentiels qui ont évolué pour remplir des fonctions spécialisées dans les cellules végétales, notamment la photosynthèse, mais aussi la production et le stockage de métabolites. Ainsi, les plastes peuvent être divisés en plusieurs types en fonction de leur composition et de leur ultrastructure. Les plastes indifférenciés sont appelés "proplastés" et se trouvent principalement dans les tissus méristématiques et reproducteurs. Généralement, ils peuvent être différenciés en fonction de leur couleur puis de leur rôle dans la cellule. On distingue les "leucoplastes" sans couleur spécifique, les "chloroplastes" de couleur verte, due à la présence de chlorophylle et les "chromoplastes" de couleur jaune, orange ou rouge, provoquée par les caroténoïdes. D'autres formes dites « intermédiaires » de chloroplastes peuvent concerner les "étioplastes" et les formes sénescents de chloroplastes sont appelées "gérontoplastes". Les leucoplastes incolores peuvent être séparés en fonction de leurs caractéristiques biochimiques basées sur leur contenu, comme les "amyloplastés" riches en amidon, les "protéinoplastés" riches en protéines et les "élaioplastés" riches en lipides.

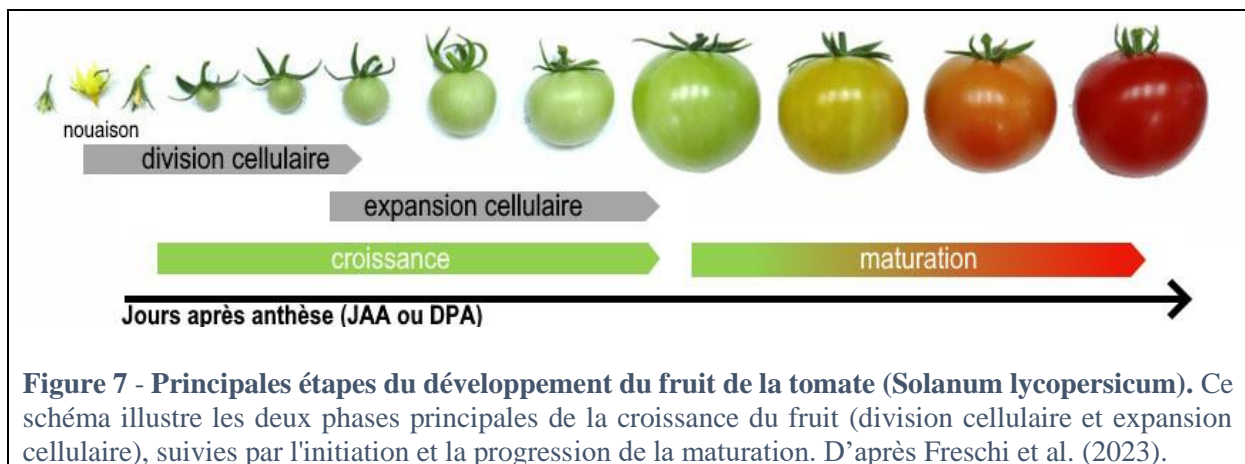
### **Les chloroplastes et la photosynthèse**

Les chloroplastes, en tant que sites de la photosynthèse, sont les plastes qui ont suscité le plus d'intérêt. Ils peuvent convertir l'énergie de la lumière en énergie chimique via des complexes appelés les photosystèmes. Lorsque la lumière atteint les chlorophylles situées dans les thylakoïdes (un ensemble de membranes contenant les photosystèmes) à l'intérieur des cellules, elle excite les électrons qui sont ensuite transférés le long de la membrane des thylakoïdes, alimentant ainsi le cycle de Calvin-Benson-Bassham (Calvin & Bassham, 1962; Lichtenthaler, 2007). Alors que les plastes ont une couleur verte dominante, l'appareil photosynthétique est également relativement riche de caroténoïdes tels que la lutéine, le  $\beta$ -carotène, la violaxanthine et la néoxanthine. Ces caroténoïdes acheminent l'énergie lumineuse en potentiel électrique pour la photosynthèse dans des gammes de longueur d'ondes complémentaires à celles des chlorophylles (UV-bleue) ; ils jouent également un rôle majeur dans la protection des structures en dissipant l'énergie d'excitation excédentaire de façon non rayonnante (Nonphotochemical Quenching (NPQ)) (Dall'Osto et al., 2005; Niyogi, 2000). En particulier, les caroténoïdes hydroxylés, ou xanthophylles, jouent un rôle important dans la photoprotection, soit en absorbant une partie de la fluorescence émise par la chlorophylle, soit en piégeant des espèces

réactives de l'oxygène (EROs) générées pendant la photosynthèse (Choudhury & Behera, 2001; Jahns & Holzwarth, 2012). Les plastes sont donc le siège de la photosynthèse, la photoprotection et la neutralisation des ROS (Choi et al., 2021), bien que cette dernière fonction soit plus spécifique des chromoplastes, en plus d'attirer les animaux pollinisateurs ou permettre la dispersion des graines comme énoncé précédemment.

### Ontogenèse des plastes au cours du développement du fruit

Le développement du fruit se découpe en une phase de croissance puis de maturation (Figure 7). La phase de croissance se caractérise par une première étape importante de division cellulaire de l'ovaire qui commence quelques jours avant la pollinisation, puis se stabilise pour laisser place au phénomène d'expansion cellulaire (Aslani et al., 2023). Ensuite, la transition d'un état de croissance vers un état de maturation implique peu de changements dans la taille du fruit mais un remodelage important du profil biochimique et de l'équilibre hormonal : le fruit change de couleur, perd son acidité et sa fermeté (Fenn & Giovannoni, 2021).



La tomate est un fruit climactérique dont la maturation est associée à un pic de production d'éthylène, qui est temporellement proche d'une surexpression du gène phytoène synthase 1 (*Psy1*), une enzyme régulatrice parmi les plus importantes dans la biosynthèse des caroténoïdes, responsable de la suraccumulation des caroténoïdes et de la pigmentation du fruit à cette étape. De par la proximité temporelle des phénomènes, l'éthylène a longtemps été décrit comme un régulateur majeur de l'accumulation des caroténoïdes dans le fruit. Cependant, le pic d'éthylène semble généralement être observé après un début de coloration du fruit et des études ont suggéré qu'il pouvait y avoir une interaction avec d'autres phytohormones comme l'acide abscissique, l'auxine, et les jasmonates de sorte que le rôle seul de l'éthylène seul ne semble pas suffisant pour expliquer l'accumulation des caroténoïdes (Kou et al., 2021; Lee et al., 2012; Liu et al., 2012; Quinet et al., 2019). Des analyses d'expression à haute résolution ont révélé des

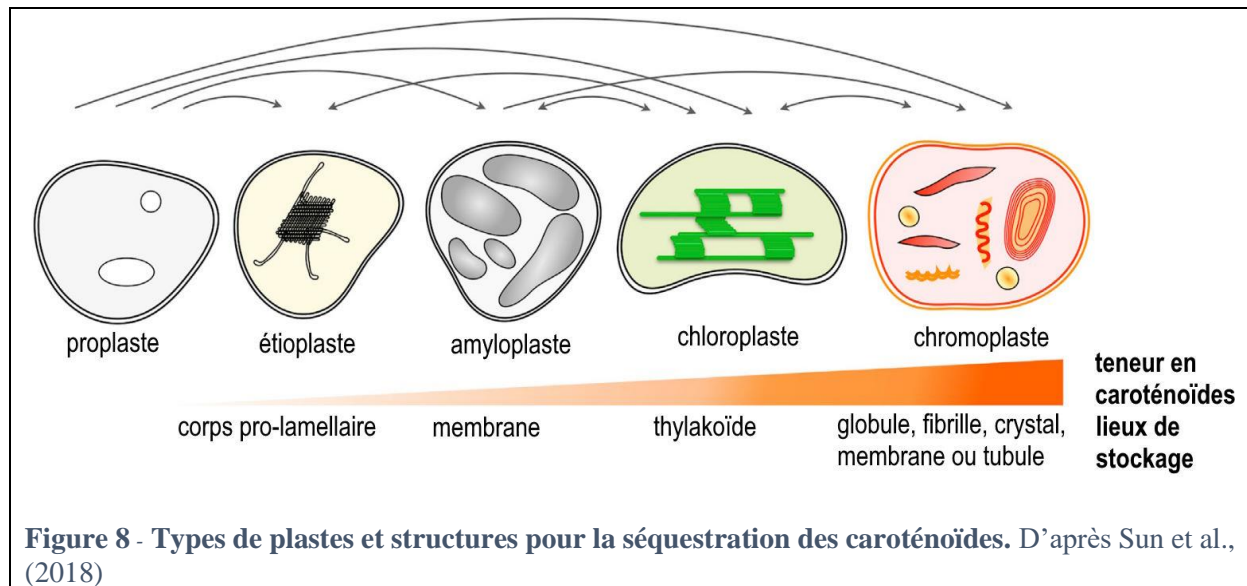
programmes complexes régulés de manière coordonnée entre les tissus (péricarpe, tissu loculaire, gel, graines) et les stades de développement (Shinozaki et al., 2018). Cependant, l'accumulation de caroténoïdes au stade mature et les activités de nombreuses enzymes impliquées dans la biosynthèse pendant le développement et la maturation ne sont pas toujours corrélés, ce qui appuie l'hypothèse selon laquelle la teneur finale en caroténoïdes pourrait être déterminée précocement par des facteurs liés aux chloroplastes (Bertin & Génard, 2018; Fanciullino et al., 2014). Chez les algues unicellulaires, qui ne possèdent généralement qu'un ou quelques chloroplastes par cellule, la division des chloroplastes se produit une fois par cycle cellulaire avant la cytokinèse (Miyagishima, 2011; Theg & Wollman, 2014). Chez les plantes vasculaires, le taux de multiplication des proplastides et des cellules est considéré comme étant le même que dans les cellules du méristème. Lorsque les cellules foliaires commencent à se différencier, les proplastides se différencient en chloroplastes. Au cours du développement des feuilles, la division cellulaire cesse, ce qui donne lieu à des cellules plus grandes. Pendant l'expansion des cellules foliaires, la division des chloroplastes se poursuit sans division cellulaire, mais le taux de division ralentit, ce qui entraîne une augmentation de la taille des chloroplastes (Miyagishima, 2011). Compte tenu de la relation que les plastides entretiennent avec la vie de la cellule, on peut supposer que les facteurs génétiques et environnementaux qui impactent les cycles de développement du fruit peuvent se répercuter sur les chloroplastes et, à plus long terme, les chromoplastes et la teneur du fruit en caroténoïdes.

### Formation des chromoplastes

Les chromoplastes peuvent être issus des proplastides (ex : pastèque (*Citrullus lanatus*), papaye (*Carica papaya*)), des leucoplastes (ex : carotte (*Daucus carota*)) ou des chloroplastes. Ce processus peut être irréversible (ex : tomate, poivron rouge (*Capsicum annuum*)) ou réversible (ex : certains agrumes) (Choi et al., 2021) (Figure 8). Ils sont impliqués dans l'accumulation des sucres, et des activités liées à la protection des systèmes cellulaires contre les ROS (Sierra et al., 2023). Ainsi, pour la tomate, l'analyse de la division des plastides dans les fruits a suggéré que la majorité de la division des plastides se produit pendant les stades d'expansion du fruit (Cookson et al., 2003; Egea et al., 2010). Le nombre de plastides resterait relativement constant une fois que la maturation commence. L'analyse au microscope électronique de coupes anatomiques de fruits révèle un remodelage des membranes internes des plastides, ainsi que la synthèse de nouvelles membranes, qui servent de sites pour la formation des cristaux de caroténoïdes, ce qui explique le changement de couleur du fruit du vert au rouge (pour la



majorité des géotypes) pendant sa maturation (Egea et al., 2010; Harris & Spurr, 1969; Simkin et al., 2007).



Ce sont les chloroplastes du fruit au stade mature vert qui perdent leur chlorophylle, et se transforment en chromoplastes qui accumulent massivement du lycopène et d'autres caroténoïdes. Ainsi, le contrôle de la différenciation des chromoplastes semble être une stratégie majeure pour la biofortification en augmentant à la fois la capacité de production et la capacité de stockage des caroténoïdes dans les tissus (Llorente et al., 2020; Torres-Montilla & Rodriguez-Concepcion, 2021).

### De la plante cultivée à l'absorption des caroténoïdes : des leviers pour augmenter la valeur santé des fruits.

#### Synthétiser – Stocker – Préserver

De manière générale, 3 stratégies principales peuvent être déployées pour augmenter la teneur en caroténoïdes du fruit mature. On parle de « *push-pull-block* » pour synthétiser ces stratégies, qui peuvent être mises en place à partir de la génétique, mais aussi en jouant sur les pratiques culturales et les traitements post-récolte (Morelli & Rodriguez-Concepcion, 2023; Sun et al., 2022; Zheng et al., 2020). Ces stratégies agissent comme levier en 1) augmentant la biosynthèse des caroténoïdes (« push »), 2) augmentant le stockage des caroténoïdes dans les structures (« pull ») et 3) limitant le catabolisme et donc la dégradation des caroténoïdes (« block »). Nous allons voir comment ces stratégies se mettent en place d'un point de vue variétal et génétique, et que cela peut impliquer également les conditions de production et de traitement des produits récoltés.



*Amélioration variétale : vers l'augmentation des teneurs en caroténoïdes*

En contrôlant le niveau d'expression de certains gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des caroténoïdes, il est possible de moduler la teneur en caroténoïdes des fruits matures par différents leviers génétiques et structuraux. Par exemple, des fruits de tomate issus des mutants hp1, hp2 et hp3 ont des teneurs plus élevées en caroténoïdes et un nombre et/ou volume de plastides dans les cellules plus élevé (Fanciullino et al., 2014; Nisar et al., 2015). Le mutant hp1 a un nombre de plastides plus élevé suite à une surexpression du gène codant pour l'UV-Damaged DNA-binding protein 1 (*Ddb1*). Une mutation du gène codant pour De-Etiolated 1 (*Det1*) du mutant hp2 joue sur la division des plastides qui est associée à des teneurs plus élevées en caroténoïdes du fruit mûr. Le mutant hp3 présente une lésion du gène codant pour la Zeaxanthin epoxydase (*Zep*), qui augmente les teneurs en caroténoïdes en augmentant la taille du compartiment associé aux plastides (nombre et taille), mais induit un phénotype dommageable avec une déficience à l'acide abscissique (ABA), phytohormone largement impliquée dans plusieurs mécanismes de défense des plantes et tout particulièrement la réponse au déficit hydrique (Zhang et al., 2006). Des données expérimentales issues d'autres mutants de tomate, *suffulta* (divergens), *flacca* et *sitiens* suggèrent que l'augmentation de la taille des plastides seule n'est pas suffisante pour augmenter la quantité de caroténoïdes accumulée dans le fruit mûr (Forth & Pyke, 2006; Galpaz et al., 2008). D'autres mutants associés à une surexpression des gènes codant la Phytoène synthase 1 (*Psy1*) voient leur quantité de précurseurs et de lycopène augmenter dans le fruit mature et ce, de façon indépendante des mécanismes éthylène dépendants associés à la maturation (Fraser et al., 2007). D'autres gènes ont été identifiés comme participant à la taille des plastides, leur nombre mais aussi à la densité de membrane des thylakoïdes qui sont des facteurs qui peuvent avoir un impact sur l'accumulation des caroténoïdes (Liu et al., 2015). Il convient de noter que la complexité du réseau de régulation génétique impliqué dans la production des pigments rend possible la hausse des teneurs en chlorophylle des fruits verts mais une baisse des caroténoïdes du fruit mature sur certains mutants (Shi et al., 2021).

Un autre levier structural a été identifié en lien avec les protéines structurales, les fibrillines, associées à la différenciation des chloroplastes et l'accumulation des caroténoïdes. Chez le poivron, les fibrillines stabilisent les membranes des plastides et limitent le catabolisme des caroténoïdes dans des zones fortement concentrées en pigment. Il a été démontré que la surexpression transgénique de certaines de ces protéines modifie les teneurs en caroténoïdes des fruits de la tomate, bien que cette stratégie protéique soit peu exploitée pour favoriser la

biofortification de ces fruits (Simkin et al., 2007; Singh & McNellis, 2011; Torres-Montilla & Rodriguez-Concepcion, 2021). Les caroténoïdes et plus particulièrement le  $\beta$ -carotène, se situent sur un « carrefour métabolique » (*metabolic hotspot*), car plusieurs hormones de plante impliquées dans la croissance de la partie végétative et/ou des racines ainsi que la réponse au stress sont des apocaroténoïdes (Felemban et al., 2019). Ainsi, par exemple, une étude récente a montré que la surexpression du gène codant la Lycopène  $\beta$ -Cyclase (*Lcyb*), augmente les niveaux de  $\beta$ -carotène du fruit, et que cela est associé à un rendement plus élevé et une meilleure réponse de la plante aux stress abiotiques comme la sécheresse (Mi et al., 2022). À ce propos, les auteurs suggèrent que « la manipulation de [*Lcyb*] pourrait être une stratégie à double avantage pour améliorer à la fois la robustesse des plantes et la valeur nutritionnelle des fruits ».

#### *Pratiques culturales : des effets variables*

Une littérature abondante décrit le lien entre les caroténoïdes accumulés dans les fruits matures et les conditions environnementales et/ou les pratiques culturales (Espley & Jaakola, 2023; Ilahy et al., 2019). En effet, il existe une régulation transcriptionnelle de nombreux gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des caroténoïdes par les conditions environnementales (quantité et composition du rayonnement lumineux, température, azote, salinité, déficit hydrique, etc.). Par exemple, il a été décrit que des tomates cultivées en plein champ ont des teneurs en lycopène plus élevées que les tomates du même génotype cultivées en serre (Ilahy et al., 2019), bien que cela ne soit pas systématique en fonction de l'éclairage utilisé en serre (Meng et al., 2022). De nombreux facteurs de régulation sont impliqués et révèlent des mécanismes complexes qui peuvent interagir (Stanley & Yuan, 2019). Les stress abiotiques et leur combinaison augmentent les risques de productions de ROS dans les tissus, ce qui induit des mécanismes de réponse adaptatifs qui impliquent le statut redox et potentiellement la voie de biosynthèse des caroténoïdes, via leur action antioxydante et/ou leur rôle en tant que précurseurs de phytohormones impliquées dans la réponse des plantes face au stress (Nisar et al., 2015).

Dans le cas du déficit hydrique (DI), tout autres facteurs confondus, il est considéré comme un moyen efficace pour augmenter les teneurs en caroténoïdes des fruits (Poiroux-Gonord et al., 2010; Ripoll et al., 2016). Plusieurs situations peuvent être à l'origine du déficit hydrique subi par les plantes. Il peut s'agir d'un déficit hydrique du sol dû à une évapotranspiration supérieure aux réserves utiles en eau du sol. Il peut autrement s'agir d'un déficit hydrique piloté par l'irrigation pour réduire les intrants en eau et/ou améliorer la qualité des produits récoltés (Nora

et al., 2012). Par exemple, une étude indique que deux courtes périodes (10 jours) de DI (40-50% d'humidité du sol) appliquées à des plants de tomates ont permis d'augmenter la teneur en caroténoïdes des fruits récoltés après la période de récupération, en raison d'une augmentation de l'activité de l'enzyme antioxydante (superoxyde dismutase) pendant le stress (Stoeva et al., 2012). Pour la vigne, plusieurs études indépendantes ont montré que la limitation de l'eau augmente la teneur en composés aromatiques en particulier les volatils de dégradation des caroténoïdes (norisoprénoïdes), qui confèrent aux baies et au vin un caractère plus fruité (Ripoll et al., 2014). Pour la tomate, les données de la littérature sont largement contradictoires au sujet de l'impact des différents facteurs sur l'accumulation des CAR, de sorte qu'il est difficile de généraliser quel sera l'effet d'un DI sur les fruits en dehors d'un contexte bien spécifique. Pour expliquer de telles différences dans les résultats disponibles, il est utile de rappeler qu'il existe un grand nombre de facteurs confondants. Ainsi, alors que notre contexte d'étude est centré sur le DI, il convient de garder à l'esprit que ces autres facteurs peuvent également contribuer au changement des teneurs en CAR des fruits. Pour illustrer cela, une liste non exhaustive de facteurs concernés sont listés ci-dessous (Tableau 2).

**Tableau 2 - Facteurs principaux à considérer dans l'évaluation de la teneur en CAR des fruits de tomate, de façon générale ou dans un contexte de déficit hydrique, d'après les données de la littérature.**

Contexte	Facteur confondant	Exemple	Conséquence(s)	Références abondant ce sujet concernant les CAR
De façon générale	Lieu de production	Serre vs. Plein champ Méditerranée vs. Chine	Changements dans la quantité et nature de la lumière perçue par les plantes, volume de sol exploré par les racines, température, amplitude thermique, précipitations...	(Coyago-Cruz et al., 2018; Dorais et al., 2008; Gautier et al., 2008)
	Biodiversité du sol	Présence de bactéries dans la rhizosphère, développement d'un mycélium extra-radical après inoculation	Les fruits des plantes colonisées par le mycélium peuvent avoir des teneurs en caroténoïdes plus élevées.	(Aguilera et al., 2022; Bona et al., 2018; Schubert et al., 2020)

	Génotype	Tomate de bouche (cerise vs gros calibre), de plein champ, mutant...	Changements de taille de fruit, allocation du carbone, du profil de microconstituants, ...	(Coyago-Cruz et al., 2018; Flores et al., 2017; J. Lu et al., 2021; Petrović et al., 2019)
	Zone du fruit considérée	Fruit entier ? Retrait du gel et des graines ?	La teneur en CAR n'est pas homogène dans tous les tissus du fruit.	(Chandra et al., 2012; Tamasi et al., 2019)
	Stade de maturité	Fruit mature, fruit sur-mature	La teneur en CAR du fruit est largement dépendante de son niveau de maturation.	(Coyago-Cruz et al., 2018; Dorais et al., 2008; Riggi et al., 2008)
	Caroténoïdes considérés	Somme des CAR dosés avec un standard ? Somme des CAR putatifs ? Lycopène seul ?	La teneur totale en CAR peut considérablement varier selon ceux qui sont considérés. Tous les CAR ne sont pas accumulés et impactés de la même façon en fonction des interactions génotype x environnement (GxE).	(Pecinar et al., 2021; Ripoll et al., 2016)
	<b>Particulièrement dans un contexte de déficit hydrique</b>	Intensité, durée et type du déficit	Réduction des volumes d'irrigation contrôle ou réduction en termes de potentiel d'évapotranspiration ? Déficit continu ou cycles de dessiccation/réhumectation ? De la phase d'anthèse à la récolte ou tout au long du développement végétatif ?	Modifie la réponse de la plante en adaptation. Le stress n'a pas le même effet selon le stade développement auquel il est appliqué.
Substrat utilisé		Sol argileux, sol sableux	La texture et la densité apparente du sol changent, impactant le potentiel hydrique du sol et le stress ressenti, donc le développement	(Alordzinu et al., 2022; J. Lu et al., 2021)

			des fruits et leur qualité.	
	Calcul des résultats	Expression des teneurs par quantité de matière fraîche ou matière sèche	Effet dilution des métabolites en condition témoin. Le déficit hydrique peut avoir pour effet de diminuer la teneur en eau des fruits et d'augmenter la concentration des composés d'intérêt par unité de matière fraîche.	(Génard et al., 2014; Petrović et al., 2019; Ripoll et al., 2016)
	Cumul et interactions de ces facteurs		Le déficit hydrique n'impacte pas toutes les zones du fruit au même moment, et tous les CAR ne sont pas impactés de la même façon par les conditions GxE.	(Aslani et al., 2023; González-Chavira et al., 2018; Pećinar et al., 2021)

### *Procédés post-récolte*

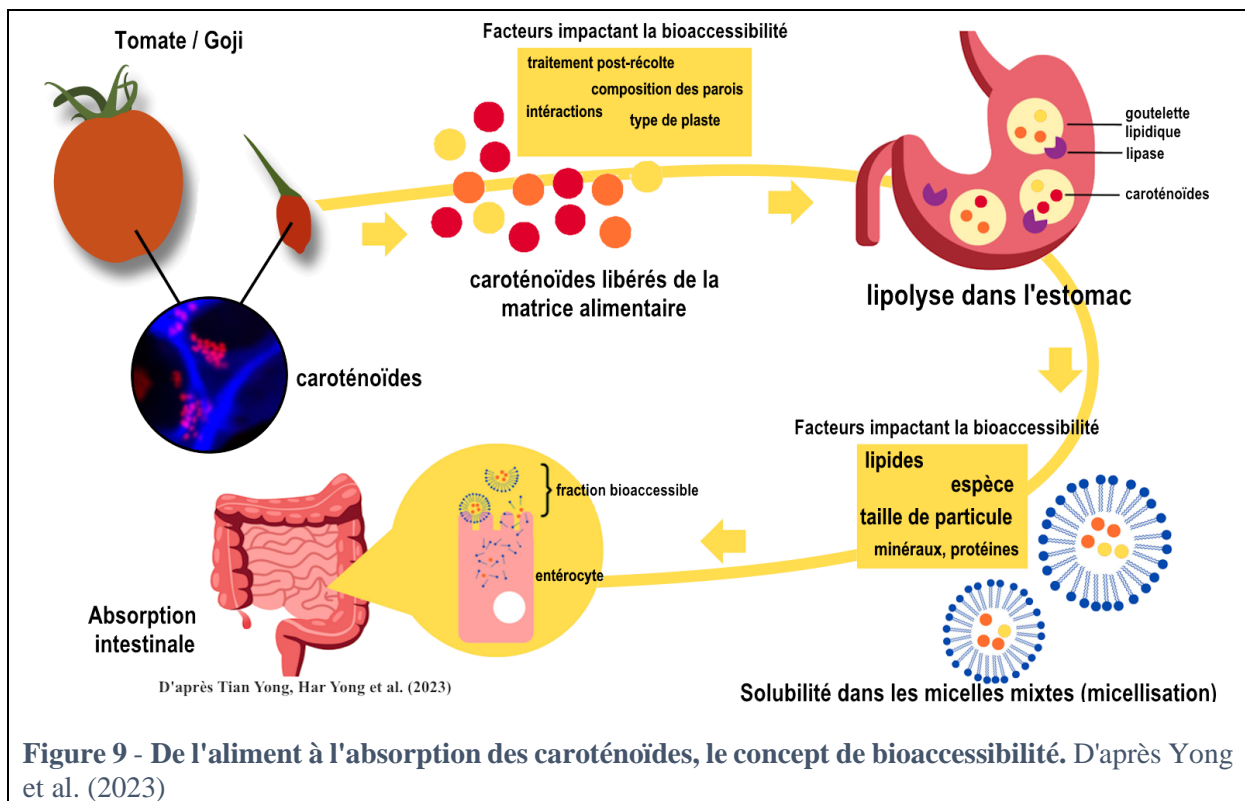
Les fruits à haute teneur en humidité comme la tomate ou la baie de goji sont hautement périssables et peuvent faire l'objet de contaminations microbiennes et/ou fongiques très rapidement après la récolte en l'absence d'un traitement de conditionnement ou de transformation (Meng et al., 2022). Pour limiter les pertes, tout en offrant une diversité des usages du produit alimentaire, un éventail de traitements post-récolte sont disponibles selon le mode de consommation recherché : stockage en chambre froide avant distribution, procédé de transformation et stérilisation, etc. En plus d'allonger la durée de vie du produit récolté, ces traitements peuvent avoir un impact sur les microconstituants des fruits. De par leur effet anti-oxydant, les caroténoïdes et les polyphénols, sont dégradés lors des phénomènes d'oxydation, particulièrement quand l'intégrité du tissu, qui assure leur stabilité, n'est pas maintenue après un procédé de transformation/cuisson (Wang et al., 2022). Les traitements thermiques appliqués lors de la cuisson en vue de pasteuriser ou stériliser le produit pour un stockage de longue durée (appertisation) affectent les caroténoïdes avec plusieurs mécanismes identifiés impliquant une isomérisation d'une ou plusieurs doubles liaisons, l'oxydation et éventuellement le clivage de

ces molécules. En conséquence, la quantité de ces molécules bioactives diminue, et leurs produits dérivés ne conservent plus les mêmes propriétés biologiques qu'à l'état original. Néanmoins, les dégradations des caroténoïdes et polyphénols restent en général de faible ampleur dans les procédés thermiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En effet, ces étapes de transformation sont de courte durée et principalement réalisées sous vide et/ou à haute température avec de faibles concentrations d'oxygène dissous. La présence d'autres molécules aux potentiels d'oxydo-réduction plus faible comme l'acide ascorbique, permet également de maximiser leur stabilité (Renard et al., 2014). Les broyages et traitements thermiques ont pour effet de déstructurer la matrice végétale, ce qui va favoriser la micellisation des caroténoïdes lors de la consommation (Meng et al., 2022; Renard et al., 2014; Wang et al., 2022). Par exemple, la transformation de la tomate a un effet largement positif sur la bioaccessibilité du  $\beta$ -carotène et du lycopène en multipliant par plus de 10 la bioaccessibilité de ces composés dans un modèle de digestion *in-vitro* (Reboul et al., 2006).

#### *Solubilisation et incorporation des caroténoïdes dans les micelles mixtes au cours de la digestion*

Les caroténoïdes faisant partie des phytomicroconstituants lipophiles, ils partagent des caractéristiques similaires au transport et à l'absorption d'autres composés lipidiques, bien qu'il semble exister des distinctions spécifiques à chaque phytomicroconstituants (Borel, 2003; Desmarchelier, 2020). Dans la lumière du tube digestif, les caroténoïdes se trouvent dans des structures permettant la solubilisation des lipides, c'est-à-dire des micelles mixtes. Les micelles sont des particules colloïdales sphériques de taille nanométrique, avec un cœur hydrophobe et une surface hydrophile. Elles sont formées par l'agrégation de molécules amphiphiles auto-assemblées ou de tensioactifs dans des solutions (Borel, 2014). Les micelles mixtes sont un mélange de systèmes amphiphiles (y compris des surfactants, des polymères et des copolymères) qui forment des agrégats micellaires. Elles présentent des caractéristiques différentes de celles des amphiphiles individuels (Rana et al., 2017). L'incorporation des caroténoïdes dans ces structures est essentielle pour qu'ils puissent franchir la paroi intestinale et être biodisponibles (Figure 9). La biodisponibilité, c'est-à-dire la proportion de caroténoïdes, ou de l'un de leurs métabolites qui est disponible pour être utilisée ou stockée par l'organisme, est très variable : des valeurs comprises entre 3,5 % et 90 % ont été rapportées pour le  $\beta$ -carotène (Haskell, 2012), et les données plus récentes suggèrent que cette biodisponibilité est variable d'un caroténoïde à l'autre, en impliquant des facteurs liés à la fois à l'aliment (matrice alimentaire, lipides, quantité et nature des microconstituants liposolubles) et à l'hôte (maladies, mode de vie, âge et genre, variations génétiques et polymorphismes nucléotidiques). Elle

dépend en amont de l'efficacité de l'extraction de la matrice alimentaire vers les micelles mixtes (c'est-à-dire de la bioaccessibilité), de l'efficacité de l'absorption par les entérocytes, du transport sanguin, de l'efficacité de l'absorption par les tissus cibles et de l'élimination par les tissus (par le catabolisme, par exemple) (Tableau 3) (Böhm et al., 2021; Desmarchelier & Borel, 2017). Au niveau des entérocytes, plusieurs transporteurs lipidiques jouent un rôle dans l'absorption des caroténoïdes par les cellules intestinales, notamment le récepteur Scavenger class B type I (SR-BI), le CD36, et le transporteur NPC1-like 1 (NPC1L1). Cependant, une fraction des caroténoïdes peut également être absorbée par diffusion passive, dépendant de leur concentration dans la lumière intestinale. La régulation de l'expression des transporteurs de caroténoïdes dans l'entérocyte est influencée par divers facteurs. Les caroténoïdes provitamine A, à travers une régulation rétroactive, contrôlent en partie l'activité de SR-BI. D'autres facteurs liés à la matrice alimentaire (comme les lipides, les polyphénols) ou à l'organisme hôte (par exemple, la résistance à l'insuline) pourraient influencer l'expression des récepteurs SR-BI, CD36, NPC1L1. Ceci pourrait, en retour, affecter directement l'absorption des caroténoïdes (Reboul, 2019).



Que ce soit pour les caroténoïdes ou d'autres molécules bioactives, on peut résumer les facteurs qui impactent leur libération/bioaccessibilité/biodisponibilité avec l'acronyme « SLAMENGI », dont la signification est rapportée ci-dessous dans le tableau 3.

**Tableau 3 - Principaux facteurs impactant la libération, bioaccessibilité, biodisponibilité et bioconversion des phytomicroconstituants. Cas d'étude sur les caroténoïdes. D'après Castenmiller & West (1998) et Desmarchelier & Borel (2017).**

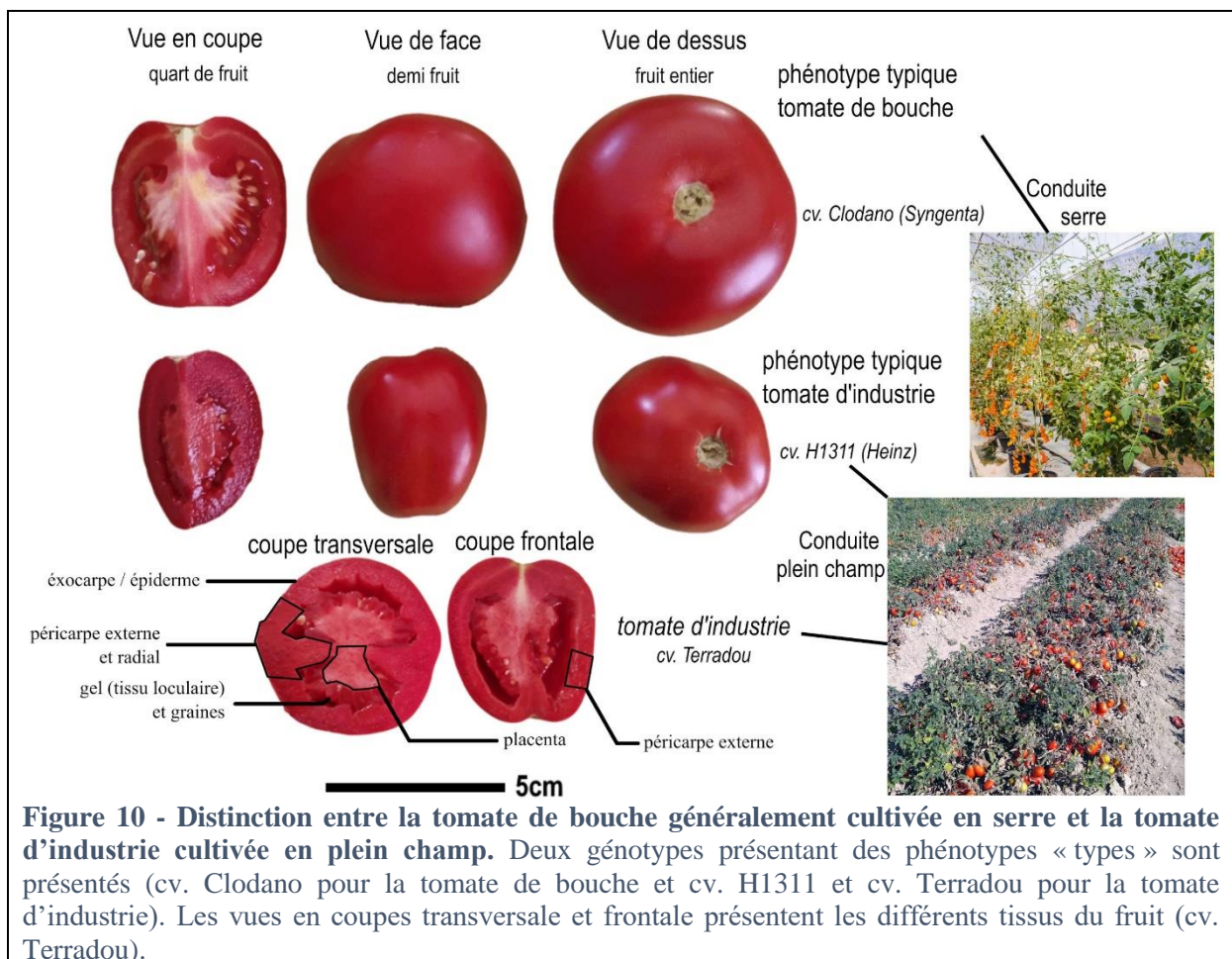
	<b>Facteurs à considérer</b>	<b>Exemple(s)</b>
<b>Species of microconstituents</b>	Propriété physico-chimique. Isomérisation <i>cis</i> / <i>trans</i> . Capacité de bioconversion.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Biodisponibilité <i>cis</i>-<math>\beta</math>-carotène &gt; tout-<i>trans</i>-<math>\beta</math>-carotène.</li> <li>- ~100% de bioconversion du <math>\beta</math>-carotène en précurseur de vitamine A mais seulement ~50% pour la <math>\beta</math>-cryptoxanthine.</li> </ul>
<b>molecular Linkage</b>	Estérification.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bioaccessibilité des diesters de lutéine &gt; lutéine.</li> <li>- Bioaccessibilité zeaxanthine dipalmitate <math>\approx</math> zeaxanthine (Hempel et al., 2017).</li> </ul>
<b>Amount of microconstituents consumed</b>	Type de bolus.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- A dose totale égale, la concentration de <math>\beta</math>-carotène dans le sérum est trois fois plus élevée lorsqu'il est administré en plusieurs repas plutôt qu'en une seule dose (bolus).</li> </ul>
<b>Matrix</b>	Emulsion. Présence de lipides. Structure de l'aliment. Profils de micronutriments de l'aliment.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Variabilité de la bioaccessibilité du <math>\beta</math>-carotène ou du lycopène selon l'aliment et le conditionnement post-récolte.</li> <li>- Toutes les tomates n'ont pas le même profil de composition en caroténoïdes (Flores et al., 2017).</li> </ul>
<b>Effectors</b>	Bol alimentaire. pH gastrique. Médication éventuelle.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les protéines stabilisent les émulsions et favorisent la micellisation.</li> <li>- Les acides gras à longue chaîne favorisent l'absorption des vitamines liposolubles.</li> <li>- Réduction du <math>\beta</math>-carotène dans le sérum lorsqu'il est supplémenté avec des pectines.</li> </ul>
<b>Nutrient status of host, Genetic factors, and Host-related factors</b>	Carences alimentaires. Sexe. Tabagisme. âge. SNPs.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- La consommation d'aliments riches en <math>\beta</math>-carotène chez l'homme entraîne une augmentation des taux sériques de rétinol seulement lorsque ceux-ci sont initialement bas.</li> <li>- Des mutations génétiques peuvent générer des disparités dans la biodisponibilité des caroténoïdes (Desmarchelier et al., 2018; Zumaraga et al., 2023).</li> </ul>
<b>Interactions</b>	Combinaison d'au moins deux des facteurs cités précédemment.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Peu de données sont disponibles pour décrire les interactions entre facteurs, souvent étudiés de façon indépendante (Borel, 2003).</li> </ul>



## Des matrices riches en caroténoïdes : cas de la tomate et de la baie de goji

### La tomate et la tomate d'industrie

La tomate a été introduite en Europe au XVI<sup>e</sup> siècle depuis l'Amérique du Sud et sa domestication s'est poursuivie à un niveau beaucoup plus intense dans toute l'Europe aux XVIII<sup>e</sup> et XIX<sup>e</sup> siècles (Sims, 1980). Plus récemment, et particulièrement pendant le 20<sup>e</sup> siècle, avec les activités de domestication, de recherche et de sélection mises en œuvre par les scientifiques et sélectionneurs, des variétés de tomates ont été développées avec une grande diversité de morphologies, couleurs et tailles de fruits. De façon générale et à l'échelle des systèmes de production, des traits qui améliorent la taille des fruits et proposent une plus grande homogénéité du stade de maturation pour faciliter la récolte ont été sélectionnés, souvent au détriment de la qualité organoleptique et nutritionnelle (Powell et al., 2012; Zhao et al., 2019). On distingue deux principaux usages et systèmes de production pour la tomate, à savoir la tomate dite « de bouche » consommée fraîche et la tomate dite « d'industrie » consommée transformée (Figure 10).



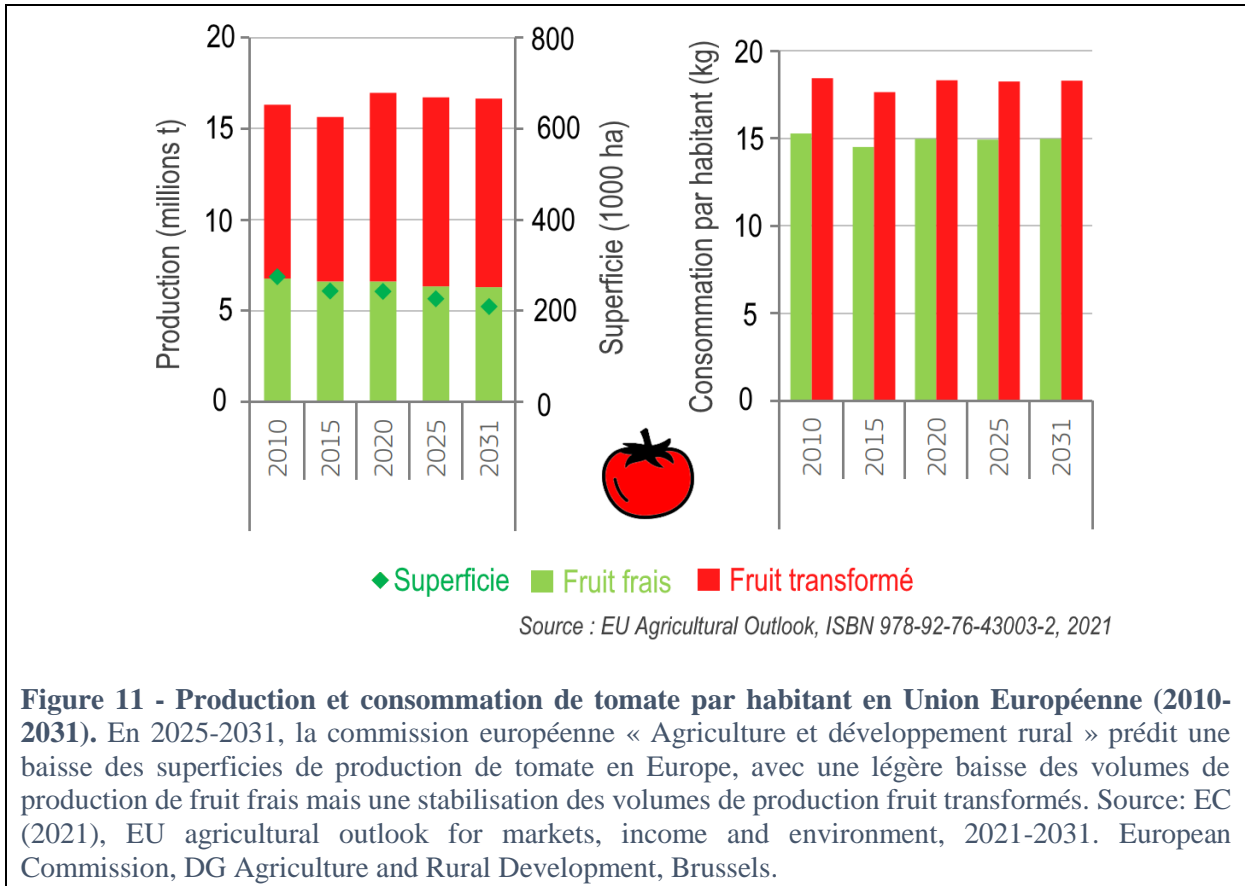
En 2017, il a été estimé que les Américains (USA) ont consommé 9,2 kg de tomates fraîches et 33,2 kg de produits transformés à base de tomates par habitant (Wu et al., 2022). Pour les Européens, l'écart est moins prononcé : la consommation est d'environ 15 kg par habitant et par an de fruits frais et 17.5 kg par habitant et par an de fruits transformés, un niveau relativement stable observé depuis 2010 et qui est projeté de se maintenir jusqu'en 2031 (EU Agricultural Outlooks, 2021) (Figure 11). De façon majoritaire en termes de volumes de production, la tomate dite « d'industrie » cultivée en plein champ et récoltée de façon mécanique a vocation à être transformée, avec des fruits frais plus résistants aux chocs, qui se détachent facilement du pédicelle (phénotype « *jointless* ») et qui offrent des traits sélectionnés pour la transformation : teneur en matière sèche élevée, viscosité adaptée à la chaîne de transformation pour la production de purée et de concentré (Ronga et al., 2019; Wing et al., 1994). C'est donc ce type de tomate qui va être utilisée pour la production de produits à base de tomate : sauces, jus, concentrés ou poudre sèche. La deuxième forme de consommation est associée à la tomate dite de bouche (usages type : en salade ou consommées telles quelles) et récoltée à la main car plus fragile, produite en serre et avec une teneur en eau généralement plus élevée présentant une grande diversité de formes, couleurs, etc.

#### *Production (Lieux et volumes, Enjeux de la filière)*

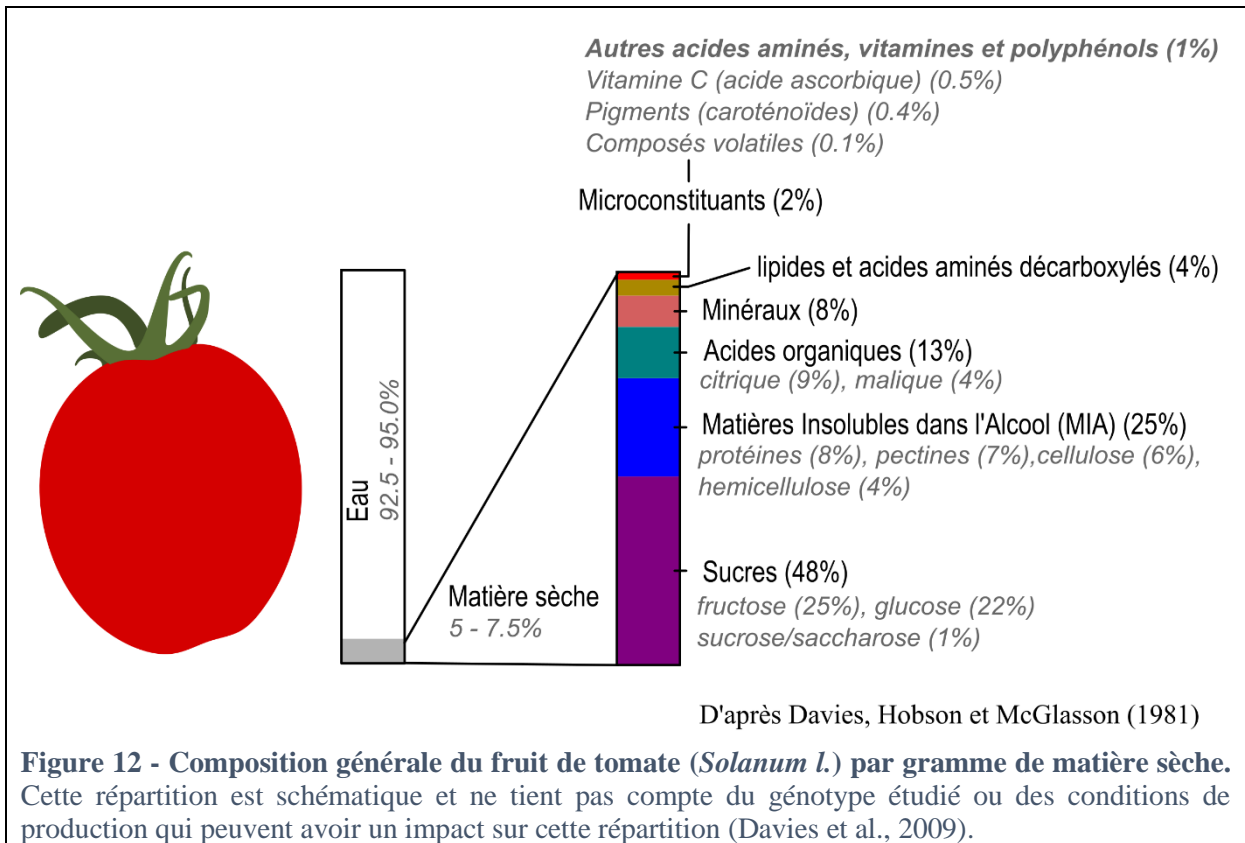
La tomate (*Solanum lycopersicum*) est aujourd'hui présente et consommée dans le monde entier et elle peut être considérée comme l'une des premières cultures maraîchères, avec un rendement mondial total en hausse, estimé à 153 millions de tonnes en 2010, 182 millions de tonnes en 2019 et 189 millions de tonnes en 2021 (FAOSTAT, <https://www.fao.org/faostat/en/#home>).

#### *Composition Générale*

La composition du fruit de tomate dépend de plusieurs facteurs comme son stade de développement, son génotype, les conditions de production et de l'environnement pédoclimatique ainsi que des interactions pouvant exister entre ces différents facteurs. Le premier élément de sa composition, l'eau, peut être un paramètre important à contrôler pour concentrer la matière sèche du fruit et rehausser la qualité gustative du fruit et sa teneur en macro et micronutriments par gramme de fruit frais. La tomate contient également des quantités non négligeables de sucres (glucose, fructose, saccharose), d'acides (citrique, malique), de composés organiques volatils ainsi que de polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes) et de caroténoïdes (Bertin & Génard, 2018; Collins et al., 2022) (Figure 12).



**Figure 11 - Production et consommation de tomate par habitant en Union Européenne (2010-2031).** En 2025-2031, la commission européenne « Agriculture et développement rural » prédit une baisse des superficies de production de tomate en Europe, avec une légère baisse des volumes de production de fruit frais mais une stabilisation des volumes de production fruit transformés. Source: EC (2021), EU agricultural outlook for markets, income and environment, 2021-2031. European Commission, DG Agriculture and Rural Development, Brussels.



**Figure 12 - Composition générale du fruit de tomate (*Solanum l.*) par gramme de matière sèche.** Cette répartition est schématique et ne tient pas compte du génotype étudié ou des conditions de production qui peuvent avoir un impact sur cette répartition (Davies et al., 2009).

### Caroténoïdes

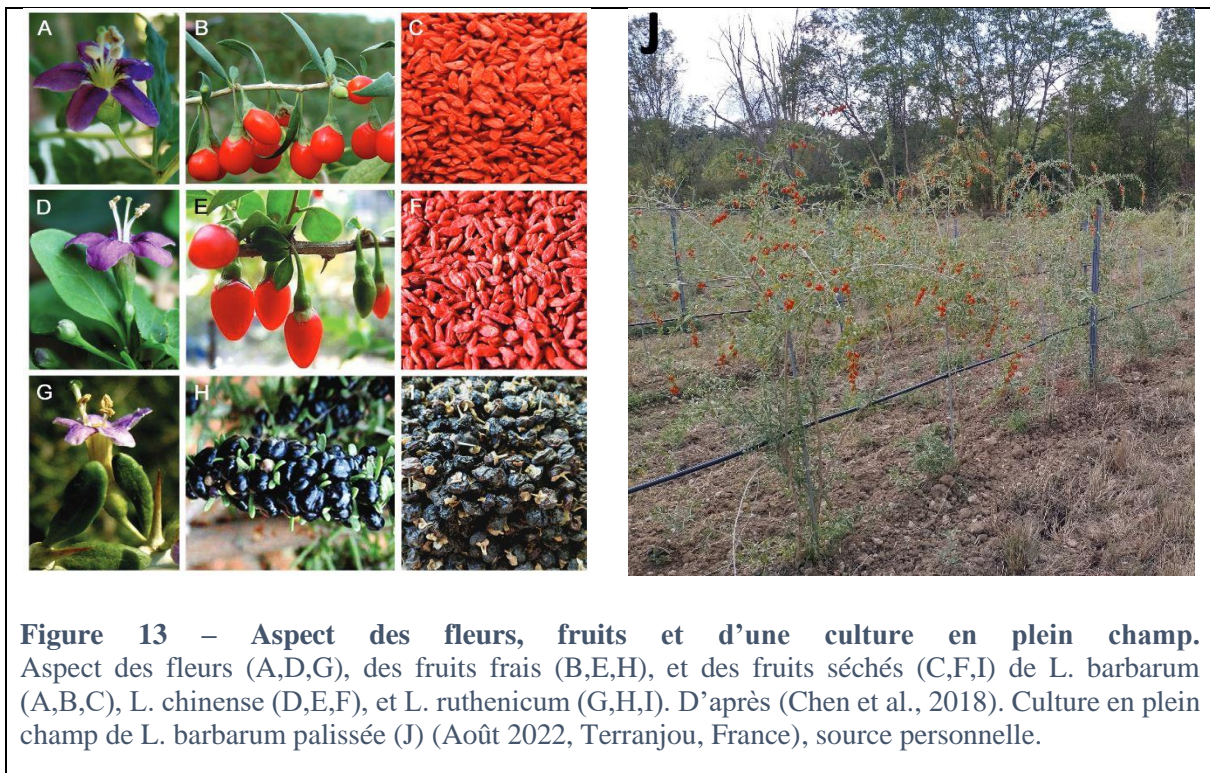
Généralement, le principal caroténoïde caractéristique de la tomate et de sa couleur rouge est le lycopène. Parmi les autres principaux caroténoïdes présents dans la tomate, on peut citer le phytoène, le phytofluène, le  $\beta$ -carotène et la lutéine mais les types et les concentrations de caroténoïdes dans les tomates varient considérablement en fonction des cultivars, du stade de maturité, des facteurs environnementaux et des conditions de culture (Flores et al., 2017; Ilahy et al., 2019). En termes d'isomérisation, le lycopène et les autres caroténoïdes sont principalement présents dans la configuration tout-*trans* (également appelée isomères tout-E) dans les tomates. Les formes *cis* (isomères Z) des caroténoïdes, telles que le lycopène 5-*cis*, 9-*cis*, 13-*cis* et 15-*cis*, existent également à l'état naturel dans les tomates. Leurs pourcentages dépendent des variétés et sont fortement influencés par le stade de maturité. Une étude a montré que, du vert au rouge, le pourcentage des formes *cis* du lycopène pouvait largement varier allant de 0% sur le fruit vert jusqu'à 8,83 % ou 14,22 % selon la variété pour le fruit mûr (García-Valverde et al., 2013).



## La baie de goji

### Origines, usages et production

Le genre *Lycium* (lyciet commun) appartient à la famille des Solanacées, comme la tomate, et comprend à ce jour 80 espèces d'arbustes à feuilles caduques dont la morphologie et la structure sont très similaires. Les fruits sont des baies ellipsoïdes, mesurant généralement entre 1 et 2 cm et de couleur variable allant du noir à l'orange vif ou rouge (Figure 13). Ces espèces poussent dans des régions distinctes, réparties dans les zones tempérées et subtropicales d'Amérique du Nord, d'Amérique du Sud, d'Afrique australe, d'Eurasie et d'Australie (Cao et al., 2021). Ce genre est utilisé comme aliment courant en Asie du Sud-Est. Deux espèces en particulier, *L. barbarum* et *L. chinense*, sont largement utilisées comme herbes médicinales traditionnelles chinoises et on estime qu'une grande majorité de tous les produits commerciaux disponibles en Chine appartiennent à l'espèce *L. barbarum* (Yao et al., 2018). Il est probable que ces espèces originaires d'Asie ont une origine Africaine où on trouve historiquement une troisième espèce, *L. ruthenicum* également décrite comme une espèce médicinale (Cao et al., 2021; Rao et al., 2019). Les fruits issus de ces trois espèces sont appelés « 枸杞 » [gǒuqǐ] en Chine, ce qui leur a valu le nom de « goji » ou « baie de goji » (FR) et « goji berry » (EN) dans les pays occidentaux, bien que le terme « wolfberry » (EN) soit également largement utilisé (J. Yang, 2015).



**Figure 13 – Aspect des fleurs, fruits et d'une culture en plein champ.** Aspect des fleurs (A,D,G), des fruits frais (B,E,H), et des fruits séchés (C,F,I) de *L. barbarum* (A,B,C), *L. chinense* (D,E,F), et *L. ruthenicum* (G,H,I). D'après (Chen et al., 2018). Culture en plein champ de *L. barbarum* palissée (J) (Août 2022, Terranjou, France), source personnelle.

Les fruits sont utilisés comme aliment fonctionnel depuis au moins 2000 ans et leur consommation est historiquement associée à de nombreuses vertus : « anti-âge, purifie le foie et les reins, améliore la fertilité, soulage les douleurs abdominales, la fatigue et les maux de tête » (Gao et al., 2017; Ke et al., 2022). Bien que les baies de goji séchées soient le produit dérivé le plus populaire et consommées dans le monde entier, elles peuvent également être consommées fraîches ou transformées comme des jus, liqueurs, vin et produits cosmétiques (Ye et al., 2020). Les baies de gojis séchées se sont probablement popularisées pour des raisons de conservation et de transport en raison d'une mauvaise conservation des fruits frais, hautement périssables. De la même façon, les feuilles séchées sont parfois utilisées en infusion pour leur valeur santé (Lei et al., 2022). La production de baies de goji est estimée à plus de 25 000 tonnes annuelles en Chine, alors que le reste de la production mondiale est peu documentée à ce jour (Lu et al., 2021). En 2023, la production en Asie est estimée à 71,2% de la production mondiale contre 1.3% pour l'Europe (Teixeira et al., 2023). En Europe, l'intérêt nutritionnel des baies a été mis en avant seulement à partir des années 2000 (Jacquenot et al., 2017). Pourtant, le lyciet est connu et consommé depuis plus longtemps, car il n'entre pas dans la catégorie des « Novel Foods » (Daniells, 2007). Par exemple, la première mention de *L. barbarum* en Ile de France date de 1861, et il est aujourd'hui classé parmi les « espèces exotiques envahissantes potentielles largement implantées » en Ile de France (Wegnez, 2022; Wegnez, 2018).

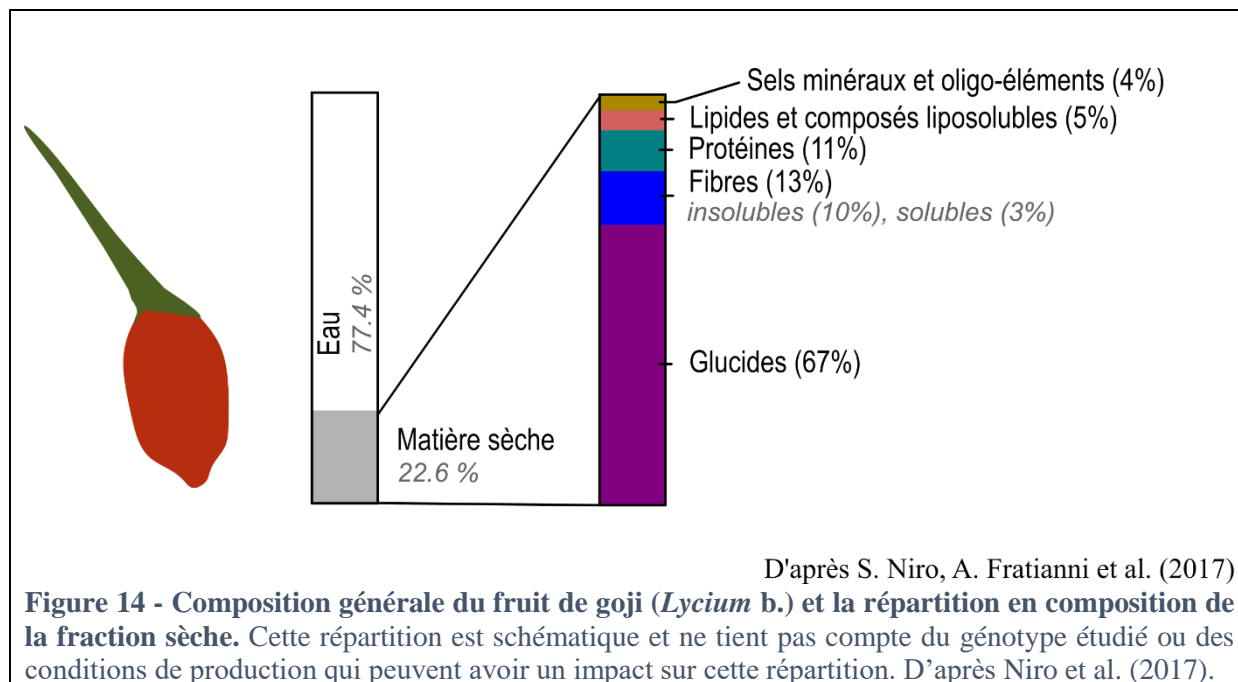
#### *Développement du fruit*

Contrairement à la tomate, peu de données sont disponibles concernant le développement du fruit du goji. Par exemple, le type de maturation du fruit n'est pas très bien défini et certaines références récentes peinent à trouver un consensus (climactérique ou non) (Bu et al., 2019; Fatchurrahman et al., 2022). D'autres travaux récents suggèrent qu'il existe de nombreux régulateurs transcriptionnels communs entre la tomate et le goji et des gènes orthologues ont été proposés jouant un rôle similaire dans les étapes de nouaison, croissance et maturation (Annexe du chapitre 1, Figure supplémentaire 1, Cao et al., 2021).

#### *Composition générale*

Plusieurs sources évoquent cet aliment comme un « superfruit », compte tenu de sa composition et des vertus qui lui sont associées. Sa composition implique une large diversité de composés bioactifs comme des polysaccharides, des composés phénoliques, acides gras, caroténoïdes, acide ascorbique, tocophérols et minéraux (Kulczyński & Gramza-Michałowska, 2016) (Figure 14). En tenant compte des apports nutritionnels conseillés (Recommended Daily Allowance, RDA), les fruits peuvent être déclarés comme sources de plusieurs oligo-éléments essentiels

(K, P, Cu, Fe Mn, Zn) mais aussi comme des sources potentielles de vitamine E et C, que ce soit pour le fruit frais ou le fruit séché (Niro et al., 2017).



Concernant d'éventuels effets délétères de la consommation de goji, plusieurs cas d'allergie alimentaires ont été rapportés. Les allergies peuvent peut-être être liées à des protéines propres au fruit (protéine de transfert lipidique, énoïase,  $\beta$ -glucosidase) ou s'expliquer par une réaction aux sulfites potentiellement ajoutés pour la conservation lors du traitement post-récolte des fruits chez les patients intolérants à ces derniers (Jacquet et al., 2017).

#### *Lycium barbarum polysaccharides (LBPs)*

Les polysaccharides semblent être le groupe de composés bioactifs le plus important et le plus abondant dans les baies de Goji, et peuvent représenter en moyenne de 5 à 8 % de la matière sèche totale des fruits. Compte tenu de leur importance, un terme dédié a émergé dans la littérature pour désigner ces polysaccharides, les « *Lycium barbarum polysaccharides* » (LBPs). Ainsi, plusieurs travaux détaillent des méthodes d'extraction, mais aussi des effets-santé associés à la supplémentation en LBPs (Ma et al., 2022). Par exemple, des rats femelles alimentées sous un régime à haute teneur en lipides (HFD) et supplémentées pendant 12 semaines à des doses de  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  de LBPs ont vu une amélioration significative de l'état de stéatose hépatique (NASH) induite par le régime HFD comparé aux animaux non supplémentés, via une amélioration du métabolisme des lipides, une diminution du stress oxydant, de l'inflammation et de l'apoptose, suggérant que les LBPs ont un potentiel hépatoprotecteur dans un contexte de stéatose induite par l'obésité (Xiao et al., 2013). Que ce soit chez des rats

diabétiques induits par la streptozotocine ou l'alloxan ou chez l'humain diabétique, des effets hypoglycémiques et/ou hypolipidémiques associés à la supplémentation avec une partie ou la totalité de LBPs du fruit ont été relevés par plusieurs études (Masci et al., 2018). Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués, comme des effets sur la régulation du cycle de l'acide citrique, des effets anti-inflammatoires, ou une régulation du microbiote intestinal (Liu et al., 2022).

### Caroténoïdes

La couleur rouge-orangée caractéristique des baies de *Lycium barbarum* est due aux caroténoïdes, qui représentent seulement entre 0,03 et 0,5% du fruit séché (Niro et al., 2017). La baie de goji a des teneurs remarquables en zéaxanthine, accumulée sous forme estérifiée (zéaxanthine dipalmitate), pouvant aller jusqu'à 1610 mg kg<sup>-1</sup> MS et représenter jusqu'à 80% des caroténoïdes totaux du fruit (Hempel et al., 2017; Karioti et al., 2014; Patsilidakos et al., 2018; Steingass & Schweiggert, 2020). À titre de comparaison, le jaune d'œuf et le maïs qui sont généralement considérés comme des sources importantes en contiennent autour de 2,7 – 3,7 mg kg<sup>-1</sup> MF et 10 – 30 mg kg<sup>-1</sup> MF respectivement, bien qu'il convient de noter qu'il n'est pas souvent précisé si la zéaxanthine d'autres matrices est accumulée sous forme estérifiée ou libre (Nuss & Tanumihardjo, 2010; Steingass & Schweiggert, 2020). Les autres caroténoïdes majeurs sont également sous forme estérifiée comme la  $\beta$ -cryptoxanthine palmitate. Les formes libres non estérifiées principales décrites sont la zéaxanthine et le  $\beta$ -carotène, représentant généralement moins de 5% des caroténoïdes totaux (Steingass & Schweiggert, 2020). Comme la tomate, les teneurs en caroténoïdes accumulées dans le fruit mature dépendent d'un certain nombre de facteurs en lien avec le génotype et les conditions de production (Poggioni et al., 2022; Protti et al., 2017).

De façon générale, concernant la zéaxanthine, le goji se démarque largement de la tomate qui n'en contient généralement que des quantités résiduelles. Il convient de noter qu'un génotype de tomate, « *Xantomato* », a récemment été développé et contient des teneurs en zéaxanthine libre généralement supérieures à 50 mg kg<sup>-1</sup> FW. Pour la tomate « *Xantomato* », ce sont les teneurs en lycopène qui sont résiduelles (Karniel et al., 2020; Morand-Laffargue et al., 2023). Cette observation révèle l'importance cruciale du génotype dans la détermination des concentrations en microconstituants importants, y compris ceux qui sont les plus emblématiques du fruit en question, à l'instar du lycopène pour la tomate.



# Objectifs de la thèse

Cette thèse vise à comprendre les facteurs qui influencent la valeur santé des tomates et des baies de goji, depuis leur récolte jusqu'à leur consommation, en se focalisant sur l'accumulation des caroténoïdes, leur bioaccessibilité et leurs effets potentiels sur la santé, notamment sur le métabolisme et la santé cardiovasculaire.

Ainsi les questions de recherche auxquelles nous avons cherché à répondre étaient les suivantes :

À l'échelle du fruit, **les chloroplastes représentent-ils une capacité de stockage déterminée précocement pour l'accumulation des caroténoïdes étant donné la continuité qui existe entre les chloroplastes et les chromoplastes ?** Pour répondre à cette question nous avons exploré la relation entre la teneur en chlorophylle du fruit vert et la teneur en caroténoïdes du fruit mature. Dans le cadre de notre recherche, nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle la concentration de caroténoïdes dans les fruits pourrait être influencée dès les stades précoces de développement. Cette influence serait potentiellement liée aux interactions dynamiques entre les plastes et la matrice cellulaire. Ces recherches ont fourni des données quantitatives permettant d'évaluer si la concentration finale en caroténoïdes dans un fruit pouvait être prédite sur la base de certains états définis avant la maturation du fruit. Dans notre étude, nous avons examiné les facteurs temporels, tels que la durée et la temporalité d'application du déficit hydrique, ainsi que les facteurs structurels, notamment la localisation dans les tissus, pour comprendre leur impact sur l'accumulation des caroténoïdes dans les fruits.

Au-delà de la composition en macro et microconstituants des fruits, nous nous sommes demandé **comment le déficit hydrique, les géotypes et les procédés post-récolte pouvaient-ils impacter la libération et la micellisation des caroténoïdes ?** Nous avons fait l'hypothèse que le déficit hydrique pouvait avoir un impact sur la bioaccessibilité des composés d'intérêt, sans préjuger le sens de cet effet. À notre connaissance, il n'existe pas de données concernant l'effet du déficit hydrique sur la micellisation des caroténoïdes résultant de la digestion de fruits cultivés dans des conditions de sécheresse du sol, en comparaison avec ceux issus d'une irrigation normale. Nous avons également supposé que les traitements post-récolte de la baie de goji peuvent constituer des moyens efficaces pour modifier les propriétés de la matrice, en

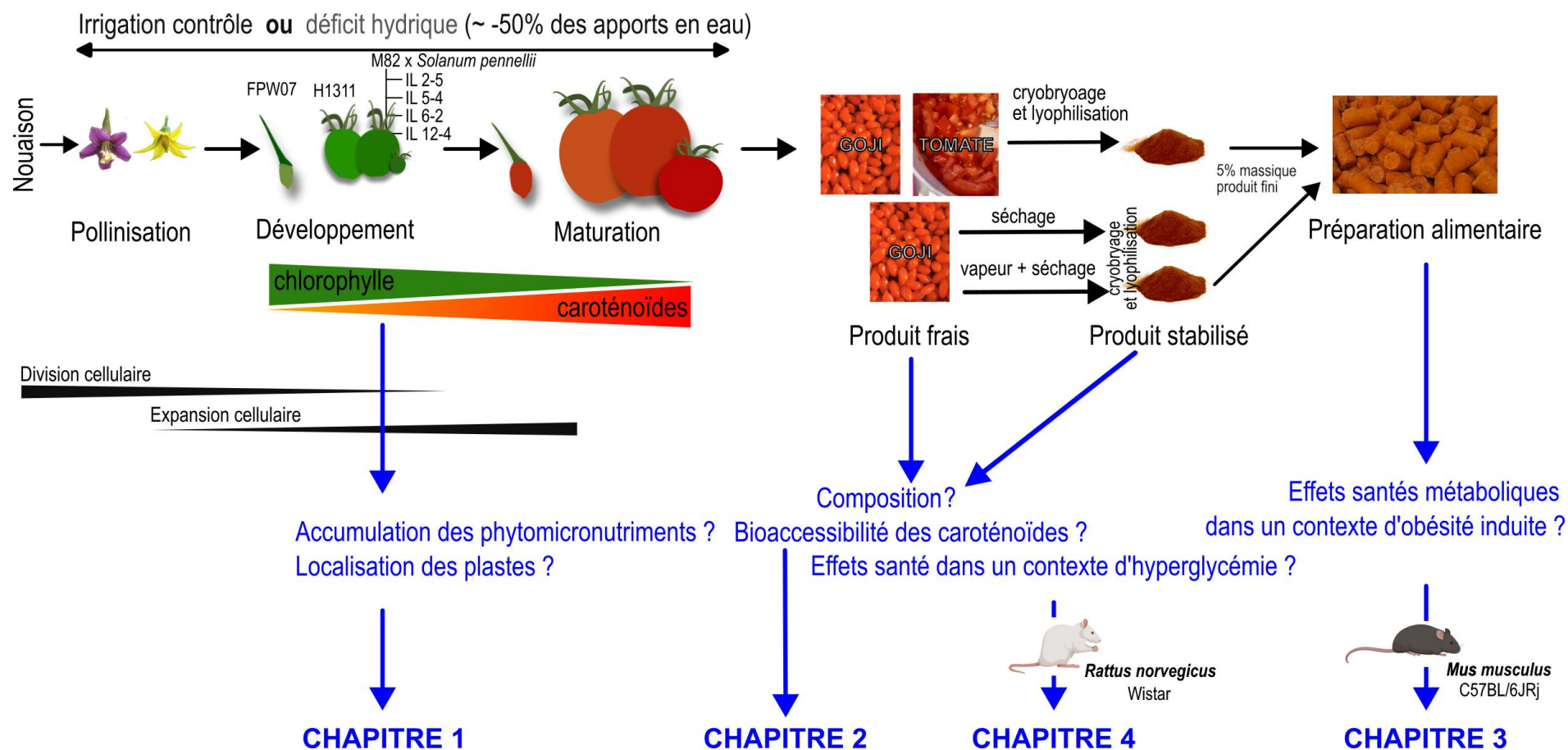
particulier celles liées aux parois végétales, afin de faciliter l'incorporation des caroténoïdes dans les micelles.

L'objectif de cette étude est aussi de confirmer, par des expériences *in vivo*, l'évaluation de la valeur santé de ces matrices, qui présentent des contrastes en termes de concentrations en microconstituants. Nous nous sommes demandé si les génotypes, le déficit hydrique ou les procédés pouvaient se traduire par une différence d'effets des aliments testés sur la santé métabolique et cardiovasculaire chez les animaux supplémentés. Nous avons évalué cet effet avec la supplémentation des animaux en poudre de tomate ou de goji dans un modèle d'obésité induite chez la souris : pour la tomate, nous avons formulé l'hypothèse **que la modification du profil de microconstituants, résultant de variations génotypiques, aurait un impact significatif sur les effets bénéfiques pour la santé associés à la consommation de ces fruits**. Nous avons postulé que les changements dans le profil des microconstituants, dus aux variations génotypiques, **pourraient influencer de manière substantielle les bénéfices pour la santé liés à la consommation de ces fruits**. Pour le goji, nous avons fait l'hypothèse que **le traitement post-récolte « vapeur » pourrait améliorer la valeur santé en comparaison avec le fruit frais, en modifiant les propriétés des parois et en favorisant la bioaccessibilité des microconstituants**. Pour les deux espèces étudiées, nous émettons l'hypothèse que les fruits cultivés dans des conditions de déficit hydrique **présenteraient des effets bénéfiques pour la santé supérieurs à ceux des fruits témoins**. Cette supposition repose sur l'idée, soutenue par des données existantes dans la littérature scientifique, que le déficit hydrique augmente les concentrations de microconstituants d'intérêt dans les fruits.

En conclusion, une étude de supplémentation en fruits frais a été menée sur des rats dans le but d'évaluer les impacts potentiels sur le fonctionnement vasculaire, en particulier dans un contexte d'hyperglycémie. Nous postulons que des matrices alimentaires ayant une forte capacité antioxydante offrent des bénéfices vasculaires à court terme, peu après la période de supplémentation.

Pour répondre à ces interrogations, plusieurs expérimentations ont été menées en suivant un continuum, utilisant les mêmes lots de fruits récoltés. Cette approche visait à identifier d'éventuels effets en cascade, depuis la production jusqu'au consommateur (Figure 15).

# Schéma expérimental



**Figure 15 - Schéma expérimental et organisation du manuscrit.** Les étapes vont de la production des géotypes de tomate (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et de goji (FPW07), jusqu'à l'évaluation des effets-santé in vitro et in vivo associés à la consommation des fruits frais ou transformés.

# Matériel et méthodes

Le principal défi posé ici a été d'assurer une continuité entre la production végétale et l'évaluation du potentiel santé des fruits, que ce soit par rapport à leur composition, la bioaccessibilité des caroténoïdes, ou les effets-santés observés *in vivo* à la suite d'une supplémentation à moyen terme (souris) ou à court terme (rat).

## Matériel génétique

### Végétal

Les semences de tomate dites « d'introgression » (IL), ont été fournies par le laboratoire Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (INRAE GAFL, Avignon, France). Quatre ILs, IL2-5, IL5-4, IL6-2 et IL12-4, issues d'un croisement entre le cv. M82 et l'espèce sauvage à fruits verts *Solanum pennellii* (accession LA 716) ont été sélectionnées à partir d'un pool de soixante-quinze ILs de tomate caractérisées pour la variété des propriétés physiques et chimiques de leurs fruits (Yuval Eshed & Zamir, 1994; Rousseaux et al., 2005). Toutes les ILs sont presque isogéniques au génotype original M82, chaque IL portant le nom de l'emplacement du génome contenant de chromosome homozygote incorporé à partir de *S. pennellii* (Liu et al., 2003). **M82** est le génotype de référence qui a été décrit dans des études antérieures comme étant "sensible à la sécheresse" (Liu et al., 2017). **IL2-5** a été décrit dans la littérature comme une lignée "tolérante à la sécheresse" par rapport à M82 (Liu et al., 2018). **IL5-4** est une lignée ayant un °Brix plus élevé que M82, mais présentant un plus grand nombre de fruits atteints de pourriture apicale (BER) et une fermeté réduite des fruits (Matsumoto et al., 2021). **IL6-2** contient un gène mutant *Beta* (*B*) qui modifie la biosynthèse des CAR, la conséquence étant une augmentation de la teneur en  $\beta$ -carotène dans le fruit au détriment du lycopène (Ronen et al., 2000). Les fruits **IL12-4** ont une teneur en antioxydants plus élevée, notamment plus d'acide ascorbique que M82 (Sacco et al., 2013).

Le génotype de tomate H1311 a été choisi pour sa teneur exceptionnellement élevée en lycopène, et a servi de point de comparaison avec les autres lignées cultivées (Ilahy et al., 2018). En outre, tandis que les autres lignées ont été développées dans un but expérimental et pour des études génétiques, H1311 est un cultivar commercial qui a été ou est actuellement cultivé en plein champ (Carrasco et al., 2018).

Pour le goji, des plants de *L. barbarum* âgés d'un an et issus du cultivar **FPW07** (SWEET CAROLINE®) ont été fournis par FPW Développement (La Menitre, France). Le dépôt de brevet associé au cultivar le décrit comme présentant des caractéristiques agronomiques intéressantes telles que des rendements plus élevés et une résistance accrue à l'oïdium (Wang, 2019). A ce jour, ce cultivar semble très prisé par les producteurs ou les viticulteurs français à la recherche d'un produit de diversification relativement peu connu des consommateurs, et pouvant bénéficier d'allégations santé positives (source personnelle).

#### *Animal*

L'évaluation des effets-santé d'une supplémentation en fruit a été évaluée sur deux modèles animaux, à savoir la souris consanguine C57BL/6J, souche C57BL/6JRj et le rat Wistar non consanguin (RjHan:WI) issus du laboratoire Janvier (Le Genest-Saint-Isle, France).

### **Production des fruits**

#### *Analyses biochimiques et conservation*

Les plantes qui ont été utilisées pour la production des fruits ont été cultivées en pot et la production a été assurée en serre confinée (niveau S2). Ce choix a permis entre autres d'homogénéiser le volume de sol pouvant être exploré par les racines des plantes, de contrôler les apports en eau ou d'autres variables pédoclimatiques comme le substrat de culture ou la température ; cette approche vise également à diminuer la pression exercée sur les plantes par d'autres stress biotiques ou abiotiques, tels que la pression des ravageurs ou les stress climatiques différents du déficit hydrique.

#### *Supplémentation des souris C57BL/6JRj*

Les fruits de tomate ou goji matures sont cryobroyés, conservés à -80°C dans des sacs thermoscellés et lyophilisés. Après lyophilisation, le produit est conservé au frais et à l'abri de la lumière dans un sac thermoscellé pour limiter l'oxydation. L'incorporation de la poudre de fruit dans les régimes alimentaires est effectuée dans un mélangeur par le fabricant de croquettes (Safe diets, Augy, France).

#### *Supplémentation des rats Wistar*

Les fruits cryobroyés sont conservés à -80°C dans des sacs thermoscellés. Avant la supplémentation, le produit est décongelé et homogénéisé avec de l'huile de sésame à 5% (w/w) (S3547, Sigma Aldrich).

## Conservation des fruits et traitements post-récolte

Après la récolte, la conservation des fruits est assurée par différents traitement post-récolte. Les analyses biochimiques sont effectuées sur fruit frais cryobroyé et éventuellement lyophilisé (les conditions exactes seront précisées pour chaque mesure dans les chapitres suivants).

