GEMBLOUX AGRO BIO TECH

Projet interdisciplinaire : Biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de la collection « Luc Fichot* ».

*Suite au décès inopiné de Luc Fichot, horticulteur, jardinier-collectionneur à Falisolle, son épouse a confié au Centre Technique Horticole de Gembloux (CTH) et à la FUSAGx une collection de près de 1200 variétés et cultivars de tomate afin que ce patrimoine génétique puisse être développé et valorisé.

Le temps est venu pour moi de vous quitter. Je vous laisse le soin de "semer aussi à tout vent" pour le plaisir de la découverte, celui des échanges et surtout la défense de la biodiversité. LF

Rapport final - Année académique 2009-2010

Directeurs du projet : A. Toussaint et J.P. Baudoin : Phytotechnie tropicale et horticulture

Costa Santos Baltazar Sofia De Ridder Céline Dumortier Pierre Evrard Maud Maïche Maryam Nicolas Aurore



Table des matières

Та	able des mat	ières	2
		strations	
Ta	able des anno	exes	5
R	emerciement	ts	6
1	Introduct	ion	7
2	Synthèse	bibliographique	7
	2.1 Gén	éralités	7
	2.1.1	Histoire de la tomate	7
	2.1.2	Classification	8
	2.1.3	Caractères botaniques	9
	2.1.4	Écophysiologie et facteurs de l'environnement	10
	2.2 Ecor	nomie et consommation de la tomate	12
	2.3 Cons	servation de la collection	14
	2.3.1	Le problème de la diversité variétale	14
	2.3.2	Le point sur les collections de tomate de par le monde	15
	2.3.3	La collection Luc Fichot	
	2.3.4	Méthode de conservation ex situ vs in situ	16
	2.3.5	Objectifs de notre collection	16
	2.4 Anti	oxydants et anthocyanes	16
	2.5 Phyt	topathologies de la tomate (les principales maladies étudiées)	17
	2.5.1	Généralités	17
	2.5.2	PVY (virus Y de la pomme de terre)	19
	2.5.3	CMV (virus de la mosaïque du concombre)	20
	2.5.4	TMV (virus de la mosaïque du tabac)	
3	Matériel	et méthode	23
	3.1 Cho	ix des variétés	23
	3.1.1	Principe	23
	3.1.2	Tomates destinées à la conservation	
	3.1.3	Liste des variétés sélectionnées	24
	3.1.4	Tomates destinées à la valorisation	
	3.1.5	Liste des variétés sélectionnées	
	3.2 Mét	hode de conservation	25
	3.3 Con	duite de la culture	26
	3.3.1	Traitement à l'acide gibbérellique des cinquante variétés de tomates à	
	conserver		
	3.3.2	Traitement au détergent des 20 variétés de tomates à valoriser	
	3.3.3	Semis et repiquage	
	3.3.4	Plantations	
		i de la culture	
	3.5 Desc	cripteurs	
	3.5.1	Choix et définition des descripteurs	
	3.5.2	Caractérisation	
	3.5.3	Evaluation	
		lyse des antioxydants et des anthocyanes	
	3.6.1	Echantillonnage	
	3.6.2	Mesure des antioxydants totaux	
	3.6.3	Mesure des anthocyanes	37

	3.6.4	4	Méthodologie des tests effectués	39		
	3.7	Test	ELISA			
	3.7.	1	Détection du PVY	41		
	*	Mat	ériel	41		
	*	Mét	hode	42		
	3.7.2	2	Détection du CMV	44		
	**	Mat	ériel :	44		
	**	Mét	hode:	44		
	3.8	Acti	on médiatique de valorisation :	46		
	3.8.	1	Moyens mis en œuvre :	46		
	3.8.2	2	Bilan:	46		
	3.8.3	3	Etablissement des questionnaires :	46		
4	Rési	ıltats		47		
	4.1	Taux	de germination	47		
	4.2	Réci	upération des graines/renouvellement de la collection	47		
	4.3	Plan	de conservation	48		
	4.4 Des		criptions physicochimiques	49		
	4.5		ictérisation			
	4.6	Déte	ermination des antioxydants et des anthocyanes	57		
	4.7		ıltats des tests ELISA			
	4.7.		PVY			
	4.7.2		CMV			
	4.7.3	3	TMV			
	4.8	Rési	ıltats de l'action médiatique			
5			ons et perspectives			
Annexes						
	ibliographie					

Table des illustrations

Figure 1: photographie d'un plant de tomate	8
Figure 2: Graphique risque de cancer en fonction du taux des antioxydants dans le sang.	
(Pincemail J.et al., 1999)	17
Figure 3: photographie d'un des symptômes du PVY. (AVRDC, The world vegetable center,	
2005)	
Figure 4: Plant de tomate atteint de CMV. (INRA, 2001)	21
Figure 5: Symptômes de la mosaïque du tabac sur tomate. (Omafra, 2009)	22
Figure 6: semis des tomates	
Figure 7: Photographie des tomates à valoriser	29
Figure 8: photographie de feuilles "brûlées » après la transplantation	29
Figure 9: Les différents types de feuille (IPGRI)	31
Figure 10: Les différentes formes du fruit (IPGRI)	32
Figure 11: Les différentes formes du fruit en coupe transversale (IPGRI)	33
Figure 12: Longueur du pédicelle (IPGRI)	34
Figure 13: Illustration d'un réfractomètre (Optech Refractomètres, 2005)	35
Figure 14: Représentation d'un espace colorimétrique (Newtone, 2005)	35
Figure 15: Représentation des coordonnées rectangulaire L*a*b et des coordonnées	
circulaires L*C*h (Newtone, 2005)	36
Figure 16 : Structure de base des anthocyanes	38
Figure 17 : Formes structurales prédominante d'anthocyanes présentes à différents niveau	IX
de pH	38
Figure 18 : Caractéristiques spectrales d'anthocyanes de radis purifiés (dérivé acétylé	
pelargonidin-3-sophoroside-5-glucoside)	
Figure 19: Germination de graines dans un bac d'eau (17.08.2009)	48
Figure 20: résultats des analyses brix	49
Figure 21: relation entre taille et goût sucré des tomates	
Figure 22: résultats des analyses de pH	
Figure 23: relation entre pH et couleur du fruit	
Figure 24: relation entre le pH et l'indice au réfractomètre	52
Figure 25: graphique force distance	53
Figure 26: distance de rupture	
Figure 27: force de rupture	54
Figure 28: hauteur du palier	54
Figure 29: relation force de rupture, résistance de la chair	55
Figure 30: relation distance de rupture - diamètre du fruit	56
Figure 31: relation force de rupture - résistance de la chair	56
Figure 32: représentation des plantes infectées selon leur disposition sur la parcelle. Les	

Table des annexes

Annexe 1: calendrier de l'observation des symptômes	69
Annexe 2: Liste des variétés destinées à la conservation	70
Annexe 3: Liste des variétés destinées à la valorisation	71
Annexe 4: disposition des tomates conservation	72
Annexe 5: Disposition de tomates valorisation	73
Annexe 6: Rapport de De Ridder Céline et Dumortier Pierre : « Biodiversité de la tomate	et et
de la pomme de terre	
Annexe 7: disposition des puits sur les plaques ELISA lors de l'analyse PVY	77
Annexe 8: disposition des puits sur les plaques ELISA lors de l'analyse CMV	79
Annexe 9: posters exposés lors de l'action médiatique	81
Annexe 10: le questionnaire de l'action médiatique	82
Annexe 11: degré Brix et pH des variétés analysées	83
Annexe 12: résultats des analyses au texturomètre	84
Annexe 13: Origine et résultats des caractérisations pour les variétés de conservation	85
Annexe 14: Origine et résultats des caractérisations pour les variétés de valorisation	88
Annexe 15: exemple des fiches établies pour toutes les variétés étudiées	90
Annexe 16: résultats des analyses antioxydants	
Annexe 17: résultats bruts obtenus après test ELISA (PVY)	94
Annexe 18: résultats bruts obtenus après test ELISA (CMV)	96
Annexe 19: résultats des questionnaires	98
Annexe 20: Calendrier suivi	100
Annexe 21: « Charte phytosanitaire » appliquée à notre situation de culture	101

Remerciements

Nous adressons nos remerciements à M. Toussaint et à M. Baudoin pour nous avoir suivis tout au long de ce projet.

Nous remercions Mme Marie-Jeanne Vausort et Feu M. Luc Fichot pour leur passion, leur travail et leurs efforts afin de défendre la biodiversité.

Merci à M. Blecker pour le matériel et le temps qu'il à mis à notre disposition. Merci aussi à Emilie Lefébure pour nous avoir encadré lors de nos analyses d'antioxydants.

Merci à M. Lepoivre pour avoir mis à notre disposition son laboratoire, son matériel et son expertise dans le domaine du diagnostic. Nous voudrions aussi remercier Caroline Declerck et Frédérique pour leur aide lors des manipulations.

Nous tenons à remercier le Centre Technique Horticole (CTH) pour nous avoir fourni matériel et conseils lors du suivi de la culture. Nous remercions plus particulièrement Olivier Gricourt pour avoir mis la main à la pâte lors de la plantation des tomates en extérieur et lors des autres étapes du travail.

Un grand merci à tous les techniciens qui nous ont aidés en actes et en paroles au cours de ce projet et plus précisément Luc Bolyn, Christian Higuet, Didier Dehuvyne et Claude Mandelaire.

Nous remercions enfin toutes les personnes qui, de près ou de loin, nous ont encadrés et aidés dans ce projet.

1 <u>Introduction</u>

Notre défi est de gérer au mieux la collection « Luc Fichot ». Cette gestion repose sur plusieurs piliers. Nous avons orienté notre travail selon 3 axes :

- La conservation de la collection, en régénérant les variétés dont les graines les plus récentes devenaient trop vieilles (2000, 2001).
- La valorisation de la collection, car rien ne sert d'avoir une collection si l'on ne sait pas ce qu'elle contient. Pour cet aspect, nous nous sommes concentrés sur la recherche d'antioxydants et sur la caractérisation des variétés.
- La communication avec le grand public.

Au cours du travail, nous avons été confrontés à des problèmes de maladies. Nous avons donc consacré une partie de notre travail à cette problématique.

2 Synthèse bibliographique

2.1 Généralités

2.1.1 Histoire de la tomate

L'origine de la tomate se situe en Amérique du Sud. Son ancêtre sauvage, *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*, était présent au Pérou, au Chili, dans la vallée des Andes et en Equateur. Cette plante à fruits très petits fut d'abord domestiquée au Mexique et améliorée par les Aztèques. Dans la première moitié du 16^e siècle, la tomate fut rapportée en Europe par les conquistadors espagnols, qui adoptèrent son nom indien « tomatl ». Elle fut d'abord implantée dans le Sud de l'Europe, notamment en Espagne et en Italie. Sa première description fut faite en 1544 par un botaniste italien du nom de Matthioli. Il évoque une tomate jaune qui donnera son nom à la tomate italienne : *pomodoro* signifiant « pomme d'or ». Son nom latin *Lycopersicum esculentum* lui fut donné par le botaniste anglais Philip Miller en 1731. Actuellement, pour des raisons phylogénétiques, la tomate est appelée *Solanum lycopersicum* L.

La tomate fut rapidement adoptée en cuisine par les pays du Sud et fut introduite en Provence en 1750. Cependant, dans la moitié Nord de la France et le reste de l'Europe en général, on la cultiva tout d'abord comme plante ornementale. En effet, elle fut longtemps considérée comme toxique, du fait de sa parenté avec d'autres Solanacées, comme la Mandragore, la Morelle ou la Belladone. Il fallut attendre près de deux siècles pour qu'elle soit reconnue comme plante potagère.

Le plus ancien catalogue de Vilmorin-Andrieux de 1760 classait la tomate dans les plantes ornementales annuelles. Elle gagna son statut de plante potagère dans l'édition de 1778, puis dans le *Bon Jardinier* en 1785. En 1805, le grainier Tollard raconte que sa culture connaît un certain intérêt. Si dans le Sud de l'Europe la tomate est devenue un aliment courant, ce n'est qu'une trentaine d'années plus tard qu'on la voit apparaître sur les marchés parisiens. Elle y est alors destinée à une consommation essentiellement bourgeoise. En 1856, les sept premières variétés modernes apparaissent dans la *Description des plantes potagères* de Vilmorin-Andrieux. Seule la variété « Rouge grosse » est alors cultivée.

A la fin du XIXe siècle, les émigrés européens rapportent les premières tomates améliorées en Amérique, notamment aux Etats-Unis (le « ketchup » n'aurait donc peut-être jamais existé sans les européens..., petit clin d'œil historique!). Commence alors pour la tomate une ère riche en échanges qui mèneront à une grande diversification variétale. C'est ainsi qu'en 1955, les Américains obtinrent la fameuse « Roma ». Aujourd'hui, 9 variétés sauvages existent encore (dont la tomate groseille, assez proche de la tomate cerise)

(Doré et al., 2006)

2.1.2 Classification

Classe: Magnoliopsida.

Sous-classe: Asteridae.

Ordre: Solanales.

Famille: Solanaceae.

Genre: Solanum.

Nom: Solanum lycopersicum Mill.

(FAO, 2007; IPNI, 2005)



Figure 1: photographie d'un plant de tomate.

2.1.3 Caractères botaniques

La tomate est une plante annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes. Elle est aromatique lorsqu'on la froisse. Cette plante potagère herbacée voit sa taille varier de 40 cm à plus de 5 mètres selon les variétés et le mode de culture.

La **germination** est épigée. Les cotylédons ont parfois du mal à sortir des téguments, ce qui peut entraîner des déformations de plantules et faciliter la transmission de virus.

Le **système racinaire** est très ramifié et à tendance fasciculée. Puissant, il est très actif sur les 30 à 40 premiers centimètres. En sol profond, des racines peuvent être retrouvées jusqu'à un mètre.

La tomate a un **fonctionnement végétatif monopodial** sur 4 à 5 étages foliaires, puis le méristème terminal perçoit le message floral et évolue en une cyme. La zone située juste en dessous de la première cyme produit un rameau « usurpateur » qui, après avoir formé quelques feuilles, donne une nouvelle cyme. Ce faisant, l'usurpateur repousse l'inflorescence en position latérale. Le mécanisme se répète, ce qui fait que la tige de la tomate se constitue sur le mode **sympodial**.

La croissance peut être déterminée ou indéterminée. Lorsqu'il y a une sorte d'épuisement progressif de la « fonction végétative », il en résulte un port déterminé. La croissance se poursuit donc jusqu'à ce que les extrémités des tiges ne produisent plus que des fleurs, rendant l'allongement impossible. Le nombre d'inflorescences est fini. Il y a précocité et rendement plus faible mais la production est groupée dans le temps et l'espace. Ce type de plant présente aussi l'avantage de pouvoir être conduit sans taille et tuteurage, grâce à l'aspect buissonnant et compact qu'il présente. Dans l'autre cas, on se trouve en présence d'un port indéterminé. Il y a alors une récolte prolongée et plus tardive. Le haut de la tige s'allonge de façon régulière car la plante produit continuellement une nouvelle pousse ainsi que de nouvelles feuilles et inflorescences. On peut avoir de nombreuses générations de fleurs et donc de fruits et les plants peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur. De par ses caractéristiques, ce type de port nécessite un tuteurage. Il existe aussi la croissance semi-déterminée, qui est un intermédiaire entre les deux précédentes.

Les **fleurs** sont hermaphrodites (les organes mâles et femelles sont dans la même fleur), en grappe et généralement de couleur jaune. Les pétales sont en partie soudés pour former une corolle étoilée. Les sépales sont verts. Les étamines sont jointes pour former un tube staminique et le pistil est caché dans ce tube

Les tomates s'autopollinisent. La **pollinisation** croisée est très rare, sauf chez certaines variétés anciennes telles que les tomates-cerises.

La tomate est cultivée pour ses **fruits** de formes et de couleurs variées. Le fruit est une baie charnue à placentation centrale. L'épiderme, lisse et brillant, peut présenter, sur les fruits mûrs, des couleurs très différentes selon la variété. La taille des fruits diffère aussi selon les variétés, leur poids étant compris entre 1 gramme et 1 kilo, et leur taille variant de 1,5 cm de diamètre à plus de 10 cm. L'espèce présente normalement deux loges, mais les variétés sont fréquemment multiloculaires. Lorsque cette évolution est poussée à son paroxysme, les fruits sont généralement côtelés. Il faut une dizaine de jours pour que le fruit passe du vert

blanchâtre à sa couleur finale, sous des conditions moyennes de température et d'éclairement. Ce faisant, la fermeté va décroître fortement de par l'activité de la polygalacturonase.

Les fruits contiennent de nombreuses **graines**, enveloppées d'un mucilage, qui renferment à maturité un embryon courbe et un albumen. Elles sont aplaties, petites, de forme plus ou moins lenticulaire, grisâtres ou beiges et velues. Ces graines ont une longévité de quatre à cinq ans. Un gramme de graines comprend de 300 à 400 graines.

(Chaux, 1994; Blamey, 2003; Renaud, 2001; Tomodori, 2007)

2.1.4 Écophysiologie et facteurs de l'environnement

2.1.4.1 Température

La température est un des facteurs essentiels qui intervient dans la physiologie de la tomate. En climat froid, les tomates sont cultivées comme plante annuelle. La tomate ne tolère pas le gel.

La **température** optimale **du substrat** pour la germination se trouve entre 20 et 25 °C. La germination est quasiment impossible sous 10 °C et au dessus de 35 °C. Des optimums de température du substrat existent aussi pour la croissance des systèmes aérien et racinaire, mais ils sont variables selon la variété. La température du substrat a aussi une influence sur les fleurs ainsi que sur les fruits.

Pour ce qui est de la **température de l'air**, les effets des différents niveaux de températures diffèrent selon la phase diurne ou nocturne.

On peut signaler que les **températures nocturnes** élevées limitent la croissance racinaire. De plus, la température nocturne a une grande influence sur l'élongation de la tige. Des températures nocturnes dépassant les 17 °C, surtout après une journée peu lumineuse, peuvent provoquer l'étiolement de la plante (à éviter!). C'est au cours de la phase nocturne que les produits de la photosynthèse migrent depuis les feuilles assimilatrices jusqu'aux autres parties de la plante. La température nocturne a aussi son rôle à jouer dans le nombre et la taille des fleurs, la quantité et la qualité du pollen ainsi que pour l'absorption du calcium. Il faut souligner que le niveau optimal nocturne est aussi fonction des températures diurnes.

Les **températures diurnes** ont moins d'effet sur la croissance végétative. Cependant, il faut savoir qu'une amplitude jour-nuit de 6 °C semble favorable à la croissance végétative ainsi qu'à la formation et au développement des inflorescences. Un autre fait important est que les températures optimales varient avec l'intensité lumineuse. Ainsi, elles tournent autour de 18 °C par temps couvert et sont plutôt de 21-22 °C lorsque le temps est ensoleillé (Chaux, 1994; Stickland, 1998).

2.1.4.2 Lumière

La tomate aime les situations bien ensoleillées mais elle ne présente pas d'exigence photopériodique très marquée. Pendant les quatre à six semaines qui suivent le semis, les fortes intensités lumineuses encouragent le raccourcissement de l'axe et l'induction du premier bouquet, surtout à température basse. Pendant la floraison, une forte intensité lumineuse favorise la pollinisation et régularise la croissance du style, surtout lorsque la

température du substrat est élevée. Par contre, l'insolation directe des fruits et l'élévation de température que cela entraîne est nocif quant à leur qualité (Chaux, 1994).

2.1.4.3 Gaz carbonique

Le CO₂ peut être un facteur limitant en situation de serre très étanche et ce dès le milieu de la matinée (lorsque intensité lumineuse et température sont élevées) (Chaux, 1994).

2.1.4.4 Hygrométrie

L'hygrométrie doit être maintenue à 70-80 % pendant la **phase végétative**. Au-delà, les risques de maladies fongiques augmentent.

Durant la **floraison**, il est préférable de descendre à 60-70 %, pour faciliter la dispersion du pollen.

Lors du **grossissement et du début de maturation des fruits**, une hygrométrie élevée pendant la nuit accroît l'absorption du calcium et réduit la fréquence de nécrose apicale. Pendant la journée, elle limite les craquelures et amoindrit les défauts de coloration (Chaux, 1994).

2.1.4.5 Alimentation en eau

L'alimentation hydrique est un facteur important du rendement et de la qualité, entre autres du calibre. La tomate est gourmande en eau. Une alimentation en eau irrégulière entraîne une irrégularité du point de vue de l'alimentation en calcium et entraîne donc la nécrose apicale. Les besoins hydriques sont surtout importants à partir de la floraison du deuxième bouquet.

La tomate est très sensible à l'asphyxie radiculaire. Par conséquent, il faut éviter les excès d'eau. En effet, un excès d'eau chronique mais discret peut entraîner des carences (d'abord en magnésium puis en phosphore et en azote), d'où une récolte réduite. Si l'asphyxie radiculaire est chronique, cela compromet la croissance et peut aller jusqu'à entraîner la mort de la plante (Chaux, 1994).

2.1.4.6 Sol

La tomate privilégie une terre meuble et fraîche mais elle n'est pas exigeante concernant la nature du sol. Néanmoins, il faut à tout prix que celui-ci ne soit pas asphyxiant. La profondeur peut être un facteur limitant, surtout lorsque le climat est chaud, même en présence d'irrigation.

La texture est rarement un obstacle vu que la teneur en argile peut varier de 10 à 40 %. Il faut éviter les sols trop battants et mal structurés en profondeur. En effet, dans ce cas, il y a risque d'asphyxie racinaire pouvant entraîner une nécrose apicale du fruit.

L'espèce est très tolérante en ce qui concerne le pH, l'idéal se situant entre 6 et 7 pour une question d'équilibre nutritionnel. Elle est aussi moyennement sensible à la salinité (Chaux, 1994).

2.1.4.7 Nutrition minérale

Les exportations pour l'ensemble de la culture varient fortement selon les rendements, la durée du cycle, le type de culture et les techniques qui s'y rapportent, notamment la taille et l'irrigation. D'une façon générale, les besoins sont très élevés en potasse et en azote.

Il faut souligner comme accident nutritionnel la nécrose apicale ou « cul brun ». Elle résulte d'une carence localisée (près de l'attache pistillaire) et momentanée en calcium. Elle est liée à une concurrence entre les organes transpirants et les fruits. Les conditions qui défavorisent l'absorption de calcium et augmentent la transpiration accentuent les risques de compétition et donc de nécrose apicale. Cette nécrose physiologique est courante et grave car elle se manifeste par de larges taches déprimées, blanchâtres puis brunes, situées au sommet du fruit (Chaux, 1994).

2.2 Economie et consommation de la tomate

Selon la FAO, la tomate serait cultivée dans de nombreux pays (170) et divers climats, y compris des régions froides, la culture pouvant se faire sous abri. La tomate est progressivement devenue une production industrielle à l'échelle mondiale. En volume de production, c'est désormais le premier légume au niveau mondial (la pomme-de-terre et la patate douce étant considérées comme féculents). Le premier producteur mondial est la Chine, avec un peu plus du quart du total (33,6 millions de tonnes), suivie par six pays: les États-Unis, la Turquie, l'Inde, l'Égypte, l'Italie et l'Iran qui produisent plus de 5 millions de tonnes. Si l'on considère l'Union européenne dans sa globalité, elle se place au second rang avec 15,9 millions de tonnes, représentant 12,5% de la production mondiale. L'Italie représente environ 40 %, les 4 pays méditerranéens (Italie, Espagne, Grèce et Portugal) produisent plus de 12 millions de tonnes, c'est-à-dire plus des trois quarts (76,8 %) de la production européenne. La production belge s'élevait en 2007 à 200.000 tonnes pour une surface cultivée de 500 hectares. (Source : FAO stat)

Sur la période allant de 1961 à 2007, la production mondiale a été multipliée par plus de 4, passant de 27,6 à plus de 126 millions de tonnes par an. En fait, sur la même période de temps, la Chine a multiplié par 7 sa production, et l'Inde par 18,5. En 2007, cela représentait une surface cultivée de plus de 4,6 millions d'hectares (pour un rendement moyen de 27,3 tonnes à l'hectare). Ces chiffres, datant de 2007, nous proviennent de l'organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Ils ne prennent pas en compte les productions vivrières (et familiales), qui peuvent être, dans certaines régions, non négligeables! La production européenne s'élevait en 2007 à 20,5 millions de tonnes, pour une surface cultivée de 600 000 hectares.

Il existe 2 filières distinctes : la tomate pour l'industrie (transformation et conserve), qui est une culture de plein champ de plus en plus mécanisée, et celle pour le marché du frais. La tomate d'industrie représente environ 50% de la production dans l'Union Européenne et 15% en Chine (85% de la production chinoise est donc destinée au marché frais). La production de tomates pour la transformation représente presque un quart de la production totale. Les 3 zones principales de production sont la Californie, la Chine et le bassin méditerranéen (mais le Canada, la Hongrie, la Bulgarie, le Brésil, le Chili et l'Argentine sont aussi des producteurs notables). (Source : FAO stat).

Le commerce de la tomate est très développé, avec en 2006 six millions de tonnes de tomates exportées et cinq millions de tonnes importées dans le monde. L'Espagne est le premier exportateur au niveau mondial et les Etats-Unis sont les premiers importateurs.

La consommation mondiale en 2003 s'élevait à 16 kg de tomates par personne et par an La consommation annuelle par habitant est la plus élevée en Libye avec 117 kg. Vient ensuite la Grèce (115 kg) suivie d'autres pays du bassin méditerranéen (par ordre décroissant Tunisie, Turquie, Égypte, Italie, Liban) (Source : FAO stat).

Il est également intéressant de comparer les rendements : les « records » se situent aux Pays-Bas, au Royaume-Uni et en Belgique, avec respectivement 445 t/ha, 428 t/ha et 408 t/ha. La production de ces pays du Nord se fait presque exclusivement sous serre. Le meilleur rendement a été obtenu aux Pays-Bas, en serre à éclairage artificiel avec 1000 tonnes à l'hectare. En Chine, le rendement moyen est de 23,1 t/ha et il varie de 50 à 80 t/ha pour les pays méditerranéens de l'Europe. (Source : FAO stat)

La tomate est aujourd'hui l'ingrédient de cuisine le plus consommé au monde (après la pomme de terre). L'achat de la tomate fraîche est le plus satisfaisant à la fin de l'été chez nous, car la tomate locale est cueillie à maturité. La période d'abondance est de mi-juin à fin octobre. Elle doit présenter une couleur uniforme et une chair ferme (un peu verte, elle est déconseillée à cause de son acidité). Selon sa qualité, la tomate est répartie en quatre catégories :

- Catégorie extra : tomate de qualité supérieure

- Catégorie I : tomate de bonne qualité

- Catégorie II : tomate de qualité ordinaire

- Catégorie III : tomate de qualité médiocre.

Pour la France, en moyenne, un ménage achète 13 fois des tomates par an (France, Bilan de campagne tomate année 2007 – Groupe de travail interprofessionnel – Service économie Interfel), en sachant que 93,7% des ménages ont acheté au moins une fois des tomates sur la saison 2007. D'après l'étude « baromètre tomate » (par le CITFL), les consommateurs apprécient la multitude de références disponibles en pleine saison, la rapidité et la praticité d'utilisation. Le premier critère d'achat est la fraîcheur, suivi du prix et de l'aspect (caractéristiques essentielles dans le choix des tomates quel que soit le circuit de distribution). Les indications « origine France » et la variété ont gagné quelques points lors de cette dernière enquête. Depuis 10 ans, les critères aspect et fermeté des fruits diminuent. Les 3 variétés les plus appréciées par les consommateurs sont le « cœur de bœuf », la « cerise en grappe » et la « tomate en grappe allie quotidien ». (Enquête CITFL)

Ces dernières années cependant une baisse constante de la consommation est observée. Selon le magasine Linéaires, les quantités achetées par ménage et par an seraient en baisse de 2,5% en 2008 par rapport à 2007, avec une baisse des sommes dépensées de 5,2% (la baisse enregistrée entre 2004 et 2006 était de 1,7%, avec une augmentation des sommes dépensées de 3,8%). La crise économique n'épargne évidemment pas le marché de la tomate. Par contre, la tendance est toujours la même ces dernières années : les hypermarchés prennent de plus en plus de place dans les achats de tomates, au détriment des supermarchés. Alors que le Hard Discount est stable, les primeurs gagnent quant à eux chaque année des parts du marché.