## Digestion *in vitro*

La digestion *in vitro* est conduite sur le fruit (cryobroyé et décongelé) avec ou sans traitement post-récolte à partir de 2g de matière. Pour la tomate, les fruits ont été digérés sans traitement post-récolte. Pour la baie de goji, les fruits ont été digérés frais, séchés ou prétraités à la vapeur puis séchés. La digestion est réalisée sans repas type, et le reste de la digestion est réalisé de façon similaire aux travaux déjà publiés décrivant les étapes expérimentales et consommables utilisés (Borel et al., 2021; Morand-Laffargue et al., 2023). Brièvement, le protocole de digestion *in vitro* est composé d'une phase salivaire, d'une phase gastrique et d'une phase duodénale. Ce protocole est adapté pour simuler la digestion de composés lipophiles et les vitamines liposolubles et les caroténoïdes (Reboul et al., 2006).

## Analyse statistique

Sauf indication contraire, toutes les analyses ont été conduites en utilisant des répliques biologiques et/ou techniques. La gestion des valeurs aberrantes s'effectue en deux étapes : initialement lors de la vérification des données pour identifier et corriger les erreurs de saisie manifestes, et ultérieurement au cours de l'analyse statistique. Pour cette dernière, la distance de Cook est employée comme critère de détection. Cette mesure est pertinente car elle intègre à la fois l'effet de levier et l'écart résiduel des valeurs mesurées (Henderson, 2006). Les valeurs présentant une distance de Cook élevée ne sont pas systématiquement exclues de l'analyse. En revanche, lorsqu'une valeur affiche une distance de Cook excédant quatre fois la moyenne des distances de Cook de l'ensemble des points expérimentaux, elle est considérée comme très élevée (Hebbali, 2018). Dans les cas où plusieurs paramètres sont mesurés sur un même individu, notamment dans les études impliquant les modèles animaux, une approche multivariée est privilégiée pour identifier les individus significativement divergents de leurs congénères. Sauf mention contraire, les lettres différentes attribuées aux groupes dans les tableaux ou les diagrammes en barre indiquent une différence significative entre les groupes par une analyse de variance (ANOVA) significative suivie par un test LSD de Fisher. Une différence est considérée comme significative si la p-valeur ajustée est inférieure à 0,05. Les données qui sont comparées entre les groupes font systématiquement l'objet d'un ajustement multiple des

p-valeurs pour contrôler le taux de fausses découvertes avec la méthode de Benjamini-Hochberg (Glickman et al., 2014). Le contrôle du taux de fausses découvertes est fixé à 5%.

### **Propagation de l'erreur**

Supposons que deux quantités mesurées moyennes A et B aient des écarts-types respectifs  $\sigma_A$  et  $\sigma_B$ . De ces deux mesures peut être calculée une quantité C issue de la somme, du produit ou du ratio des deux moyennes A et B. L'écart type associé à C,  $\sigma_C$ , a été calculé en prenant en compte la propagation de l'incertitude avec un développement de Taylor du premier ordre linéarisé en considérant des variables indépendantes et non corrélées (Young, 1962).

# **Chapitre 1**

**Impact du déficit hydrique sur  
la chronologie et la  
compartimentation de  
l'accumulation de la  
chlorophylle et des  
caroténoïdes dans le fruit de  
tomate**



## **Introduction**

Dans l'introduction de ce manuscrit, nous avons vu que la majorité des chromoplastes du fruit qui produisent et accumulent massivement des caroténoïdes (CAR) proviennent des chloroplastes, et qu'il est possible d'augmenter les quantités de CAR accumulés dans le fruit mature en augmentant le nombre, la taille, ou la densité des plastes déjà présents sur le fruit vert (Cookson et al., 2003; Egea et al., 2010; Galpaz et al., 2008; Liu et al., 2015). De plus, il est connu que la distribution des CAR dans le fruit n'est pas homogène, avec des teneurs généralement plus élevées dans le péricarpe externe et la cuticule, comme suggéré par les analyses des coproduits dans la chaîne de production des produits à base de tomate d'industrie.

Le DI pouvant impacter la croissance du fruit au niveau cellulaire, cela peut modifier la répartition de biomasse entre les tissus et entre la matière soluble et insoluble pour un tissu donné. **Dès lors, il est possible que le déficit hydrique impacte la teneur finale en CAR des fruits de façon très précoce et donc bien en amont du pic d'accumulation des CAR associé à la maturation, en agissant éventuellement sur des variations associées aux compartiments de stockage de manière spatialisée dans le fruit.** Peu de données sont disponibles dans la littérature concernant la compartimentation et la précocité éventuelle des effets du déficit hydrique sur l'accumulation des CAR du fruit de tomate. Ainsi, ce chapitre sera développé en 3 sections, présentant respectivement les résultats de 3 expérimentations complémentaires qui abordent cet aspect.

La première section, rédigée en anglais, s'appuie sur les données présentées et publiées dans *Acta Horticulturae* (Breniere et al., 2022). Des résultats qui n'apparaissent pas dans l'acte de congrès ont été intégrés, et les résultats issus de la microscopie confocale relégués dans la section suivante avec les observations effectuées sur l'ensemble des génotypes d'étude.

La première expérimentation (Section 1) a consisté à mettre en place 4 régimes hydriques pour les plantes du génotype H1311, qui représentent des conditions irrigation contrôle (CI), déficit hydrique (DI), irrigation contrôle puis déficit hydrique (CI-DI) et déficit hydrique puis irrigation contrôle (DI-CI). Pour les traitements CI-DI et DI-CI, le changement de régime hydrique est planifié de manière à ce que la plante subisse le déficit hydrique précisément au moment où plusieurs lots de fruits, dont l'âge (nombre de jours après anthèse, DPA) est clairement établi, atteignent le stade de maturité verte. Pour les traitements CI et DI, à plusieurs

stades de développement (5 DPA, 14 DPA, 22 DPA, 37 DPA, stade tournant, stade mature), des morceaux de pélicarpe en zone équatoriale du fruit ont été prélevés et soumis à une analyse biochimique pour estimer la teneur en chlorophylle et CAR. Pour les traitements CI et DI, la production d'éthylène de fruits prélevés à différents âges et différents stades couleurs a été mesurée pour évaluer la chronologie et le comportement de cette phytohormone, essentielle à la maturation des fruits climactériques et donc à l'accumulation des CAR. **Cette expérimentation a été conçue pour évaluer si les effets du déficit hydrique sur l'accumulation des CAR dans les fruits à maturité peuvent se manifester précocement et/ou tardivement, et si ces effets peuvent être synergiques ou antagonistes lorsque le stress hydrique s'étend sur une durée plus longue.** Enfin, elle a permis **d'identifier des pratiques d'irrigation pouvant être intéressantes pour maximiser la teneur en CAR**, tout en minimisant les intrants en eau et en tenant compte des problématiques majeures de production. En effet, l'augmentation de la valeur santé du fruit et l'économie des intrants en eau n'étant pas acceptable si le rendement commercial est trop diminué.

## Section 1

### **Carotenoid content in mature tomatoes under water deficit: exploring the role of pre-maturity processes through chlorophyll kinetics across multiple irrigation treatments.**

T. Breniere<sup>1,2,3</sup>, A.L. Fanciullino<sup>2,4</sup>, B. Brunel<sup>2</sup>, P. Laugier<sup>2</sup>, J.-F. Landrier<sup>3</sup>, C. Riva<sup>1</sup> and N. Bertin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> LaPEC, Université d'Avignon, Avignon, France;

<sup>2</sup> PSH, INRAE, Avignon, France;

<sup>3</sup> C2VN, Aix-Marseille Université, INRAE, INSERM, Marseille, France;

<sup>4</sup> IRHS, INRAE, Angers, France.

In *XXXI International Horticultural Congress (IHC2022): International Symposium on Integrative Approaches to Product Quality in 1353* (pp. 1-8).

[10.17660/ActaHortic.2022.1353.1](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1353.1)

#### **ABSTRACT**

Soil water deficit triggers a wide range of plant responses that interact with the initiation, development and maturation of reproductive organs. In the case of fleshy fruits that are part of human diet, those processes may interact with the accumulation of micronutrients in the fruit tissue. As precursors of vitamins or anti-oxidants, those micronutrients and more precisely the family of carotenoids, play a determinant role in human health. Carotenoid distributed in fruit tissue are produced and stored in plastid endosymbiotic organelles. For the green fruit, most plastids are green pigmented chloroplasts rich in chlorophyll. During the maturation process, the majority of chloroplasts are converted into to carotenoid rich, red-pigmented chromoplasts. Our study provides the dynamics of chlorophyll and carotenoid contents in tomato fruit sampled at six development stages: from 5 days post anthesis to 60 days post anthesis under four different water regimes. Deficit irrigation from fruit set to fruit harvest statistically increased chlorophyll load on green fruits by +23% and total mature fruit carotenoid content by +18% on a fresh weight basis. Deficit irrigation water treatment applied from mature green fruit to harvest stage displayed several agronomic benefits such as water saving and improved water use efficiency, without any loss of commercial fruit yield or fruit carotenoid content. This work contributes to characterize fruit carotenoids submitted to climatic drought or water-scarce irrigation policy.

**Keywords:** deficit irrigation, ripening, pericarp, plastid remodeling

## INTRODUCTION

Open field cultivation of processing tomato (*Solanum lycopersicum*) increases risk of plant disposition to biotic threats and abiotic stresses. Among abiotic factors, soil water deficit is a major yield challenger (Sivakumar & Srividhya, 2016). There is little debate regarding increased predicted risk of drought frequency and severity in the coming years, particularly in southern Europe where this crop is produced (Erian et al., 2021; Spinoni et al., 2018). Intuitively, plant exposure to drought during its reproductive stage from anthesis to harvest limits commercial yield, but the response to drought has been generally described as positive regarding other processing, organoleptic and health quality traits (Atkinson et al., 2011; Klunklin & Savage, 2017; Lahoz et al., 2016). Regarding health, tomato and tomato-based products represent a major source of carotenoid intake considering both the importance of tomato consumption in food diet and its high lycopene content (Górecka et al., 2020; Khan et al., 2021). Increasing evidence suggests tomato products could be beneficial because of their carotenoid content, particularly in a context of increased obesity-associated disorders (Fenni et al., 2017; Mounien et al., 2019; Saini et al., 2022).

Several studies suggest water deficit may interfere with the production, accumulation and storage of carotenoids (Dariva et al., 2021; Ripoll et al., 2016). Other determinant factors beyond water deficit are also involved. For example, genotype and other environmental conditions such as temperature and light exposure, soil properties and the intensity and duration of stress modulate plant response and secondary metabolites profiles (Cui et al., 2020; Lu et al., 2021). Environment signals such as light and temperature for carotenoid and lycopene synthesis in particular have been partially described at the transcriptional level, with identification of specific regulators in carotenoid biosynthetic pathway (CBP) genes (Stanley & Yuan, 2019). Environmental factors interact with plant development, and fruit maturation while other indirect effects can be identified in a context of competition between sink organs (Fanciullino et al., 2014).

Most recurrent hypotheses regarding changes in fruit carotenoid content under water deficit suggest a possible differentiated expression of CBP genes and the possible involvement of plant phytohormones like abscisic acid and ethylene, both highly implicated in respectively, plant

response to water deficit and fruit ripening (Atkinson et al., 2011; Dorais et al., 2008; Riggi et al., 2008). Carotenoid content may also be investigated by focusing on cell and plastid structures, the site of production and storage. Tomato fruit development is usually described as the succession of three structuring events. It starts with an important cell division stage before and after pollination, followed by cell enlargement and finally ripening, where the cell compartment is mostly stable in terms of number and size compared to pre-ripening status (Baldazzi et al., 2017; Cheniclet et al., 2005; Gillaspay et al., 1993). The cell storage capacity has been described as negatively impacted, with an overall limitation of cell division and cell expansion in the context of water deficit (Ripoll et al., 2016). As plastid host, impairment of cell plastid storage capacity could blunt final fruit carotenoid content, beyond metabolic and other genetic regulations (Sun et al., 2018; Wise, 2016). Few data are available regarding the comparison between chloroplast/chlorophyll concentration and chromoplast/carotenoid content along fruit development and maturation in a water deficit context (Li & Yuan, 2013).

If most of the carotenoids in the mature fruit are produced and stored in the final stages of fruit development, the relationship between fruit final carotenoid content and prior chlorophyll content and plastid properties, number and size, needs to be investigated. For tomato fruit, it has been reported that most chromoplast structures originate from the chloroplast stock already available prior to fruit maturation (Cocaliadis et al., 2014; Egea et al., 2011). In this study, a quantitative tissue fluorescence profile has been compared with biochemical measures including the HPLC analysis of chlorophyll and carotenoid content of fruits produced under different water regimes. Altogether, these data provide preliminary material to evaluate how pre-ripening processes may explain final fruit carotenoids under soil water deficit on a structural point of view.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Plant material and growing conditions*

*Solanum lycopersicum* cv. 'H1311' was chosen as processing tomato cultivar with moderate agronomic performance, but high lycopene content (Ilahy et al., 2019). All seeds were sown in climatic growth chamber: 70% relative humidity, 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  photosynthesis photon flux density, 14 h artificial daylight with day-night temperature set at 22 and 17°C, respectively. Compost substrate used is 90% organic content, 2/3 frozen black peat moss and 1/3 peat moss, with 80% water retention capacity (Potgrond h70 047, Klasmann-Deilmann, France). The same

substrate was used as plants were transferred in 7.5-L pots at the third true leaf stage. Irrigation was controlled with drip system providing a daily nutrient solution with an average electroconductivity of  $1.8 \text{ mS cm}^{-1}$  and pH 6 for the whole growth period. Day-night temperature control was set at 25-17°C. The minimal-maximum average day temperature ranged between 18.4 and 26°C, and the air relative humidity (RH) between 37 and 66%, with an overall day-night average 21.3°C and 53.4% RH. The experiment was conducted in glasshouse (Avignon, France) between March and July 2021.

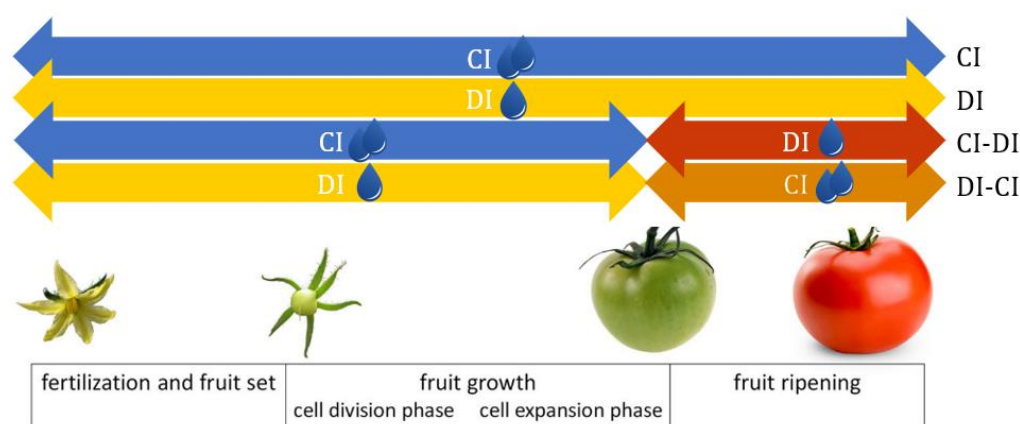
#### *Water deficit treatments, fruit age control and harvest*

The total water supply volume for each plant was estimated by multiplying the theoretical drip flow ( $2 \text{ L h}^{-1}$ ) by the irrigation duration for each experimental day, and experimental tests at the beginning of the protocol revealed an 8% variability of theoretical drip flow delivered by each dripper. Four different water treatments were applied to  $n=10$  plants per treatment. The first well-watered, control irrigation (CI) treatment is a control irrigation from seedling to fruit harvest. CI soil water was maintained just above soil water retention capacity by ensuring each pot is draining. Water stressed, deficit irrigation (DI) plants received -50% irrigation volume compared to CI plants from start of flowering stage to harvest. Two other intermediate treatments consisted of CI or DI irrigation applied up to the mature green stage, and at that stage a reversal of the irrigation regimes DI (CI-DI) or CI (DI-CI) was employed until harvest (Figure 1). All irrigation treatments were triggered with the same frequency but differed in dripping duration. Colored rings were applied at the basis of each truss when the second flower was at the anthesis stage to track fruit age on each truss, and ensure which set of trusses have experienced the desired water treatment for carotenoid analysis. Fruits were sampled at 5, 14, 22, 37 days post anthesis (DPA), in position 2 to 4 in the truss. All trusses were pruned to a maximum of 7 fruits per truss to limit differences that can be observed in a context of competition for assimilates between fruits (Bertin et al., 2002).

Commercial fruit fresh yield (CFFY) was calculated by weighing all harvested mature fruits excluding fruits with blossom end rot. Average fruit weight was approximated by dividing the total CFFY by the total number of collected fruits. Calculation of commercial fruit dry yield (CFDY) was based on dry weight content of fruits assessed gravimetrically using sub-samples previously dried at 75 °C until its weight had stabilized. Water use efficiency based on fresh weight (FW-WUE) or dry weight (DW-WUE) was calculated as the ratio between the CFFY or CFDY and the total amount of water supplied in each treatment.

### *Fruit maturation and ethylene release*

The evaluation of a possible change in ethylene production was measured by gas chromatography, on a sample of 16 fruits per treatment differing in age and color stage. After identification of fruit age and right before the measurement, the pedicel is removed, and the fruits are weighted. Each fruit is confined in a hermetic container of known volume equipped with a septum during ~1h in a 23°C room. A volume of 500 µL of air is collected through the septum and injected in a GC-FID at 150 °C (Porapak Q column, 7820A, Agilent technologies), with N<sub>2</sub> as a carrier gas (Gouble et al., 2011). Two reads are performed and averaged for each fruit. Each fruit is assigned a maturity stage based on its color stage (1 = mature green ; 12 = final red stage, CTIFL, “Code couleur tomate”) by two observers. Ethylene fruit release was estimated as a function of fruit color stage with a 2<sup>nd</sup> degree polynomial regression applied for each water treatment, with a nonlinear least squares regression.



**Figure 1 - Description and chronology of 4 different water deficit treatments applied from anthesis to harvest.** Water treatments namely control irrigation (CI), deficit irrigation (DI), control irrigation then deficit irrigation from the mature green stage (CI-DI) and deficit irrigation then control irrigation from the mature green stage (DI-CI). Figure inspired from Quinet et al. (2019).

### *Fruit carotenoid and chlorophyll content*

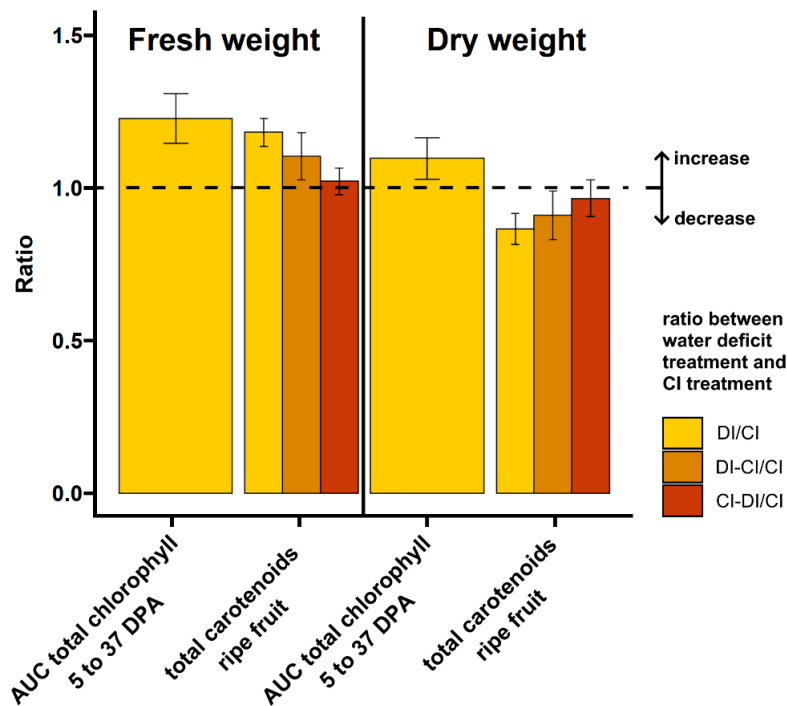
For biochemical carotenoid analyses, pieces of fruit pericarp were immediately frozen and kept at -80 °C. Chlorophylls and carotenoids were extracted from fresh tomato powder produced by cryogenic grinding and quantified by HPLC (Gautier et al., 2008; Sylvie Sérino et al., 2009). The pigments were identified using chromatographic and spectral data and co-injections with authentic standards. In the scope of this study, tomato total carotenoid content is defined as the sum of tomato main carotenoids: lycopene, phytoene, β-carotene, phytofluene and lutein. The term “chlorophyll(s)” refers to the sum of chlorophyll a and chlorophyll b. A principal

component analysis of tomato carotenoids is performed in R (R Core Team, 2022), with the packages *ade4* (Thioulouse et al., 2018), *factoextra* (Kassambara & Mundt, 2021), *ggplot2* (Wickham et al., 2016), and *ggprism* (Dawson, 2022).

## RESULTS

### Green fruit chlorophyll load and mature fruit carotenoids

We compared kinetics of fruit chlorophyll content between 5 and 37 DPA (Figure 2) to mature fruit carotenoid content (Figure 2, 3). A green fruit chlorophyll load was calculated as the area under the curve (AUC) of chlorophyll concentration using trapezoidal rule approximation between 5 and 14-22-37 DPA.

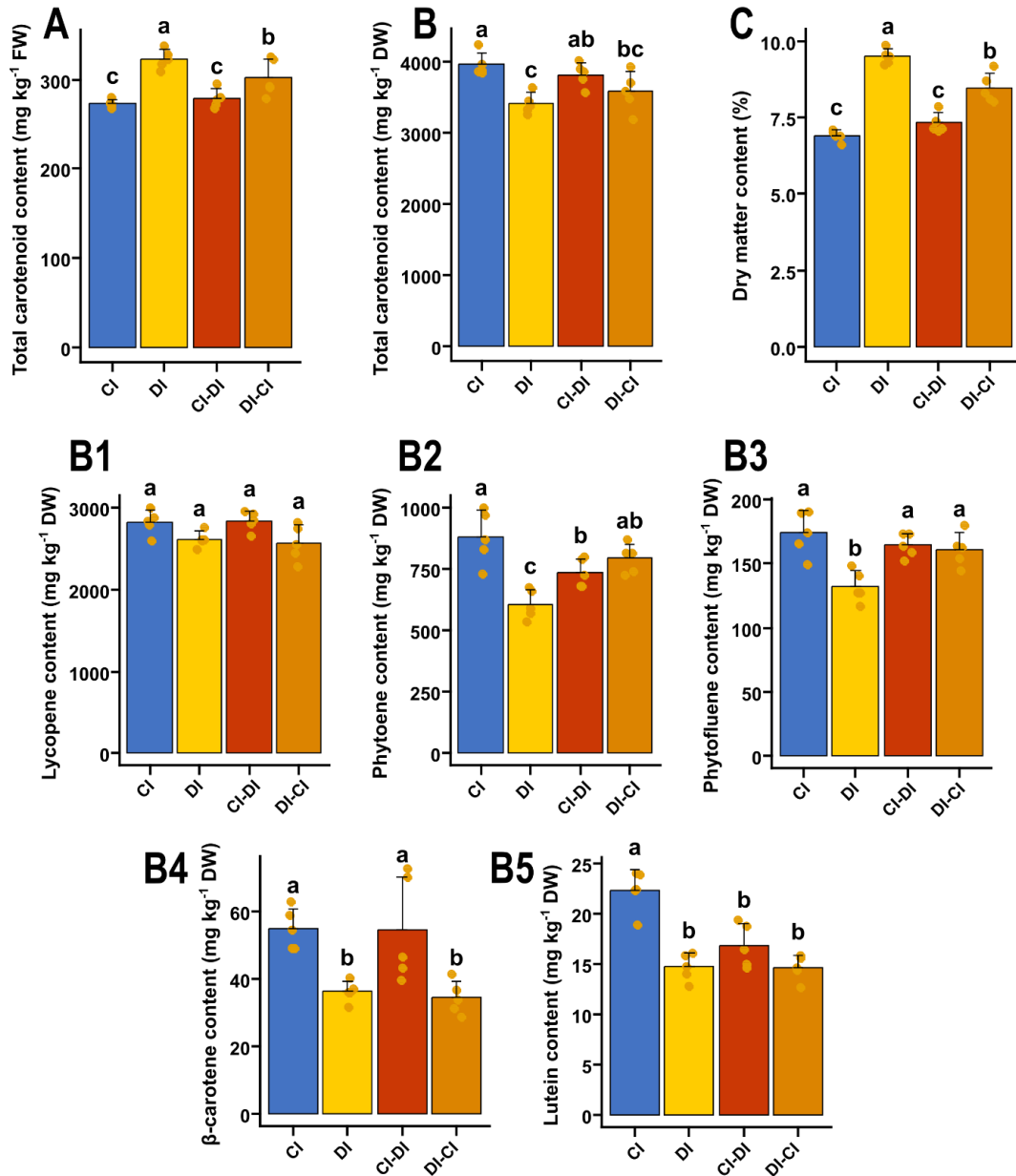


**Figure 2 - Impact of water deficit treatment on the ratio of AUC of chlorophyll content in fruit pericarp between 5 and 37 DPA and ratio of final total carotenoid content of the whole fruit with respect to the control irrigation regime expressed in fresh (left) and dry (right) weight basis. AUC ratio between CI and DI treatments was computed by bootstrap resampling using normal law distribution from mean and standard deviation for each time point from  $n = 10$  points for CI and DI treatments, respectively. For homogeneity of comparison, the same approach was applied to calculate a mean ratio and confidence interval for carotenoid content ( $n=5$  analysis for each 4 water treatments). Results are presented as mean  $\pm$  sd of 1000 bootstrap simulations. For both chlorophyll and carotenoids, quantification data provides from biochemistry HPLC analysis.**

In order to better evaluate the role of water stress on carotenoid content, both a fresh and dry weight (DW) calculation are appropriate in a context of stressed fruit dry weight content increase (Riggi et al., 2008; Ripoll et al., 2016). On a fresh weight basis, DI and DI-CI



treatments increased fruit total carotenoid content with respect to CI fruits of respectively +18% FW and +10% FW while DI also increased the chlorophyll load by +23% FW on average (Figure 3). Late water deficit treatment CI-DI did not statistically change total fruit carotenoid content (Figure 2, Figure 3A).



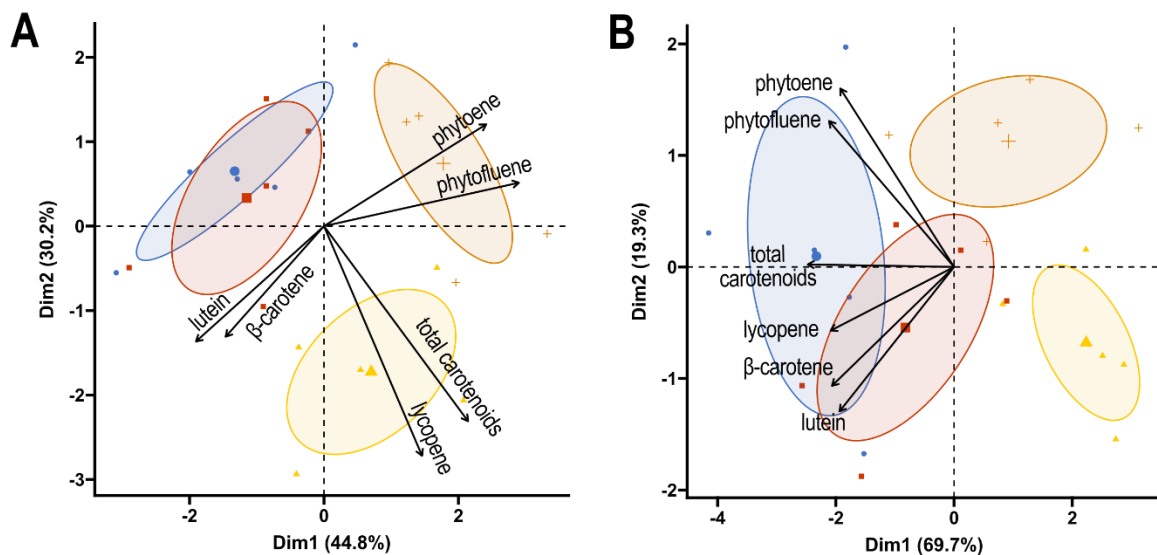
**Figure 3 – Total carotenoid content per gram of fresh weight (A), dry weight (B) and dry weight content (C).** The dry weight carotenoid content is broken down as the sum of lycopene (B1), phytoene (B2) phytofluene (B3), β-carotene (B4) and lutein (B5) content for control irrigation (CI) treatment (■), deficit irrigation (DI) treatment (■), CI then DI (CI-DI) treatment (■) et DI then CI (DI-CI) treatment (■) of H1311 genotype. Data are mean +/- SD. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini Hochberg false discovery rate procedure.

An opposite direction of effects was observed on a dry weight basis, suggesting longer and earlier stress increasingly reduce fruit carotenoid content. In fact, both the DI and DI-CI treatment led to a significant carotenoid decrease -14% and -9.6% on a DW basis (Figure 3 B).

This decrease can be explained by a high difference of fruit dry weight content (Figure 3 C). If the total carotenoid content is broken down to each specific compound, it is interesting to note that each carotenoid is impacted differently by the different water treatments. For example, lycopene remains mostly stable between treatments (Figure 3B1). On a DW basis, other carotenoids are statistically negatively impacted by DI. Phytoene is more negatively impacted by earlier and longer deficit irrigation stress (Figure 3B2), but phytofluene content is only depleted for CI stress (Figure 3B3). A recovery of  $\beta$ -carotene content loss under DI seems possible with a CI treatment during maturation (Figure 3B4), but this effect will require further investigation considering the heterogeneity of data acquired for the CI-DI treatment. Finally, lutein content is negatively impacted whatever the deficit irrigation water treatment (Figure 3D5). Overall, the effects of water deficit on carotenoid levels in tomato fruits vary depending on the carotenoid considered and whether they are measured on a fresh or dry weight basis. Based on the FW or DW carotenoids content, a decreasing similarity ranking can be established compared to CI fruits: CI-DI > DI-CI > DI (Figure 4A and 4B). In fact, fruits that experience water deficit during the maturation are the most similar to CI fruits in terms of individual or total carotenoid content. On a DW basis, CI fruits have the highest total or individual carotenoid content (Figure 3), which is of interest for the potential health value of fruits.

In both FW and DW approach, CI-DI treatment suggests that, except for phytoene, late water deficit does not alter carotenoid content compared to DI. In fact, it is during this maturation period that fruit massively produces and accumulates carotenoids (30-fold increase between red ripe and green fruit for CI and DI treatments on average). This suggests that the carotenoid accumulation potential is already settled prior to fruit maturation or that the impact of water deficit on metabolic regulations during maturation is limited, reinforcing the potential weight of pre-maturing processes. These processes could be linked to chloroplasts structures building up ripe fruit carotenoid content. In this case however, water deficit prior to fruit maturation does not change direction of chlorophyll load on green fruit with a +10% DW on average. In a context of plastid remodeling during fruit maturation, increased carotenoid content usually correlates with increased chloroplast activity (Cocaliadis et al., 2014; Li & Yuan, 2013; Torres-Montilla & Rodriguez-Concepcion, 2021). Comparisons have been drawn on genetically

engineered tomato crops with a characterization of both chlorophyll and carotenoid in the fruit. Positive correlation between plastid storage capacity in green fruit and carotenoid load in mature fruit has been described for *high-pigment 1 (hp1)* tomato fruits (Cookson et al., 2003), but this correlation is not systematic (Shi et al., 2021). Beyond structural plastid capacity, such observation could be partially explained by inhibition of carotenoid synthesis or increase of carotenoid catabolism into apocarotenoids or by ROS under water deficit, being mainly detrimental of final fruit carotenoid content. Supplementary data like quantification of relevant CBP gene expression, ROS accumulation, and apocarotenoids content could help discriminate whether carotenoid change weights more from structural or metabolic levers (Felemban et al., 2019).



**Figure 4 – The first two axes of the principal component analysis on carotenoid content on a fresh weight (A) and dry weight (B) basis, for control irrigation (CI) treatment (■), deficit irrigation (DI) treatment (■), CI then DI (CI-DI) treatment (■) et DI then CI (DI-CI) treatment (■) of H1311 genotype. Ellipses represent 95% confidence interval.**

#### *Impact of deficit irrigation on water use, yield and water use efficiency.*

The increase of tomato fruit carotenoids content can be achieved on a fresh weight basis with a deficit irrigation treatment (Figure 3A). This could be a “win-win” situation: a possible increase in fruits health value while limiting water input, qualifying the production as more sustainable for health and the environment. However, in an agronomic context, water deficit can be expected to have a detrimental impact on yield, which must be limited in a competitive market context. Concentration of tomatoes through the industry chain aim to stabilize the product to a

dry weight target that may compensate the increase of carotenoid content possibly offered by DI (Figure 3B). In this context, improvement of fruit carotenoids has to be discussed in regards of yield and water use efficiency. If DI treatment halved water consumption compared to CI treatment, both CI-DI and DI-CI lowered by approximately -27% the amount of water supplied per plant during fruit production time span (Table 1). Due to fruit physiology and experimental design, The DI-CI water restriction lasted longer than the CI-DI treatment. In fact, due to the elevated evapotranspiration potential towards the crop cycle's end (owing to a larger leaf surface area and increased temperature), the CI-DI treatment consumed almost the same amount of water as the DI-CI treatment (Table 1).

**Table 1 - Average water supply (L plant<sup>-1</sup>) and duration of water restriction (days) between water deficit treatments for H1311 genotype. CI = control irrigation, DI = deficit irrigation.**

<b>Water treatment</b>	<b>Average water supply from anthesis to harvest</b>	<b>Water restriction duration</b>
<b>CI</b>	159	0
<b>DI</b>	76	88
<b>CI-DI</b>	115	37
<b>DI-CI</b>	116	51

The rewatering process statistically increased CFFY by +48% in the DI-CI treatment compared to the DI treatment (Figure 5A), but most of the rewatering induced a late and intense new leaf and stem biomass production (Figure 5E). The FW-WUE was not statistically different between CI, DI and DI-CI treatments, but significantly increased in the CI-DI treatment (Figure 5C). Considering dry weight production, DI treatment provided an increase in DW-WUE compared to CI, but CI-DI remained the most competitive among water treatments (Figure 5D).

To sum up, the most interesting water deficit treatment on an agronomical perspective would be the late water deficit (CI-DI) treatment. Compared to the CI treatment, CI-DI treatment saves water (-27%) (Table 1), increases FW-WUE or DW-WUE (Figure 5 C, 5 D) while maintaining commercial yield (Figures 5A and 5B), and total carotenoid content (Figures 3A and 3B). CI-DI treatment limits late vegetative growth that will not contribute to source carbon content of fruit total commercial yield (Figure 5E) due to harvest planification at the end of the harvest season.

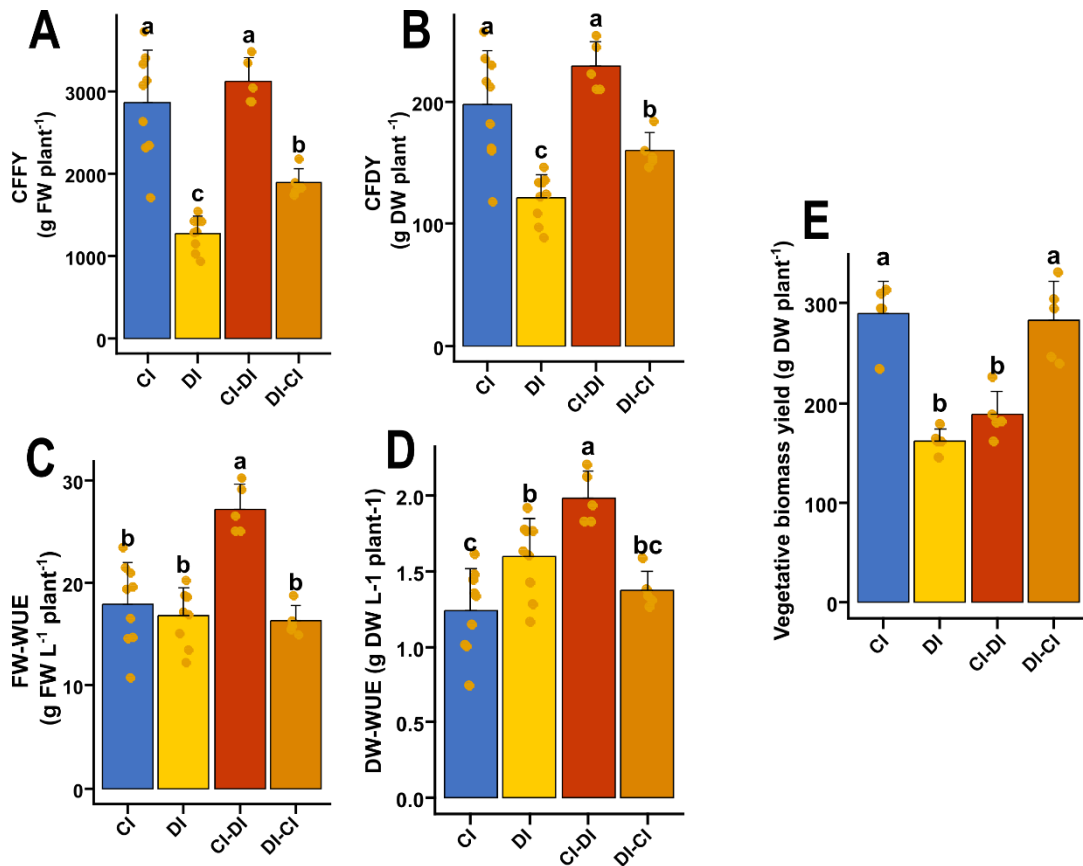
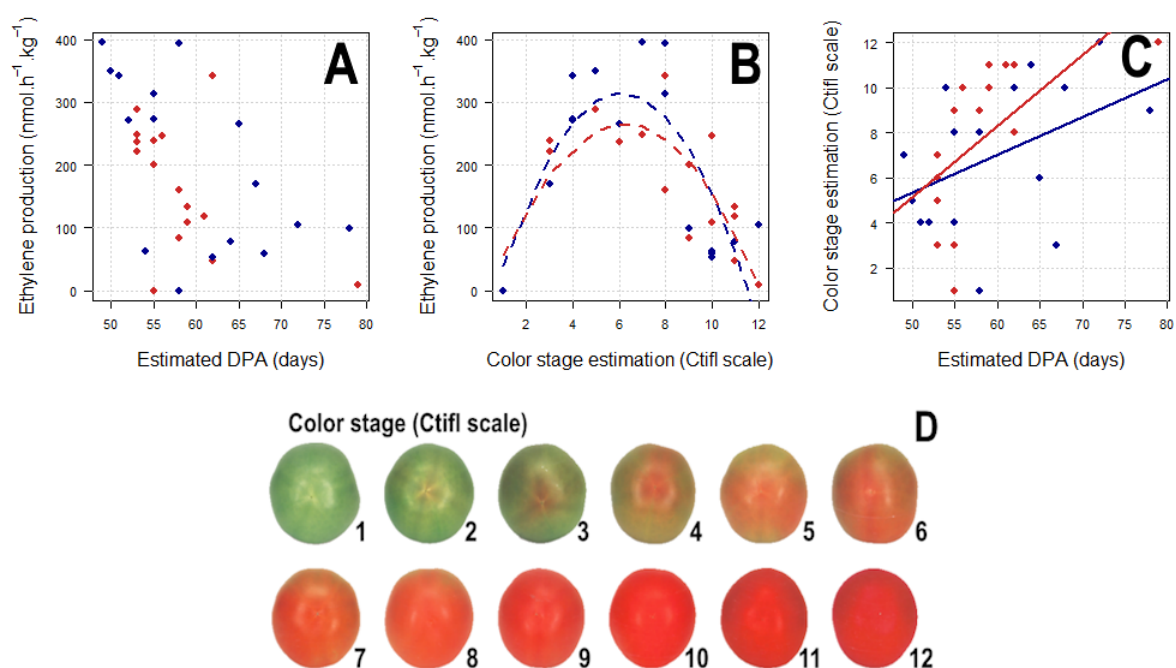


Figure 5 – At final harvest : (CFFY) (A), commercial fruit dry yield (CFDY) (B), water use efficiency for commercial fruit fresh yield (FW-WUE) (C), water use efficiency for commercial fruit dry yield (DW-WUE) (D), and biomass of vegetative apparatus (E) for the control irrigation (CI) (■), deficit irrigation (DI) (■), CI then DI (CI-DI) (■) and DI then CI (DI-CI) (■) treatments of H1311 genotype. Data are mean +/- SD. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini-Hochberg false discovery rate procedure.

#### *Fruit ethylene production remains stable between control and deficit irrigation fruits*

Ethylene is often considered as a master regulator of climacteric fruit ripening. Thus, fruit ethylene production was monitored in a set of fruits exposed to CI or DI to appreciate the effect of deficit irrigation on tomato fruit ripening. The ethylene production was estimated on a set of fruits between 49 and 79 DPA, from color stage 1 to 12, for ethylene production ranging from 0 to 400 nmol h<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> (Figure 6A). Overall, the color of fruits increased with DPA but a high heterogeneity in fruit maturation was observed so that a few fruits with high DPA – small color scale or low DPA – high color scale were observed (Figure 6C). Based on the 2<sup>nd</sup> degree polynomial fit, it was found that ethylene production is maximal when the fruits have a color stage between 5 and 7 (Figure 6 B and 6 D). Based on this data, the burst of ethylene production

as a function of the color scale of the fruit is estimated to remain stable between the CI and DI treated fruits as both of the 95% confidence intervals for the color stage and the intensity of the ethylene peak overlap between CI and DI treatments (data not shown). This is in line with literature suggesting that the ethylene burst is detected after the coloration of the fruit has already started (Hu et al., 2020; J. M. Lee et al., 2012). Our data does not suggest a difference in fruit ethylene production between CI and DI treatments during physiological maturation. Further data is needed to unravel the link between carotenogenesis and the sophisticated network with phytohormone signaling in a water deficit context.



**Figure 6 – Fruit maturation and ethylene production. For the control irrigation fruits (CI) (●) and deficit irrigation fruits (DI) (●) of H1311 genotype. Measure of ethylene production as a function of fruit age (DPA = days after anthesis) (A) or their color stage (B). Color of the fruit as a function of fruit age (C). CTIFL tomato color scale (D) (CTIFL, 2007).**

## CONCLUSION

Altogether, these data provided preliminary elements to evaluate the weight of pre-ripening structural plastid capacity on fruit total carotenoid contents. The high lycopene content genotype H1311 fruits grown under different irrigation regimes revealed a positive correlation between total fruit carotenoid increase and chlorophyll load in green fruit on a fresh weight basis but not on a dry weight basis. The CI-DI water treatment revealed to be an interesting water treatment to increase sustainability while maintaining yield and marginally improving fruit quality in terms of carotenoid content and dry weight content. On a fresh and dry weight basis, earliest and/or longer water stress treatments seem to have more impact on mature fruit total carotenoid content. Early, late or long-term water deficit do not alter fruit lycopene content, but other carotenoids can be more or less impacted by water deficit. In particular  $\beta$ -carotene and lutein content can be strongly depleted by water deficit. Considering dry weight content carotenoid contents, water deficit impact on carotenoids suggest a decorrelation between green fruit chlorophyll load increase and mature ripe fruit total carotenoid decrease on for DI treatment. Effects related to differentiate CBP gene expression, apocarotenoid sink and other hormonal regulation may also add up to carotenoid content change for tomato fruit under water deficit.

## **Section 2**

### **Localisation de la chlorophylle du fruit en développement et effet de la matrice cellulaire sur l'accumulation des CAR.**

#### **Introduction**

L'expérimentation a consisté à caractériser le nombre et de tailles des cellules du péricarpe des fruits au stade tournant de plusieurs génotypes (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) produits en conditions CI et DI, et de mettre en relation ces variables avec certaines caractéristiques du fruit mature associées au rendement : biomasse, matière sèche et teneur en CAR. Pour une sélection de génotypes contrastés et à plusieurs stades de développement (5 DPA, 14 DPA, 22 DPA, 37 DPA, stade tournant), des morceaux de péricarpe de la zone équatoriale du fruit ont été prélevés et analysés en microscopie confocale pour apprécier la distribution des pigments à l'échelle du péricarpe. Les résultats de cette expérimentation ont permis d'établir le lien entre les compartiments de stockage à l'échelle cellulaire et la quantité de CAR accumulée dans le fruit sous déficit hydrique. Cette expérimentation a aussi permis d'évaluer les zones spécifiques du péricarpe qui ont accumulé de manière significative les pigments d'intérêt (chlorophylle ou caroténoïdes) à différents stades de développement. Elle a offert l'opportunité de vérifier si des effets précoces pouvaient être observés en corrélant les concentrations de chlorophylle dans les fruits verts avec celles des caroténoïdes dans les fruits mûrs, et ce de manière spatialisée entre les deux régimes hydriques.

Les données de la littérature ont suggéré que la masse finale du fruit était largement corrélée au nombre de graines du fruit et au nombre de cellules qui composent le péricarpe du fruit (Bertin et al., 2003; Ripoll et al., 2016). Par ailleurs, compte tenu de la relation que les plastes entretiennent avec la vie de la cellule, on peut supposer que le déficit hydrique qui impacte les cycles de développement du fruit associés au cellules (division et expansion) pourrait se répercuter sur les chloroplastes et donc finalement, aux chromoplastes et à la teneur du fruit mature en CAR. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à caractériser le péricarpe sur ces aspects.

#### **Matériel et méthodes**

Les génotypes de tomate utilisés sont présentés dans le matériel et méthodes général du manuscrit. Les conditions de productions et les méthodes analytiques pour le dosage de la



chlorophylle et des CAR est commune à la section précédente. Voir paragraphes « Plant material and growing conditions » et « Fruit carotenoid and chlorophyll content ».

#### *Microscopie optique confocale*

L'objectif était d'observer la localisation de la chlorophylle (chloroplastes – fruit vert) et des CAR (dominants dans les chromoplastes – fruit mature) en utilisant les propriétés d'auto-fluorescence de ces pigments. La microscopie confocale est un outil adapté pour localiser ces structures d'intérêt tout au long du développement du fruit en permettant de sélectionner les longueurs d'onde d'excitation et de filtrer les longueurs d'onde d'émission appliquées sur l'échantillon. Cette méthode de visualisation nous a permis d'apprécier la localisation des plastides du péricarpe et de vérifier l'hypothèse selon laquelle le génotype ou le traitement hydrique modifient la distribution et la quantité de ces organites. Des tomates ont été récoltées à 5, 14, 22, 37 jours après anthèse ainsi qu'au stade tournant. Les fruits ont été découpés le jour même de l'observation. Pour chaque modalité, 3 fruits ont été récoltés, pour réaliser des prises d'image en triplicat. Lors de l'échantillonnage, les fruits entiers ont été caractérisés en mesurant leur taille, leur masse et leur diamètre. Une portion d'environ 6mm de large de péricarpe a été découpée et déposée dans de l'agar à 3,5% puis coupée au vibratome dans le plan transversal (VT-1000S, Leica). L'épaisseur de la coupe a été ajustée en fonction du stade de développement, car la taille moyenne des cellules du péricarpe augmente avec le développement du fruit (de 80µm pour les jeunes fruits à 220µm pour les fruits matures). Les tranches de péricarpe ont été conservées dans un milieu tampon phosphate salin (PBS 1X) et stockées dans l'obscurité à +4 °C avant l'analyse confocale. Avant l'analyse, les tranches sont immergées pendant 4 minutes dans une solution de coloration au calcofluor blanc à 0,01% et rincées dans le tampon. Les lamelles ont été scellées avec du gel de silicone pour éviter le séchage de l'échantillon. Les images ont été obtenues sur un microscope confocal (TCS-SP8, Leica) avec un objectif x10 à sec (Plateforme 3A, plateforme analytique, plateau de microscopie, Avignon). Les pigments plastidiques ont été excités avec un laser à 488 nm et le signal a été capturé en mode séquentiel entre 654 et 710 nm et 498 à 579 nm pour la chlorophylle et les CAR, respectivement. Les parois cellulaires ont été excitées à 405 nm et le signal a été capturé entre 436 et 485 nm. Le gain et le décalage du signal ont été ajustés à chaque prise d'image à l'aide de la fonction Quick LUT intégrée au logiciel. Les couleurs artificielles ont été réattribuées aux données de fluorescence en noir et blanc avec du bleu, du rouge et du vert pour les parois cellulaires, la chlorophylle et les CAR respectivement. Le profil de fluorescence

acquis en 3D a été converti en 2D en utilisant la projection de l'intensité maximale dans l'axe Z.

*Digestion enzymatique pour l'estimation du nombre de cellules du péricarpe*

Au stade tournant, N = 3 sections équatoriales prélevées sur 3 péricarpes de fruits différents par génotype par traitement ont été utilisées pour la détermination du nombre de cellules après dissociation des tissus selon la méthode décrite par (Bertin et al., 2002). Environ 1 g de péricarpe a été plongé dans 6 mL de solution de pectinase (35 g L<sup>-1</sup> de pectine + 72,9 g L<sup>-1</sup> de mannitol dans une solution d'EDTA 0.1M) pour déstructurer les parois cellulaires. Puis, l'échantillon a été mis en suspension dans la solution par une faible agitation (100 rpm) pendant environ 1h. La densité cellulaire a été calculée en comptant le nombre de cellules dans une chambre de comptage Fuchs-Rosenthal, d'une profondeur de 0,2 mm et d'un volume de 3,2 µL. Si nécessaire, la solution de pectinase avec les cellules est diluée avec une solution de glycérine à 58% afin d'obtenir une concentration appropriée pour le comptage, soit environ 150 cellules dissociées pour toute la surface de la chambre de comptage. Entre 4 et 8 comptages ont été effectués par échantillon en fonction de la variabilité observée à l'échantillonnage de la digestion enzymatique. Le nombre de cellules du fruit entier (Eq. 1) a été extrapolé à partir de la densité de cellules du péricarpe multipliée par le poids du péricarpe du fruit, selon la formule suivante :

$$Nb = \frac{1}{1 * 10^6} * \frac{\text{comptage} * (\text{volume}_{\text{fruit+solution}} * 1000)}{\text{volume}_{\text{cellule de comptage}}} * \frac{mtp}{mpe} . \quad (1)$$

Où *Nb* est le nombre de cellules estimé du péricarpe en millions, *mtp* est la masse totale du péricarpe du fruit et *mpe* est la masse du péricarpe échantillonné.

Le volume moyen des cellules du péricarpe a ensuite été estimé en prenant en compte la densité du fruit :

$$V_{\text{péricarpe total}} = nb_{\text{cellules péricarpe}} * V_{\text{moyen cellule}},$$

$$m_{\text{péricarpe total}} = nb_{\text{cellules péricarpe}} * V_{\text{moyen cellule}} * \rho_{\text{péricarpe}},$$

$$V_{\text{moyen cellule}} = \frac{m_{\text{péricarpe total}}}{nb_{\text{cellules péricarpe}} * \rho_{\text{péricarpe}}} .$$

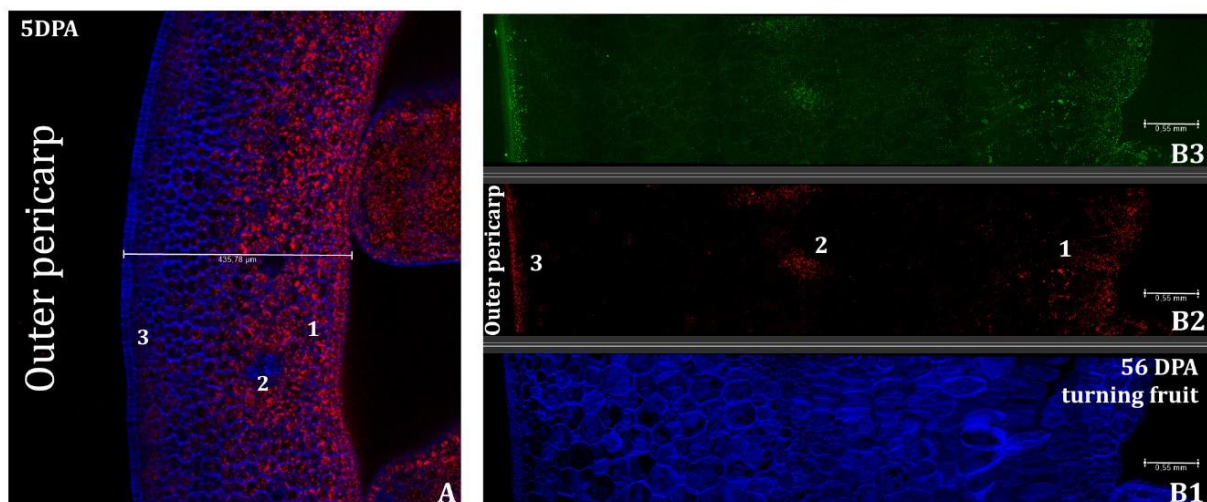
En considérant  $\rho_{\text{péricarpe}} \approx \rho_{\text{fruit}}$ ,

$$V_{\text{moyen cellule}} = \frac{m_{\text{péricarpe total}}}{nb_{\text{cellules péricarpe}} * \rho_{\text{fruit}}} .$$

## Résultats et discussion

### Localisation des pigments dans les tissus du fruit au cours de son développement

La fluorescence des parois cellulaires et des pigments des plastes du péricarpe a permis d'apprécier la distribution spatiale de ces composantes du péricarpe. Le profil de fluorescence sur des fruits de 5 DPA a révélé que la majeure partie de la fluorescence associée à la chlorophylle était située dans la zone interne du péricarpe (Figure 16A, zone 1) et à la périphérie des vaisseaux du fruit (Figure 16A, zone 2), avec pas ou très peu de fluorescence dans le péricarpe externe et la peau (Figure 16A, zone 3). Le schéma de fluorescence de la chlorophylle sur un fruit tournant à 56 DPA était différent. Le péricarpe externe présentait également une zone de fluorescence élevée, ce qui a suggéré une néoformation des plastes, ou des plastes non chlorophylliens dans cette zone (Figure 16B2, zone 3). Les chromoplastes contenant des CAR étaient répartis dans l'ensemble du tissu, avec une fluorescence accrue dans les mêmes zones que celles qui présentaient une persistance de la chlorophylle (Figure 16B3).



**Figure 16 - Parois et pigment associés aux plastes en microscopie confocale.** Projection 2D maximale dans le plan XY de la fluorescence de la paroi cellulaire (bleu), de la chlorophylle (rouge) et des CAR (vert) dans des tranches de péricarpe de fruits issus de l'irrigation contrôlée (CI) du génotype H1311 à 5 jours après anthèse (5DPA) (A) et au stade tournant à 56 DPA (B1, B2, B3). Le panneau A représente la superposition de deux signaux de fluorescence acquis de manière séquentielle. Le panneau B présente les canaux de fluorescence individuellement.

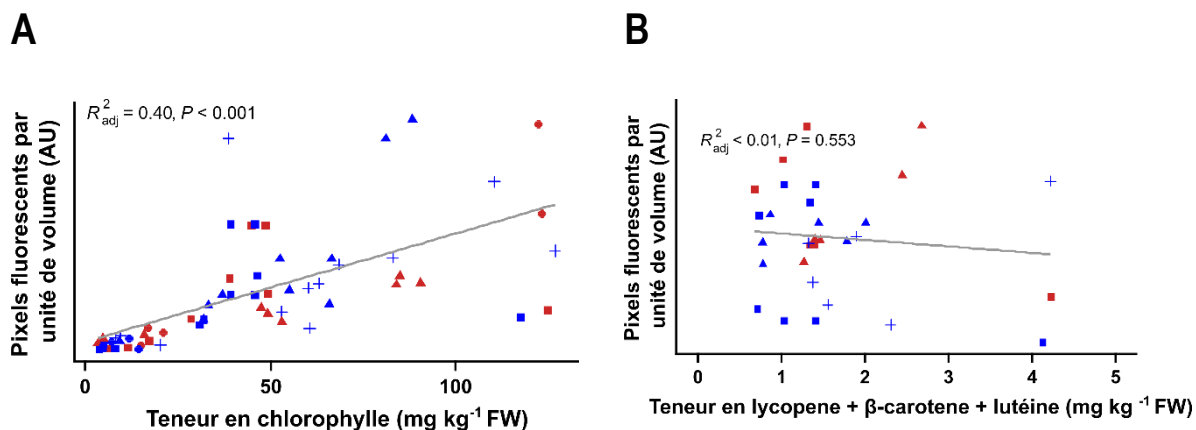
Dans l'ensemble, les tissus du péricarpe présentaient un tissu cellulaire hétérogène (Figure 16B1) avec des cellules de plus petite taille dans le péricarpe externe et la région vasculaire, comme cela a déjà été rapporté sur des fruits plus jeunes (Aslani et al., 2023; Renaudin et al., 2017). Un changement dans le profil des couches cellulaires du péricarpe par le traitement DI pourraient expliquer en partie les changements dans la teneur en CAR des fruits d'un point de vue structural (Aslani et al., 2023; Pećinar et al., 2021), sans que nous ayons observé ou

quantifié ces effets avec les données issues de la microscopie. Une analyse plus poussée des données de fluorescence serait nécessaire pour tester cette hypothèse en segmentant l'analyse par zone du péricarpe. Ainsi, cela permettrait de mettre en relation un changement dans les couches cellulaires avec un changement de fluorescence et/ou de teneur en CAR. A l'échelle du péricarpe entier, cette suggestion sera exploitée sur des fruits murs en section 3 du présent chapitre, avec l'analyse des teneurs en CAR plutôt que de l'intensité de fluorescence.

*Corrélation entre intensité de fluorescence et teneur en pigments*

Si la fluorescence des CAR et de la chlorophylle a fourni des informations sur la localisation des pigments dans les tissus du fruit, l'utilisation de cette méthode à des fins quantitatives reste néanmoins limitée. Nos données préliminaires ont confirmé une corrélation positive significative ( $n=58$ ,  $R=0,64$ ,  $p<0,001$ ) entre la teneur en chlorophylle du péricarpe (quantification biochimique par HPLC) et la fluorescence de la chlorophylle projetée en 2D à partir des données de la microscopie (Figure 17A). Malgré cette corrélation, les écarts entre les valeurs observées et les valeurs prédites restent trop importants, particulièrement quand les teneurs en chlorophylle sont élevées (Figure 17A). Concernant les CAR, nos données n'ont pas permis d'identifier une corrélation entre la teneur du péricarpe en CAR présentant une pigmentation dans le spectre visible (lycopène,  $\beta$ -carotène, lutéine) et la fluorescence projetée en 2D à partir des données de microscopie ( $n = 32$ ,  $R = -0,09$ ,  $p = 0,55$ ) (Figure 17B).

On a pu supposer que ces différences pouvaient s'expliquer par le fait que la fluorescence n'évoluait pas de façon linéaire avec la quantité réelle de chlorophylle ou de CAR présents dans la matrice. De plus, il est à noter que lors de la prise d'image, les réglages ont été optimisés pour la totalité du péricarpe. Cela impliquait que le gain d'amplification était adapté sur les zones qui fluoresçaient beaucoup (péricarpe interne pour la chlorophylle, péricarpe externe pour les CAR) pour l'ensemble du péricarpe. Par conséquent, l'image obtenue pouvait ne pas faire apparaître de la fluorescence dans des zones faiblement pigmentées. Cette situation souligne la nécessité d'une analyse plus détaillée, à la fois en microscopie et en biochimie, focalisée sur des segments spécifiques du péricarpe plutôt que sur l'ensemble de celui-ci. Par ailleurs, d'autres méthodes de microscopie pourraient être exploitées puisque les plastes peuvent être mis en évidence en microscopie classique, même s'il est plus difficile d'attribuer un plaste donné à une cellule spécifique (Annexe du chapitre 1, Figure supplémentaire 2).



**Figure 17 - Corrélation entre la teneur en chlorophylle et l'intensité de fluorescence par unité de volume d'échantillon intégré sur tout l'épaisseur du péricarpe.**  $\lambda_{excitation} = 488 \text{ nm}$  et  $\lambda_{émission} = 654-710 \text{ nm}$ . (A), et entre la teneur en CAR ayant des propriétés optiques (lycopène,  $\beta$ -carotène, lutéine) et intensité de fluorescence par unité de surface d'échantillon ( $\lambda_{excitation} = 488 \text{ nm}$  et  $\lambda_{émission} = 500-550 \text{ nm}$ ) (B) pour les traitements CI (■) et DI (■), tous génotypes (● H1311, ▲ M82, ■ IL2-5, + IL6-2) et DPA confondus.

#### Effet du DI sur la teneur en chlorophylle du fruit immature : cinétique d'accumulation

Comme nous l'avons vu précédemment, les CAR du fruit mûr étaient produits et accumulés dans les chromoplastes. Ces derniers ayant essentiellement pour origine les chloroplastes, on peut estimer que des différences de teneurs en CAR du fruit mature potentiellement provoquées par le déficit hydrique pourraient provenir d'un effet précoce. Pour apprécier ces effets, nous avons utilisé la teneur en chlorophylle comme un proxy associé à la présence des plastes. Par exemple, des teneurs en chlorophylle modifiée par rapport au régime contrôle pourraient correspondre à un nombre et/ou une densité de chloroplastes modulés par le déficit hydrique. Quel que soit le génotype considéré, la teneur en chlorophylle du fruit vert augmentait jusqu'à environ 14 DPA, puis décroissait dans les 37 jours qui suivent l'anthèse avec une forte variabilité inter-génotype (Figure 18). Une tendance semblait apparaître avec une teneur en chlorophylle d'abord plus élevée chez les fruits du traitement DI par rapport aux fruits du traitement CI avant 14 DPA, puis une teneur comparable ou réduite jusqu'à 37 DPA. Cette tendance est néanmoins à nuancer car certaines données restent manquantes à 5 et 14 jours après anthèse, et l'échantillonnage relativement réduit ne permet pas la mise en évidence de différence statistiquement significative ( $n = 3$  morceaux de péricarpe / génotype / stade / traitement) (Figure 18).

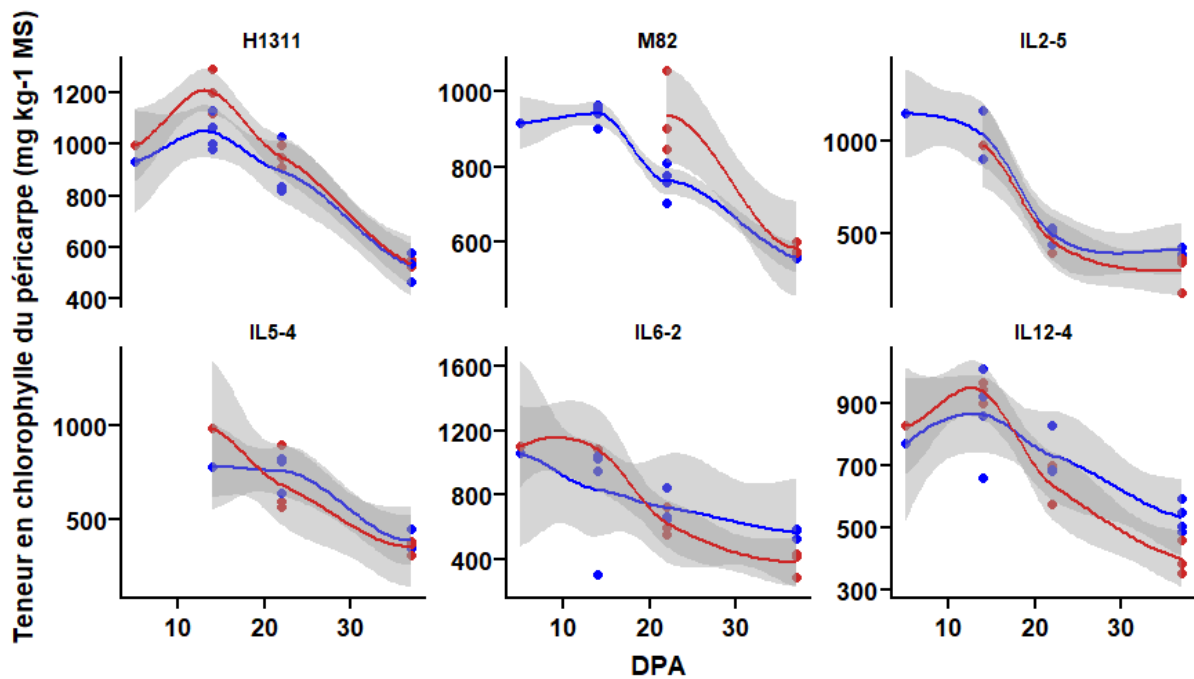
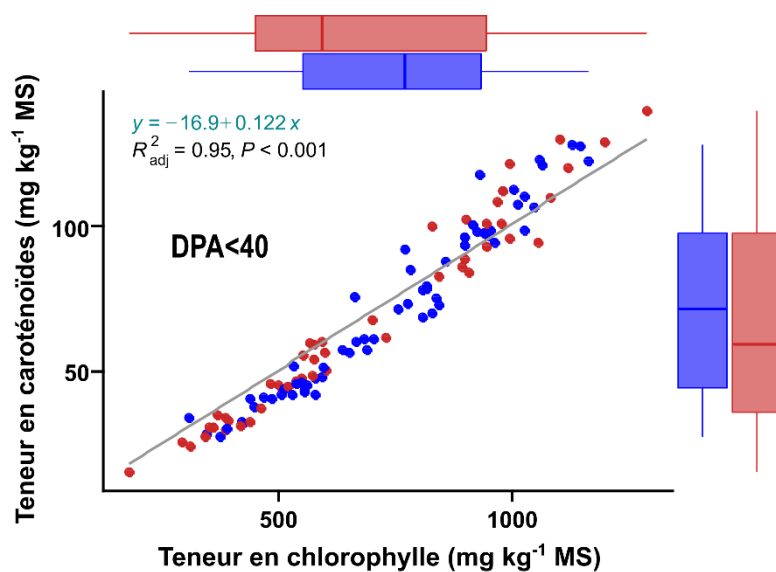


Figure 18 - Cinétique de la teneur en chlorophylle par gramme de matière sèche du péricarpe des fruits dans les 40 premiers jours après anthèse. (<40 DPA), pour les 6 génotypes étudiés (H1311, M82n IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et pour les traitements CI (■) et DI (■). La courbe correspond à une régression non paramétrique de type loess, avec un intervalle de confiance à 95%.

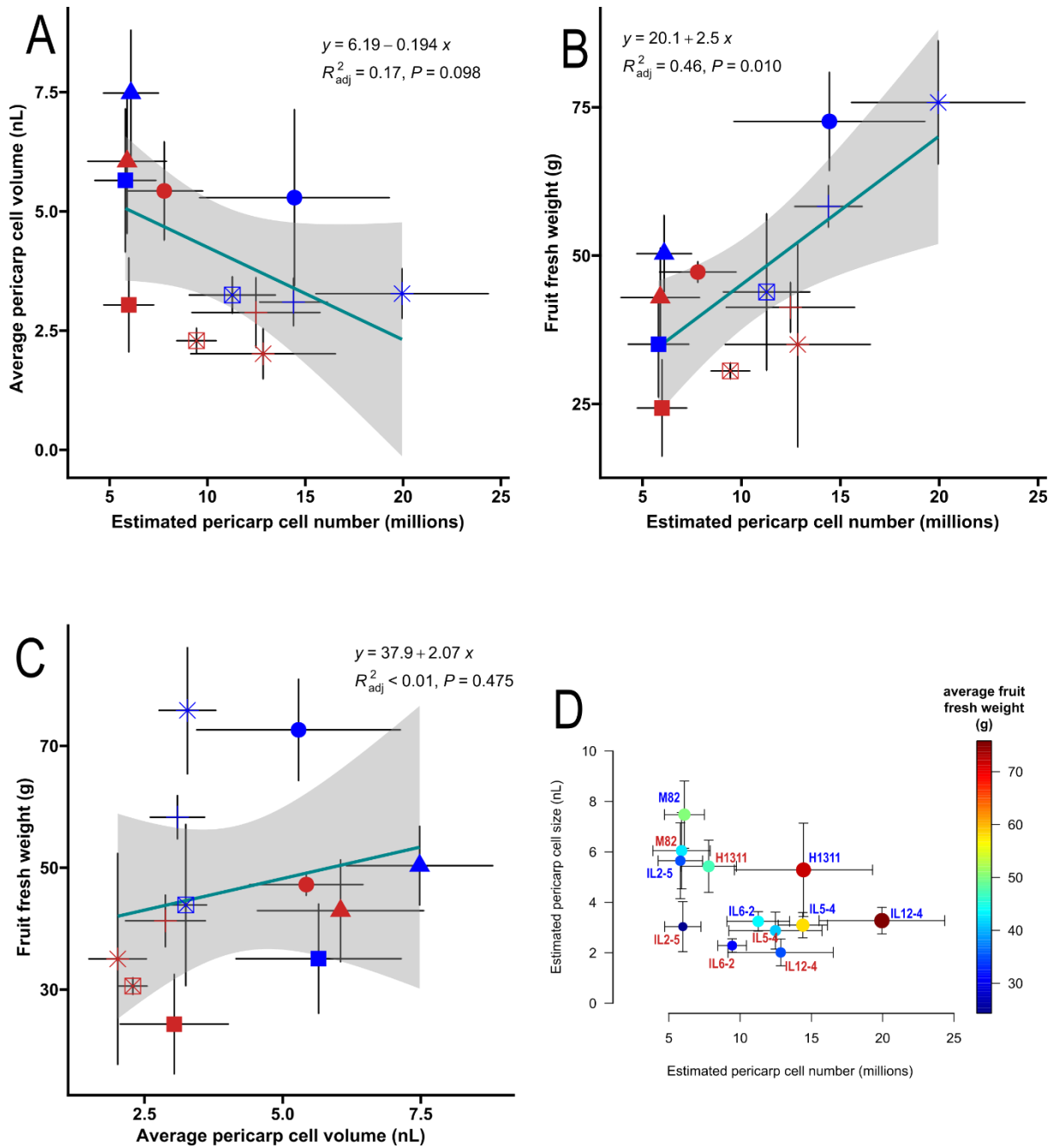
En considérant la teneur en chlorophylle globale de 5 à 37 DPA, seulement sur le génotype H1311, les résultats de la section 1 ont pu montrer une augmentation significative de la teneur globale en chlorophylle du fruit vert en traitement DI (Figure 2, section 1, chapitre 1). Cependant, en ce qui concerne la matière sèche, cette augmentation n'était pas associée à une hausse des CAR sur le fruit mature. De façon générale sur la période 5-37 DPA et tous génotypes confondus les plastes contenaient toujours environ 10 fois moins de CAR que de chlorophylle (Figure 19). Sur cette période « fruit vert », aucune distinction majeure de teneur en CAR totaux ou en chlorophylle n'a été observée entre les traitements DI et CI (Figure 19). Au final, l'hypothèse selon laquelle le déficit hydrique passerait par des effets précoces liés aux plastes à l'échelle du péricarpe entier ne semble pas confortée par l'ensemble de nos résultats qui invitent à réaliser une analyse ciblée par zone de péricarpe, compte tenu de l'hétérogénéité de ce tissu en termes de distribution des pigments et de profil cellulaire.



**Figure 19 - Corrélation entre la teneur en chlorophylle et la teneur en CAR totaux du péricarpe des fruits.** ≤ 37 DPA (jours après anthesis), tous génotypes confondus (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4), pour les traitements CI (■) et DI (■).

#### *Effet du DI sur l'élaboration de la masse fraîche et sèche du péricarpe et sur la teneur en caroténoïdes*

Les données acquises concernant le nombre et la taille des cellules qui constituent le péricarpe reproduisent des schémas de corrélation avec la masse fraîche comparables aux données disponibles dans la littérature (Bertin, 2005) (Figure 20). Le nombre total de cellules du péricarpe n'est pas nécessairement associé à la taille moyenne des cellules qui le compose ( $R^2 = 0,17$ ,  $p = 0,10$ ) (Figure 20A). En revanche, le nombre de cellules du péricarpe restait un déterminant majeur de la masse fraîche du fruit ( $R^2 = 0,46$ ,  $p = 0,01$ ) (Figure 20B). Au final, la masse du fruit est globalement corrélée au nombre de cellules du péricarpe mais le DI affecte la taille et/ou le nombre des cellules du péricarpe avec des niveaux de sensibilité génotypique variables voire contraires (Figure 20D).

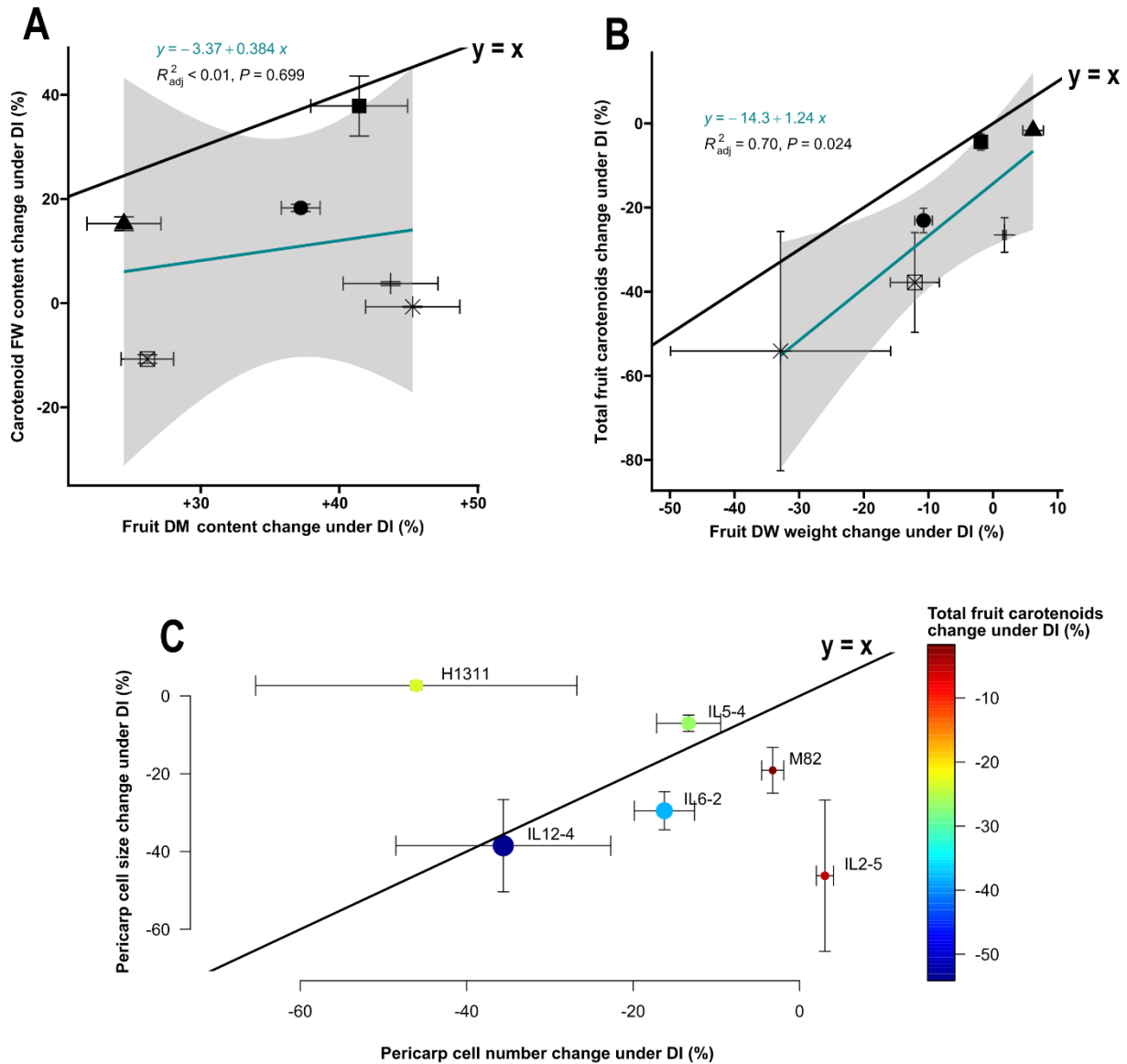


**Figure 20 - Corrélations entre (A) nombre et taille des cellules du péricarpe, (B) masse fraîche du fruit et nombre de cellules du péricarpe, (C) masse fraîche du fruit et taille des cellules du péricarpe, (D) lien entre les 3 variables.** Moyenne  $\pm$  écart-type pour chaque génotype/traitement. Le nombre ou la taille des cellules sont estimés à partir de N = 3 morceaux de péricarpe / génotype / traitement. Les lignes représentent des ajustements linéaires avec un intervalle de confiance à 95% (zone grisée). Pour (A, B, C), traitement hydrique : Irrigation contrôle CI (■) ; Irrigation déficitaire DI (■) ; génotypes : ● H1311, ▲ M82, ■ IL2-5, + IL5-4, ▣ IL6-2, \* IL12-4.

Pour chaque génotype, une analyse comparative de l'évolution de certains paramètres en fonction du déficit hydrique a été réalisée (Figure 21). Dans la section 1 de ce présent chapitre, nous avons vu que l'appréciation de l'effet du déficit hydrique sur les teneurs en CAR du fruit mature pouvait amener à des interprétations contradictoires sur les résultats, s'ils étaient exprimés sur la matière fraîche ou la matière sèche (Figures 2 et 3, section 1, chapitre 1). Le DI



appliqué de l'anthèse à la récolte avait tendance à augmenter la teneur en matière sèche des fruits de tous les génotypes, mais cet effet n'était pas proportionnel au changement de la teneur en CAR (Figure 21A).



**Figure 21 -** Corrélation entre (A), effet relatif du déficit hydrique sur la teneur en matière sèche (% DM) des fruits et la teneur totale en CAR entre les fruits témoins et les fruits stressés, (B) effet du déficit hydrique sur la biomasse totale du fruit (g MS) et la quantité totale de CAR accumulée du fruit (g CAR fruit<sup>-1</sup>) entre les fruits témoins et les fruits stressés. (C) Effet relatif du déficit hydrique sur le nombre de cellules du péricarpe, la taille moyenne des cellules du péricarpe et la quantité totale de CAR accumulée dans le fruit entier entre les fruits témoins et les fruits stressés. Pour (A, B) ; génotype : ● H1311, ▲ M82, ■ IL2-5, + IL5-4, ⊠ IL6-2, \* IL12-4.

Si l'augmentation de la teneur en matière sèche était associée à une hausse des teneurs en CAR (par gramme de matière fraîche) pour les génotypes H1311, M82 et IL2-5, cela n'était peu ou pas le cas des génotype IL5-4, IL6-2 ou IL12-4. Par conséquent, si la baisse de la teneur en eau

des fruits sous DI a pu participer à expliquer l'augmentation des teneurs en CAR du fruit mur, cela n'apparaît pas de façon systématique. En revanche, il semble exister une association beaucoup plus forte entre la quantité totale de CAR accumulée dans le fruit et sa biomasse totale, ce qui suggère que le contrôle de la biomasse du fruit est un levier déterminant pour l'accumulation de ces pigments. ( $R^2 = 0,70$ ,  $p = 0,002$ ) (Figure 21B). La baisse de la quantité totale de CAR accumulée dans le fruit soumis au DI était proportionnelle à sa perte de masse, même si de façon générale, la perte en CAR semblait supérieure à la perte de biomasse, comme suggéré par le positionnement des points en dessous de la droite d'équation  $y = x$ , qui correspondait à des pertes en CAR totaux exactement proportionnelles aux pertes de masse. Il convient de noter que la perte de masse entraînait mécaniquement une perte de CAR, mais cet effet pouvait bien être associé à des événements en lien avec la division et l'expansion cellulaire qui ont lieu avant la maturation du fruit. Pour les 6 génotypes étudiés, le DI a eu des effets très différents sur le nombre et/ou la taille moyenne des cellules du péricarpe (Figure 21C). Certains génotypes ont vu leur nombre de cellules du péricarpe largement réduit mais pas ou peu la taille (H1311, IL5-4), d'autres la taille moyenne des cellules mais pas ou peu le nombre (M82, IL2-5). Il apparaît donc que ce sont les génotypes qui ont vu le nombre et la taille moyenne des cellules diminuer conjointement avec le DI (IL6-2, IL12-4) pour lesquels la quantité totale moyenne de CAR accumulés dans le fruit a diminué le plus fortement (Figure 21C). Dans cette expérimentation, des effets liés à une surmaturation éventuelle des fruits DI par rapport aux fruits CI semblent à exclure, car les fruits prélevés au stade tournant ou au stade mûr étaient globalement d'âge comparables entre les génotypes/traitements (Annexe chapitre 1, Figure supplémentaire 1).