La tomate n'est pas utilisée que pour ses qualités organoleptiques. Elle fait l'objet de nombreuses utilisations, en tant que médicament et produit de beauté notamment. Les tribus de Papouasie Nouvelle Guinée s'en servent comme antibiotique (les feuilles sont alors utilisées). On peut aussi s'en servir comme anti-fatigue (un jus frais permet l'accélération de la formation de sucre dans le sang, apportant ainsi un regain d'énergie), et elle permet aussi de protéger le foie grâce à son contenu en éléments trace antitoxique (comme la chlorine et le sulfure). Elle permettrait aussi d'agir positivement sur les reins (car elle contient du potassium), ce qui signifie une diminution de l'hypertension. Elle soulagerait aussi des coups de soleil, et son acidité peut être bénéfique contre les problèmes de peau (acné par exemple). C'est une source de potassium, de manganèse, de cuivre, de vitamine B3, vitamine B6, vitamine C, vitamine A, vitamine E et vitamine K. Une consommation élevée de fruits et légumes diminue le risque de maladies cardiovasculaires, certains cancers (prostate, poumons et estomac) et certaines autres maladies chroniques. Cet effet protecteur est dû à la présence d'antioxydants. Chez la tomate, les principaux composés antioxydants sont les caroténoïdes, dont le plus abondant est le lycopène, ainsi que des composés phénoliques. La pelure détient davantage d'antioxydants (composés phénoliques, VitC et lycopène) que la chair et les pépins. Des études d'intervention effectuées chez des sujets en santé indiquent qu'une consommation quotidienne de tomates ou de produits à base de tomates pendant deux semaines au moins augmente la résistance des cellules à l'oxydation, pouvant par exemple prévenir le développement du cancer de la prostate. Le lycopène agirait en synergie avec d'autres composés présents dans la tomate, car la prise de suppléments de lycopène n'a pas pu être associée aux mêmes effets antioxydants dans l'organisme. (INAF, 2007.)

La tomate, source de passion : de nombreux passionnés dans différents pays créent de nouvelles variétés, organisent des rassemblements et des marchés, génèrent bon nombre d'échanges en faisant fi des autorisations phytosanitaires et conservent des variétés d'héritage, sauvant ainsi des variétés destinées à disparaître.

Récemment, on a vu naître une certaine grogne chez les consommateurs de tomates, vu le manque de goût des tomates du marché. Cela est dû au programme de sélection de la tomate qui tenait d'abord compte du rendement, des résistances aux maladies, l'adaptation à la culture sous serre ou pour les qualités commerciales. Le projet européen EUSOL regroupe environ 50 partenaires, dont une vingtaine de sélectionneurs de tomates. Ce projet consiste à faire des tests auprès de 800 consommateurs de 3 pays : la France, les Pays-Bas et l'Italie sur différentes variétés de tomates dans différents segments du marché. Les profils sensoriels de ces variétés ont été établis : les caractéristiques révélées (par des cartes de préférence) seront améliorées pour satisfaire le consommateur. Les préférences sont assez identiques d'un pays à l'autre (différents groupes de consommateurs identifiés dans chaque pays), la segmentation se faisant d'abord sur le goût, puis sur la texture. L'apparence est un critère important pour les consommateurs. Certains chercheurs essayent d'améliorer la flaveur (liée à la teneur en sucre). Les variétés sauvages riches en sucre sont toujours associées à une petite taille du fruit. Des études à ce sujet montrent que la relation taille du fruit et teneur en sucre varie suivant les lignées, et qu'elle peut dépendre du nombre de cellules dans le fruit, des flux d'eau et de la compétition entre fruit. D'autres recherches en parallèle sont en cours en Europe (séquençage du génome de la tomate, création de mutants, et mise en place d'une infrastructure bioinformatique pour la gestion des données). (INRA, 2009).

2.3 Conservation de la collection

2.3.1 Le problème de la diversité variétale

Depuis les années 60, le nombre de variétés commercialisées n'a cessé de diminuer. Actuellement, pour pouvoir commercialiser une variété, les semenciers européens doivent faire une demande à la Commission Officielle de Certification. Les variétés autorisées sont répertoriées dans le Catalogue Officiel des Espèces et Variétés. Pour la tomate, ce catalogue couvre seulement 2% des variétés qui sont dans le domaine public.

Ceci pose la question de la préservation de la diversité variétale de la tomate. Il est vrai que l'inscription au catalogue constitue une forme de protection et garantie, pour à la fois le sélectionneur et le consommateur. Néanmoins, le coût de l'inscription est dissuasif pour les variétés issues de sélections paysannes, qui sont très nombreuses mais constituent un volume limité. Il devient de plus en plus difficile, voire parfois illégal, de semer, cultiver, échanger des variétés non certifiées, même pour un usage personnel. C'est pourquoi le travail effectué par des passionnés comme Mr. Fichot peut aujourd'hui être considéré comme un véritable acte de résistance.

Voilà pourquoi un catalogue des variétés potagères à été créé. Les conditions d'accès à ce catalogue sont beaucoup plus abordables mais la commercialisation à grande échelle de ces variétés est interdite. Aujourd'hui, 3208 variétés de tomates sont ainsi homologuées. C'est beaucoup par rapport à ce qui se passait avant l'existence de ce catalogue potager mais c'est toujours un facteur limitant pour les collectionneurs qui se retrouvent bien souvent à la limite de la légalité.

2.3.2 Le point sur les collections de tomate de par le monde

La tomate est une culture de premier plan au niveau mondial. Aussi, de nombreuses collections de tomates ont été créées de par le monde. Ces collections peuvent être gérées par des institutions internationales comme l'ECPGR dont la collection comprend plus de 20 000 accessions de *Solanum Lycopersicum* L. et plus de 1000 accessions d'espèces proches (*Solanum pimpinellifolium, peruvianum, hirsutum*) (ECPGR, 2009). Elles peuvent aussi être gérées par des institutions nationales qui souhaitent protéger leur propre biodiversité ou la biodiversité mondiale ou bien encore par des collectionneurs privés comme Luc Fichot qui collectionnent, à leur échelle, tout ce qu'ils peuvent trouver. Ces collections ne sont pas négligeables puisque, par exemple, la collection de Luc Fichot regroupe tout de même plus de 1000 accessions.

2.3.3 La collection Luc Fichot

Luc Fichot était horticulteur et jardinier-collectionneur. A Falisolle, dans son jardin de 15 ares, il cultivait toutes sortes de variétés oubliées. Sa plus grande passion botanique était la tomate. Au fil du temps, il a constitué une collection de graines de près de 1000 variétés et cultivars différents. Cette véritable banque de semences comporte des tomates venant du monde entier et aux couleurs variées : rouge, vert, jaune, noir, blanc... A la diversité des couleurs s'ajoute la diversité des formes : rondes, oblongues, pointues, grosses, petites...

Suite à son décès, son épouse a confié sa collection au Centre Technique Horticole (CTH) et à la FUSAGx afin que ce patrimoine génétique puisse être développé et valorisé. A présent, la Faculté de Gembloux se doit de la gérer en bon père de famille si elle ne veut pas voir tout ce travail perdu. Une collection universitaire ne pouvant être gérée comme une collection privée, il faut donc caractériser assez précisément chaque accession. Ce classement peut se faire via la liste officielle des descripteurs de l'IPGRI. En juin 2009, les variétés allant de la lettre A à la lettre M avaient déjà été récupérées.

2.3.4 Méthode de conservation ex situ vs in situ

Il existe principalement deux manières de préserver la biodiversité: la collection *in situ* et la collection *ex situ*. La collection *ex situ* est souvent considérée comme une solution de secours, provisoire et à éviter. Dans le cas de la tomate, les deux types de collection existent. Il y a actuellement un programme de protection *in situ* des variétés traditionnelles de tomates cultivées dans les Andes, au même titre que les programmes de protection de la biodiversité des tubercules andains (Bioversity International, 2008). Il existe aussi de nombreuses collections *ex situ* de par le monde. Ces collections visent, pour la plupart, à accumuler un maximum de gènes dans l'espoir que ceux-ci puisent un jour nous être utiles à l'amélioration de la tomate. Elles partent aussi du principe que, sans intervention, une certaine biodiversité disparaîtra.

La conservation d'échantillons sous forme de graines *ex situ* doit normalement être précédée de la détermination des caractéristiques agronomiques des échantillons. Il faut pour cela suivre les recommandations de l'IPGRI concernant la rédaction d'un passeport (données) pour enregistrer l'accession. Ensuite, en plus de la mise en conservation des graines dans les conditions adéquates, des tests de germination doivent être réalisés et il faut régénérer les lots si nécessaire (Black et al, 2006; Trommeter, 2000).

2.3.5 Objectifs de notre collection

L'objectif ultime du projet défini au moment de la rédaction se résume comme suit : participer à la conservation et à la valorisation de la collection Luc Fichot.

Nous avons établi des objectifs intermédiaires permettant d'atteindre l'objectif final :

- Des mesures physico-chimiques ont été réalisées sur une partie des variétés.
- Le stock de graines de certaines variétés a été renouvelé.
- Des tests ont été effectués pour tenter de trouver les pathogènes qui ont attaqué nos tomates.
- Une enquête et une dégustation ont pris place le 20 septembre 2009 au CTH.

2.4 Antioxydants et anthocyanes

Selon certaines hypothèses (Pincemail J.et al., 1999), les cancers seraient liés à des Espèces Oxygénées activées (EOA). Si l'on considère que les cancers sont liés à un stress oxydatif, il est alors logique de croire que les antioxydants jouent un rôle dans leur prévention. En effet, une relation entre les taux d'antioxydants sanguins et les risques de cancers en tout genre est clairement démontrée chez l'humain (voir figure 2). De plus, il est démontré depuis longtemps que les régimes alimentaires qui excluent les viandes et favorisent les fruits et légumes sont associés à une durée de vie prolongée.

De là à déclarer que la consommation d'aliments riches en antioxydants réduit les risques de cancer, il n'y a qu'un pas, pas qu'il est difficile de franchir. En effet, malgré le nombre important d'études réalisées à ce sujet, aucune ne parvient à établir clairement et indiscutablement un lien entre la consommation en antioxydants et les risques de cancers. Certaines études attribuent des effets positifs aux antioxydants en général (ex. : Shareck M., 2007), d'autres une absence d'effet et certaines études semblent même indiquer des effets nocifs (ex. : Bjelakovic G. *et al.*, 2007).

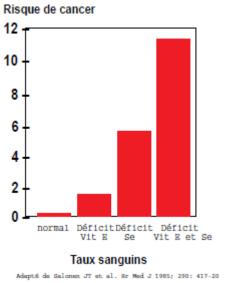


Figure 2: Graphique risque de cancer en fonction du taux des antioxydants dans le sang. (Pincemail J.et al., 1999)

Dans le cas de la tomate, le principal antioxydant est le lycopène. D'après la U.S. Food and Drug Administration, les preuves de lien entre la consommation de tomates et une réduction des risques de cancer seraient insuffisantes que pour pouvoir affirmer quelque chose (Kavanaugh C. *et al.*, 2007). Les antioxydants en général bénéficient cependant d'une large présomption d'effets positifs sur la santé de la part de l'opinion publique et de la communauté scientifique en général. Il existe aussi, parmi la biodiversité originelle de la tomate, des gènes codant pour des anthocyanes. Ces anthocyanes seraient bénéfiques pour notre santé (Butelli E.*et al.*, 2008).

Pourquoi choisir les tomates noires ?

La collection Luc fichot est référencée sur internet (http://www.essaime-artomate.be/). Le classement des variétés est réalisé par couleur. Nous nous sommes intéressés aux propriétés antioxydantes des tomates issues de cette collection car :

- Les antioxydants sont des molécules qui colorent les fruits (carotène = orange, lycopène = rouge, anthocyanes = noir/mauve). Ceux-ci sont donc faciles à cibler dans une collection classée par couleur.
- Les aliments à valeur santé sont l'objet d'un intérêt croissant dans notre société.
- Nous espérions que notre collection puisse héberger des gènes (rares) de tomates contenant des anthocyanes. Si tel était le cas, ceux-ci seraient présents dans la catégorie tomates noires.
- Les plantes et fruits d'une couleur violet-noir sont utilisés pour l'extraction de substances utilisées dans les médicaments de lutte contre le cancer.

2.5 Phytopathologies de la tomate (les principales maladies étudiées)

2.5.1 Généralités

Nous avons dès le départ suivi les objectifs ciblés du projet interdisciplinaire, notamment la conservation et la valorisation de la biodiversité de la collection de tomates de Monsieur Luc Fichot. Notre initiative a été de parcourir diverses revues et publications afin de créer une idée, une particularité supplémentaire pour singulariser notre projet. Cette idée était de mettre en avant le bénéfice de la consommation de tomates sur la santé humaine.

Particulièrement, nous avons voulu savoir si les tomates noires contenaient plus d'anthocyanes que les variétés rouges, jaunes ou vertes. Le but ultime était de promouvoir, si raison avérée, la tomate noire comme plus bénéfique encore que les autres variétés de tomates dans la prévention de cancer par exemple. Pour cela, nous avons voulu effectuer un dosage des anthocyanes et autres antioxydants naturellement présents, molécules reconnues bénéfiques pour la santé humaine, au niveau de différentes variétés, et voir les différences qui pouvaient exister.

Les tomates (dites de conservation) ont été placées dans l'une des serres de la faculté, d'autres (de valorisation) ont été placées en parcelle extérieure, dans le jardin botanique. Outre un problème de timing lors de la période estivale (laboratoires non disponibles), les problèmes rencontrés étaient pathologiques. Nous avons observé différents symptômes. La tomate est une solanaceae largement répandue à travers le monde. Plusieurs maladies causant des dégâts plus ou moins importants touchent cette culture. Elles peuvent être d'origine fongique, virale ou bactérienne.

Le problème est que ces maladies risquent de fausser totalement nos résultats d'analyse des anthocyanes. Nous accentuons donc notre projet interdisciplinaire sur les pathologies rencontrées, tout en gardant un petit volet antioxydants et anthocyanes, afin de conserver une suite logique au travail intermédiaire rendu en juin 2009.

Concernant les plants de tomates en serre, cela a commencé par l'observation d'aleurodes présents dans la serre, le 28 mai 2009. Le calendrier des observations de symptômes est repris en annexe 1. Le 3 juillet 2009, lors d'une visite, les premiers symptômes sur tomates de conservation en serre ont été observés (voir annexe 20) : taches noires sur feuilles, extrémités de la plante asséchée sur les variétés 1, 5, 10, 11, 13, 14, 29, 37. Sur les variétés 31, 39, 45, des feuilles cassantes et gondolées ont été observées. Le 22 juillet 2009, nous avons à nouveau observé la présence de thrips et beaucoup d'aleurodes. Nous avions affaire à une infestation. De nouveaux symptômes sont en plus apparus : pourriture apicale du fruit sur la variété 6, fruits marbrés sur les variétés 40, 41, 43. Les plantes malades (variétés 1, 5, 11, 12, 23, 24, 27, 34, 37, 44, 45) ont été arrachées.

Des symptômes sont également apparus sur les tomates de valorisation, à l'extérieur : des taches brunes-noires sur les feuilles (9 août 2009). Le 14 août, grâce à l'aide du Pr. Lepoivre, nous avons ciblé 3 maladies en nous basant sur un ouvrage « Maladies de la tomate » de Dominique Blancard. Ces trois maladies sont le PVY (potato virus Y), le CMV (cucumber mosaic virus) et la TMV (tabacco mosaic virus). Les maladies sont définies brièvement dans ce chapitre et des analyses ont été effectuées en vue de déterminer si ce sont ces maladies qui ont contaminé nos plants. Notons la difficulté du diagnostic visuel, étant donné que les symptômes varient selon le virus en cause, le cultivar et les conditions de milieu. Une interaction entre les virus étant possible, le diagnostic visuel s'en trouve compliqué. (Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, 2009.)

Monsieur Steyer nous confirmant les symptômes non fongiques, nous voulons vérifier la présence ou non de ces virus. Nous décidons donc d'entamer des analyses afin de vérifier cela. Un problème rencontré est que la maladie engendre la maladie. Touchées par « on ne sait pas encore quoi », les tomates affaiblies subissent différentes pressions. De nouveaux symptômes sur les tomates de conservation sont observés : de la fumagine est apparue sur les variétés 39, 41, 42, 43, 46, 47, 48, les plantes les plus touchées. Beaucoup d'autres seront par la suite infestées. Les différents symptômes se recoupent, rendant les diagnostics de plus en plus difficiles. La semaine du 8 octobre, nous procédons aux analyses ELISA. Vu la durée des

analyses et autres circonstances, nous n'avons pas eu le temps de faire le test ELISA concernant le TMV.

2.5.2 PVY (virus Y de la pomme de terre)

Identifié d'abord sur pomme de terre, le virus Y de la pomme de terre s'est montré capable d'infecter diverses solanacées cultivées ; tabac, piment, tomate et, récemment, pétunia et aubergine. Ce virus est transmis selon le mode non persistent par plus de 70 espèces de pucerons, et constitue sur le plan économique l'un des phytovirus les plus importants. (Delaunay, 2009).

• Symptômes

Les plantes infectées vont voir l'ensemble de leurs paramètres biologiques altérés. Les perturbations physiologiques (symptômes) qui en découlent peuvent correspondre à une

altération de l'accumulation chlorophyllienne (mosaïque, jaunisse ou rougissement), à une mort cellulaire ou tissulaire (lésions nécrotiques) des organes infectés ou à des déformations tissulaires (nanisme, flétrissement ou enroulement). La nature et l'intensité de ces symptômes dépendent du couple virus/plante considéré. Les isolats du PVY peuvent induire, entre autre, des mosaïques et/ou des nécroses (locales ou nervaires) sur feuilles, et/ou des nécroses sur tubercules de pomme de terre. Il est important de noter que les conditions environnementales, l'âge de la plante inoculée et la concentration de l'inoculum peuvent influencer l'expression (intensité et nature) des symptômes. (Delaunay, 2009)



Figure 3: photographie d'un des symptômes du PVY. (AVRDC, The world vegetable center, 2005)

Agent causal

À l'échelle mondiale, le virus Y est un des plus importants agents pathogènes affectant la pomme de terre. Il a une forme filamenteuse et ses dimensions sont de 740 nm de longueur par 11 nm de diamètre. Ce virus appartient au plus important groupe parasite des plantes : le genre Potyvirus. Trois souches du virus Y ont été identifiées à ce jour soit; le PVYo qui est la plus répandue, le PVYn qui comporte plusieurs variantes, par exemple le PVYntn qui cause des nécroses au niveau des tubercules et PVYc qui est présent en Australie et en Inde. (Bouchard, 2009)

• Cycle de la maladie et épidémiologie

L'épidémiologie du PVY est nécessairement complexe dès lors que ce virus peut être transmis sur le mode non-persistant par environ 70 espèces de pucerons et est capable d'infecter 495 espèces végétales appartenant à 31 familles botaniques. (Delaunay, 2009).

• Contrôle

Au champ, les maladies virales sont incurables. Un plant de pomme de terre infecté le restera toute sa vie et il deviendra une source de contamination pour les plants sains à proximité. C'est la dépendance des virus vis-à-vis des cellules qu'ils infectent qui rend leur destruction impossible à cause du risque d'endommager la plante elle-même. Les seuls moyens de lutte dont on dispose sont donc préventifs. La solution idéale serait d'utiliser des variétés résistantes aux virus. Malheureusement, il n'existe pas pour l'instant de variété

totalement résistante. Nous devons donc nous concentrer sur d'autres moyens de lutte. La stratégie à adopter comporte au moins trois éléments ; des semences saines, la réduction de la source de virus et le contrôle des vecteurs.

- 1. L'utilisation d'une semence de grande qualité produite selon des critères rigoureux et accompagnée d'un certificat phytosanitaire émis par un organisme reconnu. Il faut manipuler cette semence avec soin, l'entreposer dans un lieu propre et préalablement désinfecté. Les appareils servant au classement et au tranchage devront également être propres et désinfectés entre les différents lots.
- 2. Le choix judicieux des champs et un programme de rotation des cultures adapté au type de production (semence, consommation) doit permettre de préserver la qualité sanitaire des semences et d'assurer à la culture une protection contre l'infection en provenance des champs voisins ou de plants volontaires. Il faut éviter d'ensemencer des semences jeunes (Pré-élite, Élite 1...) à proximité de semences âgées (Élite 3-4).
- 3. Les pucerons étant les vecteurs les plus importants du virus Y, le dépistage des champs de production de semence tout au long de la saison est essentiel. Les traitements insecticides permettent en général un bon contrôle des pucerons qui se reproduisent sur les plants de pomme de terre. Par contre, il en va tout autrement pour les autres espèces qui ne sont que de passage. En effet, les piqûres d'inoculations faites sur les plants de pomme de terre ne sont pas suffisamment longues pour que l'insecticide fasse son effet. Pour réduire la transmission du virus Y par les pucerons, les producteurs de pommes de terre de semence américains et européens pulvérisent régulièrement les champs avec de l'huile minérale. Au Canada, une étude est actuellement en cours au Manitoba afin d'évaluer cette technique.

La transmission du virus Y par des moyens mécaniques peut aussi être réduite. Les opérations de sarclage et de renchaussage exécutées tôt en saison réduisent les contacts avec les plants de pomme de terre et l'endommagement de ceux-ci. Enfin, lors des visites au champ, il est important de tenir compte de l'état sanitaire de chacun d'entre eux afin de limiter la propagation de la maladie et des insectes. (Bouchard, 2009).

2.5.3 CMV (virus de la mosaïque du concombre)

La mosaïque du concombre est considérée comme l'une des plus importantes maladies des régions tempérées du monde. Ce virus est distribué partout dans le monde et peut infecter près de 800 espèces de plantes. Cette gamme d'hôtes pouvant être infectés est donc très large et inclut d'importantes cultures légumières (poivron, carottes, céleri, laitue, tomate, épinard,...), ornementales (anémone, dahlia, geranium, petunia,...) et plantes ligneuses et semi-ligneuses (bananes, fruit de la passion,...). (Jones *et al.*, 1991)

Cette maladie est due au virus de la mosaïque du concombre : le CMV (Cumcumber Mosaic Virus) et est transmise par des pucerons. (Messaien et al., 1991). Elle survient donc d'ordinaire après de fortes attaques de pucerons, même si le virus n'est pas aussi facilement transmis par les pucerons de tomate en tomate que dans d'autres cultures (Jones et al., 1991). La période d'activité critique pour la mosaïque du concombre débute au repiquage et se poursuit jusqu'à la récolte. (Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, 2009.)

Symptômes

La « maladie filiforme » doit son nom aux symptômes foliaires : on observe une extrême filiformité du feuillage. Les feuilles, longues et étroites, sont réduites à des nervures et ressemblent à des « lacets de chaussure » (Jones *et al.*, 1991 ; Messaien *et al.*, 1991). C'est le symptôme le plus caractéristique de la mosaïque du concombre. Il peut s'apparenter aux dommages causés par le 2,4-D, mais on distingue la mosaïque en lacet par la présence de folioles étroites vrillées. (Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, 2009).

Les symptômes causés par le CMV (virus de la mosaïque du concombre) peuvent être transitoires : les feuilles inférieures ou les feuilles supérieures nouvellement développées peuvent montrer des symptômes sévères alors que les feuilles du milieu peuvent apparaître presque normales. Les plantes sévèrement infectées produisent quelques fruits, lesquels sont généralement petits et à maturité retardée. (Jones *et al.*, 1991).

Les plants de tomate infectés par la mosaïque du concombre dans les stades précoces sont jaunes, broussailleux et considérablement rabougris. Les feuilles peuvent montrer des marbrures ou des taches de différentes teintes similaires à ce qui est causé par le virus de la mosaïque du tabac. (Jones *et al.*, 1991) Certaines souches du virus provoquent la nécrose des feuilles. (Messaien *et al.*, 1991)



Figure 4: Plant de tomate atteint de CMV. (INRA, 2001)

Agent causal

La maladie est causée par le CMV, qui fait partie du groupe des cucumovirus (famille des bromoviridae). Ils possèdent un génome d'ARN monocaténaire messager tripartite. Leurs particules sont icosaédriques et mesurent 29-30 nm. Le CMV est un des virus les plus polyphages (gamme d'hôtes très diversifiée). Il est transmis par les pucerons selon le mode non persistant. Les effets dépressifs et symptômes induits sur les plantes infectées sont souvent très marqués. C'est un virus d'une grande importance économique pour les cultures maraîchères particulièrement. Ce virus est souvent accompagné d'un ARN satellite dépendant du virus assistant pour sa réplication et qui peut aussi intervenir dans l'expression des symptômes (atténuation ou intensification). (Lepoivre, 2003)

De nombreux isolats de CMV ont été rapportés comme des souches, dont certains sont spécifiques pour la tomate. (Jones *et al.*, 1991)

• Cycle de la maladie et épidémiologie

La gamme de plantes hôtes étant très large, de nombreuses mauvaises herbes peuvent servir de réservoirs pour le CMV et contribuer à la propagation du virus dans les cultures. Plus de 60 espèces de pucerons, incluant *Myzus persicae* (Sulzer) et *Aphis gossypii* Glover, sont capables de transmettre le virus d'une manière non persistante. Généralement, le virus est acquis en 1 minute, mais la capacité à transmettre décline et est perdue en quelques heures. L'efficacité de transmission varie avec les espèces de puceron, les souches de virus, les espèces de plantes hôte, les conditions environnementales, et le temps de l'année. L'infection de la tomate par les pucerons virulifères n'est pas commune, car elle n'est pas l'hôte préféré des pucerons qui colonisent normalement le melon, le concombre et la courge. Expérimentalement, le CMV est facilement mécaniquement transmis, mais ce virus n'est pas

stable (par rapport au virus de la mosaïque du tabac) : il n'est pas transmis par les travailleurs touchant les plantes infectées. Il n'est pas transmis par les semences de tomates mais peut l'être dans d'autres cas (chez 19 autres espèces de plantes). (Jones *et al.*, 1991)

Contrôle

Aucun seuil d'intervention n'a été établi. Il n'existe pas de moyens de lutte efficaces contre les virus qui s'attaquent aux tomates. (Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, 2009.)

Il n'existe pas de sources connues de résistance chez Solanum lycopersicum L, ni chez les espèces apparentées. L'éradication des mauvaises herbes hôtes (pouvant jouer le rôle d'intermédiaire) est souvent une tâche difficile vu la large gamme d'hôtes. Néanmoins, l'élimination de quelques unes des adventices clé pérennes ou bisannuelles localisées près de la culture (dans le champ et aux abords) peut réduire la pression sévère du virus. En plus, des champs de tomate peuvent être isolés en utilisant des cultures barrières non sensibles plus grandes, comme le maïs. L'application d'insecticides et d'huile minérale a été utilisée pour contrôler ce virus notamment. L'utilisation de plants exempts de maladies est un moyen de prévention efficace. (Jones $et\ al.$, 1991)

2.5.4 TMV (virus de la mosaïque du tabac)

Le virus de la mosaïque du tabac est responsable de symptômes sévères sur diverses solanacées dont la tomate. (Lepoivre, 2003) En champ, ce virus est restreint à ses cultures respectives. Il ne pose généralement pas de problème en culture de tomates en serre grâce à l'utilisation de cultivars résistants. La maladie constitue encore une menace sérieuse là où les cultivars résistants ne sont pas disponibles et la culture des plantes inclut encore une manipulation fréquente. (Jones *et al.*, 1991) La mosaïque du tabac touche le plus souvent les cultures de tomates, mais aussi de poivrons et d'aubergines. Il affecte plus ou moins gravement le rendement. (Messaien *et al.*, 1991).

Symptômes

Figure 5: Symptômes de la mosaïque du tabac sur tomate. (Omafra, 2009)

Les symptômes les plus caractéristiques de la maladie causés par les souches les plus communes sont des zones tachetées de vert foncé et clair (marbrures en forme de mosaïque) sur les feuilles. Les plantes infectées dans un stade précoce de croissance sont généralement rabougries et ont une teinte jaunâtre. Les feuilles peuvent aussi être déformées : gondolées, réduites en taille (petites feuilles), et malformées (étroites, en forme de feuilles de fougère), mais pas autant que les plantes infectées par le CMV. En général,



l'intensité des symptômes varie avec la souche virale, le cultivar, le temps d'infection (le calendrier annuel et le stade de croissance de la plante), l'intensité lumineuse et la

température. (Jones *et al.*, 1991). Il provoque également des avortements floraux et des nécroses sur fruits qui rendent la production non commercialisable. (Lepoivre, 2003). Des hautes températures causent généralement un masquage des symptômes foliaires. Le fruit peut montrer un vieillissement (mûrissement) et être réduit en taille et en nombre. Des souches variées ont été décrites et nommées largement sur base des symptômes du fruit. (Jones *et al.*, 1991)

Agent causal

Le virus responsable, TMV (*Tobacco mosaic virus*), est un virus appartenant au groupe des *Tobamovirus*. C'est un virus à génome d'ARN de type messager monopartite. Il se transmet par le sol et les semences. Il peut survivre dans les débris végétaux infectés (Messaien *et al.*, 1991; Jones *et al.*, 1991), ainsi que dans le terreau et les eaux souterraines. La transmission mécanique naturelle par contact d'organes est donc observée pour ce virus. (Lepoivre, 2003) Elle se réalise facilement lors des diverses opérations culturales telles que le repiquage, la cueillette et la taille.