## Section 3

### Compartimentation des CAR de deux génotypes de tomate (H1311, Terradou) dans un contexte de déficit hydrique

#### Introduction

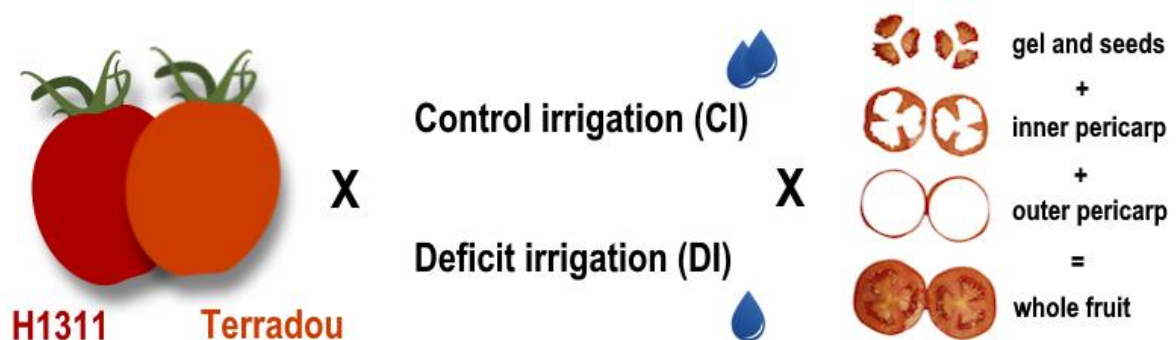
À la lumière des résultats rapportés par les deux sections précédentes, la troisième expérimentation a consisté à étudier la compartimentation des caroténoïdes à l'échelle des différents tissus du fruit. Pour ce faire, nous avons produit des fruits de deux génotypes de tomate d'industrie soumis à une irrigation contrôle (CI) ou un déficit hydrique (DI) de l'anthèse à la récolte, dans des conditions expérimentales comparables aux deux sections précédentes. Les génotypes sélectionnés pour cette étude, H1311 et Terradou, ont été préalablement caractérisés pour leurs contrastes en termes de teneur en eau, de caroténoïdes (CAR), ainsi que pour leurs qualités liées à la transformation, spécifiquement dans le contexte de la tomate d'industrie (tels que les degrés Brix, la viscosité, etc.) (Arbex de Castro Vilas Boas et al., 2017; Page et al., 2022). A maturité, les fruits ont été récoltés et séparés en trois zones distinctes (gel et graines, périsperme interne, périsperme externe et cuticule) pour être analysés : biomasse fraîche, biomasse sèche, teneur en CAR. En comparant des variations de biomasse à des variations de quantité de CAR, ces résultats ont permis d'identifier les zones du fruit et les CAR qui étaient les plus impactés par le déficit hydrique appliqué tout au long du développement du fruit. L'analyse des teneurs en CAR, sur la base de la matière fraîche ou sèche, nécessite de calculer trois paramètres : la biomasse totale fraîche du fruit, sa teneur en matière sèche, et la quantité de caroténoïdes par unité de masse fraîche. Un déficit hydrique influençant les teneurs en caroténoïdes pourrait être dû à des variations de quantité de CAR accumulée et/ou de biomasse du fruit. Par exemple, une hausse des teneurs en CAR pourrait résulter de divers scénarii en lien avec la variation de ces paramètres (Tableau 4).

**Tableau 4 - Cinq situations peuvent amener à l'augmentation des teneurs en caroténoïdes du fruit.** Une variation ( $\Delta$ ) positive de la teneur totale en CAR à l'échelle du fruit ( $\text{mg g}^{-1}$ ) (ligne 3) peut être la résultante de 5 situations liées à la quantité de CAR accumulée ( $\text{mg}$ ) (ligne 1) et la biomasse du fruit ( $\text{g}$ ) (ligne 2).

Quantité de CAR accumulée ( $\Delta A$ ) (mg)	↗	↗	↗	=	↘
Biomasse du fruit ( $\Delta B$ ) (g)	↗	=	↘	↘	↘
Teneur en CAR ( $\Delta A/\Delta B$ ) ( $\text{mg g}^{-1}$ )	↗ (si $\Delta A > \Delta B$ )	↗	↗	↗	↗ (Si $ \Delta B  >  \Delta A $ )

La quantité de CAR accumulée dans le fruit mature serait la résultante entre les CAR qui ont été synthétisés et accumulés par les plastides sans être catabolisés, c'est-à-dire n'ayant pas subi de clivage médié par les ROS ou par les enzymes de clivage des caroténoïdes (CCD).

Dans cette expérimentation, en segmentant le fruit en différents compartiments et en mesurant leur biomasse, nous avons pu attribuer les changements observés à des variations de biomasse ainsi qu'à des différences dans la quantité de caroténoïdes accumulés dans les zones spécifiques du fruit. Cela a permis une meilleure identification des scénarios explicatifs de la manière dont le déficit hydrique peut influencer les concentrations en caroténoïdes, offrant une analyse plus détaillée que celle qui se limite à l'échelle du fruit entier (Figure 22).



**Figure 22 - Plan d'expérimentation de la section 3.** Des fruits matures comparables en termes d'âge et de position sur le bouquet issus de 2 géotypes contrastés (H1311, Terradou), soumis à un régime hydrique contrôle (CI) ou au déficit hydrique (DI) de l'anthèse à la récolte sont prélevés pesés puis découpés (n=5/géotype/traitement), pour être analysés en termes de teneur en eau et CAR sur 3 compartiments contrasté : Gel et graines, péricarpe interne, péricarpe externe et cuticule.

### Matériel et méthodes

Les conditions de productions et les méthodes analytiques pour le dosage des CAR reste identique à la section 1, même s'il convient de noter que l'expérimentation a été conduite l'année suivante. Voir paragraphes « Plant material and growing conditions » et « Fruit carotenoid and chlorophyll content » uniquement pour la partie analytique (HPLC).

Les fruits ont tous été récoltés le même jour, en position 2 ou 3 du bouquet. Ils avaient entre 55 (particulièrement pour Terradou DI) et 58 jours après anthèse. Les fruits ont été pesés et leurs deux diamètres ainsi que leur hauteur ont été relevés. Les couches externes du fruit (cuticule et quelques couches de cellules de l'épiderme externe et sous épiderme) ont été retirées à l'aide d'un éplucheur à tomate (Ingenio, Tefal) en appliquant une pression constante pour chaque fruit. Les fruits ont été coupés selon une section longitudinale aléatoire et le gel et les graines

ont été retirés du reste du péricarpe. Chaque section a été pesée et cryogénisée, puis stockée à  $-80^{\circ}\text{C}$  avant analyse. Le volume et la surface du fruit ont été estimés avec un modèle de fruit ellipsoïde de type sphéroïde allongé où  $c$  (demi-hauteur)  $>$   $a$  (rayon 1) et  $b$  (rayon 2).

## Résultats et discussion

*L'effet du déficit hydrique varie selon le compartiment et le caroténoïde considéré.*

Les données de la section précédente ont suggéré que la baisse de la quantité de CAR accumulée dans le fruit était légèrement ou largement supérieure à la baisse de biomasse du fruit observée pour chaque génotype, suggérant que les teneurs totales en CAR par gramme de matière sèche seraient diminuées. Pour les génotypes H1311 et Terradou et à l'échelle du fruit entier, le déficit hydrique impacte la biomasse totale du fruit et la quantité de CAR accumulés de façon inégale, avec des effets négatifs plus marqués sur H1311 que sur Terradou (Tableau 5). Au final, on constate pour ces deux génotypes que la diminution de biomasse totale du fruit provoquée par le déficit hydrique est supérieure à la diminution de quantité totale de CAR accumulés dans le fruit ce qui n'est pas en adéquation avec les résultats de l'expérimentation précédente (Figure 21B). La résultante est une légère augmentation, inférieure à 3%, de la teneur en CAR des fruits par gramme de MS (Table 4). Dans cet exemple, cela suggère que le scénario 5, lié à une diminution de la quantité de CAR accumulée inférieure à la diminution de la biomasse du fruit semble à privilégier pour expliquer que le déficit hydrique peut-être à l'origine d'une augmentation de la teneur en CAR des fruits. En décomposant les données par compartiment, la part que représente le compartiment externe dans la biomasse totale du fruit augmente (+6,5% pour H1311, +4,6% pour Terradou) pour les fruits issus du déficit hydrique. En complément, la contribution aux CAR totaux accumulée pour les deux génotypes dans les compartiments du gel et des graines et du péricarpe interne est diminuée. La résultante est une contribution des couches externes aux CAR totaux du fruit augmentée (+13,9% pour Terradou, +31,8% pour H1311).

En somme, si les fruits voyaient leur teneur en CAR totaux légèrement augmenter avec le déficit hydrique, cela semblerait être attribuable uniquement à des effets positifs observés au niveau des couches externes du fruit. Cela pourrait être vérifié en décomposant la quantité totale de CAR accumulée dans le fruit par compartiment et par caroténoïde (Figure 23). En effet, la quantité totale de CAR accumulée dans les fruits était globalement diminuée avec les fruits issus du déficit hydrique, à l'exception du phytoène et du phytofluène pour H1311. Pour les deux génotypes, la quantité de lycopène (+4,6% pour H1311, +8,8% pour Terradou) et de

phytoène (+64% pour H1311, +5,4% pour Terradou) accumulée dans les couches externes semblait être augmentée pour les fruits issus du déficit hydrique.

**Tableau 5 - Biomasse sèche, CAR totaux et teneurs puis distribution des CAR du fruit dans les tissus et effet du déficit hydrique.** Pour les deux génotypes étudiés, le déficit hydrique diminue la contribution du gel et graines et du péricarpe interne sur les CAR totaux du fruit. En revanche, le péricarpe externe voit sa contribution à la biomasse totale et aux CAR totaux du fruit augmenter. (Moyenne  $\pm$  écart-type, N = 5 mesures/génotype/traitement/compartiment).

		<b>H1311</b>			<b>Terradou</b>		
<b>Biomasse totale du fruit (g MS) (B)</b>	(CI)	4,97 $\pm$ 0,55			6,29 $\pm$ 0,68		
	(DI)	3,99 $\pm$ 0,59			5,68 $\pm$ 0,46		
	Effet du déficit hydrique (%)	<b>-19,7 <math>\pm</math> 3,6%</b>			<b>-9,7 <math>\pm</math> 1,3%</b>		
<b>CAR totaux du fruit (mg) (A)</b>	(CI)	18,70 $\pm$ 3,12			10,62 $\pm$ 1,26		
	(DI)	15,43 $\pm$ 3,01			9,82 $\pm$ 1,23		
	Effet du déficit hydrique (%)	<b>-17,5 <math>\pm</math> 4,5%</b>			<b>-7,5 <math>\pm</math> 1,3%</b>		
<b>Teneur totale en CAR (mg/g MS) (A/B)</b>	(CI)	3,76 $\pm$ 0,75			1,69 $\pm$ 0,27		
	(DI)	3,87 $\pm$ 0,95			1,73 $\pm$ 0,26		
	Effet du déficit hydrique (%)	<b>+2,8 <math>\pm</math> 0,9%</b>			<b>+2,4 <math>\pm</math> 0,2%</b>		
		<b>Gel et graines</b>	<b>Péricarpe interne</b>	<b>Péricarpe externe</b>	<b>Gel et graines</b>	<b>Péricarpe interne</b>	<b>Péricarpe externe</b>
<b>Répartition de la biomasse sèche du fruit (% total)</b>	(CI)	21,23 $\pm$ 2,62	56,43 $\pm$ 2,7	22,34 $\pm$ 0,69	22,17 $\pm$ 2,31	60,14 $\pm$ 4,12	17,68 $\pm$ 2,36
	(DI)	19,68 $\pm$ 5,61	56,52 $\pm$ 5,93	23,8 $\pm$ 1,83	22,19 $\pm$ 1,16	59,32 $\pm$ 1,04	18,49 $\pm$ 0,7
	Effet du déficit hydrique (%)	<b>-7,3%</b>	<b>+0,16%</b>	<b>+6,54%</b>	<b>+ 0,0%</b>	<b>-1,36%</b>	<b>+4,58%</b>
<b>Répartition des CAR totaux du fruit (%)</b>	(CI)	22,14 $\pm$ 4,07	54,22 $\pm$ 3,92	23,64 $\pm$ 1,56	21,15 $\pm$ 8,28	54,26 $\pm$ 10,92	24,59 $\pm$ 7,45
	(DI)	18,56 $\pm$ 4,03	50,27 $\pm$ 4,98	31,17 $\pm$ 3,5	17,97 $\pm$ 2,35	54,02 $\pm$ 1,36	28,01 $\pm$ 2,95
	Effet du déficit hydrique (%)	<b>-16,2%</b>	<b>-7,3%</b>	<b>+31,8%</b>	<b>-15,1%</b>	<b>-0,4 %</b>	<b>+13,9%</b>

La quantité de phytofluène accumulée dans les couches externes était augmentée uniquement pour H1311 (+43,6%). Tous les autres CAR ont vu leur quantité accumulée réduites dans les différents compartiments. A l'échelle du fruit entier, la quantité totale de lycopené accumulée semblait être diminuée par le DI (-19,0% pour H1311, -4,5% pour Terradou). Ces variations sont à mettre en perspective aux variations de biomasse des fruits (-19,72% pour H1311, -9,68% pour Terradou) (Tableau 5). Comparativement à la section 1 du présent chapitre (Figure 3,

section 1, chapitre 1), tous les CAR n'ont pas été impactés de façon comparable dans un contexte de DI (Figure 23). Pour les deux génotypes, le déficit hydrique a provoqué une diminution de l'accumulation du lycopène inférieure à la perte de biomasse du fruit. La résultante a été une légère augmentation des teneurs en lycopène par g de MS du fruit. Une diminution de la quantité accumulée en  $\beta$ -carotène et en lutéine bien supérieure à la perte de biomasse était associée au régime DI et donc leur teneur était largement diminuée. Cela a suggéré que l'effet du déficit hydrique sur la teneur en CAR du fruit était également associé au profil en CAR du génotype considéré. C'est-à-dire que des génotypes caractérisés par des contributions élevées du  $\beta$ -carotène (génotype IL6-2) aux CAR totaux pourraient être pénalisés de façon plus importante que des génotypes caractérisés par des contributions élevées du lycopène aux CAR totaux (génotype H1311).

Dans la littérature, des données issues du génotype M82 suggère que l'augmentation de l'expression des gènes de la voie de biosynthèse des CAR au début de la maturation se produirait d'abord dans les compartiments internes avant de se propager aux autres compartiments (Shinozaki et al., 2018). En regardant par exemple l'expression du gène Solyc03g031860 codant pour PSY1, l'expression était élevée à partir du stade tournant dans à peu près tous les compartiments du fruit à l'exception des graines. Au niveau des couches cellulaires du péricarpe, l'expression était faible dans le péricarpe externe et la zone vasculaire mais forte dans la zone collenchyme (3-4 couches cellulaires en dessous de l'épiderme externe) (voir la "Supplementary data 3", Shinozaki et al., 2018). Ce type d'approche combinant la microdissection et le séquençage du transcriptome entier (RNA-Seq) pourrait permettre de mieux comprendre l'origine de la hausse de la quantité de CAR accumulés dans les couches externes du fruit, et d'estimer la part de cet effet qui repose sur des ajustements métaboliques (niveau d'expression des gènes de la voie de biosynthèse des CAR).

#### *L'effet du déficit hydrique sur les microconstituants repose en partie sur un changement de morphométrie du fruit*

Dans les sections précédentes, nous avons vu que le déficit hydrique était associé à une diminution de la biomasse des fruits matures. Une partie de ces effets semble passer par des évènements précoces liés aux cellules du péricarpe, puisqu'une grande part de la biomasse du fruit était expliquée par le nombre de cellules du péricarpe (Figure 20B). Nos résultats ont suggéré que seules les couches externes du fruit ont vu leur rendement en CAR augmenter, ce qui a pu se traduire par une augmentation, même légère, des teneurs du CAR à l'échelle du fruit entier. Si le déficit hydrique diminuait la biomasse du fruit, cela se traduirait également par un

changement dans la morphométrie du fruit, avec une masse volumique augmentée sous DI (Annexe du chapitre 1, Tableau Supplémentaire 1) et des fruits de plus faible volume.

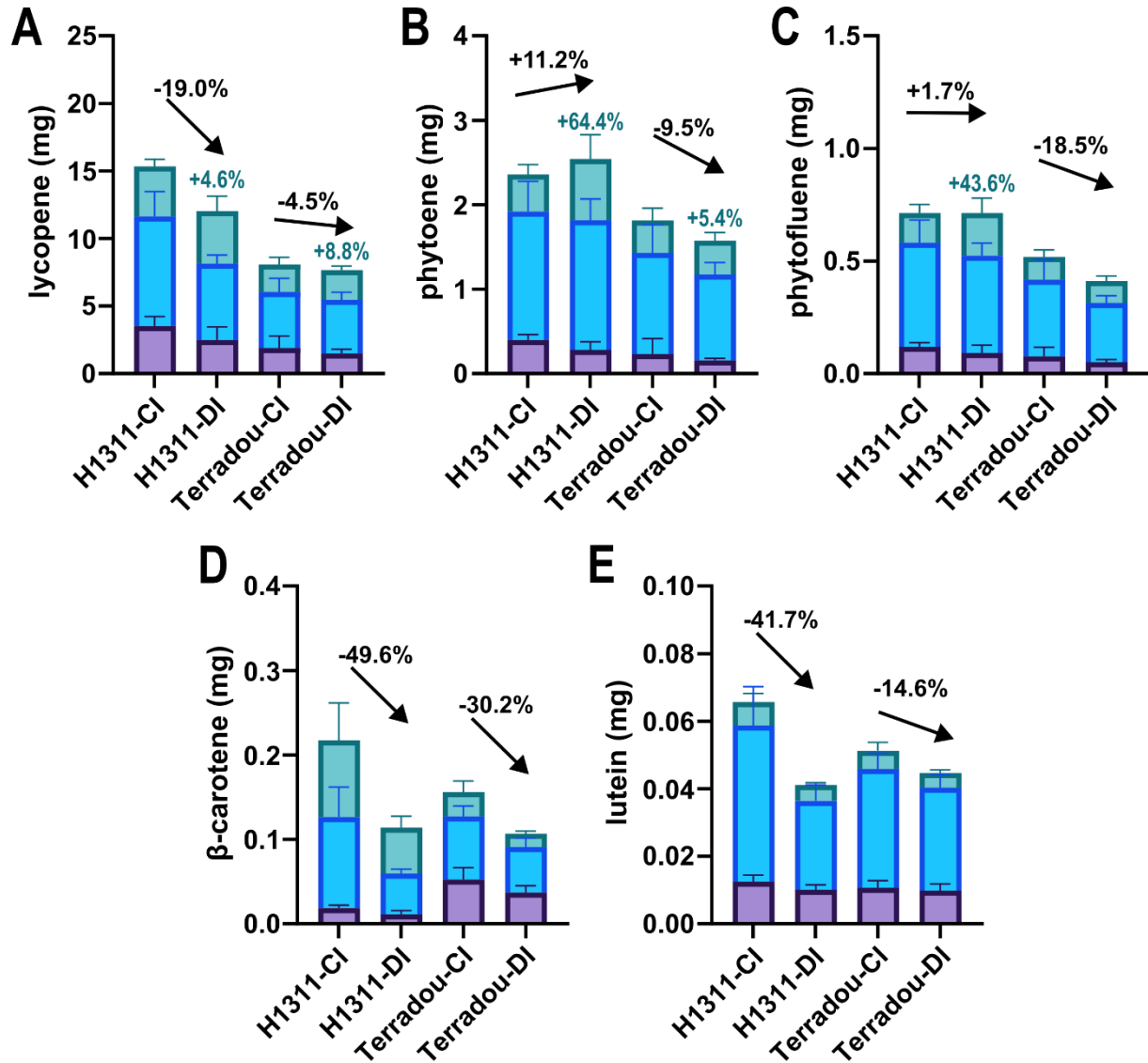


Figure 23 - Masse de lycopène (A), phytoène (B), phytofluène (C),  $\beta$ -carotène (D) et de la lutéine (E) accumulée dans les fruit des génotypes H1311 et Terradou soumis à une irrigation contrôlée (CI) ou déficitaire (DI). Répartition dans le gel, le placenta et les graines (■) ; le péricarpe interne (■) et le péricarpe externe avec la cuticule (■). Moyenne  $\pm$  écart-type, N = 5 mesures/génotype/traitement/compartiment.

Par exemple, pour H1311, si environ 13 fruits étaient nécessaires pour atteindre le kg en condition témoin, il faudrait environ au moins 20 fruits pour constituer un kilogramme soit une augmentation de +56% de nombre de fruits frais au kilo avec le déficit hydrique. Pour Terradou, cet effet était plus nuancé avec une augmentation de +8% fruits frais au kilo. La diminution de la taille des fruits aurait pour conséquence d'augmenter la contribution des couches externes au



volume (ou à la biomasse) totale des fruits. Sur les fruits des génotypes présentés en section 2, les données suggéraient que le rapport surface/volume du fruit est dépendant du génotype ( $p < 0,0001$ ) (donc de la taille des fruits étudiés), avec un effet positif du déficit hydrique sur ce rapport (+21% en moyenne tous génotypes confondus,  $p < 0,0001$ ) même si l'amplitude de l'effet n'était pas homogène entre les génotypes ( $p$  interaction  $< 0,001$ ) (Figure 24A). L'expérimentation répétée avec les génotypes H1311 et Terradou a montré que le phénomène est retrouvé pour H1311, mais que l'augmentation du ratio surface/volume n'était pas observée pour Terradou (Figure 24B0). Nous avons montré que la zone à la surface du fruit était particulièrement riche en CAR. Sur la base de la matière fraîche, cette partie du fruit avait des teneurs en CAR totaux plus élevées de +29% (H1311-CI) à +104% (Terradou-DI) par rapport au reste du fruit (péricarpe interne et gel et graines) (Figure 24B1).

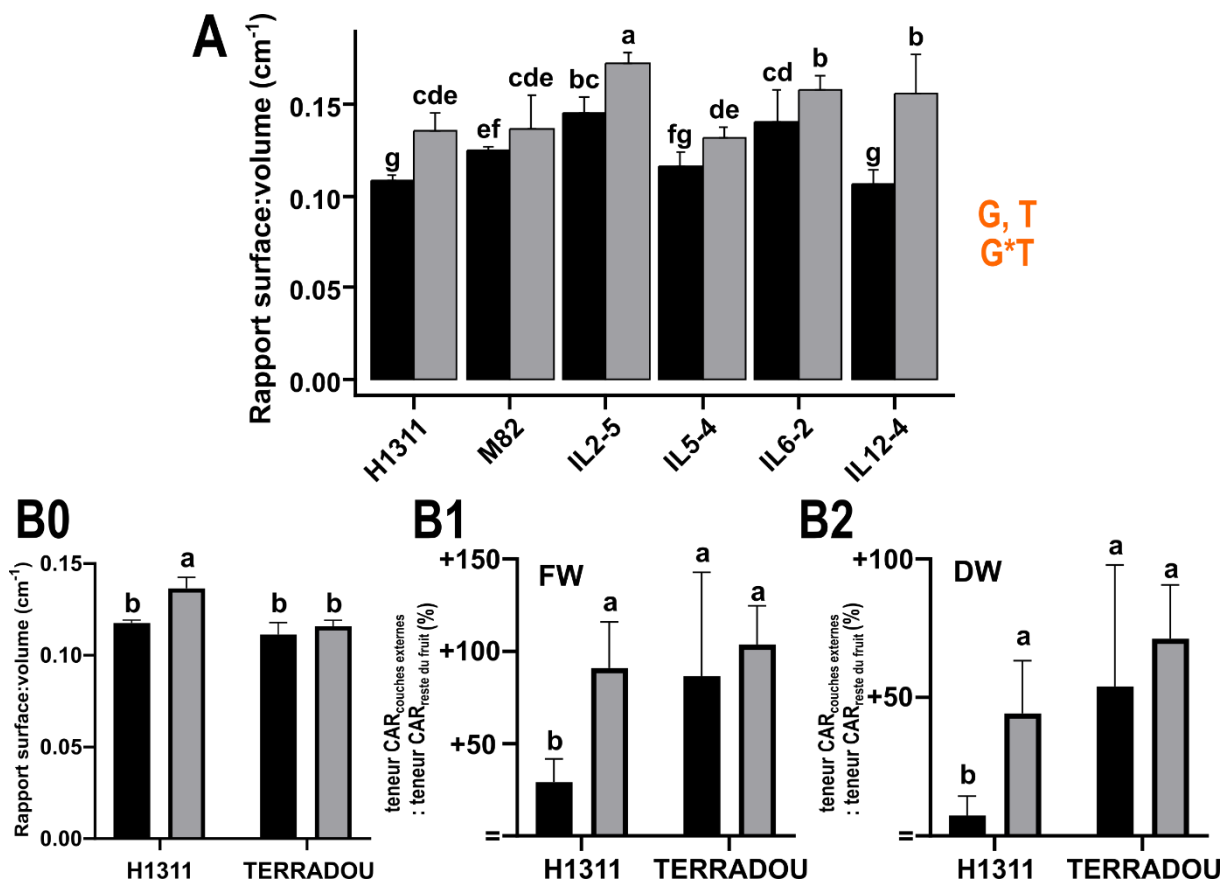


Figure 24 - Pour des fruits tournants ou matures: rapport surface du fruit (cm<sup>2</sup>) / volume du fruit (cm<sup>3</sup>) (A). Pour les fruits matures de l'expérimentation suivante : rapport surface du fruit (cm<sup>2</sup>) / volume du fruit (cm<sup>3</sup>) (B0), teneur en CAR du péricarpe externe par rapport à celle du reste du fruit en matière fraîche (B1) ou matière sèche (B2) pour les traitements CI (■) et DI (▒). Moyenne +/- écart type, N>=5 par génotype/traitement. Des lettres différentes attribuées à chaque groupe indiquent une différence significative ( $p_{adj} < 0,05$ ) d'après une analyse de la variance à deux facteurs et un ajustement de contrôle des faux positifs de Benjamini-Hochberg.

Sur la base de la matière sèche, cette augmentation passait de +7% (H1311-CI) à +71% (Terradou-DI) (Figure 24B2). Par ailleurs, le génotype H1311 qui avait subi la plus grande perte de biomasse/volume a vu ses teneurs en CAR dans le compartiment du péricarpe externe augmenter, ce qui était plus modéré pour le génotype Terradou (Figure 24B1, 24B2).

De façon comparable, on suppose que l'augmentation du rapport surface/volume possiblement provoquée par le déficit hydrique pourrait également avoir une incidence mécanique positive sur la teneur en polyphénols du fruit indépendamment des effets d'ordre métabolique. En effet, une grande partie des flavonoïdes qui constituent les polyphénols totaux du fruits se trouvaient principalement dans les couches externes du fruit (Ćetković et al., 2012; Slimestada & Verheulb, 2009; Tamasi et al., 2019; Toor & Savage, 2005; Vallverdú-Queralt et al., 2011). Il en est de même pour les matières insolubles dans l'alcool, une fraction riche en fibres, largement dominantes dans les couches externes des fruits (Annexe du chapitre 1, Figure supplémentaire 3).

Il convient de noter que les données issues du fruit entier pourraient ne pas être représentatives du produit final consommé. Dans un contexte de transformation des fruits en purée ou concentrés, les co-produits de peaux et de graines, encore trop peu souvent valorisés, sont souvent retirés du produit final. Néanmoins, ils ont pourtant été décrits comme étant particulièrement riches en matière sèche et en CAR (Strati & Oreopoulou, 2014). Ces co-produits pourrait contenir jusqu'à 10 fois plus de lycopène et 17 fois plus de  $\beta$ -carotène que le reste du fruit (Reboul et al., 2005).

## **Conclusions**

Dans l'ensemble, ces données ont montré qu'il n'est dans l'immédiat pas envisageable d'utiliser la microscopie confocale à des fins de quantification de la chlorophylle ou des CAR à l'échelle du péricarpe entier. Compte tenu des zones très spécifiques où sont massivement accumulés ces pigments, que ce soit sur le fruit vert (chlorophylle, à l'intérieur du péricarpe) ou sur le fruit mature (CAR, à l'extérieur du péricarpe) une approche plus localisée à une échelle inférieure devrait être menée. En utilisant la chlorophylle totale comme un proxy de la présence des plastides, il n'a pas été possible d'identifier un effet majeur du déficit hydrique sur la teneur en chlorophylle. Dans les cas où la chlorophylle semblait significativement augmentée sous DI (H1311), cela ne s'est pas nécessairement traduit par une augmentation des CAR du fruit mature. De plus, la composante de la teneur totale en CAR n'a pas été impactée de façon homogène entre les CAR qui constituent cette somme. Bien que l'augmentation des teneurs en

CAR du fruit mature ait pu parfois être observée dans un contexte de déficit hydrique, cela ne pouvait pas s'expliquer uniquement par un effet de « concentration ». Tous les génotypes ont vu leur matière sèche augmenter sous DI mais pas forcément leur teneur en CAR, même sur la base de la matière fraîche. A l'échelle de la cellule, le déficit hydrique semble avoir eu un impact sur le nombre et/ou la taille moyenne des cellules du péricarpe, ce qui semble se répercuter sur la biomasse du fruit et pourrait avoir un impact compte tenu des processus liés à la division des cellules et des plastes (Forth & Pyke, 2006; Miyagishima, 2011; Theg & Wollman, 2014), mais cet effet reste à évaluer à l'échelle des plastes (Figure 25).

A l'échelle du fruit, nous avons vu que 5 scénarii peuvent expliquer l'augmentation des teneurs en CAR du fruit mature. Dans un contexte de déficit hydrique appliqué de l'anthèse à la récolte, les résultats issus de deux expérimentations intégrant au total 7 génotypes ont pu démontrer un effet globalement négatif du déficit hydrique sur la biomasse du fruit et la quantité de CAR accumulée dans le fruit. Si la biomasse du fruit a diminué plus fortement que la quantité totale de CAR accumulée, on a pu observer une hausse des teneurs en CAR (Section 3). Autrement dit, la diminution de la quantité totale de CAR accumulée serait supérieure à la diminution de la biomasse du fruit, résultant en une diminution des teneurs en CAR provoqué par le déficit hydrique (Section 2). Par ailleurs, la distribution des CAR n'étant pas homogène dans tous les tissus du fruit et le déficit hydrique pouvant impacter la morphométrie des fruits, on suppose que la surreprésentation des couches externes du fruit stressé pourrait participer à limiter la perte de CAR totale accumulée dans le fruit.

## Bilan graphique du chapitre 1

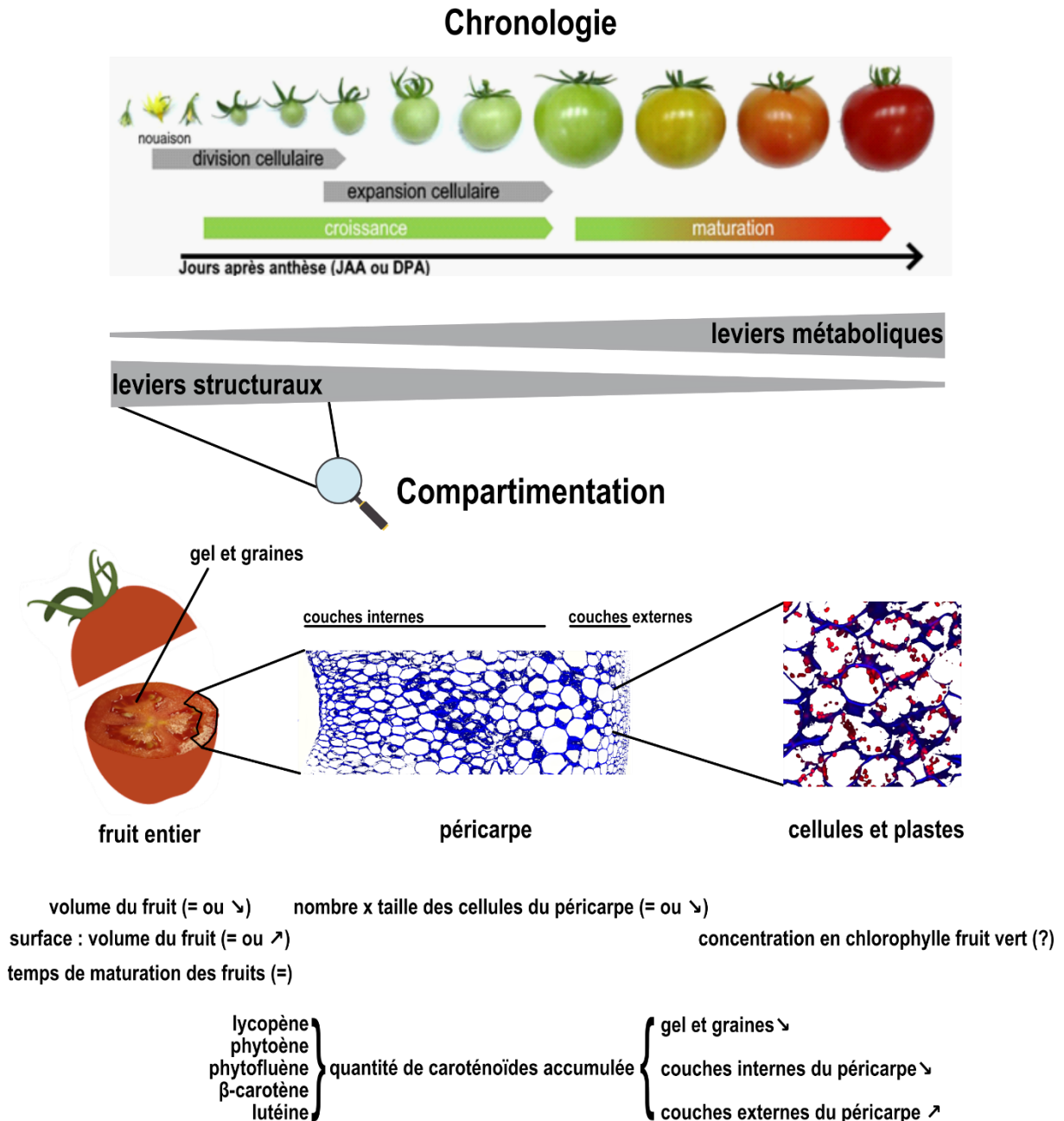


Figure 25 – Schema: effets structuraux précoces possibles causes par le déficit hydrique sur l'accumulation des caroténoïdes.

### **Faits marquants du chapitre 1**

- Toutes les données ont convergé pour suggérer que **le déficit hydrique précoce et/ou de longue durée a impacté les teneurs en caroténoïdes de la tomate mature.**
- Le **sens** et l'**amplitude** de la variation des teneurs en caroténoïdes a semblé être largement dépendant **du caroténoïde** et du mode d'évaluation considéré **à savoir sur la base de la matière fraîche ou la matière sèche.**
- Des changements de teneurs en microconstituants ont pu s'expliquer par **un changement de morphométrie** du fruit. La présence des couches externes par unité de masse semble **amplifiée** par le déficit hydrique.
- Le déficit hydrique appliqué **tardivement** permet de maintenir **le rendement frais et sec, diminuer les apports en eau, et garantir des teneurs en caroténoïdes totaux maximales.**

# **Chapitre 2**

**Effets du déficit hydrique et/ou  
des traitements post-récolte sur  
la valeur santé et la  
bioaccessibilité in vitro des  
caroténoïdes de la tomate et la  
baie de goji**

## Introduction

Dans le contexte où les plantes sont soumises à un déficit hydrique, qu'il soit subi ou régulé, une question pertinente se pose : est-ce qu'une réduction significative des apports en eau pendant la phase reproductive pourrait améliorer la qualité nutritionnelle de la tomate et de la baie de goji ?

Dans ce chapitre, la première section sera consacrée à comparer la composition et la bioaccessibilité des caroténoïdes et le potentiel de résistance à la sécheresse, évalué en termes de rendement agricole, de 6 génotypes de tomate et 1 génotype de goji dans des conditions comparables et contrôlées en serre (Figure 26). Cette section a fait l'objet d'un article soumis (Breniere et al., 2023). La deuxième section sera consacrée à prolonger la caractérisation de la composition du goji, par une analyse plus détaillée de la composition des fruits frais qui ont été produits en serre. Nous étudierons les variations de composition provoquées par des traitements post-récolte et l'incorporation des caroténoïdes dans les micelles mixtes produites par une digestion dans un modèle *in vitro*.

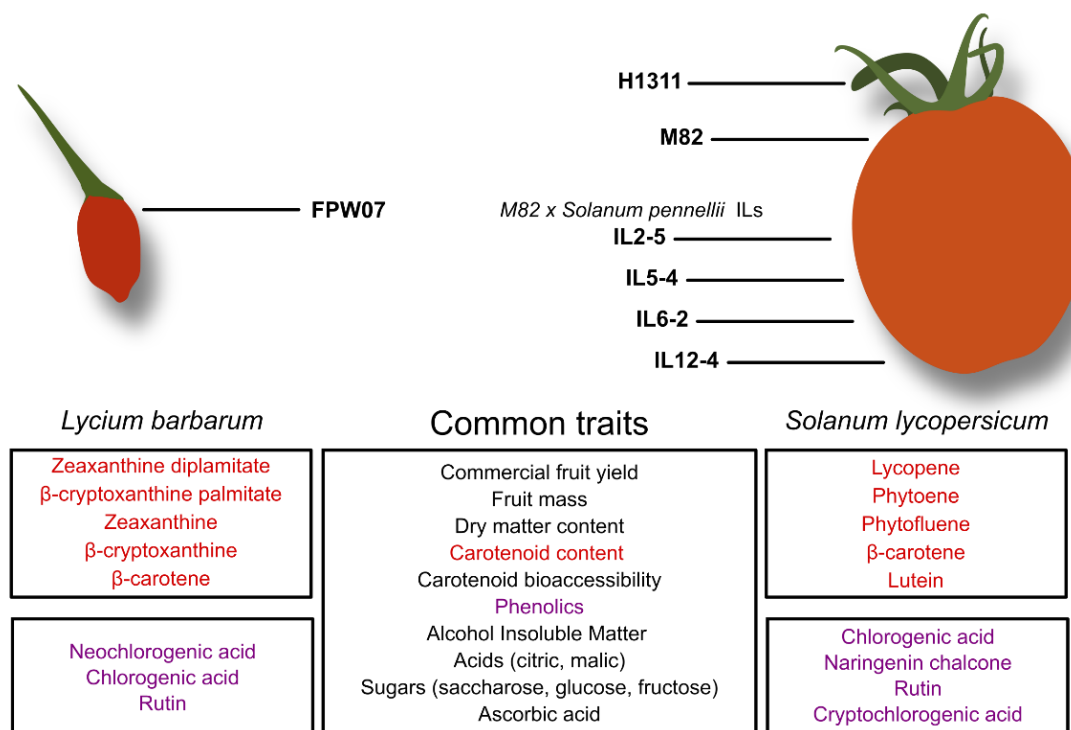


Figure 26 - Résumé graphique. Chapitre 2, section 1.

## Section 1

### Effect of long-term deficit irrigation on tomato and goji berry quality: from fruit composition to in vitro bioaccessibility of carotenoids

Thomas Breniere<sup>1,2,3</sup>, Anne-Laure Fanciullino<sup>1,4</sup>, Doriane Dumont<sup>1</sup>, Carine Le Bourvellec<sup>5</sup>, Catherine Riva<sup>3</sup>, Patrick Borel<sup>2</sup>, Jean-François Landrier<sup>2</sup>, Nadia Bertin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRAE, PSH UR1115, Avignon, France.

<sup>2</sup>Aix-Marseille Université, INSERM, INRAE, C2VN, Marseille, France.

<sup>3</sup>Avignon Université, UPR4278 LaPEC, Avignon, France.

<sup>4</sup>Univ Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, Angers, France.

<sup>5</sup>INRAE, Avignon Université, UMR408 SQPOV, Avignon, France.

#### ABSTRACT

Drought is a persistent challenge for horticulture, affecting various aspects of fruit development and ultimately fruit quality, but the effect on nutritional value has been under-investigated. We studied fruit quality of six tomato genotypes and one goji cultivar under deficit irrigation (DI), from fruit composition to in vitro bioaccessibility of carotenoids. For both species, DI concentrated most health-related metabolites in fresh fruit. On a dry mass basis DI increased total phenolic and sugar concentration, but had a negative or insignificant impact on fruit ascorbic acid, organic acid, alcohol insoluble matter contents. DI also reduced total carotenoids content in tomato (-18.7% on average), especially  $\beta$ -carotene (-32%), but not in goji berry DW (+15.5% and +19.6% respectively). DI reduced the overall in vitro bioaccessibility of carotenoids to varying degrees depending on the compound and plant species. Consequently, mixed micelles produced by digestion of fruits subjected to DI contained either the same or lesser quantities of carotenoids, even though fresh fruits could contain similar or higher quantities. So, DI effects on fruits composition were species and genotype dependent but an increase in the metabolite concentration did not necessarily translate into greater bioaccessibility potentially due to interactions with the fruit matrix.

**Keywords** : *Solanum lycopersicum*, *Lycium barbarum*, drought, quality, phenolic, antioxidant



## INTRODUCTION

Agriculture is facing the dual context of climate change and human health, both of which being reflected in the "one health" concept. In particular, the increasing risk of more intense and frequent droughts and the issues caused by water scarcity pose a constant threat to global agricultural productivity and food security (Spinoni et al., 2018). As far as health is concerned, the consumption of fruit and fruit-derived food products is consistently described as a lever for both the protection and improvement of health (Poiroux-Gonord et al., 2010; Slavin and Lloyd, 2012). In this study, we approached this dual context in a cross-disciplinary manner, studying the impact of water resources on the quality of two species, tomato and goji, whose fruits potentially contribute to consumer health, and going beyond disciplinary studies by assessing quality in terms of composition as well as *in vitro* bioaccessibility of carotenoids, one of the main targets of health effects. Whereas tomato fruit (*Solanum lycopersicum*) is one of the most consumed fruit and vegetable products in several countries (Costa and Heuvelink, 2018), due to the diversity in its product forms (fresh, cooked, juice, concentrate...), goji berries (*Lycium barbarum*), are often categorized as a "superfruit" due to their polysaccharide (dietary fibers) content and the richness of their phytochemical profile. Both fruit species contains large amounts of minerals, vitamins, phenolics and that may overall, independently or synergistically contribute to fruit health potential (Socaciu, 2007; Story et al., 2010; Amagase and Farnsworth, 2011). In particular, the large number of pigments in tomato and goji berry makes these fruits an interesting source of carotenoids (Socaciu, 2007; Story et al., 2010), which give the fruit their yellow, orange and red colors and also have antioxidant properties, some are a source of provitamin A, supporting visual functions, and mitigating the outcome of some types of cancer (Bohn et al., 2021).

Crops with high water consumption such as tomatoes grown for industrial processing, mainly in the Mediterranean regions, will be severely challenged by future environmental changes (Cammarano et al., 2022). The genetic diversity of tomato and the existing genetic resources offer a number of advantages for better adaptation to water deficit (Diouf et al., 2020). On the other hand, goji plants are known to adapt to arid climates (Wei et al., 2006), although the mechanisms responsible for this adaptation remain to be elucidated. The development of goji berry production could thus be of benefit in reducing dependency on irrigation and increasing the sustainability of health promoting fruits. Beyond the predictable effects of water deficit on fruit yield, the question of the impact on quality also arises. It has been widely documented on tomato (Bertin and Génard, 2018). In particular, moderate deficit irrigation has been described

as beneficial for the improvement of the nutritional quality, aroma and carotenoid content of fruits from specific tomato varieties. It does so by stimulating the secondary metabolisms of plants (Ripoll et al., 2014; Coyago-Cruz et al., 2022), although much of the response is also influenced by genetic and seasonal factors, along with the intensity and duration of the deficit irrigation (DI) treatment (Ripoll et al., 2014). More recently, data is emerging on the impact of environmental conditions on *L. barbarum* fruit quality traits, with recorded changes in fruit phenolic composition and carotenoid concentrations that depend on the harvest date (Poggioni et al., 2022). To our knowledge, the impact of DI on goji fruit quality traits remains unexplored.

In the context of a study on the health value of fruit, it seems essential to assess the bioaccessibility of target compounds beyond variations in their content in the fruit, which is rarely done in studies that report an effect of production conditions on fruit quality. Bioaccessibility and/or bioavailability data provide information on the release and assimilation of potentially beneficial compounds in the gastrointestinal tract during digestion, this being the first step for compound uptake and metabolism by the human body (Morelli and Rodriguez-Concepcion, 2023). Previous research has described how factors such as the food matrix or post-harvest treatment may affect carotenoid bioaccessibility (Van Het Hof et al., 2000; Borel, 2003), but as far as we know, there is no available data on how water deficit affects the bioaccessibility of carotenoids in fleshy fruits. Depending on the carotenoid chemical structure and fruit matrix, bio-fortification strategies to increase concentrations of phytochemicals in edible crop tissues may not necessarily translate into increased levels of incorporation into the intestinal micelles and hence into health benefits (Bassolino et al., 2022; Morelli and Rodriguez-Concepcion, 2023). In the present work, we investigated the impact of DI on tomato and goji fruit quality traits with a focus on carotenoid content and bioaccessibility, which we assessed using an in-vitro digestion model. By selecting different tomato genotypes with a well-defined genetic background associated with carotenoid heterogeneity, we evaluated the degree to which specific compounds are affected by DI, considering possible interactions between genotype and DI in the expression of desirable fruit traits. By comparing tomato and goji, we explored the hypothesis that the impact of drought on fruit quality may differ between species due to differences in these fruits' matrices and carotenoid nature. Finally, we discussed the positive effect that DI is assumed to have on fruit quality, considering variations in both the fruit composition and the carotenoid bioaccessibility.

## MATERIALS AND METHODS

### *Genetic material*

Four tomato introgression lines (ILs), IL2-5, IL5-4, IL6-2 and IL12-4, originating from a cross between cv. M82 and the wild green-fruited species *S. pennellii* (accession LA 716) (Eshed and Zamir, 1994), were selected for the variety of fruit physical and chemical properties (Rousseaux et al., 2005). All ILs are almost isogenic to the original M82 genotype with a single homozygous chromosome segment (location indicated in the name) incorporated from *S. pennellii* (Liu et al., 2003). M82, the reference genome, has been previously described as “drought sensitive” (Liu et al., 2017). IL2-5 is described as a “drought tolerant” mutant compared to M82 (Liu et al., 2018). IL5-4 is described as improved in terms of °Brix, reduced firmness and sensitive to blossom end rot (Matsumoto et al., 2021). IL6-2 contains a Beta mutant gene (B) that alters carotenoid biosynthesis which leads to an increase in fruit  $\beta$ -carotene content at the expense of lycopene (Ronen et al., 2000). IL12-4 fruits contain higher levels of antioxidants, ascorbic acid, and soluble solids compared to M82 (Sacco et al., 2013). In addition, tomato cv. H1311 was selected for its high lycopene content (Richard Henry Ozminkowski, 2015).

One goji (*L. barbarum*) cultivar, SWEET CAROLINE ‘FPW07’ (FPW Développement, France) was selected. It displays beneficial agronomic traits such high yield and powdery mildew resistance (Wang, 2019).

### *Glasshouse experiment*

Tomato seeds were sown in plug trays in a climatic plant growth chamber with 70% relative air humidity, 120  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  photosynthetic photon flux intensity, 14 h artificial daylight, and day-night temperatures set at 22-17°C. Following germination, seedlings were transferred individually into 0.3L pots. At the third true leaf stage, N = 12 plants per genotype were transferred in a glasshouse into 7.5 L pots filled with compost substrate made of 90% organic matter (2/3 frozen black peat moss, 1/3 peat moss) with a 80% water retention capacity (Potgrond h70 047, Klasmann-Deilmann France). The day–night temperature set point was 25-17°C. Flowers were pollinated by bumblebees. Two-years-old goji plants (N = 60 plants) were grown into 7.5L pots in the same growing conditions as tomato plants. The goji plants were homogenized in terms of ramifications per plant, following the three-level model and were then arranged on a trellis (Jiao and Liu, 2020). Flowers were self-pollinated.

The nutrient solution (Liquoplant Rose, dilution 4/1000, Plantin, Courthézon, France) was supplied to plants by a drip irrigation system (drip flow of 2L h<sup>-1</sup>) for the whole growth period

with and average electroconductivity of 1.8 mS cm<sup>-1</sup>, and pH of 6.0. During the vegetative period, the number of daily triggers was revised periodically to match 100% replacement of plant evapotranspiration. When flowers became visible in 75% of plants, half of them (N = 6 for each tomato genotype, N = 30 for goji) were randomly allocated to two irrigation regimes, namely, Control Irrigation (CI) and Deficit Irrigation (DI). CI plants were irrigated in the same manner as during the vegetative period. For DI plants, the water supply was gradually decreased until a 50% reduction of irrigation volume that was maintained over the whole reproductive period up to final fruit harvest (Djidonou et al., 2016). Soil water content was tracked using probes (N = 5 random plants per species per treatment) inserted below the soil surface (EC-5 Soil Moisture Sensor, Decagon). The average volumetric water content for the CI and DI time periods was around 45% (soil water potential about -0,1 MPa) and 25% (soil water potential about -0,2 MPa) respectively (Supplementary Fig. S1). Over the whole fruit production period, water delivered to CI tomato plants ranged from 159 to 167 L plant<sup>-1</sup>, falling to 69 - 76L plant<sup>-1</sup> under DI. Total water delivery for goji was on average 190L plant<sup>-1</sup> for CI and 105L plant<sup>-1</sup> for DI.

#### *Fruit harvest and biochemical analyses*

Red-ripe fruits were collected twice a week during the harvest period which lasted 48 days for tomato and 75 days for goji. Commercial fruit fresh yield (CFFY) was calculated by weighing all harvested mature fruits except for tomato fruits with blossom end rot. Average fruit weight was approximated by dividing CFFY by the total number of collected fruits. Calculation of commercial fruit dry yield (CFDY) was based on dry matter (DM) content assessed gravimetrically by drying a sub-sample at 75 °C until weight stabilization. Water use efficiency was calculated on the basis of fresh (FW-WUE) or dry (DW-WUE) weight by dividing CFFY or CFDY by the total amount of water supplied in each treatment.

For the biochemical assessment of fruit quality, five (tomatoes) to six (goji berries) separate batches were formed for each treatment and genotype by mixing fruits (n>30) harvested over the entire harvest period, in order to attenuate any seasonal changes in fruit quality (Poggioni et al., 2022). Each representative sample was grounded (IKA A11 basic; IKA-Werke GmbH, Germany) in liquid nitrogen and around 30g of fresh powder was stored at -80 °C in sealed containers. The biochemical analyses were performed on fresh powder (ORAC<sub>FL</sub>, carotenoids) or on freeze-dried samples (alcohol insoluble matter, sugars, acids, Vitamin C, phenolics).

Alcohol insoluble matter (AIM), as an estimation of fruit dietary fiber, was measured after extraction and removal of soluble molecules using 80% and 50% ethanol solutions, following starch hydrolysis by amyloglucosidase, as previously described (Gilbert et al., 2009).

Using the ORAC<sub>FL</sub> assay, hydrophilic antioxidant capacity was measured. 0.5g of thawed tomato or goji powder was diluted in 5mL pH 7.4 phosphate buffer and mixed in a sealed container at 160 rpm for 1 hour. After centrifuging at 3300 g for 10 minutes, 25 µL of the supernatant was added to a 96-well plate. 150 µL of 0.5 nM fluorescein solution (Sigma Aldrich) was then added and incubated at 37 °C for 10 minutes. Antioxidant capacity was gauged using fluorescence intensity at 485/520 nm wavelengths. After a 5-minute stable phase, 25 µL of 150 mM AAPH was added, starting the oxidation. Fluorescence was measured at 40-second intervals for 1 hour, and values were compared to the initial stable phase reading. Results, derived from the fluorescence decay curve, were given in micromoles of Trolox equivalent (TE) per gram on a DM basis using a Trolox calibration curve (D. Huang et al., 2002). Three technical replicates were averaged for each genotype-treatment condition.

Soluble sugars (glucose, fructose, sucrose) and organic acids (citric acid and malic acid) were extracted with a chloroform-methanol-water mixture (3:5:5 v:v:v) as described elsewhere (Gomez et al., 2002). Soluble sugars and organic acids were determined by HPLC, using a refractometer detector for soluble sugars (Gomez et al., 2002) and an UV detector for organic acids (B. H. Wu et al., 2002). In goji berry, the chromatographic peak for citric acid being poorly resolved, this molecule was assayed using indirect enzymatic measurement of the disappearance of NADH by the action of citrate lyase, malate dehydrogenase and lactate dehydrogenase with a microplate reader as described elsewhere (B. H. Wu et al., 2002).

Tomato carotenoids ( $\beta$ -carotene, lycopene, phytoene and phytofluene) were extracted with a hexane-dichloromethane-ethyl acetate mixture (1:4:50 v:v:v) and then assayed by HPLC DAD as described elsewhere (S Sérino et al., n.d.). For goji berry, carotenoids ( $\beta$ -carotene, zeaxanthin dipalmitate, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin palmitate and  $\beta$ -cryptoxanthin) were extracted with an ethanol-hexane mixture (2:1 v:v) then assayed by UPLC ESI TQ as described elsewhere (Dumont et al., 2020). No distinction was made between the E and Z forms of carotenes, and the mass of the peaks observed was integrated into a single molecule.

Tomato phenolic compounds (chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, rutin and naringenin chalcone) were extracted with a methanol-water mixture (7:3 v:v) and then assayed by HPLC-DAD (Jordan et al., 2020). For goji berry (rutin, chlorogenic acid and neochlorogenic acid), the

protocol applied was a methanol-water-formic acid extraction (7.6:2:0.4 v:v:v) and an assay by UPLC ESI TQ as described elsewhere (Dumont et al., 2020).

Ascorbic acid (Vitamin C) was measured using a microplate technique that reduces  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  using the reduced form of vitamin C (Stevens et al., 2006).

All these compounds were quantified using an external calibration based on commercially available pure standards (Sigma, Extrasynthese or CaroteNature). In the absence of a pure standard, zeaxanthin palmitate could not be assayed with maximum confidence and it is therefore not studied in this article.

#### *In vitro digestion and bioaccessibility assessment*

Carotenoid bioaccessibility was measured on CI and DI fruits for goji and for tomato H1311, M82, IL6-2 and IL12-4, as they displayed the greatest differences in fruit carotenoid content (Supplementary Fig. S2). Micellization efficiency, here described as bioaccessibility, was computed as the ratio between the compound quantity released from the food matrix and incorporated into mixed micelles and the compound quantity in the tested food. Carotenoid micellization was assessed using an in vitro digestion protocol including oral, gastric, and duodenal steps as previously described (Morand-Laffargue et al., 2023b) with the following modification: at the beginning of the protocol, 2 g of thawed tomato or goji fruit powder, were placed in a 100 mL Erlenmeyer flask containing 32 mL NaCl 0.9%. For goji, carboxyl ester lipase (CEL, Porcine pancreas, Sigma Aldrich, #26745) was added at the beginning of the duodenal digestion step, using 1U mL<sup>-1</sup> digestate, as suggested by a previous study (Wen et al., 2018). The CEL enzyme hydrolyzes numerous ester compounds, including the xanthophyll esters present in goji, and is known to be biologically active in the human digestive system (Chitchumroonchokchai and Failla, 2006). The rest of the protocol remained unchanged and was followed by centrifugation and 0.22  $\mu\text{m}$  filtration (Millex-GS, mixed cellulose esters, Millipore) of the micellar supernatant. Aliquots were stored at  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  in sealed tubes. The carotenoids in the micellar fractions of the digestates were extracted using slightly different protocols to those used for fresh fruit. For tomato, 500  $\mu\text{L}$  of the micellar fraction was extracted with an ethanol-hexane mixture (1:4 v:v). The hexane phase of the extract was evaporated under nitrogen flow then solubilized in a MeOH-DCM mixture before injection into HPLC-DAD as described elsewhere (Borel et al., 2021; Morand-Laffargue et al., 2023). For goji berry, 450  $\mu\text{L}$  of the fraction was contacted with 30 mg  $\text{CaCO}_3$  and 600  $\mu\text{L}$  hexane-ethanol (2:1 v:v) with butylated hydroxytoluene (BHT) (0.2%; w:v). After adding 300  $\mu\text{L}$  of water, the two phases

(hexane and aqueous) were separated by centrifugation. The hexane phase was placed in a microtube while 600  $\mu\text{L}$  of 0.1% BHT hexane was added to the aqueous phase. A second centrifugation was used to recover the hexane phase and add it to the first. Between each step, a shaking step was performed. The 2 hexane phases were evaporated under nitrogen. The resulting dry extract was reconditioned immediately prior to analysis using UPLC-ESI-TQ by adding 150  $\mu\text{L}$  of MTBE followed by 300  $\mu\text{L}$  of ethanol as described elsewhere (Dumont et al., 2020).

Micellar fractions from tomato digesta (100  $\mu\text{L}$ ) were injected into the HPLC-DAD as described elsewhere (Borel et al., 2021; Morand-Laffargue et al., 2023b). In our work, specific wavelengths were assigned for the quantification of all-trans-lycopene (472 nm),  $\beta$ -carotene and lutein (450 nm), phytoene (286 nm), phytofluene (350 nm).

#### *Statistical analysis and data processing*

For tomato fruits, two-way ANOVAs were applied to test the impact of Genotype (G), water treatment (T) and their interaction (G\*T) (R software, version 4.2.2). Where at least one factor, or the interaction, was significant ( $P < 0.05$ ), post-hoc pairwise comparisons were performed with Fisher's least significant difference (LSD) test followed by a false discovery rate p-value adjustment using the Benjamini–Hochberg procedure (package “agricolae”, v 1.3-5). The impact of DI on goji fruits was evaluated independently using an unpaired two-tailed Student's t-test test. The standard deviations (SD) of WUE and commercial fruit yield on a DW basis (CFDY) were calculated by considering error propagation formula for each product of the variables (Ku, 1966). For heatmaps, the Euclidean distance matrix was calculated and we used the complete-linkage clustering method (R, package “pheatmap”, v1.0.12), indicating significant comparisons with a “\*” ( $p < 0.05$ ). Plots were drawn using either R (package “ggplot2”, v3.4.0, and “ggprism”, v1.0.3), or Graphpad Prism (GrapPad Software, v9.0.0). Principal component analysis (PCA) of tomato carotenoids was carried out on centered and scaled data (R, package “ade4”, v.1.7-20) with individual values (95% confidence ellipse for each genotype-irrigation group) and variables plotted in the first two PC axes (R, package “factoextra”, v.1.0.7).

## **RESULTS**

#### *Effects of water deficit on yield and water-use efficiency in tomato and goji*

Overall, DI and genotype had a strong impact on tomato production in terms of commercial fruit fresh (CFFY) and dry (CFDY) yields (Fig. 1). On average, the CFFY of CI plants ranged

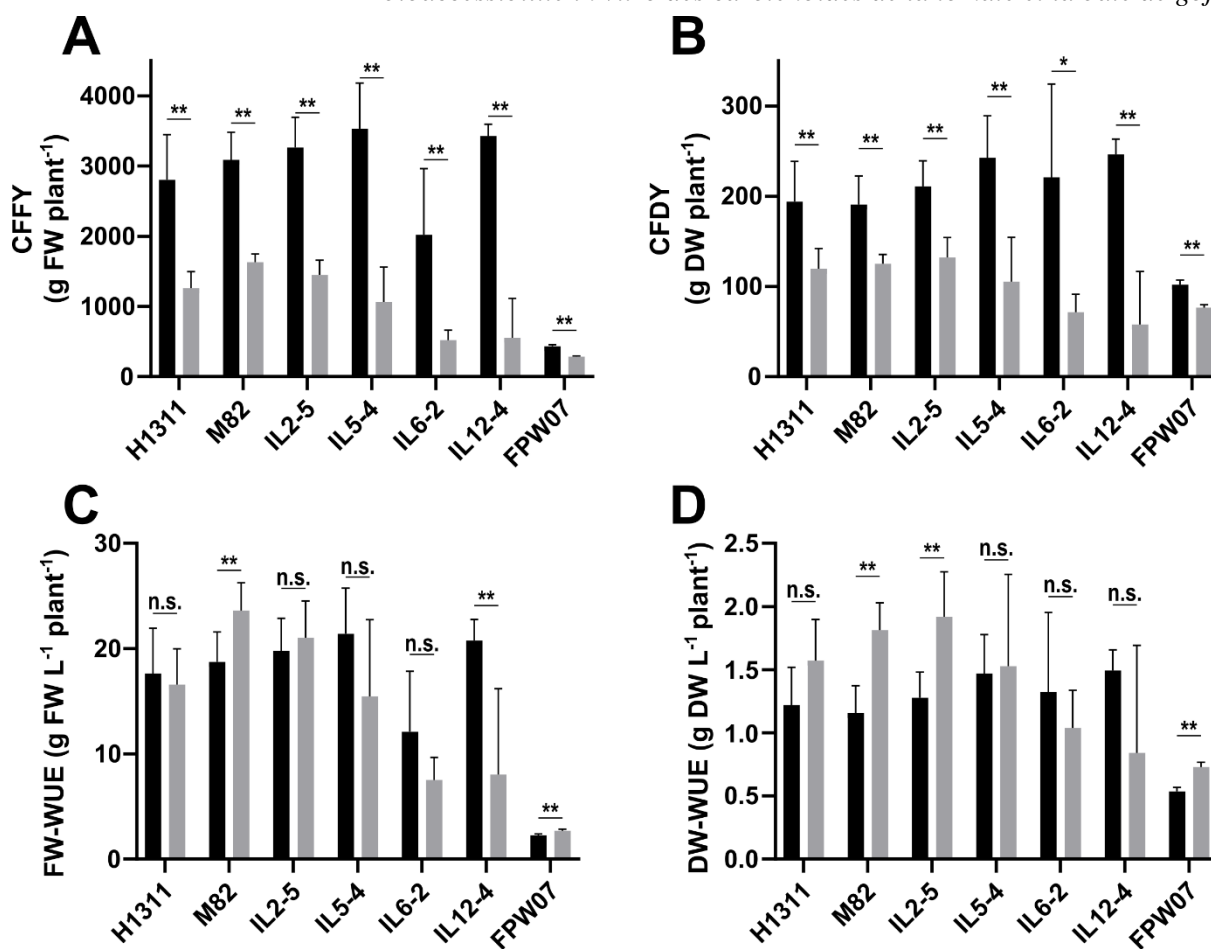
from 2023 g plant<sup>-1</sup> for IL6-2 to 3531 g plant<sup>-1</sup> for IL5-4 and for all 6 tomato genotypes, it fell by -64% under DI (from -47% for M82 to -84% for IL12-4). The average CFFY for goji plants was 433 g plant<sup>-1</sup> under CI, but the average reduction under DI (-34%) was less severe than in tomato. Fruit DM content was higher under DI compared to CI: +14% on average for goji and from +26% (IL6-2) to +45% (IL12-4) in the tomato genotypes (Table 1). As a result, the average decrease of CFDY under DI ranged from -34% (M82) to -76% (IL12-4) for tomato and it was only -25% for goji.

Considering commercial fruits, tomato plants produced 18.4 g fresh mass L<sup>-1</sup> water under CI and 15.4 g L<sup>-1</sup> under DI. The relative variation under DI ranged from -61% (IL12-4) to +26% (M82) compared to the CI treatment. The FW-WUE was lower in goji than in tomatoes, with an average of 2.28 g fresh mass L<sup>-1</sup> water for CI and a +19% increase under DI. On a dry mass basis (Fig. 1. C. and D.), tomato plants produced 1.32 g dry mass L<sup>-1</sup> water under CI and the relative effect of DI ranged from -44% for IL12-4 to +57% for M82. Goji produced 0.54 g dry mass L<sup>-1</sup> water with a +36% increase under DI compared to CI.

#### *Impact of genotype and DI on the quality of tomato and goji fruits*

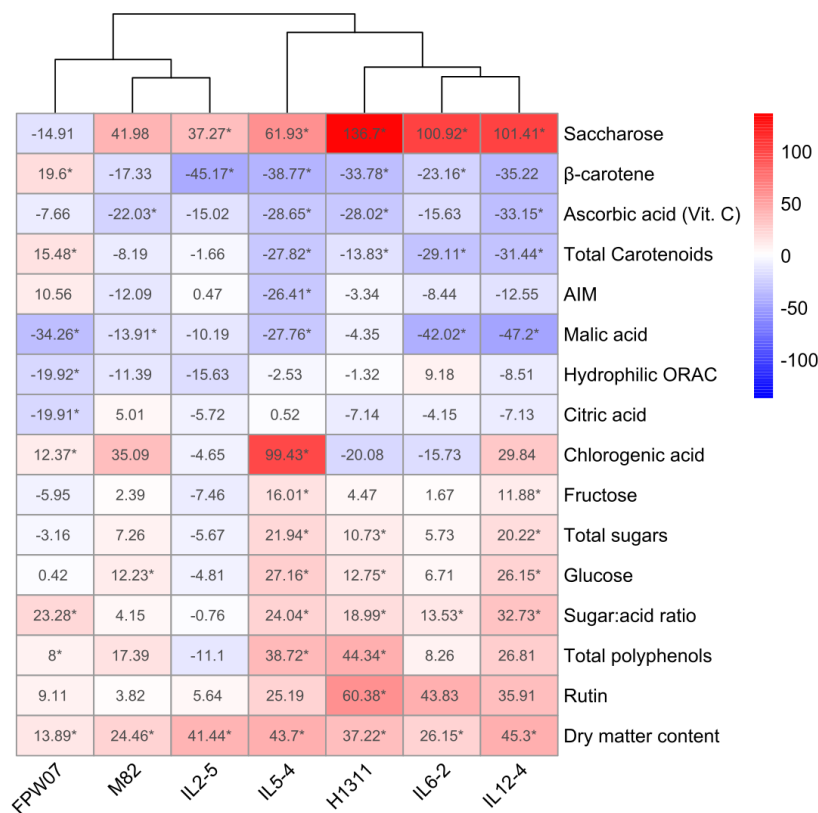
Quality traits exhibited strong heterogeneity between tomato and goji, but also among tomato genotypes (Table 1). In tomato grown under CI conditions, the largest variations were observed for total carotenoid content with a 3.2-fold difference between the poorest (IL6-2) and richest (H1311) genotype. The sugar:acid ratio varied by a factor of 2.4 between the lowest (IL12-4) and highest (IL6-2) values. A 2-fold increase was observed between the lowest (IL6-2) and highest (M82) total acid contents and a 2.4-fold increase was observed between the lowest (IL12-4) and highest (IL2-5) total phenolic content. The high-lycopene cultivar H1311 also had the highest contents in phytofluene, lutein, ascorbic acid and rutin. Under comparable conditions (CI), goji fruits displayed higher dry matter content, lower alcohol insoluble matter content, higher sugar and lower acids contents on a dry mass basis than ripe tomatoes, resulting in a higher sugar:acid ratio (34.1%). Goji fruits also displayed lower ascorbic acid (121.9 mg per 100g-1 fruit DW) and lower hydrophilic antioxidant capacity (4.3 µmol TE per g-1 fruit DW) than tomatoes. The total phenolic and carotenoid contents on a dry mass basis were one order of magnitude higher in tomato fruit than in goji but values reported in Table 1 are the sums of quantified compounds only, and thus they may be underestimated.





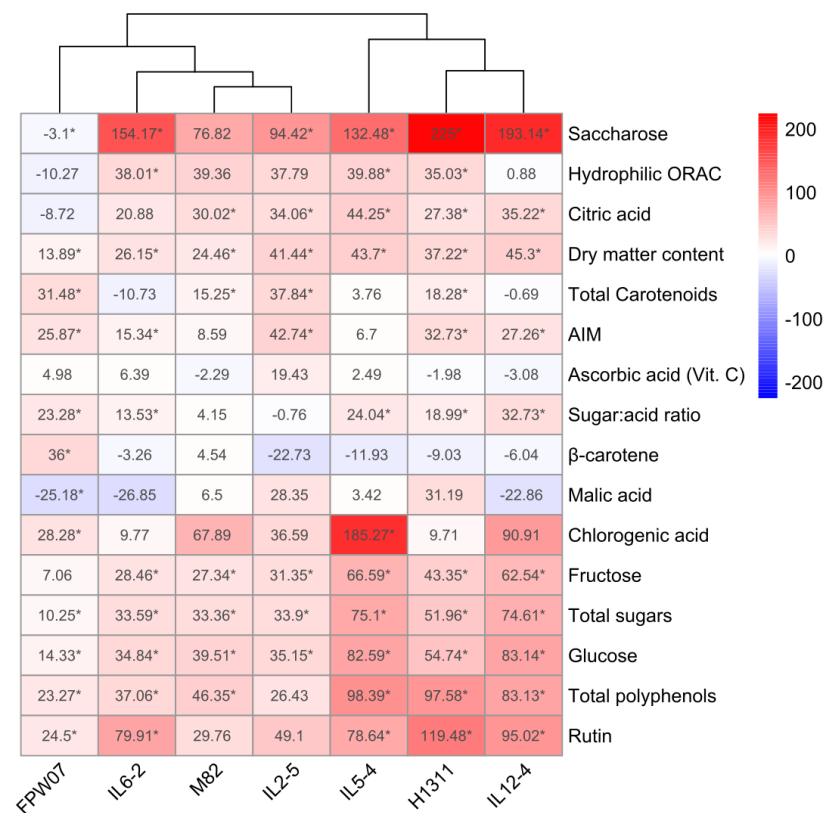
**Figure 1 - Cultivar and irrigation-related variability in commercial fruit yield** expressed in (A) g fresh weight per plant (CFFY) and (B) g dry weight per plant (CFDY), and on water use efficiency expressed on a (C) fresh weight (FW-WUE) or (D) dry weight (DW-WUE) basis. (■) Control Irrigation; (■) Deficit Irrigation. Data confidence intervals are mean  $\pm$  95%. N = 6 plants for tomato genotype (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) and N = 3 averaged blocks of 10 plants for goji (FPW07). The statistical analysis was conducted using an unpaired Welch's unequal variances t-test. In order to account for multiple comparisons and control the false discovery rate (FDR), the Benjamini and Hochberg procedure was employed to adjust p-values. N.s. : not significant ; \* :  $p < 0.05$  ; \*\* :  $p < 0.01$ .

**A**



**Dry weight basis**

**B**



**Fresh weight basis**

**Figure 2 - Water deficit effects on common tomato and goji composition and composition-related traits (H-ORAC, DM) in tomato and goji fruits.** Values represent average relative effects of trait change between CI and DI fruits of each tomato and goji genotype on a dry weight basis (A) and fresh weight basis (B). Significant changes are marked with an asterisk,  $p < 0.05$

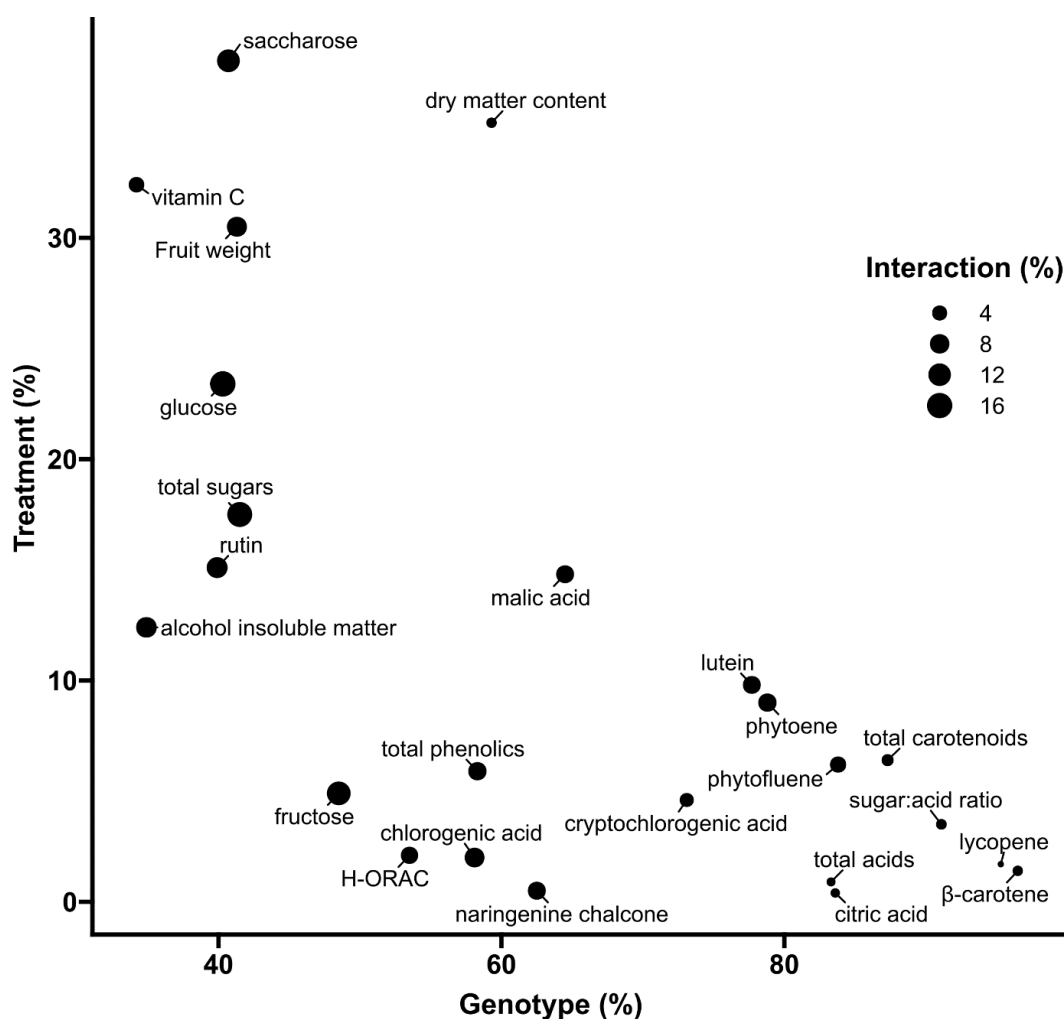
The relative effect of DI on fruit traits is presented on the DW (Fig. 2 A.) and FW (Fig. 2 B.) basis. On a DW basis, DI had a negative or non-significant impact on total ascorbic acid, malic and citric acid, alcohol insoluble matter, and hydrophilic antioxidant capacity in both tomato and goji fruits. DI had a negative or non-significant impact on total carotenoid and  $\beta$ -carotene content in tomato fruits, but a positive significant impact on the same compounds in goji. DI had a positive or insignificant impact on rutin, chlorogenic acid, total polyphenols, sugar:acid ratio, total sugars, glucose, fructose, sucrose for both tomato and goji fruits. On a FW basis, DI had a positive or non-significant impact on 13 out of 16 measured traits for both tomato and goji genotypes. The exceptions were sucrose, which positively increased or was stable under DI for tomato but not for goji,  $\beta$ -carotene, which significantly increased in goji under DI but was stable for tomato, and malic acid, which significantly decreased for goji but was rather stable for tomato.

For all of the 24 measured fruit traits on a DW basis (Fig. 3), univariate two-way analyses of variance (ANOVAs) revealed a high proportion of variance explained by genotype ( $p < 0.001$ ), ranging from 34.2% of total variance for ascorbic acid to 96.5% for  $\beta$ -carotene. The genotype factor accounted for 41.5% of total sugar variability, for 83.3% of total acid variability, for 91.1% of sugar:acid ratio and for 87.3% of total carotenoid variability. Genotype variations in phenolic compounds ranged from 39.9% for rutin to 73.1% for cryptochlorogenic acid. The contribution of DI to the total variance of fruit metabolites ranged from 4.9% for fructose ( $p < 0.05$ ), to 23.4% for glucose ( $p < 0.001$ ) and 38% for sucrose ( $p < 0.001$ ). It contributed to 32.4% of ascorbic acid variance ( $p < 0.001$ ) and to less than 20% for all other compounds. Concerning carotenoids, DI significantly contributed ( $p < 0.001$ ) from 1.4% for lycopene to 9.8% for lutein variance. With regard to the interactions between water treatment and genotypes, the highest contribution was observed for sugars, ranging from 12.3% for sucrose ( $p < 0.001$ ) to 13.6% for fructose ( $p < 0.01$ ) and 16.2% for glucose ( $p < 0.001$ ) (Fig. 3).

*Effect of genotype and DI on micellar content and bioaccessibility of carotenoids in tomato fruits*

The absolute quantities of carotenoids incorporated into mixed micelles after in vitro digestion are displayed on Fig.4. In tomatoes, the effect of genotype on fruit carotenoid content was not systematically reflected in the amount recovered in micelles due to variations in bioaccessibility (Table 2). For instance more lycopene was observed in H1311 fresh fruits (+27.3%,  $p < 0.001$ ) compared to other genotypes, but the total micellar lycopene recovered was independent of genotype ( $p = 0.26$ ) as lycopene bioaccessibility was quite low (Table 2). Regarding the

treatment effects, the micellar amounts of all carotenoids were reduced by DI compared to CI. This effect was significant and independent of genotype for phytoene (-30.3% on average) and phytofluene (-41.3%) recovery. Similarly, DI reduced, though not significantly, the micellar amount of lycopene (-36.4%,  $p=0.09$ ),  $\beta$ -carotene (-39.8%,  $p=0.06$ ) and lutein (-11.5%,  $p=0.09$ ) for all genotypes. When considering total carotenoids, a significant genotype effect ( $p < 0.001$ ) was observed on the micellar carotenoid content, with a consistent ( $p = 0.61$  for interaction) but negative DI impact (-31.7% on average,  $p < 0.01$ ).



**Figure 3 - Two-way ANOVA variance decomposition of tomato fruits traits expressed on a dry weight basis.** The x-axis and y-axis show the % of total variance ( $SS_x / SS_{total}$ ) accounted for by genotype and irrigation treatment respectively. Symbol size represents the % of total variance accounted for by the interaction between genotype and treatment.