Contrôle

- Utilisation d'hybrides résistants. (INRA, 2009) Les variétés modernes, cultivées en serre, comportent des gènes de résistance au virus qui ont été introduites à partir d'espèces sauvages de tomates (*Solanum peruvianum* et *Solanum habrochaites*). (Messaien *et al.*, 1991)
- Utilisation de semences saines. Le TMV contamine les téguments extérieurs des graines de tomate. Son élimination requiert un traitement des semences sèches par l'air chaud pendant 24 heures à 80°C ou 3 jours à 70-76°C. Cela permet d'établir une culture à partir de graines saines. (Lepoivre, 2003)
- Effectuer des semis directs (pour les cultures de plein champ). (INRA, 2009)

3 Matériel et méthode

3.1 Choix des variétés

3.1.1 Principe

Nous avons décidé de ressemer les variétés de tomates pour lesquelles les graines étaient les plus anciennes. De cette manière, nous avons semé cinquante variétés de tomate. Nous parlons de ce groupe de variétés sous le nom de « tomates destinées à la conservation ». Nous avons aussi décidé de semer 20 variétés de tomate en vue de la valorisation de la collection. Pour ce faire, nous avons semé les variétés dont les couleurs étaient plus foncées, indiquant vraisemblablement une plus grande teneur en pigments et donc en antioxydants, ceux-ci étant recherchés dans le cadre d'une alimentation saine et équilibrée. Nous parlons de ce groupe de variétés sous le nom de « tomates destinées à la valorisation ».

3.1.2 Tomates destinées à la conservation

Nous avons décidé de ressemer les variétés dont les graines étaient les plus anciennes afin de ne pas stocker des graines ayant déjà perdu une grande partie, voire la totalité de leur potentiel de germination. Après quelques discussions, nous sommes arrivés à la conclusion

que si ces variétés germaient, il fallait les protéger autant que possible afin de récupérer des graines. Sans quoi, ces variétés risquaient d'être définitivement perdues. Nous avons donc entrepris de placer ces variétés en serre et de faire en sorte que l'on ait deux répétitions de chaque variété au cas où. Après évaluation de la surface disponible en serre, cinquante variétés de tomates ont été sélectionnées. Un code (chiffre de 1 à 50) a été associé à chaque variété pour plus de facilité. Nous avons aussi rencontré Christian Higuet, responsable du stock de graines du jardin botanique de la Faculté. Après évaluation du nombre de graines disponible pour chaque variété, nous avons choisi de ne semer que sept graines par variété. Ce chiffre nous permet d'obtenir, avec une probabilité suffisante, deux plantes par variété, sans éliminer les chances de régénérer la variété en cas d'échec de notre semis.

3.1.3 Liste des variétés sélectionnées

Nous avons semé toutes les graines les plus anciennes datant de 2000 et de 2001. Nous nous approchions alors des cinquante variétés. Nous avons donc dû faire une sélection parmi les graines datant de 2002 ; les variétés botaniques sont passées en priorité. Ensuite, le hasard a fait les choses. La liste des variétés destinées à la conservation est citée en annexe 2.

3.1.4 Tomates destinées à la valorisation

Nous avons choisi les variétés à valoriser selon les critères suivants :

1) La couleur:

Le but de cette mesure étant de voir s'il existe un lien entre les antioxydants et la coloration, en partant de l'idée que les tomates aux couleurs foncées étaient plus riches en pigments et donc en antioxydants. Nous avons choisi deux variétés dans différentes classes de couleur comme point de comparaison et dix variétés de tomates noires.

Au sein des tomates noires nous avons choisi, sur base des photos disponibles sur le site, celles présentant une coloration foncée externe et/ou au niveau de la chair ainsi que les différentes variantes de couleurs (uniforme, colorée sur les épaules, zébrée). Enfin, la variété Kumato, déjà présente dans les supermarchés Colruyt et Delhaize, a été retenue. Nous pensons qu'elle pourrait également servir de point de comparaison.

- 2) La diversité au niveau de la forme et de la taille des fruits, cela dans un but de valoriser des tomates qui sortent de l'ordinaire.
- 3) La qualité gustative, sur base d'une échelle réalisée par Monsieur Fichot. Nous avons pris des variétés dont la note était de (2) ou (3) lorsqu'elles étaient disponibles :
 - (3)Excellente qualité
 - (2)Bonne qualité
 - (1) Moyenne ou pour sauces, coulis, purée, conserves
- 4) La diversité au niveau des origines citées par Monsieur Fichot, tout en privilégiant les variétés belges et celles des pays les plus proches.

Pour chacune des variétés, des analyses doivent être effectuées afin de déterminer la teneur en antioxydants ainsi que d'autres paramètres. Nous avons donc bloqué le chiffre de vingt variétés afin de pouvoir réaliser toutes les analyses. Pour chaque variété, nous avons décidé d'effectuer trois répétitions de manière à pouvoir obtenir des résultats d'analyses qui se

rapprochent plus de la population que d'un individu particulier. Nous ne pouvions faire plus de 3 répétitions car dans ce cas, nous aurions du réduire notre objectif si nous voulions avoir le temps de faire toutes les analyses. Pour chaque variété, nous n'avons semé que cinq graines car peu de graines étaient disponibles et nous espérions obtenir de bons taux de germination.

3.1.5 Liste des variétés sélectionnées

La liste des variétés de tomates à semer a été établie sur base de la couleur, de l'originalité de la forme et de l'origine. Nous souhaitions semer deux variétés rouges, deux variétés jaunes, deux variétés vertes, deux variétés blanches et douze variétés noires. Parmi ces variétés, quatre sont belges, une est une variété noire couramment présente sur le marché belge et une proportion subjective mais élevée présentait une forme originale. La liste des variétés destinées à la valorisation est citée en annexe 3.

3.2 Méthode de conservation

Dans notre cas, les tomates étaient conservées *ex situ* dans la banque de graines de la Faculté avant même le début de ce projet interdisciplinaire. Le protocole de conservation des graines dans cette Faculté est en résumé le suivant.

Les graines sont réceptionnées et stockées dans des sachets en papier où le nom de la plante/variété ainsi que la date de production des graines et le numéro d'accession sont notés. Les sachets en papier sont placés dans un dispositif de séchage particulier : l'air, à température ambiante, est pulsé par un ventilateur au travers d'une couche de silicagel, afin d'être séché avant d'arriver dans une chambre où sont stockés les sachets. Le silicagel est régulièrement restauré au four. Par cette méthode, le séchage dure plusieurs mois si l'on veut arriver à une humidité relative de près de 3 %.

Une fois que les graines sont sèches, elles sont emballées dans des sachets d'aluminium et stockées au congélateur à -20 °C. Les congélateurs sont de simples congélateurs alimentaires horizontaux. De cette manière, il semble possible de conserver les graines pendant plusieurs siècles à la condition impérieuse que celles-ci possèdent un bon taux de germination de départ.

Concrètement, monsieur Fichot renouvelait ses graines tous les 6 ans en semant environ 200 variétés chaque année. Il semble que c'était suffisant pour la conservation de la collection car un nombre assez élevé de graines germait encore après ces années. Elles permettaient ainsi une nouvelle récolte de semences à placer en conservation.

Quant à nous, nous avons semé les graines les plus anciennes de la collection afin d'éviter de les perdre. C'est ainsi que 50 variétés qui dataient de 2000, 2001 et 2002 ont été semées pour renouveler le stock de graines. Une description de ces accessions a été faite en sus. Il reste cependant des graines de 2002 à régénérer car elles étaient trop nombreuses que pour que nous puissions toutes les semer cette année. Ces variétés seront donc à traiter en priorité car elles sont les plus anciennes.

Les graines des variétés qui avaient été retenues en vue de leur valorisation ont également été récoltées. Les dates de dernière récolte s'échelonnaient pour celles-ci de 2002 à 2007. Cela fait donc potentiellement une vingtaine de variétés en plus qui ont été renouvelées.

Concernant la récolte proprement dite des graines, nous avons procédé comme suit :

- Des tomates bien mûres ont été cueillies en prenant bien soin de les étiqueter pour éviter les problèmes de mélange de variétés. Deux à six fruits ont généralement été retenus par variété.
- Les tomates ont été soigneusement coupées transversalement. Pour les tomates allongées, une coupe longitudinale a en plus été réalisée. Une photo a été prise pour chaque variété. Les accessions ont été caractérisées avant la récupération des graines.
- Les graines de chaque variété ont été placées dans des bacs d'eau numérotés. Ces bacs sont restés à l'air libre dans une pièce assez ensoleillée.
- Après plus ou moins une semaine passée dans l'eau, une moisissure blanchâtre s'est formée autour des graines. Nous les avons alors récupérées pour les faire sécher sur des bouts de tissu, à l'air libre.
- Les graines ont été séchées de la sorte pendant au moins deux semaines. Elles ont ensuite été placées dans des enveloppes en papier pour les mettre en conservation à long terme chez Monsieur Higuet. Sur cette enveloppe, le nom de la variété, l'année de récolte et le nombre de graines ont été notés.

Ces différentes étapes prennent tout leur sens quand on sait que les graines de tomates sont enrobées d'une enveloppe gélatineuse. Cette dernière renferme des substances chimiques qui permettent à la semence de rester en dormance. En milieu naturel, les fruits mûrs tombent de la plante et pourrissent. C'est ce processus de fermentation, détruisant l'enveloppe gélatineuse et réalisé principalement par l'agent *Oospora lactis*, que nous avons cherché à reproduire dans nos manipulations. Cette pourriture aide de surcroît à l'élimination des maladies bactériennes. Le séchage permet ensuite de maintenir la dormance en plaçant les graines dans des conditions défavorables à la germination (généralement, froides et sèches) (Guillet, 2006).

3.3 Conduite de la culture

La conduite de la culture s'est réalisée en différentes étapes. Nous avons commencé avant le semis en traitant les vieilles graines de manière à booster leur taux de germination et en traitant les graines à valoriser de manière à éliminer les virus. Le semis et le repiquage se sont alors déroulés au CTH selon leurs méthodes. Les tomates ont séjourné quelques semaines dans la serre Hortisud, avant d'être placées en peine terre dans leur lieu de production final.

3.3.1 Traitement à l'acide gibbérellique des cinquante variétés de tomates à conserver

Objectif: Booster le taux de germination des graines de tomate.

<u>Méthode</u>: Faire tremper les graines pendant 12 h dans une solution d'acide gibbérellique 500 mg/l.

Protocole:

- Préparation de la solution : Dilution de 0.05 g d'acide gibbérellique A3 à 90 % dans quelques millilitres d'alcool (pour permettre la dissolution de la poudre). Porter au trait à 100 ml avec de l'eau distillée.

- Traitement des graines : dans une boite de pétri, placer un filtre, ajouter quelques millilitres de la solution d'acide gibbérellique préparée auparavant (juste assez pour imbiber totalement le filtre sans noyer les graines). Y placer les graines.
- Attendre 12 h et semer.

(Hartmann H. et al., 1990; Bakrim A. et al., 2007)

3.3.2 Traitement au détergent des 20 variétés de tomates à valoriser

Objectif : Eliminer les virus éventuellement présents sur les graines de tomate.

Méthode: Faire tremper les graines pendant trois heures dans une solution de Na₃PO₄ 10 %.

Protocole:

- Préparation de la solution : Peser 20 g de Na₃PO₄. Y ajouter 200 ml d'eau distillée. Mélanger à l'aide d'un parafilm.
- Traitement des graines : dans une boite de pétri, placer un filtre, ajouter quelques millilitres de la solution de Na₃PO₄ préparée auparavant (juste assez pour imbiber totalement le filtre sans noyer les graines =>3 ml par boite). Y placer les graines.
- Attendre 3 h 30.
- Rincer à l'eau.
- Semer.

(Córdoba-Sellés M. C. et al., 2007)

Nous devons toutefois signaler que lors des manipulations des boîtes il y a eu des échanges de couvercles qui font que nous avons peut-être inversé les variétés 3-4 et 29-30 destinées à la valorisation. Bien qu'une attention particulière ait été accordée à ces variétés lors de l'observation des caractéristiques, il est difficile de confirmer l'identité de ces variétés (fruits manquants et anormaux pour cause de maladie, absence de photos pour certaines variétés sur le site de Monsieur Fichot, ...).

3.3.3 Semis et repiquage



Figure 6: semis des tomates.

Le semis des tomates a été réalisé le 25 mars au CTH. Les graines ont été semées dans des bacs remplis de terreau. Six variétés différentes ont été placées dans chaque bac. Cinq graines ont été semées pour les variétés à valoriser et sept graines ont été semées pour les variétés à conserver. Ces bacs étaient arrosés régulièrement et ont été saupoudrés préventivement de granulés anti limaces. Le 8 avril, les plantules étaient à peu près toutes au stade deux feuilles. Elles ont alors été repiquées en « pots pressés ». Nous avons décidé de ne garder à ce stade que les cinq plus belles plantules pour les opérations suivantes. Le 30 avril, les plantules mesuraient près de 30 cm de haut et ont dû être déménagées du CTH vers la Faculté de Gembloux par manque de place disponible au CTH. Elles ont donc été placées dans les serres Hortisud (en face du mess), les pots pressés étant simplement posés sur un lit de tourbe régulièrement humidifié. La serre étant relativement sombre et la température élevée, les tomates ont un peu filé.

3.3.4 Plantations

Le 13 mai, les tomates destinées à la conservation ont été plantées en pleine terre dans les serres de Luc Bolyn (près du chemin de fer). Seules deux plantes ont été conservées par variété, l'objectif ici étant simplement de récolter des graines pour l'année suivante. Les plantes ont été disposées comme représenté en annexe 4.

Les tomates destinées à la valorisation ont été plantées le vendredi 15 mai 2009 dans l'après-midi. Seules trois plantes ont été conservées par variété. Les plantes ont été disposées comme représenté en annexe 5.



Figure 7: Photographie des tomates à valoriser.

Peu de temps après la plantation en extérieur, les tomates étaient brûlées. Nous supposons que ceci est dû au soleil. Une explication possible est que comme les tomates sortaient des serres, elles avaient une cuticule protectrice relativement fine et qu'elles ont été affaiblies par le brusque changement de conditions lorsqu'elles ont été placées à l'extérieur. Du fait des pluies importantes annoncées pour les jours suivants, un traitement antifongique préventif a été réalisé. Ce traitement a sans doute aggravé d'avantage les symptômes.