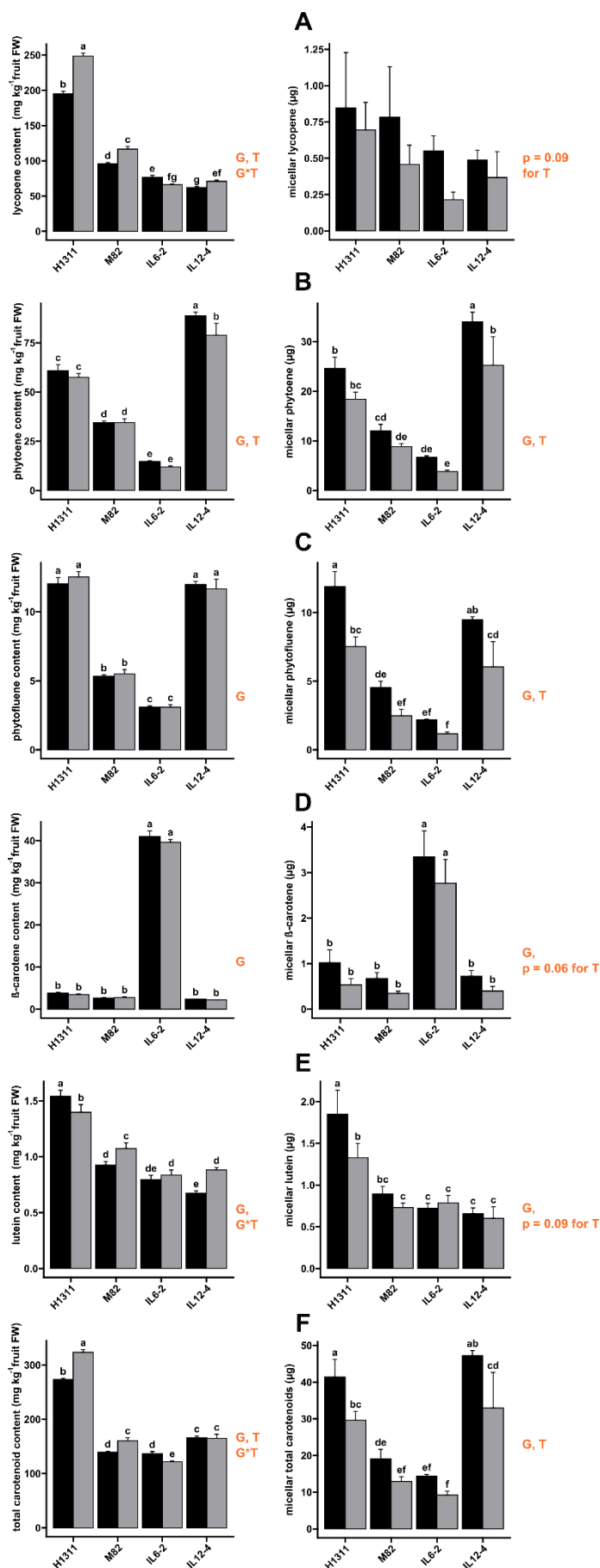
These variations resulted from variations in bioaccessibility for each compound (Table 2). Lycopene bioaccessibility was reduced from -34.1% (IL12-4) to -54.9% (IL6-2) under DI ( $p = 0.03$  for all genotype). The bioaccessibility of phytoene and phytofluene was higher than that of lycopene, but still a negative effect of DI was observed for all genotypes, ranging from -

16.6% (IL12-4) to -29.8% (IL6-2) for phytoene and from -39.3% (H1311) to -47% (M82) for phytofluene. Similarly, lutein bioaccessibility was reduced ( $p < 0.05$ ) by DI for all genotypes, from -21% (H1311) to -30.2% (IL12-4) with the exception of IL6-2 (+3.7%). The  $\beta$ -carotene bioaccessibility was significantly impacted by genotype and treatment ( $p < 0.01$ ) without interaction between the two factors. DI reduced  $\beta$ -carotene bioaccessibility from -14.6% (IL6-2) to -50.7% (M82). IL6-2 fruits displayed the highest  $\beta$ -carotene content on a FW basis (Fig. 4) but the lowest bioaccessibility value (4.1% for CI, Table 2). Regarding total carotenoid, the bioaccessibility, which averaged 8.2% for all CI fruit, significantly depended on genotype ( $p < 0.001$ ) and it was reduced under DI ( $p < 0.001$ ), from -27.5% (IL6-2) to -41.2% (M82). Across all tomato genotypes, carotenoid bioaccessibility under CI conditions can be ranked as follows: lutein (50.6%) > phytofluene (41.8%) > phytoene (19.9%) >  $\beta$ -carotene (11.4 %) > lycopene (0.3%), while the ranking of the average relative impact of DI on carotenoid bioaccessibility is: lutein (-19.3%) < phytoene (-23.5%) <  $\beta$ -carotene (-37.5%) < phytofluene (-41.9%) < lycopene (-44.2%).

#### *Effect of DI on micellar content and bioaccessibility of carotenoids in goji berry*

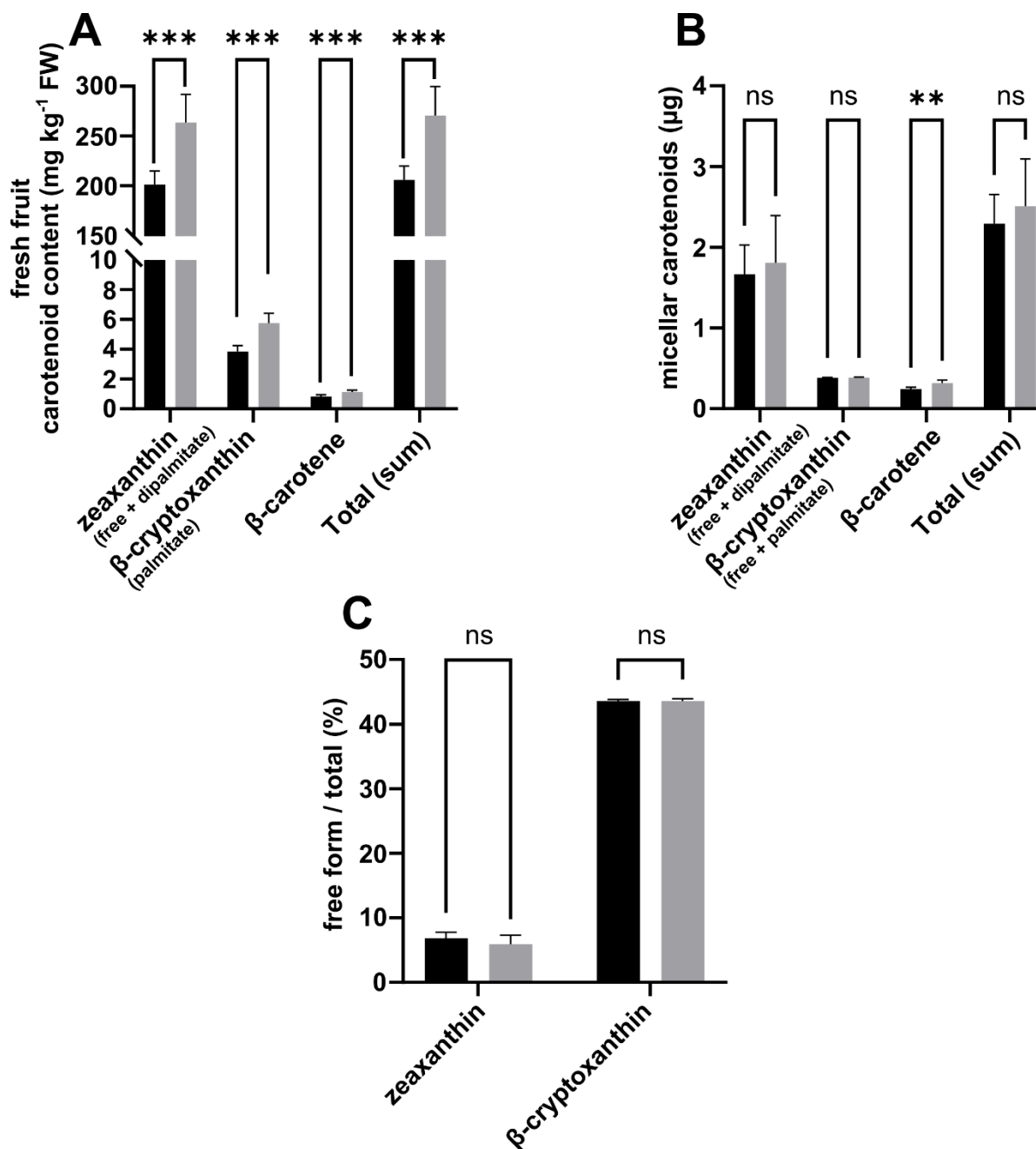
As found by Hempel et al., the use of porcine CEL to cleave carotenoid esters in our protocol resulted in a relatively low percentage of free forms (<0.2%) in the digestate, raising questions over this enzyme's ability to cleave carotenoid esters, although this is expected to occur at higher rates in vivo (Hui and Howles, 2002; Hempel et al., 2017a). That said, a strong incorporation of free forms was observed in the micellar phase, averaging 100% of the free forms quantified at the end of the digestion phase for both zeaxanthin and  $\beta$ -cryptoxanthin (data not shown). Therefore, zeaxanthin and beta-cryptoxanthin in the fruit and micelles were expressed as the sum of the free and esterified forms. The fractions of free compound forms incorporated in the mixed micelles produced at the end of the in vitro digestion are shown on Fig. 5.

On a FW basis, DI significantly increased the fresh fruit content in zeaxanthin (+ 31.1%,  $p < 0.001$ ),  $\beta$ -cryptoxanthin (+49.4%,  $p < 0.001$ ) and  $\beta$ -carotene (+36.1%,  $p < 0.001$ ) compared to CI fruits (Figure 5 A.). Fresh fruit  $\beta$ -cryptoxanthin mainly accumulated in palmitate form with trace amounts of free  $\beta$ -cryptoxanthin in both CI and DI fruits (<0.6  $\mu\text{g g}^{-1}$  fresh fruit weight) (Fig. 5). No differences in zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, or total carotenoids were observed between CI and DI micellized fractions (Fig. 5, B). This was probably due to the reduction of the bioaccessibility of zeaxanthin (-17.7%,  $p = 0.33$ ) and  $\beta$ -cryptoxanthin (-32.76%,  $p < 0.001$ )



**Figure 4 - Effects of tomato genotype (G) and deficit irrigation (DI) on fruit carotenoid contents in fresh tomato fruits (left hand panel) and in micelles (right hand panel): lycopene (A), β-carotene (B), lutein (C), phytoene (D), phytofluene (E), total carotenoids (F). (■) Control Irrigation; (■) Deficit Irrigation. Orange type indicates factor significance and sources of significant main effects: genotype (G), deficit irrigation treatment (T), interaction (G\*T). Results are presented as mean +/- SEM and letters indicate significant difference with post-hoc test Fischer LSD, followed by Benjamini-Hochberg false discovery rate p-value adjustment. Significant p values are reported for  $\alpha < 0.05$ .**

under DI (Table 2). Overall, while total carotenoids increased in fresh fruit under DI (+31.4%,  $p < 0.001$ ), there was no difference in the total carotenoids recovered in mixed micelles between CI and DI samples because of a slight decrease in total carotenoid bioaccessibility under DI (-16.7%,  $p = 0.19$ ) (Fig. 5 B. and Table 2). With regard to deposition forms in the micellar phase, most of the zeaxanthin was recovered as dipalmitate, with an average of just 6.4% of total zeaxanthin being recovered as free zeaxanthin without any significant differences between CI and DI treatments. Most  $\beta$ -cryptoxanthin was recovered as palmitate but, compared to zeaxanthin, a higher fraction was recovered in free compound form, comprising on average 43.7% of total  $\beta$ -cryptoxanthin in the micellar phase, with no significant differences between CI and DI treatments (Fig 5 C).



**Figure 5 - Effects of deficit irrigation on goji fruit (FPW07) carotenoid content on a fresh weight basis (A), micellar carotenoids (B) and fraction of carotenoid present in free form in the micellar phase (C). Comparison between Control Irrigation (■) and Deficit Irrigation (▒) is performed for each compound using student t-test with Benjamini-Hochberg p-value adjustment for multiple comparison. N = 6 samples for carotenoid contents in fresh fruit, N = 5 samples for *in vitro* digestion of micellar carotenoids.**



## DISCUSSION

The health benefit of fruit consumption is frequently emphasized, and the contributions of plant genetics and water deficit in modulating these effects are recognized. However, the results sometimes seem contradictory, because of the concomitant changes in both net accumulation (synthesis - catabolism) and concentration, as fruits accumulate less water under DI (Patanè et al., 2011; Génard et al., 2014; Petrović et al., 2019). Moreover, it may be a mistake to focus solely on the effects on fruit composition, since beyond the quantity ingested, the bioavailability of nutrients can make all the difference in terms of health effects. Indeed, to be successfully absorbed and metabolized in the human body, it is necessary for fruit micronutrients to be released from the food material and micellized in the small intestine. In the present study, we explored these concentration-metabolism effects further by focusing on compounds found in two plant species of the Solanaceae family, one of which has been little studied under DI conditions. We also extended our compositional analysis by investigating in vitro carotenoid bioaccessibility, an aspect that has been little examined so far under DI.

Our study clearly emphasized contrasted effects of DI on the accumulation and micellization of fruit carotenoids. In tomato, the richest fruits (H1311) did not always contain the most total micellar carotenoids, owing to substantial variation in micellization rates between different carotenoids (Table 2). The IL12-4 genotype, which contained significant amounts of highly bioaccessible carotenoid precursors such as phytoene and phytofluene, produced a quantity of total carotenoids incorporated in mixed micelles comparable to the H1311 genotype, while fresh fruits of IL12-4 contain almost half as many carotenoids as H1311 (Table 1). The very low bioaccessibility of lycopene (0.34% on average for all CI fruits, Table 2), was consistent with that reported in the literature for fresh fruit tomato digestion accompanied by a meal or with additional lipids – a 0.1% lycopene bioaccessibility from crude tomato was reported by Reboul et al. (Reboul et al., 2006), while Jeffery et al. (Jeffery et al., 2012) reported 1.4% bioaccessibility. More generally, we reported under DI an overall increased total carotenoid concentration (FW) for both tomato and goji berries, but an overall limited incorporation of carotenoids into mixed micelles after digestion. DI concentrated some fruit compounds such as minerals and fibers, which may inhibit carotenoid incorporation in mixed micelles through matrix interactions (Ke et al., 2022). Zeaxanthin in its esterified form is the principal carotenoid (Hempel et al., 2017b; Zhou et al., 2020) accumulated in goji berry; we reported a zeaxanthin dipalmitate content for cv. FPW07 ripe fresh berries of 200 mg kg<sup>-1</sup> FW and 262 mg kg<sup>-1</sup> FW

respectively for CI and DI fruits, which is lower than that reported by Hempel et al. (Hempel et al., 2017b) (357 mg kg<sup>-1</sup> FW) for goji mature fruits from unspecified cultivar, and lower than that reported by Zhou et al. (Zhou et al., 2020) (389 mg kg<sup>-1</sup> FW) for cv. Zhongkelvchuan. While cv. FPW07 fruits remain an outstanding source of zeaxanthin, ranked above other zeaxanthin rich foods, the low bioaccessibility of this compound in our in vitro digestion model and the esterified storage form of the compound would benefit from further comparison with other food matrices with a similar in vitro digestion protocol (Morand-Laffargue et al., 2023b). We are aware that there are numerous in vitro digestion protocols to evaluate food carotenoid bioaccessibility. For instance, the addition of yoghurt to raw fruit and vegetable (Jeffery et al., 2012) or the food supply with a standard meal composed of pureed potatoes, minced beef and olive oil (Reboul et al., 2006). Such protocols improve carotenoid bioaccessibility through the additional presence of lipids. For goji, the inclusion of just 1% coconut oil fat increased the release into the digestive system of free zeaxanthin from 8% to 15%, and zeaxanthin dipalmitate from 27% to 44% (Hempel et al., 2017b). Hempel et al. (Hempel et al., 2017b) evaluated the bioaccessibility of zeaxanthin and zeaxanthin dipalmitate at 6.7 % and 2.3% respectively, by in vitro digestion without any additional lipid or meal, but the foodstuff tested was dried goji fruits combined with water (1:1 w/w). This suggests that fruit drying could increase the bioaccessibility of goji berry carotenoids, by modifying the cell walls and enhancing carotenoid release. Such interactions between DI and fruit drying method deserve further attention.

The goji-tomato comparison in our study intended to target two species of high nutritional value, one currently suffering from drought in production areas and the other offering a diversification alternative in the same regions. Although goji berry and tomato differ significantly in fruit size, cultivation method and carotenoid content, similarities in biochemical changes and molecular regulation that underlie processes such as softening, color change, and ripening have been suggested (Cao et al., 2021). Our work confirmed that the FPW07 goji genotype, offers a competitive alternative in regions affected by drought with a dry mass yield (CFDY) and water use efficiency (DW-WUE) similar to those of some tomato genotypes under DI. The expression of fruit health-related traits on a FW basis would qualify FPW07 fruits as “superconcentrates”. For example, average fresh weight vitamin C content was 28.8 mg per kg<sup>-1</sup> for goji fruits and 17.8 mg kg<sup>-1</sup> for all tomato fruits under CI conditions. The same was observed for other health-related traits, such as hydrophilic antioxidant capacity (H-ORAC), with an average of 4.32  $\mu$ mol Trolox eq. g fresh fruit<sup>-1</sup> in goji fruits and 1.26  $\mu$ mol Trolox eq.

g fresh fruit<sup>-1</sup> in all tomatoes under CI conditions. The H-ORAC assay has been described as relevant to the quantification of the peroxy radical scavenging capacity of food samples, but may not be adequate for the characterization of *in vivo* biological effects (Huang et al., 2005). The multiple antioxidant compounds present in fresh fruits could synergistically contribute to overall antioxidant activity. A comparative study between red (*L. barbarum*) and black (*L. ruthenicum*) goji fruits highlighted that the total antioxidant activities of the berry extracts significantly correlated to the total phenolic contents, but not to the total carotenoid contents (Islam et al., 2017). Goji berries contain a wide range of phenolics that could not be quantified in our experiment due to the absence of standards or availability of analytical procedures (Islam et al., 2017) and this test may account for their presence.

With regard to tomato fruit composition, the genetic effect was predominant on a dry matter basis (Fig.3) while the effect of DI was less than 20% of the total variance in all fruit traits. This may be due to the choice of genotypes studied, which focused on DI sensitivity and quality traits. Interestingly our results only partially confirm the characteristics previously described for these tomato genotypes likely because of genotype by environment interactions. For instance, the drought resistance of IL2-5 is questionable in terms of yield (-30.6% reduction of average fruit mass under DI) as already suggested (Liu et al., 2018), whereas on a dry matter basis, IL2-5 fruits differed from other genotypes with a decreased sugar content, a different pattern of polyphenol change, a higher  $\beta$ -carotene level but lower loss of total carotenoid under DI. Moreover, the higher antioxidants, ascorbic acid and soluble solids previously reported in IL12-4 fruits (Sacco et al., 2013) may be due to the increase in fruit dry matter content (+16.5% in IL12-4 fruits compared to M82 under CI), and our data failed to characterize IL12-4 fruits as having improved “health related” metabolite content. Thus, in line with other works, the beneficial impact of DI on fruit sugar, acid and carotenoid contents, reported on a FW basis mainly resulted from a concentration effect (less water accumulation in DI fruit) rather than a metabolic effect (increase of net accumulation of one metabolite) on fruits (Arbex de Castro Vilas Boas et al., 2017). Sucrose was on average the compound most positively affected by water deficit as already observed with other tomato genotypes (Petrović et al., 2019), but its concentration remained particularly low (Table 1). Regarding carotenoids, the lower content on a DW basis under DI suggested a higher catabolism. In particular  $\beta$ -carotene can be broken down through non-enzymatic cleavage by reactive oxygen species (ROS) (Ramel et al., 2013) or enzymatic cleavage by Carotenoid Cleavage Dioxygenase (CCD) enzymes, which are known

to being produced towards the later stages of fruit maturation (Auldrige et al., 2006). Under DI, plants could be expected to produce higher amounts of abscisic acid (ABA), a  $\beta$ -carotene derived major phytohormone involved in plant responses to abiotic stress (Mi et al., 2022).

In summary, it is vital to conduct genetic breeding programs that focus concurrently on traits for adapting to reduced water availability and on improving quality characteristics. It is also essential to look at the concentration of metabolites in the dry mass and not just in fresh fruit, and to go as far as measuring the bioavailability of micronutrients to assess potential effects on fruit health value. The overall low bioaccessibility of carotenoids suggests that simply increasing their concentration in fruit, may not suffice to produce any significant enhancement of fruit health benefits. Species comparison is interesting in terms of metabolite profile and response to DI, which proved specific in our study. Further investigations are needed to extend these results for instance by exploring more genetic resources and applying water deficit to specific periods of fruit development. It is also noteworthy that health-related metabolites such as phenolics or carotenoids are mainly located in the outer parts of the tomato fruit pericarp (Peng et al., 2008) so that investigating DI effects on each fruit tissue may be relevant.

**Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

**Author contributions:** All authors contributed to the conceptualization of this work and review the document. TB performed the experiments, analysed the data and wrote the original draft. ALF, DD, CLB, PB participated in the methodology. NB, ALF, JFL, CR acquired the funding, administrated the project and supervised the work.

**Funding:** This work was funded by an ANR research grant (TomHealth ANR-20-CE21-0010 and a Ph.D. Fellowship (T. Breniere) from the TERSYS Federative Research Structure (Avignon University, France).

**Acknowledgements:** Thanks go to Béatrice Brunel, Charlotte Halimi, Guillaume Garcia, Patricia Laugier, Sylvie Serino, Mathieu Chanteloup, Tom Linares, Lisa Morand-Laffargue and Léna Petit for their contribution to this work. We acknowledge The Genetics and Breeding of Fruit and Vegetable laboratory (INRAE GAFL, Avignon, France) for providing tomato seeds and FPW Développement (La Menitre, France) for providing goji plants.

**Data availability statement:** all primary data are available on request from the authors.

**Table 1 - Characterization of tomato and goji berry fruit quality traits (mean  $\pm$  SD, N = 5 analytical samples for tomato fruits and N = 6 samples for goji fruits, except for fruit weight, where N>30 fruits for each genotype).** Excepting fruit weight and dry matter content, all traits are reported on a dry weight (DW) basis. Letters indicate significant differences between tomato genotypes (Fisher LSD followed by Benjamini Hochberg p-value adjustment procedure). <L.Q. = below Limit of Quantification. - = not tested/not applicable.

Genotype	H1311 CI	M82 CI	IL2-5 CI	IL5-4 CI	IL6-2 CI	IL12-4 CI	FPW07 CI
<b>Fruit trait</b>							
<b>Fruit weight (g FW)</b>	72.62 $\pm$ 8.3 a	50.33 $\pm$ 6.46 bc	35.06 $\pm$ 8.95 d	58.29 $\pm$ 3.52 b	43.88 $\pm$ 13.21 cd	75.81 $\pm$ 10.4 a	1.63 $\pm$ 0.25
<b>Dry matter content (%)</b>	6.92 $\pm$ 0.18 bc	6.17 $\pm$ 0.64 d	6.45 $\pm$ 0.23 cd	6.87 $\pm$ 0.33 bc	10.93 $\pm$ 0.54 a	7.19 $\pm$ 0.33 b	23.59 $\pm$ 0.43
<b>Alcohol insoluble matter (% DW)</b>	38.91 $\pm$ 2.16 a	41.69 $\pm$ 5.54 a	46.82 $\pm$ 10.24 a	43.4 $\pm$ 5.47 a	37.42 $\pm$ 1.95 a	39.8 $\pm$ 2.88 a	4.16 $\pm$ 0.88
	<b>Acids and sugars</b>						
<b>Glucose (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	15.61 $\pm$ 1.52 c	15.68 $\pm$ 1.78 c	18.13 $\pm$ 1.1 ab	16.75 $\pm$ 1.57 bc	20.08 $\pm$ 0.63 a	16.22 $\pm$ 0.83 bc	28.75 $\pm$ 1.93
<b>Fructose (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	15.78 $\pm$ 1.47 d	18.34 $\pm$ 2.11 abc	19.37 $\pm$ 0.81 ab	17.69 $\pm$ 1.67 bcd	20.23 $\pm$ 0.63 a	17.02 $\pm$ 0.82 cd	28.81 $\pm$ 2.51
<b>Sucrose (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	0.53 $\pm$ 0.11 bc	0.32 $\pm$ 0.02 d	0.44 $\pm$ 0.1 c	0.44 $\pm$ 0.06 c	0.65 $\pm$ 0.06 a	0.57 $\pm$ 0.04 ab	1.9 $\pm$ 0.45
<b>Total sugars (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	31.93 $\pm$ 3.07 c	34.34 $\pm$ 3.89 bc	37.93 $\pm$ 1.82 ab	34.88 $\pm$ 3.27 bc	40.96 $\pm$ 1.25 a	33.81 $\pm$ 1.64 bc	59.46 $\pm$ 4.67
<b>Citric acid (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	5.13 $\pm$ 0.48 b	6.75 $\pm$ 0.76 a	6.4 $\pm$ 0.82 a	6.1 $\pm$ 0.72 a	3.47 $\pm$ 0.19 c	6.87 $\pm$ 0.56 a	1.49 $\pm$ 0.25
<b>Malic acid (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	0.32 $\pm$ 0.04 c	0.53 $\pm$ 0.06 a	0.41 $\pm$ 0.07 b	0.53 $\pm$ 0.07 a	0.24 $\pm$ 0.02 d	0.43 $\pm$ 0.04 b	0.28 $\pm$ 0.04
<b>Total acids (g 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	5.45 $\pm$ 0.5 b	7.28 $\pm$ 0.81 a	6.81 $\pm$ 0.89 a	6.62 $\pm$ 0.76 a	3.71 $\pm$ 0.19 c	7.3 $\pm$ 0.6 a	1.77 $\pm$ 0.27
<b>Sugar:acid ratio (%)</b>	5.88 $\pm$ 0.58 b	4.72 $\pm$ 0.15 c	5.66 $\pm$ 0.91 b	5.28 $\pm$ 0.17 bc	11.07 $\pm$ 0.46 a	4.65 $\pm$ 0.3 c	34.13 $\pm$ 4.38

	Phenolics						
<b>Rutin (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	271.21 ± 87.6 a	248.55 ± 39.93 ab	202.96 ± 22.01 ab	224.56 ± 56.08 ab	163.06 ± 56.02 b	186.63 ± 24.27 ab	14.01 ± 1.44
<b>Chlorogenic acid (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	71.77 ± 11.44 bc	153.63 ± 32.5 a	190.52 ± 44.22 a	92.51 ± 17.35 b	105.33 ± 34.41 b	42.23 ± 11.45 c	16.02 ± 0.65
<b>Naringenine chalcone (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	79.95 ± 39.16 b	145.92 ± 49.58 a	184.35 ± 73.65 a	53.54 ± 16.91 bc	3.86 ± 7.04 c	19.53 ± 4.75 c	<L.Q.
<b>Cryptochlorogenic acid (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	39.74 ± 6.82 c	77.24 ± 19.99 a	76.98 ± 15.97 a	58.21 ± 9.87 b	74.81 ± 8.93 ab	24.58 ± 8.78 c	<L.Q.
<b>Neochlorogenic acid (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	-	-	-	-	-	-	11.44 ± 0.55
<b>Total phenolics (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	462.67 ± 100.27 b	625.35 ± 124.97 a	654.81 ± 86.99 a	428.82 ± 87.92 b	347.07 ± 56.82 bc	272.97 ± 17.52 c	41.46 ± 1.45
	Carotenoids						
<b>Lycopene (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	2824.95 ± 144.5 a	1561.83 ± 134.39 b	1685.65 ± 146.17 b	1694.02 ± 200.51 b	703.12 ± 50.29 c	864.57 ± 56.41 c	<L.Q.
<b>Phytoene (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	880.6 ± 109.43 b	564.13 ± 75.82 c	510.93 ± 103.74 c	533.42 ± 64.73 c	135.17 ± 6.79 d	1235.12 ± 82.66 a	<L.Q.
<b>Phytofluene (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	173.96 ± 17.22 a	87.36 ± 11.37 b	85.1 ± 16.81 b	86.09 ± 8.85 b	28.34 ± 3.02 c	167.07 ± 10.82 a	<L.Q.
<b>β-carotene (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	54.78 ± 6.02 b	43.41 ± 7.99 bc	45.8 ± 8.5 bc	39.9 ± 4.53 bc	375.08 ± 21.79 a	32.78 ± 3.34 c	3.51 ± 0.45
<b>Lutein (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	22.29 ± 2.06 a	15.11 ± 1.84 b	10.78 ± 2.13 c	10.7 ± 1.07 c	7.27 ± 0.55 d	9.36 ± 0.92 cd	<L.Q.
<b>Zeaxanthin dipalmitate (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	-	-	-	-	-	-	847.97 ± 57.99
<b>Zeaxanthin (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	-	-	-	-	-	-	4 ± 0.46
<b>β-cryptoxanthin palmitate</b>	-	-	-	-	-	-	16.32 ± 1.61

<b>(mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>							
<b>β-cryptoxanthin (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	-	-	-	-	-	-	<L.Q.
<b>Total carotenoids (mg kg<sup>-1</sup> DW)</b>	3956.57 ± 167.1 a	2271.84 ± 228.71 b	2338.26 ± 250.68 b	2364.13 ± 264.14 b	1248.98 ± 75.64 c	2308.91 ± 149.34 b	871.8 ± 59.91
	<b>Other health related fruit properties</b>						
<b>Vitamin C (mg 100g<sup>-1</sup> DW)</b>	320.69 ± 21.76 a	234.82 ± 23.12 b	238.95 ± 19.78 b	228.01 ± 25.11 b	196.28 ± 6.59 c	241.58 ± 12.79 b	121.92 ± 11.64
<b>H-ORAC (μmol TE g<sup>-1</sup> DW)</b>	17.01 ± 1.05 a	16.79 ± 3.37 a	15.49 ± 1.63 a	15.13 ± 1.92 a	13.18 ± 0.99 a	11.68 ± 1.88 a	18.30 ± 0.12

**Table 2 - Bioaccessibility of carotenoids from tomato (H1311, M82, IL6-2, IL12-4) and goji (FPW07) fruits produced under Control Irrigation (CI) and Deficit Irrigation (DI) water treatments. Results are mean +/- SD. The relative change of carotenoid bioaccessibility between CI and DI fruits is reported between parentheses, and significance levels are \* : p < 0.05 ; \*\*, p < 0.01.**

Genotype	H1311		M82		IL6-2		IL-12-4		FPW07	
	CI	DI	CI	DI	CI	DI	CI	DI	CI	DI
<b>Lycopene</b>	0.22 ± 0.17	0.14 ± 0.07 (-35.58%)	0.41 ± 0.36	0.2 ± 0.13 (-52.03%)	0.36 ± 0.14	0.16 ± 0.08 (-54.91%)	0.39 ± 0.11	0.26 ± 0.25 (-34.1%)	-	-
<b>β-carotene</b>	13.48 ± 7.58	7.72 ± 4.15 (-42.75%)	12.76 ± 5.61	6.29 ± 2.31 (-50.7%)	4.08 ± 1.58	3.49 ± 1.48 (-14.6%)	15.42 ± 6.17	8.98 ± 5.16 (-41.77%)	14.62 ± 2.47	14.08 ± 2.3 (-3.65%)
<b>Lutein</b>	60.05 ± 19.24	47.45 ± 13.42 (-20.97%)	48.35 ± 11.47	33.97 ± 7.15 (-29.74%)	45.32 ± 9.73 (%)	47.02 ± 13.23 (+3.74%)	48.78 ± 12.49	34.07 ± 17.66 (-30.15%)	-	-
<b>Phytoene</b>	20.23 ± 4.38	16.01 ± 2.72 (-20.84%)	17.47 ± 4.26	12.8 ± 2.87 (-26.75%)	22.69 ± 2.38	15.94 ± 3.21 (-29.75%)	19.17 ± 2.61	15.98 ± 8.57 (-16.63%)	-	-
<b>Phytofluene</b>	49.53 ± 8.99	30.06 ± 5.34 (-39.31%**)	42.57 ± 8.75	22.57 ± 9.76 (-46.98%**)	35.59 ± 2.6	18.97 ± 5.38 (-46.70%*)	39.58 ± 2.28	25.94 ± 16.05 (-34.47%*)	-	-
<b>Zeaxanthin</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0.41 ± 0.09	0.34 ± 0.12 (-17.7%)
<b>β-cryptoxanthine</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	4.96 ± 0.5	3.34 ± 0.39 (-32.76%*)
<b>Total fruit carotenoids</b>	7.36 ± 0.96	4.41 ± 0.5 (-40.11%*)	6.8 ± 1.13	4 ± 0.65 (-41.23%*)	4.95 ± 0.57	3.59 ± 0.57 (-27.6%)	13.68 ± 1.39	9.92 ± 4.15 (-27.5%*)	0.56 ± 0.10	0.46 ± 0.12 (-16.70%)



## Section 2

### Données supplémentaires sur la composition et apport des traitements post-récolte sur bioaccessibilité et la micellisation des caroténoïdes.

#### Introduction

La majorité des gojis consommés en Europe le sont sous forme séchée et sont importés de Chine. Il n'existe pas de protocole de séchage standardisé et un grand nombre de pratiques ancestrales ou plus modernes coexistent : séchage à l'air libre au soleil, étuvage de durée et température variable, etc. Ces différentes pratiques de séchage pourraient induire des modifications de l'état d'oxydation des phytomicroconstituants, de la structure physique et chimique des polysaccharides ainsi que des interactions phytomicroconstituants-polysaccharides. Dans ce contexte, les effets des traitements post-récolte sur la qualité doivent être mieux compris pour évaluer le rôle potentiel de ces étapes dans l'élaboration de la valeur santé des fruits. 3 traitements post-récolte ont été retenus dans notre contexte (Figure 27).

#### Matériel et méthodes

##### *Choix et application de traitements post-récolte*



**Figure 27 – Les 3 traitements post-récolte goji retenus.** Fruits frais, fruits séchés (4.5j à 45°C), fruits prétraités à la vapeur (1min30s) puis séchés (4.5j à 45°C).

L'accent a été mis sur les propriétés de la matrice végétale et les interactions entre polysaccharides et polyphénols ou caroténoïdes au sein de cette matrice et leurs variations en fonction du protocole de séchage et les conséquences sur la bioaccessibilité des caroténoïdes. Afin de comprendre l'impact du séchage sur l'état d'oxydation des microconstituants et de générer ou limiter des interactions potentielles avec les polysaccharides, les fruits ont été soumis à deux modalités de séchage (avec et sans prétraitement à la vapeur à 100 °C pendant 1 minute 30 secondes) selon des tests préliminaires (4,5 jours à 45°C). La température retenue est une

fourchette basse de température pouvant être atteinte et qui assure le séchage des fruits lors des séchages traditionnels solaires (Cui et al., 2022; Karakashova et al., 2023). Le temps de séchage nécessaire a été retenu pour que la masse des fruits se stabilise à hauteur de maximum 1% de variation massique. Le traitement à la vapeur des fruits (blanchiment) a été choisi pour générer un certain nombre de changements dans les propriétés de la matrice comparativement aux fruits frais ou aux fruits séchés. Entre autres, le prétraitement à la vapeur inactiverait certaines enzymes impliquées dans le brunissement du fruit (polyphénol oxydase, PPO) et donc l'oxydation des composés d'intérêt, réduirait la charge microbienne présente à la surface du fruit, ou améliorerait la capacité d'extraction des composés bioactifs (Meléndez-Martínez et al., 2023; Xiao et al., 2017).

#### *Caractérisation complémentaire des fruits frais issus de la serre*

Les fruits frais cryobroyés ont été analysés par deux laboratoires externes pour la détermination des teneurs en micronutriments (Vitamines A, E, B1, B2, B6), minéraux (phosphore, fer, cuivre, zinc, sélénium) et alcaloïdes tropaniques potentiels (atropine, scopolamine) dont la présence a déjà été évoquée par quelques données de la littérature (Kulczyński & Gramza-Michałowska, 2016; Senchina et al., 2014; Shah et al., 2013). Les fruits séchés (S) et les fruits prétraités à la vapeur puis séchés (V) ont été caractérisés sur la base de leur composition en sucres, polyphénols et caroténoïdes de façon commune avec le matériel et méthode détaillé dans la section précédente puis comparés aux fruits frais (F) (N = 6 analyses / traitement post-récolte / régime hydrique). Une analyse discriminante PLS sur la base des 22 traits centrés et réduits de composition par gramme de matière sèche a été réalisée entre les lots de fruits à l'aide de l'outil MetaboAnalyst (Pang et al., 2022). Les parois cellulaires (rendement, glucides, degré de méthylation des pectines) ont également été caractérisées (Liu et al., 2021) (Tableau supplémentaire 1).

#### *Digestion in vitro*

Les conditions de la digestion *in vitro* des fruits sont spécifiées dans la section précédente. Ici, 2 g de fruit cryobroyé décongelé frais, séché ou prétraité à la vapeur puis séché ont été introduits dans l'erlenmeyer pour la digestion, avec l'ajout de l'enzyme CEL (Carboxyl ester lipase) (Chitchumroonchokchai & Failla, 2006; Wen et al., 2018). Pour chaque aliment testé, la teneur en eau réelle (fruit frais) ou résiduelle (séché, vapeur puis séché) a été calculée par méthode gravimétrique après un séchage de 72h à 75°C. La bioaccessibilité a été calculée comme ratio entre la quantité de caroténoïdes dans la phase micellaire filtrée (0.2 µm) et la quantité de caroténoïdes dans les 2 g d'aliments digérés.

## Résultats et discussion

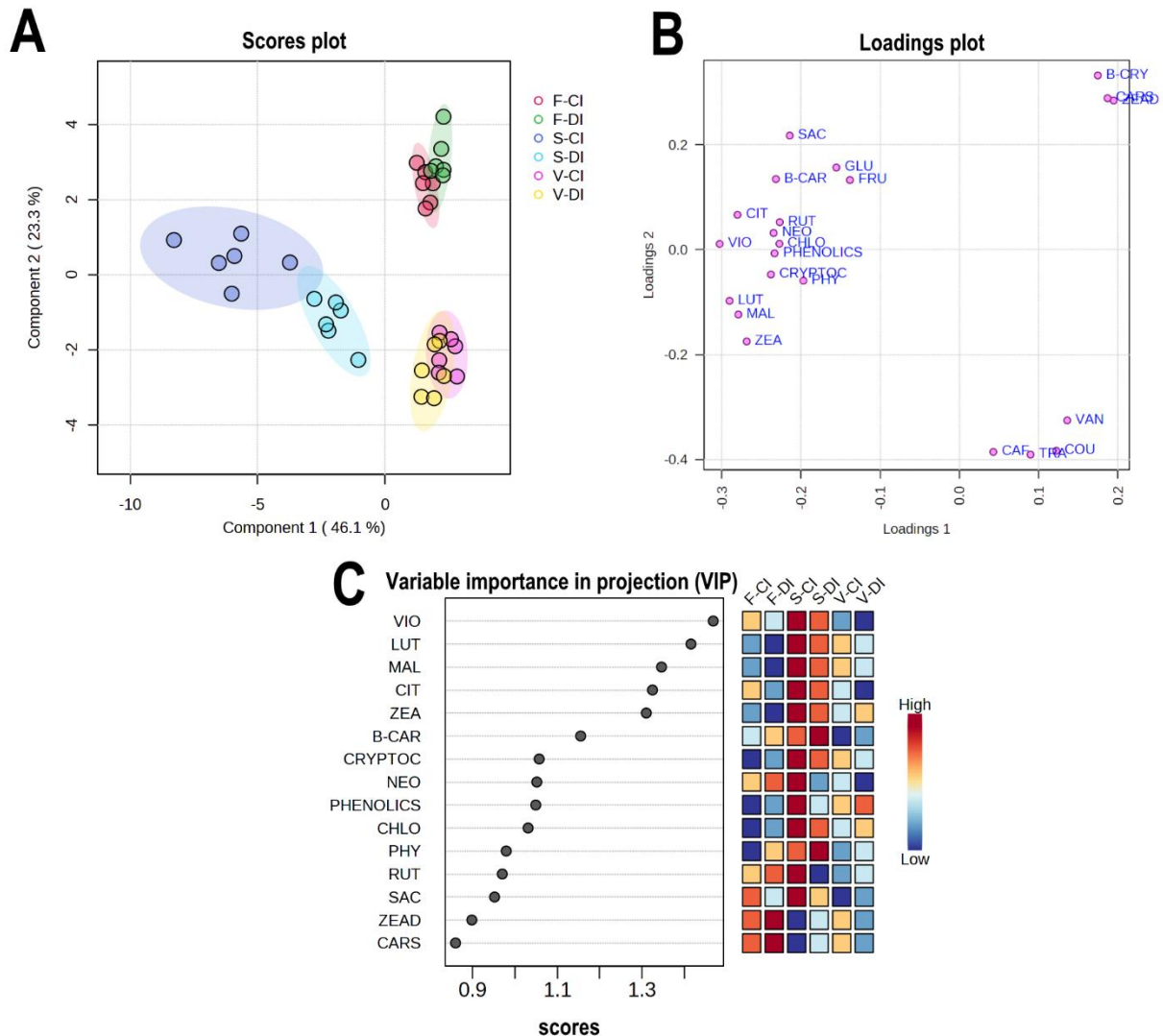
### Analyses complémentaires de composition sur les fruits issus de la serre

Si certaines études ont rapporté dans le goji la présence d'alcaloïdes anticholinergiques communs à d'autres espèces (atropine et scopolamine du datura, *Datura stramonium*) ou propre à cette espèce (lycibarbarspermidines), la présence d'alcaloïdes toxiques dans les fruits est largement contradictoire et les lycibarbarspermidines (dérivés de dicaffeoylspermidine) ont plutôt été décrits comme ayant une activité antioxydante et neuroprotectrice (Kokotkiewicz et al., 2017; Kulczyński & Gramza-Michałowska, 2016; Senchina et al., 2014; Shah et al., 2013; Zhou et al., 2016). Pour vérification, nous avons fait analyser l'atropine et la scopolamine et ces molécules n'ont pas été détectées dans les lots de fruits frais (Tableau 6). Par ailleurs, malgré l'absence d'analyse statistique associée, la teneur en minéraux des baies a semblé être diminuée dans les fruits issus du déficit hydrique comparativement aux fruits témoins. L'augmentation potentielle de la teneur en vitamine A dans les fruits issus du déficit hydrique comparativement aux fruits témoins était cohérente avec l'augmentation statistique du  $\beta$ -carotène rapportée dans la section précédente. Par ailleurs, la teneur en vitamine E a semblé être au moins doublée dans les fruits issus du déficit hydrique comparativement aux fruits témoins.

**Tableau 6 – Données complémentaires de composition des fruits du cultivar FPW07 cultivés en serre pour les traitements d'irrigation contrôle (CI) et déficit hydrique (DI).** >L.Q., inférieure à la limite de quantification ; N.D. non détecté. Les analyses sont réalisées en interne pour la matière sèche (moyenne et intervalle de confiance à 95%, N = 6 lots de 10 fruits). \*Analyses effectuées sur le fruit frais par le laboratoire Développement Méditerranée (LDM, Alès, France). #Analyses effectuées par le laboratoire Phytocontrôle (Phytocontrol Analytics, Nîmes, France).

Analyse - Unité	FPW07-F-CI	FPW07-F-DI	Méthode analytique
<b>Teneur en matière sèche (% MF)</b>	23,59 [23,18 ; 24,01]	26,87 [26,34 ; 27,40]	Gravimétrique
<b>Vitamine A Rétinol (<math>\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	42,39	59,55	NF EN 12823*
<b>Vitamine E Tocophérol (<math>\text{mg kg}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	8,05	17,12	NF EN ISO 6867*
<b>B1 Thiamine (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	0,97	1,79	NF EN 14122*
<b>B2 Riboflavine (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	2,33	1,15	NF EN 14152*
<b>B6 Pyridoxine (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	0,76	0,71	NF EN 14166*
<b>Phosphore (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	220,01	171,94	Arr. 08/09/1977*
<b>Fer (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	1,87	1,00	Arr. 08/09/1977*
<b>Cuivre (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	0,08	0,07	Arr. 08/09/1977*
<b>Zinc (<math>\text{mg } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	0,93	0,67	Arr. 08/09/1977*
<b>Sélénium (<math>\text{mg kg}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	<L.Q. (<0.85)	<L.Q. (<0.74)	interne / ICP OES*
<b>Atropine (<math>\mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	N.D. (<4.23)	N.D. (<3.72)	LC-MS/MS#
<b>Scopolamine (<math>\mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}</math>)</b>	N.D. (<4.23)	N.D. (<3.72)	LC-MS/MS#

Les fruits issus des deux traitements post-récolte ont été comparés aux fruits frais sur la base de leur composition en sucres, acides, caroténoïdes et polyphénols (Figure 28). Globalement, il s'est avéré que le traitement post-récolte, plutôt que le déficit hydrique, a été le principal facteur influençant les variations des teneurs en microconstituants des fruits (Figure 28A). L'analyse de régression PLS a révélé que les groupes étaient largement contrastés en termes de teneur en violaxanthine et lutéine, alors qu'ils étaient plus homogènes par rapport à leur teneur en zéaxanthine dipalmitate et caroténoïdes totaux, auquel la zéaxanthine dipalmitate contribuait largement (Figure 28C). Hormis la zéaxanthine dipalmitate et les caroténoïdes totaux, les gojis issus du séchage seul et particulièrement de l'irrigation contrôle semblaient avoir les teneurs en micro et macroconstituants les plus élevées (Figure 28A, 28C).



**Figure 28 - Analyse discriminante PLS de la composition des baies de goji FPW07 ( $\text{g MS}^{-1}$ ) produites en serre pour les traitements post-récolte sélectionnés (F = fruit frais lyophilisé, S = fruit séché, V = fruit prétraité à la vapeur puis séché) et les régimes d'irrigation appliqués (CI = irrigation contrôlée, DI = irrigation déficitaire). A : scores des individus dans le plan des deux premières composantes du modèle. B = positionnement des variables explicatives dans le plan des deux premières composantes du modèle. C = 15 premières variables classées en termes de prédiction décroissante d'importance calculée par le modèle (VIP). VIO = violaxanthine, LUT = Lutéine, MAL = acide malique, CIT = acide citrique, ZEA = zéaxanthine libre, B-CRA =  $\beta$ -carotène, CRYPTOOC = acide crypto chlorogénique, NEO = acide néo chlorogénique, PHENOLICS = somme des composés phénoliques, CHLO = acide chlorogénique, PHY = phytoène, RUT = rutine, SAC = saccharose, ZEAD = zeaxanthine dipalmitate, CARS = somme des caroténoïdes. B-CRY =  $\beta$ -cryptoxanthine palmitate, GLU = glucose, FRU = fructose, VAN = acide vanillique, COU = acide coumarique, CAF = acide caféique ; TRA = acide trans-férulique.**

*Valeur santé des différents lots de fruits sur la base de la micellisation des caroténoïdes.*

Nous avons caractérisé l'effet du déficit hydrique sur l'efficacité de micellisation des caroténoïdes principaux du fruit en calculant leur bioaccessibilité. Les résultats suggèrent que le déficit hydrique a diminué la bioaccessibilité des caroténoïdes (12 des 18 comparaisons

effectuées) entre les fruits issus du déficit hydrique et les fruits issus de l'irrigation contrôle, bien que cette diminution fût significative pour seulement 5 de ces comparaisons (Tableau 7). En dehors du  $\beta$ -carotène et de la  $\beta$ -cryptoxanthine, l'effet du déficit hydrique n'était pas homogène entre les trois traitements post-récolte, avec des effets dont le sens et la significativité variaient largement en fonction du caroténoïde et du traitement post-récolte. Concernant la zéaxanthine dipalmitate, la zéaxanthine libre ou la  $\beta$ -cryptoxanthine, il est difficile de discuter de leur valeur brute de bioaccessibilité puisque la carboxyl ester lipase a pu hydrolyser une partie des formes estérifiées vers les formes libres. De plus, la teneur en  $\beta$ -cryptoxanthine libre a été quantifiée de façon marginale dans les fruits frais ( $<0,6 \mu\text{g g}^{-1}$  MF) quel que soit le traitement hydrique. Cela pourrait se traduire par une sous-estimation de la bioaccessibilité des formes mono/di-palmitate et une surestimation de la bioaccessibilité des formes libres. Dans ces conditions de digestion, le traitement post-récolte de séchage qui a semblé maximiser la bioaccessibilité des caroténoïdes totaux a été le traitement post-récolte associée au séchage seul (Tableau 7).

Enfin, nous avons caractérisé la valeur santé des fruits sur la base de la quantité de caroténoïdes incorporée dans les micelles mixtes par gramme de matière sèche consommée (Figure 29). Alors que les fruits frais ont semblé être une source prioritaire de zéaxanthine dipalmitate et de  $\beta$ -cryptoxanthine palmitate devant les deux autres traitements post-récolte (Figure 29A, 29E), les fruits séchés contenaient significativement plus de zéaxanthine libre, de  $\beta$ -carotène, de lutéine et de caroténoïdes totaux que les autres traitements post-récolte (Figure 29B, 29D, 29F, 29G). Le séchage seul a donc semblé favoriser la valeur santé des fruits sur la base de la teneur en caroténoïdes totaux et zéaxanthine libre qui ont été incorporées dans les micelles mixtes. Le déficit hydrique n'a pas semblé être un facteur influençant de façon significative la quantité de zéaxanthine dipalmitate, zéaxanthine libre ou les caroténoïdes totaux incorporés dans les micelles, alors que le traitement post-récolte a eu un effet significatif sur l'ensemble des paramètres considérés.

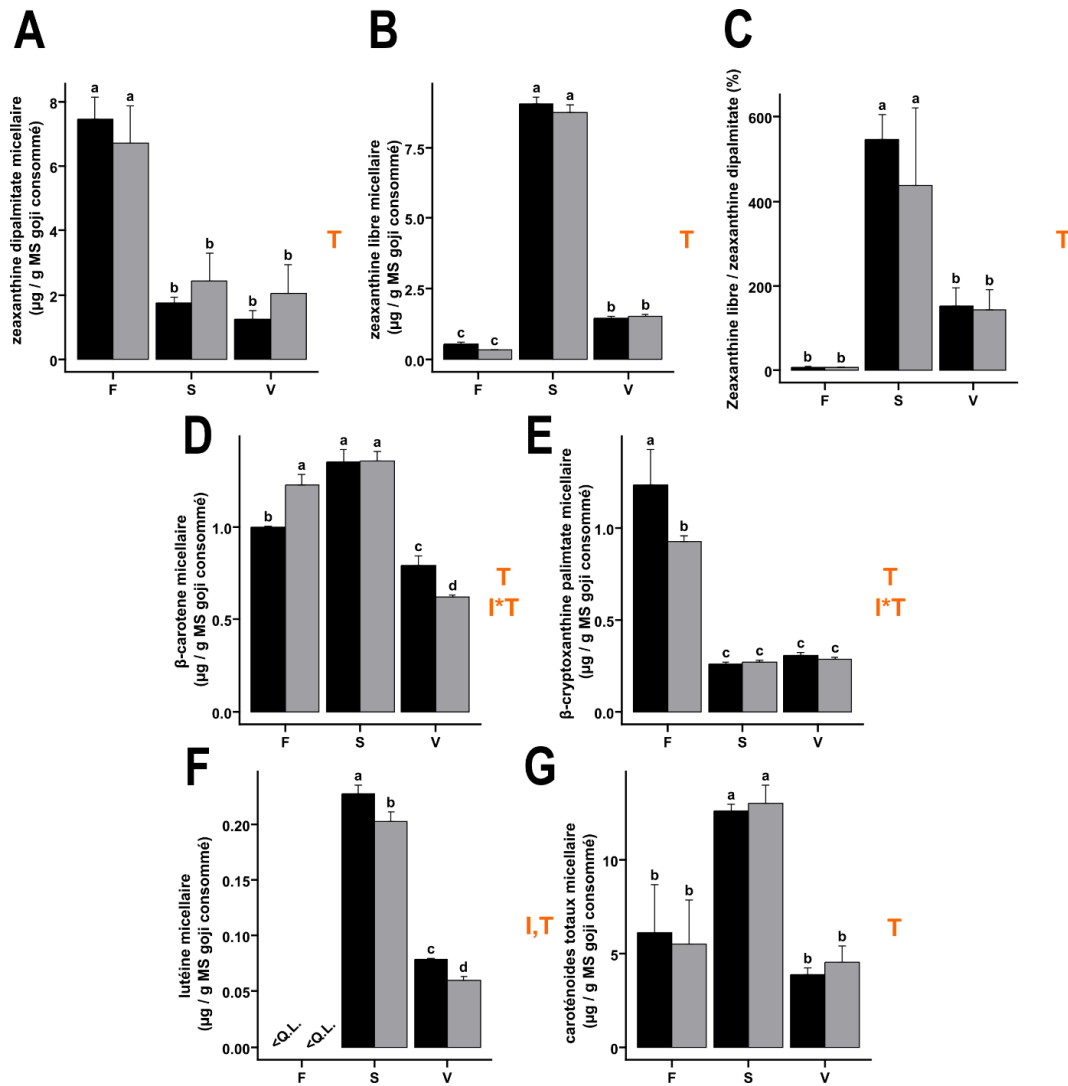
Le collapse de la paroi lors du séchage a pu masquer certains sites d'interactions entre les caroténoïdes et la matrice facilitant leur extraction (Le Bourvellec et al., 2012). De plus, la modification de la structure de la paroi et en particulier la réduction de la teneur en méthanol et du degré de méthylation des pectines après séchage aurait pu entraîner une diminution de i) l'hydrophobie de la paroi ainsi que ii) du nombre de site d'interactions entre les caroténoïdes et la paroi végétale facilitant également leur bioaccessibilité (Tableau 7) (Le Bourvellec et al., 2012; Pan et al., 2022; Z. Zhang et al., 2018). Ainsi, les modifications à la fois physiques et

chimiques de la paroi au cours du séchage ont pu augmenter la bioaccessibilité des caroténoïdes. Une interaction a pu avoir lieu entre le prétraitement à la vapeur et le séchage puisque les fruits prétraités à la vapeur puis séchés ne sont pas apparus comme ayant la composition en microconstituants d'intérêts la plus importante comparé aux fruits séchés seuls. D'autres analyses seront nécessaires pour caractériser plus précisément ces effets et mettre en évidence les interactions caroténoïdes – parois végétales.

**Tableau 7 - Bioaccessibilité des caroténoïdes du goji FPW07 sur les fruits frais (F), séchés (S), prétraités à la vapeur puis séchés (V) issus de l'irrigation contrôle (CI) ou du déficit hydrique (DI).** Les résultats sont exprimés comme la moyenne des analyses +/- écart-type. Le changement relatif de la bioaccessibilité des caroténoïdes entre le traitement CI et DI est rapporté entre parenthèses et comparé par un test de Student ajusté par la méthode de Benjamini-Hochberg pour contrôler le taux de fausses découvertes, dont le seuil a été fixé à 5%. Les variations significatives ( $p < 0,05$ ) sont rapportées (\*). #Somme de la  $\beta$ -cryptoxanthine palmitate et  $\beta$ -cryptoxanthine libre dans le cas des fruits frais (F),  $\beta$ -cryptoxanthine palmitate dans le cas des fruits séchés (S) ou prétraités à la vapeur puis séchés (V).

	FPW07-F		FPW07-S		FPW07-V	
	CI	DI	CI	DI	CI	DI
<b><math>\beta</math>-carotène</b>	14,6 $\pm$ 2,5	14,1 $\pm$ 2,3 (-3,7%)	11,2 $\pm$ 1,7	10,2 $\pm$ 1,5 (-8,9%)	22,4 $\pm$ 4,7	16,0 $\pm$ 3,0 (-28,6%*)
<b>Lutéine</b>	N.D.	N.D.	11,5 $\pm$ 1,2	12,5 $\pm$ 1,8 (+9,3%)	17,6 $\pm$ 3,2	13,7 $\pm$ 4,1 (-22,3%)
<b>Zéaxanthine dipalmitate</b>	0,4 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1 (-22,7%)	0,16 $\pm$ 0,04	0,19 $\pm$ 0,15 (+17,7%)	0,1 $\pm$ 0,04	0,2 $\pm$ 0,1 (+93,6%*)
<b>Zéaxanthine libre</b>	6,6 $\pm$ 1,9	5,7 $\pm$ 0,5 (-13,0%)	25,3 $\pm$ 3,2	29,7 $\pm$ 4,9 (+17,7%*)	9,9 $\pm$ 2,0	8,7 $\pm$ 2,3 (-12,8%)
<b><math>\beta</math>-cryptoxanthine<sup>#</sup></b>	5,0 $\pm$ 0,5	3,3 $\pm$ 0,4 (-32,8%*)	1,6 $\pm$ 0,2	1,4 $\pm$ 0,3 (-13,6%)	1,4 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,4 (-5,8%)
<b>Caroténoïdes totaux</b>	0,6 $\pm$ 0,10	0,5 $\pm$ 0,1 (-16,7%)	1,1 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,2 (-12,3%)	0,3 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,2 (+36,9%*)

En conclusion, les différents traitements post-récolte ont eu des effets forts et contrastés, supérieurs aux effets du déficit hydrique, sur la bioaccessibilité et donc la micellisation des caroténoïdes des fruits dans un protocole de digestion *in vitro*. Ces effets pourraient résulter d'interactions entre les différentes étapes du traitement post-récolte, qu'il s'agisse des effets induits par le prétraitement à la vapeur ou par le processus de séchage. Ces résultats laissent supposer que le processus de séchage des fruits pourrait jouer un rôle clé dans l'amélioration des bienfaits pour la santé de la baie de goji, comme cela a été mentionné dans la littérature scientifique.



**Figure 29 - Quantité de caroténoïdes incorporée dans les micelles mixtes produites lors de la digestion *in vitro* selon le traitement post-récolte (F = frais, S = séché, V = vapeur puis séché) et le régime d'irrigation (■ = Irrigation contrôlée, ▒ = irrigation déficitaire). A : zéaxanthine dipalmitate, B = zéaxanthine libre, C = ratio zéaxanthine libre / zéaxanthine dipalmitate, D = β-carotène, E= β-cryptoxanthine palmitate, F =lutéine, G = caroténoïdes totaux (somme de A, B, D, E, F). N = 5 digestions / traitement / régime hydrique. Moyenne +/- écart-type. Les lettres en orange indiquent les effets principaux significatifs du traitement post-récolte (T), de l'irrigation (I) et de leur interaction (T\*I) dans une analyse de variance à deux facteurs. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne +/- SEM et les lettres indiquent une différence significative avec le test post-hoc de la plus petite différence significative de Fischer, suivi de l'ajustement de la valeur p pour le contrôle des faux positifs de Benjamini-Hochberg. Les valeurs p significatives sont rapportées pour  $\alpha < 0.05$ .**



## Faits marquants du chapitre 2

- Le choix du génotype cultivé a été **un facteur majeur** dans la composition en microconstituants des fruits de tomate.
- Le déficit hydrique a **un effet positif ou non significatif** sur l'efficacité d'utilisation de l'eau pour la production commerciale pour la tomate ou le goji séchés.
- Le déficit hydrique semble avoir **un impact globalement négatif sur la bioaccessibilité des caroténoïdes** et donc éventuellement la valeur santé des fruits.
- La modalité de séchage de la baie de goji a eu un effet significatif sur la bioaccessibilité des caroténoïdes du fruit.

# **Chapitre 3**

**Supplémentation en poudre de tomate ou de goji dans un contexte d'obésité induite sur un modèle pré-clinique: influence du déficit hydrique, du génotype ou du traitement post-récolte sur la santé métabolique des animaux**

## **Introduction**

Alors que la qualité des fruits a été décrite dans le chapitre précédent, on s'intéressera ici aux effets-santé observés *in vivo* dans un contexte d'obésité induite. En effet, la valeur santé réelle d'un aliment ne se résume pas uniquement à sa composition ou à des propriétés observées *in vitro* (capacité antioxydante, bioaccessibilité). Des études précliniques puis cliniques sont nécessaires pour démontrer que ces micronutriments atteignent leur cible biologique et ont les effets bénéfiques attendus par rapport aux problématiques de santé ciblées.

La tomate et la baie de goji sont des fruits riches en caroténoïdes et autres microconstituants d'intérêt. À ce titre, ils sont des candidats idéaux dans un contexte d'obésité et particulièrement d'inflammation chronique (Bohn et al., 2021; Marcelino et al., 2020; Mounien et al., 2019). Dans notre contexte, les fruits testés sont produits dans des conditions agronomiques homogénéisées. Cela offre la possibilité de tester spécifiquement la valeur ajoutée associée soit au génotype d'intérêt, soit au régime hydrique subi par les plantes, soit au traitement post-récolte des fruits. Ainsi ce chapitre se concentrera à l'étude des effets-santé métaboliques associés à la supplémentation des souris mâles C57BL/6JRj avec les différents lots de fruits décrits précédemment.

La première section concerne la supplémentation des animaux en poudre de tomate issue de l'irrigation contrôle (H1311, M82, IL6-2, IL12-4) ou du déficit hydrique (H1311, M82) (Figure 30).

**La section 1 a fait l'objet d'une soumission pour publication dans une revue internationale à comité de lecture.**

La seconde section concerne la supplémentation des animaux en poudre de goji issue ou non du déficit hydrique, avec comme traitement post-récolte i) des fruits frais lyophilisés, ou ii) des fruits prétraités à la vapeur puis séchés et lyophilisés.

Toutes les procédures ont été réalisées en accord avec le comité d'éthique local et la cellule en charge des animaux utilisés pour les expérimentations scientifiques du ministère français de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation. Pour la supplémentation en tomate, l'étude est déclarée sous le numéro APAFIS #34349-2021121310395407. Pour la supplémentation en goji, l'étude est déclarée sous le numéro APAFIS #38694-2022091316088806.

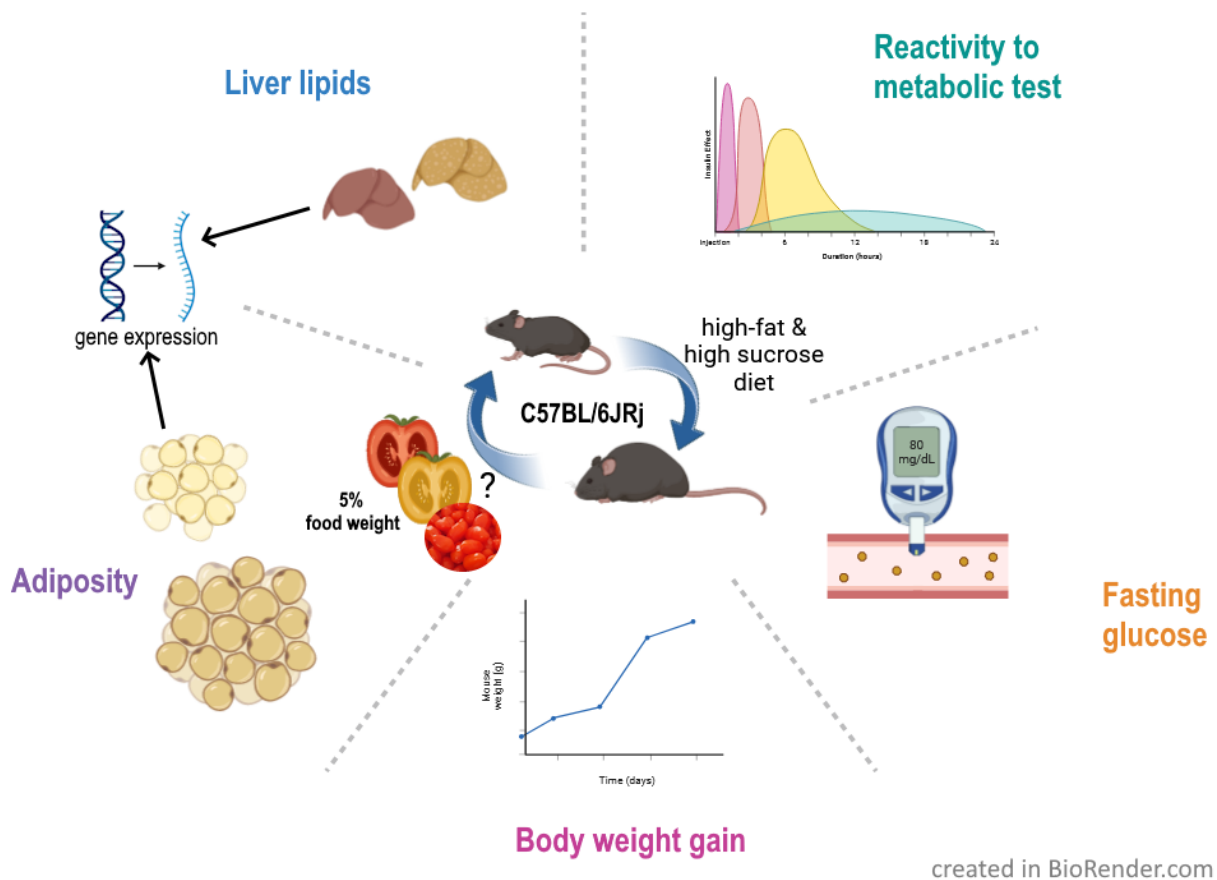


Figure 30 - Schéma expérimental du chapitre 3. Critères d'effets-santé évalués à l'issue d'une supplémentation en poudre de fruit dans un contexte d'obésité induite chez un modèle murin.

## **Section 1**

### **Tomato genotype but not crop water deficit matters for tomato health benefits in diet-induced obesity of C57BL/6JRj male mice**

Thomas Breniere<sup>1,2,3</sup>, Lorraine Bournot<sup>2</sup>, Flavie Sicard<sup>4</sup>, Julien Astier<sup>2</sup>, Anne-Laure Fanciullino<sup>5</sup>, Catherine Riva<sup>3</sup>, Patrick Borel<sup>2</sup>, Nadia Bertin<sup>1</sup>, Jean-François Landrier<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Plantes et Systèmes de cultures Horticoles (UR 1115, PSH), INRAE, F-84000 Avignon, France.

<sup>2</sup> Aix-Marseille Université, C2VN, INRAE, INSERM, 13000, Marseille, France.

<sup>3</sup> Avignon Université, UPR4278 LaPEC, Avignon, France.

<sup>4</sup> PhenoMARS, CriBiom, Marseille, France.

<sup>5</sup> IRHS, Université d'Angers, INRAE, Institut Agro, F-49071, UMR1345, Beaucouzé, France.

#### **ABSTRACT**

Several studies have linked the intake of lycopene and/or tomato products with improved metabolic health under obesogenic regime. The aim was to evaluate the differential impact of supplementations with several tomato genotypes differing in carotenoid content and subjected to different irrigation levels on obesity-associated disorders in mice. 80 male C57BL/6JRj mice were assigned into 8 groups to receive: control diet (CD), high fat diet (HFD), HFD supplemented at 5% weight with 4 tomato powders originating from different tomato genotypes produced under control irrigation (CI). Among the 4 genotypes, 2 were also produced under deficit irrigation (DI), reducing the irrigation water input by 50% from anthesis to fruit harvest. Among the 4 CI supplemented groups, all genotypes significantly improved fasting glycemia and three of them significantly lowered liver lipids content after 12 weeks of supplementation. In addition, IL6-2 genotype, rich in  $\beta$ -carotene, significantly limited animal adiposity, body weight gain and improved glucose homeostasis as highlighted in glucose and insulin tolerance tests. No consistent beneficial or detrimental impact of DI to tomato promoting health benefits was found. These results suggest that tomato genotype may differentially impact study outcomes, depending on tomato carotenoids and other phytochemicals content. We hypothesize that beyond lycopene,  $\beta$ -carotene may be an important carotenoid to improve metabolic health of mice under obesogenic regime. Our results suggest that water deficit (DI) couldn't be an effective tool to enhance health benefits, in comparison to genotype related carotenoid content.

## INTRODUCTION

Obesity is a growing health concern and is associated with an increased risk of chronic diseases such as insulin resistance, type 2 diabetes, non-alcoholic fatty liver disease, cardiovascular disease, and certain types of cancer (Lobstein et al., 2022; Piché et al., 2020; Polyzos et al., 2021). In this context, diet plays a crucial role in developing and preventing obesity and related health conditions (Veit et al., 2022). Several studies point out that a diet overall rich in fruits and vegetables improve health status and reduce the risk of obesity or metabolic syndrome (He et al., 2004; Lee et al., 2019; Nguyen et al., 2022). Tomatoes (*Solanum lycopersicum*) are important contributors of fruits and vegetables consumption with a wide diversity of fresh and derived products (juice, concentrate...). Tomatoes have been shown to possess several health benefits, including anti-inflammatory and antioxidant properties (Canene-Adams et al., 2005; Landrier et al., 2023; Li et al., 2018). In this context, carotenoids have been targeted as important candidates to provide anti-obesity effects implying adipose tissue (Mounien et al., 2019). Tomatoes can be remarkable source of lycopene, which has been suggested to participate in the fruit health benefits in a context of obesity-related metabolic diseases (Bohn et al., 2021; Senkus et al., 2019; Zhu et al., 2020). Additionally, tomatoes are a rich source of other carotenoids including  $\beta$ -carotene and colorless carotenoids phytoene and phytofluene (Mapelli-Brahm & Meléndez-Martínez, 2021). Depending on the genotype, lycopene is not necessarily the main carotenoid accumulated in the fruit (Flores et al., 2017). Tomatoes are also an interesting source of other beneficial compounds such as ascorbic acid, phenolic compounds, minerals and alcohol insoluble matter (AIM) also known as insoluble dietary fibers. It is important to acknowledge that the combined activity of various phytochemicals cited above may enhance the health benefits of tomatoes through additive or synergistic effects (Basu & Imrhan, 2007; Fenni et al., 2017). We denote that very little attention is usually given on genotype and/or growth conditions of tomato and tomato derived materials in animal supplementation studies (Fenni et al., 2017; Lee et al., 2015; Li et al., 2018; Tan et al., 2014). It is however known that genotype and environment can significantly change fruit nutrient content (Flores et al., 2017; Kavitha et al., 2014). Multiple agricultural factors, including the crop's genotype, daily temperatures, drought conditions, light exposure, and fertilization practices, have been identified as having a considerable influence on the levels of carotenoids and phenolic compounds (either in total or specific types) in fruits. For example, it is possible to obtain up to 25 times the concentration in  $\beta$ -carotene of conventional tomato varieties with

breeding. Similarly, high solar light exposure for 5 hours can increase more than 2 times tomato total phenolic compounds (Poiroux-Gonord et al., 2010). Among agronomic factors, drought or deficit irrigation (DI) have been identified as a possible lever to enhance sustainability of food production by reducing water inputs, and possibly improve fruit health benefits (Lu et al., 2021; Ripoll et al., 2014). DI triggers a physiological stress response from the plant that has been described to have a positive effect on fruit quality with increased secondary metabolites content (Hou et al., 2020; Ripoll et al., 2014). In a water deficit context, it is expected that the nutrient concentration in fresh fruit increases compared with the control (non-limiting) irrigation (CI) treatment (Petrović et al., 2019; Ripoll et al., 2016). This mostly results from a concentration effect due to the decrease of water accumulation under DI, while it is unclear whether nutrient increase is also observed on a dry weight basis (Ripoll et al., 2016). To our knowledge, clinical or preclinical supplementation studies have not examined the impact of possible changes on fruit health benefits of various tomato genotypes and/or water deficit. This is particularly striking since many agronomic research report the impact of genotype and environment or processing interactions on fruit quality, but this rarely translates into health benefits evaluation (Tilesi et al., 2021).

In this study, we investigated the metabolic health outcomes observed in a cohort of C57BL/6JRj male mice subjected to an obesogenic regime supplemented with several tomato powders differing in genotype and/or irrigation regime. Our research primarily focused on metabolic health, emphasizing aspects like body weight gain, adiposity, liver lipid levels, and glucose homeostasis, which were assessed through glucose and insulin tolerance tests. The originality of our work lies in the fact that tomato fruits were produced in similar controlled conditions before incorporation in the animal diet and displayed contrasted carotenoid content. We hypothesized that the animal metabolic health status may be dependent on the tomato genotype and that stronger positive health benefits may emerge from high lycopene/high total carotenoids tomatoes. In addition, we selected 2 tomato genotypes also produced under DI, tested to determine whether DI could modulate and possibly improve health benefits.

## **MATERIALS AND METHODS**

### *Tomato source and incorporation in food pellets*

Two processing tomato genotypes (H1311, M82) and two introgression lines originating from a cross between M82 and the wild green fruited *S. pennellii* were chosen (IL6-2, IL12-4) (Eshed & Zamir, 1995). Based on existing literature, these four genotypes were retained for their

contrasted carotenoid content. Plants were grown in a greenhouse (Avignon, France) with a dripping system providing water and nutrients. All plants were sown under control irrigation (CI), where root humidity was maintained at soil capacity. Prior to the occurrence of the first anthesis, plants homogeneous in size and leaf number were randomly distributed into two irrigation treatments.

The first group stayed under CI during the whole fruiting period. The second group was exposed to deficit irrigation (DI) resulting in a 50% reduction of water supply volume compared to the control treatment. Fruits that displayed blossom end rot were discarded, and healthy fruits were harvested maturity was reached. At harvest, fruits were cut into  $\sim 1\text{cm}^3$  pieces, cryogrinded, and stored in sealed bags at  $-80^\circ\text{C}$ . At the end of harvest period, all tomato samples were freeze-dried and stored at  $4^\circ\text{C}$  safe from light. Soluble sugars, starch, organic acids, ascorbic acid, carotenoids and polyphenols were characterized as previously described (Ruiz-Nieves et al., 2021). AIMS were quantified as previously described (Musse et al., 2021). Based on available data for a commercial product containing 99.2% processing tomato powder, the dietary energy of the powders was estimated at 3.17 kcal/g (Tomato powder, Casino, openfoodfacts.org). The tomato powders were homogeneously incorporated in high fat diet (HFD) food pellets with a mixing screw (251HF, 45.9% energy from lipids, 21% sucrose, U8954 Version 204, from SAFE Custom Diets®). The regimes were constituted as follows: HFD-supplemented 5% weight with tomato powder, namely HFD + 5% H1311 tomato grown under CI (H1311-CI) or DI (H1311-DI), HFD + 5% M82 tomato grown under CI (M82-CI) or DI (M82-DI), HFD + 5% IL6-2 tomato grown under CI (IL6-2-CI) and HFD + 5% IL12-4 tomato grown under CI (IL12-4-CI).

#### *Animal experiments*

All procedures were performed in accordance with the local Ethics committee and the cell in charge of animals used for scientific experiments by the French ministry of Higher Education, Research and Innovation (APAFIS #34349-2021121310395407). Eighty C57BL/6JRj seven-week-old male mice (Roger Janvier Labs, Le Genest Saint Isle, France) were fed with control purified diet (CD) food (AIN93-G, 17.4% energy from lipids, 12% sucrose, U8978 Version 22, from SAFE Custom Diets®, France) and for a 1-week acclimatization period. Before diet change and after the 1-week acclimatization period, all the animals were weighted ( $22.2 \pm 1.3$  g) and cage repartition between groups (N=10 per group) was organized to maximize the homogeneity of mean and standard deviation mouse weight between groups (Bartlett's test p-value for diet effect = 0.92, ANOVA p-value for diet effect = 0.99). The mice were assigned



into one of the eight experimental groups depending on their diet: CD, HFD, or HFD + 5% weight freeze-dried tomato powder. Mice were maintained at 22 °C in a 12:12 h light/dark cycle with *ad libitum* access to food and water during the whole experiment. Food pellets were stored in a fridge (+4 °C) in an airtight container before feeding and pellets were replaced in each cage every 3-4 days to maximize freshness. Each mouse was weighted once a week and dietary intake was recorded on a 24h time period by food weight difference, two times for each cage during the whole experiment. After 12 weeks, the mice were fasted overnight and organs and blood were collected by cardiac puncture in heparinized tubes using a general anesthetic (Sevoflurane, Baxter, France). Animals were euthanized by cervical dislocation under anesthesia. The plasma was isolated by centrifugation at 2000 g for 15 min at 4°C and was stored at -80 °C until analysis. Mouse liver, retroperitoneal, epididymal, and subcutaneous adipose tissue (AT) deposits were collected, weighed, snap-frozen and stored at -80 °C until analysis.

#### *Oral Glucose and Insulin Tolerance Tests*

Insulin and glucose tolerance tests were performed respectively 9 and 10 weeks after diet differentiation. For the insulin tolerance test, all mice were fasted for 6h and injected *i.p.* with 0.5 IU kg<sup>-1</sup> fast-acting insulin (NovoRapid, novo nordisk). For the glucose tolerance test, all mice were fasted for 12h and gavaged with 2 g kg<sup>-1</sup> D-(+)-glucose (Millipore Sigma). For both tests, blood samples were taken from the tail tips at specific time intervals (T<sub>0</sub> (fasting), T<sub>0</sub>+15min, T<sub>0</sub>+30min, T<sub>0</sub>+60min, T<sub>0</sub>+90min, T<sub>0</sub>+120min) to measure glucose levels (Accu-Check glucometer, Roche). Glucose and insulin tolerance levels were assessed by computing the trapezoidal area under the response curve (Cardinault et al., 2020).

#### *Biochemical Analyses*

The plasma glucose was evaluated using glucose RTU (bioMerieux, France). Triglycerides and free fatty acids (FFA) were measured using a colorimetric test (RANDOX, Crumlin, Co. Antrim, UK). Insulinemia was measured using an enzyme-linked immunosorbent assay ELISA (ALPCO Diagnostics, New Hampshire, USA). Leptin and adiponectin were quantified by RT-qPCR. The HOMA-IR index was calculated according to the following formula: fasting insulin (mIU.L<sup>-1</sup>) × fasting glucose (mmol.L<sup>-1</sup>)/22.5.

#### *Liver lipid quantification*

Total liver lipids were determined gravimetrically with ~0.20 g of liver sample. Samples were weighted and grinded in bead tubes for two 30-second cycles at 30Hz in a Retch grinder

(Brinkman Instruments Inc.) with a mixture of 1mL methyl-*tert*-butyl ether (MTBE) and methanol (10:3; v/v) in a 1.5 mL tube. Phosphate Buffer Saline (PBS 1X) was added to induce phase separation (final MTBE/methanol/PBS ratio of 10:3:2.5, [v/v/v]) (Matyash et al., 2008). The solution was centrifugated at 3000g for 10 minutes at 4°C. The upper phase (MTBE) containing lipids was evaporated in a pre-tared tube under nitrogen flow gas and the extraction procedure was repeated twice. After complete drying, the total lipid content of the liver was obtained by calculating the ratio between the weight of the film stuck to the walls of the tube and the liver sample weight. Validation was carried out with lipids quantification of a commercial food sample with known total lipid content.

#### *Adipose tissue gene expression*

Total RNA was extracted from epididymal AT using TRIzol reagent (Thermo Fischer Scientific) according to the manufacturer protocol. The cDNA was synthesized from 1 µg of total RNA using random primers and Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (Landrier et al., 2008). Real-time quantitative PCR analyses were performed using the Roche LightCycler® 480 PCR System (Derghal et al., 2018). For each condition, expression was quantified in duplicate, and 18S mRNA was used as the endogenous control in the comparative cycle threshold method ( $C_T$ ) and data was expressed as relative expression ratio.

#### *Statistical analysis*

Unless specified, all data are expressed as mean  $\pm$  SEM. Significant differences between the control and other groups were determined using one-way ANOVA to test diet effect. Significant diet effect ( $p < 0.05$ ) was followed by Fisher-exact test with Benjamini-Hochberg multiple-testing correction. Controlled  $p$  values  $< 0.05$  were considered as significant outcomes between groups. Plots and statistics were performed using GraphPad (GraphPad Prism version 9.0.0, GraphPad Software) or R software (R Core Team 2022). PLS-DA analysis on tomato powder composition was performed online with one factor statistical analysis on auto centered data using MetaboAnalyst (Pang et al., 2022).