Figure 8: photographie de feuilles "brûlées » après la transplantation.

3.4 Suivi de la culture

Dès leur plantation, les plants de serre et de pleine terre ont été tuteurés. Nous avons surveillé de près la croissance de nos tomates (y compris pendant les examens et les deux mois d'été) afin d'effectuer les opérations nécessaires en temps voulu. Les interventions ont cependant été légèrement réduites au moment des examens. Voici ce qui a été réalisé :

- Les plants ont été régulièrement palissés.
- L'égourmandage a été réalisé tout au long de la culture. Au début, nous l'avons fait « à la main ». Par la suite, pour éviter autant que possible de contaminer les tomates de

proche en proche lors de cette intervention, nous nous sommes procuré un sécateur de taille et de l'alcool. Entre chaque plant, le sécateur a été désinfecté dans l'alcool. Les feuilles proches du sol ont également été ôtées au fur et à mesure pour essayer d'éviter la contamination des plantes par des pathogènes présents dans le sol.

- L'arrosage a été surveillé de près, bien que nous ne nous en soyons pas chargés. Si, lors de notre passage, le sol semblait sec, nous avons immédiatement averti le technicien-jardinier du problème afin qu'il soit résolu au plus vite.
- Des traitements phytosanitaires ont été fréquemment réalisés par le technicien. En particulier, un traitement fongicide a été effectué à partir du 15 mai et répété à intervalles de 15 jours à 3 semaines sur nos plants de tomates en extérieur. Ces pulvérisations ont été réalisées avec le produit « BAYCOR SC 500 ». Il s'agit d'un fongicide à action préventive et curative contre l'oïdium, la rouille et la maladie des taches noires. Nous avons de surcroît souvent inspecté nos plants afin de pouvoir déceler un éventuel problème au plus vite.

3.5 Descripteurs

Dans le cadre de notre documentation, deux étudiants du groupe ont assisté le 15 et le 16 septembre 2009 à un ensemble de conférences organisées au Centre Technique Horticole à l'occasion d'une rencontre autour du thème « biodiversité de la tomate et de la pomme de terre ». Le résumé des conférences est repris en annexe 6.

3.5.1 Choix et définition des descripteurs

L'un des objectifs de ce projet interdisciplinaire est de sélectionner les caractères botaniques ou morphologiques les plus discriminants afin de caractériser les variétés de la collection de Luc Fichot. En effet, les données obtenues grâce au site Internet de ce dernier - descriptions, photographies, échelle de qualité gustative - sont trop subjectives voire manquantes. Il est donc nécessaire de réaliser des observations et des évaluations de nos variétés afin de fournir des descriptions plus uniformes et utilisant un vocabulaire standardisé.

Sur base de la liste des descripteurs définis par l'International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 1996), deux types de descripteurs ont été retenus : les descripteurs de caractérisation et ceux d'évaluation. Les premiers permettent une différentiation rapide et facile entre les phénotypes, possèdent un caractère héréditaire très marqué et sont exprimés dans tous les milieux. Les seconds sont, au contraire, sensibles aux différences environnementales et comprennent des caractères relatifs au rendement, aux résultats agronomiques, à la sensibilité au stress et des caractères biochimiques et cytologiques.

A travers ces deux catégories, les descripteurs ont été choisis pour leur facilité d'observation ainsi que pour leur caractère discriminant. De plus, en rapport avec nos objectifs, nous avons accordé une importance particulière aux descripteurs de couleur des fruits. L'origine des variétés et les mesures physico-chimiques en laboratoire ont été ajoutées pour compléter la description. Enfin nous avons choisi d'observer le diamètre maximal des fruits ainsi que le nombre de fruits mûrs en même temps sur les grappes pour réaliser un classement des variétés.

3.5.2 Caractérisation

3.5.2.1 Données végétatives

Elles s'observent quand les fruits du deuxième ou du troisième bras sont mûrs

- Type de croissance
 - 1 Nain
 - 2 Déterminé
 - 3 Semi-déterminé
 - 4 Indéterminé

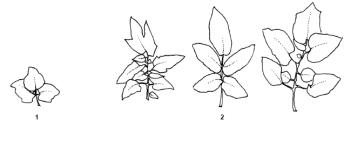
Pour le type déterminé, le nombre de feuilles entre les inflorescences varie de une à trois et la tige se termine par une inflorescence sur laquelle aucune pousse latérale n'est observée. Le type semi-déterminé ne présente pas systématiquement trois feuilles entre les inflorescences. Enfin, on observe pour le type indéterminé trois feuilles entre les inflorescences. Chaque bouquet floral produit trois bourgeons : un terminal, devenant un

bourgeon floral et deux axillaires, dont un donne une pousse latérale, qui à son tour donne trois bourgeons et assure la prolongation de la tige (UPOV, 2001).

- Type de feuille



- 2 Type de feuille de pomme de terre
- 3 Standard descripteur
- 4 Peruvianum
- 5 Pimpinellifolium
- 6 Hirsutum
- 7 Autres.



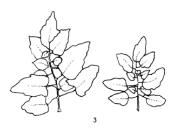








Figure 9: Les différents types de feuille (IPGRI).

3.5.2.2 Inflorescence et fruit

Les observations doivent, autant que possible, se faire sur le troisième fruit du deuxième ou du troisième bras et à pleine maturité de celui-ci. Une moyenne de dix fruits pris sur différentes plantes doit être enregistrée. Ne disposant pas d'un nombre de plantes suffisant par cultivar, nous observeront tous les fruits.

- Couleur de la corolle
- 1 Blanc 3 Orange
- 2 Jaune 4 Autre
 - Présence de rayures vertes sur le fruit (épaulé)
- 0 Absente
- 1 Présente (épaulé du fruit partie supérieure du fruit, autour du calice est verte tandis que la zone du pistil est rouge).
 - Forme prédominante du fruit

Celle-ci est relevée après le changement de couleur des fruits.

- 1 Aplatie
- 2 Légèrement aplatie
- 3 Ronde
- 4 Haute et ronde
- 5 En forme de cœur
- 6 Allongée cylindrique
- 7 En forme de poire
- 8 En forme de prune
- 9 Autre













Figure 10: Les différentes formes du fruit (IPGRI).

- Couleur extérieure du fruit mûr

1 Vert 4 Rose

2 Jaune 5 Rouge

3 Orange 6 Autre

- Couleur de la peau du fruit mûr

- 1 Incolore
- 2 Jaune
 - Couleur de la chair (péricarpe)

1 Vert 4 Rouge

2 Jaune 5 Rose

3 Orange 6 Autre

- Forme du fruit en coupe transversale

1 Ronde

2 Angulaire

3 Irrégulière



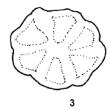


Figure 11: Les différentes formes du fruit en coupe transversale (IPGRI).

- Nombre de loges
- Veinures à l'extrémité du calice
- 1 Très légère
- 3 Légère
- 5 Moyenne
- 7 Forte
 - Longueur du pédicelle à partir de la zone d'abscission [cm]

Celle-ci est relevée à partir de la zone d'abscission jusqu'au calice. Un "0" sera attribué pour les plantes ne possédant pas de zone d'abscission. On réalise la moyenne de 10 pédicelles pris sur différentes plantes.

NB : Quelques variétés n'ont qu'un collier au lieu d'une assise d'abscission, on les considère comme étant sans jointure ("0").

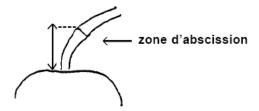


Figure 12: Longueur du pédicelle (IPGRI).

- Poids du fruit en g

3.5.3 Evaluation

3.5.3.1 Caractéristiques agronomiques

- Nombre de jours à la maturité [j]

Celui-ci se calcule à partir du repiquage jusqu'au stade où 50 % des plantes ont au moins un fruit mûr. Comme nous ne sommes pas parvenus à nous organiser de manière à relever les fruits mûrs de manière régulière, nous nous sommes contentés de classer les variétés en hâtives et tardives. Les variétés hâtives sont celles dont les fruits sont matures avant le 15 juillet et les variétés tardives sont celles dont la maturité du fruit a lieu après cette date. Cette classification étant basée sur le fait qu'Alain Rondia a utilisé cette valeur seuil lors des caractérisations qu'il a effectuées cette année afin de séparer ces variétés en hâtives et en tardives et sur le fait que des observations ont été réalisées à cette date (voire annexe 6).

3.5.3.2 Descripteurs physico-chimiques

Si la tomate se conserve désormais bien, les consommateurs lui demandent aujourd'hui davantage de goût. En effet, la découverte, dans les années 90, d'une mutation naturelle sur un gène (le gène *rin* pour ripening inhibitor) a permis d'augmenter la durée de conservation pour de nombreuses variétés de tomates. Cependant, ces variétés dites "long life" présentent une qualité gustative limitée. En réponse à cela, nous réaliserons une étude physico-chimique de la qualité organoleptique de nos variétés à valoriser. Cette qualité fait appel à nos différents sens et est définie par l'aspect extérieur, les saveurs perçues au niveau de la langue, les arômes perçus par voie rétronasale et les textures. Notre choix s'est porté sur l'évaluation des saveurs sucrée et acide, de la couleur et de la texture (INRA, 2000).

La mesure du brix et du pH s'est faite sur du jus de tomate. Le jus est préparé en broyant les tomates dans un mixer et en centrifugeant le jus ainsi obtenu pendant 15 minutes, à 4°C, à 4500g. Le surnageant est séparé du culot à l'aide d'un filtre quantitatif. Le surnageant sert à la mesure du pH et du degré brix. Le jus de tomate provient de plusieurs tomates généralement issues de plusieurs pieds différents mais pas toujours (fonction de la disponibilité en matériel végétal). La texture est mesurée à l'aide d'un texturomètre.

- Matières sèches solubles

La saveur sucrée est évaluée en mesurant la teneur en solides solubles ou degré Brix. Ce dernier mesure la concentration (en %) d'un composé solide soluble en solution aqueuse. Il est théoriquement calculé par rapport au poids (grammes) de sucre de canne contenu dans 100 g d'une solution. En conséquent, lors de la mesure d'une solution basée uniquement sur les quantités de sucre dissous, le degré Brix donne directement la concentration réelle avec précision. Il est déterminé par l'utilisation d'un réfractomètre dont le principe se base sur une mesure de l'index de réfraction. En effet, l'augmentation de la densité d'une substance (ex : sucre dissout dans l'eau) est proportionnelle à l'augmentation de l'indice de réfraction de cette substance. La figure 8 donne un exemple de mesure pour une solution de faible (A) ou forte (B) concentration. La concentration standard connue varie entre 3 et 6 % pour la tomate et entre 5 et 9 % pour le jus de tomate (Optech Refractomètres, 2005).

Dans la pratique, cette mesure a été réalisée à l'aide d'un réfractomètre ATAGO à partir de jus de tomate centrifugé.

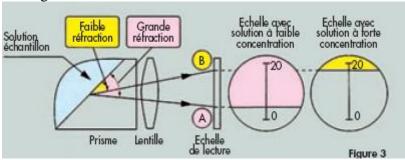


Figure 13: Illustration d'un réfractomètre (Optech Refractomètres, 2005).

- pH du fruit

Celui-ci se mesure à l'aide d'un pHmètre pour deux échantillons de jus crus d'au moins cinq fruits par échantillon de jus selon l'IPGRI.

Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre HANNAC sur le jus centrifugé.

- Couleur extérieure du fruit mûr

L'évaluation de la couleur se fait à l'aide d'un colorimètre sur les fruits entiers. Cet appareil est équipé de filtres colorés qui le rendent sensible aux couleurs rouge, verte et bleue. Les données obtenues sont représentées par des coordonnées colorimétriques dans un espace (figure 9). Le plus utilisé est l'espace CIE 1976 ou système Cielab dont l'objectif est d'obtenir un espace uniforme en écarts de couleurs où les repérages sont faciles à effectuer et qui est plus simple à interpréter. La représentation en coordonnées rectangulaires est déterminée par les paramètres L* a* b* où L* représente l'axe de clarté ou axe noir-blanc, a* représente l'axe vert-rouge et b* représente l'axe bleu-jaune (Figure 10) (Heuzé, 1992; Newtone, 2005).

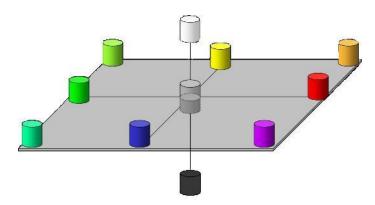


Figure 14: Représentation d'un espace colorimétrique (Newtone, 2005).

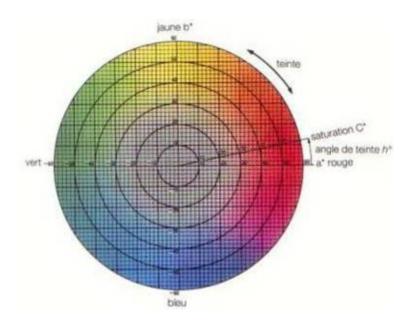


Figure 15: Représentation des coordonnées rectangulaire L*a*b et des coordonnées circulaires L*C*h (Newtone, 2005).

Cette mesure n'a finalement pas été réalisée car elle aurait été difficile à mettre en œuvre du fait de la variabilité de taille des tomates.

- Fermeté du fruit

Selon l'IPGRI, celle-ci doit être relevée dix jours après la récolte, à pleine maturité du fruit, en pressant dans la paume de la main le fruit dans sa partie la plus large. Les résultats proposés sont : 3 Molle, 5 Moyenne et 7 Ferme. Nous pensons que ce critère est difficilement évaluable de par notre inexpérience en la matière et aussi du fait que les relevés devraient toujours être réalisés par la même personne.

Dans la pratique, les mesures de fermeté ont été réalisées le 19 août et le 11 septembre sur des fruits récoltés le jour même. Pour chaque variété, et dans la mesure du matériel végétal disponible, 3 mesures ont été réalisées par fruit et ce sur 3 fruits différents. Les mesures de fermeté ont été réalisées à l'aide d'un texturomètre SMS TAXT2 dont la sonde de 3 mm de diamètre pénétrait la tomate à une vitesse de 3 mm/s. Cette mesure permet de connaître la force nécessaire pour percer le fruit et la résistance de la chair à l'enfoncement une fois que la sonde a percé le fruit. Nous avons alors obtenu des graphiques où la distance d'enfoncement de la sonde est représentée en abscisse et où la force nécessaire à l'enfoncement est représentée en ordonnée. Les données ayant été extraites des graphiques ainsi obtenus sont les coordonnées du pique (N et mm) et la hauteur du plateau (N).