## RESULTS

*Tomato composition is highly discriminated by phytochemicals.*

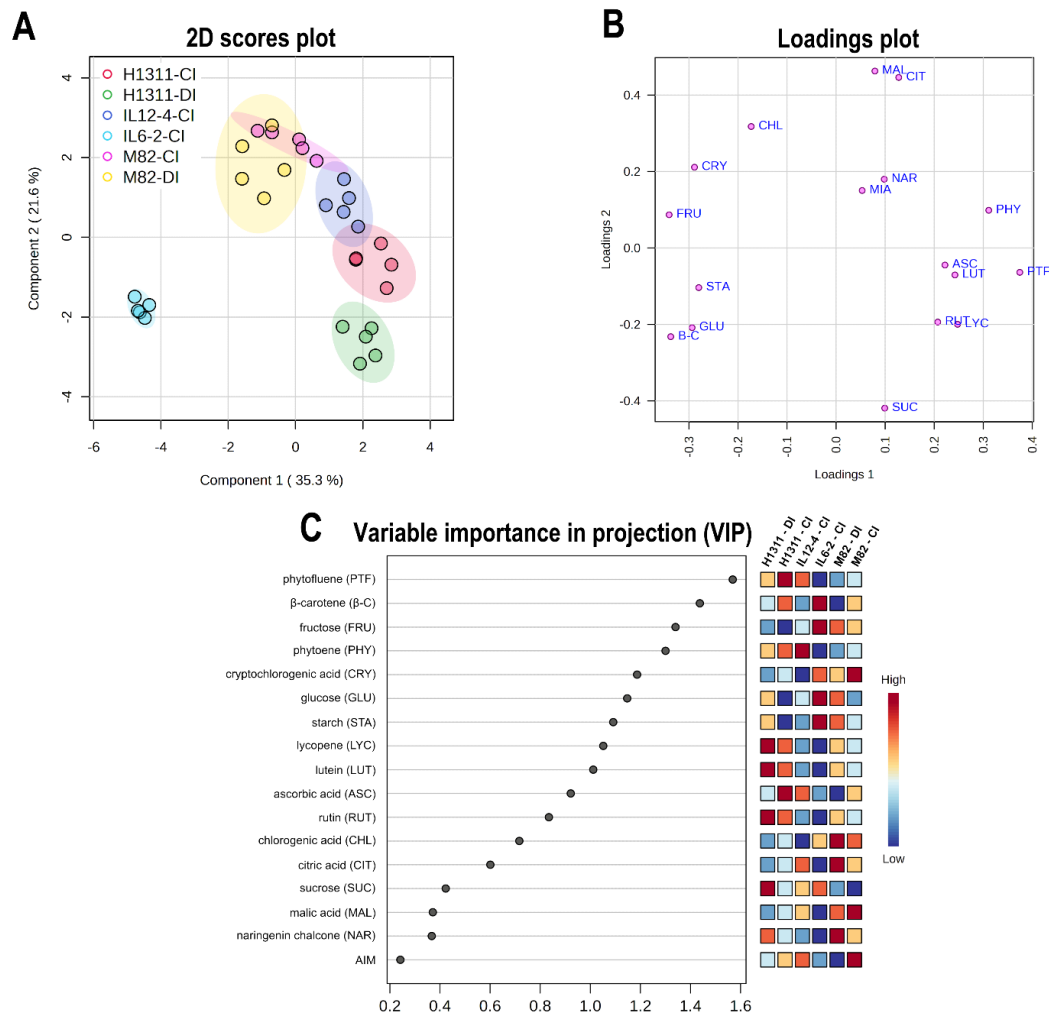
Beyond carotenoids, sugars, acids, phenolics and AIM were also quantified in freeze-dried tomato powders. Based on the 2D scores plot (Fig. 1, A), the partial least square discriminant analysis (PLS-DA) of compounds between groups reveals a stronger discrimination of tomato samples according to genotype rather than according to DI treatment for the two genotypes tested (H1311, M82). The most discriminated compounds between all groups were phytofluene,  $\beta$ -carotene and fructose. AIM, naringenin chalcone and malic acid remained mostly stable between powders. A relative ranking based on compound concentration on a dry mass basis was established between tomatoes (Fig. 1, B and C). Compared to the other genotypes, IL6-2 tomato was particularly rich in  $\beta$ -carotene, with an average 9.2-fold increase content compared with other CI tomatoes (Fig. 1, Table 1). IL6-2 also did score the highest sugar content compared to other genotypes, with an average 1.2-fold increase compared to other CI tomatoes.

**Table 1: Carotenoid intake estimation ( $\mu\text{g}/\text{mouse}/\text{day} \pm \text{SD} (\sigma)$ ). Mean intake was calculated from the mean carotenoid content of freeze-dried tomato powder incorporated in the food pellets \* mean food intake consumption per mouse per day (Fig. 2D) \* 5% tomato inclusion in food pellets. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini-Hochberg false discovery rate procedure.**

	HFD + H1311 - CI	HFD + H1311 - DI	HFD + M82 - CI	HFD + M82 - DI	HFD + IL6-2 - CI	HFD + IL12-4 - CI
lycopene	223.0 $\pm$ 39.0 b	327.6 $\pm$ 75.1 a	165.5 $\pm$ 29.7 c	173.7 $\pm$ 43.0 c	93.2 $\pm$ 17.7 d	104.7 $\pm$ 17.3 d
phytoene	92.3 $\pm$ 17.7 b	78.2 $\pm$ 15.9 bc	66.5 $\pm$ 12.2 cd	54.6 $\pm$ 12.4 d	18.5 $\pm$ 2.9 e	150.7 $\pm$ 23.8 a
phytofluene	16.9 $\pm$ 3.0 a	15.1 $\pm$ 3.1 a	8.1 $\pm$ 1.5 ab	6.7 $\pm$ 1.5 ab	2.5 $\pm$ 0.5 b	17.7 $\pm$ 3.1 a
$\beta$ -carotene	7.6 $\pm$ 1.3 b	6.0 $\pm$ 1.2 b	5.8 $\pm$ 1.32 b	4.5 $\pm$ 1.0 b	52.0 $\pm$ 9.2 a	4.9 $\pm$ 0.8 b
lutein	2.1 $\pm$ 0.4 a	2.3 $\pm$ 0.6 a	1.7 $\pm$ 0.3 a	1.8 $\pm$ 0.4 a	1.0 $\pm$ 0.2 a	1.1 $\pm$ 0.2 a
<b>Total (sum)</b>	341.9 $\pm$ 43.0 b	429.3 $\pm$ 76.9 a	247.5 $\pm$ 32.1 c	241.4 $\pm$ 44.7 c	167.1 $\pm$ 20.2 d	279.1 $\pm$ 29.6 c

Total sugar fruit composition can be approximated to 49.2% glucose, 46.7% fructose and 1.5% sucrose on average for all CI tomatoes, all sugars constituting on average 35.3% of CI fruit dry weight (data not shown). Considering mice food intake and the carotenoid content of freeze-dried tomato powders, we estimated the dietary carotenoid intake of mice supplemented at about 5% of tomato powder in their food diet (Table 1). Overall, H1311 regimes (CI and DI) could be considered as high total carotenoid regimes, driven by a high lycopene content, which was expected for this high lycopene cultivar (Ozminkowski, 2015). IL12-4 stands out as a high phytoene and phytofluene source and IL6-2 stands out as a high  $\beta$ -carotene source (Table 1). DI resulted in a marked lycopene increase and total carotenoid intake for H1311 but not statistically significant for the M82 genotype. DI did not lead to a significant increase of lutein

intake for both genotypes. Phytoene, phytofluene and  $\beta$ -carotene intakes displayed a low insignificant decrease under DI for both genotypes.

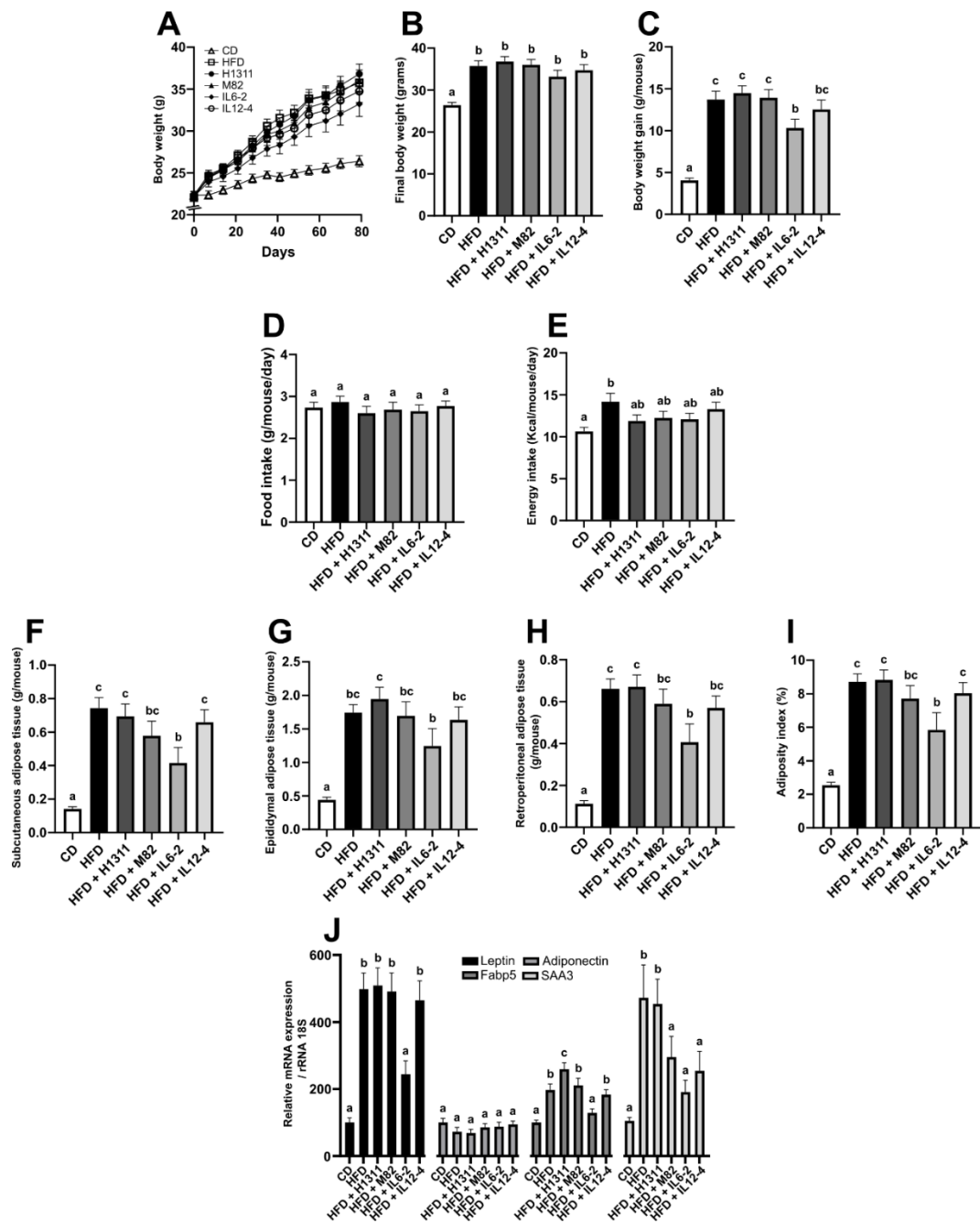


**Figure 1 - Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), with 2D scores plot (A), loadings (B) and variable importance in projection (VIP) scores with ranking of the tomato powder in terms of mean compound concentration (color scale) (C), for the four tomato genotypes tested under Control Irrigation (CI) (H1311-CI, M82-CI, IL6-2 CI and IL12-4 CI) and the two tomato genotypes tested under Deficit Irrigation (DI) (H1311-DI and M82-DI). Loadings plot variable names are indicated in brackets after compound name in the VIP plot. AIM = alcohol insoluble matter**

*Tomato genotypes have a differential impact on morphometric parameters and mRNA levels in HFD-fed mice.*

At the end of the 12 weeks supplementation period, mice body weight differed significantly between diets, with a significant average increase of body weight of +33.8% between CD and all HFD diets including or not tomato powder (Fig. 2A, 2B). However significant lower body weight gain was observed for IL6-2 supplemented group only compared with HFD (-30.7 %, p

< 0.05) (Fig. 2C), while other supplemented groups did not significantly differ from the HFD group.



**Figure 2 – Effect of tomato powder supplementation on mouse morphological parameters.** Evolution of animal body weight during 12 weeks tomato supplementation (A) with description of final body weight (B) and body weight gain (C) before animal sacrifice. Food intake as quantity (D) and energy (E). After sacrifice, the subcutaneous (F), epididymal (G), retroperitoneal (H) adipose tissues were weighted to characterize the adiposity index (I). Values are means  $\pm$  SEM (n=10/group, except for D and E where n = 6/group). CD = Control diet; HFD = High-fat diet. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini Hochberg false discovery rate procedure.

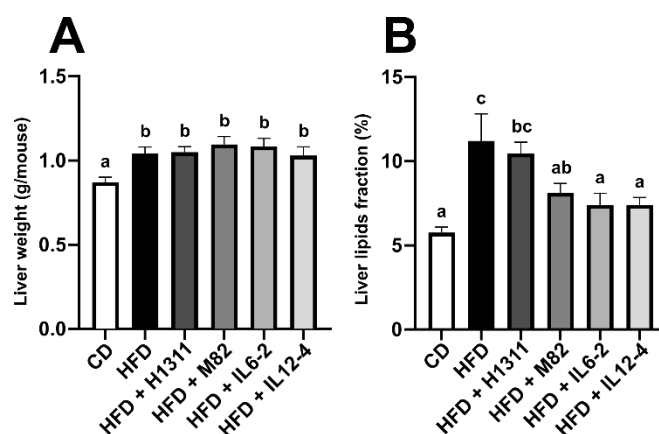
Food intake quantity was similar within the groups ( $p = 0.94$ ) with an average food consumption of 2.7 g/mouse/day (Fig. 2D). Due to difference in diet energy load between control and HFD, average energy intake of HFD group significantly ( $p < 0.05$ ) increased compared to the CD group, whereas tomato supplemented groups energy intake did not significantly differ compared with the HFD or CD group (Fig. 2E).

The decrease of body weight gain for IL6-2 group may be explained by a decrease of fat mass, as this group displayed lower amount of subcutaneous (-44.3%,  $p < 0.001$ ) and retroperitoneal (-38.6%,  $p < 0.01$ ) AT deposits compared with the HFD group (Fig. 2F, 2H). The decrease of AT deposit in the epididymal fat pad for IL6-2 supplemented group did not reach significance (-28.7%,  $p = 0.12$ ) compared with the HFD group. However, this decrease of AT deposits resulted into a significantly reduced adiposity index for IL6-2 group (-33.0%,  $p < 0.01$ ) compared with the HFD group (Fig 2I). As expected, the HFD induced a strong increase of *Leptin*, *SAA3* (Serum Amyloid A3), acute-phase proteins related to metabolic inflammation (Maffei et al., 2016), and *FABP5* (Fatty Acid Binding Protein 5) mRNA compared to the CD (Fig. J). Among the tested powders, M82 and IL12-4 induced a significant decrease of *SAA3* mRNA compared to the HFD. IL6-2 induced a significant decrease of *Leptin*, *FABP5* and *SAA3* mRNA compared to the HFD (Fig. 2J). H1311 induced a significant increase of *FABP5* mRNA compared to the HFD. *Adiponectin* expression levels did not differ significantly between groups.

HFD and HFD + tomato supplemented groups displayed significantly higher liver weight compared with the CD group (Fig. 3A). HFD increased liver lipids (+94.6%,  $p = 0.0001$ ) compared to the CD group (Fig. 3B), but tomato lowered liver lipid content significantly for M82 (-27.6%,  $p < 0.05$ ), IL6-2 and IL12-4 (-34.0%,  $p < 0.01$  respectively) compared with HFD. For these groups, mice liver lipid levels did not significantly differ from CD mice (Fig. 3B).

*Tomato genotypes differentially improve glucose homeostasis and blood parameters in HFD-fed mice.*

The HFD resulted in a significant increase in fasting glycemia compared with the CD group at 9 and 10 weeks after the diet start (Fig. 4A, 4D). The magnitude of this increase varied depending on the duration of fasting. Specifically, for a 6-hour fast, fasting blood glucose levels increased by +25.1% ( $p < 0.01$ ) (Fig. 4D), while for overnight fasting, the increase was much higher at +124.8% ( $p < 0.0001$ ) (Fig. 4A). Regardless of the genotype, tomato supplementation significantly reduced overnight fasting glycemia compared with the HFD group.



**Figure 3 - Impact of tomato supplementation on mice liver weight (A) and liver lipids (B) after 12 weeks supplementation.** Values are means  $\pm$  SEM (n=10/group). CD = Control diet; HFD = High fat Diet. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini Hochberg false discovery rate procedure.

The decrease in fasting glycemia ranged from -14.7% ( $p < 0.05$ ) for H1311 to -30.5% ( $p < 0.0001$ ) for M82 (Fig. 4A). However, for a shorter fasting period of 6 hours, there was no statistically significant difference in fasting glycemia between the HFD and HFD + tomato supplemented groups (Fig. 4D).

The effect of tomato supplementation on glucose homeostasis was evaluated using OGTT and ITT tests. M82 and IL6-2 tomato genotypes supplementation improved ( $p < 0.05$ ) glucose tolerance in OGTT as highlighted by the area under the curve (AUC) of the glycemic response (Fig. 4, B.2, B.3 and C) which was reduced compared with the AUC observed in the HFD animals. After 12 weeks, the decrease in fasting glycemia, insulinemia and HOMA-IR index was observed only for IL6-2 supplemented group ( $p < 0.05$ ) with no particular difference of blood triglycerides or non-esterified fatty acids concentrations between groups (Table 2). HFD significantly increased insulin resistance compared with the CD ( $p < 0.0001$ ), evaluated using the AUC of the ITT blood glucose response curve, but no significant improvement was observed for tomato supplemented groups (Fig. 3, E.1 to E.4 and F) compared with the HFD group.

*Tomato irrigation strategy does not improve tomato health effects in HFD-fed mice.*

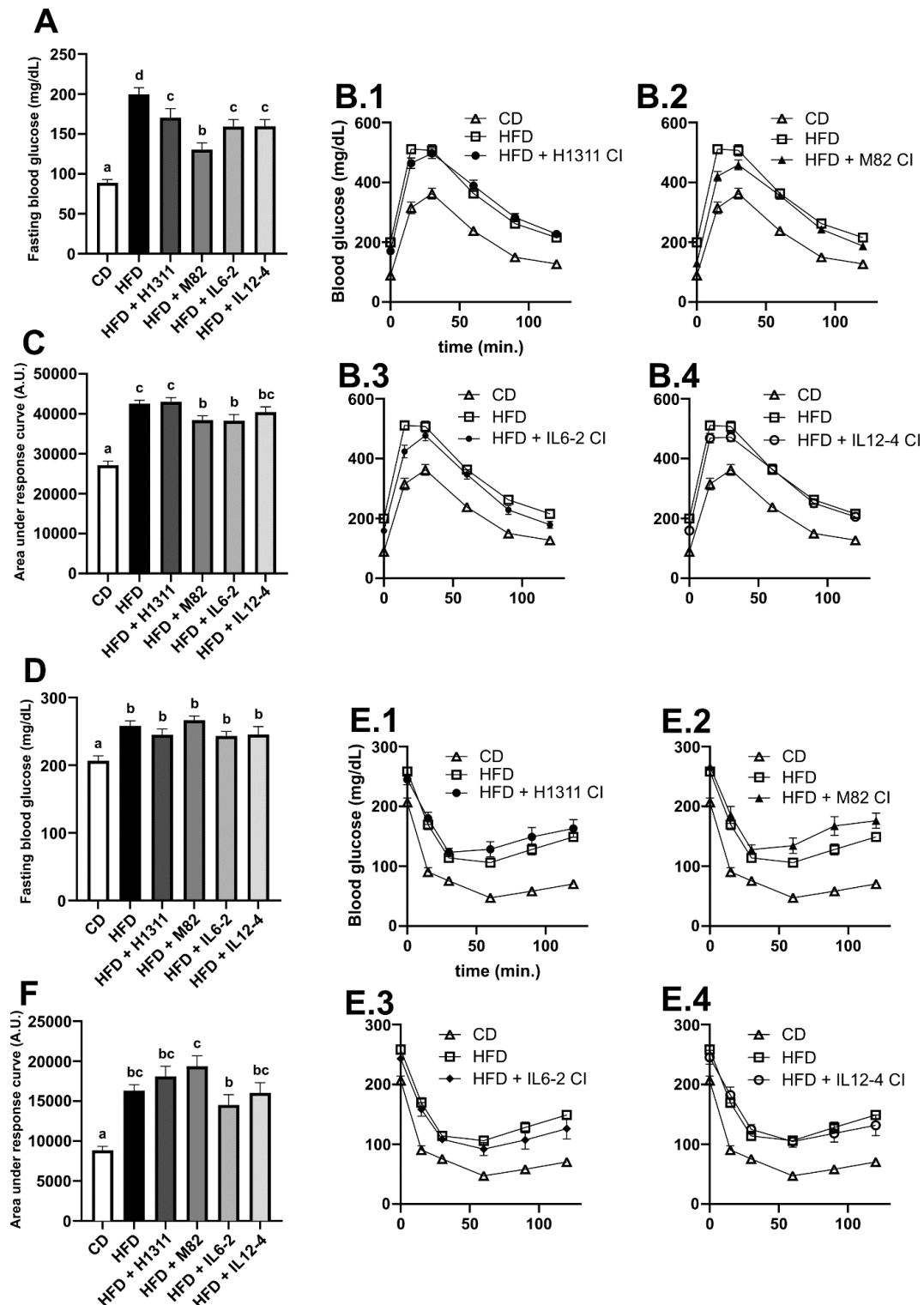
The effect of tomato supplementation on mice with M82 and H1311 tomato genotypes grown under CI was compared with the same genotypes grown under DI. Overall, no significant difference in health outcomes after the 12-week supplementation was observed on the measured parameters of the animals between the CI and the DI supplemented fruits (Fig. 5, 6, 7, Table 2), except for liver weight, with a significant increase observed between H1311 CI and DI

supplemented animals (+17.7%,  $p < 0.05$ , Fig. 6A), but significant decrease of mice liver lipids (-28.1%,  $p < 0.01$ , Fig. 6B). The increase of liver weight (+6.6%,  $p = 0.2$ ) and decrease of liver lipids (-12.1%,  $p = 0.4$ ) pattern under DI was observed for M82 genotype but differences were not significant.

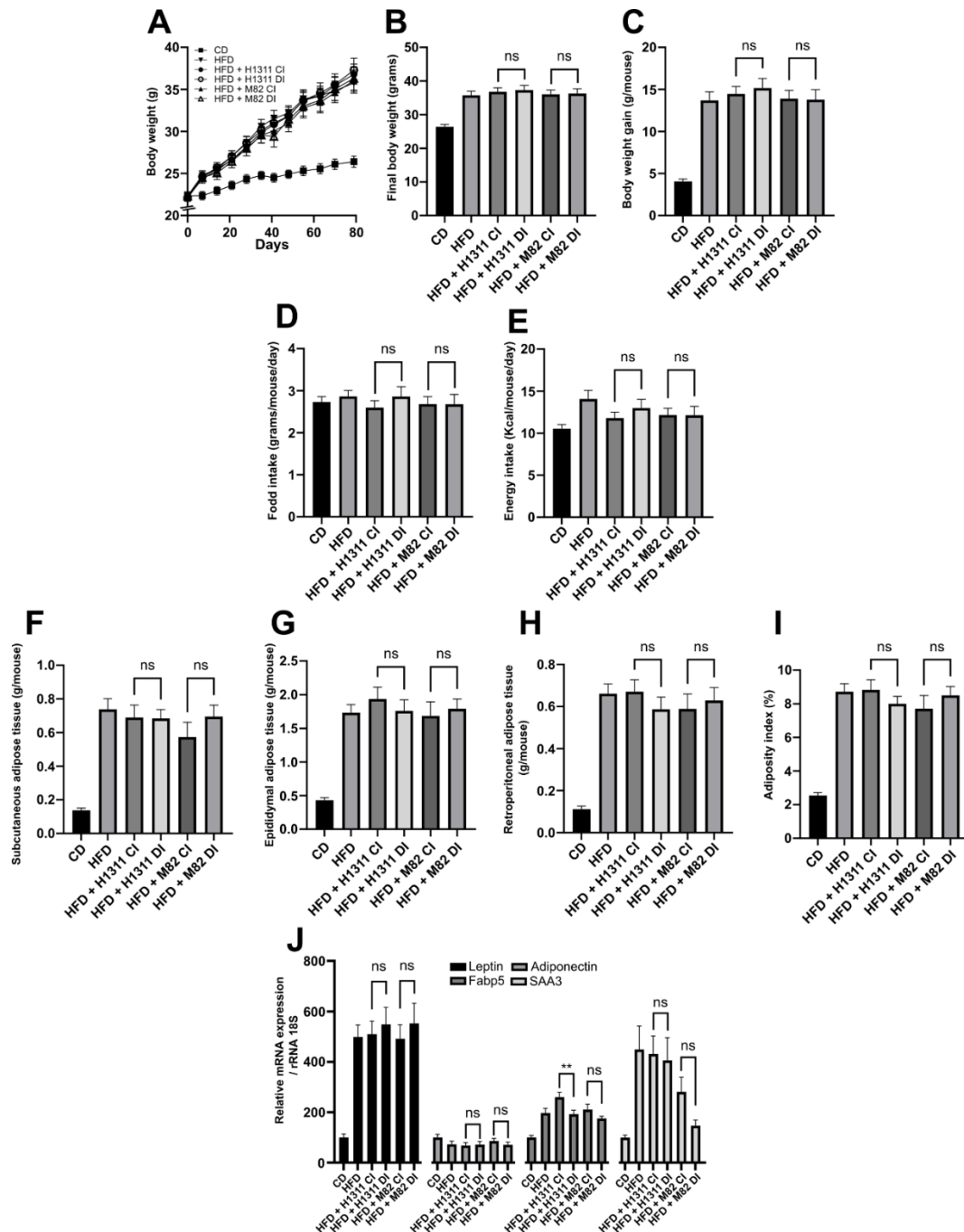
**Table 2. Effect of lycopene and tomato powder supplementation on metabolic parameters and glucose homeostasis.** CD: control diet; HFD: high fat diet; HFD + [...], high fat diet supplemented with a specific tomato genotype (H1311, M82, IL6-2, IL12-4) and irrigation regime (CI = Control Irrigation, DI = Deficit Irrigation). Values are presented as mean  $\pm$  SD. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini Hochberg false discovery rate procedure.

	CD	HFD	HFD + H1311- CI	HFD + H1311- DI	HFD + M82-CI	HFD + M82-DI	HFD + IL6-2 CI	HFD + IL12-4 CI
<b>Triglyceride (g/L)</b>	0.82 $\pm$ 0.14 a	0.86 $\pm$ 0.14 ab	1.03 $\pm$ 0.15 b	0.87 $\pm$ 0.12 ab	0.98 $\pm$ 0.16 ab	0.87 $\pm$ 0.12 ab	0.89 $\pm$ 0.08 ab	0.83 $\pm$ 0.19 ab
<b>Non esterified fatty acids (mmol/L)</b>	1.18 $\pm$ 0.36 a	1.03 $\pm$ 0.22 a	0.86 $\pm$ 0.33 a	0.84 $\pm$ 0.27 a	0.92 $\pm$ 0.39 a	0.98 $\pm$ 0.41 a	1.07 $\pm$ 0.36 a	1.06 $\pm$ 0.35 a
<b>Glycemia (mg/dL)</b>	182 $\pm$ 21 a	233 $\pm$ 22 c	226 $\pm$ 11 bc	238 $\pm$ 19 c	241 $\pm$ 29 c	216 $\pm$ 19 bc	202 $\pm$ 26 ab	228 $\pm$ 24 c
<b>Insulinemia (ng/mL)</b>	0.07 $\pm$ 0.09 a	0.09 $\pm$ 0.07 b	0.1 $\pm$ 0.06 ab	0.11 $\pm$ 0.09 ab	0.14 $\pm$ 0.09 b	0.08 $\pm$ 0.09 ab	0.05 $\pm$ 0.06 a	0.1 $\pm$ 0.05 ab
<b>HOMA-IR index</b>	0.6 $\pm$ 0.82 a	3.38 $\pm$ 2.76 c	2.74 $\pm$ 1.84 bc	2.99 $\pm$ 2.75 bc	3.03 $\pm$ 2.86 bc	2.5 $\pm$ 3.11 abc	1.13 $\pm$ 1.42 ab	2.49 $\pm$ 1.27 abc

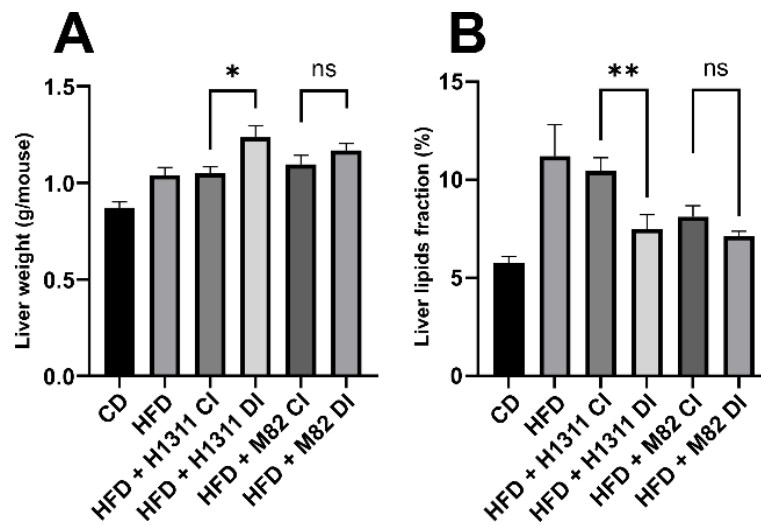




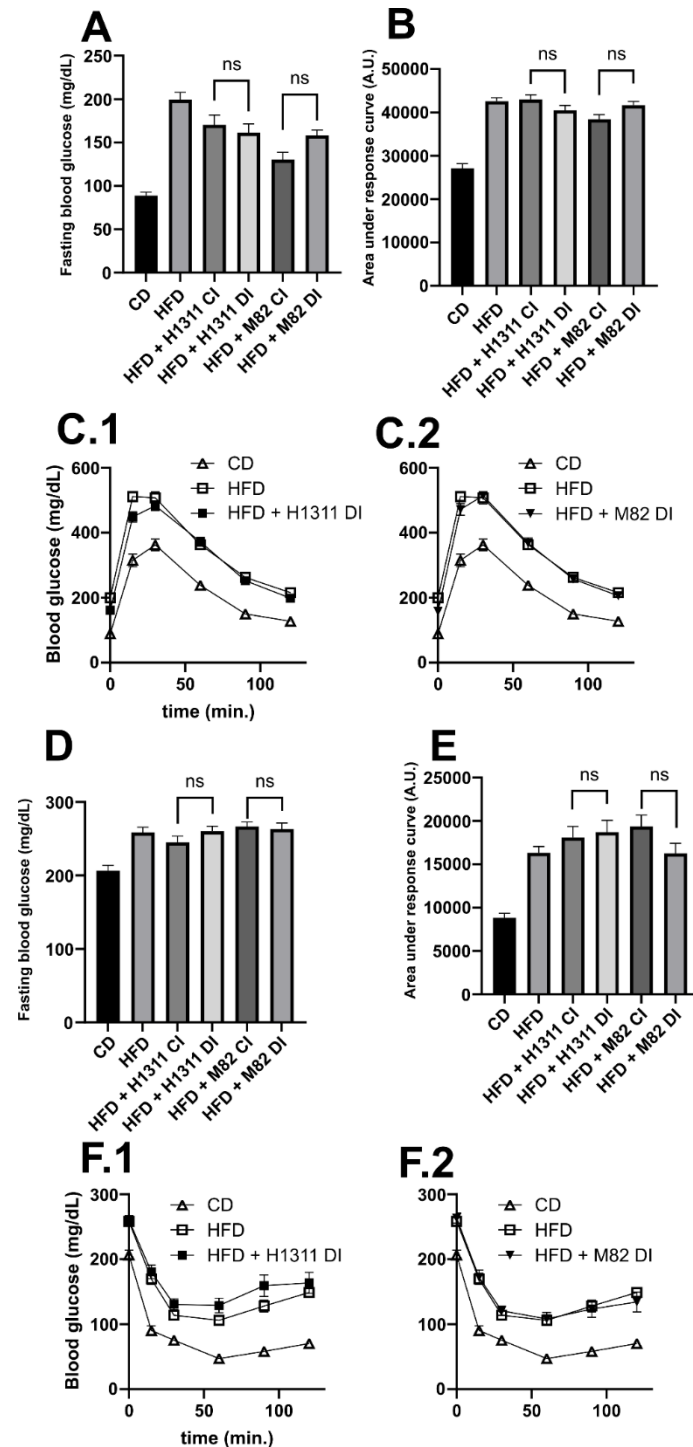
**Figure 4 – Impact of tomato powder supplementation on glucose homeostasis.** Overnight fasting blood glucose (A) and glucose levels during the oral glucose tolerance test (OGTT) (B1-B4) with the area under the glycemic response curve (AUC) (C). Six-hour fasting blood glucose (D) and glucose levels during the insulin tolerance test (ITT) (E1 – E4) with the AUC of the glycemic response curve (F). Values are presented as mean  $\pm$  SEM (n=10/group). CD = Control diet; HFD = High fat Diet. Letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ ) between groups, adjusted for multiple comparison with Benjamini Hochberg false discovery rate procedure.



**Figure 5 - Effect of tomato powder supplementation on morphological parameters, comparing control Irrigation (CI) and deficit irrigation (DI) production methods for H1311 and M82 genotypes.** Evolution of animal body weight during 12 weeks tomato supplementation (A) with description of final body weight (B) and body weight gain (C) before animal sacrifice. Food intake as quantity (D) and energy (E) was established. After sacrifice, several adipose tissue deposits were weighted (F,G,H) to characterize adiposity (I). Values are presented as mean  $\pm$  SEM (n=10/group, except for D and E where n = 6/group). CD = Control diet; HFD = High fat Diet. Stars indicate significant differences (ns = not significant, \*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01) between CI and DI groups for the same genotype, adjusted for multiple comparison with Benjamini-Hochberg false discovery rate procedure.



**Figure 6 - Impact of control irrigation (CI) and deficit irrigation (DI) production methods for H1311 and M82 genotypes on mice liver weight (A) and liver lipids (B) after 12 weeks supplementation.** Values are presented as mean  $\pm$  SEM (n=10/group). CD = Control diet; HFD = High fat Diet. Stars indicate significant differences (ns = not significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ) between CI and DI groups for the same genotype, adjusted for multiple comparison with Benjamini-Hochberg false discovery rate procedure.



**Figure 7 - Impact of tomato powder supplementation on glucose homeostasis, comparing control irrigation (CI) and deficit irrigation (DI) production methods for H1311 and M82 genotypes.** Overnight fasting blood glucose (A), with the area under the glycemic response curve (AUC) (B), and glucose levels during the oral glucose tolerance test (OGTT) (C.1, C.2). Six hour fasting blood glucose (D) with the AUC of the glycemic response curve (E) and glucose levels during the insulin tolerance test (ITT) (F.1, F.2). Values are presented as mean  $\pm$  SEM (n=10/group). CD = Control diet; HFD = High fat Diet. Stars indicate significant differences (ns = not significant, \*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ ) between CI and DI groups for the same genotype, adjusted for multiple comparison with Benjamini-Hochberg false discovery rate procedure.

## Discussion

The scope of this work was to evaluate the metabolic health benefits of tomato supplementation in a diet induced obesity mice model. Six different tomatoes were selected to offer a contrast in carotenoid content, among which two powders were produced from fruits growing under a deficit irrigation treatment. The work was focused on key obesity markers such as body weight gain after 12 weeks supplementation, adiposity index, liver lipids, glucose homeostasis and blood parameters after sacrifice. Therefore, we have shown that tomato supplementation had beneficial or neutral effects on the parameters evaluated and that the number and amplitude of improvement highly depended on the tomato genotype.

In both CI and DI treatments, H1311 tomato powder provided important amount of lycopene. H1311-DI supplemented mice consumed on average 10.9 mg/kg bw/day of lycopene (for a 30g mouse body weight), similar to what can be found in other rodent studies with lycopene supplementation (Zhu et al., 2020). Based on the benefits described from tomato lycopene supplementation in literature (Fenni et al., 2017; Luvizotto et al., 2013), we expected stronger metabolic health benefits for H1311 supplemented mice compared to the other tomato groups. Indeed, in our previous work, tomato powder supplementation or lycopene-rich beadlets alone both displayed similar beneficial health effects in obesity-associated pathologies (Fenni et al., 2017), suggesting a specific role of lycopene. Nevertheless, this high lycopene tomato provided few to no observable health benefits on HFD-fed mice, among phenotypic traits associated to obesity improvement such as body weight gain, adiposity index, fasting blood glucose, glucose/insulin tolerance and liver lipids. Differences observed in the outcome of this study and previous works studying supplementation of tomato powder or lycopene in a diet-induced obesity may arise from lycopene bioavailability related to the post-harvest treatment and production of tomato powders. In this study, tomato powder was produced with cryogrinding and freeze-drying as to limit heat treatment and maximize tomato powder likelihood with fresh product. In industrial processes of tomato powder production, the initial step consists to produce tomato concentrate via hot break or cold break process which strongly improve lycopene bioavailability in the final product (Page et al., 2012). Then, the drying step is typically produced by spray drying or by tunnel dryer that implies moderate to high heat treatment to remove water from fruit (Qiu et al., 2019). Heat treatment and air exposure is generally associated with carotenoid oxidation and loss (Durigon et al., 2016; Qiu et al., 2019). In the meantime, heat could change lycopene isomerization and increase its cis/Z configuration, which

is correlated to increased antioxidant capacity and bioavailability (Fenni et al., 2019; Toydemir et al., 2022). Overall, one could argue that different processing techniques used to produce tomato powder may change tomato powder health properties through different levers distributed all along the food processing chain (Toydemir et al., 2022). This last assumption will require further investigations.

The most efficient tomato genotype in terms of metabolic health effect was IL6-2-CI. In fact, a lower body weight gain, adiposity, fasting glycemia, liver lipids and improved glucose tolerance were observed for the IL6-2-CI supplemented group. It is noteworthy that this tomato was particularly rich in  $\beta$ -carotene compared with the other genotypes. Anti-obesogenic effect of  $\beta$ -carotene was previously suggested in both rodent and human studies (Amengual et al., 2011; Bonet et al., 2015; Coronel et al., 2022; Landrier et al., 2012; Marcelino et al., 2020), possibly through the BCO1-mediated cleavage and conversion of  $\beta$ -carotene to retinoic acid. In mature adipocytes, retinoic acid may increase fatty acid oxidation, mitochondriogenesis and thermogenesis while inhibiting adipocyte differentiation (Coronel et al., 2022; Tourniaire et al., 2009, 2015). It is also for this tomato genotype that *FABP5* and *SAA3* gene expression were particularly downregulated compared to the HFD group, suggesting improvement in fatty acid transport and metabolism and decrease of inflammation status as previously suggested (Coronel et al., 2022; Karkeni et al., 2017).

Two other tomato genotypes (M82-CI, IL12-4-CI) displayed beneficial effects on some parameters of animal metabolic health. Supplementation with M82-CI improved overnight fasting blood glucose, glucose tolerance and fatty liver compared to the HFD supplemented animals. IL12-4-CI supplemented animals displayed improved overnight fasting glycemia and improved fatty liver compared to the HFD supplemented animals. Despite slight amplitude of the observed health effects, it remains of interest in terms of health since fasting glycemia is related to type 2 diabetes or prediabetes (Shin et al., 2013) whereas lipid accumulation in the liver is a hallmark of non-alcoholic fatty liver disease (Seebacher et al., 2020) which also represents a major challenge for public health.

Overall, these results suggested that the tomato genotype and the associated phytochemical cocktail had a significant consequence on metabolic health in obesity-induced mice model. It has been reported that cultivation method and genetics can have an impact on tomato carotenoids and other fruit compounds (Kuti & Konuru, 2005) and health effects of fruit consumption may result from a complex interaction among compounds, that remains poorly

understood. While the tomato genotypes have been selected here for their contrast in carotenoid content, other phytochemicals beyond carotenoids included in the fruit matrix may participate in health properties. For example, chlorogenic acid was also present in doses ranging from 42.2 mg per kg<sup>-1</sup> for IL12-4-CI tomato powder to 153.6 mg per kg<sup>-1</sup> for M82-CI tomato powder. Chlorogenic acid has been identified as a putative candidate for body weight reduction and regulation of lipid metabolism (Cho et al., 2010; X. He et al., 2021). Similarly, among carotenoids, lutein has been identified to improve metabolic health in diet induced mice obesity model (Gopal et al., 2023), even if it is noteworthy that lutein contribution to total carotenoid content of tomato powders is limited (Table 2). The fact that IL6-2-CI, a  $\beta$ -carotene rich tomato, was associated to highly improved health status of animals compared with HFD animals, but presented a low chlorogenic or low total carotenoid content compared with other tomato genotypes (Table 1, Fig. 7), suggests that the high  $\beta$ -carotene content of IL6-2-CI may have a causal link to its health properties observed, probably through provitamin A mediated effects.

In a global heating context, an increase of soil drought frequency and intensity can be expected, particularly for Mediterranean crops like tomatoes, resulting in lower yields (Cammarano et al., 2022). However, practices such as deficit irrigation could improve the overall quality of agricultural produce, which may compensate for the loss of yield. Data from literature suggested an increase of fruit carotenoids and/or other health related compounds under DI effect compared with fruits grown under CI condition (Hou et al., 2020; Lu et al., 2021; Martí et al., 2018; Ripoll et al., 2014). In this context, the two tomato genotypes tested under DI treatment (H1311-DI, M82-DI) were expected to improve metabolic health compared with their respective powders tested under CI (H1311-CI, M82-CI). Our results suggest that given a genotype, the phenotype of DI supplemented animals did not differ significantly from the CI supplemented animals (Fig. 5, 7), except for the liver mass. The lack of discrepancy between CI and DI for a given genotype could be due to the relative low difference in terms of carotenoids content supplied to the mice (Table 1). H1311-DI supplemented mice displayed significantly increased liver mass, while the lipid content significantly decreased compared with H1311-CI supplemented mice (Fig. 6). Without reaching statistical significance, the same pattern of liver weight increases and liver lipid decrease was observed for M82-DI supplemented animals compared to M82-CI. Considering that this pattern is only discernible regarding the liver, it is hard to relate the underlying phenomena to other animal traits and tomato characteristics. The origin of such phenotype is presently not understood and the

identification of the underlying mechanisms will require further investigation. Nevertheless, it is worth noting that even if the DI did not improve metabolic health of animals, it did not mediate detrimental effects on measured parameters, suggesting that the nutritional quality of tomatoes was preserved, especially for the M82 tomato that still displayed reduced fasting glycemia and liver lipid content.

To summarize, the impact of 12 weeks tomato powder supplementation on metabolic phenotype on a male mice model of diet induced obesity showed varying metabolic outcomes between the different tomato genotypes tested. The high total carotenoids/high lycopene content tomato powder improved the animal's phenotype to a limited extent compared to the animals supplemented with a low total carotenoids/high  $\beta$ -carotene content. In addition, our data suggested for the first time that given a genotype, deficit irrigation did not provide a significant change on fruit health properties, but had reciprocally no major detrimental effect in terms of health effect. These experimental results highlighted the importance of tomato genotype and possibly tomato powder production process, which are too often overlooked in clinical or preclinical supplementation trials.

#### **Credit authorship contribution statement**

**Thomas Breniere:** Formal analysis, Investigation, Visualization, Writing – Original Draft, Writing – Review and Editing. **Lorraine Bournot:** Investigation. **Flavie Sicard:** Investigation. **Julien Astier:** Resources, Validation. **Anne-Laure Fanciullino:** Conceptualization, Writing - Original Draft, Funding acquisition. **Catherine Riva:** Funding acquisition. Original Draft Review & Editing. **Patrick Borel:** Writing - Review & Editing. **Nadia Bertin:** Conceptualization, Writing - Original Draft, Funding acquisition. **Jean-François Landrier:** Conceptualization, Investigation, Supervision, Project administration, Funding acquisition, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing.

#### **Declaration of competing interest**

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### **Funding**

This work was funded by an ANR research grant (ANR-20-CE21-0010; TomHealth). TomHealth is part of the PRIMA program supported by the European Union. T. Breniere was



supported by a Ph.D. Fellowship from the TERSYS Federative Research Structure (Avignon University, France). J-F Landrier was supported by INRAE, INSERM and AMU.

### **Acknowledgements**

Thanks go to the CEFOS team for their assistance and participation in the animal experiment.

## **Section 2**

### **Effets d'une supplémentation en baie de goji issues de lots contrastés (traitement post-récolte, déficit hydrique) dans un modèle d'obésité induite chez la souris mâle C57BL/6JRj**

#### **Matériel et méthodes**

En dehors de l'aliment testé incorporé dans les croquettes, le matériel et méthodes de cette section est partagé avec celui de la section précédente. Le protocole connaît la modification suivante : la prise alimentaire est évaluée à une reprise en semaine 6.

*Choix des lots de baie de goji à incorporer dans l'aliment.*

Les fruits proviennent de la serre et sont issus des mêmes lots de fruits décrits dans la section 2 du chapitre 2 (Figure 28). A défaut d'avoir les données complètes de composition au moment de démarrer la supplémentation, nous avons fait l'hypothèse que les fruits prétraités à la vapeur puis séchés seraient plus contrastés avec les fruits frais que les fruits séchés sans le prétraitement à la vapeur. Ce contraste pourrait résulter d'une exposition à des températures élevées, qui inhiberait le fonctionnement des enzymes de dégradation telles que la polyphénol oxydase et la peroxydase. Cette exposition affecterait également l'intégrité et la composition des parois cellulaires, ainsi que la composition et l'isomérisation de microconstituants comme les caroténoïdes et les polyphénols (Reis, 2017; Xiao et al., 2017). Ces facteurs sont en interaction, puisqu'on peut supposer que la rupture des parois végétales sous l'effet de la chaleur pourrait améliorer la bioaccessibilité des caroténoïdes (Ke et al., 2022; Thakur et al., 2020). Ainsi, dans un souci de limiter le nombre de groupes expérimentaux et pour évaluer l'effet du déficit hydrique et du traitement post-récolte sur les effets métaboliques de la baie de goji, nous avons testé la supplémentation avec 4 lots de fruits incorporés à 5% massique dans les croquettes des animaux alimentés sous régime HFD : les fruits issus d'une irrigation témoin (CI) ou déficitaire (DI) pour les deux traitements « frais lyophilisés » (F) ou « fruits prétraités à la vapeur (1min30) puis séchés (4,5 j à 45 °C) et lyophilisés » (V). La valeur énergétique des baies de goji séchées est estimée à 338,7 kcal 100 g<sup>-1</sup> (moyenne de 24 lots alimentaires de baies de gojis séchées disponibles dans le commerce, données non communiquées).

## Résultats

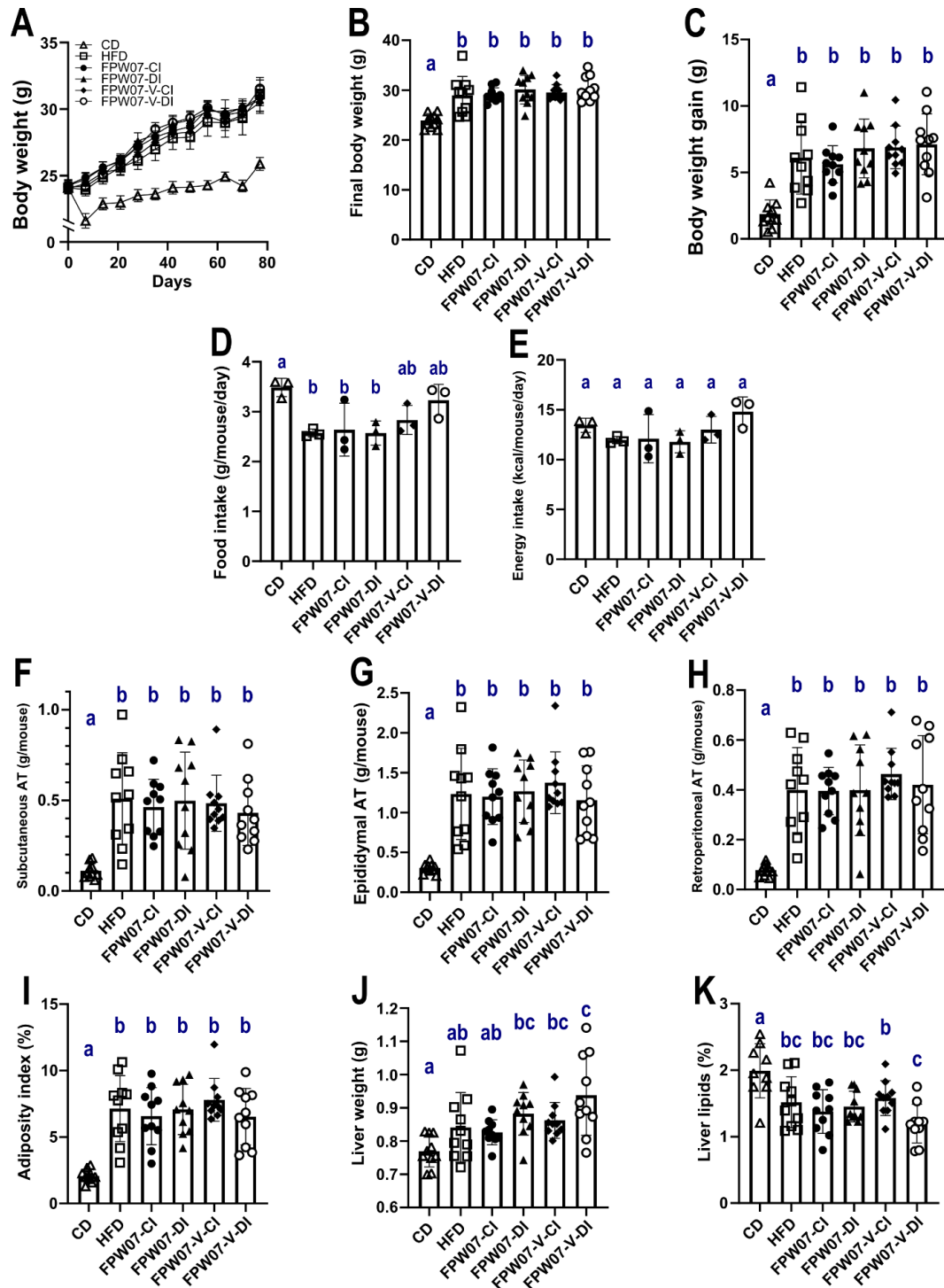
### *Paramètres morphométriques*

Les animaux sous régime HFD, supplémentés ou non en goji ont vu leur masse totale augmenter significativement par rapport aux animaux contrôle à l'issue des 12 semaines de supplémentation (Figure 31A, 31B, 31C). La masse des animaux a augmenté de +20% en moyenne entre les animaux CD et tous les animaux HFD supplémentés ou non en goji après 12 semaines. En effet, il n'y a pas de différence significative sur la masse des animaux ou la prise de masse entre les animaux alimentés en HFD supplémentés ou non en goji (Figure 31).

Nous avons observé une tendance à la baisse ou une baisse significative de la prise alimentaire quantitative (Figure 31D) pour tous les animaux alimentés en HFD supplémentés ou non en goji comparé au groupe contrôle. En revanche, nous n'avons pas observé de différence significative de prise alimentaire observée entre tous les groupes d'un point de vue calorique (Figure 31E). La prise de masse totale a été en partie expliquée par une prise de masse grasse dans le tissu adipeux sous-cutané (Figure 31F), épидидymaire (Figure 31G) et rétropéritonéal (Figure 31H). L'index d'adiposité des animaux a été multiplié par 3,5 en moyenne à l'abattage pour tous les animaux alimentés en HFD supplémentés ou non en goji comparé au groupe contrôle. Nous avons observé une tendance à l'augmentation ou une augmentation significative de la masse du foie (Figure 31J), et une tendance à la diminution ou une diminution significative de la teneur en lipides du foie (Figure 31K) pour tous les animaux alimentés en HFD supplémentés ou non en goji comparé au groupe contrôle.

### *Homéostasie glucidique*

L'alimentation des animaux avec les régimes HFD a provoqué une augmentation de la glycémie à jeun des animaux après un jeûne de 12h (OGTT, +35% en moyenne) ou de 6h (ITT, +50% en moyenne) par rapport aux animaux du groupe contrôle (Figure 32A, 32D). Quelle que soit la durée du jeûne, il n'y a pas eu de différence statistiquement significative dans la glycémie à jeun entre les groupes HFD supplémentés ou non en goji (Figure 32A, 32D). Il en a été de même pour l'aire sous la courbe des tests métaboliques traduisant un pic glycémique plus important (OGTT) et une résistance à l'insuline (ITT) chez les souris des groupes HFD supplémentés ou non en goji par rapport aux animaux du groupe contrôle (Figure 32C, 32F).



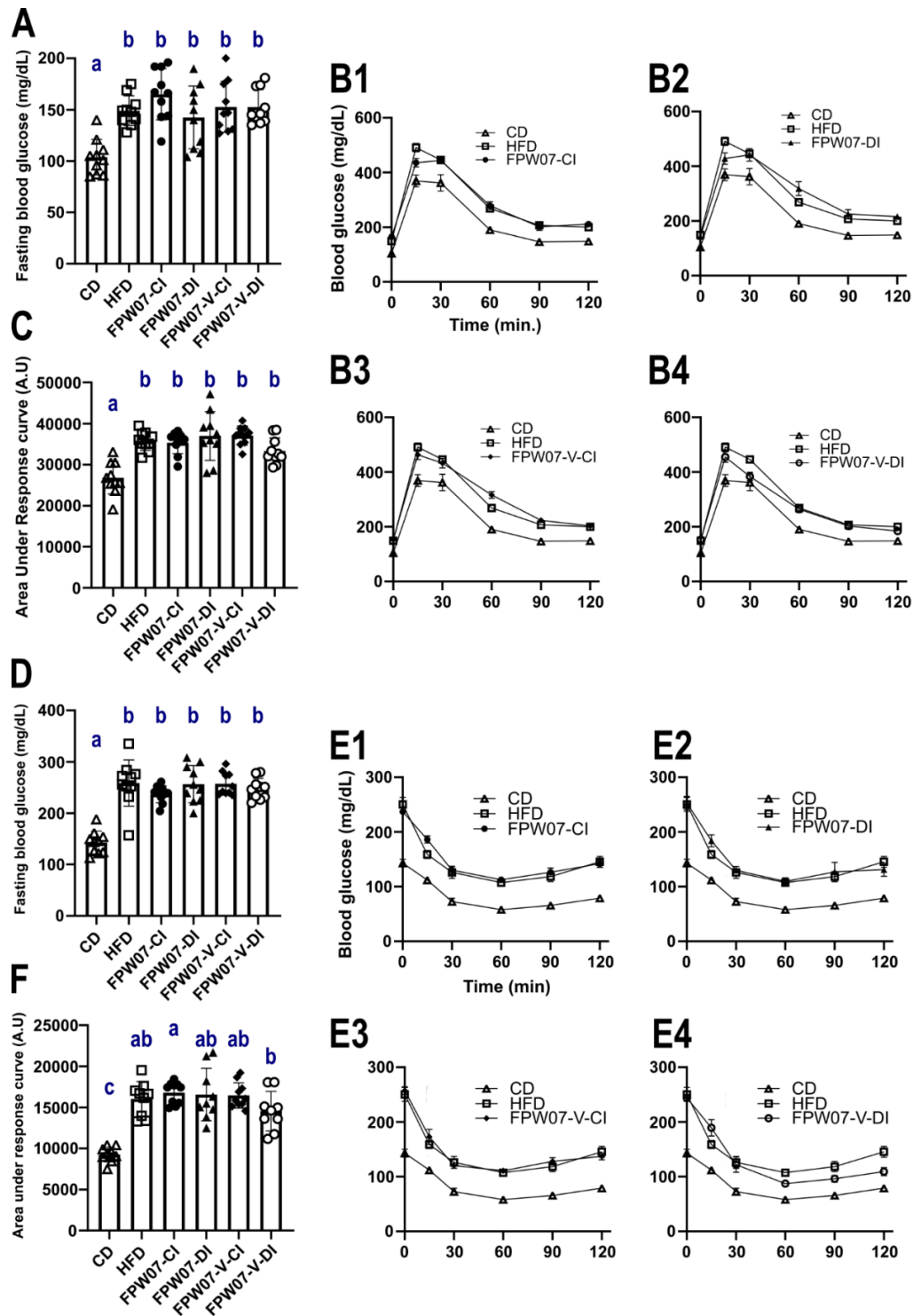
**Figure 31 – Paramètres morphométriques des animaux et prise alimentaire.** (A) Evolution de la masse pendant les 12 semaines de supplémentation. (B) Masse des animaux avant sacrifice. (C) Prise de masse pendant les 12 semaines de supplémentation. Prise alimentaire quotidienne quantitative (D) et énergétique (E). Après sacrifice, masse du tissu adipeux sous-cutané (F), épидидymal (G), rétro-péritonéal (H) pour la caractérisation de l'index d'adiposité (I). Masse du foie des animaux (J) et teneur en lipides du foie (K). Moyenne +/- écart-type.

### Expression génique

Les niveaux d'expression relative des gènes étudiés dans un contexte d'alimentation obésogène supplémentée ou non en baie de goji suggèrent des changements inflammatoires et métaboliques dans le foie et le TAE (Tableau 8). Pour le TAE, nous avons observé globalement une augmentation tendancielle ou significative des niveaux d'expression de MCP1, TNF $\alpha$ , IL-6 et Adiponectine (ADIPOQ) pour les animaux supplémentés en HFD. Pour le foie, nous avons observé une diminution tendancielle ou significative des gènes CPT1, ACO, FAS, ACC pour les animaux des groupes HFD supplémentés ou non en goji par rapport aux animaux du groupe contrôle.

**Tableau 8. Expression relative d'ARNm dans le tissu adipeux épидидymaire (TAE) et le foie.** CD : Régime contrôle ; HFD : Régime « high-fat / high sucrose » ; HFD + FPW07-CI : Régime HFD supplémenté en poudre de goji FPW07 produit sous irrigation contrôle et lyophilisé ; HFD + FPW07-DI : Régime HFD supplémenté en poudre de goji FPW07 produit sous déficit hydrique et lyophilisé ; HFD + FPW07-V-CI : Régime HFD supplémenté en poudre de goji FPW07 produit sous irrigation contrôle, traité à la vapeur puis séché et lyophilisé ; HFD + FPW07-V-DI : Régime HFD supplémenté en poudre de goji FPW07 produit sous déficit hydrique, traité à la vapeur puis séché et lyophilisé. Moyenne  $\pm$  erreur standard.

Organe	Gène	Régime alimentaire					
		CD	HFD	HFD + FPW07-CI	HFD + FPW07-DI	HFD + FPW07-V-CI	HFD + FPW07-V-DI
<b>TAE</b>	MCP1	100 $\pm$ 21 c	404 $\pm$ 70 b	504 $\pm$ 59 ab	446 $\pm$ 65 b	555 $\pm$ 93 ab	721 $\pm$ 98 a
	TNF $\alpha$	100 $\pm$ 17 c	226 $\pm$ 33 bc	224 $\pm$ 44 bc	184 $\pm$ 28 bc	277 $\pm$ 53 ab	422 $\pm$ 81 a
	IL-6	100 $\pm$ 23 a	230 $\pm$ 39 a	216 $\pm$ 31 a	161 $\pm$ 28 a	197 $\pm$ 26 a	193 $\pm$ 36 a
	Adiponectin	100 $\pm$ 19 b	100 $\pm$ 18 b	156 $\pm$ 16 ab	169 $\pm$ 23 ab	182 $\pm$ 23 a	173 $\pm$ 22 ab
<b>Foie</b>	CPT1	100 $\pm$ 21 a	70 $\pm$ 15 a	92 $\pm$ 14 a	70 $\pm$ 5 a	80 $\pm$ 5 a	95 $\pm$ 14 a
	ACO	100 $\pm$ 24 a	55 $\pm$ 10 b	47 $\pm$ 8 b	42 $\pm$ 4 b	51 $\pm$ 3 b	60 $\pm$ 8 ab
	FAS	100 $\pm$ 21 a	75 $\pm$ 19 ab	33 $\pm$ 7 bc	31 $\pm$ 5 c	40 $\pm$ 6 bc	49 $\pm$ 7 bc
	ACC	100 $\pm$ 17 a	41 $\pm$ 9 b	35 $\pm$ 4 b	33 $\pm$ 4 b	36 $\pm$ 3 b	56 $\pm$ 12 b



**Figure 32 - Impact de la supplémentation en poudre de goji issu du génotype FPW07 sur l'homéostasie glucidique.** Glycémie après 12h de jeûne (A) et évolution de la glycémie pendant le test de tolérance au glucose (OGTT) (B1 à B4). Aire sous la courbe de glycémie de l'OGTT (C). Glycémie après 6h de jeûne (D) et évolution de la glycémie pendant le test de tolérance à l'insuline (ITT) (E1 à E4). Aire sous la courbe de glycémie de l'ITT (F). CI : Irrigation contrôle ; DI : déficit hydrique ; V : fruits prétraités à la vapeur puis séchés. Pour A, C, D, F : moyenne  $\pm$  écart-type. Pour B1-B4 et E1-E4 : moyenne  $\pm$  erreur type.

## Discussion

Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de différents traitements d'irrigation (contrôle, déficit hydrique) et de traitements post-récolte (frais lyophilisé, prétraitement à la vapeur séché et lyophilisé) sur le bénéfice santé associé à la supplémentation en poudre de baie de goji dans un contexte d'obésité induite chez la souris. Dans l'ensemble, nous avons pu remarquer que les animaux ont répondu au régime à haute teneur en lipides et saccharose, ce qui a diminué le statut de santé des animaux à plusieurs niveaux : masse corporelle et indice d'adiposité élevés, persistance du glucose et résistance à l'insuline dans les tests métaboliques ainsi que l'altération des niveaux d'expression des gènes en lien avec l'inflammation et le métabolisme des lipides.

Concernant l'effet d'une supplémentation en goji, peu de différences ont été constatées entre les animaux alimentés en HFD seul des animaux supplémentés en HFD + goji. Globalement, cela a suggéré que dans le contexte de cette étude, la supplémentation en baie de goji n'a pas ou peu amélioré la santé des animaux. Par ailleurs, ni le déficit hydrique ni le prétraitement à la vapeur n'ont provoqué des améliorations ou dégradation du statut de santé des animaux sur les différents paramètres évalués, alors que la quantité de microconstituants supplémentée aux animaux pouvait être contrastée entre les groupes expérimentaux (Chapitre 3, Tableau supplémentaire 1). Dans un contexte associé à l'obésité, la prévalence de la stéatose hépatique non alcoolique (NAFLD) augmente (Feillet-Coudray et al., 2019). Dans cette pathologie, le foie accumule massivement des lipides, provoquant une altération de la fonction hépatique. Ici, l'augmentation du poids du foie n'était pas associée à une augmentation des lipides du foie (Figure 31J, 31K). Les animaux alimentés au régime HFD sans goji avaient une masse de foie non significativement différente, mais une teneur en lipides significativement réduite comparée aux animaux du groupe CD. Les animaux qui avaient la masse de foie la plus élevée à l'abattage (groupe supplémenté en goji issu du déficit hydrique prétraité à la vapeur puis séché : FPW07-V-DI) avaient également les foies avec des teneurs en lipides totaux les plus faibles. Par ailleurs, les teneurs en lipides du foie mesurées ont semblé être relativement basses pour cet organe, malgré un protocole expérimental commun à la section précédente (Figure 31K). Ces résultats sont difficiles à comprendre et à expliquer en l'absence de données supplémentaires.

La réponse génique au niveau du TAE et du foie suggère une réponse inflammatoire accrue, typique de l'obésité (Table 3). Les niveaux d'expression de MCP1, TNF $\alpha$  et IL-6 plus élevés chez les souris alimentées en HFD suggèrent une réponse inflammatoire dans le tissu. Ici, les

niveaux d'expression de l'adiponectine (ADIPOQ) étaient différents d'une réponse typique liée à l'obésité. Cela pourrait être expliqué par la prise de masse grasse des animaux HFD qui reste faible à l'issue des 12 semaines, malgré la significativité de cette prise de masse par rapport au groupe CD. Pour le foie, la diminution significative du niveau d'expression de ACO et diminution tendancielle du niveau d'expression de CPT1 pour les animaux HFD supplémentés ou non en goji par rapport aux animaux contrôle suggère une capacité réduite à oxyder les acides gras, ce qui a pu entraîner une accumulation de lipides dans le foie. La réduction des niveaux d'expression de FAS et ACC suggère aussi une potentielle diminution de la capacité à synthétiser de nouveaux acides gras. Dans l'ensemble, ces changements dans les niveaux d'expression des gènes suggère un changement de métabolisme provoqué par le régime HFD. Sauf exceptions, les différents régimes associés au goji n'ont pas semblé présenter de différences majeures de niveaux d'expression des gènes ciblés comparativement au groupe HFD sans goji.

Par ailleurs, si la santé des animaux a été ici décrite à l'échelle du phénotype et du niveau d'expression de quelques gènes en lien avec l'obésité, on peut supposer qu'une partie des effets-santé associés à la consommation de goji est passée par des changements pouvant être observés à plus long terme et causé par des mécanismes biologiques impliqués à différentes échelles. On peut citer par exemple des interactions avec le microbiote. En effet, les effets-santé des baies de goji ont été partiellement étudiés et plusieurs travaux ont rapporté un effet protecteur vis-à-vis de l'homéostasie glucidique (Yao et al., 2018) qui semble en partie lié aux polysaccharides (Luo et al., 2004), et est très probablement imputable à un effet qui repose sur le microbiote (Gao et al., 2021; Yang et al., 2021). Par exemple, sur un modèle d'obésité induite chez la souris, les polyphénols pro-anthocyaniques et anthocyaniques de la myrtille (*Vaccinium ashei* « Tifblue » et *Vaccinium corymbosum* « Rubel ») supplémentés aux animaux à hauteur de 4% massique de leur alimentation ont montré une diminution de la prise de masse et une amélioration de la sensibilité à l'insuline et qu'une partie de ces effets étaient attribuables à une modulation du microbiote des animaux (Morissette et al., 2020). À notre connaissance, les fruits matures du génotype FPW07 ne contiennent pas ou peu d'anthocyanes. Des effets-santé en lien avec l'homéostasie glucidique pourraient néanmoins émerger en lien avec des composés qui inhiberaient l'activité des enzymes qui hydrolysent les glucides, que ce soit l' $\alpha$ -amylase pancréatique ou l' $\alpha$ -glucosidase intestinale. L'inhibition de l'activité de ces enzymes par des composés du goji réduirait le clivage des oligosaccharides et disaccharides en monosaccharides,



ce qui participerait à réduire le relargage de glucose dans l'organisme et le pic de glycémie associé à la supplémentation (Wojdyło et al., 2018). Ces effets pourraient être caractérisés. En complément, la caractérisation de la perméabilité intestinale et de la composition du microbiote ( $\alpha$ ,  $\beta$  diversité) des animaux est envisagée dans des travaux supplémentaires dans le cadre du projet Gojiqual. Ces indicateurs permettront d'envisager d'autres effets de la supplémentation en baie de goji pouvant se répercuter sur la santé des animaux à plus long terme qu'à l'échelle des 12 semaines de supplémentation. On peut également supposer qu'une partie des différences observées avec la littérature provient de variations liées à d'autres facteurs en lien avec la composition et la qualité de la matrice étudiée : aliment complet ou purifié, conditions de production et génotype de goji utilisé, etc. L'effet de ces facteurs sur la qualité nutritionnelle et la valeur santé des aliments a été discuté dans les chapitres précédents.

En conclusion, nos résultats expérimentaux n'ont pas pu mettre en évidence un effet bénéfique majeur d'une supplémentation en goji sur les paramètres morphométriques et géniques étudiés dans un modèle murin d'obésité induite. Ces résultats invitent à prendre en compte d'autres paramètres pouvant être impliqués dans la santé à plus long terme (microbiote) dans un contexte d'obésité, mais également à tester d'autres génotypes de gojis cultivés dans des conditions similaires. Une approche comparative entre une supplémentation avec la baie de goji complète issue d'un autre cultivar ou avec des polysaccharides extraits du fruit pourrait être envisagée. De plus, l'impact de doses de supplémentation plus importantes pourrait être envisagé. En revanche, cela pourrait signifier de travailler avec des ingrédients transformés trop éloignés du produit frais ou de travailler avec des doses alimentaires dépassant celles habituellement considérées comme physiologiques.

### Faits marquants du chapitre 3

- Pour la tomate, nous avons observé des effets anti obésogènes sur des animaux supplémentés à hauteur de 5% de leur alimentation, avec **des améliorations des paramètres morphométriques et métaboliques multiples et significatives particulièrement marqués pour les fruits riches en  $\beta$ -carotène**, mais pas nécessairement pour ceux riches en lycopène et/ou en caroténoïdes totaux.
- Si ces effets ont été largement dépendants du génotype et donc du cocktail de microconstituants des fruits, le déficit hydrique n'a pas semblé être un facteur majeur pour la modulation des effets-santé dans ces conditions expérimentales
- Peu d'effets-santé ont été observés pour la supplémentation en baie de goji dans ce contexte.

# **Chapitre 4**

**Modulation de la fonction  
vasculaire par supplémentation  
aiguë en tomate ou goji chez le  
rat hyperglycémique**

## **Modulation de la fonction vasculaire par supplémentation aiguë en tomate ou goji chez le rat hyperglycémique**

Thomas Breniere<sup>1,2,3</sup>, Gregory Meyer<sup>1</sup>, Léna Petit<sup>1</sup>, Doria Boulghobra<sup>1</sup>, Anne-Laure Fanciullino<sup>4</sup>, Nadia Bertin<sup>3</sup>, Jean-François Landrier<sup>2,4</sup>, Catherine Riva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Avignon Université, UPR4278 LaPEC, Avignon, France.

<sup>2</sup> Aix-Marseille Université, C2VN, INRAE, INSERM, 13000, Marseille, France.

<sup>3</sup> Plantes et Systèmes de cultures Horticoles (UR 1115, PSH), INRAE, F-84000 Avignon, France.

<sup>4</sup> PhenoMARS, CriBiom, Marseille, France.

<sup>5</sup> IRHS, Université d'Angers, INRAE, Institut Agro, F-49071, UMR1345, Beaucouzé, France.

### **Introduction**

L'hyperglycémie chronique, caractéristique du diabète, est souvent associée à une dysfonction endothéliale, un trouble majeur dans la régulation de la vasodilatation et de la pression artérielle (Brownlee, 2001; Gero, 2017; Gutterman, 2002; Loader et al., 2015). Cette dysfonction endothéliale semble dépendre largement de l'altération de la voie de l'oxyde nitrique (NO), un puissant vasodilatateur produit par les cellules endothéliales (Förstermann & Münzel, 2006). En effet, l'excès de glucose dans le sang peut entraîner une production accrue de radicaux libres de l'oxygène (ROS), compromettant ainsi la fonction du NO (Incalza et al., 2018). À long terme, le dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire par l'hyperglycémie peut provoquer l'athérosclérose et contribuer aux maladies cardiovasculaires (Loader et al., 2015). Dans ce contexte, des effets protecteurs à long terme sur la fonction endothéliale liés aux microconstituants antioxydants au sens large (caroténoïdes, flavonoïdes, acide ascorbique ou vitamines C/E) pouvant être apportés par l'alimentation semblent avoir été identifiés (Chanet et al., 2012; Dal & Sigrist, 2016; Montero et al., 2014; Yamagata, 2017). À ce titre, les polyphénols et caroténoïdes contenus dans les fruits et légumes sont associés à la régulation de la fonction endothéliale et la prévention de l'inflammation et des maladies cardiovasculaires (Bielli et al., 2015; Pietro et al., 2016; Siti et al., 2015; Wolak & Paran, 2013; Yamagata et al., 2015). Entre les années 2000 et 2021, 16 études cliniques déclarées se sont intéressées au rôle des caroténoïdes dans la fonction vasculaire et endothéliale (Martini et al., 2022). En revanche, peu de données sont disponibles concernant d'éventuels effets à court terme liés à des effets

médiés par la neutralisation des ROS par les antioxydants exogènes biodisponibles apportés par une matrice alimentaire riche en ces microconstituants. Pourtant, dans un contexte de stress oxydant causé par l'hyperglycémie, on peut supposer que ces effets pourraient exister (Ceriello et al., 2007; Fiorentino et al., 2013; Vincent et al., 2005). Dans ce contexte, la tomate et la baie de goji riches en caroténoïdes et polyphénols, semblent être de bons candidats pour tester des effets d'une supplémentation aiguë sur la réponse vasculaire dans un contexte d'hyperglycémie (Murillo & Fernandez, 2016; Yamagata, 2017; Zhu et al., 2020). s

L'objectif de ces travaux est donc d'évaluer l'effet d'une supplémentation aiguë en suspension de fruits (tomate, baie de goji) riches en antioxydants mais contrastés en termes de matrice. Pour répondre à ces questions, nous avons, sur un modèle de rats hyperglycémisés, (i) étudié l'effet de la tomate et de la baie de goji sur la fonction vasculaire et (ii) comparé le pouvoir antioxydant des extraits de tomate et de baie de goji et leur effet sur la fonction vasculaire.

## Matériels et méthodes

### *Choix des aliments*

La capacité antioxydante hydrophile de tous les fruits frais issus ou non du déficit hydrique a été évaluée par un test H-ORAC exprimé en équivalent Trolox (Figure 33). Ce test a été effectué sur un échantillon de fruit cryobroyé et décongelé, à la consistance d'une purée. Le détail analytique a été précisé dans le matériel et méthodes du chapitre 2, section 1. À l'issue de ce test ont été retenus pour la supplémentation des animaux des matrices ayant la capacité antioxydante hydrophile la plus élevée chez le goji et la tomate. Cela correspond aux fruits du génotype FPW07 issus de l'irrigation contrôle (FPW07-Control,  $4,32 \pm 0,03 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$  fruit) et aux fruits de tomate du génotype IL6-2 issus de l'irrigation déficitaire (IL6-2-Drought,  $1,98 \pm 0,09 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$  fruit). Par ailleurs, la capacité antioxydante lipophile (L-ORAC) n'a pas été évaluée dans cet essai dû à des difficultés pour solubiliser les caroténoïdes d'intérêt du goji avec le solvant habituellement utilisé au laboratoire pour ces analyses comme le diméthyl sulfoxyde (DMSO) (Kurilich et al., 2002). En revanche, d'après les données de la littérature disponibles sur des matrices similaires (tomate ou goji), on peut estimer que la valeur de L-ORAC est environ de 2% à 50% de la valeur du H-ORAC (Chapitre 4, Figure supplémentaire 1). On peut donc supposer que la plus grande partie de la capacité antioxydante de l'aliment a été caractérisée par le H-ORAC.

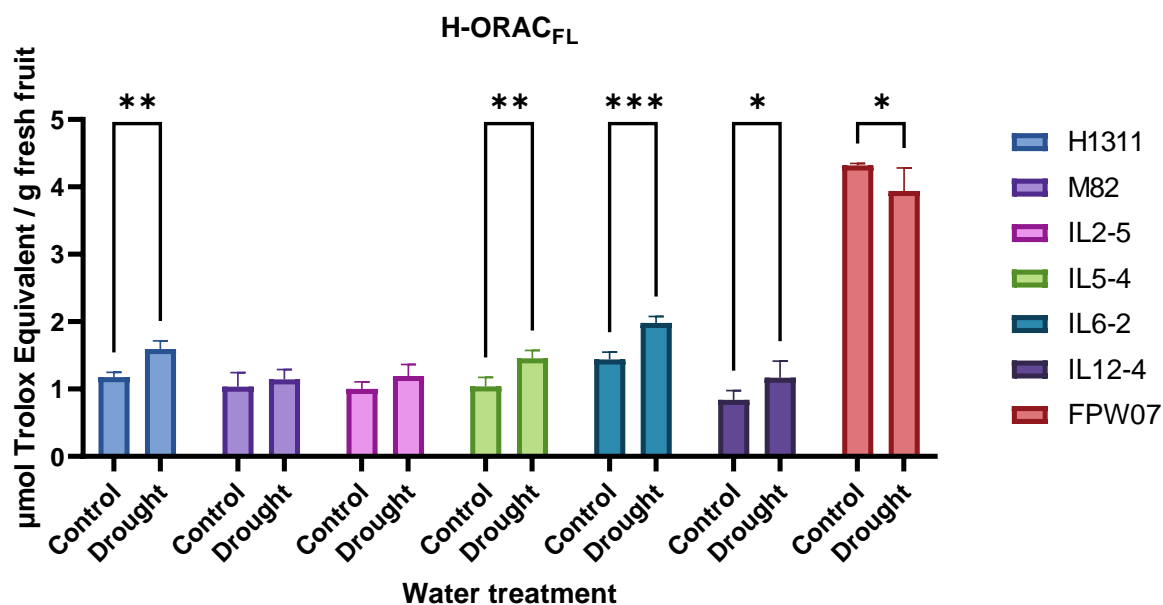


Figure 33 - Capacité antioxydante évaluée par H-ORAC exprimée en équivalent Trolox par gramme de fruit frais cryobroyé de tomate (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et de goji (FPW07) pour les fruits issus de plantes exposées à une irrigation contrôlée (Control) ou un déficit hydrique (Drought). L'effet du génotype et du traitement hydrique a été évalué par une ANOVA à deux facteurs. Au sein du même génotype, une différence entre les deux traitements hydriques a été évaluée par un test post-hoc LSD de Fisher, dont la p-valeur a été ajustée pour tenir compte des comparaisons multiples par la procédure de Benjamini-Hocberg. Des étoiles indiquent des différences ajustées significatives (\*\*\*,  $p < 0.001$  ; \*\*,  $p < 0.01$  ; \*,  $p < 0.05$ ).