3.5.3.3 Descripteurs en vue du classement des variétés

L'observation du nombre de tomates mûres sur la grappe et du diamètre maximum du fruit permet un classement des variétés comme suit :

Les Maraîchères: Trois calibres 47/57, 57/67, 67/82.

Les Tomates Grappes: Cœur de marché en grappes classiques de cinq fruits au minimum.

Les Cocktails: En grappe médium de six fruits minimum, calibre 30/45 mm.

Les Cerises: Calibre 20/35 mm, en grappes: dix fruits minimum.

Les Olivines : En grappe de quatre ou six fruits de forme allongée et de calibre 47/57.

Les Tentations: Petites grappes savoureuses de six à huit fruits de calibre 35/55.

Les tomates à farcir : Variétés charnues avec deux calibres 72/82 et 82/102.

(PRINCE de BRETAGNE, 2004)

Nous n'avons finalement pas classé les tomates de cette manière. Ce classement n'est pas pertinent par rapport à nos tomates puisque celles-ci sont souvent « hors calibre » (ex. : petites tomates de 20 mm en grappes de moins de 10 fruits) ou à haute variabilité d'une tomate à l'autre au sein d'une même variété.

3.6 Analyse des antioxydants et des anthocyanes

Objet : effectuer des analyses chimiques afin d'affiner la description des variétés concernées et d'obtenir des mesures nécessaires à l'étude du pouvoir antioxydant des tomates noires

3.6.1 Echantillonnage

Les variétés concernées sont les vingt variétés destinées à la valorisation. Suite à des difficultés d'ordre technique et logistique, nous n'avons pu réaliser les mesures désirées sur chacune des vingt variétés. Cette analyse n'a été réalisée que tard dans la saison (première semaine d'Octobre). La quantité de matériel végétal disponible à cette période était faible (seules quelques variétés présentaient encore des fruits en état d'être analysés). Les analyses ont finalement été réalisées sur deux des vingt variétés destinées à la valorisation ainsi que sur deux variétés achetées au magasin le jour même.

3.6.2 Mesure des antioxydants totaux

Objectifs:

- Mesurer le taux d'antioxydants chez les tomates noires.
- Comparer ce taux à celui des tomates de couleur rouge, verte, orange et blanche.

3.6.3 Mesure des anthocyanes

Objectifs:

- Mesurer le taux d'anthocyanes chez les tomates noires.
- Etablir le pourcentage d'anthocyanes dans les antioxydants totaux.

Plusieurs substances chimiques présentes dans les aliments sont appelées antioxydants parce qu'elles possèdent la propriété d'empêcher la réaction en chaîne lancée par les radicaux libres. Ce sont des « pare-balles » pour l'organisme. Les principaux antioxydants naturels sont les flavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines C et E et le sélénium.

Les anthocyanes, molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau.

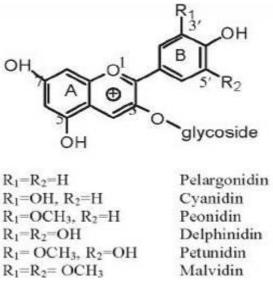


Figure 16 : Structure de base des anthocyanes.

Nous souhaitions mesurer le taux d'anthocyanes présent dans nos fruits. A cet effet et après de nombreuses recherches, la méthode la plus simple nous apparaissait être la mesure par la spectrométrie à l'UV-visible.

La mesure de la teneur totale en anthocyanes monomériques est basée sur le changement de structure des anthocyanes en passant du pH 1.0 à un pH de 4.5. (LEE J. *et al.*, 2005)

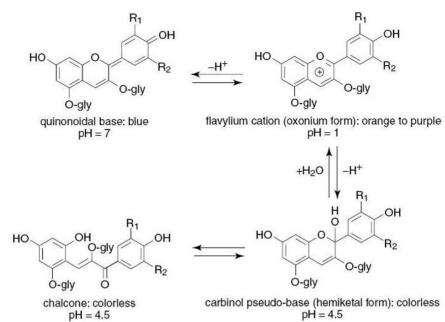


Figure 17 : Formes structurales prédominante d'anthocyanes présentes à différents niveaux de pH.

Ce changement de structure se manifeste par une différence significative du spectre d'absorbance. (Giusti M. *et al.*, 2001)

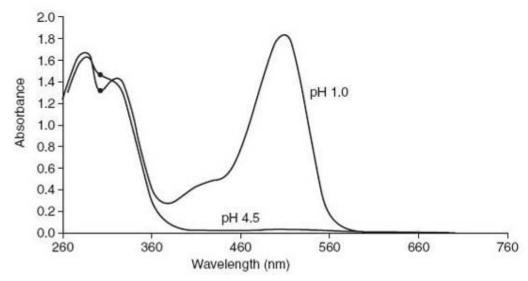


Figure 18 : Caractéristiques spectrales d'anthocyanes de radis purifiés (dérivé acétylé pelargonidin-3-sophoroside-5-glucoside)

Plus de détails sur cette méthode d'analyse sont disponibles dans les deux publications suivantes : Giusti M. *et al.*, 2001 et LEE J. *et al.*,.

Cette analyse n'a finalement pas été réalisée car elle était techniquement difficile et coûteuse alors que les probabilités d'obtention de résultats étaient faibles.

3.6.4 Méthodologie des tests effectués

Nous avons analysé quatre variétés différentes de tomates : Brown cherry (17V, noire), Kumato (noire), Flandria (rouge), Banana legs (10V, jaune). Les tomates Kumato et Flandria ont été achetées dans une grande surface ; les deux autres variétés provenaient de notre récolte.

1) Préparation

(D'après Wang H. et al., 1996)

Le fruit est pesé et homogénéisé dans un blender. L'homogénéisât est centrifugé à 4500 g pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant (fraction jus) est récupéré et filtré, puis utilisé directement pour l'analyse. Celle-ci étant réalisée le lendemain, les béchers sont emballés dans de l'aluminium et conservés au réfrigérateur, afin d'éviter la dégradation des anti-oxydants par la lumière. La fraction insoluble est extraite par de l'acétone pure (1 :7, p/v) par mélange à la température ambiante pendant 30 minutes. Le volume d'acétone devant être de 7 fois le poids du culot, nous avons utilisé seulement 10 g de culot, après l'avoir homogénéisé. L'extrait d'acétone est récupéré par centrifugation à 1500 g, à 4°C, durant 15 minutes. Le surnageant est utilisé pour le test antioxydant.

Poids (en grammes) des tomates analysées

N°	Variété	Poids tomates	Poids jus (g)
		(g)	
1	Flandria	478,31	182, 11
2	Brown cherry	458,28	181,88
3	Kumato	439,98	180,03

4	Banana legs	422,14	179,65
		,	- /

Après centrifugation:

N°	Variété	m surnageant (g)	m culot (g)	m culot extrait (g)
1	Flandria	103,47	78,64	10,32
2	Brown cherry	67,05	114,83	10,35
3	Kumato	116,16	63,87	10,48
4	Banana legs	100,08	79,57	10,10

2) Test antioxydant

(Odriozola-Serrano et al.,2008)

a) Etalonnage

Afin d'avoir un élément de comparaison, nous avons procédé à un étalonnage avec du trolox. A partir d'une solution mère (0,0589 g de trolox et 100ml de méthanol), 7 solutions étalons de concentrations différentes ont été préparées.

N° solution	1	2	3	4	5	6	7
Méthanol	1	0,75	0,625	0,5	0, 375	0,25	0
Trolox	0	0,25	0,375	0,5	0,625	0,75	1
Concentration (mmol/l)	0	0,571	0,856	1,142	1,427	1,712	2,283

b) Test

Une aliquote de 0,01 ml de surnageant est mélangé à 3,9 ml de solution méthanolique de DPPH (0,025 g/l) et 0,09 ml d'eau distillée. L'homogénéisat est secoué vigoureusement et conservé dans le noir durant 30 minutes. L'absorption des échantillons est mesurée au spectrophotomètre à 515 nm contre un blanco de méthanol sans DPPH. Les résultats sont exprimés comme le pourcentage de diminution par rapport à la valeur d'absorbance de la solution de référence.

3.7 Test ELISA

Le test ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay) est une technique immunoenzymatique. Il sert à la détection et à la quantification des agents phytopathogènes (comme les virus) et à l'identification du pathovar ou sous-espèce de bactérie avec une très grande sensibilité. Cette technique a été développée grâce au marquage enzymatique des anticorps. Elle a l'avantage d'être facilie d'utilisation, spécifique et rapide (Lepoivre, 2003).

Cette méthode utilise les anticorps produits commercialement afin de diagnostiquer les maladies bactériennes ou virales. Pour détecter et identifier une bactérie ou un virus phytopathogène, il faut utiliser un anticorps spécifique à ces organismes et un anticorps conjugué à une enzyme (souvent la phosphatase alcaline et la peroxydase). Un substrat spécifique à l'enzyme est ajouté et transformé en sa présence : les produits issus de la réaction

ont une coloration jaune ou orange. La présence du virus recherché au niveau des tissus végétaux, ou l'identification de la bactérie isolée sont confirmées par la coloration développée dans les puits d'une plaque de polystyrène. (Vézina, Lacroix, 2006)

3.7.1 Détection du PVY

L'objectif de la manipulation est de détecter la présence du virus Y de la pomme-deterre (le PVY) dans les tissus végétaux des plants de tomates.

Pour le PVY, le kit utilisé est: Standard Kit Complete for DAS ELISA for 960 tests (PVY), LOEWE Biochemica GmbH, Germany

Matériel

- Echantillons provenant des tomates de valorisation (plantées à l'extérieur), prélevés le jour même (feuilles, rameaux) : chaque plante a été échantillonnée (52 échantillons)
- Echantillons (feuilles) provenant des tomates plantées en serre, échantillonnées quelques semaines auparavant et conservés dans des boîtes grâce à du CaCl2. (9 échantillons)
- Echantillons provenant de 2 plants en serre, échantillonnés le jour même (2 échantillons)

Le témoin positif est constitué de tissus végétaux infectés par le virus Y tandis que le témoin négatif est fait à partir de tissus végétaux sains de la même espèce végétale (*Solanum lycopersicum*) que l'échantillon reçu.

Nous faisons 3 répétitions par échantillon. Comme nous avons 63 échantillons, 189 puits seront donc occupés par les échantillons. Il faut également prévoir une colonne servant de blanco, ainsi que 3 témoins positifs et 3 témoins négatifs au minimum. Une plaque ELISA a 96 puits. Trois plaques de polystyrène sont donc nécessaires.

On utilise un kit Standard complet pour test ELISA concernant le virus Y de la pomme de terre.

Il contient:

- 1 ml d'anticorps spécifique
- 1 ml d'anticorps spécifique conjugué
- Contrôle positif (2 vials)
- Contrôle négatif (2 vials)
- 1 L Coating Buffer
- 2x 5 L Wash Buffer
- 4x 1L Conjugate/Sample Buffer
- 2x 25 ml Substrate Buffer (5x concentré)
- 10 tablettes de 20 mg de Substrat
- 10 ml de TweenTM 20

Le Coating Buffer (tampon de fixation), 1 L, est formé par 1,59 g de Na2CO3 et 2,93 g de NaHCO3 dissout dans de l'eau distillée, à pH réglé à 9,6, puis porté au trait à 1L.

Le Washing Buffer (tampon de lavage), 1 L, est formé de 8g de NaCl, 2,9 g de Na2HPO4x12H2O, 0,2g de KH2PO4 et 0,2g de KCl dissout dans 1 L d'eau distillée. 0,5 ml de Tween 20 sont ajoutés et le pH est réglé à 7,2-7,4.

Le Sample conjugate (tampon d'extraction), 200ml, est formé par 4g de polyvinyl pyrrolidone et 0,4g d'albumine sérique bovin, le tout dissout dans du tampon de lavage (rempli à 200ml). Le pH est réglé à 7,4.

Le Substrate Buffer (tampon substrat) (1L) est formé de 97 ml de diéthanolamine et 0,2g de MgCl2x6H20, dissous dans de l'eau distillée (rempli à 1L). On règle le pH à 9,8 à l'aide d'HCl.

Les solutions peuvent être conservées au frigo à 4°C, ou au congélateur à plus long terme.

Méthode

1ère étape : Fixation des anticorps.

On dilue 200x l'anticorps spécifique dans du tampon de fixation. On prélève 30 ml de tampon de fixation et on y ajoute 150 µl d'anticorps. Après avoir homogénéisé, 100µl du mélange est déposé dans chacun des puits des 3 plaques de polystyrène (288 puits à 100µl par puits). On recouvre la plaque de paraffine, le tout emballé dans de l'aluminium. On incube la plaque emballée pendant 4 heures à 37°C. Cet anticorps, spécifique à l'antigène du virus Y, servira à « capturer » l'antigène s'il est présent par la suite. Il se formera un complexe anticorps-antigène lors des prochaines étapes si l'antigène est présent dans les échantillons testés.

2ème étape : Mise en place des échantillons.

La plaque, déballée de l'aluminium et de la paraffine, va être lavée. L'opération de lavage se déroule ainsi : on vide tout d'abord le contenu de la plaque dans une bassine (on la retourne afin d'enlever la solution d'anticorps ajoutée dans chaque puits). On assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On ajoute ensuite $100\mu l$ de tampon de lavage dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Puis on vide le contenu dans la bassine : on retourne la plaque pour enlever la solution tampon et on assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On répète ce lavage 3x.

La détection des virus se fait à partir de tissus végétaux. On travaille avec du jus de plante.

On prélève 0,5g de feuille (échantillon végétal montrant des symptômes viraux) pour chaque échantillon. On les dépose dans un sac pour broyage. On ajoute 5ml de tampon d'extraction à 0,5g de l'échantillon dans le sac. On a parfois dû ajuster la quantité de tampon d'extraction à la quantité d'échantillon < à 0,5 g, pour certains des échantillons conservés à l'aide du CaCl2. Ensuite, on broie l'échantillon et on place le jus de plante obtenu dans un flacon (on répète cette opération pour chaque échantillon). Le témoin positif est constitué de tissus végétaux infectés par le virus Y tandis que le témoin négatif est fait à partir de tissus végétaux sains de la même espèce végétale que l'échantillon reçu (*Solanum lycopersicum*). Ils sont préparés de la même façon que les échantillons testés.

Au niveau des plaques de polystyrène, on utilise les colonnes 1 comme blanco. On dépose 100µl du Simple Conjugate dans tous les puits des colonnes 1 de chacune des 3 plaques. Aucun échantillon n'est déposé dans ces puits. Les puits « blanco » servent à vérifier la qualité des tampons et des anticorps. Ce sont des valeurs de référence pour la lecture de densité optique.