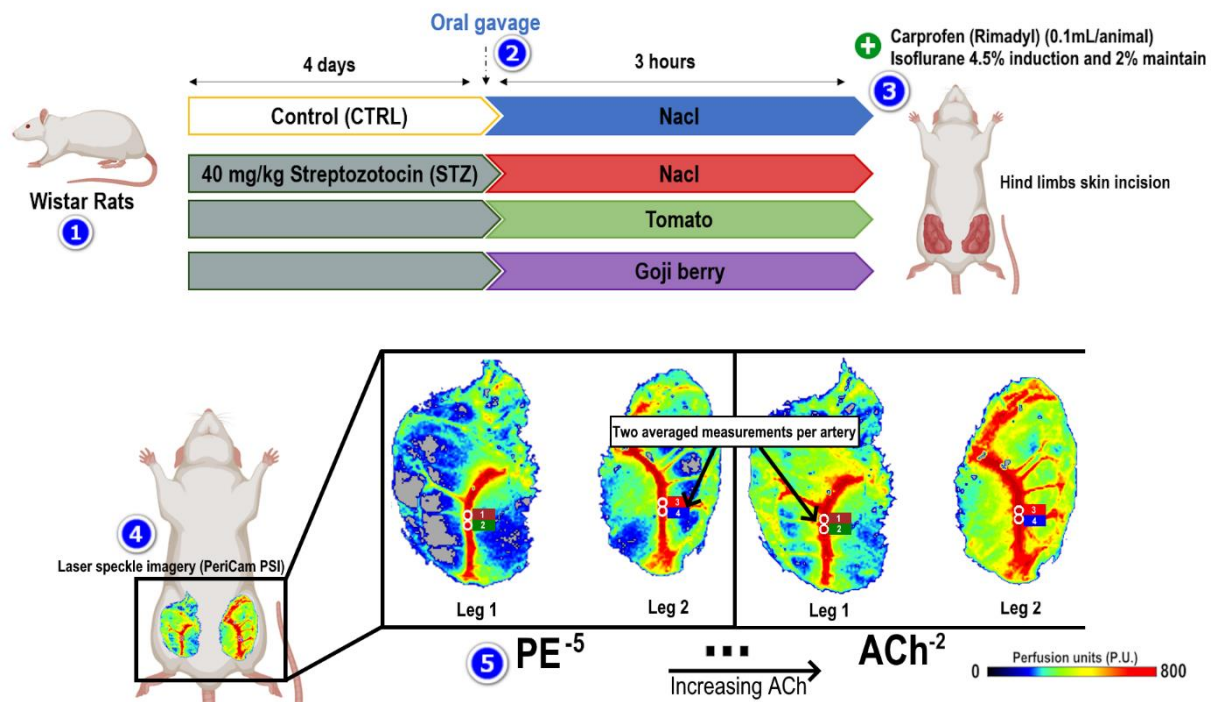
#### Populations et design expérimental

Des rats Wistar (Janvier, Le Genest-Saint-Isle, France) mâles âgés d'environ 8 semaines (350-375 g,  $n = 36$ ) ont été stabulés pendant une semaine après leur arrivée, afin de s'acclimater à leurs conditions d'hébergement. Les rats ont été hébergés en cages de 3 individus avec un enrichissement du milieu (tubes, bâtons à ronger). L'environnement des animaux a été contrôlé dans des conditions constantes de température ( $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) et d'humidité ( $55 \pm 5\%$ ) avec des cycles jour/nuit de 12 heures et un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture (aliment standard, A04, SAFE, France). Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées en accord avec le comité d'éthique de la recherche local (CEEA n°14) et le ministère français de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation pour l'utilisation des animaux de laboratoire (n° autorisation APAFIS #39875-2022120115029584). Après l'acclimatation, les rats ont été pesés et répartis en deux groupes : contrôle sain (CTRL ;  $n = 9$ ) ou hyperglycémique ( $n = 27$ ). L'hyperglycémie a été induite par une injection unique de streptozotocine (STZ) en intrapéritonéal à  $40 \text{ mg kg}^{-1}$  dans un tampon citrate à pH 4.5, induisant la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans et ayant pour conséquence l'augmentation significative de

la glycémie dès 48h après l'injection comme relaté par plusieurs études (Fabian & Kent, 2012; Grandperrin et al., 2023; Punithavathi et al., 2011; Quast et al., 1997). Après une période de surveillance de 4 jours, les animaux STZ qui ont présenté une diminution de leur masse journalière trop importante (>20% de leur masse corporelle) ou qui ont présenté d'autres paramètres comportementaux anormaux (apparence générale, comportement) ont été sacrifiés précocement en accord avec une grille d'évaluation de la douleur soumise au comité d'éthique. A l'issue des 4 jours de surveillance, les animaux ont été mis à jeun 12h pour normaliser la prise alimentaire puis répartis en quatre groupes expérimentaux (Figure 34). Un premier groupe contrôle (CTRL ; n = 9), ainsi qu'un deuxième groupe composé des animaux traités à la streptozotocine, ont reçu une administration par gavage (15 ml kg<sup>-1</sup>) d'une solution de NaCl 0,9% (STZ + NaCl; n = 9). Puis les autres animaux soumis au traitement STZ ont été gavés soit avec une suspension de purée de goji cryobroyée et décongelée (STZ + Goji ; n = 9), soit avec une suspension de purée de tomate cryobroyée et décongelée (STZ + Tomato ; n = 9). Les préparations de purées ont été enrichies et homogénéisées à 5% (m/m) en huile de sésame (S3547, Sigma Aldrich) pour augmenter l'absorption intestinale des composés lipophiles comme les caroténoïdes. Trois heures après le gavage, correspondant à une circulation sanguine effective théorique des métabolites d'intérêt, une anesthésie gazeuse a été réalisée (isoflurane 4,5% pour l'induction, puis 2% pour le maintien) et associée à une analgésie par injection sous cutanée de carprofen (Rimadyl® 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, 0,33 ml kg<sup>-1</sup>) (Faisal et al., 2010; Iddir et al., 2021; Mapelli-Brahm et al., 2019). Une fois l'anesthésie obtenue (vérifiée par l'absence de réponse à un test de pression à la patte), une mesure de glycémie a été réalisée à la queue des animaux (AccuCheck, Roche). Les animaux dont la glycémie a dépassé 200 mg dL<sup>-1</sup> au début de l'anesthésie étaient considérés comme hyperglycémisés.

#### *Suivi de la perfusion*

Nous avons choisi de mesurer la perfusion sur l'artère fémorale afin d'éviter les facteurs de confusion liés à l'activité métabolique énergétique cardiaque ou cérébrale. De plus, l'artère fémorale est un endroit pratique pour mesurer le flux sanguin dans les artères et ne nécessite qu'une procédure chirurgicale superficielle pour y accéder. Les mesures de la perfusion vasculaire ont été effectuées par imagerie de contraste speckle laser (PeriCam PSI NR, PERIMED, Stockholm, Suède). La température corporelle a été maintenue constante à l'aide d'un coussin chauffant. Une incision a été pratiquée dans la peau des membres inférieurs et le dégagement des tissus et aponévroses a été réalisé afin d'accéder directement au-dessus de la vascularisation des artères fémorales (Figure 32).



**Figure 34 – Schéma du déroulé expérimental.** 1) Rats Wistar sain contrôle normoglycémisés (CTRL) ou traités à la streptozotocine (STZ). 2) Gavage (15 mL kg<sup>-1</sup>) en NaCl (0.9%) ou tomate ou goji. 3) Anesthésie et chirurgie pour mettre en évidence la zone de l'artère fémorale sur chaque patte. 4) Suivi de la perfusion par laser speckle imaging (LSI). Suivi de la perfusion après une dose de Phényléphrine (PE) à 10<sup>-5</sup> M puis des doses croissantes d'acétylcholine (ACh, de 10<sup>-6</sup> à 10<sup>-2</sup> M) en moyennant deux mesures de perfusion par patte.

### Réactivité vasculaire

Pour évaluer l'effet de l'hyperglycémie ou de la supplémentation en tomate ou en goji sur la vasoréactivité des artères fémorales, nous avons soumis les animaux à des doses-réponse *in vivo* de drogues vasomotrices, comme décrit précédemment (Grandperrin et al., 2023). Après préparation des territoires vasculaires à étudier, une période de stabilisation et d'enregistrement de l'activité vasculaire au repos a été effectuée pendant 4 minutes, puis une dose de phényléphrine (PE, 10<sup>-5</sup> M, 50 µL) a été déposée localement le long de l'artère fémorale pour obtenir la contraction du vaisseau. Ensuite, des doses croissantes d'acétylcholine (ACh, de 10<sup>-6</sup> et 10<sup>-2</sup> M, 50 µL) ont été appliquées sur l'artère pour évaluer la vasodilatation dépendante de l'endothélium. Chaque dépôt d'ACh est resté en contact avec la zone artérielle pendant 2 minutes, avant d'être retiré par capillarité à l'aide d'un papier absorbant. La réponse a été stabilisée pendant 2 minutes avant d'appliquer les doses suivantes. Pour chaque artère, la valeur de la perfusion a été relevée par moyennage de duplicats issus de deux régions au cœur de l'artère. L'expérience est réalisée en simultané sur chaque patte de l'animal, de sorte à avoir N



= 2 doses réponse par animal (Figure 35). À la fin de la procédure, la glycémie est éventuellement mesurée à nouveau et une dose létale d'Euthasol a été injectée en intraveineux ( $140 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $0,35 \text{ ml kg}^{-1}$ ).

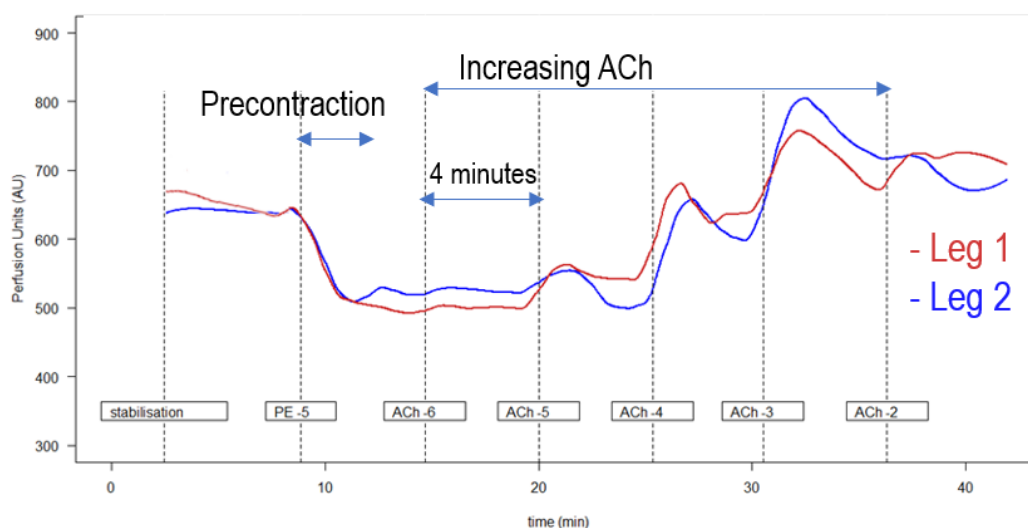


Figure 35 – Allure de la perfusion vasculaire au niveau du territoire fémoral par *laser speckle imaging* sur les 2 pattes en parallèle aux différentes phases de stabilisation, contraction (PE,  $10^{-5} \text{ M}$ ) et relaxation (ACh,  $10^{-6} \text{ M}$  -  $10^{-2} \text{ M}$ ).

#### Analyse statistique et répétabilité

Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  écart-type. Les lettres différentes attribuées aux groupes indiquent une différence significative entre les groupes par une ANOVA suivie d'un test LSD de Fisher et d'une correction du taux de fausses découvertes (FDR) selon la méthode Benjamini-Hochberg. Pour la dose réponse, l'effet du régime (R) et de la dose (D) sur la réponse est analysé à par une ANOVA à deux facteurs en interaction (R\*D) avec une correction de Geisser-Greenhouse. Cet effet est également évalué de façon globale sur l'ensemble de la réponse en calculant l'aire sous la courbe de la dose réponse par la méthode des trapèzes (AUC). Une différence est considérée comme significative si la p-valeur ajustée après le contrôle du taux de fausses découvertes est inférieure à 0,05. Une étude de répétabilité est réalisée en comparant la valeur de perfusion relevée sur des deux pattes de l'animal pour chaque dose indépendamment du groupe expérimental, ou pour chaque groupe expérimental indépendamment de la dose. Une corrélation linéaire est réalisée et le coefficient de détermination ajusté ( $R_{\text{Pearson}}^2$ ) est rapporté entre les mesures effectuées à chaque patte de l'animal pour toutes les doses appliquées.

## Résultats

### *Inclusion des animaux et hyperglycémie.*

L'induction de l'hyperglycémie par l'injection de STZ a apporté des résultats contrastés nécessitant l'euthanasie de plusieurs animaux. Ainsi, à l'inclusion, les groupes expérimentaux étaient constitués d'un nombre inégal d'animaux. Par ailleurs, les animaux STZ présentaient une masse corporelle tendanciellement ou significativement plus basse que celle des animaux contrôle (Figure 36A).

De plus, bien que le traitement STZ ait augmenté significativement la moyenne de glycémie des animaux traités par rapport aux animaux du groupe contrôle, tous les animaux traités à la STZ n'étaient pas systématiquement hyperglycémisés à J+4 après l'injection (Figure 36B). En effet, parmi les animaux dont la glycémie a été évaluée au moment du début de l'anesthésie à l'isoflurane et à la fin du protocole, soit après environ 40 minutes d'anesthésie gazeuse, on a distingué 3 types de comportements glycémiques (Figure 36C). Un groupe d'animaux qui n'était pas ou qui était autour de la limite de l'hyperglycémie ( $<200 \text{ mg dL}^{-1}$ ) au début du protocole et qui ont globalement vu leur glycémie augmenter à la fin du protocole (C1), un groupe d'animaux qui n'était pas hyperglycémisé au début du protocole et qui le sont devenus largement à la fin de l'expérimentation (C2), et un groupe qui était hyperglycémisé au début et à la fin du protocole (C3). Par ailleurs et comme le suggère la localisation des données expérimentales par rapport à la droite  $y = x$  où la glycémie en fin de protocole est égale à la glycémie au début du protocole, l'anesthésie à l'isoflurane a tendance à faire augmenter la glycémie des animaux. Dans un souci d'évaluer l'effet d'une supplémentation en fruit sur la fonction vasculaire chez des animaux hyperglycémisés, seuls les animaux qui étaient hyperglycémisés au début du protocole ont été retenus pour les analyses suivantes.

### *Impact de la supplémentation en tomate et goji sur la réactivité vasculaire des animaux hyperglycémisés.*

Après stabilisation de la lecture de perfusion, nous n'avons pas observé de différence significative ( $p = 0,13$ ) du flux de perfusion basale entre les animaux hyperglycémisés supplémentés ou non en tomate et goji comparé au groupe contrôle (Figure 37A). De façon marginale, nous avons pu observer que le groupe STZ + NaCl non supplémenté en poudre de fruit a vu sa perfusion basale diminuer de façon marginale par rapport au groupe contrôle (-14,8%,  $p = 0,25$ ) tandis que la supplémentation en tomate ou en goji a eu pour effet de rehausser marginalement la perfusion basale de +13% ( $p = 0,33$ ) et de +4.5% ( $p = 0,617$ )

respectivement par rapport au groupe d'animaux hyperglycémisés non supplémentés en fruits (STZ + NaCl).

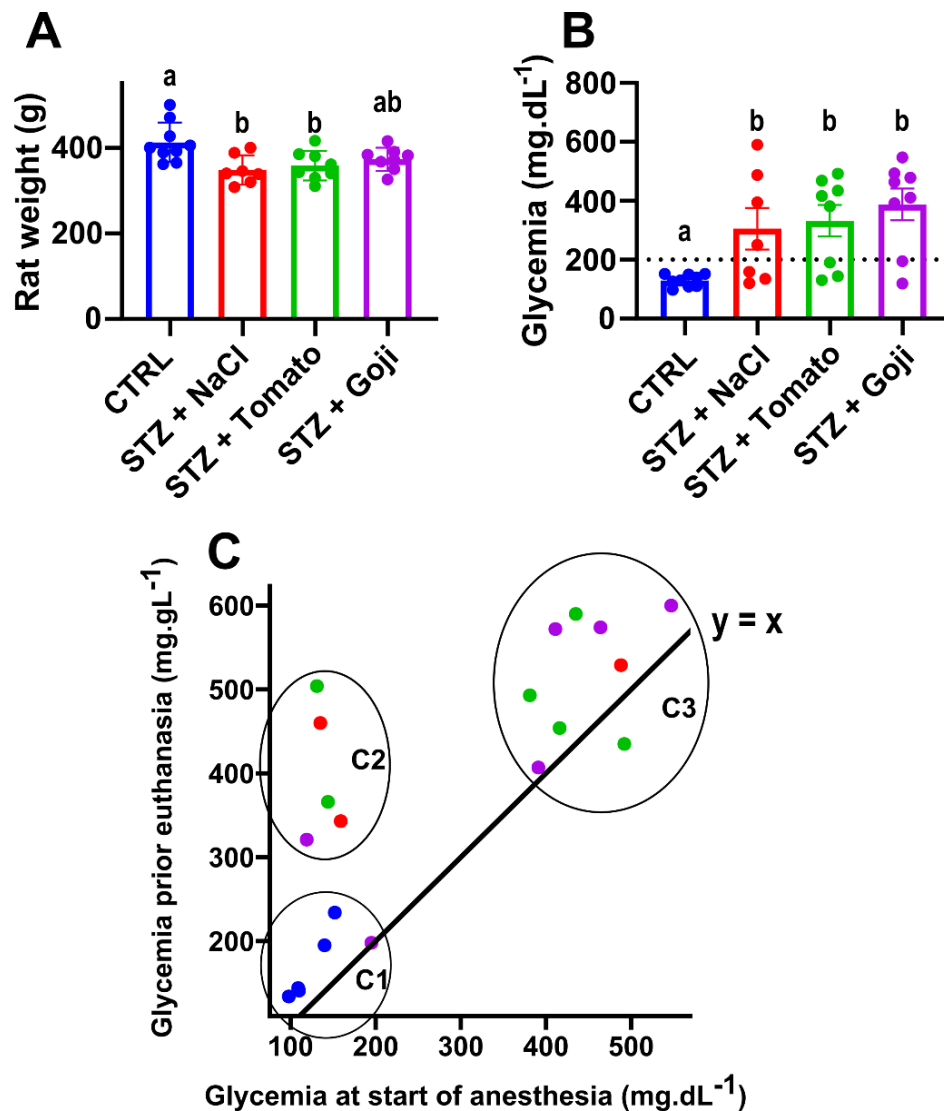


Figure 36 – Impact de la streptozotocine (40 mg kg<sup>-1</sup> intrapéritonéal, 4 jours avant l'évaluation) et de la supplémentation (15ml kg<sup>-1</sup>) en tomate ou en goji sur la masse corporelle (A), la glycémie (B) des animaux lors de l'évaluation de la sensibilité à l'acétylcholine. Relation entre la glycémie au début de l'anesthésie et la fin du protocole pour un même animal avant son sacrifice (C). CTRL : animaux normoglycémisés supplémentés en sérum physiologique ; STZ + NaCl : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en sérum physiologique ; STZ + Tomato : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en tomate ; STZ + Goji : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en Goji. Pour A et B : moyenne ± écart-type. Des lettres différentes entre les groupes indiquent une différence significative ( $p_{adj} < 0,05$ ).

L'application de la PE a provoqué une vasoconstriction avec une diminution de la perfusion, sans différence significative entre les groupes ( $p = 0,45$ ) (Figure 37B). Après normalisation de la réponse à l'ACh à la valeur de perfusion minimale relevée après l'application de PE, une courbe de dose réponse a été établie (Figure 37C). La dose réponse a révélé un effet significatif

de la dose ( $p < 0,0001$ ) mais pas du régime ( $p = 0,19$ ) avec un effet de la dose qui était marginalement différent entre les régimes ( $p = 0,07$ ). Une analyse de comparaison multiple des groupes expérimentaux pour chaque dose a révélé une différence significative de la réponse entre le groupe d'animaux supplémenté en tomate (STZ + Tomato) par rapport au groupe d'animaux hyperglycémisés non supplémentés (STZ + NaCl) pour la dose à  $ACh^{-6}$  (+27,7%,  $p = 0,03$ ) (Figure 37C). Avec une approche globale consistant à comparer l'AUC de la dose réponse, il n'y a pas eu de différence significative entre les groupes ( $p = 0,16$ ). De façon marginale, nous avons pu observer que le groupe d'animaux non supplémenté en poudre de fruit (STZ + NaCl) a vu sa réactivité légèrement diminuer par rapport au groupe contrôle (-8,4%,  $p = 0,36$ ) tandis que la supplémentation en tomate ou en goji a eu pour effet de rehausser marginalement la réactivité de +16,0% ( $p = 0,18$ ) et de +13,9% ( $p = 0,18$ ) respectivement par rapport au groupe non supplémenté en fruits (STZ + NaCl) (Figure 37C).

#### *Répétabilité de la mesure expérimentale.*

La perfusion ayant été suivie de façon simultanée et la dose réponse effectuée sur les artères controlatérales des deux pattes de l'animal, il était nécessaire de vérifier que les réponses observées étaient comparables entre les deux pattes. Malgré une variabilité expérimentale importante, nous avons observé une corrélation forte des mesures du flux de perfusion entre les pattes, comme le montre la distribution des points autour de la droite  $y = x$  (—) (Figure 38). Quel que soit la dose et tous régimes confondus (Figure 38A) ou quel que soit le régime et toutes doses confondues (Figure 38B), le coefficient de détermination de la mesure de perfusion entre les deux pattes est toujours significatif. Ce dernier a tendance à augmenter avec de façon croissante avec la dose, allant de 0,23 ( $PE^{-5}$  M) à 0,65 ( $ACh^{-2}$  M) tous régimes confondus. Pour chaque régime, le coefficient de détermination pour la mesure de perfusion à chaque patte et toutes doses confondues a varié de 0,53 (CTRL) à 0,82 (STZ + Goji). Une légère dissymétrie de la réponse a été observée pour les animaux CTRL, avec un flux de perfusion d'abord plus élevé pour la deuxième patte comparée à la première, sur les flux de perfusion faibles puis une réponse amoindrie sur les flux de perfusion plus élevés relevés sur la patte n°1 (Figure 38B).

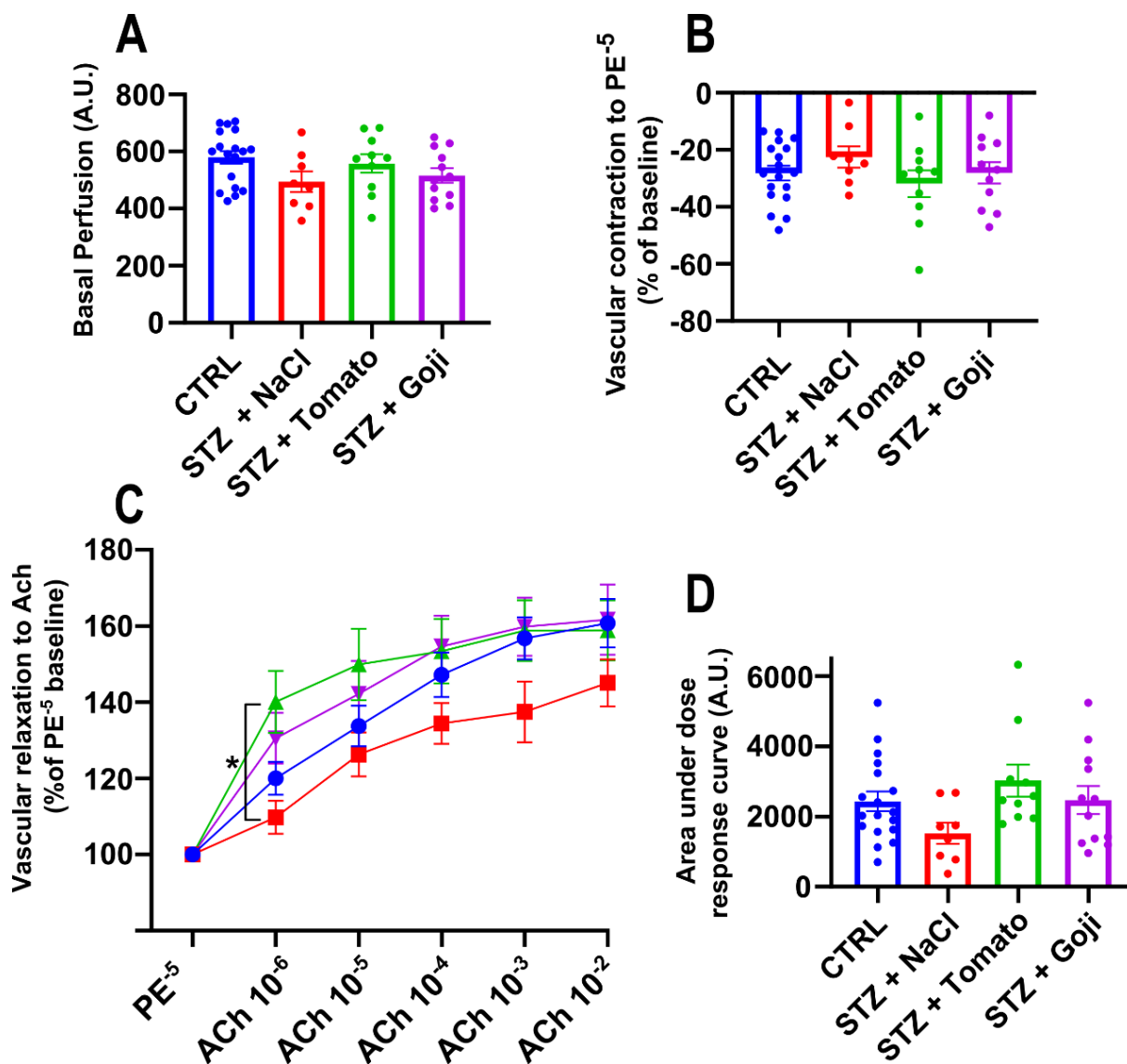
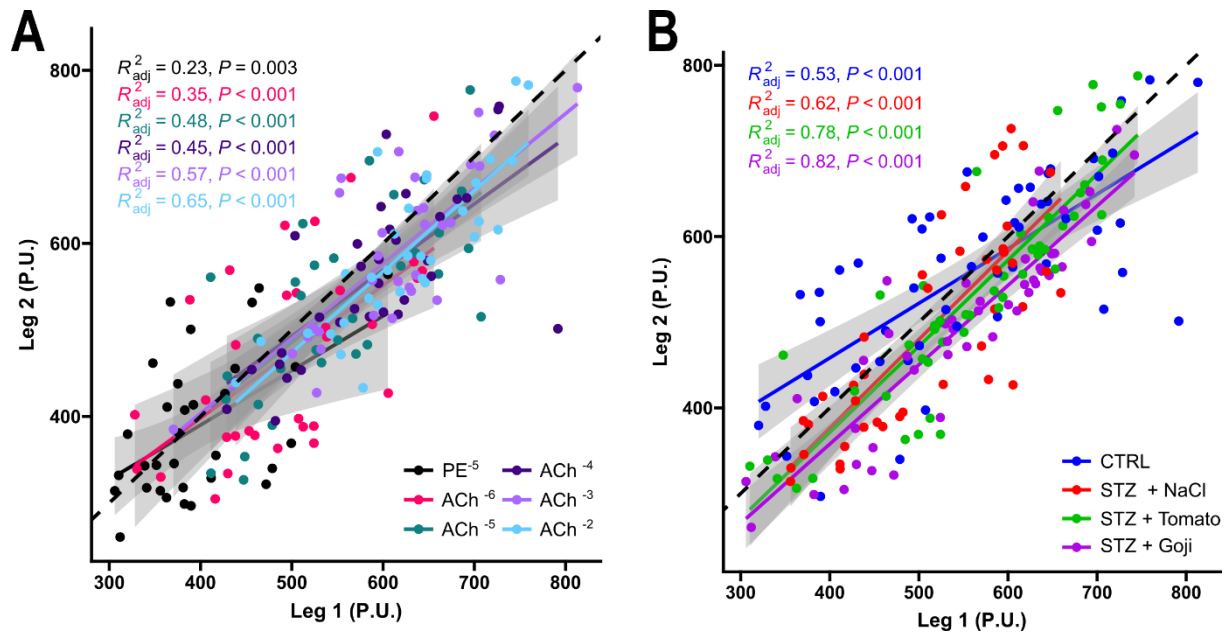


Figure 37 - Bénéfices de la supplémentation en tomate ou goji sur la perfusion ou la réactivité vasculaire dans des conditions d'hyperglycémie. Perfusion basale (A) ; recontraction provoquée par la phényléphrine (PE, 10<sup>-5</sup> M, 50 μL) (B) ; Dose réponse in vivo à l'acétylcholine (ACh) pour des doses allant de 10<sup>-6</sup> M à 10<sup>-2</sup> M, 50 μL) ; Aire sous la courbe de la dose réponse (D). CTRL : animaux normoglycémisés supplémentés au NaCl 0,9% ; STZ + NaCl : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés au NaCl 0,9% ; STZ + Tomato : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en tomate ; STZ + Goji : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en Goji. Moyenne ± erreur-type.



**Figure 38 – Evaluation de la répétabilité de la mesure de la perfusion entre la patte 2 (Leg 2) et la patte 1 (Leg 1) de l'animal lors de l'expérimentation.** Découpage par dose de phényléphrine (PE) ou d'acétylcholine (ACh) allant de  $10^{-6}$  M à  $10^{-2}$  M (A). Découpage par groupe expérimental (B) CTRL : animaux normoglycémiques supplémentés au NaCl 0.9% ; STZ + NaCl : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés au NaCl 0.9% ; STZ + Tomato : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en tomate ; STZ + Goji : animaux injectés à la streptozotocine et supplémentés en Goji.  $R^2_{adj}$  : coefficient de détermination ajusté du modèle linéaire.

## Discussion

Quatre jours après le traitement à la streptozotocine, les réponses sont largement contrastées entre les animaux. Plusieurs animaux ont subi une dégradation notable de leur état de santé, situation qui a pu justifier leur euthanasie (~15% des animaux traités à la streptozotocine). Plusieurs études ont par exemple suggéré de supplémenter les animaux en dextrose (5% m/v) pendant 48h après l'injection pour limiter la mortalité pouvant être associée à un choc hypoglycémique (Brahmam et al., 2023; Scridon et al., 2015). La perte de masse qui a été observée pourrait s'expliquer par la polyurie et éventuellement la déshydratation des animaux hyperglycémiques, malgré un accès *ad libitum* à l'eau de boisson et un contrôle fréquent des quantités restantes d'eau dans les biberons (Satake et al., 2010).

Chez les animaux qui n'ont pas montré de problèmes de santé ou de comportement, nous avons remarqué que tous n'étaient pas hyperglycémiques au quatrième jour après l'injection de streptozotocine (Figure 36B). Pour autant, comme le suggère l'étude de la glycémie avant/après la dose réponse à l'acétylcholine (Figure 36C), on peut supposer que certains animaux injectés à la streptozotocine et qui ne présentait pas une hyperglycémie au début de l'expérimentation

ont tout de même une homéostasie altérée comme l'a suggéré la très forte augmentation de la glycémie après les environ 40 minutes d'anesthésie gazeuse (Figure 36C). Cette augmentation de la glycémie est largement supérieure à l'augmentation de la glycémie observée chez les animaux du groupe contrôle. Par ailleurs, il convient de noter que plusieurs études relatent que l'anesthésie à l'isoflurane peut provoquer une augmentation de la glycémie quel que soit le modèle d'étude (murin, canin, humain) en limitant la sécrétion d'insuline en inhibant l'ouverture des canaux potassiques ATP dépendants dans les cellules bêta pancréatiques (S. P. Kim et al., 2016; Kovács et al., 2023; Peng et al., 2021; Tanaka et al., 2009). Si cet effet reste limité pour les animaux contrôle, il semble exacerbé pour les animaux STZ normoglycémisés au début de l'expérimentation. Dès lors, on peut supposer que la mesure de la glycémie seule n'est pas un indicateur suffisant pour constater l'existence d'un effet délétère du traitement à la STZ sur l'homéostasie glucidique.

Concernant le lien entre hyperglycémie, fonction vasculaire et effet bénéfique d'une supplémentation en tomate et en goji, nous avons pu remarquer que les effets observés sont modestes dans le contexte de notre expérimentation. Nous avons mis en évidence des différences marginales entre les groupes sur la perfusion de base, l'effet contractile de la PE ou l'aire sous la courbe de la dose réponse à l'acétylcholine. En revanche, nous avons observé une différence significative avec une augmentation de la réponse à ACh pour la plus faible dose avec le groupe d'animaux hyperglycémisés supplémentés en tomate (STZ + Tomato) comparé au groupe STZ + NaCl (Figure 37C). Sur les autres mesures, les tendances observées vont de façon quasi systématique dans le sens des effets qui peuvent être attendus dans ce contexte : une altération de la réponse avec l'hyperglycémie (STZ + NaCl) comparé au groupe contrôle (CTRL), et une amélioration provoquée par la tomate (STZ + Tomato) et la baie de goji (STZ + Goji) comparativement au groupe d'animaux hyperglycémisés non supplémentés en fruit (STZ + NaCl) (Figure 37). En moyenne, les réponses expérimentales présentées ont conservé ce schéma de réponse : tendance à l'altération avec le groupe hyperglycémisé non supplémenté comparé au groupe contrôle et tendance à l'amélioration avec les groupes hyperglycémisés supplémentés en tomate ou goji comparé au groupe hyperglycémisé non supplémenté. Cela pourrait suggérer une réponse physiologique réelle mais d'amplitude trop faible pour être mise en évidence avec une grande confiance statistique compte tenu du nombre d'animaux utilisés et de la variabilité expérimentale.

Pour caractériser plus précisément les effets biologiques de la supplémentation en tomate ou en goji dans un contexte d'hyperglycémie, il serait pertinent d'utiliser des marqueurs tels que la fluorescence du DAF-2 pour évaluer les niveaux de monoxyde d'azote (NO) dans les aortes. Le DAF-2 est un indicateur sensible du stress oxydatif et de la présence de NO. L'augmentation de la fluorescence du DAF-2 dans les aortes pourrait indiquer une augmentation des niveaux de NO en réponse à l'administration des antioxydants de la tomate et du goji (Grandperrin et al., 2023). Des niveaux de fluorescence plus élevés suggéreraient que ces antioxydants peuvent améliorer la fonction vasculaire en neutralisant les ROS et en favorisant la libération de NO. Il serait également possible d'évaluer l'état de stress oxydant systémique des animaux, en évaluant par exemple certains marqueurs de peroxydation lipidique sur le plasma (F2-Isoprostanes, ex : 8-iso-PGF<sub>2</sub>α) (Menzel et al., 2021). Ainsi, il pourrait être possible de démontrer que les effets potentiellement bénéfiques de ces aliments passent bien par une intervention sur les dommages oxydatifs (Murphy et al., 2022).

En conclusion, cette étude rapporte pour la première fois les impacts d'une supplémentation aiguë en fruits sur la réactivité vasculaire des artères fémorales chez des rats Wistar hyperglycémiques. Les résultats ont mis en évidence des effets de faible amplitude sur ce modèle animal, pouvant inspirer des protocoles plus ambitieux avec un nombre d'animaux plus élevé et le suivi d'autres marqueurs biologiques de l'état de santé. D'autres études sont nécessaires pour démontrer un effet bénéfique à court terme de la consommation d'aliments riches en anti-oxydants sur la santé vasculaire dans un contexte métabolique altéré comme le diabète ou le syndrome métabolique.



### Faits marquants du chapitre 4

- Le succès de l'induction de l'hyperglycémie par la streptozotocine a présenté un caractère largement variable d'un animal à l'autre.
- Des animaux **non hyperglycémisés** traités à la streptozotocine **pourraient tout de même présenter une altération de leur système de contrôle de l'homéostasie glucidique**, comme suggéré par des animaux qui ont présenté une **hyperglycémie marquée en fin d'anesthésie à l'isoflurane**.
- Une supplémentation aiguë en fruit de tomate **pourrait avoir des effets vasculaires bénéfiques en améliorant la sensibilité à des doses faibles d'acétylcholine, et en réhaussant le flux de perfusion basale**.
- Les résultats observés **étaient cohérents aux hypothèses de départ mais de faible amplitude**. Il est nécessaire d'augmenter le nombre d'animaux pour confirmer ces résultats, et il est important d'évaluer la plus-value réelle de ces effets modérés.
- Malgré leur capacité anti-oxydante, **peu d'études mettent en évidence les effets potentiellement bénéfiques à court terme pouvant être associés à la consommation de fruits ou légumes dans un contexte de stress oxydant**.

# **Chapitre 5**

**Discussion générale et  
perspectives de recherche**

L'objectif principal de ma thèse était d'analyser, via une démarche transversale, l'influence de certains facteurs associés à la production agricole sur la valeur santé de la tomate et de la baie de goji. Le facteur agronomique central à ces travaux a été l'effet du déficit hydrique (DI) sur la valeur santé, à la fois d'un point de vue temporel mais également structural à l'échelle du fruit (Chapitre 1). Cette analyse a été menée en évaluant non seulement la concentration en microconstituants bénéfiques présents dans les fruits mûrs, mais aussi en évaluant la bioaccessibilité des caroténoïdes dans un modèle de digestion *in vitro* (Chapitre 2). De façon complémentaire et compte tenu du potentiel des caroténoïdes dans un contexte métabolique et cardiovasculaire, l'évaluation de la valeur santé a été explorée *in vivo* sur deux modèles précliniques chez l'animal supplémenté en fruit de façon chronique chez la souris (Chapitre 3) ou de façon aiguë chez le rat (Chapitre 4). En ce qui concerne la tomate, une attention particulière a été portée sur la façon dont le génotype pouvait influencer l'élaboration de la valeur santé en interaction avec le DI, alors que pour la baie de goji, l'accent a été mis sur les éventuels bénéfices de différents traitements post-récolte sur la bioaccessibilité des caroténoïdes et la santé métabolique (Chapitres 1, 2 et 3).

Dans un contexte complexe où la valeur santé des aliments est affectée par de multiples facteurs, il est particulièrement important d'adopter une approche intégrative qui englobe tous les aspects de la chaîne de production alimentaire. Cela est déjà souligné par certains travaux spécifiquement consacrés à la tomate et à ses produits dérivés (Collins et al., 2022; Tilesi et al., 2021). Dans ce cadre, les résultats exposés dans cette thèse révèlent une variabilité dans l'ampleur de l'effet du DI, selon la façon dont le fruit est considéré. La question se pose : la valeur santé est-elle évaluée sur le fruit frais ou sur le fruit qui a été transformé et déshydraté ? En effet, tous autres facteurs confondus, une littérature abondante suggère globalement un effet bénéfique du DI sur les teneurs en caroténoïdes ou en autres microconstituants d'intérêt du fruit (González-Chavira et al., 2018; Klunklin & Savage, 2017; Ripoll et al., 2014; Stagnari et al., 2016). Mais la diminution éventuelle de la teneur en eau des fruits issus du DI peut contribuer à surestimer l'effet bénéfique du DI. La distinction matière fraîche/matière sèche ou fruit frais/fruit transformé est déjà suggérée par certaines études, mais pas systématique (Caris-Veyrat et al., 2004; Dere et al., 2022; Riggi et al., 2008; Ripoll et al., 2016; X. Wu et al., 2022). Par exemple, les résultats présentés dans ce manuscrit ont mis en évidence que pour les 7 génotypes (tomate et gojis confondus) évalués, le DI appliqué de l'anthèse à la récolte a fait varier les teneurs moyennes totales en caroténoïdes évaluées par gramme de matière fraîche par rapport aux fruits contrôle de -10,7% pour le génotype IL6-2, à +37,8% pour le génotype IL2-

5, et à +31,5% pour le génotype de goji FPW07. En exprimant les résultats par gramme de matière sèche, la variation de la teneur totale moyenne en caroténoïdes évaluée sous DI par rapport aux fruits contrôle passe à -29,1% pour IL6-2, à -1,7% pour IL2-5 ou +15,5% pour FPW07. De façon similaire, la teneur totale moyenne en polyphénols des fruits stressés par rapport aux fruits témoins a varié de +26,4% pour IL2-5, +98,4% pour IL5-4, et +23,27% pour FPW07 par gramme de matière fraîche, mais cette variation est passée à -11,1% pour IL2-5, à +38,7% pour IL5-4 et à +8% pour FPW07 par gramme de matière sèche. À l'échelle de la production, il convient également de mettre en perspective les variations de teneur en microconstituants avec les variations de rendement agricole commercial, qu'il soit mesuré en termes de produit frais ou sec, en réponse au déficit hydrique (Chapitre 2, section 1, Figure 1).

Ces travaux suggèrent aussi, que, même si l'accumulation des caroténoïdes se met en place massivement dans les dernières étapes de maturation du fruit de tomate ou goji, des effets précoces pourraient exister en lien avec la présence des chloroplastes, dépendant des propriétés du tissu (nombre et taille des cellules). Alors que le lien chlorophylle-caroténoïdes fruit mature a été exploré sur tomate (Chapitre 1), il n'a pas été mis en évidence sur goji. Pour autant, on peut supposer que des effets similaires peuvent exister. Par exemple, chez le goji *L. ruthenicum*, les fruits se démarquent des fruits de *L. barbarum* pour leur teneur en composés phénoliques élevées (anthocyanes). Des données de microscopie et d'expression génique en lien avec la voie de biosynthèse des caroténoïdes ont révélé que c'est bien le développement et la formation des chromoplastes des fruits de goji et l'inhibition des enzymes de clivage des caroténoïdes (CCDs) qui semblent contrôler la production et l'accumulation des caroténoïdes dans les fruits. La résultante observée est une accumulation massive de caroténoïdes pour les fruits de *L. barbarum*, mais pas des fruits de *L. ruthenicum* (Y. Liu et al., 2014). Dans cette étude, les fruits matures de *L. ruthenicum* concentrent peu de caroténoïdes (non détectables).

La tomate ou la baie de goji sont largement consommées suite à un procédé de transformation ayant pour objectif principal de réduire de façon modérée ou drastique les teneurs en eau du fruit pour accroître leur stabilité et leur conservation (ex : coulis ou concentré de tomate, voir poudre de tomate ou baie de goji séchée). Dans notre cas par exemple, compte tenu de la teneur en eau moyenne des fruits frais (7,4% pour les fruits contrôle et 10,1% pour les fruits issus du DI dans le cas de la tomate), supplémenter un animal avec un gramme de fruit séché après lyophilisation correspondrait à le supplémenter avec 13,5 g de fruit frais pour les fruits contrôle mais seulement 9,9 g pour les fruits issus du DI, soit une réduction de plus de -26% de la portion en équivalent fruit frais. Pour autant, les résultats associés à la supplémentation des animaux en

poudre de tomate issue des fruits stressés (M82-DI et H1311-DI) n'a globalement pas présenté de différence majeure sur les paramètres de santé évalués sur les animaux par rapport aux animaux supplémentés avec les fruits témoins issus du même génotype (M82-CI et H1311-CI) (Figure 39). Ainsi, nos résultats suggèrent que les effets-santé des fruits issus du DI sont plutôt comparables aux fruits témoins en termes de valeur santé, telle qu'évaluée dans un contexte d'obésité induite chez la souris supplémentée en poudre de tomate.

Ces travaux ont également révélé des résultats inédits concernant l'impact du DI sur la bioaccessibilité des caroténoïdes des fruits frais. Si, en effet, le DI peut être un levier pour augmenter la concentration en microconstituants d'intérêt des fruits frais, les résultats ont montré que, après digestion *in vitro*, les micelles mixtes issues de la digestion des fruits soumis au DI ne contenaient pas systématiquement plus de caroténoïdes que celles issues de fruits témoins. À travers l'analyse de quatre génotypes de tomates (H1311, M82, IL6-2, IL12-4) concernant cinq caroténoïdes spécifiques ainsi que leur somme totale, et pour trois caroténoïdes du goji FPW07 et leur somme totale, il ressort que, malgré une variabilité expérimentale et un nombre limité de réplicas expérimentaux (et donc avec la conséquence que cela peut avoir sur la puissance statistique), le DI semble avoir un effet moyen négatif sur la bioaccessibilité des caroténoïdes des fruits stressés par rapport aux fruits contrôle dans 27 des 28 comparaisons effectuées (Chapitre 2, section 1, table 2). Nos données nous amènent à postuler que la baisse observée pourrait être le fruit d'une interaction complexe entre les caroténoïdes et d'autres composantes de la matrice alimentaire, notamment les fibres. Les études existantes corroborent cette hypothèse, indiquant que les fibres peuvent inhiber la bioaccessibilité des caroténoïdes (Desmarchelier & Borel, 2017; Hayes et al., 2020; Thakur et al., 2020). En effet, les fruits issus du DI étant plus petits, nous avons vu que cela avait pour conséquence d'augmenter le ratio surface : volume du fruit (Chapitre 1, section 2, Figure 24A) et donc surreprésenter les couches externes du fruit par unité de masse par rapport aux fruits témoins. La distribution des caroténoïdes ou des microconstituants à l'échelle des différents tissus de tomate a déjà été abordée par la littérature mais pas dans un contexte de DI (Shi & Le Maguer, 2000; Tamasi et al., 2019). La résultante est une augmentation possible des teneurs en caroténoïdes mais également des interactions avec la matrice. Ici, nous montrons que les interactions peuvent compenser les augmentations de teneurs de ces microconstituants lipophiles sur le fruit frais. Ainsi, de façon assez surprenante, ces travaux semblent suggérer pour la première fois que de simples changements de morphométrie du fruit à l'issue du DI pourraient se répercuter sur les teneurs en caroténoïdes et éventuellement sur leur bioaccessibilité.

En perspective, il conviendrait de reproduire ce protocole de digestion *in vitro* avec l'ajout d'un repas type complémentaire et/ou de lipides pour vérifier que les résultats que nous avons rapportés peuvent également s'appliquer en présence de lipides ajoutés qui favoriseraient la bioaccessibilité de ces composés d'intérêts lipophiles (Yao et al., 2022). À ce sujet, on peut supposer que la présence de lipides en excès dans les régimes HFD utilisés pour la supplémentation des animaux en poudre de fruits pourrait participer à normaliser la réponse des animaux qui ont été supplémentés avec les poudres issues du DI comparativement aux animaux ayant consommé les poudres issues du même génotype en irrigation contrôle, et conduire à des effets santé assez similaires (Figure 39).

Alors que le DI a été globalement un atout pour la composition des fruits en composés phénoliques, que ce soit sur la matière fraîche ou la matière sèche (Figure 40), une autre perspective de recherche serait de mettre en évidence que l'augmentation de la composition en fibres alimentaires causée par le DI impacte également la bioaccessibilité et/ou la biodisponibilité et donc les effets-santé de composés phénoliques présents dans l'aliment, comme suggéré par une littérature abondante qui décrit les interactions simples ou multiples entre les polyphénols, les polysaccharides et les caroténoïdes (Ke et al., 2022; Marques et al., 2021; Renard et al., 2017; Siemińska-Kuczer et al., 2022). Une interaction réduirait leur bioaccessibilité dans l'intestin grêle, mais, à leur arrivée dans le côlon, ils pourraient être métabolisés par le microbiote qui utiliserait ces fibres comme substrat de fermentation pour produire des composés phénoliques de plus faible poids moléculaire et être absorbés plus efficacement (Aura et al., 2013; Bazzocco et al., 2008; Bohn et al., 2015; Le Bourvellec et al., 2019; Lessard-Lord et al., 2023; Tomas et al., 2018).

Dès lors, cette évaluation pourrait être effectuée soit avec un modèle de digestion *in vitro* qui comprend l'étape modèle colon, ou *in vivo* en mesurant chez l'animal la biodisponibilité d'un plus grand nombre de microconstituants ou de leurs métabolites en lien avec la santé métabolique (Bohn et al., 2015). Ces perspectives permettraient de dresser un bilan plus exhaustif de la valeur santé des fruits qui contiennent d'autres microconstituants d'intérêt pour la santé métabolique et cardiovasculaire que les caroténoïdes.

	M82		H1311		IL6-2	IL12-4
	CI	DI	CI	DI	CI	CI
Prise de masse	=	=	=	=	+	+
Index d'adiposité	(+)	=	=	=	+	=
Glycémie à jeun	+	(+)	+	+	+	+
Tolérance au glucose (AUC OGTT)	+	(+)	=	=	+	(+)
Sensibilité à l'insuline (AUC ITT)	(-)	=	=	=	(+)	=
Lipides totaux du foie	+	+	(+)	+	+	+
Indice HOMA-IR	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)
NEFA et TG du plasma	=	=	=	=	=	=

**Figure 39 - Synthèse des effets-santé observés sur les souris supplémentées en HFD + poudre de tomate issues des génotypes M82, H1311, IL6-2, IL12-4 provenant des fruits produits sous irrigation contrôle (CI) ou déficitaire (DI).** + / - : amélioration / altération significative ( $p < 0.05$ ) par rapport au groupe HFD non supplémenté ; (+) / (-) : amélioration / altération marginale ( $p > 0.05$  et  $p < 0.1$ ) par rapport au groupe HFD non supplémenté ; = : absence de différence ou de tendance observée dans l'évolution du paramètre par rapport au groupe HFD non supplémenté.

Ces travaux ont donc mis en évidence que l'identification des effets-santés observés sur les animaux seront difficiles à associer aux caroténoïdes seuls. Certaines études mettent en effet en évidence un réel atout de l'ensemble du cocktail de microconstituants de l'aliment complet pour des effets bénéfiques sur la santé, plutôt que certains microconstituants isolés. Pour la tomate par exemple, une ambiguïté persiste sur les effets-santé associés au lycopène seul ou à l'ensemble des microconstituants puisque selon la ou les composantes santé évaluées, même réduites au contexte des maladies métaboliques et cardiovasculaires, les résultats suggèrent que tantôt le lycopène, tantôt le fruit complet sont à l'origine des effets observés (Burton-Freeman & Sesso, 2014; Fenni et al., 2017; Gholami et al., 2021; Landrier et al., 2023). Dans notre contexte, plusieurs familles de molécules présentes dans les fruits peuvent aboutir à des effets-santé métaboliques et cardiovasculaires comparables. Par exemple, certains travaux ont identifié des effets anti-obésogènes associés à des composés phénoliques comme la rutine chez la souris ou le rat, avec des mécanismes reposant sur le microbiote et/ou par une augmentation de la dépense énergétique par thermogénèse avec une beigisation du tissu adipeux blanc (Gao et al., 2013; Hsu et al., 2009; Yuan et al., 2017). Cette molécule est présente dans nos matrices tomates de l'ordre de  $163 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$  pour les lots de fruits issus de IL6-2 en irrigation contrôle jusqu'à  $435 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$  pour les lots de fruits issus de H1311 en irrigation déficitaire.

Autre exemple, peut-être plus marquant : des améliorations de la vasodilatation dépendante de l'endothélium de l'artère fémorale ont été montrées chez des souris athérosclérotiques recevant un régime alimentaire supplémenté en épicatechine (Loke et al., 2010; Morand et al., 2019;

Schuler et al., 2014). D'autres travaux soulignent que l'épicatéchine fait partie des constituants « important[s] » de la tomate et particulièrement dans le péricarpe du fruit (Ali et al., 2021; Jež et al., 2018; Wiczowski et al., 2019). Enfin, on peut voir que cette molécule - ou ses métabolites - semble jouer un rôle santé dans un contexte d'hyperglycémie ou d'obésité induite en améliorant la sensibilité à l'insuline et/ou en réduisant la masse corporelle et/ou le stress oxydant et/ou réduisant l'inflammation que ce soit chez la souris C57BL/6J, le rat Wistar ou chez l'Humain (Bolea, 2019; Cremonini et al., 2016; Gutiérrez-Salmeán et al., 2014; Qu et al., 2021). N'ayant pas discuté des teneurs en épicatechine des fruits, nous ne pouvons pas exclure des effets-santé pertinents et reposants sur sa présence. Sans compter que les microconstituants qui exercent potentiellement les mêmes effets-santé peuvent avoir un effet synergique et donc multiplicatif, la corrélation entre la quantité d'un microconstituant supplémenté aux animaux dans une matrice alimentaire complexe et l'amplitude des effets-santés observés pose la question de l'attribution des phénomènes de cause à effet (Olszowy-Tomczyk, 2020; Williams et al., 2013; Zhang et al., 2019). A des fins de vérifications, nous avons consulté les pics du chromatogramme qui pouvaient correspondre à la présence de l'épicatéchine pour les échantillons tomate et goji présentés dans ces travaux, sur la base du temps de rétention et du spectre d'absorption, par rapport à un standard précédemment injecté. Des pics pourraient correspondre à la présence de l'épicatéchine sur la base du temps de rétention mais pas du spectre, car les signaux étaient observables dans le bruit de fond. Si la présence d'épicatéchine n'a donc pas pu être exclue, la quantité réelle a semblé être marginale dans ces matrices. Pour le goji FPW07 cultivé en plein champ entre 2016 et 2018, ce composé avait été dosé à l'état de trace. Dans la littérature, une source a attribué des quantités non négligeables d'épicatéchine (> 220 mg 100 g<sup>-1</sup> MF) dans les fruits matures d'un hybride probable de *L. barbarum* et *L. chinense* (Donno et al., 2015). On peut donc penser qu'il existe une forte variabilité pour ce composé en fonction du génotype.

Concrètement, pour alimenter cette discussion, dans notre expérimentation de supplémentation des souris en poudre de tomate, on suggère que la teneur remarquable en  $\beta$ -carotène de la tomate IL6-2 (+759% comparé à la moyenne des teneurs en  $\beta$ -carotène des tomates issues des autres génotypes H1311, M82 et IL12-4 par gramme de matière sèche en irrigation contrôle (Chapitre 2, section 1, Table 1)) est associé aux effets-santé observés chez la souris. Compte tenu des effets décrits dans la littérature de cette molécule dans un contexte d'obésité, dans des modèles murins ou humains (Amengual et al., 2011; Bonet et al., 2020; Coronel et al., 2019, 2022; Mounien et al., 2019), elle pourrait y jouer un rôle clé dans le phénotype observé. Pour autant,



les résultats de la capacité antioxydante hydrophile des tomates présentés (Chapitre 4, Figure 33) ont suggéré que cette tomate se démarque également des autres lignées d'introgression M82 x *S. pennellii* pour sa capacité antioxydante hydrophile, qui n'est donc pas associée aux caroténoïdes, et cet aspect est aussi rapporté dans la littérature (Alseekh et al., 2015; Frary et al., 2010; Rousseaux et al., 2005). Dès lors, alors que cette tomate se démarquerait largement des autres pour sa teneur en  $\beta$ -carotène, elle se démarquerait aussi des autres pour sa teneur en composés antioxydants hydrophiles. Cette augmentation a-t-elle joué un rôle dans des effets synergiques avec le  $\beta$ -carotène pour améliorer la santé des animaux sur la majorité des paramètres étudiés (Figure 33) ? Ce statut particulier qui est constaté sur la base de la matière fraîche est-il transposable à la matière sèche, dans la mesure où IL6-2 n'a pas eu la capacité antioxydante hydrophile la plus élevée des tomates testées sur la base de la matière sèche (Chapitre 2, section 1, Table 1) et que cette tomate ne se démarque pas non plus des autres sur la teneur totale moyenne en composés phénoliques évaluée (Chapitre 2, section 1, Table 1) ?

De façon analogue, nous avons relevé l'absence ou la faible présence de sélénium dans les fruits de goji du cultivar FPW07 cultivés en serre (Chapitre 2, table 3) alors que sa présence dans le goji (ou toute autre matrice alimentaire) est évoquée comme un gage de valeur santé par tout un pan de la littérature scientifique, bien que cet aspect soit controversé (Perez-Vizcaino & Fraga, 2018; Rodrigues Sá et al., 2019; Yajun et al., 2019). Si l'on considère que le sélénium (ou le sélénate) est intéressant dans un contexte métabolique et cardiovasculaire en lien avec la régulation de l'adipogenèse (Abo El-Magd et al., 2022; Kim et al., 2015; Tinkov et al., 2020), sa présence rapportée dans les fruits chinois pourrait éventuellement provenir de la fertilisation enrichie en sélénium (Huang et al., 2023; Žitná et al., 2018). Par ailleurs, la supplémentation des plantes en sélénium pourrait se répercuter de façon positive sur la composition des baies par effet de cascade. Une étude rapporte que des apports exogènes en sélénium peuvent augmenter la teneur en acide chlorogénique, chlorophylle et caroténoïdes des feuilles du goji *L. chinense* (Dong et al., 2013). Chez la tomate, la supplémentation des plantes en sélénium peut se répercuter de façon positive également sur plusieurs paramètres associés à la « valeur santé » des fruits récoltés : hausse des teneurs en caroténoïdes, acide ascorbique, flavonoïdes, etc. (Hernández-Hernández et al., 2019; Schiavon et al., 2013; Xu et al., 2022; Zhu et al., 2018). Cet exemple sur le sélénium peut paraître anecdotique, mais à une plus grande échelle, ces observations amènent au constat qu'il est difficile de séparer les effets-santé des aliments de ceux des microconstituants, et difficile de séparer l'aliment de son parcours agronomique ou de son intégration dans une diète alimentaire. Si certaines pratiques culturelles peuvent s'avérer

bénéfiques pour la qualité et la valeur santé, elles peuvent aussi l'altérer. Par exemple, une mauvaise gestion de la fertilisation ou protection des cultures pourrait se répercuter sur les éléments traces métalliques toxiques et résidus de pesticides présents dans les fruits potentiellement défavorables la santé humaine (Dorais et al., 2008; Mörtl et al., 2022; Zhang et al., 2022).

Cela amène au concept de « food synergy » qui consiste, en nutrition humaine, à accorder plus d'importance à la diète globale qu'à ses composantes individuelles (Jacobs & Tapsell, 2013; Moughan, 2020). Par exemple, on ne recommanderait pas de consommer spécifiquement du vin rouge pour une supplémentation en composés phénoliques d'intérêts pourtant nombreux dans cette matrice (Perez-Vizcaino & Fraga, 2018; Yoo et al., 2010). Autre exemple : la consommation des fruits est recommandée mais pas celle de jus de fruits dans un contexte de santé publique (Choi et al., 2019; Guerra Valencia et al., 2023; Monsivais & Rehm, 2012; Tetens & Alinia, 2009).

Cela motive à adopter une approche personnalisée, au cas par cas, pour la promotion des microconstituants dans le contexte des maladies métaboliques et cardiovasculaires (Manach et al., 2017). Dans un contexte d'obésité par exemple, alors que tout un pan de la littérature décrit le rôle prometteur des microconstituants ou des fibres alimentaires, d'autres études pointent du doigt l'environnement obésogène ou le contexte socio-économique, d'autres études la pertinence de l'activité physique et de la dépense énergétique, d'autres études insistent sur les causes génétiques de prédisposition à l'obésité, d'autres études sur la qualité de la prise en charge de la pathologie elle-même, d'autres encore suggèrent que ce problème ne peut être traité qu'à une échelle de politique de santé publique avec la participation de l'industrie et de la société civile bien au-delà de la communauté scientifique, etc. (Bischoff et al., 2017; Forouhi, 2023; Mazza et al., 2020; Roberto et al., 2015; Thom & Lean, 2017). Par rapport à nos travaux : la consommation de matrices riches en  $\beta$ -carotène, largement recommandable (sans excès) en population générale, semble en revanche être un facteur aggravant du cancer des poumons chez les fumeurs (Goralczyk, 2009; Huang et al., 2018; Kordiak et al., 2022). Cela montre la pertinence et la force des approches inter/trans/multidisciplinaires qui mettent en évidence le niveau d'interaction élevé de phénomènes complexes et imbriqués. Dès lors, concernant la tomate ou la baie de goji, on peut également questionner la pertinence de la supplémentation en une seule matrice végétale alors qu'il y a peu de débat sur le fait qu'une alimentation suffisamment riche et diversifiée en légumes et fruits soit bénéfique sur la santé métabolique et

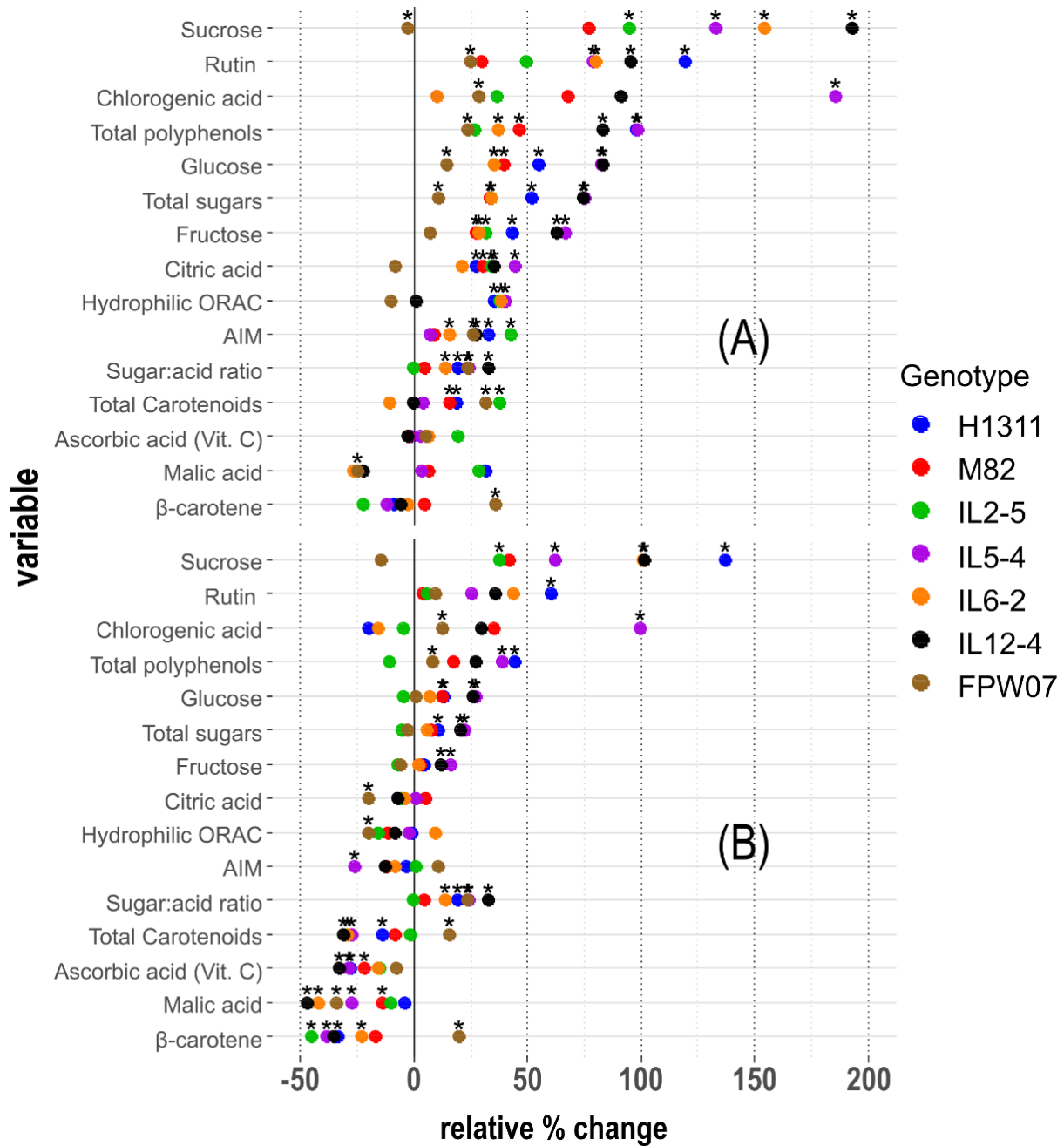
cardiovasculaire (Heiman & Greenway, 2016; Lee et al., 2019; Tian et al., 2018; Zurbau et al., 2020).

Ceci étant dit, ce sont les travaux de recherche « monodisciplinaires » qui sont à la source des réflexions qui poussent vers une approche plus transversale. Une approche plus sectorisée offre aux experts d'un domaine spécifique la possibilité de maîtriser et de standardiser les facteurs confondants qui affectent une problématique de recherche donnée et de développer des méthodologies complexes : considération de l'effet d'un microconstituant à l'échelle de l'isomère ou de ses fonctions moléculaires, développement de modèles animaux et de souches génétiquement contrôlées qui mettent en évidence le rôle spécifique d'un gène et/ou d'une enzyme, le développement de modèles *in vitro* pour améliorer leur pertinence physiologique, etc. Ce constat amène à un paradoxe inhérent à la recherche interdisciplinaire : des ambitions plus grandes, des questions plus nombreuses mais des ressources scientifiques, humaines et financières toujours limitées. Ces contraintes se traduisent souvent par des résultats de recherche qui restent plus superficiels ou fragmentés que les travaux monodisciplinaires (Bromham et al., 2016; Graff, 2016; Jacobs, 2014; MacLeod, 2018; Mossman, 2014; Peterson, 2008; Woelert & Millar, 2013).

Dans ces travaux de thèse, ces considérations ouvrent la voie à de nombreuses perspectives de recherche. De façon non exhaustive, cela inclut la vérification de la répétabilité de nos résultats. Cela peut impliquer des variations dans les génotypes des fruits étudiés ou des modèles animaux utilisés, ou encore le passage de la culture en serre à une culture en plein champ, plus proche des systèmes de cultures horticoles. L'objectif serait d'évaluer dans quelle mesure nos résultats ne dépendent pas uniquement de nos conditions expérimentales (Biais et al., 2014; Massonnet et al., 2010; Steinfath et al., 2018; Voelkl et al., 2020). L'étude de l'élaboration de la valeur santé des fruits pourrait être envisagée dans un contexte multi-stress en lien avec le réchauffement climatique (température élevée, teneur atmosphérique en CO<sub>2</sub> élevé en plus du DI) (Chaudhry & Sidhu, 2022; Loladze et al., 2019; Sun et al., 2023), et l'effet du génotype sur la composition et les effets santé des fruits mériterait d'être évalué sur goji (Islam et al., 2017; Poggioni et al., 2022). La caractérisation éventuelle des caroténoïdes à l'échelle de l'isomère, compte tenu des différences de bioaccessibilité/biodisponibilité ou de potentiel antioxydant entre les isomères d'une même molécule, en lien avec les traitements post-récolte et la matrice alimentaire, pourrait être envisagée (Anese et al., 2013; Bhatkar et al., 2021; Böhm et al., 2002; Unlu et al., 2007; Van Boekel et al., 2010). Une autre perspective consisterait à mieux considérer les interactions hôte x microbiote dans l'évaluation des effets-santé en lien avec les

microconstituants des fruits et légumes (Lessard-Lord et al., 2023; Morand et al., 2020). De façon très concrète, ces travaux apportent des données préliminaires en lien avec des perspectives de recherche menées par les laboratoires PSH et C2VN dans lesquels s'inscrivent ces travaux. Le projet *Gojiqual* (Métaprogramme SYALSA, INRAE) étudiera comment le terroir et les pratiques des producteurs français peuvent influencer la valeur santé de la baie de goji, et le projet *TomHealth* (ANR-20-CE21-0010) aboutira à une évaluation des effets d'une supplémentation en poudre de tomate issue de différents traitements post-récolte répondant à des standards industriels dans un contexte clinique incluant des patients prédiabétiques.

En conclusion, ces travaux de thèse ont montré que la valeur santé de fruits tels que la tomate et la baie de goji est influencée par de nombreux facteurs répartis tout au long de la chaîne de production. Les résultats ont suggéré que, même dans des conditions production normalisées, le choix du génotype au sein d'une espèce comme la tomate peut significativement modifier le profil en microconstituants des fruits, et moduler ainsi leurs effets sur la santé métabolique, comme observé dans un modèle d'obésité chez la souris. De plus, nous avons montré que le déficit hydrique a pu modifier la morphologie des fruits et potentiellement influencer les microconstituants et générer des interactions altérant la bioaccessibilité des caroténoïdes. Nous avons montré que les traitements post-récolte pouvaient largement modifier la composition des baies de goji et la quantité de caroténoïdes incorporées dans les micelles mixtes produites issues d'un protocole de digestion *in vitro*. Enfin, nous avons vu que des bénéfices à court terme sur le fonctionnement vasculaire pouvaient éventuellement émerger avec une supplémentation aiguë dans un contexte d'hyperglycémie chez le rat. À l'avenir, il est important de concilier les enjeux de la production agricole et de la santé humaine dans un contexte où les désordres environnementaux générés par l'activité humaine sont toujours plus nombreux et préoccupants (Fanzo & Miachon, 2023; Gondran & Boutaud, 2014; Richardson et al., 2023; Woodside et al., 2023).



**Figure 40 – Synthèse de l'effet du déficit hydrique, appliqué de l'anthèse à la récolte, sur les variations relatives des paramètres de qualité entre les fruits issus du déficit hydrique et ceux issus de l'irrigation contrôlée chez les fruits de tomate (génotypes H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et de goji (génotype FPW07). Les analyses se concentrent sur les paramètres de qualité communs entre tomate et goji et mesurés sur la base de la matière fraîche (A) ou de la matière sèche (B). Les étoiles indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les fruits issus du déficit hydrique et ceux issus de l'irrigation contrôlée avec le test post-hoc de la plus petite différence significative de Fischer, suivi de l'ajustement de la valeur p pour le contrôle des faux positifs de Benjamini-Hochberg.**

# Bibliographie

## Bibliographie

- Abo El-Magd, N. F., Barbosa, P. O., Nick, J., Covalero, V., Grignetti, G., & Bermano, G. (2022). Selenium, as selenite, prevents adipogenesis by modulating selenoproteins gene expression and oxidative stress-related genes. *Nutrition*, *93*, 111424. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111424>
- Acierno, C., Caturano, A., Pafundi, P. C., Nevola, R., Adinolfi, L. E., & Sasso, F. C. (2020). Nonalcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes: Pathophysiological mechanisms shared between the two faces of the same coin. *Explor. Med*, *1*(5), 10–37349.
- Aguilera, P., Becerra, N., Alvear, M., Ortiz, N., Turrini, A., Azcón-Aguilar, C., López-Gómez, M., Romero, J. K., Massri, M., Seguel, A., Mora, M. de L. L., & Borie, F. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi from acidic soils favors production of tomatoes and lycopene concentration. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *102*(6), 2352–2358. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11573>
- Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome - A new world-wide definition. A consensus statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine*, *23*(5), 469–480. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>
- Albuquerque, D., Nóbrega, C., Manco, L., & Padez, C. (2017). The contribution of genetics and environment to obesity. *British Medical Bulletin*, *123*(1), 159–173. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldx022>
- Ali, M. Y., Sina, A. A. I., Khandker, S. S., Neesa, L., Tanvir, E. M., Kabir, A., Khalil, M. I., & Gan, S. H. (2021). Nutritional composition and bioactive compounds in tomatoes and their impact on human health and disease: A review. *Foods*, *10*(1). <https://doi.org/10.3390/foods10010045>
- Alordzinu, K. E., Appiah, S. A., Aasmi, A. AL, Darko, R. O., Li, J., Lan, Y., Adjibolosoo, D., Lian, C., Wang, H., Qiao, S., & Liao, J. (2022). Evaluating the Influence of Deficit Irrigation on Fruit Yield and Quality Indices of Tomatoes Grown in Sandy Loam and Silty Loam Soils. *Water (Switzerland)*, *14*(11). <https://doi.org/10.3390/w14111753>
- Alseekh, S., Tohge, T., Wendenberg, R., Scossa, F., Omranian, N., Li, J., Kleessen, S., Giavalisco, P., Pleban, T., Mueller-Roeber, B., Zamir, D., Nikoloski, Z., & Fernie, A. R. (2015). Identification and mode of inheritance of quantitative trait loci for secondary metabolite abundance in tomato. *Plant Cell*, *27*(3), 485–512. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.132266>
- Amengual, J., Gouranton, E., van Helden, Y. G. J., Hessel, S., Ribot, J., Kramer, E., Kiec-Wilk, B., Razny, U., Lietz, G., Wyss, A., Dembinska-Kiec, A., Palou, A., Keijer, J., Landrier, J. F., Bonet, M. L., & von Lintig, J. (2011). Beta-carotene reduces body adiposity of mice via BCMO1. *PLoS ONE*, *6*(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020644>
- Anese, M., Mirolo, G., Fabbro, A., & Lippe, G. (2013). Lycopene bioaccessibility and bioavailability from processed foods. *Journal of Scientific and Industrial Research*, *72*(9–10), 543–547.
- Arbex de Castro Vilas Boas, A., Page, D., Giovinazzo, R., Bertin, N., & Fanciullino, A. L. (2017). Combined effects of irrigation regime, genotype, and harvest stage determine tomato fruit quality and aptitude for processing into puree. *Frontiers in Plant Science*, *8*(October). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01725>
- Armoza, A., Haim, Y., Basiri, A., Wolak, T., & Paran, E. (2013). Tomato extract and the carotenoids lycopene and lutein improve endothelial function and attenuate inflammatory NF-κB signaling in endothelial cells. *Journal of Hypertension*, *31*(3), 521–529.
- Aslani, L., Breniere, T., Fanciullino, A., & Bertin, N. (2023). Evidence of the very early effects of water deficit on cell division and expansion processes in tomato ovaries. *Environmental and Experimental Botany*, *207*(October 2022), 105227. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105227>
- Atkinson, N. J., Dew, T. P., Orfila, C., & Urwin, P. E. (2011). Influence of combined biotic and abiotic stress on nutritional quality parameters in tomato (*Solanum Lycopersicum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(17), 9673–9682. <https://doi.org/10.1021/jf202081t>
- Aura, A. M., Mattila, I., Hyötyläinen, T., Gopalacharyulu, P., Cheynier, V., Souquet, J. M., Bes, M., Le Bourvellec, C., Guyot, S., & Orešič, M. (2013). Characterization of microbial metabolism of Syrah grape products in an in vitro colon model using targeted and non-targeted analytical approaches. *European Journal of Nutrition*,

52(2), 833–846. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0391-8>

- Azzu, V., Vacca, M., Virtue, S., Allison, M., & Vidal-Puig, A. (2020). Adipose Tissue-Liver Cross Talk in the Control of Whole-Body Metabolism: Implications in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*, *158*(7), 1899–1912. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.12.054>
- Baldazzi, V., Génard, M., & Bertin, N. (2017). Cell division, endoreduplication and expansion processes: Setting the cell and organ control into an integrated model of tomato fruit development. *Acta Horticulturae*, *1182*, 257–264. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1182.31>
- Basu, A., & Imrhan, V. (2007). Tomatoes versus lycopene in oxidative stress and carcinogenesis: Conclusions from clinical trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, *61*(3), 295–303. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602510>
- Battault, S., Renguet, E., Van Steenberghe, A., Horman, S., Beauloye, C., & Bertrand, L. (2020). Myocardial glucotoxicity: Mechanisms and potential therapeutic targets. *Archives of Cardiovascular Diseases*, *113*(11), 736–748. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2020.06.006>
- Bazzocco, S., Mattila, I., Guyot, S., Renard, C. M. G. C., & Aura, A. M. (2008). Factors affecting the conversion of apple polyphenols to phenolic acids and fruit matrix to short-chain fatty acids by human faecal microbiota in vitro. *European Journal of Nutrition*, *47*(8), 442–452. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-0747-2>
- Bertin, N. (2005). Analysis of the tomato fruit growth response to temperature and plant fruit load in relation to cell division, cell expansion and DNA endoreduplication. *Annals of Botany*, *95*(3), 439–447. <https://doi.org/10.1093/aob/mci042>
- 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. <https://doi.org/10.1023/A:1015075821976>
- Bertin, N., & Génard, M. (2018). Tomato quality as influenced by preharvest factors. *Scientia Horticulturae*, *233*(February), 264–276. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.056>
- Bertin, N., Génard, M., & Fishman, S. (2003). A model for an early stage of tomato fruit development: Cell multiplication and cessation of the cell proliferative activity. *Annals of Botany*, *92*(1), 65–72. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg111>
- Beydoun, Chen, X., Jha, K., Beydoun, H. A., Zonderman, A. B., & Canas, J. A. (2019). Carotenoids, vitamin A, and their association with the metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition Reviews*, *77*(1), 32–45. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy044>
- Beydoun, M. A., Shroff, M. R., Chen, X., Beydoun, H. A., Wang, Y., & Zonderman, A. B. (2011). Serum antioxidant status is associated with metabolic syndrome among U.S. adults in recent national surveys. *Journal of Nutrition*, *141*(5), 903–913. <https://doi.org/10.3945/jn.110.136580>
- Bhatkar, N. S., Shirkole, S. S., Mujumdar, A. S., & Thorat, B. N. (2021). Drying of tomatoes and tomato processing waste: a critical review of the quality aspects. *Drying Technology*, *39*(11), 1720–1744. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1910832>
- Biais, B., Bénard, C., Beauvoit, B., Colombié, S., Prodhomme, D., Ménard, G., Bernillon, S., Gehl, B., Gautier, H., Ballias, P., Mazat, J. P., Sweetlove, L., Génard, M., & Gibon, Y. (2014). Remarkable reproducibility of enzyme activity profiles in tomato fruits grown under contrasting environments provides a roadmap for studies of fruit metabolism. *Plant Physiology*, *164*(3), 1204–1221. <https://doi.org/10.1104/pp.113.231241>
- Bielli, A., Scioli, M. G., Mazzaglia, D., Doldo, E., & Orlandi, A. (2015). Antioxidants and vascular health. *Life Sciences*, *143*, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.11.012>
- Bischoff, S. C., Boirie, Y., Cederholm, T., Chourdakis, M., Cuerda, C., Delzenne, N. M., Deutz, N. E., Fouque, D., Genton, L., Gil, C., Koletzko, B., Leon-Sanz, M., Shamir, R., Singer, J., Singer, P., Stroebele-Benschop, N., Thorell, A., Weimann, A., & Barazzoni, R. (2017). Towards a multidisciplinary approach to understand and manage obesity and related diseases. *Clinical Nutrition*, *36*(4), 917–938. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.11.007>
- Bogale, A., Nagle, M., Latif, S., Aguila, M., & Müller, J. (2016). Regulated deficit irrigation and partial root-zone drying irrigation impact bioactive compounds and antioxidant activity in two select tomato cultivars. *Scientia*



- Böhm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., & Schwartz, S. J. (2002). Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene, lycopene, and zeaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 221–226. <https://doi.org/10.1021/jf010888q>
- Böhm, Volker, Lietz, G., Olmedilla-Alonso, B., Phelan, D., Reboul, E., Bánati, D., Borel, P., Corte-Real, J., De Lera, A. R., Desmarchelier, C., Dulinska-Litewka, J., Landrier, J. F., Milisav, I., Nolan, J., Porrini, M., Riso, P., Roob, J. M., Valanou, E., Wawrzyniak, A., ... Bohn, T. (2021). From carotenoid intake to carotenoid blood and tissue concentrations-implications for dietary intake recommendations. *Nutrition Reviews*, 79(5), 544–573. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuaa008>
- Bohn, T., Bonet, M. L., Borel, P., Keijer, J., Landrier, J. F., Milisav, I., Ribot, J., Riso, P., Winklhofer-Roob, B., Sharoni, Y., Corte-Real, J., Van Helden, Y., Loizzo, M. R., Poljšak, B., Porrini, M., Roob, J., Trebše, P., Tundis, R., Wawrzyniak, A., ... Dulińska-Litewka, J. (2021). Mechanistic aspects of carotenoid health benefits - Where are we now? *Nutrition Research Reviews*, 34(2), 276–302. <https://doi.org/10.1017/S0954422421000147>
- Bohn, T., Mcdougall, G. J., Alegría, A., Alminger, M., Arrigoni, E., Aura, A. M., Brito, C., Cilla, A., El, S. N., Karakaya, S., Martínez-Cuesta, M. C., & Santos, C. N. (2015). Mind the gap-deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites-a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. *Molecular Nutrition and Food Research*, 59(7), 1307–1323. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400745>
- Bolea, G. (2019). Oxydation des acides gras polyinsaturés n-6 au cours de la digestion et altération de la fonction vasculaire: Stratégie de prévention antioxydante par supplémentation en polyphénols de pomme. Université d'Avignon.
- Bona, E., Todeschini, V., Cantamessa, S., Cesaro, P., Copetta, A., Lingua, G., Gamalero, E., Berta, G., & Massa, N. (2018). Combined bacterial and mycorrhizal inocula improve tomato quality at reduced fertilization. *Scientia Horticulturae*, 234(January), 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.026>
- Bonet, M. L., Canas, J. A., Ribot, J., & Palou, A. (2015). Carotenoids and their conversion products in the control of adipocyte function, adiposity and obesity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 572, 112–125. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.02.022>
- Bonet, M. L., Ribot, J., Galmés, S., Serra, F., & Palou, A. (2020). Carotenoids and carotenoid conversion products in adipose tissue biology and obesity: Pre-clinical and human studies. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), 158676. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158676>
- Borel, P. (2003). Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 41(8), 979–994.
- Borel, P. (2014). Biodisponibilité des phytomicronutriments: Mécanismes impliqués et stratégies d'amélioration. *Innovations Agronomiques*, 42, 27–37.
- Borel, P., Hammaz, F., Morand-Laffargue, L., Creton, B., Halimi, C., Sabatier, D., & Desmarchelier, C. (2021a). Using black soldier fly larvae reared on fruits and vegetables waste as a sustainable dietary source of provitamin a carotenoids. *Food Chemistry*, 359(April), 129911. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129911>
- Borel, P., Hammaz, F., Morand-Laffargue, L., Creton, B., Halimi, C., Sabatier, D., & Desmarchelier, C. (2021b). Using black soldier fly larvae reared on fruits and vegetables waste as a sustainable dietary source of provitamin a carotenoids. *Food Chemistry*, 359. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129911>
- Boulton, M., Rózanowska, M., & Rózanowski, B. (2001). Retinal photodamage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 64(2–3), 144–161. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(01\)00227-5](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(01)00227-5)
- Bradley, M. J., Black, M., Arballo, J. R., Amengual, J., & Erdman, J. W. (2023). Lycopene Accumulation in Transgenic Mice Lacking One or Both Carotenoid Cleaving Enzymes. *Journal of Nutrition*, 153(8), 2216–2227. <https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2023.05.025>
- Brahmam, B., Begum, F., Yarlagadda, D. L., Shenoy, R. R., & Lewis, S. A. (2023). Subtle Intricacies Identified during Streptozotocin-Induced Diabetes in Wistar Rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and*

- Breniere, T., Fanciullino, A. L., Dumont, D., Le Bourvellec, C., Riva, C., Landrier, J. F., & Bertin, N. (2024). Effect of long-term deficit irrigation on tomato and goji berry quality: from fruit composition to in vitro bioaccessibility of carotenoids. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1339536.
- Breniere, T., Fanciullino, A. L., Brunel, B., Laugier, P., Landrier, J.-F., Riva, C., & Bertin, N. (2022). Carotenoid content in mature tomato fruit under soil water deficit: accounting the role of pre-maturing processes through chlorophyll kinetics and cell microscopy. *Acta Horticulturae*, 1353, 1–8. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1353.1>
- Bromham, L., Dinnage, R., & Hua, X. (2016). Interdisciplinary research has consistently lower funding success. *Nature*, 534(7609), 684–687. <https://doi.org/10.1038/nature18315>
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(December), 813–820.
- Bu, N., Xu, H., Zhao, Y., Liu, D., & others. (2019). Study on postharvest quality and physiology changes of *Lycium barbarum* with different maturities. *Storage and Process*, 19(1), 1–8.
- Burton-Freeman, B. M., & Sesso, H. D. (2014). Whole food versus supplement: Comparing the clinical evidence of tomato intake and lycopene supplementation on cardiovascular risk factors. *Advances in Nutrition*, 5(5), 457–485. <https://doi.org/10.3945/an.114.005231>
- Calvin, M., & Bassham, J. A. (1962). The photosynthesis of carbon compounds. *Journal of the Franklin Institute*, 274(1), 60. [https://doi.org/10.1016/0016-0032\(62\)90903-1](https://doi.org/10.1016/0016-0032(62)90903-1)
- Cammarano, D., Jamshidi, S., Hoogenboom, G., Ruane, A. C., Niyogi, D., & Ronga, D. (2022). Processing tomato production is expected to decrease by 2050 due to the projected increase in temperature. *Nature Food*, 3(6), 437–444. <https://doi.org/10.1038/s43016-022-00521-y>
- Canene-Adams, K., Campbell, J. K., Zaripeh, S., Jeffery, E. H., & Erdman, J. W. (2005). The tomato as a functional food. *Journal of Nutrition*, 135(5), 1226–1230. <https://doi.org/10.1093/jn/135.5.1226>
- Cao, Y. L., Li, Y. long, Fan, Y. F., Li, Z., Yoshida, K., Wang, J. Y., Ma, X. K., Wang, N., Mitsuda, N., Kotake, T., Ishimizu, T., Tsai, K. C., Niu, S. C., Zhang, D., Sun, W. H., Luo, Q., Zhao, J. H., Yin, Y., Zhang, B., ... Liu, Z. J. (2021). Wolfberry genomes and the evolution of *Lycium* (Solanaceae). *Communications Biology*, 4(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02152-8>
- Cardinault, N., Tourniaire, F., Astier, J., Couturier, C., Perrin, E., Dalifard, J., Seipelt, E., Mounien, L., Letullier, C., Bonnet, L., Karkeni, E., Delbah, N., Georgé, S., & Landrier, J. F. (2020). Poplar Propolis Ethanolic Extract Reduces Body Weight Gain and Glucose Metabolism Disruption in High-Fat Diet-Fed Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 64(18), 1–10. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202000275>
- Caris-Veyrat, C., Amiot, M. J., Tyssandier, V., Grasselly, D., Buret, M., Mikolajczak, M., Guiland, J. C., Bouteloup-Demange, C., & Borel, P. (2004). Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6503–6509. <https://doi.org/10.1021/jf0346861>
- Carpentier, S., Knaus, M., & Suh, M. (2009). Associations between lutein, zeaxanthin, and age-related macular degeneration: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(4), 313–326. <https://doi.org/10.1080/10408390802066979>
- Carrasco, F. J., Millán, S., Prieto, M. H., Campillo, C., & others. (2018). New technologies for the determination of spatial variability and monitoring of fertilization of tomato in plot. *Agricola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura, Citricultura, Vid, Arroz*, 411, 206–211.
- Castenmiller, J. J. M., & West, C. E. (1998). Bioavailability and bioconversion of carotenoids. *Annual Review of Nutrition*, 18, 19–38. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.18.1.19>
- Cecchini, M., & Vuik, S. (2019). The Heavy Burden of Obesity. In *The Economics of Prevention*. OECD. <https://doi.org/10.1787/67450d67-en>
- Ceriello, A., Kumar, S., Piconi, L., Esposito, K., & Giugliano, D. (2007). Simultaneous control of hyperglycemia and oxidative stress normalizes endothelial function in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 30(3), 649–654.

<https://doi.org/10.2337/dc06-2048>

- Ćetković, G., Savatović, S., Čanadanović-Brunet, J., Djilas, S., Vulić, J., Mandić, A., & Četojević-Simin, D. (2012). Valorisation of phenolic composition, antioxidant and cell growth activities of tomato waste. *Food Chemistry*, *133*(3), 938–945. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.007>
- Chandra, H. M., Shanmugaraj, B. M., Srinivasan, B., & Ramalingam, S. (2012). Influence of Genotypic Variations on Antioxidant Properties in Different Fractions of Tomato. *Journal of Food Science*, *77*(11). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02962.x>
- Chanet, A., Milenkovic, D., Manach, C., Mazur, A., & Morand, C. (2012). Citrus flavanones: What is their role in cardiovascular protection? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(36), 8809–8822. <https://doi.org/10.1021/jf300669s>
- Chaudhry, S., & Sidhu, G. P. S. (2022). Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: a comprehensive review. In *Plant Cell Reports* (Vol. 41, Issue 1). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02759-5>
- Chen, J., Chao, C. T., & Wei, X. (2018). Gojiberry Breeding: Current Status and Future Prospects. *Breeding and Health Benefits of Fruit and Nut Crops*, 3–20. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76388>
- Cheniclet, C., Rong, W. Y., Causse, M., Frangne, N., Bolling, L., Carde, J. P., & Renaudin, J. P. (2005). Cell expansion and endoreduplication show a large genetic variability in pericarp and contribute strongly to tomato fruit growth. *Plant Physiology*, *139*(4), 1984–1994. <https://doi.org/10.1104/pp.105.068767>
- Chitchumroonchokchai, C., & Failla, M. L. (2006). Hydrolysis of zeaxanthin esters by carboxyl ester lipase during digestion facilitates micellarization and uptake of the xanthophyll by Caco-2 human intestinal cells. *Journal of Nutrition*, *136*(3), 588–594. <https://doi.org/10.1093/jn/136.3.588>
- Cho, A. S., Jeon, S. M., Kim, M. J., Yeo, J., Seo, K. II, Choi, M. S., & Lee, M. K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(3), 937–943. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.01.003>
- Choi, A., Ha, K., Joung, H., & Song, Y. J. (2019). Frequency of Consumption of Whole Fruit, Not Fruit Juice, Is Associated with Reduced Prevalence of Obesity in Korean Adults. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *119*(11), 1842-1851.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2019.04.015>
- Choi, H., Yi, T., & Ha, S. H. (2021). Diversity of Plastid Types and Their Interconversions. *Frontiers in Plant Science*, *12*(June), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.692024>
- Choudhury, N. K., & Behera, R. K. (2001). Photoinhibition of photosynthesis: Role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. In *Photosynthetica* (Vol. 39, Issue 4, pp. 481–488). <https://doi.org/10.1023/A:1015647708360>
- Cicero, A. F. G., & Colletti, A. (2017). Effects of Carotenoids on Health: Are All the Same? Results from Clinical Trials. *Current Pharmaceutical Design*, *23*(17), 2422–2427. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170207095459>
- Cocaliadis, M. F., Fernández-Muñoz, R., Pons, C., Orzaez, D., & Granell, A. (2014). Increasing tomato fruit quality by enhancing fruit chloroplast function. A double-edged sword? In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 65, Issue 16, pp. 4589–4598). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru165>
- Collins, E. J., Bowyer, C., Tsouza, A., & Chopra, M. (2022). Tomatoes : An Extensive Review of the Associated Health Their Cultivation. *Biology*, *11*,239, 1–44.
- Cookson, P. J., Kiano, J. W., Shipton, C. A., Fraser, P. D., Romer, S., Schuch, W., Bramley, P. M., & Pyke, K. A. (2003). Increases in cell elongation, plastid compartment size and phytoene synthase activity underlie the phenotype of the high pigment-1 mutant of tomato. *Planta*, *217*(6), 896–903. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1065-9>
- Coronel, J., Pinos, I., & Amengual, J. (2019).  $\beta$ -carotene in obesity research: Technical considerations and current status of the field. *Nutrients*, *11*(4). <https://doi.org/10.3390/nu11040842>
- Coronel, J., Yu, J., Pilli, N., Kane, M. A., & Amengual, J. (2022). The conversion of  $\beta$ -carotene to vitamin A in adipocytes drives the anti-obesogenic effects of  $\beta$ -carotene in mice. *Molecular Metabolism*, *66*(November), 101640. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2022.101640>

- Corrales, P., Vidal-Puig, A., & Medina-Gómez, G. (2021). Obesity and pregnancy, the perfect metabolic storm. *European Journal of Clinical Nutrition*, 75(12), 1723–1734. <https://doi.org/10.1038/s41430-021-00914-5>
- Cos, J., Doblaz-Reyes, F., Jury, M., Marcos, R., Bretonnière, P. A., & Samsó, M. (2022). The Mediterranean climate change hotspot in the CMIP5 and CMIP6 projections. *Earth System Dynamics*, 13(1), 321–340. <https://doi.org/10.5194/esd-13-321-2022>
- Coyago-Cruz, E., Corell, M., Moriana, A., Hernanz, D., Benítez-González, A. M., Stinco, C. M., & Meléndez-Martínez, A. J. (2018). Antioxidants (carotenoids and phenolics) profile of cherry tomatoes as influenced by deficit irrigation, ripening and cluster. *Food Chemistry*, 240(August 2017), 870–884. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.028>
- Cremonini, E., Bettaieb, A., Haj, F. G., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. (2016). (-)-Epicatechin improves insulin sensitivity in high fat diet-fed mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 599, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.03.006>
- Cui, C., Zhao, D., Huang, J., & Hao, J. (2022). Progress on research and development of goji berry drying: a review. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 435–449. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2046054>
- Cui, J., Shao, G., Lu, J., Keabetswe, L., & Hoogenboom, G. (2020). Yield, quality and drought sensitivity of tomato to water deficit during different growth stages. *Scientia Agricola*, 77(2). <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2018-0390>
- Dai, A., Zhao, T., & Chen, J. (2018). Climate Change and Drought: a Precipitation and Evaporation Perspective. *Current Climate Change Reports*, 4(3), 301–312. <https://doi.org/10.1007/s40641-018-0101-6>
- Dal, S., & Sigrist, S. (2016). The Protective Effect of Antioxidants Consumption on Diabetes and Vascular Complications. *Diseases*, 4(4), 24. <https://doi.org/10.3390/diseases4030024>
- Dall'Osto, L., Caffarri, S., & Bassi, R. (2005). A mechanism of nonphotochemical energy dissipation, independent from PsbS, revealed by a conformational change in the antenna protein CP26. *Plant Cell*, 17(4), 1217–1232. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.030601>
- Daniells, S. (2007). *Goji berries not novel food, says FSA*. <https://www.nutraingredients.com/Article/2007/06/18/Goji-berries-not-novel-food-says-FSA>
- Dariva, F. D., Pessoa, H. P., Copati, M. G. F., de Almeida, G. Q., de Castro Filho, M. N., Picoli, E. A. de T., da Cunha, F. F., & Nick, C. (2021). Yield and fruit quality attributes of selected tomato introgression lines subjected to long-term deficit irrigation. *Scientia Horticulturae*, 289. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110426>
- Davies, J. N., Hobson, G. E., Mcglasson, W. B., & Hobson, G. E. (2009). *Critical Reviews in Food Science & Nutrition The constituents of tomato fruit — the influence of environment , nutrition , and genotype*. 0248. <https://doi.org/10.1080/10408398109527317>
- Dawson, C. (2022). *ggprism: A “ggplot2” Extension Inspired by “GraphPad Prism.”*
- DeFronzo, R. A., & Abdul-Ghani, M. (2011). Assessment and treatment of cardiovascular risk in prediabetes: Impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. *American Journal of Cardiology*, 108(3 SUPPL.), 3B-24B. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2011.03.013>
- Dere, S., Kusvuran, S., & Dasgan, H. Y. (2022). Does drought increase the antioxidant nutrient capacity of tomatoes? *International Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 6633–6645. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16008>
- Derghal, A., Djelloul, M., Azzarelli, M., Degocon, S., Tourniaire, F., Landrier, J. F., & Mounien, L. (2018). MicroRNAs are involved in the hypothalamic leptin sensitivity. *Epigenetics*, 13(10–11), 1127–1140. <https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1543507>
- Desmarchelier, C. (2020). Effects of the food matrix on the bioavailability of lipid micronutrients and phytochemicals. *Cahiers de Nutrition et de Dietétique*, 55(5), 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.cnd.2020.05.001>
- Desmarchelier, C., & Borel, P. (2017). Overview of carotenoid bioavailability determinants: From dietary factors to host genetic variations. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 270–280.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.03.002>

- Desmarchelier, C., Landrier, J. F., & Borel, P. (2018). Genetic factors involved in the bioavailability of tomato carotenoids. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 21(6), 489–497. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000515>
- Dietz, W. H., & Pryor, S. (2022). How Can We Act to Mitigate the Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change? *Current Obesity Reports*, 11(3), 61–69. <https://doi.org/10.1007/s13679-021-00464-8>
- Dong, J. Z., Wang, Y., Wang, S. H., Yin, L. P., Xu, G. J., Zheng, C., Lei, C., & Zhang, M. Z. (2013). Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 310–315. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5758>
- Donno, D., Beccaro, G. L., Mellano, M. G., Cerutti, A. K., & Bounous, G. (2015). Goji berry fruit (*Lycium* spp.): Antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation. *Journal of Functional Foods*, 18, 1070–1085. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.020>
- Dorais, M., Ehret, D. L., & Papadopoulos, A. P. (2008). Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: From the seed to the consumer. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 231–250. <https://doi.org/10.1007/s11101-007-9085-x>
- Dumont, D., Danielato, G., Chastellier, A., Saint Oyant, L. H., Fanciullino, A. L., & Lugan, R. (2020). Multi-targeted metabolic profiling of carotenoids, phenolic compounds and primary metabolites in goji (*Lycium* spp.) berry and tomato (*solanum lycopersicum*) reveals inter and intra genus biomarkers. *Metabolites*, 10(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/metabo10100422>
- Durigon, A., de Souza, P. G., Carciofi, B. A. M., & Laurindo, J. B. (2016). Cast-tape drying of tomato juice for the production of powdered tomato. *Food and Bioprocess Processing*, 100, 145–155. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.06.019>
- EC. (2021). EU Agricultural Outlook for Markets, Income and Environment, 2021–2031. European Commission, DG Agriculture and Rural Development.
- Egea, I., Barsan, C., Bian, W., Purgatto, E., Latché, A., Chervin, C., Bouzayen, M., & Pech, J. C. (2010). Chromoplast differentiation: Current status and perspectives. *Plant and Cell Physiology*, 51(10), 1601–1611. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq136>
- Egea, I., Bian, W., Barsan, C., Jauneau, A., Pech, J. C., Latché, A., Li, Z., & Chervin, C. (2011). Chloroplast to chromoplast transition in tomato fruit: Spectral confocal microscopy analyses of carotenoids and chlorophylls in isolated plastids and time-lapse recording on intact live tissue. *Annals of Botany*, 108(2), 291–297. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr140>
- Engin, A. (2017). Endothelial dysfunction in obesity. *Obesity and Lipotoxicity*, 345–379.
- Erian, W., Pulwarty, R., Vogt, J. V, AbuZeid, K., Bert, F., Bruntrup, M., El-Askary, H., de Estrada, M., Gaupp, F., Grundy, M., & others. (2021). *GAR Special Report on Drought 2021*.
- 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. <https://doi.org/10.1093/genetics/141.3.1147>
- Eshed, Yuval, & Zamir, D. (1994). A genomic library of *Lycopersicon pennellii* in *L. esculentum*: A tool for fine mapping of genes. *Euphytica*, 79(3), 175–179. <https://doi.org/10.1007/BF00022516>
- Espley, R. V, & Jaakola, L. (2023). *The role of environmental stress in fruit pigmentation*. July, 1–17. <https://doi.org/10.1111/pce.14684>
- Fabian, R. H., & Kent, T. A. (2012). Hyperglycemia accentuates persistent “functional uncoupling” of cerebral microvascular nitric oxide and superoxide following focal ischemia/reperfusion in rats. *Translational Stroke Research*, 3(4), 482–490.
- Faisal, W., O’Driscoll, C. M., & Griffin, B. T. (2010). Bioavailability of lycopene in the rat: the role of intestinal lymphatic transport. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 62(3), 323–331. <https://doi.org/10.1211/jpp.62.03.0006>
- Fanciullino, A. L., Bidel, L. P. R., & Urban, L. (2014). Carotenoid responses to environmental stimuli: Integrating

- redox and carbon controls into a fruit model. *Plant, Cell and Environment*, 37(2), 273–289. <https://doi.org/10.1111/pce.12153>
- Fanzo, J., & Miachon, L. (2023). Harnessing the connectivity of climate change, food systems and diets: Taking action to improve human and planetary health. *Anthropocene*, 42(October 2022), 100381. <https://doi.org/10.1016/j.ancene.2023.100381>
- FAO. (2015). *Climate change and food security: risks and responses*. Rome, Italy: FAO. September, 122. <https://www.fao.org/3/i5188e/i5188e.pdf>
- Fatchurrahman, D., Amodio, M. L., Valeria De Chiara, M. L., Mastrandrea, L., & Colelli, G. (2022). Characterization and postharvest behavior of goji berry (*Lycium barbarum* L.) during ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 191, 111975. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2022.111975>
- Feillet-Coudray, C., Fouret, G., Vigor, C., Bonafos, B., Jover, B., Blachnio-Zabielska, A., Rieusset, J., Casas, F., Gaillet, S., Landrier, J. F., Durand, T., & Coudray, C. (2019). Long-Term Measures of Dyslipidemia, Inflammation, and Oxidative Stress in Rats Fed a High-Fat/High-Fructose Diet. *Lipids*, February, 81–97. <https://doi.org/10.1002/lipd.12128>
- Felemban, A., Braguy, J., Zurbriggen, M. D., & Al-Babili, S. (2019). Apocarotenoids Involved in Plant Development and Stress Response. *Frontiers in Plant Science*, 10(September), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01168>
- Fenn, M. A., & Giovannoni, J. J. (2021). Phytohormones in fruit development and maturation. *Plant Journal*, 105(2), 446–458. <https://doi.org/10.1111/tbj.15112>
- Fenni, S., Astier, J., Bonnet, L., Karkeni, E., Gouranton, E., Mounien, L., Couturier, C., Tourniaire, F., Böhm, V., Hammou, H., & Landrier, J. F. (2019). (all-E)- and (5Z)-Lycopene Display Similar Biological Effects on Adipocytes. *Molecular Nutrition and Food Research*, 63(5). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201800788>
- Fenni, S., Hammou, H., Astier, J., Bonnet, L., Karkeni, E., Couturier, C., Tourniaire, F., & Landrier, J. F. (2017). Lycopene and tomato powder supplementation similarly inhibit high-fat diet induced obesity, inflammatory response, and associated metabolic disorders. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(9), 1–10. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201601083>
- Fiorentino, T., Prioletta, A., Zuo, P., & Folli, F. (2013). Hyperglycemia-induced Oxidative Stress and its Role in Diabetes Mellitus Related Cardiovascular Diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 19(32), 5695–5703. <https://doi.org/10.2174/1381612811319320005>
- Flier, J. S. (2023). Moderating “the great debate”: The carbohydrate-insulin vs. the energy balance models of obesity. *Cell Metabolism*, 35(5), 737–741. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.03.020>
- Flores, P., Sánchez, E., Fenoll, J., & Hellín, P. (2017). Genotypic variability of carotenoids in traditional tomato cultivars. *Food Research International*, 100, 510–516. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.014>
- Fontbonne, A., Currie, A., Tounian, P., Picot, M. C., Foulatier, O., Nedelcu, M., & Nocca, D. (2023). Prevalence of Overweight and Obesity in France: The 2020 Obepi-Roche Study by the “Ligue Contre l’Obésité.” *Journal of Clinical Medicine*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/jcm12030925>
- Forouhi, N. G. (2023). Embracing complexity: making sense of diet, nutrition, obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 66(5), 786–799. <https://doi.org/10.1007/s00125-023-05873-z>
- Förstermann, U., & Münzel, T. (2006). Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: From marvel to menace. *Circulation*, 113(13), 1708–1714. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.602532>
- Forth, D., & Pyke, K. A. (2006). The suffulta mutation in tomato reveals a novel method of plastid replication during fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*, 57(9), 1971–1979. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj144>
- Frary, A., Göl, D., Keleş, D., Ökmen, B., Pinar, H., Şiğva, H. T., Yemenicioğlu, A., & Doğanlar, S. (2010). Salt tolerance in *Solanum pennellii*: Antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology*, 10. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-58>
- Fraser, P. D., Enfissi, E. M. A., Halket, J. M., Truesdale, M. R., Yu, D., Gerrish, C., & Bramley, P. M. (2007). Manipulation of phytoene levels in tomato fruit: Effects on isoprenoids, plastids, and intermediary metabolism. *Plant Cell*, 19(10), 3194–3211. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.049817>

- Freschi, L., Corpas, F. J., & Palma, J. M. (2023). Fruit Physiology through Signaling Processes: Latest Advances and Future Challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 2–4. <https://doi.org/10.3390/ijms24020976>
- Galpaz, N., Wang, Q., Menda, N., Zamir, D., & Hirschberg, J. (2008). Abscisic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content. *Plant Journal*, 53(5), 717–730. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03362.x>
- Gao, L. L., Ma, J. M., Fan, Y. N., Zhang, Y. N., Ge, R., Tao, X. J., Zhang, M. W., Gao, Q. H., & Yang, J. J. (2021). Lycium barbarum polysaccharide combined with aerobic exercise ameliorated nonalcoholic fatty liver disease through restoring gut microbiota, intestinal barrier and inhibiting hepatic inflammation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1379–1392. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.066>
- Gao, M., Ma, Y., & Liu, D. (2013). Rutin suppresses palmitic acids-triggered inflammation in macrophages and blocks high fat diet-induced obesity and fatty liver in mice. *Pharmaceutical Research*, 30(11), 2940–2950. <https://doi.org/10.1007/s11095-013-1125-1>
- Gao, Y., Wei, Y., Wang, Y., Gao, F., & Chen, Z. (2017). *Lycium barbarum*: A traditional Chinese herb and a promising anti-aging agent. *Aging and Disease*, 8(6), 778–791. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0725>
- García-Valverde, V., Navarro-González, I., García-Alonso, J., & Periago, M. J. (2013). Antioxidant Bioactive Compounds in Selected Industrial Processing and Fresh Consumption Tomato Cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, 6(2), 391–402. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0687-3>
- García, O. P., Long, K. Z., & Rosado, J. L. (2009). Impact of micronutrient deficiencies on obesity. *Nutrition Reviews*, 67(10), 559–572. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00228.x>
- Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Bénard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., Poëssel, J. L., Caris-Veyrat, C., & Génard, M. (2008). How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(4), 1241–1250. <https://doi.org/10.1021/jf072196t>
- Génard, M., Baldazzi, V., & Gibon, Y. (2014). Metabolic studies in plant organs: Don't forget dilution by growth. *Frontiers in Plant Science*, 5(MAR), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00085>
- Gero, D. (2017). Hyperglycemia-Induced Endothelial Dysfunction. In H. Lenasi (Ed.), *Endothelial Dysfunction*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71433>
- Gholami, F., Antonio, J., Evans, C., Cheraghi, K., Rahmani, L., & Amirnezhad, F. (2021). Tomato powder is more effective than lycopene to alleviate exercise-induced lipid peroxidation in well-trained male athletes: randomized, double-blinded cross-over study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 18(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12970-021-00415-7>
- Gilbert, L., Alhagdow, 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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03972.x>
- Gillaspy, G., Ben-David, H., & Gruissem, W. (1993). Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell*, 5(10), 1439–1451. <https://doi.org/10.2307/3869794>
- Glickman, M. E., Rao, S. R., & Schultz, M. R. (2014). False discovery rate control is a recommended alternative to Bonferroni-type adjustments in health studies. *Journal of Clinical Epidemiology*, 67(8), 850–857. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2014.03.012>
- Gomez, L., Rubio, E., & Augé, 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. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1046>
- Gondran, N., & Boutaud, A. (2014). Bienvenue dans l'anthropocène?. La future métropole vue par 50 contributeurs, pp-160.
- González-Chavira, M. M., Herrera-Hernández, M. G., Guzmán-Maldonado, H., & Pons-Hernández, J. L. (2018). Controlled water deficit as abiotic stress factor for enhancing the phytochemical content and adding-value

- of crops. *Scientia Horticulturae*, 234(October 2017), 354–360. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.049>
- Gopal, S. S., Sukhdeo, S. V., Vallikannan, B., & Ponesakki, G. (2023). Lutein ameliorates high-fat diet-induced obesity, fatty liver, and glucose intolerance in C57BL/6J mice. *Phytotherapy Research*, 37(1), 329–341. <https://doi.org/10.1002/ptr.7615>
- Goralczyk, R. (2009).  $\beta$ -Carotene and lung cancer in smokers: Review of hypotheses and status of research. *Nutrition and Cancer*, 61(6), 767–774.
- Górecka, D., Wawrzyniak, A., Jędrusek-Golińska, A., Dziedzic, K., Hamułka, J., Kowalczewski, P. L., & Walkowiak, J. (2020). Lycopene in tomatoes and tomato products. *Open Chemistry*, 18(1), 752–756. <https://doi.org/10.1515/chem-2020-0050>
- Gouble, B., Reling, P., Renard, C., & Audergon, J. M. (2011). Influence of temperature on apricot fruit respiration and ethylene production. *XV International Symposium on Apricot Breeding and Culture* 966, 259–262.
- Gouranton, E., Aydemir, G., Reynaud, E., Marcotorchino, J., Malezet, C., Caris-Veyrat, C., Blomhoff, R., Landrier, J. F., & Rühl, R. (2011). Apo-10<sup>7</sup>-lycopenoic acid impacts adipose tissue biology via the retinoic acid receptors. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811(12), 1105–1114. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2011.09.002>
- Gouranton, E., Thabuis, C., Riollet, C., Malezet-Desmoulins, C., El Yazidi, C., Amiot, M. J., Borel, P., & Landrier, J. F. (2011). Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(7), 642–648. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.04.016>
- Graff, H. J. (2016). The “problem” of interdisciplinarity in theory, practice, and history. *Social Science History*, 40(4), 775–803. <https://doi.org/10.1017/ssh.2016.31>
- Grandperrin, A., Bourgoin, M., Gayrard, S., Boulghobra, D., Walther, G., Reboul, C., & Meyer, G. (2023). Protective Role of Chronic Exercise Training in Modulating the Impact of Hyperglycemia on Vascular Sensitivity to Ischemia-Reperfusion. *Nutrients*, 15(1). <https://doi.org/10.3390/nu15010212>
- Grundey, S. M., Hansen, B., Smith, S. C., Cleeman, J. I., & Kahn, R. A. (2004). Clinical Management of Metabolic Syndrome: Report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association Conference on Scientific Issues Related to Management. *Circulation*, 109(4), 551–556. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000112379.88385.67>
- Grune, T., Lietz, G., Palou, A., Ross, A. C., Stahl, W., Tang, G., Thurnham, D., Yin, S. A., & Biesalski, H. K. (2010).  $\beta$ -carotene is an important vitamin A source for humans. *Journal of Nutrition*, 140(12). <https://doi.org/10.3945/jn.109.119024>
- Gu, L., Chen, J., Yin, J., C Sullivan, S., Wang, H. M., Guo, S., Zhang, L., & Kim, J. S. (2020). Projected increases in magnitude and socioeconomic exposure of global droughts in 1.5 and 2°C warmer climates. *Hydrology and Earth System Sciences*, 24(1), 451–472. <https://doi.org/10.5194/hess-24-451-2020>
- Guerra Valencia, J., Ramos, W., Cruz-Ausejo, L., Torres-Malca, J. R., Loayza-Castro, J. A., Zeñas-Trujillo, G. Z., Guillen Ponce, N. R., Zuzunaga-Montoya, F. E., Valladares-Garrido, M. J., Vera-Ponce, V. J., & De La Cruz-Vargas, J. A. (2023). The Fruit Intake–Adiposity Paradox: Findings from a Peruvian Cross-Sectional Study. *Nutrients*, 15(5), 1–10. <https://doi.org/10.3390/nu15051183>
- Gutiérrez-Salmeán, G., Ortiz-Vilchis, P., Vacaseydel, C. M., Garduño-Siciliano, L., Chamorro-Cevallos, G., Meaney, E., Villafañá, S., Villarreal, F., Ceballos, G., & Ramírez-Sánchez, I. (2014). Effects of (-)-epicatechin on a diet-induced rat model of cardiometabolic risk factors. *European Journal of Pharmacology*, 728(1), 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.01.053>
- Gutterman, D. D. (2002). Vascular dysfunction in hyperglycemia: Is protein kinase C the culprit? *Circulation Research*, 90(1), 5–7. <https://doi.org/10.1161/res.90.1.5>
- Hall, K. D., Farooqi, I. S., Friedman, J. M., Klein, S., Loos, R. J. F., Mangelsdorf, D. J., O’Rahilly, S., Ravussin, E., Redman, L. M., Ryan, D. H., Speakman, J. R., & Tobias, D. K. (2022). The energy balance model of obesity: beyond calories in, calories out. *American Journal of Clinical Nutrition*, 115(5), 1243–1254. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac031>
- Harris, W. M., & Spurr, A. R. (1969). Chromoplasts of Tomato Fruits. II. The Red Tomato. *American Journal of Botany*, 56(4), 380. <https://doi.org/10.2307/2440813>



- Harrison, E. H. (2019). Mechanisms of Transport and Delivery of Vitamin A and Carotenoids to the Retinal Pigment Epithelium. *Molecular Nutrition and Food Research*, 63(15), 1–7. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801046>
- Harrison, E. H. (2022). Methods for assessing the interaction of apocarotenoids with vertebrate nuclear receptors. In E. T. Wurtzel (Ed.), *Carotenoids: Biological Functions of Carotenoids and Apocarotenoids in Natural and Artificial Systems* (Vol. 674, pp. 391–403). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.mie.2022.05.002>
- Haskell, M. J. (2012). The challenge to reach nutritional adequacy for vitamin A:  $\beta$ -carotene bioavailability and conversion—evidence in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(5), 1193S–1203S.
- Hayes, M., Pottorff, M., Kay, C., Van Deynze, A., Osorio-Marin, J., Lila, M. A., Iorizzo, M., & Ferruzzi, M. G. (2020). In Vitro Bioaccessibility of Carotenoids and Chlorophylls in a Diverse Collection of Spinach Accessions and Commercial Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(11), 3495–3505. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00158>
- He, K., Hu, F. B., Colditz, G. A., Manson, J. E., Willett, W. C., & Liu, S. (2004). Changes in intake of fruits and vegetables in relation to risk of obesity and weight gain among middle-aged women. *International Journal of Obesity*, 28(12), 1569–1574. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802795>
- He, X., Zheng, S., Sheng, Y., Miao, T., Xu, J., Xu, W., Huang, K., & Zhao, C. (2021). Chlorogenic acid ameliorates obesity by preventing energy balance shift in high-fat diet induced obese mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 631–637. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10675>
- Hebbali, A. (2018). *olsrr: Tools for building OLS regression models. R package version 0.5. 1*. See <https://cran.r-project.org/package=olsrr>.
- Heiman, M. L., & Greenway, F. L. (2016). A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. *Molecular Metabolism*, 5(5), 317–320. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.02.005>
- Heinonen, S., Jokinen, R., Rissanen, A., & Pietiläinen, K. H. (2020). White adipose tissue mitochondrial metabolism in health and in obesity. *Obesity Reviews*, 21(2), 1–23. <https://doi.org/10.1111/obr.12958>
- Hempel, J., Fischer, A., Fischer, M., Högel, J., Bosy-Westphal, A., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2017). Effect of aggregation form on bioavailability of zeaxanthin in humans: A randomised cross-over study. *British Journal of Nutrition*, 118(9), 698–706. <https://doi.org/10.1017/S0007114517002653>
- Hempel, J., Schädle, C. N., Sprenger, J., Heller, A., Carle, R., & Schweiggert, R. M. (2017). Ultrastructural deposition forms and bioaccessibility of carotenoids and carotenoid esters from goji berries (*Lycium barbarum L.*). *Food Chemistry*, 218, 525–533. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.065>
- Henderson, A. R. (2006). Information for authors: Is the advice regarding the reporting of residuals in regression analysis incomplete? Should cook's distance be included? *Clinical Chemistry*, 52(10), 1848–1850. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.068296>
- Hernández-Hernández, H., Quiterio-Gutiérrez, T., Cadenas-Pliego, G., Ortega-Ortiz, H., Hernández-Fuentes, A. D., De La Fuente, M. C., Valdés-Reyna, J., & Juárez-Maldonado, A. (2019). Impact of selenium and copper nanoparticles on yield, antioxidant system, and fruit quality of tomato plants. *Plants*, 8(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants8100355>
- Hill, J. O., & Peters, J. C. (1998). Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science*, 280(5368), 1371–1374. <https://doi.org/10.1126/science.280.5368.1371>
- Hou, X., Zhang, W., Du, T., Kang, S., & Davies, W. J. (2020). Responses of water accumulation and solute metabolism in tomato fruit to water scarcity and implications for main fruit quality variables. *Journal of Experimental Botany*, 71(4), 1249–1264. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz526>
- Hsu, C. L., Wu, C. H., Huang, S. L., & Yen, G. C. (2009). Phenolic compounds rutin and o-coumaric acid ameliorate obesity induced by high-fat Diet in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 425–431. <https://doi.org/10.1021/jf802715t>
- Hu, S., Liu, L., Li, S., Shao, Z., Meng, F., Liu, H., Duan, W., Liang, D., Zhu, C., Xu, T., & Wang, Q. (2020). Regulation of fruit ripening by the brassinosteroid biosynthetic gene SlCYP90B3 via an ethylene-dependent pathway in tomato. *Horticulture Research*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00383-0>

- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(16), 4437–4444. <https://doi.org/10.1021/jf0201529>
- Huang, J., Weinstein, S. J., Yu, K., Männistö, S., & Albanes, D. (2018). Serum beta carotene and overall and cause-specific mortality: A prospective cohort study. *Circulation Research*, *123*(12), 1339–1349. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313409>
- Huang, Y., Wu, J., Ru, Q., Luo, J., & Yang, M. (2023). Investigating the Impact of Selenium-Enriched Foliar Fertilizer on Chinese Wolfberry with a Sensitive, Simple, and Rapid Method Utilizing Hplc-Icp-Ms. *Simple, and Rapid Method Utilizing Hplc-Icp-Ms*.
- Hung, C. F., Huang, T. F., Chen, B. H., Shieh, J. M., Wu, P. H., & Wu, W. Bin. (2008). Lycopene inhibits TNF- $\alpha$ -induced endothelial ICAM-1 expression and monocyte-endothelial adhesion. *European Journal of Pharmacology*, *586*(1–3), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.001>
- Iddir, M., Pittois, D., Guignard, C., Weber, B., Gantenbein, M., Larondelle, Y., & Bohn, T. (2021). Whey- and soy protein isolates added to a carrot-tomato juice alter carotenoid bioavailability in healthy adults. *Antioxidants*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/antiox10111748>
- Ilahy, R., Siddiqui, M. W., Tlili, I., Montefusco, A., Piro, G., Hdider, C., & Lenucci, M. S. (2018). When Color Really Matters: Horticultural Performance and Functional Quality of High-Lycopene Tomatoes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *37*(1), 15–53. <https://doi.org/10.1080/07352689.2018.1465631>
- Ilahy, R., Tlili, I., Siddiqui, M. W., Hdider, C., & Lenucci, M. S. (2019). Inside and beyond color: Comparative overview of functional quality of tomato and watermelon fruits. *Frontiers in Plant Science*, *10*(June), 1–26. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00769>
- Incalza, M. A., D’Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., & Giorgino, F. (2018). Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*, *100*(May 2017), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>
- Ioannidou, A., Fisher, R. M., & Hagberg, C. E. (2022). The multifaceted roles of the adipose tissue vasculature. *Obesity Reviews*, *23*(4), 1–12. <https://doi.org/10.1111/obr.13403>
- IPCC. (2018). Global warming of 1.5°C: An IPCC Special Report. *Ipcc - Sr15*, 2(October), 17–20. [www.environmentalgraphiti.org](http://www.environmentalgraphiti.org)
- Islam, T., Yu, X., Badwal, T. S., & Xu, B. (2017). Comparative studies on phenolic profiles, antioxidant capacities and carotenoid contents of red goji berry (*Lycium barbarum*) and black goji berry (*Lycium ruthenicum*). *Chemistry Central Journal*, *11*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13065-017-0287-z>
- Jacobs, D. R., & Tapsell, L. C. (2013). Food synergy: The key to a healthy diet. *Proceedings of the Nutrition Society*, *72*(2), 200–206. <https://doi.org/10.1017/S0029665112003011>
- Jacobs, J. A. (2014). *In defense of disciplines: Interdisciplinarity and specialization in the research university*. University of Chicago Press.
- Jacquenot, S., Richard, C., & Hofmann, B. (2017). Allergie à la baie de goji: état des lieux. *Revue Française d’Allergologie*, *57*(6), 426–429. <https://doi.org/10.1016/j.reval.2017.07.004>
- Jahns, P., & Holzwarth, A. R. (2012). The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, *1817*(1), 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.012>
- James, W. P. T. (2008). WHO recognition of the global obesity epidemic. *International Journal of Obesity*, *32*(7), S120–S126.
- Jež, M., Wiczowski, W., Zielińska, D., Białobrzewski, I., & Błaszczak, W. (2018). The impact of high pressure processing on the phenolic profile, hydrophilic antioxidant and reducing capacity of purée obtained from commercial tomato varieties. *Food Chemistry*, *261*(April), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.060>
- Jordan, M. O., Sauge, M. H., & Vercambre, G. (2020). Chemical and growth traits of the peach tree may induce higher infestation rates of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pest Management Science*, *76*(2),

- Karakashova, L., Babanovska-milenkovska, F., & Mladenova, J. (2023). *QUALITY PROPERTIES OF SOLAR DRIED GOJI BERRIES ( LYCIUM BARBARUM )*. 6(11).
- Karioti, A., Bergonzi, M. C., Vincieri, F. F., & Bilia, A. R. (2014). Validated method for the analysis of goji berry, a rich source of zeaxanthin dipalmitate. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(52), 12529–12535.
- Karkeni, E., Bonnet, L., Astier, J., Couturier, C., Dalifard, J., Tourniaire, F., & Landrier, J. F. (2017). All-trans-retinoic acid represses chemokine expression in adipocytes and adipose tissue by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 42, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.01.004>
- Karniel, U., Koch, A., Zamir, D., & Hirschberg, J. (2020). Development of zeaxanthin-rich tomato fruit through genetic manipulations of carotenoid biosynthesis. *Plant Biotechnology Journal*, 18(11), 2292–2303. <https://doi.org/10.1111/pbi.13387>
- Kassambara, A., & Mundt, F. (2021). Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses, R package version 1.0. 7. 2020. *Preprint At*.
- Kaulmann, A., & Bohn, T. (2014). Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutrition Research*, 34(11), 907–929. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.07.010>
- Kavitha, P., Shivashankara, K. S., Rao, V. K., Sadashiva, A. T., Ravishankar, K. V., & Sathish, G. J. (2014). Genotypic variability for antioxidant and quality parameters among tomato cultivars, hybrids, cherry tomatoes and wild species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(5), 993–999. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6359>
- Ke, Y., Deng, L., Dai, T., Xiao, M., Chen, M., Liang, R., Liu, W., Liu, C., & Chen, J. (2022). Effects of cell wall polysaccharides on the bioaccessibility of carotenoids, polyphenols, and minerals: an overview. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2089626>
- Khan, U. M., Sevindik, M., Zarrabi, A., Nami, M., Ozdemir, B., Kaplan, D. N., Selamoglu, Z., Hasan, M., Kumar, M., Alshehri, M. M., & Sharifi-Rad, J. (2021). Lycopene: Food Sources, Biological Activities, and Human Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/2713511>
- Kim, C. Y., Zhu, Y., Buhman, K. K., & Kim, K. H. (2015). Dietary selenate attenuates adiposity and improves insulin sensitivity in high-fat diet-induced obese mice. *Journal of Functional Foods*, 17, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.05.008>
- Kim, S. P., Broussard, J. L., & Kolka, C. M. (2016). Isoflurane and sevoflurane induce severe hepatic insulin resistance in a canine model. *PLoS ONE*, 11(11), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163275>
- Kimmons, J. E., Blanck, H. M., Tohill, B. C., Zhang, J., & Khan, L. K. (2006). Associations between body mass index and the prevalence of low micronutrient levels among US adults. *Medscape General Medicine*, 8(4), 59.
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., De Angelis, M. H., Schürmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Müller, T. D., & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(3), 140–162. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>
- Klunklin, W., & Savage, G. (2017). Effect on quality characteristics of tomatoes grown under well-watered and drought stress conditions. *Foods*, 6(8), 1–10. <https://doi.org/10.3390/foods6080056>
- Koch, C. A., Sharda, P., Patel, J., Gubbi, S., Bansal, R., & Bartel, M. J. (2021). Climate Change and Obesity. *Hormone and Metabolic Research*, 53(9), 575–587. <https://doi.org/10.1055/a-1533-2861>
- Kokotkiewicz, A., Migas, P., Stefanowicz, J., Luczkiewicz, M., & Krauze-Baranowska, M. (2017). Densitometric TLC analysis for the control of tropane and steroidal alkaloids in *Lycium barbarum*. *Food Chemistry*, 221, 535–540. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.142>
- Kontochristopoulou, A. M., Karatzi, K., Karaglani, E., Cardon, G., Kivelä, J., Iotova, V., Tankova, T., Rurik, I., Radone, A. S., Liatis, S., Makrilakis, K., Moreno, L. A., & Manios, Y. (2023). Parental practices and children’s lifestyle correlates of childhood overweight/obesity in Europe: The Feel4Diabetes study. *Journal*

- Kordiak, J., Bielec, F., Jabłoński, S., & Pastuszak-Lewandoska, D. (2022). Role of Beta-Carotene in Lung Cancer Primary Chemoprevention: A Systematic Review with Meta-Analysis and Meta-Regression. *Nutrients*, *14*(7). <https://doi.org/10.3390/nu14071361>
- Kou, X. H., Zhou, J. Q., Wu, C. E., Yang, S., Liu, Y. F., Chai, L. P., & Xue, Z. H. (2021). The interplay between ABA/ethylene and NAC TFs in tomato fruit ripening: a review. *Plant Molecular Biology*, *106*(3), 223–238. <https://doi.org/10.1007/s11103-021-01128-w>
- Kovács, Z., D'Agostino, D. P., & Ari, C. (2023). Ketone supplementation abolished isoflurane anesthesia-induced elevation in blood glucose level and increased recovery time from anesthesia in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rats. *BMC Anesthesiology*, *23*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12871-023-02000-8>
- Kulczyński, B., & Gramza-Michałowska, A. (2016). Goji Berry (*Lycium barbarum*): Composition and Health Effects - A Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *66*(2), 67–75. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0040>
- Kumar, M., Tomar, M., Bhuyan, D. J., Punia, S., Grasso, S., Sá, A. G. A., Carciofi, B. A. M., Arrutia, F., Changan, S., Radha, Singh, S., Dhumal, S., Senapathy, M., Satankar, V., Anitha, T., Sharma, A., Pandiselvam, R., Amarowicz, R., & Mekhemar, M. (2021). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seed: A review on bioactives and biomedical activities. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *142*. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112018>
- Kurilich, A. C., Jeffery, E. H., Juvik, J. A., Wallig, M. A., & Klein, B. P. (2002). Antioxidant capacity of different broccoli (*Brassica oleracea*) genotypes using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(18), 5053–5057. <https://doi.org/10.1021/jf0255351>
- Kuti, J. O., & Konuru, H. B. (2005). Effects of genotype and cultivation environment on lycopene content in red-ripe tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *85*(12), 2021–2026. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2205>
- Lahoz, I., Pérez-de-Castro, A., Valcárcel, M., Macua, J. I., Beltrán, J., Roselló, S., & Cebolla-Cornejo, J. (2016). Effect of water deficit on the agronomical performance and quality of processing tomato. *Scientia Horticulturae*, *200*, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.051>
- Landrier, J.-F., Breniere, T., Sani, L., Desmarchelier, C., Mounien, L., & Borel, P. (2023). Effect of tomato, tomato-derived products and lycopene on metabolic inflammation: from epidemiological data to molecular mechanisms. *Manuscript Submitted for Publication*.
- Landrier, J.-F., Marcotorchino, J., & Tourniaire, F. (2012). Lipophilic micronutrients and adipose tissue biology. *Nutrients*, *4*(11), 1622–1649. <https://doi.org/10.3390/nu4111622>
- Landrier, Malezet-Desmoulins, Reboul, Lorec, Amiot, & Borel. (2008). Comparison of different vehicles to study the effect of tocopherols on gene expression in intestinal cells. *Free Radical Research*, *42*(5), 523–530. <https://doi.org/10.1080/10715760802098859>
- Le Bourvellec, C., Boas, P. B. V., Lepercq, P., Comtet-Marre, S., Auffret, P., Ruiz, P., Bott, R., Renard, C. M. G. C., Dufour, C., Chatel, J. M., & Mosoni, P. (2019). Procyanidin—cell wall interactions within apple matrices decrease the metabolization of procyanidins by the human gut microbiota and the anti-inflammatory effect of the resulting microbial metabolome in vitro. *Nutrients*, *11*(3). <https://doi.org/10.3390/nu11030664>
- Le Bourvellec, C., Watrelot, A. A., Ginies, C., Imbert, A., & Renard, C. M. G. C. (2012). Impact of processing on the noncovalent interactions between procyanidin and apple cell wall. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(37), 9484–9494. <https://doi.org/10.1021/jf3015975>
- Lee, H., Calvin, K., Dasgupta, D., Krinner, G., Mukherji, A., Thorne, P., Trisos, C., Romero, J., Aldunce, P., Barrett, K., & others. (2023). AR6 Synthesis Report: Climate Change 2023. *Summary for Policymakers*.
- Lee, J. M., Joung, J. G., McQuinn, R., Chung, M. Y., Fei, Z., Tieman, D., Klee, H., & Giovannoni, J. (2012). Combined transcriptome, genetic diversity and metabolite profiling in tomato fruit reveals that the ethylene response factor SIERF6 plays an important role in ripening and carotenoid accumulation. *Plant Journal*, *70*(2), 191–204. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04863.x>
- Lee, L. C., Wei, L., Huang, W. C., Hsu, Y. J., Chen, Y. M., & Huang, C. C. (2015). Hypolipidemic effect of tomato

- juice in hamsters in high cholesterol diet-induced hyperlipidemia. *Nutrients*, 7(12), 10525–10537. <https://doi.org/10.3390/nu7125552>
- Lee, M., Lim, M., & Kim, J. (2019). Fruit and vegetable consumption and the metabolic syndrome: A systematic review and dose-response meta-analysis. *British Journal of Nutrition*, 122(7), 723–733. <https://doi.org/10.1017/S000711451900165X>
- Lefrançois, T., Malvy, D., Atlani-Duault, L., Benamouzig, D., Druais, P. L., Yazdanpanah, Y., Delfraissy, J. F., & Lina, B. (2023). After 2 years of the COVID-19 pandemic, translating One Health into action is urgent. *The Lancet*, 401(10378), 789–794. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01840-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01840-2)
- Lei, Z., Chen, X., Cao, F., Guo, Q., & Wang, J. (2022). Phytochemicals and bioactivities of Goji (*Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill.) leaves and their potential applications in the food industry: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(3), 1451–1461. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15507>
- Lesk, C., Rowhani, P., & Ramankutty, N. (2016). Influence of extreme weather disasters on global crop production. *Nature*, 529(7584), 84–87. <https://doi.org/10.1038/nature16467>
- Lessard-Lord, J., Roussel, C., Guay, V., & Desjardins, Y. (2023). Characterization of the Interindividual Variability Associated with the Microbial Metabolism of (–)-Epicatechin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c05491>
- Li, C. C., Liu, C., Fu, M., Hu, K. Q., Aizawa, K., Takahashi, S., Hiroyuki, S., Cheng, J., von Lintig, J., & Wang, X. D. (2018). Tomato Powder Inhibits Hepatic Steatosis and Inflammation Potentially Through Restoring SIRT1 Activity and Adiponectin Function Independent of Carotenoid Cleavage Enzymes in Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(8), 1–13. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700738>
- Li, L., & Yuan, H. (2013). Chromoplast biogenesis and carotenoid accumulation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 539(2), 102–109. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2013.07.002>
- Lichtenthaler, H. K. (2007). Biosynthesis, accumulation and emission of carotenoids,  $\alpha$ -tocopherol, plastoquinone, and isoprene in leaves under high photosynthetic irradiance. *Photosynthesis Research*, 92(2), 163–179. <https://doi.org/10.1007/s11120-007-9204-y>
- Lister, N. B., Baur, L. A., Felix, J. F., Hill, A. J., Marcus, C., Reinehr, T., Summerbell, C., & Wabitsch, M. (2023). Child and adolescent obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 9(1), 24. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00435-4>
- Liu, C., Rafacho, B. P. M., & Wang, X.-D. (2022). Xanthophyll  $\beta$ -cryptoxanthin treatment inhibits hepatic steatosis without altering vitamin A status in  $\beta$ -carotene 9',10'-oxygenase knockout mice. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 11(2), 188–198. <https://doi.org/10.21037/hbsn-20-404>
- Liu, H., Cui, B., & Zhang, Z. (2022). Mechanism of glycometabolism regulation by bioactive compounds from the fruits of *Lycium barbarum*: A review. *Food Research International*, 159(March), 111408. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111408>
- Liu, L., Shao, Z., Zhang, M., & Wang, Q. (2015). Regulation of carotenoid metabolism in tomato. *Molecular Plant*, 8(1), 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.11.006>
- Liu, L., Wei, J., Zhang, M., Zhang, L., Li, C., & Wang, Q. (2012). Ethylene independent induction of lycopene biosynthesis in tomato fruits by jasmonates. *Journal of Experimental Botany*, 63(16), 5751–5762. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers224>
- Liu, M., Yu, H., Zhao, G., Huang, Q., Lu, Y., & Ouyang, B. (2017). Profiling of drought-responsive microRNA and mRNA in tomato using high-throughput sequencing. *BMC Genomics*, 18(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3869-1>
- Liu, M., Yu, H., Zhao, G., Huang, Q., Lu, Y., & Ouyang, B. (2018). Identification of drought-responsive microRNAs in tomato using high-throughput sequencing. *Functional and Integrative Genomics*, 18(1), 67–78. <https://doi.org/10.1007/s10142-017-0575-7>
- Liu, X., Renard, C. M. G. C., Rolland-Sabaté, A., Bureau, S., & Le Bourvellec, C. (2021). Modification of apple, beet and kiwifruit cell walls by boiling in acid conditions: Common and specific responses. *Food Hydrocolloids*, 112 (August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106266>

- Liu, Y.-S., Gur, A., Ronen, G., Causse, M., Damidaux, R., Buret, M., Hirschberg, J., & Zamir, D. (2003). There is more to tomato fruit colour than candidate carotenoid genes. *Plant Biotechnology Journal*, *1*(3), 195–207. <https://doi.org/10.1046/j.1467-7652.2003.00018.x>
- Liu, Y., Zeng, S., Sun, W., Wu, M., Hu, W., Shen, X., & Wang, Y. (2014). Comparative analysis of carotenoid accumulation in two goji (*Lycium barbarum* L. and *L. ruthenicum* Murr.) fruits. *BMC Plant Biology*, *14*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0269-4>
- Llorente, B., Torres-Montilla, S., Morelli, L., Florez-Sarasa, I., Matus, J. T., Ezquerro, M., D'Andrea, L., Houhou, F., Majer, E., Picó, B., Cebolla, J., Troncoso, A., Fernie, A. R., Daròs, J. A., & Rodríguez-Concepción, M. (2020). Synthetic conversion of leaf chloroplasts into carotenoid-rich plastids reveals mechanistic basis of natural chromoplast development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *117*(35), 21796–21803. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004405117>
- Loader, J., Montero, D., Lorenzen, C., Watts, R., Méziat, C., Reboul, C., Stewart, S., & Walther, G. (2015). Acute hyperglycemia impairs vascular function in healthy and cardiometabolic diseased subjects: Systematic review and meta-analysis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *35*(9), 2060–2072. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.115.305530>
- Lobstein, T., Brinsden, H., & Neveux, M. (2022). *World Obesity Atlas 2022*. World Obesity Federation.
- Loke, W. M., Proudfoot, J. M., Hodgson, J. M., McKinley, A. J., Hime, N., Magat, M., Stocker, R., & Croft, K. D. (2010). Specific dietary polyphenols attenuate atherosclerosis in apolipoprotein e-knockout mice by alleviating inflammation and endothelial dysfunction. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, *30*(4), 749–757. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.199687>
- Loladze, I., Nolan, J. M., Ziska, L. H., & Knobbe, A. R. (2019). Rising Atmospheric CO<sub>2</sub> Lowers Concentrations of Plant Carotenoids Essential to Human Health: A Meta-Analysis. *Molecular Nutrition and Food Research*, *63*(15), 1–9. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801047>
- Loos, R. J. F., & Yeo, G. S. H. (2022). The genetics of obesity: from discovery to biology. *Nature Reviews Genetics*, *23*(2), 120–133. <https://doi.org/10.1038/s41576-021-00414-z>
- Lu, J., Shao, G., Gao, Y., Zhang, K., Wei, Q., & Cheng, J. (2021). Effects of water deficit combined with soil texture, soil bulk density and tomato variety on tomato fruit quality: A meta-analysis. *Agricultural Water Management*, *243*(1), 106427. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106427>
- Lu, Y., Guo, S., Zhang, F., Yan, H., Qian, D. wei, Shang, E. xin, Wang, H. qing, & Duan, J. ao. (2021). Nutritional components characterization of Goji berries from different regions in China. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *195*, 113859. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113859>
- Ludwig, D. S., Aronne, L. J., Astrup, A., De Cabo, R., Cantley, L. C., Friedman, M. I., Heymsfield, S. B., Johnson, J. D., King, J. C., Krauss, R. M., Lieberman, D. E., Taubes, G., Volek, J. S., Westman, E. C., Willett, W. C., Yancy, W. S., & Ebbeling, C. B. (2021). The carbohydrate-insulin model: A physiological perspective on the obesity pandemic. *American Journal of Clinical Nutrition*, *114*(6), 1873–1885. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqab270>
- Luo, Q., Cai, Y., Yan, J., Sun, M., & Corke, H. (2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences*, *76*(2), 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.04.056>
- Luvizotto, R. D. A. M., Nascimento, A. F., Imaizumi, E., Pierine, D. T., Conde, S. J., Correa, C. R., Yeum, K. J., & Ferreira, A. L. A. (2013). Lycopene supplementation modulates plasma concentrations and epididymal adipose tissue mRNA of leptin, resistin and IL-6 in diet-induced obese rats. *British Journal of Nutrition*, *110*(10), 1803–1809. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001256>
- Ma, R. H., Zhang, X. X., Thakur, K., Zhang, J. G., & Wei, Z. J. (2022). Research progress of *Lycium barbarum* L. as functional food: phytochemical composition and health benefits. *Current Opinion in Food Science*, *47*, 100871. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100871>
- MacLeod, M. (2018). What makes interdisciplinarity difficult? Some consequences of domain specificity in interdisciplinary practice. *Synthese*, *195*(2), 697–720. <https://doi.org/10.1007/s11229-016-1236-4>
- Maffei, M., Barone, I., Scabia, G., & Santini, F. (2016). The multifaceted haptoglobin in the context of adipose tissue and metabolism. *Endocrine Reviews*, *37*(4), 403–416. <https://doi.org/10.1210/er.2016-1009>

- Manach, C., Milenkovic, D., Van de Wiele, T., Rodriguez-Mateos, A., de Roos, B., Garcia-Conesa, M. T., Landberg, R., Gibney, E. R., Heinonen, M., Tomás-Barberán, F., & Morand, C. (2017). Addressing the inter-individual variation in response to consumption of plant food bioactives: Towards a better understanding of their role in healthy aging and cardiometabolic risk reduction. *Molecular Nutrition and Food Research*, *61*(6), 1–16. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600557>
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of Natural Medicines*, *74*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>
- Mapelli-Brahm, P., Margier, M., Desmarchelier, C., Halimi, C., Nowicki, M., Borel, P., Meléndez-Martínez, A. J., & Reboul, E. (2019). Comparison of the bioavailability and intestinal absorption sites of phytoene, phytofluene, lycopene and  $\beta$ -carotene. *Food Chemistry*, *300*(April), 125232. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125232>
- Mapelli-Brahm, Paula, & Meléndez-Martínez, A. J. (2021). The colourless carotenoids phytoene and phytofluene: sources, consumption, bioavailability and health effects. *Current Opinion in Food Science*, *41*, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.013>
- Marcelino, G., Machate, D. J., Freitas, K. de C., Hiane, P. A., Maldonade, I. R., Pott, A., Asato, M. A., Candido, C. J., & Guimarães, R. de C. A. (2020).  $\beta$ -Carotene: Preventive Role for Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity: A Review. *Molecules*, *25*(24), 1–14. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25245803>
- Marques, M. C., Hacke, A., Neto, C. A. C., & Mariutti, L. R. (2021). Impact of phenolic compounds in the digestion and absorption of carotenoids. *Current Opinion in Food Science*, *39*(March), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.006>
- Martí, R., Valcárcel, M., Leiva-Brondo, M., Lahoz, I., Campillo, C., Roselló, S., & Cebolla-Cornejo, J. (2018). Influence of controlled deficit irrigation on tomato functional value. *Food Chemistry*, *252*(January), 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.098>
- Martini, D., Negrini, L., Marino, M., Riso, P., Del Bo, C., & Porrini, M. (2022). What Is the Current Direction of the Research on Carotenoids and Human Health? An Overview of Registered Clinical Trials. *Nutrients*, *14*(6), 1–17. <https://doi.org/10.3390/nu14061191>
- Masci, A., Carradori, S., Casadei, M. A., Paolicelli, P., Petralito, S., Ragno, R., & Cesa, S. (2018). Lycium barbarum polysaccharides: Extraction, purification, structural characterisation and evidence about hypoglycaemic and hypolipidaemic effects. A review. *Food Chemistry*, *254*(February), 377–389. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.176>
- Massonnet, C., Vile, D., Fabre, J., Hannah, M. A., Caldana, C., Lisec, J., Beemster, G. T. S., Meyer, R. C., Messerli, G., Gronlund, J. T., Perkovic, J., Wigmore, E., May, S., Bevan, M. W., Meyer, C., Rubio-Díaz, S., Weigel, D., Micol, J. L., Buchanan-Wollaston, V., ... Granier, C. (2010). Probing the reproducibility of leaf growth and molecular phenotypes: A comparison of three Arabidopsis accessions cultivated in ten laboratories. *Plant Physiology*, *152*(4), 2142–2157. <https://doi.org/10.1104/pp.109.148338>
- Matsumoto, C., Yada, H., Hayakawa, C., Hoshino, K., Hirai, H., Kato, K., & Ikeda, H. (2021). Physiological characterization of tomato introgression line IL5-4 that increases brix and blossom-end rot in ripening fruit. *Horticulture Journal*, *90*(2), 215–222. <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-264>
- Matyash, V., Liebisch, G., Kurzchalia, T. V., Shevchenko, A., & Schwudke, D. (2008). Lipid extraction by methyl-terf-butyl ether for high-throughput lipidomics. *Journal of Lipid Research*, *49*(5), 1137–1146. <https://doi.org/10.1194/jlr.D700041-JLR200>
- Mazza, D., McCarthy, E., Singh, N., Carey, M., Turner, L., & Harris, M. (2020). “There’s always something else”: Patient perspectives on improving the implementation of obesity guidelines in general practice. *Obesity Research and Clinical Practice*, *14*(5), 437–442. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2020.09.004>
- Meléndez-Martínez A. J., Böhm V. et al. (2021). Carotenoids: Considerations for Their Use in Functional Foods, Nutraceuticals, Nutricosmetics, Supplements, Botanicals, and Novel Foods in the Context of Sustainability, Circular Economy, and Climate Change. *Annual Review of Food Science and Technology*, *12*, 433–460. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-062220-013218>
- Meléndez-Martínez, A. J., Esquivel, P., & Rodríguez-Amaya, D. B. (2023). Comprehensive review on carotenoid composition: Transformations during processing and storage of foods. *Food Research International*, *169*(22). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112773>

- Meléndez-Martínez, A. J., Mapelli-Brahm, P., Hornero-Méndez, D., & Vicario, I. M. (2019). Structures, Nomenclature and General Chemistry of Carotenoids and Their Esters. *Food Chemistry, Function and Analysis*, 2019-Janua(13), 3–50. <https://doi.org/10.1039/9781788015851-00001>
- Meng, F., Li, Y., Li, S., Chen, H., Shao, Z., Jian, Y., Mao, Y., Liu, L., & Wang, Q. (2022). Carotenoid biofortification in tomato products along whole agro-food chain from field to fork. *Trends in Food Science and Technology*, 124(December 2021), 296–308. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.023>
- Menzel, A., Samouda, H., Dohet, F., Loap, S., Ellulu, M. S., & Bohn, T. (2021). Reply to Mrakic-Sposta et al. Comment on “menzel et al. common and novel markers for measuring inflammation and oxidative stress ex vivo in research and clinical practice—which to use regarding disease outcomes? antioxidants 2021, 10, 414.” *Antioxidants*, 10(6), 1–62. <https://doi.org/10.3390/antiox10060865>
- Mi, J., Vallarino, J. G., Petřík, I., Novák, O., Correa, S. M., Chodasiewicz, M., Havaux, M., Rodriguez-Concepcion, M., Al-Babili, S., Fernie, A. R., Skirycz, A., & Moreno, J. C. (2022). A manipulation of carotenoid metabolism influence biomass partitioning and fitness in tomato. *Metabolic Engineering*, 70(August 2021), 166–180. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2022.01.004>
- Miyagishima, S. ya. (2011). Mechanism of plastid division: From a bacterium to an organelle. *Plant Physiology*, 155(4), 1533–1544. <https://doi.org/10.1104/pp.110.170688>
- Monsivais, P., & Rehm, C. D. (2012). Potential nutritional and economic effects of replacing juice with fruit in the diets of children in the United States. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, 166(5), 459–464. <https://doi.org/10.1001/archpediatrics.2011.1599>
- Montero, D., Walther, G., Stehouwer, C. D. A., Houben, A. J. H. M., Beckman, J. A., & Vinet, A. (2014). Effect of antioxidant vitamin supplementation on endothelial function in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*, 15(2), 107–116. <https://doi.org/10.1111/obr.12114>
- Morand-Laffargue, L., Creton, B., Halimi, C., Sabatier, D., Desmarchelier, C., & Borel, P. (2023). Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) as a sustainable and concentrated source of bioavailable lutein for feed. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1–12. <https://doi.org/10.1163/23524588-20230107>
- Morand-Laffargue, Lisa, Hirschberg, J., Halimi, C., Desmarchelier, C., & Borel, P. (2023a). The zeaxanthin present in a tomato line rich in this carotenoid is as bioavailable as that present in the food sources richest in this xanthophyll. *Food Research International*, 168(March), 112751. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112751>
- Morand-Laffargue, Lisa, Hirschberg, J., Halimi, C., Desmarchelier, C., & Borel, P. (2023b). The zeaxanthin present in a tomato line rich in this carotenoid is as bioavailable as that present in the food sources richest in this xanthophyll. *Food Research International*, 168. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112751>
- Morand, C., Barber-Chamoux, N., Monfoulet, L.-E., & Milenkovic, D. (2019). Dietary (poly) phenols and vascular health. *Recent Advances in Polyphenol Research*, 6, 127–148.
- Morand, C., De Roos, B., Garcia-Conesa, M. T., Gibney, E. R., Landberg, R., Manach, C., Milenkovic, D., Rodriguez-Mateos, A., Van De Wiele, T., & Tomas-Barberan, F. (2020). Why interindividual variation in response to consumption of plant food bioactives matters for future personalised nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 79(2), 225–235. <https://doi.org/10.1017/S0029665120000014>
- Morelli, L., & Rodriguez-Concepcion, M. (2023). Open avenues for carotenoid biofortification of plant tissues. *Plant Communications*, 4(1), 100466. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100466>
- Morgan, B. L., Stern, M. C., Pérez-Stable, E. J., Hooper, M. W., & Fejerman, L. (2022). Adding a One Health approach to a research framework for minority health and health disparities. *ELife*, 11, 1–14. <https://doi.org/10.7554/elife.76461>
- Morissette, A., Kropp, C., Songpadith, J. P., Moreira, R. J., Costa, J., Mariné-Casadó, R., Pilon, G., Varin, T. V., Dudonné, S., Boutekrabt, L., St-Pierre, P., Levy, E., Roy, D., Desjardins, Y., Raymond, F., Houd, V. P., & Marette, A. (2020). Blueberry proanthocyanidins and anthocyanins improve metabolic health through a gut microbiota-dependent mechanism in diet-induced obese mice. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 318(6), E965–E980. <https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00560.2019>
- Mörtil, M., Ciceoi, R., Ion, V. A., Klátyik, S., & Székács, A. (2022). Environmental concerns regarding the



- occurrence of neonicotinoid insecticides in berry fruits. *Scientific Papers. Series B. Horticulture*, 66(2).
- Mossman, K. L. (2014). *The complexity paradox: the more answers we find, the more questions we have*. Oxford University Press, USA.
- Moughan, P. J. (2020). Holistic properties of foods: a changing paradigm in human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(14), 5056–5063. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8997>
- Mounien, L., Tourniaire, F., & Landrier, J. F. (2019). Anti-obesity effect of carotenoids: direct impact on adipose tissue and adipose tissue-driven indirect effects. *Nutrients*, 11(7), 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu11071562>
- Murillo, A. G., & Fernandez, M. L. (2016). Potential of dietary non-provitamin A carotenoids in the prevention and treatment of diabetic microvascular complications. *Advances in Nutrition*, 7(1), 14–24. <https://doi.org/10.3945/an.115.009803>
- Murphy, M. P., Bayir, H., Belousov, V., Chang, C. J., Davies, K. J. A., Davies, M. J., Dick, T. P., Finkel, T., Forman, H. J., Janssen-Heininger, Y., Gems, D., Kagan, V. E., Kalyanaraman, B., Larsson, N. G., Milne, G. L., Nyström, T., Poulsen, H. E., Radi, R., Van Remmen, H., ... Halliwell, B. (2022). Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. *Nature Metabolism*, 4(6), 651–662. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00591-z>
- Musse, M., Bidault, K., Quelled, S., Brunel, B., Collewet, G., Cambert, M., & Bertin, N. (2021). Spatial and temporal evolution of quantitative magnetic resonance imaging parameters of peach and apple fruit – relationship with biophysical and metabolic traits. *Plant Journal*, 105(1), 62–78. <https://doi.org/10.1111/tpj.15039>
- Myers, S. S., Smith, M. R., Guth, S., Golden, C. D., Vaitla, B., Mueller, N. D., Dangour, A. D., & Huybers, P. (2017). Climate Change and Global Food Systems: Potential Impacts on Food Security and Undernutrition. *Annual Review of Public Health*, 38, 259–277. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031816-044356>
- Naumann, G., Cammalleri, C., Mentaschi, L., & Feyen, L. (2021). Increased economic drought impacts in Europe with anthropogenic warming. *Nature Climate Change*, 11(6), 485–491. <https://doi.org/10.1038/s41558-021-01044-3>
- Navas, J. F., Verdejo-García, A., & Vadillo, M. A. (2021). The evidential value of research on cognitive training to change food-related biases and unhealthy eating behavior: A systematic review and p-curve analysis. *Obesity Reviews*, 22(12), 1–12. <https://doi.org/10.1111/obr.13338>
- Nguyen, H. D., Oh, H., & Kim, M. S. (2022). Higher intakes of fruits, vegetables, and multiple individual nutrients is associated with a lower risk of metabolic syndrome among adults with comorbidities. *Nutrition Research*, 99, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2021.11.004>
- Niro, S., Fratianni, A., Panfili, G., Falasca, L., & Cinquanta, L. (2017). Nutritional evaluation of fresh and dried goji berries cultivated in Italy. *Italian Journal of Food Science*, 29(July), 398–408.
- Nisar, N., Li, L., Lu, S., Khin, N. C., & Pogson, B. J. (2015). Carotenoid metabolism in plants. *Molecular Plant*, 8(1), 68–82. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.007>
- Niyogi, K. K. (2000). Safety valves for photosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(6), 455–460.
- Nora, L., Dalmazo, G. O., Nora, F. R., & Rombaldi, C. V. (2012). Controlled water stress to improve fruit and vegetable postharvest quality. *Water Stress*, 25, 59–72.
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2010). *Maize : A Paramount Staple Crop in the Context of Global Nutrition*. 9, 417–436. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00117.x>
- Olszowy-Tomczyk, M. (2020). Synergistic, antagonistic and additive antioxidant effects in the binary mixtures. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 19, Issue 1). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09658-4>
- Onat, A., Avci, G., \cS, Barlan, M. M., Uyarel, H., Uzunlar, B., & Sansoy, V. (2004). Measures of abdominal obesity assessed for visceral adiposity and relation to coronary risk. *International Journal of Obesity*, 28(8), 1018–1025.
- Page, D., Van Stratum, E., Degrou, A., & Renard, C. M. G. C. (2012). Kinetics of temperature increase during tomato processing modulate the bioaccessibility of lycopene. *Food Chemistry*, 135(4), 2462–2469.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.028>

- Page, D., Villas-Boas, A., Fanciullino, A.-L., Sinkora, M., Giovinazzo, R., Zuber, F., & Bertin, N. (2022). Impact of a low water input, genotype and process on the texture of purees from two tomato cultivars. *XVI International Symposium on Processing Tomato 1351*, 19–24.
- Pan, Y., Li, H., Shahidi, F., Luo, T., & Deng, Z. (2022). Interactions among dietary phytochemicals and nutrients: Role of cell membranes. *Trends in Food Science and Technology*, 124(March), 38–50. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.024>
- Pang, Z., Zhou, G., Ewald, J., Chang, L., Hacariz, O., Basu, N., & Xia, J. (2022). Using MetaboAnalyst 5.0 for LC–HRMS spectra processing, multi-omics integration and covariate adjustment of global metabolomics data. *Nature Protocols*, 17(8), 1735–1761. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00710-w>
- Patsilinos, A., Ragno, R., Carradori, S., Petralito, S., & Cesa, S. (2018). Carotenoid content of Goji berries: CIELAB, HPLC-DAD analyses and quantitative correlation. *Food Chemistry*, 268(June), 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.013>
- Pećinar, I., Quarrie, S. P., Bertin, N., Rančić, D., Savić, S., Jovanović, Z., & Stikić, R. (2021). *Tomato Fruit Development in Response to Different Irrigation Practices: Developmental Study of Pericarp Cell Layers*. 105. <https://doi.org/10.3390/iecps2020-08855>
- Peng, L., Fang, X., Xu, F., Liu, S., Qian, Y., Gong, X., Zhao, X., Ma, Z., Xia, T., & Gu, X. (2021). Amelioration of Hippocampal Insulin Resistance Reduces Tau Hyperphosphorylation and Cognitive Decline Induced by Isoflurane in Mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(August), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.686506>
- Perez-Vizcaino, F., & Fraga, C. G. (2018). Research trends in flavonoids and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 646(March), 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.03.022>
- Peterson, V. V. (2008). Against Interdisciplinarity. *Women and Language*, 31(2), 42–50.
- Petrović, I., Savić, S., Jovanović, Z., Stikić, R., Brunel, B., Sérino, S., & Bertin, N. (2019). Fruit quality of cherry and large fruited tomato genotypes as influenced by water deficit. *Zemdirbyste*, 106(2), 123–128. <https://doi.org/10.13080/z-a.2019.106.016>
- Piché, M. E., Tchernof, A., & Després, J. P. (2020). Obesity Phenotypes, Diabetes, and Cardiovascular Diseases. *Circulation Research*, 1477–1500. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.316101>
- Pietro, D., Tomo, D. Di, & Pandolfi, P. (2016). Carotenoids in Cardiovascular Disease Prevention. *JSM Atheroscler*, 1(1), 1002. [https://www.researchgate.net/profile/Natalia-Pietro/publication/303880810\\_Carotenoids\\_in\\_Cardiovascular\\_Disease\\_Prevention/links/575a713008aec91374a5bb83/Carotenoids-in-Cardiovascular-Disease-Prevention.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Natalia-Pietro/publication/303880810_Carotenoids_in_Cardiovascular_Disease_Prevention/links/575a713008aec91374a5bb83/Carotenoids-in-Cardiovascular-Disease-Prevention.pdf)
- Pineda, E., Sanchez-Romero, L. M., Brown, M., Jaccard, A., Jewell, J., Galea, G., Webber, L., & Breda, J. (2018). Forecasting Future Trends in Obesity across Europe: The Value of Improving Surveillance. *Obesity Facts*, 11(5), 360–371. <https://doi.org/10.1159/000492115>
- Pittas, A. G., Lau, J., Hu, F. B., & Dawson-Hughes, B. (2007). Review: The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(6), 2017–2029. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0298>
- Poggioni, L., Romi, M., Guarnieri, M., Cai, G., & Cantini, C. (2022). Nutraceutical profile of goji (*Lycium barbarum* L.) berries in relation to environmental conditions and harvesting period. *Food Bioscience*, 49(August). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101954>
- Poiroux-Gonord, F., Bidel, L. P. R., Fanciullino, A. L., Gautier, H., Lauri-Lopez, F., & Urban, L. (2010). Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(23), 12065–12082. <https://doi.org/10.1021/jf1037745>
- Polyzos, S. A., Kechagias, S., & Tsochatzis, E. A. (2021). Review article: non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular diseases: associations and treatment considerations. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 54(8), 1013–1025. <https://doi.org/10.1111/apt.16575>
- Poppitt, S. D., Swann, D., Black, A. E., & Prentice, A. M. (1998). Assessment of selective under-reporting of food

- intake by both obese and non-obese women in a metabolic facility. *International Journal of Obesity*, 22(4), 303–311.
- Powell, A. L. T., Nguyen, C. V., Hill, T., Cheng, K. L. L., Figueroa-Balderas, R., Aktas, H., Ashrafi, H., Pons, C., Fernández-Muñoz, R., Vicente, A., Lopez-Baltazar, J., Barry, C. S., Liu, Y., Chetelat, R., Granell, A., Van Deynze, A., Giovannoni, J. J., & Bennett, A. B. (2012). Uniform ripening encodes a Golden 2-like transcription factor regulating tomato fruit chloroplast development. *Science*, 336(6089), 1711–1715. <https://doi.org/10.1126/science.1222218>
- Protti, M., Gualandi, I., Mandrioli, R., Zappoli, S., Tonelli, D., & Mercolini, L. (2017). Analytical profiling of selected antioxidants and total antioxidant capacity of goji (*Lycium spp.*) berries. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 143, 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.048>
- Punithavathi, V. R., Prince, P. S. M., Kumar, R., & Selvakumari, J. (2011). Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, 650(1), 465–471. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.059>
- Qiu, J., Acharya, P., Jacobs, D. M., Boom, R. M., & Schutyser, M. A. I. (2019). A systematic analysis on tomato powder quality prepared by four conductive drying technologies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54(October 2018), 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.03.013>
- Qu, Z., Liu, A., Li, P., Liu, C., Xiao, W., Huang, J., Liu, Z., & Zhang, S. (2021). Advances in physiological functions and mechanisms of (-)-epicatechin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(2), 211–233. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1723057>
- Quast, M. J., Wei, J., Huang, N. C., Brunder, D. G., Sell, S. L., Gonzalez, J. M., Hillman, G. R., & Kent, T. A. (1997). Perfusion deficit parallels exacerbation of cerebral ischemia/reperfusion injury in hyperglycemic rats. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 17(5), 553–559. <https://doi.org/10.1097/00004647-199705000-00009>
- Quinet, M., Angosto, T., Yuste-Lisbona, F. J., Blanchard-Gros, R., Bigot, S., Martinez, J. P., & Lutts, S. (2019). Tomato Fruit Development and Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10(November), 1–23. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01554>
- R Core Team. (2022). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org/>
- Rana, S., Bhattacharjee, J., Barick, K. C., Verma, G., Hassan, P. A., & Yakhmi, J. V. (2017). Chapter 7 - Interfacial engineering of nanoparticles for cancer therapeutics. In A. Ficai & A. M. Grumezescu (Eds.), *Nanostructures for Cancer Therapy* (pp. 177–209). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46144-3.00007-6>
- Rao, S., Kang, X., Li, J., & Chen, J. (2019). Induction, identification and characterization of tetraploidy in *Lycium ruthenicum*. *Breeding Science*, 69(1), 160–168. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18144>
- Reboul, E. (2019). Mechanisms of carotenoid intestinal absorption: Where do we stand? *Nutrients*, 11(4), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu11040838>
- Reboul, E., Borel, P., Mikail, C., Abou, L., Charbonnier, M., Caris-Veyrat, C., Goupy, P., Portugal, H., Lairon, D., & Amiot, M. J. (2005). Enrichment of tomato paste with 6% tomato peel increases lycopene and  $\beta$ -carotene bioavailability in men. *Journal of Nutrition*, 135(4), 790–794. <https://doi.org/10.1093/jn/135.4.790>
- Reboul, E., Richelle, M., Perrot, E., Desmoulins-Malezet, C., Pirisi, V., & Borel, P. (2006). Bioaccessibility of carotenoids and vitamin E from their main dietary sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8749–8755. <https://doi.org/10.1021/jf061818s>
- Renard, C., Caris-veyrat, C., Dufour, C., Le, C., Renard, C., Caris-veyrat, C., Dufour, C., & Le, C. L. B. (2014). Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques*, 42, 125–137.
- Renard, C. M. G. C., Watrelot, A. A., & Le Bourvellec, C. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science and Technology*, 60, 43–51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.022>
- Renaudin, J. P., Deluche, C., Cheniclet, C., Chevalier, C., & Frangne, N. (2017). Cell layer-specific patterns of cell division and cell expansion during fruit set and fruit growth in tomato pericarp. *Journal of Experimental*

*Botany*, 68(7), 1613–1623. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx058>

- Richard Henry Ozminkowski, J. (2015). *Hybrid varieties H1311*. 2. <https://patents.google.com/patent/US9861046B2/en>
- Richardson, K., Steffen, W., Lucht, W., Bendtsen, J., Cornell, S. E., Donges, J. F., Drüke, M., Fetzter, I., Bala, G., von Bloh, W., Feulner, G., Fiedler, S., Gerten, D., Gleeson, T., Hofmann, M., Huiskamp, W., Kummu, M., Mohan, C., Nogués-Bravo, D., ... Rockström, J. (2023). Earth beyond six of nine planetary boundaries. *Science Advances*, 9(37), eadh2458. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adh2458>
- Richter Reis, F. (2017). Effect of blanching on food physical, chemical, and sensory quality. *New Perspectives on Food Blanching*, 7–48.
- Riggi, E., Patané, C., & Ruberto, G. (2008). Content of carotenoids at different ripening stages in processing tomato in relation to soil water availability. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59(4), 348–353. <https://doi.org/10.1071/AR07215>
- Ripoll, J., Urban, L., Brunel, B., & Bertin, N. (2016). Water deficit effects on tomato quality depend on fruit developmental stage and genotype. *Journal of Plant Physiology*, 190, 26–35. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.10.006>
- Ripoll, J., Urban, L., Staudt, M., Lopez-Lauri, F., Bidel, L. P. R., & Bertin, N. (2014). Water shortage and quality of fleshy fruits-making the most of the unavoidable. *Journal of Experimental Botany*, 65(15), 4097–4117. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru197>
- Roberto, C. A., Swinburn, B., Hawkes, C., Huang, T. T. K., Costa, S. A., Ashe, M., Zwicker, L., Cawley, J. H., & Brownell, K. D. (2015). Patchy progress on obesity prevention: Emerging examples, entrenched barriers, and new thinking. *The Lancet*, 385(9985), 2400–2409. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61744-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61744-X)
- Rodrigues Sá, R., da Cruz Caldas, J., de Andrade Santana, D., Vieira Lopes, M., dos Santos, W. N. L., Graças Andrade Korn, M., & de Freitas Santos Júnior, A. (2019). Multielementar/centesimal composition and determination of bioactive phenolics in dried fruits and capsules containing Goji berries (*Lycium barbarum* L.). *Food Chemistry*, 273(December 2017), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.124>
- Rodriguez-Concepcion, M., Avalos, J., Bonet, M. L., Boronat, A., Gomez-Gomez, L., Hornero-Mendez, D., Limon, M. C., Meléndez-Martínez, A. J., Olmedilla-Alonso, B., Palou, A., Ribot, J., Rodrigo, M. J., Zacarias, L., & Zhu, C. (2018). A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Progress in Lipid Research*, 70(April), 62–93. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.04.004>
- Ronen, G., Carmel-Goren, L., Zamir, D., & Hirschberg, J. (2000). An alternative pathway to  $\beta$ -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(20), 11102–11107. <https://doi.org/10.1073/pnas.190177497>
- Ronga, D., Francia, E., Rizza, F., Badeck, F., Caradonia, F., Montevercchi, G., & Pecchioni, N. (2019). Scientia Horticulturae Changes in yield components , morphological , physiological and fruit quality traits in processing tomato cultivated in Italy since the 1930 ' s. *Scientia Horticulturae*, 257(August), 108726. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108726>
- Roselló, S., Adalid, A. M., Cebolla-Cornejo, J., & Nuez, F. (2011). Evaluation of the genotype, environment and their interaction on carotenoid and ascorbic acid accumulation in tomato germplasm. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(6), 1014–1021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4276>
- Rosini, T. C., Ramos da Silva, A. S., & de Moraes, C. (2012). Diet-induced obesity: rodent model for the study of obesity-related disorders. *Revista Da Associação Médica Brasileira (English Edition)*, 58(3), 383–387. [https://doi.org/10.1016/s2255-4823\(12\)70211-4](https://doi.org/10.1016/s2255-4823(12)70211-4)
- Rousseaux, M. C., Jones, C. M., Adams, D., Chetelat, R., Bennett, A., & Powell, A. (2005). QTL analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(7), 1396–1408. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0071-7>
- Rowles, J. L., & Erdman, J. W. (2020). Carotenoids and their role in cancer prevention. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), 158613. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158613>

- Ruiz-Nieves, J. M., Ayala-Garay, O. J., Serra, V., Dumont, D., Vercambre, G., Génard, M., & Gautier, H. (2021). The effects of diurnal temperature rise on tomato fruit quality. Can the management of the greenhouse climate mitigate such effects? *Scientia Horticulturae*, 278(January 2020). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109836>
- Sacco, A., Di Matteo, A., Lombardi, N., Trotta, N., Punzo, B., Mari, A., & Barone, A. (2013). Quantitative trait loci pyramiding for fruit quality traits in tomato. *Molecular Breeding*, 31(1), 217–222. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9763-2>
- Saini, R. K., & Keum, Y. S. (2018). Significance of Genetic, Environmental, and Pre- and Postharvest Factors Affecting Carotenoid Contents in Crops: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(21), 5310–5325. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01613>
- Saini, R. K., Prasad, P., Lokesh, V., Shang, X., & Shin, J. (2022). *Carotenoids : Dietary Sources , Extraction , Encapsulation , Bioavailability , and Health Benefits — A Review of Recent Advancements*.
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2). <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Sarma, S., Sockalingam, S., & Dash, S. (2021). Obesity as a multisystem disease: Trends in obesity rates and obesity-related complications. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 23(S1), 3–16. <https://doi.org/10.1111/dom.14290>
- Satake, M., Ikarashi, N., Kagami, M., Ogiue, N., Toda, T., Kobayashi, Y., Ochiai, W., & Sugiyama, K. (2010). Increases in the expression levels of aquaporin-2 and aquaporin-3 in the renal collecting tubules alleviate dehydration associated with polyuria in diabetes mellitus. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(12), 1965–1970. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.1965>
- Schiavon, M., Dall'Acqua, S., Mietto, A., Pilon-Smits, E. A. H., Sambo, P., Masi, A., & Malagoli, M. (2013). Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum lycopersicon L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(44), 10542–10554. <https://doi.org/10.1021/jf4031822>
- Schieber, A., & Carle, R. (2005). Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications. *Trends in Food Science and Technology*, 16(9), 416–422. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.03.018>
- Schubert, R., Werner, S., Cirka, H., Rödel, P., Moya, Y. T., Mock, H. P., Hutter, I., Kunze, G., & Hause, B. (2020). Effects of arbuscular mycorrhization on fruit quality in industrialized tomato production. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijms21197029>
- Schuler, D., Sansone, R., Freudenberger, T., Rodriguez-Mateos, A., Weber, G., Momma, T. Y., Goy, C., Altschmied, J., Haendeler, J., Fischer, J. W., Kelm, M., & Heiss, C. (2014). Measurement of endothelium-dependent vasodilation in mice-brief report. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34(12), 2651–2657. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304699>
- Scridon, A., Perian, M., Marginean, A., Fisca, C., Vantu, A., Ghertescu, D., Chevalier, P., & Serban, R. C. (2015). Sobolanii Wistar cu diabet zaharat tip 1 indus cu streptozotocina reproduc cele mai relevante caracteristici clinice, biochimice si hematologice ale diabetului uman. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 23(3), 263–274. <https://doi.org/10.1515/rrlm-2015-0028>
- Seebacher, F., Zeigerer, A., Kory, N., & Krahmer, N. (2020). Hepatic lipid droplet homeostasis and fatty liver disease. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 108(May), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.04.011>
- Senchina, D. S., Hallam, J. E., Kohut, M. L., Nguyen, N. A., & Perera, M. A. D. N. (2014). Alkaloids and athlete immune function: Caffeine, theophylline, gingerol, ephedrine, and their congeners. *Exercise Immunology Review*, 20, 68–93.
- Seng Lee, Y. (2009). The Role of Genes in the Current Obesity Epidemic. *Annals Academy of Medicine*, 38(1), 45–47.
- Senkus, K. E., Tan, L., & Crowe-White, K. M. (2019). Lycopene and Metabolic Syndrome: A Systematic Review of the Literature. *Advances in Nutrition*, 10(1), 19–29. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy069>

- Sérino, S, Gomez, L., Costagliola, G. U. Y., & Gautier, H. (n.d.). HPLC Assay of Tomato Carotenoids: Validation of a Rapid Microextraction Technique. *J. Agric. Food Chem*, 57(19), 8753–8760. <https://doi.org/10.1021/jf902113n>.
- Sérino, Sylvie, Gomez, L., Costagliola, G. U. Y., & Gautier, H. (2009). HPLC assay of tomato carotenoids: Validation of a rapid microextraction technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 8753–8760. <https://doi.org/10.1021/jf902113n>
- Shah, V. V., Shah, N. D., & Patrekar, P. V. (2013). Medicinal plants from solanaceae family. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 6(2), 143–151.
- Sharoni, Y., Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Salman, H., Veprik, A., Danilenko, M., & Levy, J. (2012). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(2), 259–269. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100311>
- Shi, J., Kakuda, Y., & Yeung, D. (2004). Antioxidative properties of lycopene and other carotenoids from tomatoes: Synergistic effects. *BioFactors*, 21(1–4), 203–210. <https://doi.org/10.1002/biof.552210141>
- Shi, J., & Le Maguer, M. (2000). Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 40, Issue 1). <https://doi.org/10.1080/10408690091189275>
- Shi, Y., Pang, X., Liu, W., Wang, R., Su, D., Gao, Y., Wu, M., Deng, W., Liu, Y., & Li, Z. (2021). SIZHD17 is involved in the control of chlorophyll and carotenoid metabolism in tomato fruit. *Horticulture Research*, 8(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00696-8>
- Shin, J. A., Lee, J. H., Lim, S. Y., Ha, H. S., Kwon, H. S., Park, Y. M., Lee, W. C., Kang, M. Il, Yim, H. W., Yoon, K. H., & Son, H. Y. (2013). Metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes, and its clinical interpretations and usefulness. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(4), 334–343. <https://doi.org/10.1111/jdi.12075>
- Shinozaki, Y., Nicolas, P., Fernandez-Pozo, N., Ma, Q., Evanich, D. J., Shi, Y., Xu, Y., Zheng, Y., Snyder, S. I., Martin, L. B. B., Ruiz-May, E., Thannhauser, T. W., Chen, K., Domozych, D. S., Catalá, C., Fei, Z., Mueller, L. A., Giovannoni, J. J., & Rose, J. K. C. (2018). High-resolution spatiotemporal transcriptome mapping of tomato fruit development and ripening. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02782-9>
- Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, 373. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487>
- Sierra, J., Escobar-Tovar, L., & Leon, P. (2023). Plastids: diving into their diversity, functions, and their role in plant development. *Journal of Experimental Botany*, 74(8), 2508–2526. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad044>
- Simkin, A. J., Gaffé, J., Alcaraz, J.-P., Carde, J.-P., Bramley, P. M., Fraser, P. D., & Kuntz, M. (2007). *Fibrillin influence on plastid ultrastructure and pigment content in tomato fruit*. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.03.014>
- Sims, W. L. (1980). HISTORY OF TOMATO PRODUCTION FOR INDUSTRY AROUND THE WORLD. *Acta Horticulturae*, 100, 25–26. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1980.100.1>
- Singh, D. K., & McNellis, T. W. (2011). Fibrillin protein function: The tip of the iceberg? In *Trends in Plant Science* (Vol. 16, Issue 8, pp. 432–441). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.014>
- Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular Pharmacology*, 71, 40–56. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.03.005>
- Sivakumar, R., & Srividhya, S. (2016). Impact of drought on flowering, yield and quality parameters in diverse genotypes of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Advances in Horticultural Science*, 30(1), 3–11. <https://doi.org/10.13128/ahs-18696>
- Slimestada, R., & Verheulb, M. (2009). Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*lycopersicon esculentum* mill.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(8), 1255–1270. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3605>

- Speakman, J. R. (2019). Use of high-fat diets to study rodent obesity as a model of human obesity. *International Journal of Obesity*, 43(8), 1491–1492. <https://doi.org/10.1038/s41366-019-0363-7>
- Speakman, J. R., & Hall, K. D. (2021). Carbohydrates, insulin, and obesity: Insulin plays a role in body fat regulation independent of dietary carbohydrates. *Science*, 372(6542), 577–578. <https://doi.org/10.1126/science.aav0448>
- Spiegler, E., Kim, Y. K., Hoyos, B., Narayanasamy, S., Jiang, H., Savio, N., Curley, R. W., Harrison, E. H., Hammerling, U., & Quadro, L. (2018).  $\beta$ -apo-10'-carotenoids support normal embryonic development during Vitamin A deficiency. *Scientific Reports*, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27071-3>
- Spinoni, J., Vogt, J. V., Naumann, G., Barbosa, P., & Dosio, A. (2018). Will drought events become more frequent and severe in Europe? *International Journal of Climatology*, 38(4), 1718–1736. <https://doi.org/10.1002/joc.5291>
- SS, P. (2023). Energy-balance and carbohydrate-insulin models of obesity are not competing propositions. *International Journal of Obesity*, 47(2), 95–97. <https://doi.org/10.1038/s41366-022-01249-2>
- Stagnari, F., Galieni, A., & Pisante, M. (2016). Drought stress effects on crop quality. *Water stress and crop plants: a sustainable approach*, 2, 375-392.
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(03\)00030-X](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(03)00030-X)
- Stanley, L., & Yuan, Y.-W. (2019). Transcriptional Regulation of Carotenoid Biosynthesis in Plants: So Many Regulators, So Little Consensus. *Frontiers in Plant Science*, 10(August), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01017>
- Steinfath, M., Vogl, S., Violet, N., Schwarz, F., Mielke, H., Selhorst, T., Greiner, M., & Schönfelder, G. (2018). Simple changes of individual studies can improve the reproducibility of the biomedical scientific process as a whole. *PLoS ONE*, 13(9), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202762>
- Steingass, C. B., & Schweiggert, R. M. (2020). Carotenoids in Goji Berry (*Lycium barbarum* L.) Structural Diversity, Nutritional Importance and Applications in Functional Foods. In *Phytochemicals in Goji Berries* (pp. 165–180). CRC Press.
- 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. <https://doi.org/10.1021/jf061241e>
- Stoeva, N., Berova, M., Vassilev, A., Zlatev, Z., Kaymakanova, M., Ganeva, D., Petkova, V., & others. (2012). Study on some enzyme activity in tomato plants during drought and recovery periods. *Agrarni Nauki*, 4(8), 61–64.
- Strati, I. F., & Oreopoulou, V. (2014). Recovery of carotenoids from tomato processing by-products - A review. *Food Research International*, 65(PC), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.032>
- Sun, T., Rao, S., Zhou, X., & Li, L. (2022). Plant carotenoids: recent advances and future perspectives. *Molecular Horticulture*, 2(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s43897-022-00023-2>
- Sun, T., Yuan, H., Cao, H., Yazdani, M., Tadmor, Y., & Li, L. (2018). Carotenoid Metabolism in Plants: The Role of Plastids. *Molecular Plant*, 11(1), 58–74. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.09.010>
- Sun, Y., Alseekh, S., & Fernie, A. R. (2023). Plant secondary metabolic responses to global climate change: A meta-analysis in medicinal and aromatic plants. *Global Change Biology*, 29(2), 477–504. <https://doi.org/10.1111/gcb.16484>
- Swinburn, B. A., Kraak, V. I., Allender, S., Atkins, V. J., Baker, P. I., Bogard, J. R., Brinsden, H., Calvillo, A., De Schutter, O., Devarajan, R., Ezzati, M., Friel, S., Goenka, S., Hammond, R. A., Hastings, G., Hawkes, C., Herrero, M., Hovmand, P. S., Howden, M., ... Dietz, W. H. (2019). The Global Syndemic of Obesity, Undernutrition, and Climate Change: The Lancet Commission report. *The Lancet*, 393(10173), 791–846. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32822-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32822-8)
- Takács, S., Pék, Z., Csányi, D., Daood, H. G., Szuvandzsiev, P., Palotás, G., & Helyes, L. (2020). Influence of water stress levels on the yield and lycopene content of tomato. *Water (Switzerland)*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/W12082165>

- Tamasi, G., Pardini, A., Bonechi, C., Donati, A., Pessina, F., Marcolongo, P., Gamberucci, A., Leone, G., Consumi, M., Magnani, A., & Rossi, C. (2019). Characterization of nutraceutical components in tomato pulp, skin and locular gel. *European Food Research and Technology*, 245(4), 907–918. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03235-x>
- Tan, H. L., Moran, N. E., Cichon, M. J., Riedl, K. M., Schwartz, S. J., Erdman, J. W., Pearl, D. K., Thomas-Ahner, J. M., & Clinton, S. K. (2014).  $\beta$ -Carotene-9',10'-oxygenase status modulates the impact of dietary tomato and lycopene on hepatic nuclear receptor-, stress-, and metabolism-related gene expression in mice. *Journal of Nutrition*, 144(4), 431–439. <https://doi.org/10.3945/jn.113.186676>
- Tanaka, K., Kawano, T., Tomino, T., Kawano, H., Okada, T., Oshita, S., Takahashi, A., & Nakaya, Y. (2009). Mechanisms of impaired glucose tolerance and insulin secretion during isoflurane anesthesia. *Anesthesiology*, 111(5), 1044–1051. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181bbcb0d>
- Teixeira, F., Silva, A. M., Delerue-Matos, C., & Rodrigues, F. (2023). Lycium barbarum Berries (Solanaceae) as Source of Bioactive Compounds for Healthy Purposes: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/ijms24054777>
- Tetens, I., & Alinia, S. (2009). The role of fruit consumption in the prevention of obesity. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(6), 47–51. <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512594>
- Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M. K., & Dutt, S. (2020). Recent updates on bioaccessibility of phytonutrients. *Trends in Food Science and Technology*, 97(August 2019), 366–380. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.019>
- Theg, S. M., & Wollman, F.-A. (2014). *Plastid Biology* (Vol. 5). Springer.
- Thioulouse, J., Dray, S., Dufour, A.-B., Siberchicot, A., Jombart, T., & Pavoine, S. (2018). *Multivariate analysis of ecological data with ade4*.
- Thissen, J.-P. (2018). Metabolically healthy obesity: Myth or reality? [L'obèse métaboliquement sain? : Mythe ou réalité?]. *Louvain Médical*, 137, 147.
- Thom, G., & Lean, M. (2017). Is There an Optimal Diet for Weight Management and Metabolic Health? *Gastroenterology*, 152(7), 1739–1751. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.01.056>
- Tian, Y., Su, L., Wang, J., Duan, X., & Jiang, X. (2018). Fruit and vegetable consumption and risk of the metabolic syndrome: A meta-analysis. *Public Health Nutrition*, 21(4), 756–765. <https://doi.org/10.1017/S136898001700310X>
- Tilesi, F., Lombardi, A., & Mazzucato, A. (2021). Scientometric and methodological analysis of the recent literature on the health-related effects of tomato and tomato products. *Foods*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081905>
- Tinkov, A. A., Ajsuvakova, O. P., Filippini, T., Zhou, J. C., Lei, X. G., Gatiatulina, E. R., Michalke, B., Skalnaya, M. G., Vinceti, M., Aschner, M., & Skalny, A. V. (2020). Selenium and selenoproteins in adipose tissue physiology and obesity. *Biomolecules*, 10(4), 1–31. <https://doi.org/10.3390/biom10040658>
- Tomas, M., Beekwilder, J., Hall, R. D., Diez Simon, C., Sagdic, O., & Capanoglu, E. (2018). Effect of dietary fiber (inulin) addition on phenolics and in vitro bioaccessibility of tomato sauce. *Food Research International*, 106(December 2017), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.050>
- Toor, R. K., & Savage, G. P. (2005). *Antioxidant activity in different fractions of tomatoes*. 38, 487–494. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.10.016>
- Tordoff, M. G., & Ellis, H. T. (2022). Obesity in C57BL/6J mice fed diets differing in carbohydrate and fat but not energy content. *Physiology and Behavior*, 243(September 2021), 113644. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113644>
- Torres-Montilla, S., & Rodriguez-Concepcion, M. (2021). Making extra room for carotenoids in plant cells: New opportunities for biofortification. *Progress in Lipid Research*, 84, 101128. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101128>
- Tourniaire, F., Gouranton, E., Von Lintig, J., Keijer, J., Bonet, M. L., Amengual, J., Lietz, G., & Landrier, J. F. (2009).  $\beta$ -Carotene conversion products and their effects on adipose tissue. *Genes and Nutrition*, 4(3), 179–187. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0128-3>



- Tourniaire, F., Musinovic, H., Gouranton, E., Astier, J., Marcotorchino, J., Arreguin, A., Bernot, D., Palou, A., Bonet, M. L., Ribot, J., & Landrier, J. F. (2015). All-trans retinoic acid induces oxidative phosphorylation and mitochondria biogenesis in adipocytes. *Journal of Lipid Research*, *56*(6), 1100–1109. <https://doi.org/10.1194/jlr.M053652>
- Touyz, R. M., Rios, F. J., Alves-Lopes, R., Neves, K. B., Camargo, L. L., & Montezano, A. C. (2020). Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*, *36*(5), 659–670. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.02.081>
- Toydemir, G., Gultekin Subasi, B., Hall, R. D., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., & Capanoglu, E. (2022). Effect of food processing on antioxidants, their bioavailability and potential relevance to human health. *Food Chemistry: X*, *14*(May), 100334. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100334>
- Tramblay, Y., Koutroulis, A., Samaniego, L., Vicente-Serrano, S. M., Volaire, F., Boone, A., Le Page, M., Llasat, M. C., Albergel, C., Burak, S., Cailleret, M., Kalin, K. C., Davi, H., Dupuy, J. L., Greve, P., Grillakis, M., Hanich, L., Jarlan, L., Martin-StPaul, N., Polcher, J. *et al.* (2020). Challenges for drought assessment in the Mediterranean region under future climate scenarios. *Earth-Science Reviews*, *210*(September), 103348. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103348>
- Tuel, A., & Eltahir, E. A. B. (2020). Why Is the Mediterranean a Climate Change Hot Spot? *Journal of Climate*, *33*(14), 5829–5843. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-19-0910.1>
- Ucci, M., Di Tomo, P., Tritschler, F., Cordone, V. G. P., Lanuti, P., Bologna, G., Di Silvestre, S., Di Pietro, N., Pipino, C., Mandatori, D., Formoso, G., & Pandolfi, A. (2019). Anti-inflammatory role of carotenoids in endothelial cells derived from umbilical cord of women affected by gestational diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*. <https://doi.org/10.1155/2019/8184656>
- UNDP. (2021). *Special Report on Drought 2021*. <https://www.undrr.org/contact-us>
- Unlu, N. Z., Bohn, T., Francis, D. M., Nagaraja, H. N., Clinton, S. K., & Schwartz, S. J. (2007). Lycopene from heat-induced cis-isomer-rich tomato sauce is more bioavailable than from all-trans-rich tomato sauce in human subjects. *British Journal of Nutrition*, *98*(1), 140–146. <https://doi.org/10.1017/S0007114507685201>
- Vallverdú-Queralt, A., Medina-Remón, A., Martínez-Huélamo, M., Jáuregui, O., Andres-Lacueva, C., & Lamuela-Raventós, R. M. (2011). Phenolic profile and hydrophilic antioxidant capacity as chemotaxonomic markers of tomato varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(8), 3994–4001. <https://doi.org/10.1021/jf104400g>
- Van Boekel, M., Fogliano, V., Pellegrini, N., Stanton, C., Scholz, G., Lalljie, S., Somoza, V., Knorr, D., Jasti, P. R., & Eisenbrand, G. (2010). A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition and Food Research*, *54*(9), 1215–1247. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900608>
- Veit, M., van Asten, R., Olie, A., & Prinz, P. (2022). The role of dietary sugars, overweight, and obesity in type 2 diabetes mellitus: a narrative review. *European Journal of Clinical Nutrition*, *76*(11), 1497–1501. <https://doi.org/10.1038/s41430-022-01114-5>
- Venegas Hargous, C., Strugnell, C., Allender, S., Orellana, L., Corvalan, C., & Bell, C. (2023). Double- and triple-duty actions in childhood for addressing the global syndemic of obesity, undernutrition, and climate change: A scoping review. *Obesity Reviews*, *24*(4). <https://doi.org/10.1111/obr.13555>
- Vershinin, A. (1999). Biological functions of carotenoids - Diversity and evolution. *BioFactors*, *10*(2–3), 99–104. <https://doi.org/10.1002/biof.5520100203>
- Vincent, A. M., Mclean, L. L., Backus, C., & Feldman, E. L. (2005). Short-term hyperglycemia produces oxidative damage and apoptosis in neurons. *The FASEB Journal*, *19*(6), 1–24. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2513fje>
- Virdis, A. (2016). Endothelial dysfunction in obesity: role of inflammation. *High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention*, *23*, 83–85.
- Voelkl, B., Altman, N. S., Forsman, A., Forstmeier, W., Gurevitch, J., Jaric, I., Karp, N. A., Kas, M. J., Schielzeth, H., Van de Castele, T., & Würbel, H. (2020). Reproducibility of animal research in light of biological variation. *Nature Reviews Neuroscience*, *21*(7), 384–393. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0313-3>
- Wang. (2019). LYCIUM PLANT NAMED “FPW07.” *United States Plant Patent, US PP31,12*.
- Wang, Y., Yang, F., Liu, T., Zhao, C., Gu, F., Du, H., Wang, F., Zheng, J., & Xiao, H. (2022). Carotenoid fates in

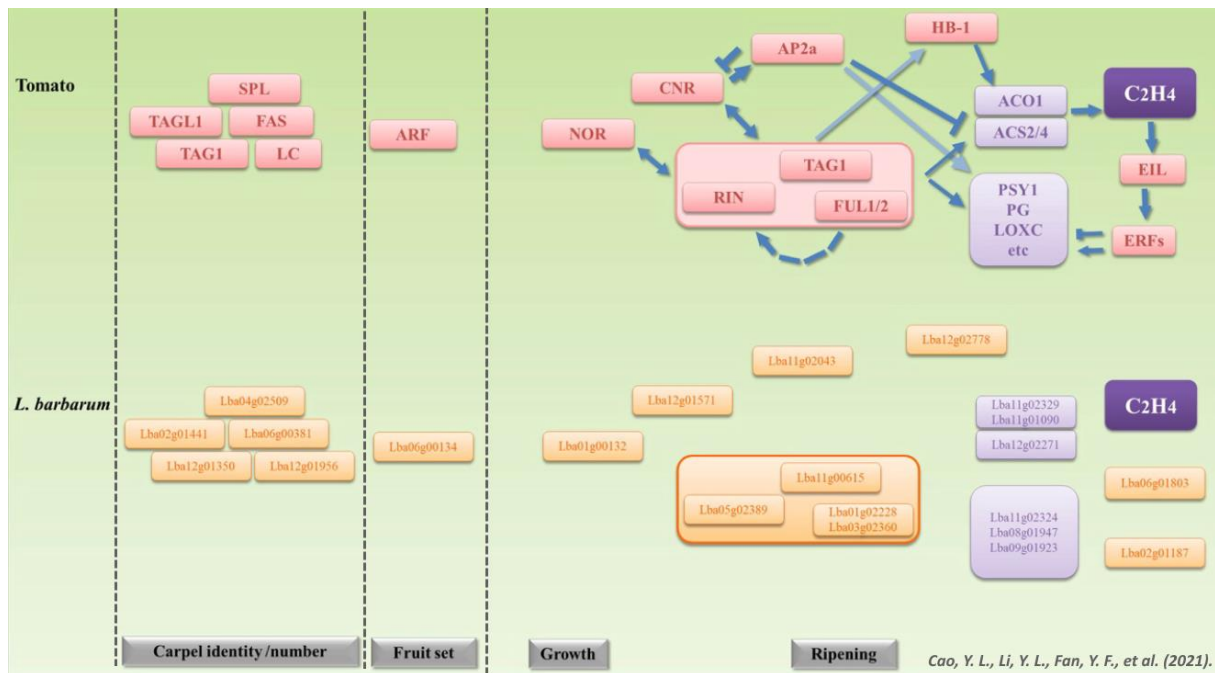
- plant foods: Chemical changes from farm to table and nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 0(0), 1–19. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2115002>
- Weber, D., & Grune, T. (2012). The contribution of  $\beta$ -carotene to vitamin A supply of humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(2), 251–258. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100230>
- Wegnez, J. (2022). Les plantes exotiques envahissantes d'île-de-france ; Actualisation de la liste hiérarchisée. *Muséum National d'Histoire Naturelle, Délégation Île-de-France*, 16+ annexes.
- Wegnez, Jérôme. (2018). *Liste hiérarchisée des plantes exotiques envahissantes (PEE) d'Île-de-France*. 1–45. [http://cbnbp.mnhn.fr/cbnbp/ressources/telechargements/CBNBP\\_PEE\\_IDF\\_2018.pdf](http://cbnbp.mnhn.fr/cbnbp/ressources/telechargements/CBNBP_PEE_IDF_2018.pdf)
- Wells, J. C. K. (2013). Obesity as malnutrition: the dimensions beyond energy balance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(5), 507–512.
- Wen, X., Hempel, J., Schweiggert, R. M., Wang, Y., Ni, Y., & Carle, R. (2018). Screening of critical factors influencing the efficient hydrolysis of zeaxanthin dipalmitate in an adapted in vitro- digestion model. *Food Chemistry*, 257(February), 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.116>
- WHO. (2020). *Healthy diet* (p. 20). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- WHO. (2021). *Obesity and overweight, key facts*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- WHO Regional office for Europe. (2022). *WHO European Regional Obesity Report 2022*. <http://apps.who.int/bookorders>.
- Wickham, H., Chang, W., Henry, L., Pedersen, T. L., Takahashi, K., Wilke, C., Woo, K., Yutani, H., & Dunnington, D. (2016). ggplot2: create elegant data visualisations using the grammar of graphics. R package version 3.2. 1. *Stata Software Package: College Station, TX, USA*.
- Wiczowski, W., Góraj-Koniarska, J., Saniewski, M., & Horbowicz, M. (2019). The effect of fluridone on accumulation of carotenoids, flavonoids and phenolic acids in ripening tomato fruit. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 18(6), 39–46. <https://doi.org/10.24326/asphc.2019.6.4>
- Williams, D. J., Edwards, D., Hamernig, I., Jian, L., James, A. P., Johnson, S. K., & Tapsell, L. C. (2013). Vegetables containing phytochemicals with potential anti-obesity properties: A review. *Food Research International*, 52(1), 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.015>
- Wing, R. A., Zhang, H. Bin, & Tanksley, S. D. (1994). Map-based cloning in crop plants. Tomato as a model system: I. Genetic and physical mapping of jointless. *MGG Molecular & General Genetics*, 242(6), 681–688. <https://doi.org/10.1007/BF00283423>
- Wise, R. R. (2016). Plastids: The Anabolic Factories of Plant Cells. In *Encyclopedia of Cell Biology* (Vol. 2). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394447-4.20030-8>
- Woelert, P., & Millar, V. (2013). The “paradox of interdisciplinarity” in Australian research governance. *Higher Education*, 66(6), 755–767. <https://doi.org/10.1007/s10734-013-9634-8>
- Wojdyło, A., Nowicka, P., & Bąbelewski, P. (2018). Phenolic and carotenoid profile of new goji cultivars and their anti-hyperglycemic, anti-aging and antioxidant properties. *Journal of Functional Foods*, 48(July), 632–642. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.061>
- Wolak, T., & Paran, E. (2013). Can carotenoids attenuate vascular aging? *Vascular Pharmacology*, 59(3–4), 63–66. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2013.07.006>
- Woodside, J. V, Lindberg, L., & Nugent, A. P. (2023). Harnessing the power on our plates: sustainable dietary patterns for public and planetary health. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1–34.
- Woodward, A., Smith, K. R., Campbell-Lendrum, D., Chadee, D. D., Honda, Y., Liu, Q., Olwoch, J., Revich, B., Sauerborn, R., Chafe, Z., Confalonieri, U., & Haines, A. (2014). Climate change and health: On the latest IPCC report. *The Lancet*, 383(9924), 1185–1189. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60576-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60576-6)
- Wu, B. H., Génard, M., Lescourret, F., Gomez, L., & Li, S. H. (2002). Influence of assimilate and water supply on seasonal variation of acids in peach (cv Suncrest). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(15), 1829–1836. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1267>

- Wu, X., Yu, L., & Pehrsson, P. R. (2022). Are Processed Tomato Products as Nutritious as Fresh Tomatoes? Scoping Review on the Effects of Industrial Processing on Nutrients and Bioactive Compounds in Tomatoes. *Advances in Nutrition*, 13(1), 138–151. <https://doi.org/10.1093/advances/nmab109>
- Xavier, A. A. O., & Pérez-Gálvez, A. (2016). Carotenoids as a Source of Antioxidants in the Diet. *Carotenoids in Nature: Biosynthesis, Regulation and Function*, 359–375.
- Xiao, H. W., Pan, Z., Deng, L. Z., El-Mashad, H. M., Yang, X. H., Mujumdar, A. S., Gao, Z. J., & Zhang, Q. (2017). Recent developments and trends in thermal blanching – A comprehensive review. *Information Processing in Agriculture*, 4(2), 101–127. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.02.001>
- Xiao, J., Liong, E. C., Ching, Y. P., Chang, R. C. C., Fung, M. L., Xu, A. M., So, K. F., & Tipoe, G. L. (2013). Lycium barbarum polysaccharides protect rat liver from non-alcoholic steatohepatitis-induced injury. *Nutrition and Diabetes*, 3(JULY). <https://doi.org/10.1038/nutd.2013.22>
- Xu, Ilyas, I., Little, P. J., Li, H., Kamato, D., Zheng, X., Luo, S., Li, Z., Liu, P., Han, J., Harding, I. C., Ebong, E. E., Cameron, S. J., Stewart, A. G., & Weng, J. (2021). Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: From mechanism to pharmacotherapies. *Pharmacological Reviews*, 73(3), 924–967. <https://doi.org/10.1124/PHARMREV.120.000096>
- Xu, X., Wang, J., Wu, H., Yuan, Q., Wang, J., Cui, J., & Lin, A. (2022). Effects of selenium fertilizer application and tomato varieties on tomato fruit quality: A meta-analysis. *Scientia Horticulturae*, 304(March), 111242. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111242>
- Yabuzaki, J. (2017). Carotenoids Database: Structures, chemical fingerprints and distribution among organisms. *Database*, 2017(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/database/bax004>
- Yajun, W., Xiaojie, L., Sujuan, G., Yuekun, L., Bo, Z., Yue, Y., Wei, A., Youlong, C., & Jianhua, Z. (2019). Evaluation of nutrients and related environmental factors for wolfberry (*Lycium barbarum*) fruits grown in the different areas of China. *Biochemical Systematics and Ecology*, 86(June), 103916. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2019.103916>
- Yamagata, K. (2017). Carotenoids regulate endothelial functions and reduce the risk of cardiovascular disease. *Carotenoids*, 25(106.10), 5772.
- Yamagata, K., Tagami, M., & Yamori, Y. (2015). Dietary polyphenols regulate endothelial function and prevent cardiovascular disease. *Nutrition*, 31(1), 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.04.011>
- Yang, J. (2015). *Lycium barbarum* L. 枸杞子 (Gouqizi, wolfberry). *Dietary Chinese Herbs: Chemistry, Pharmacology and Clinical Evidence*, 425–430.
- Yang, Y., Chang, Y., Wu, Y., Liu, H., Liu, Q., Kang, Z., Wu, M., Yin, H., & Duan, J. (2021). A homogeneous polysaccharide from *Lycium barbarum*: Structural characterizations, anti-obesity effects and impacts on gut microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183(June), 2074–2087. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.209>
- Yao, N., Yan, S., Guo, Y., Wang, H., Li, X., Wang, L., Hu, W., Li, B., & Cui, W. (2021). The association between carotenoids and subjects with overweight or obesity: A systematic review and meta-analysis. *Food and Function*, 12(11), 4768–4782. <https://doi.org/10.1039/d1fo00004g>
- Yao, R., Heinrich, M., Zou, Y., Reich, E., Zhang, X., Chen, Y., & Weckerle, C. S. (2018). Quality variation of Goji (Fruits of *Lycium* spp.) in China: A comparative morphological and metabolomic analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 9(FEB), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00151>
- Yao, Y., Tan, P., & Kim, J. E. (2022). Effects of dietary fats on the bioaccessibility and bioavailability of carotenoids: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies and randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*, 80(4), 741–761. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuab098>
- Ye, X., Tian, J., Zheng, Y., Sun, W., & Yang, W. (2020). Traditional goji berry-based functional food in Chinese history. In *Phytochemicals in Goji Berries* (pp. 1–13). CRC Press.
- Yong, K. T., Yong, P. H., & Ng, Z. X. (2023). Tomato and human health: A perspective from post-harvest processing, nutrient bio-accessibility, and pharmacological interaction. *Food Frontiers*, July, 1–18. <https://doi.org/10.1002/fft2.299>

- Yoo, Y. J., Saliba, A. J., & Prenzler, P. D. (2010). Should red wine be considered a functional food? *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 530–551. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00125.x>
- Young, H. (1962). *Statistical Treatment of Experimental Data*. McGraw-Hill Book Company, New York. [https://www.researchgate.net/profile/James\\_Dally/publication/225400877\\_Statistical\\_Treatment\\_of\\_Experimental\\_Data/links/541709d90cf2f48c74a3e862/Statistical-Treatment-of-Experimental-Data.pdf](https://www.researchgate.net/profile/James_Dally/publication/225400877_Statistical_Treatment_of_Experimental_Data/links/541709d90cf2f48c74a3e862/Statistical-Treatment-of-Experimental-Data.pdf)
- Yuan, X., Wei, G., You, Y., Huang, Y., Lee, H. J., Dong, M., Lin, J., Hu, T., Zhang, H., Zhang, C., Zhou, H., Ye, R., Qi, X., Zhai, B., *et al.* (2017). Rutin ameliorates obesity through brown fat activation. *FASEB Journal*, 31(1), 333–345. <https://doi.org/10.1096/fj.201600459RR>
- Zhang, J., Jia, W., Yang, J., & Ismail, A. M. (2006). Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses. *Field Crops Research*, 97(1 SPEC. ISS.), 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2005.08.018>
- Zhang, L., Virgous, C., & Si, H. (2019). Synergistic anti-inflammatory effects and mechanisms of combined phytochemicals. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 69, 19–30. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.03.009>
- Zhang, Y., Qin, J., Wang, Y., Zhou, T., Feng, N., Ma, C., & Zhu, M. (2022). Levels and health risk assessment of pesticides and metals in *Lycium barbarum L.* from different sources in Ningxia, China. *Scientific Reports*, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04599-5>
- Zhang, Z., Wei, Q., Nie, M., Jiang, N., Liu, C., Liu, C., Li, D., & Xu, L. (2018). Microstructure and bioaccessibility of different carotenoid species as affected by hot air drying: Study on carrot, sweet potato, yellow bell pepper and broccoli. *Lwt*, 96(February), 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.061>
- Zhao, J., Sauvage, C., Zhao, J., Bitton, F., Bauchet, G., Liu, D., Huang, S., Tieman, D. M., Klee, H. J., & Causse, M. (2019). Meta-analysis of genome-wide association studies provides insights into genetic control of tomato flavor. *Nature Communications*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09462-w>
- Zheng, X., Giuliano, G., & Al-Babili, S. (2020). Carotenoid biofortification in crop plants: citius, altius, fortius. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(11), 158664. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158664>
- Zhou, X., Rao, S., Wrightstone, E., Sun, T., Lui, A. C. W., Welsch, R., & Li, L. (2022). Phytoene Synthase: The Key Rate-Limiting Enzyme of Carotenoid Biosynthesis in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 13(April), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.884720>
- Zhou, Z. Q., Fan, H. X., He, R. R., Xiao, J., Tsoi, B., Lan, K. H., Kurihara, H., So, K. F., Yao, X. S., & Gao, H. (2016). Lycibarbarspermidines A-O, New Dicafeoylspermidine Derivatives from Wolfberry, with Activities against Alzheimer's Disease and Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(11), 2223–2237. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05274>
- Zhu, R., Chen, B., Bai, Y., Miao, T., Rui, L., Zhang, H., Xia, B., Li, Y., Gao, S., Wang, X. D., & Zhang, D. (2020). Lycopene in protection against obesity and diabetes: A mechanistic review. *Pharmacological Research*, 159(May). <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104966>
- Zhu, Z., Zhang, Y., Liu, J., Chen, Y., & Zhang, X. (2018). Exploring the effects of selenium treatment on the nutritional quality of tomato fruit. *Food Chemistry*, 252(April 2017), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.064>
- Žitná, M., Juríková, T., Hegedusová, A., Golian, M., Mlček, J., & Ryant, P. (2018). The effect of selenium application on plant health indicators of garden pea (*Pisum Sativum L.*) varieties. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 66(2), 399–405. <https://doi.org/10.11118/actaun201866020399>
- Zumaraga, M. P., Borel, P., Bott, R., Nowicki, M., Lairon, D., & Desmarchelier, C. (2023). The Interindividual Variability of Phytofluene Bioavailability is Associated with a Combination of Single Nucleotide Polymorphisms. *Molecular Nutrition and Food Research*, 67(2). <https://doi.org/10.1002/mnfr.202200580>
- Zurbau, A., Au-Yeung, F., Mejia, S. B., Khan, T. A., Vuksan, V., Jovanovski, E., Leiter, L. A., Kendall, C. W. C., Jenkins, D. J. A., & Sievenpiper, J. L. (2020). Relation of different fruit and vegetable sources with incident cardiovascular outcomes: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Journal of the American Heart Association*, 9(19). <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.017728>

# **Annexes**

## Annexes de l'Introduction



**Figure supplémentaire 1 - Comparaison des régulateurs transcriptionnels du développement et de la maturation des fruits charnus entre la tomate (*S. lycopersicum*) et le goji (*L. barbarum*).** Les flèches représentent les interactions régulatrices positives, et les barres représentent les régulations négatives. Les boîtes violet clair représentent une sélection de gènes de maturation affectés impliqués dans la biosynthèse de l'éthylène (ACO, ACS) ou la synthèse des caroténoïdes, le ramollissement de la chair du fruit et la production de composés aromatiques. RIN, TAGL1 et FUL1/2 sont regroupés pour indiquer qu'ils fonctionnent probablement comme des complexes de composition variable. Tous les facteurs de transcription de *L. barbarum* sont alignés verticalement avec leurs orthologues respectifs chez la tomate. D'après (Cao et al., 2021).

## Annexes du Chapitre 1

Tableau supplémentaire 1 - Effet du génotype (G) (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et du traitement hydrique (T) (Irrigation contrôle : CI, Irrigation déficitaire : DI) sur la masse volumique des fruits entiers.

	G	H1311	M82	IL2-5	IL5-4	IL6-2	IL12-4
	T						
Masse	(CI)	0,87 ± 0,01	0,88 ± 0,01	0,96 ± 0,02	0,95 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,92 ± 0,01
volume	(DI)	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,01	1 ± 0,01	0,99 ± 0,01	1 ± 0,01	0,98 ± 0,01
du fruit		(+ 10,4%)	(+ 9,4%)	(+ 3,8%)	(+ 3,6%)	(+ 1,9%)	(+ 6,7%)
(g cm <sup>-3</sup> )							

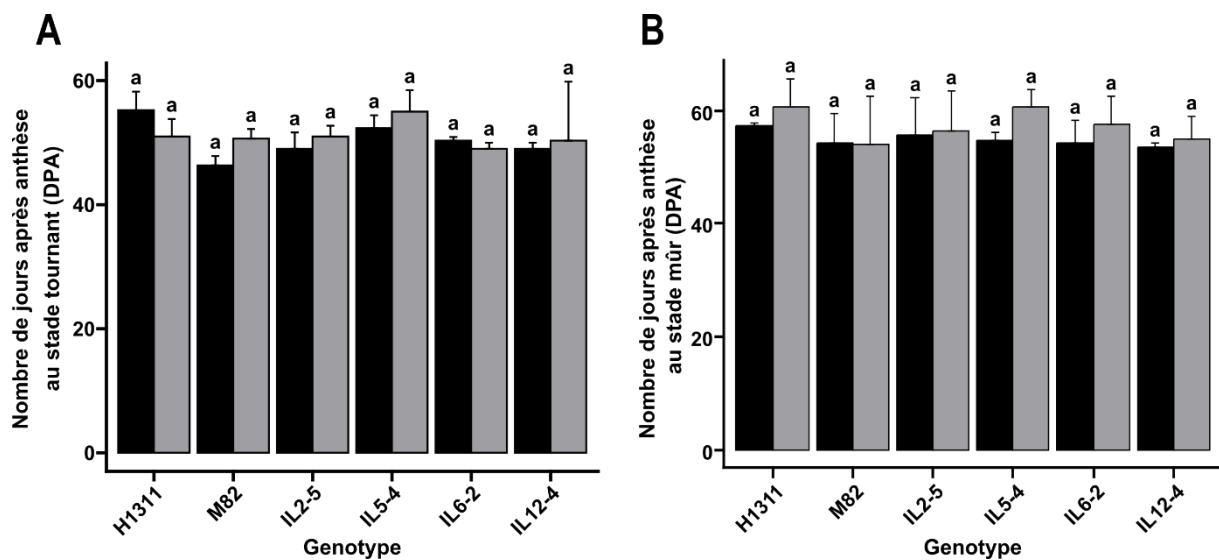
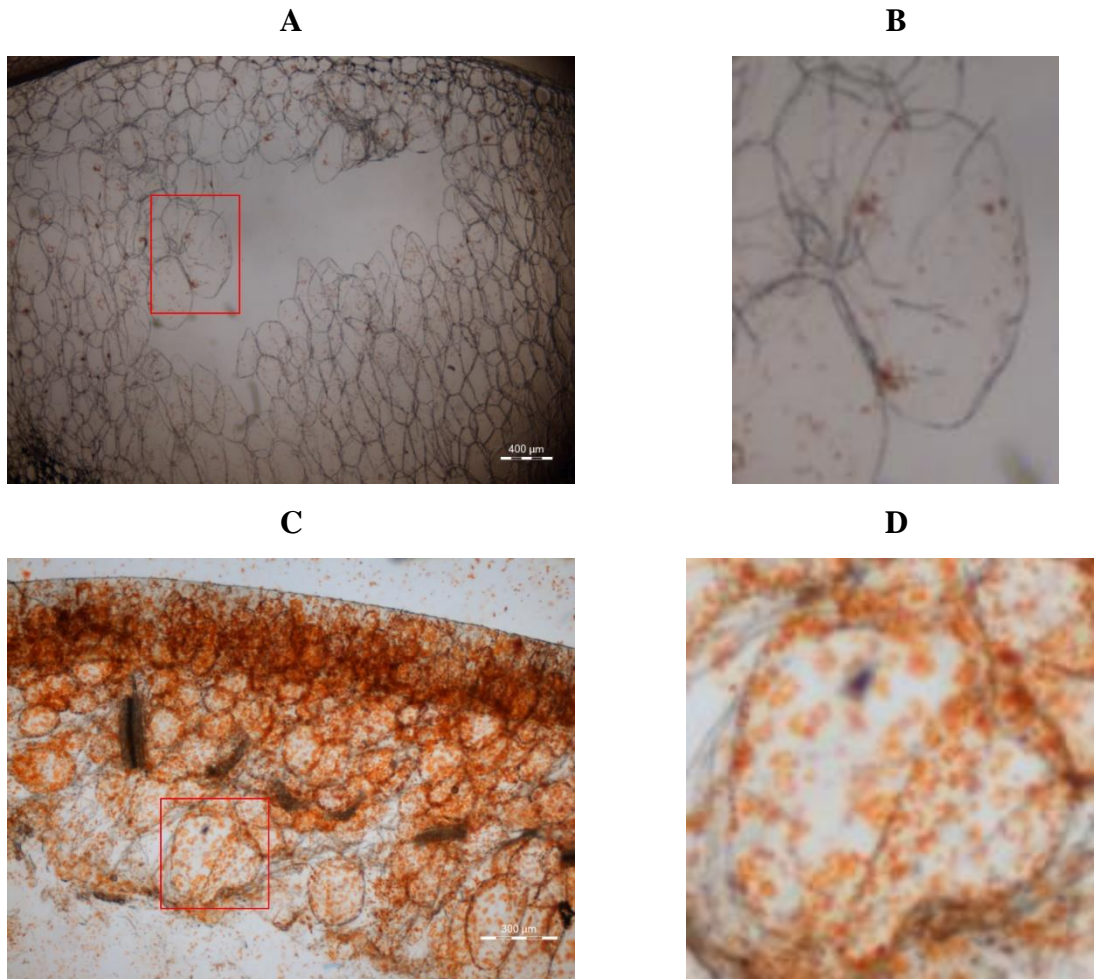


Figure supplémentaire 1 - Âge des fruits récoltés au stade tournant (A) et au stade « mûr » (B) pour les 6 génotypes étudiés (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) et pour les traitements CI (■) et DI (■). Moyenne +/- écart type, N=3 par génotype/traitement. Des lettres différentes attribuées à chaque groupe indiquent une différence significative ( $p_{\text{adj}} < 0.05$ ) d'après une analyse de la variance à deux facteurs et un ajustement de contrôle des fausses découvertes de Benjamini-Hochberg.



**Figure supplémentaire 2 - Coupe de péricarpe de fruits mûrs de tomate (A,B) et de goji (C,D) avec vues de détail d'une cellule du tissu et des chromoplastes.** (Olympus BX40, objectif 10x). La coupe de tomate présente une zone sans cellules dû à un détachement lors de la coupe au vibratome. La perte d'adhésion au stade mature rend l'observation des coupes en microscopie confocale au stade mûr plus difficile, l'intégrité du tissu étant rarement garantie après la coupe. Bien que le grossissement soit insuffisant pour compter et mesurer la taille des plastes, ceux-ci sont mis en évidence facilement grâce à leur pigmentation caractéristique.



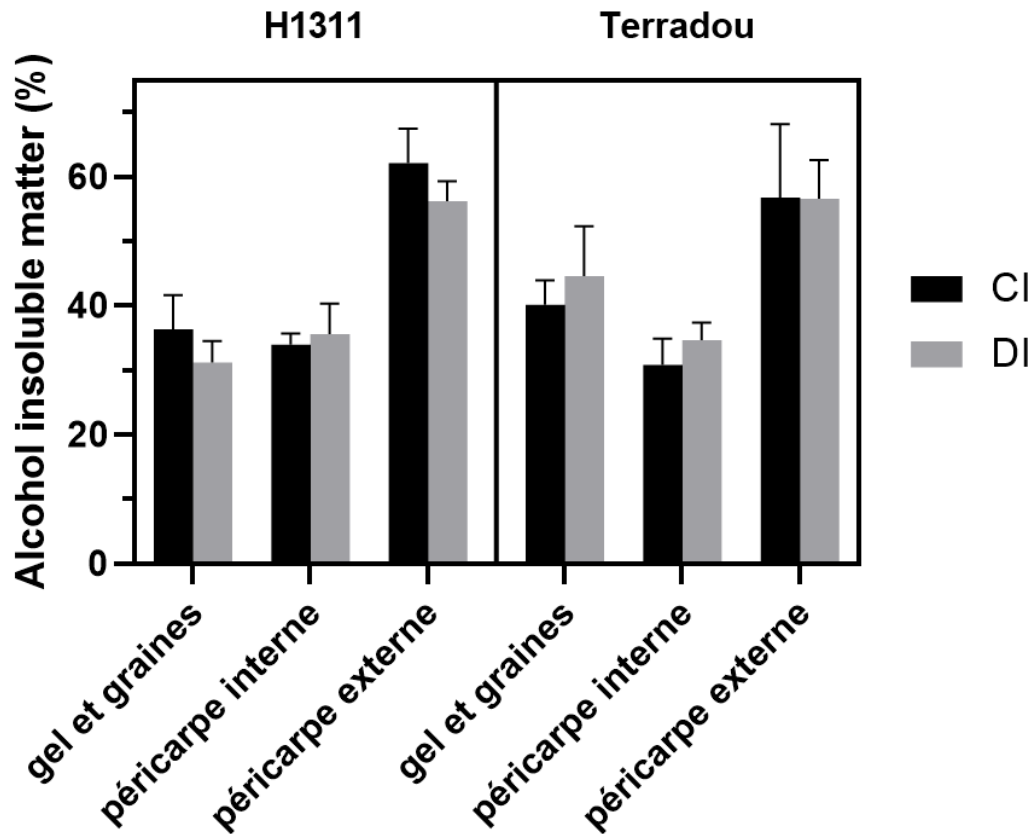
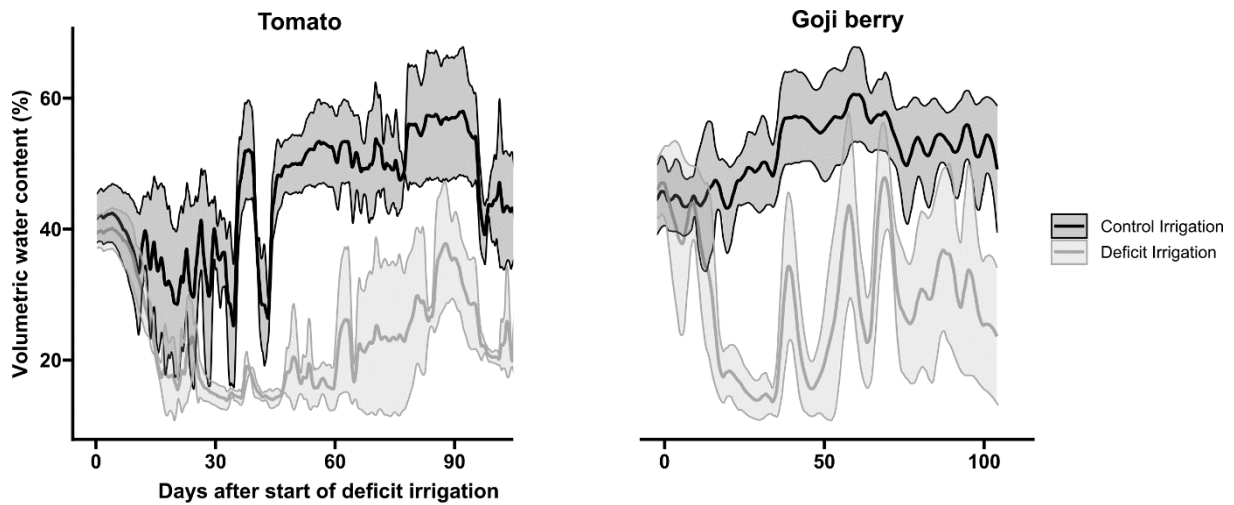
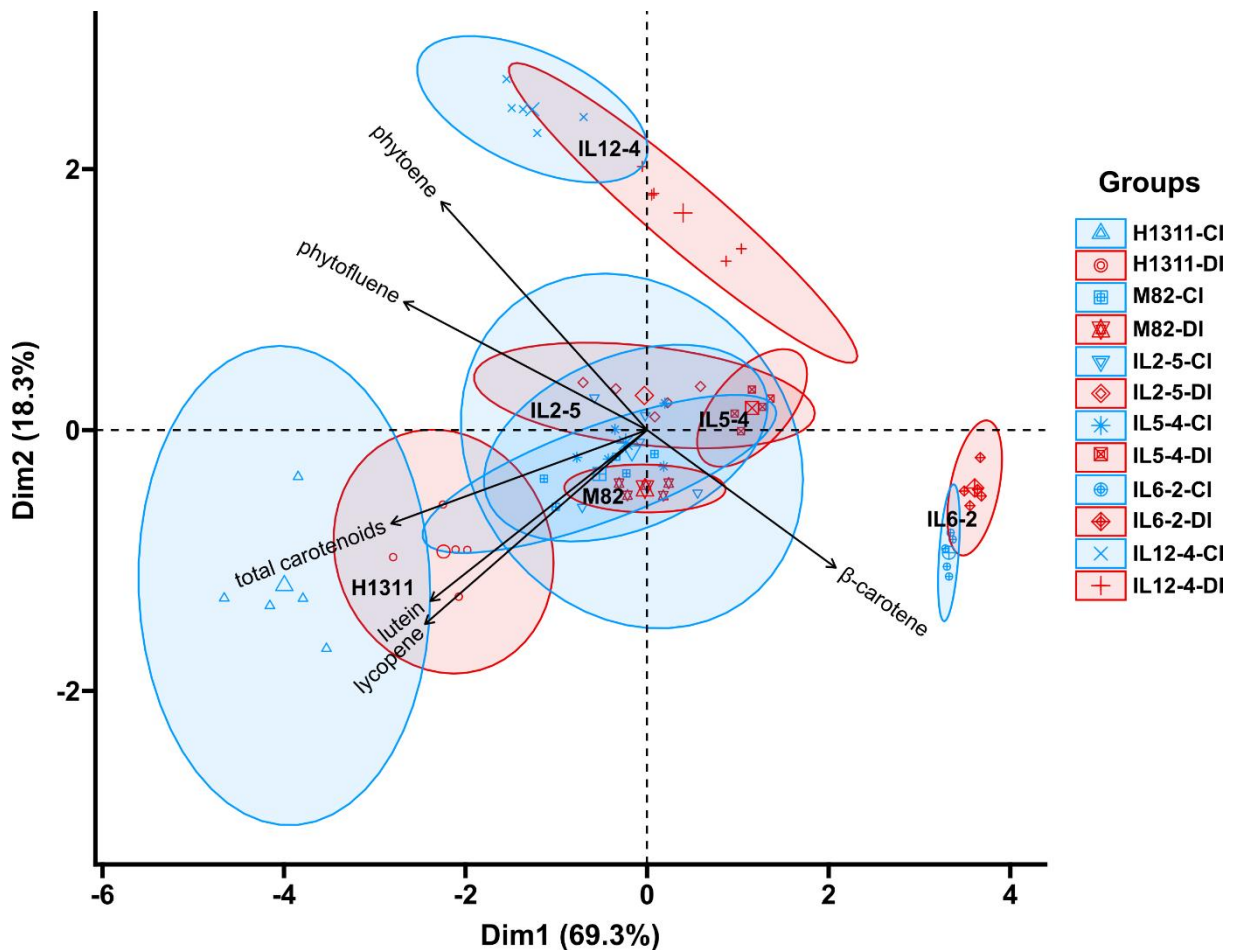


Figure Supplémentaire 3 – Teneur en matière insolubles à l'alcool dans les différentes zones du fruits (gel et graines, péricarpe interne, péricarpe externe) des génotype H1311 (gauche) et Terradou (droite) pour les traitements d'irrigation contrôle (CI) et déficitaire (DI). Moyenne +/- écart type. N = 5/génotype/traitement/zone.

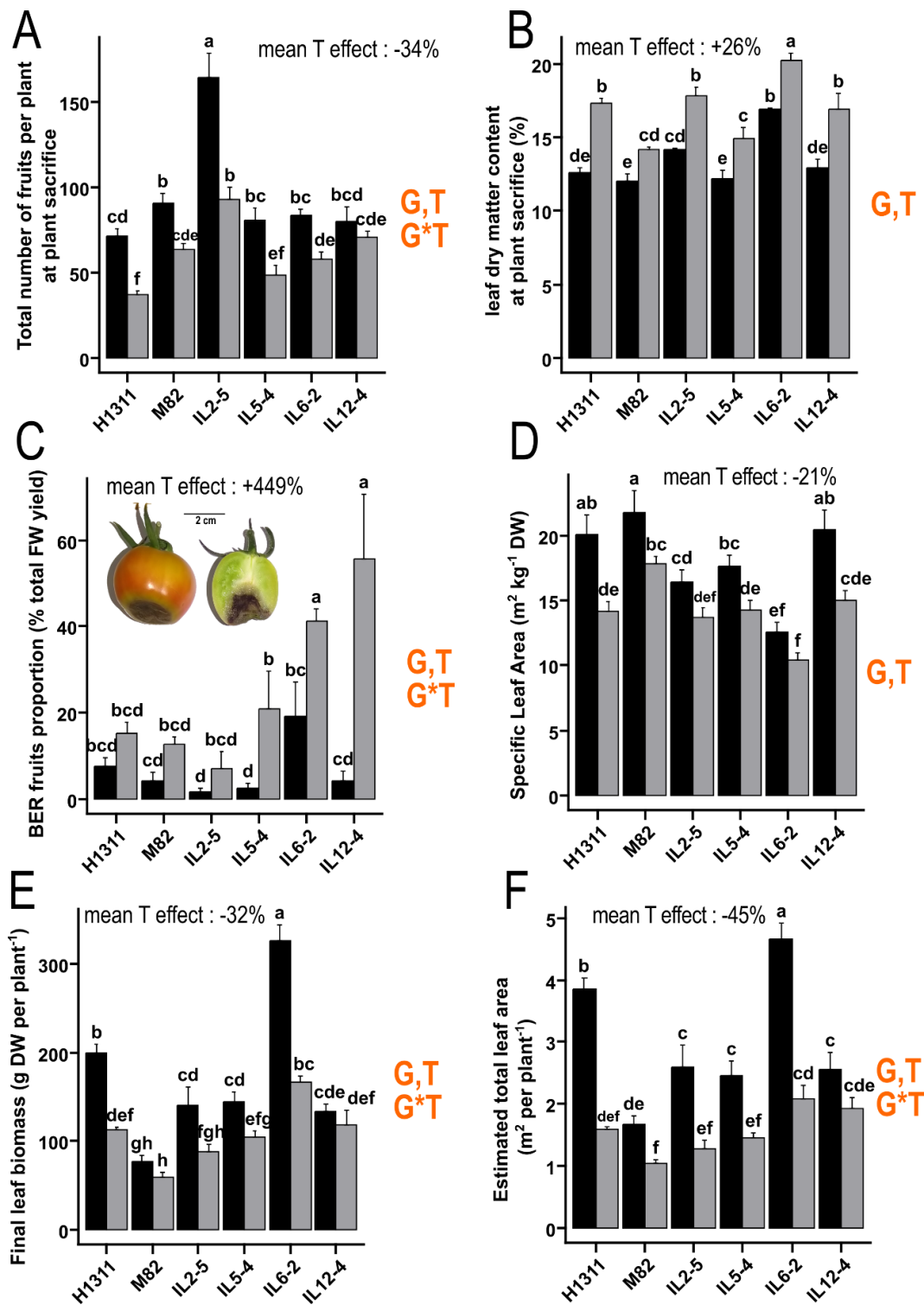
## Annexes du Chapitre 2



Supplementary Figure 1 - Changes through time in the volumetric water content of tomato (left) and goji berry plants (right) during the experimental period for “Control Irrigation” and “Deficit Irrigation” treatments (smoothed mean  $\pm$  SD, N = 5 probes/species/treatment).



Supplementary Figure 2 - Biplot for the two first components of the principal component analysis of tomato carotenoid concentrations on a dry weight basis. N = 5 samples for each group, labelled by genotype (H1311, M82, IL2-5, IL5-4, IL6-2, IL12-4) and water treatment; Control Irrigation (CI) or Deficit Irrigation (DI). Ellipses represent 95% confidence intervals.



**Supplementary Figure 3 - Impact of drought on tomato plant and fruit ecophysiology.** Total number of fruits per plant at sacrifice (A), leaf dry matter content at plant sacrifice (B), proportion of Blossom End Rot (BER) fruits (C), Specific Leaf Area (D), Leaf biomass (E), Estimated leaf surface area (F). (■) Control Irrigation; (■) Deficit Irrigation. Orange typed letters indicates significant main effects of genotype (G), deficit irrigation treatment (T), interaction (G\*T) in a two-way analysis of variance. Results are presented as mean  $\pm$  SEM and letters indicate significant difference with post-hoc test Fischer's Least significant difference, followed by Benjamini-Hochberg false discovery rate p-value adjustment. Significant p values are reported for  $\alpha < 0.05$ .

**Tableau supplémentaire 1** - Rendement ( $\text{mg g}^{-1}$  MF) et composition ( $\text{mg g}^{-1}$  MS) des parois en sucres, acide galacturonique, lignine pour les gojis frais (F), séchés (S), ou prétraités à la vapeur puis séchés (V), issus de l'irrigation contrôle (CI) ou du déficit hydrique (DI). Rha: rhamnose, Fuc: fucose, Ara: arabinose, Xyl: xylose, Man: mannose, Gal: galactose, Gal A: acide galacturonique, CGlc: glucose cellulosique, NCGlc: glucose non cellulosique, MeOH: méthanol, DM: degré de méthylation, Lig: lignine. Moyenne  $\pm$  écart-type. N = 3 analyses / traitement hydrique / traitement post-récolte. Pour chaque ligne, des lettres différentes entre les groupes indiquent une différence statistiquement significative au seuil de  $p < 0.05$  d'une Anova à deux voies (Irrigation \* traitement post-récolte) avec un test post-hoc LSD de Fisher avec un ajustement du taux de fausses découvertes de Benjamini-Hochberg.

	FPW07-F		FPW07-S		FPW07-V	
	CI	DI	CI	DI	CI	DI
<b>rendement</b>	4,4 $\pm$ 0,9 a	4,8 $\pm$ 0,5 a	5 $\pm$ 1,2 a	3,6 $\pm$ 0,4 a	3,8 $\pm$ 0,6 a	3,9 $\pm$ 0,6 a
<b>rha</b>	7,5 $\pm$ 1,2 a	5,3 $\pm$ 0,6 b	4,4 $\pm$ 0,8 bc	3,6 $\pm$ 1,3 c	5,3 $\pm$ 0,5 b	4,9 $\pm$ 1,2 bc
<b>fuc</b>	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a	0 $\pm$ 0 a
<b>ara</b>	36,9 $\pm$ 7,6 bc	29,4 $\pm$ 8 c	73,8 $\pm$ 33,6 a	76,7 $\pm$ 18,9 a	52,1 $\pm$ 12,6 ab	64 $\pm$ 10,9 a
<b>xyl</b>	53,7 $\pm$ 9,1 a	48,1 $\pm$ 8 a	40,1 $\pm$ 6,4 ab	33,7 $\pm$ 9,3 b	52,9 $\pm$ 10,1 a	46,8 $\pm$ 6,3 ab
<b>man</b>	5 $\pm$ 0,8 b	21,3 $\pm$ 26,1 a	21,8 $\pm$ 4,8 a	22 $\pm$ 5,4 a	15,9 $\pm$ 0,5 a	14,9 $\pm$ 1,3 a
<b>gal</b>	29,3 $\pm$ 4,4 a	26,7 $\pm$ 6,9 a	23,8 $\pm$ 4,6 a	20,1 $\pm$ 5,1 a	28,5 $\pm$ 4 a	26 $\pm$ 2,5 a
<b>NCGlc</b>	9,4 $\pm$ 1,1 b	10,3 $\pm$ 0,6 ab	8,5 $\pm$ 1,5 b	9,2 $\pm$ 1,2 b	9 $\pm$ 0,9 b	12,1 $\pm$ 1 a
<b>CGlc</b>	98,1 $\pm$ 2,6 a	79,2 $\pm$ 24,3 a	120,4 $\pm$ 22,6 a	111,9 $\pm$ 15,3 a	107,8 $\pm$ 10,2 a	112,9 $\pm$ 2,1 a
<b>Gal A</b>	161,4 $\pm$ 33,7 a	172,7 $\pm$ 34,1 a	178,5 $\pm$ 14,5 a	155,4 $\pm$ 33,2 a	177,5 $\pm$ 10 a	181 $\pm$ 7,7 a
<b>Lig</b>	103,5 $\pm$ 29,7 a	71,4 $\pm$ 19,8 a	101 $\pm$ 24,4 a	111,6 $\pm$ 30,7 a	108,7 $\pm$ 37,8 a	27,1 $\pm$ 6,4 b
<b>MeOH</b>	14,9 $\pm$ 3,4 a	14,7 $\pm$ 2,7 a	9,5 $\pm$ 0,5 b	10,1 $\pm$ 3,7 b	6,3 $\pm$ 0,1 c	7,6 $\pm$ 1,3 bc
<b>DM</b>	63,9 $\pm$ 21,3 a	57,8 $\pm$ 11,4 ab	35,2 $\pm$ 2,9 bcd	46 $\pm$ 25,7 abc	23,4 $\pm$ 1,4 d	27,8 $\pm$ 5,6 cd
<b>GalA (Rha+Ara+Gal)</b>	1,8 $\pm$ 0,4 ab	2,3 $\pm$ 0,2 a	1,5 $\pm$ 0,5 b	1,2 $\pm$ 0,1 b	1,7 $\pm$ 0,1 ab	1,5 $\pm$ 0,1 b
<b>(Ara+Gal)/Rha</b>	9,2 $\pm$ 1,8 d	10,8 $\pm$ 3,1 cd	24,5 $\pm$ 12,1 ab	31,5 $\pm$ 11,9 a	15,9 $\pm$ 3,3 bc	20,1 $\pm$ 6,2 ab
<b>Gal A/Rha</b>	18,3 $\pm$ 5,6 b	27,1 $\pm$ 6 ab	33,9 $\pm$ 3,1 a	38,3 $\pm$ 11,3 a	28 $\pm$ 3,8 ab	31,6 $\pm$ 7,3 a
<b>Ara/Gal</b>	1,4 $\pm$ 0,5 bc	1,3 $\pm$ 0,3 c	3,8 $\pm$ 2,5 a	4,5 $\pm$ 1,9 a	2,1 $\pm$ 0,7 abc	2,8 $\pm$ 0,7 ab

## Annexes du Chapitre 3

**Table supplémentaire 1 - Prise alimentaire ( $\mu\text{g}/\text{souris}/\text{jour}$ ) des microconstituants des baies de goji des animaux.** Fruits frais lyophilisés (F) ou prétraités à la vapeur puis séchés (V), issus de l'irrigation contrôlée (CI) ou déficitaire (DI) estimée à partir des données de prise alimentaire et des données de composition des lots de fruits.

	F		V	
	CI	DI	CI	DI
$\beta$ -carotène	9,3 $\pm$ 2,1	10,8 $\pm$ 1,6	5 $\pm$ 0,9	6,3 $\pm$ 1,2
Phytoène	0 $\pm$ 0	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0	0,2 $\pm$ 0
Lutéine	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,2
Zeaxanthine	10,5 $\pm$ 2,4	7,5 $\pm$ 0,9	20,9 $\pm$ 4,3	28,5 $\pm$ 7
Violaxanthine	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0	0,1 $\pm$ 0
$\beta$ -cryptoxanthine palmitate	43,1 $\pm$ 9,5	55 $\pm$ 7,9	31,3 $\pm$ 5,5	35,3 $\pm$ 10,8
Zeaxanthine dipalmitate	2237 $\pm$ 470	2513 $\pm$ 347,9	2088,5 $\pm$ 278	2018,1 $\pm$ 502,1
<b>Caroténoïdes totaux</b>	<b>2300,2 <math>\pm</math> 483,5</b>	<b>2586,8 <math>\pm</math> 357,9</b>	<b>2146,4 <math>\pm</math> 286,9</b>	<b>2089,2 <math>\pm</math> 519,2</b>
Acide néochlorogénique	30 $\pm$ 6,2	29,5 $\pm$ 2,8	32 $\pm$ 3,8	33,3 $\pm$ 4,8
Acide cryptochlorogénique	6,8 $\pm$ 3,1	7,9 $\pm$ 3,6	11,3 $\pm$ 4	11,6 $\pm$ 5,1
Acide chlorogénique	42,4 $\pm$ 8,6	46,2 $\pm$ 4,9	58,7 $\pm$ 8,6	71,7 $\pm$ 16,5
Rutine	32 $\pm$ 13,1	39,2 $\pm$ 6,7	21,3 $\pm$ 3,8	24,6 $\pm$ 5,9
Acide caféique	0,4 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	4,5 $\pm$ 0,6	7,7 $\pm$ 2,6
Acide vanillique	0,2 $\pm$ 0	0,2 $\pm$ 0	3,6 $\pm$ 1,1	2,9 $\pm$ 1
Acide coumarique	22,7 $\pm$ 5,8	13,2 $\pm$ 9,2	161,6 $\pm$ 22,3	203,4 $\pm$ 45,3
Acide trans-férulique	3,6 $\pm$ 1	2,8 $\pm$ 2,1	56,3 $\pm$ 7,1	77 $\pm$ 11,7
<b>Phénoliques totaux</b>	<b>138,1 <math>\pm</math> 29,9</b>	<b>139,3 <math>\pm</math> 19,2</b>	<b>349,3 <math>\pm</math> 41,4</b>	<b>432,3 <math>\pm</math> 75,1</b>

## Annexes du Chapitre 4

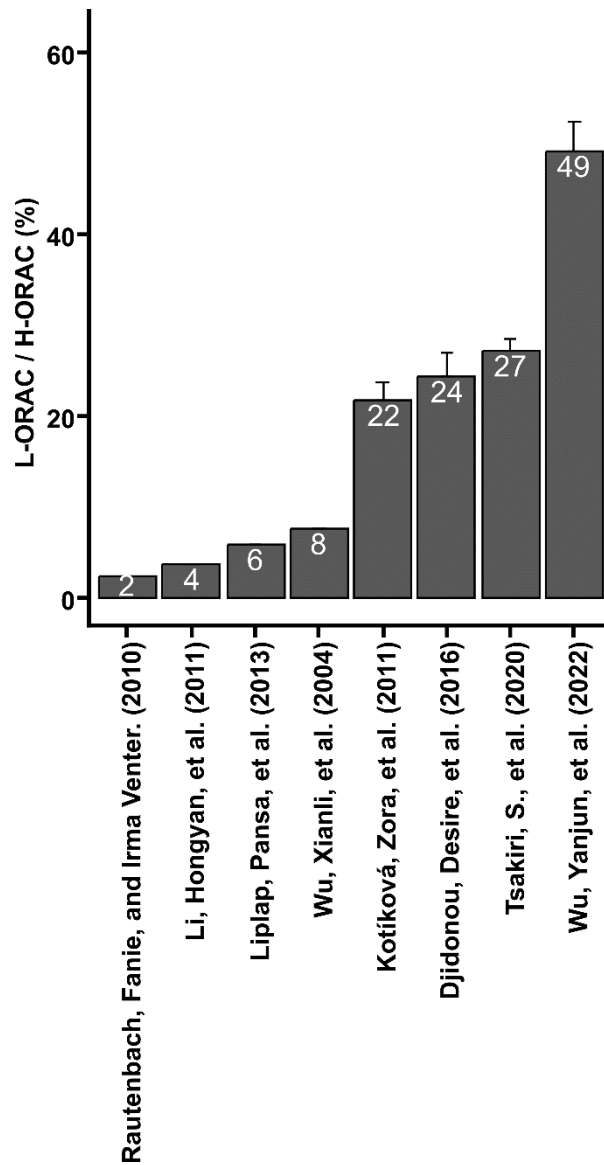


Figure supplémentaire 1 - Ratio de la capacité antioxydante lipophile/hydrophile en équivalent Trolox (L-ORAC / H-ORAC) à partir des données disponibles issues de 8 études concernant la capacité antioxydante de la tomate. Ratio par étude ou ratio moyen +/- erreur standard dans le cas où plusieurs génotypes ont été évalués

Les effets-santé des fruits et légumes sont en partie dus à leur richesse en phytoconstituants comme les caroténoïdes. L'objectif de la thèse a été d'analyser au travers d'une approche interdisciplinaire, la relation « conditions de culture - séquestration des caroténoïdes – valeur santé des fruits ». La valeur santé des fruits a été évaluée à différents niveaux : I) la composition en microconstituants des fruits matures ; II) la bioaccessibilité des caroténoïdes dans un modèle de digestion *in vitro* ; III) le phénotype métabolique sur un modèle d'obésité induite chez la souris mâle C57BL/6JRj supplémentée en poudre de fruit pendant 12 semaines ; IV) la fonction vasculaire de rats mâles Wistar hyperglycémisés et préalablement gavés en fruits présentant des capacités antioxydantes élevées. Pour ce faire, deux fruits décrits pour accumuler massivement des caroténoïdes ont été cultivés : **la tomate** (*Solanum lycopersicum*, six génotypes type « tomate d'industrie », H1311, M82, IL2-5, IL54, IL6-2 et IL12-4) et **la baie de goji** (*Lycium barbarum*, le cultivar FPW07). Les fruits ont été produits en environnement contrôlé sous serre sous deux régimes hydriques : un régime hydrique témoin « Control Irrigation » (CI) avec une restauration complète de l'évapotranspiration, et un régime hydrique stressé « Deficit Irrigation » (DI), pour lequel nous avons divisé par deux les volumes d'irrigation de l'anthèse jusqu'à la récolte par rapport au régime CI. Nous avons fait l'hypothèse que le déficit hydrique et/ou les traitements post-récolte (vapeur, séchage...) peuvent moduler la valeur santé des fruits en agissant sur leur composition en macro et microconstituants, les propriétés cellulaires des matrices et la bioaccessibilité des caroténoïdes. Les résultats de ces travaux montrent que dans un modèle de digestion *in vitro*, le DI diminue globalement la bioaccessibilité des caroténoïdes. *In vivo*, les résultats suggèrent que la consommation de tomate ou de baie de goji peut être associée à des effets-santé positifs dans un contexte métabolique et vasculaire avec des effets largement dépendants du génotype et du traitement post-récolte, mais peu du déficit hydrique. Ainsi, ces travaux suggèrent que le génotype et/ou le traitement post-récolte sont des leviers majeurs pour améliorer la valeur santé des fruits tout au long de la chaîne de production.

**Mots-clés** : caroténoïdes, déficit hydrique, qualité nutritionnelle du fruit, bioaccessibilité, santé métabolique.

## Abstract

---

The health benefits of fruit and vegetables are partly due to their richness in phytochemicals such as carotenoids. The aim of this thesis was to combine several disciplines to analyze the relationship between growing conditions, carotenoid sequestration and the health value of fruits. The health value of fruits was assessed at various levels: I) the micronutrient composition of mature fruits; II) the bioaccessibility of carotenoids in an *in vitro* digestion model; III) the metabolic phenotype of male C57BL/6JRj mice supplemented with fruit powder for 12 weeks in a model of diet induced obesity; IV) the vascular function of hyperglycemic male Wistar rats fed with high antioxidant capacity fruits. For this purpose, two fruits described for their massive accumulation of carotenoids were cultivated: **tomato** (*Solanum lycopersicum*, six "industrial tomato" genotypes, H1311, M82, IL2-5, IL54, IL6-2 and IL12-4) and **goji berry** (*Lycium barbarum*, cultivar FPW07). Fruits were produced in a controlled greenhouse environment with two water regimes implemented. A control "Control Irrigation" (CI) regime with complete restoration of evapotranspiration, and a stressed "Deficit Irrigation" (DI) regime, for which irrigation volumes were halved from anthesis to harvest compared with the CI regime. We hypothesized that water deficit and/or post-harvest treatments (steaming, drying, etc.) may modulate the health value of the fruits by affecting their micronutrient composition and the bioaccessibility of carotenoids. The results of this work showed that in an *in vitro* digestion model, DI globally decreases carotenoid bioaccessibility. *In vivo*, the results suggest that tomato or goji berry consumption may be associated with positive health effects in a metabolic and vascular context, with effects largely dependent on genotype and post-harvest treatment, but less water treatment. Thus, this work suggested that genotype and/or post-harvest treatment were major levers to improving the fruit's health value throughout the production chain.

**Keywords**: carotenoids, water deficit, fruit nutritional quality, bioaccessibility, metabolic health.