Après avoir vortexé le flacon, on dépose 100µl de l'extraction des tissus végétaux (jus de plante) des échantillons dans les puits des autres colonnes correspondants à la disposition ci-dessous (Tableau 1). Pour le témoin positif, 100 µl de l'extraction des végétaux infectés par le virus sont déposés dans les puits correspondant. Pour le témoin négatif, 100 µl de l'extraction des tissus végétaux sains de la même espèce végétale que l'échantillon reçu sont déposés dans les puits correspondant. Il y a également 3 répétitions pour chaque témoin. La plaque est emballée de paraffine puis d'aluminium, puis est mise à l'incubateur à 37°C pendant la nuit. Lors de cette étape, la reconnaissance entre anticorps et antigène se fait si

l'antigène est présent au niveau de l'échantillon.

La disposition des puits est reprise dans l'annexe 7.

Au niveau de chaque puits : le premier chiffre correspond au numéro que l'on a attribué à chaque variété depuis le début du projet, le V correspond à Valorisation (tomates cultivées dehors), et la lettre A, B ou C correspond à chaque individu de la variété (3 individus de la même variété en général). Le S correspond à Serre (tomate cultivée en serre), et le CaCl2 correspond aux échantillons qui ont été prélevés au préalable et conservés dans du CaCl2 (les autres ayant été échantillonnés juste avant l'analyse étaient frais).

3ème étape. Ajout de l'anticorps conjugué à une enzyme.

Les plaques sont déballées de l'aluminium et de la paraffine. On vide le contenu des plaques dans une bassine (on les retourne afin d'enlever les solutions ajoutées la veille dans les puits correspondants). Puis on assèche les plaques en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On ajoute ensuite $100\mu l$ de tampon de lavage dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Puis on vide le contenu dans la bassine : on retourne la plaque pour enlever la solution tampon et on assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On répète ce lavage 4x.

Ensuite, on ajoute l'anticorps conjugué à une enzyme. L'enzyme utilisée pour le test ELISA est la phosphatase alcaline. On dilue donc 200x l'anticorps conjugué à l'enzyme dans du tampon d'extraction (préconisé par le protocole du kit ELISA utilisé). On prélève 30 ml de tampon de fixation et on y ajoute 150 µl d'anticorps conjugué. Après avoir homogénéisé, on dépose 100µl du mélange dans chacun des puits des 3 plaques de polystyrène (288 puits à 100µl par puits) à l'aide d'une micropipette. On recouvre la plaque de paraffine, et on emballe le tout dans de l'aluminium. On incube la plaque emballée pendant 4 heures à 37°C.

Dans cette étape, l'anticorps (spécifique à l'antigène recherché) lié à l'enzyme réagit avec le complexe anticorps-antigène (s'il est présent), pour former le « sandwich ».

4ème étape. Ajout du substrat de l'enzyme.

La plaque est déballée de l'aluminium et de la paraffine. On vide le contenu de la plaque dans une bassine (on la retourne afin d'enlever la solution ajoutée dans chaque puits). On assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On ajoute ensuite $100\mu l$ de tampon de lavage dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Puis on vide le contenu dans la bassine : on retourne la plaque pour enlever la solution tampon et on assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On répète ce lavage 3x.

Ensuite, on ajoute le substrat de l'enzyme (une pastille et un quart) dans 25ml de tampon substrat (préconisé par le protocole du kit ELISA utilisé). L'enzyme utilisée pour le test ELISA est la phosphatase alcaline. On mélange, jusqu'à ce que la pastille soit dissoute. On dépose 100µl de ce mélange dans chaque puits. La plaque est réemballée (paraffine et aluminium) car le substrat est photosensible. Elle est mise à l'incubation pendant une heure à température ambiante.

5ème étape. Mesure de la densité optique

On mesure la densité optique à une longueur d'onde de 405nm (longueur d'onde de la phosphatase alcaline). La lecture des résultats se fait à l'aide d'un ordinateur relié au lecteur

de densité optique. Il faut dans un premier temps indiquer à la machine que la 1ère colonne correspond au blanco : elle contient tous les tampons et anticorps mais aucun échantillon. L'ordinateur opère automatiquement une moyenne de cette colonne, qui sera soustraite des résultats.

La présence d'une coloration dans les puits signifie que l'anticorps lié à l'enzyme s'est fixé à l'antigène (fixé antérieurement à l'anticorps de recouvrement). En présence de phosphatase, le substrat P-nitrophényl phosphate est hydrolysé en P-nitrophénol qui est un composé jaune.

(Clark M.F. et Adams A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. Journal of General Virology 34: 475-483).

3.7.2 Détection du CMV

Matériel :

Le kit utilisé pour le CMV: Double Antibody Sandwich ELISA (DAS-ELISA), Deutsche Sommlung vonMikroorganismen und Zellkulturen GmbH-Plant Virus Collection, Germany.

Les broyats végétaux utilisés lors du 1er test ELISA pour détecter le virus Y peuvent être réutilisés pour ce test car les flacons contenant le jus de plante ont été conservés au frigo à cette fin. Pour rappel :

- échantillons provenant des tomates de valorisation (plantées à l'extérieur), prélevés le jour même (feuilles, rameaux) : chaque plante a été échantillonnée (52 échantillons)
- échantillons (feuilles) provenant des tomates plantées en serre, échantillonnées quelques semaines auparavant et conservés dans des boîtes grâce à du CaCl₂. (9 échantillons)
- échantillons provenant de 2 plants en serre, échantillonnés le jour même (2 échantillons)

Le témoin positif est constitué de tissus végétaux infectés par le virus de la mosaïque du concombre tandis que le témoin négatif est fait à partir de tissus végétaux sains de la même espèce végétale (*Solanum lycopersicum*) que l'échantillon reçu.

Nous faisons 3 répétitions par échantillon. Comme nous avons 63 échantillons, 189 puits seront donc occupés par les échantillons. Il faut également prévoir une colonne servant de blanco, ainsi que 3 témoins positifs et 3 témoins négatifs au minimum. Une plaque ELISA a 96 puits. Trois plaques de polystyrène sont donc nécessaires.

On utilise un kit Standard complet pour test ELISA concernant le CMV contenant notamment de l'anticorps spécifique et de l'anticorps spécifique conjugué ainsi que du substrat.

Méthode :

Préparation des solutions.

Le Coating Buffer (tampon de fixation), 1 L, est formé par 1,59 g de Na₂CO₃ et 2,93 g de NaHCO₃ ainsi que 0,2 g de NaN₃ dissout dans de l'eau distillée (900 ml). On règle alors le pH à 9,6 avec de l'HCl, puis on porte au trait à 1L.

Le PBS (phosphate buffered saline), 1 L, est formé de 8g de NaCl, 1,15 g de Na₂HPO₄, 0,2g de KH₂PO₄ et 0,2g de KCl dissout dans 900 ml d'eau distillée. On règle le pH à 7,4 avec du HCl ou du NaOH, puis on porte au trait à 1 L.

On produit le PBST en ajoutant 0,5 ml de Tween 20 (pour 1L).

Le Sample extraction buffer (tampon d'extraction) est formé par le PBST avec 2% de PVP (Serva PVP-15 polyvinyl pyrrolidone). Le pH est réglé à 7,4. Pour obtenir du « Conjugate buffer » (tampon conjugué), on y ajoute 0,2% d'albumine d'oeuf

Le Substrate Buffer (tampon substrat) (1L) est formé de 97 ml de diéthanolamine et 0,2g de NaN3, dissous dans de l'eau distillée (600 ml). On règle le pH à 9,8 à l'aide d'HCl puis on porte au trait à 1 L avec de l'eau.

Ces solutions peuvent être stockées au frigo (4°C) pendant 2 mois.

1ère étape. Fixation des anticorps.

On dilue 200x l'anticorps spécifique dans du tampon de fixation. On prélève 30 ml de tampon de fixation et on y ajoute 150 µl d'anticorps. Après avoir homogénéisé, 100µl du mélange est déposé dans chacun des puits des 3 plaques de polystyrène (288 puits à 100µl par puits). On recouvre la plaque de paraffine, le tout emballé dans de l'aluminium. On incube la plaque emballée pendant 4 heures à 37°C. Cet anticorps, spécifique à l'antigène du CMV, servira à « capturer » l'antigène s'il est présent par la suite. Il se formera un complexe anticorps-antigène lors des prochaines étapes si l'antigène est présent dans les échantillons testés.

2^{ème} étape. Mise en place des échantillons.

La plaque, déballée de l'aluminium et de la paraffine, va être lavée. L'opération de lavage se déroule ainsi : on vide tout d'abord le contenu de la plaque dans une bassine (on la retourne afin d'enlever la solution d'anticorps ajoutée dans chaque puits). On assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On ajoute ensuite 100µl de PBS-Tween dans chaque puits à l'aide d'une micropipette. Puis on vide le contenu dans la bassine : on retourne la plaque pour enlever la solution tampon et on assèche la plaque en frappant vigoureusement sur un papier absorbant. On répète ce lavage 3x.

La détection des virus se fait à partir de tissus végétaux, on réutilise donc les broyats des tissus végétaux (jus de plante) utilisés lors de la première manipulation. On travaille avec les échantillons broyés conservés au frigo du test ELISA effectué pour la détection du virus Y. Pour rappel, 0,5g de feuille (échantillon végétal de la plante montrant des symptômes viraux) avait été prélevé pour chaque échantillon, déposé dans un sac pour broyage avec 5ml de tampon d'extraction à 0,5g de l'échantillon dans le sac (selon la quantité d'échantillon disponible), broyé et on obtenait le jus de plante (dans un falcon) pour chaque échantillon. Le témoin positif est constitué de tissus végétaux infectés par CMV tandis que le témoin négatif est fait à partir de tissus végétaux sains de la même espèce végétale (*Solanum lycopersicum*) que l'échantillon reçu. Ils sont préparés de la même façon que les échantillons testés.

Au niveau des plaques de polystyrène, on utilise les colonnes 1 comme blanco. On dépose 100µl du Simple Conjugate dans tous les puits des colonnes 1 de chacune des 3 plaques.

Aucun échantillon n'est déposé dans ces puits. Les puits « blanco » servent à vérifier la qualité des tampons et des anticorps. Ce sont des valeurs de référence pour la lecture de densité optique.

Après avoir vortexé le flacon, on dépose 100µl de l'extraction des tissus végétaux (jus de plante) des échantillons dans les puits des autres colonnes correspondants à la disposition ci-dessous (Tableau 1). Pour le témoin positif, 100 µl de l'extraction des végétaux infectés par le virus sont déposés dans les puits correspondant. Pour le témoin négatif, 100 µl de l'extraction des tissus végétaux sains de la même espèce végétale que l'échantillon reçu sont déposés dans les puits correspondant. Il y a également minimum 3 répétitions pour chaque témoin. La plaque est emballée de paraffine puis d'aluminium, puis est mise à l'incubation à 37°C pendant la nuit. Lors de cette étape, la reconnaissance entre anticorps et antigène se fait si l'antigène est présent au niveau de l'échantillon. (Clark M.F., 1977). La disposition des puits est reprise dans l'annexe 8.

3.8 Action médiatique de valorisation :

Afin de sensibiliser le grand public à la diversité variétale de la tomate, nous planifions de mettre en place une ou plusieurs « actions médiatiques ». Le but est de faire découvrir et goûter aux consommateurs, habitués à ne voir que des tomates bien rondes et rouges, des tomates aux couleurs et formes qui sortent de l'ordinaire.

3.8.1 Moyens mis en œuvre :

L'action médiatique s'est déroulée le dimanche 20 septembre 2009, dans le cadre des journées portes ouvertes du Centre Technique Horticole de Gembloux (CTH). L'objectif était de sensibiliser le grand public à la diversité variétale de la tomate. A cette occasion, nous avons réalisé trois panneaux explicatifs (voir l'annexe 9) intitulés : « La culture de la tomate », « Les collections de tomates », « La biodiversité de la tomate ». Nous avons également disposé un présentoir avec des tomates de notre récolte, aux formes et couleurs variées. Les visiteurs pouvaient goûter les tomates et la confiture à base de tomates jaunes. Des recettes ont également été distribuées. Enfin, nous avons demandé aux visiteurs de répondre à un questionnaire préparé par nos soins sur leur consommation de tomates et leur sensibilité à la diversité variétale de la tomate.

3.8.2 Bilan:

Le bilan de cette journée est très positif. Nous sommes conscients que nous avons eu affaire à un public ciblé, car les visiteurs étaient généralement déjà intéressées par l'horticulture et sensibilisés à la problématique de la diversité variétale. Cependant, tous étaient surpris de voir une telle diversité de tomates, et encore plus étonnés de leurs différents goûts. Cela a permis de leur faire part de notre projet et de créer un dialogue enrichissant.

3.8.3 Etablissement des questionnaires :

Le questionnaire est repris dans l'annexe 10. Il comporte 11 questions qui sont majoritairement des questions à choix multiples. Ces questions portent sur les habitudes de consommation ainsi que sur la perception de la diversité des tomates. Le questionnaire comporte également des questions relatives aux caractéristiques socio-économiques des répondants.

Nous sommes conscients que la rédaction d'un questionnaire répond à une méthodologie précise et nécessite beaucoup d'expérience et de précautions. La validité des résultats obtenus est fonction de la bonne rédaction des questions. Nous avons tenté de faire au mieux et avons choisi des questions en lien avec notre projet.

24 personnes ont été interrogées, ce qui ne constitue pas un échantillon assez représentatif que pour faire un traitement statistique poussé des résultats. De plus, comme nous l'avons déjà mentionné, les répondants faisaient partie d'un public ciblé, non représentatif de l'ensemble de la population.

4 Résultats

4.1 Taux de germination

Nous avons analysés les taux de germination des graines semées. Même si cette mesure ne s'est pas déroulée selon les protocoles habituels (boîte de pétri, papier filtre, température contrôlée,...), nous sommes cependant arrivés à certaines conclusions. Les taux de germination des graines destinées à la conservation datant de 2000, 2001 et 2002 sont respectivement de 44, 75 et 60 %. Nous observons donc que les graines les plus anciennes avaient les taux de germination le plus bas et que, étonnamment, les graines plus récentes ne sont pas forcément de meilleure qualité. Comme la conservation des graines était réalisée de manière assez artisanale, il est bien possible que les conditions de séchage et donc de conservation n'étaient pas constantes d'une année à l'autre. Il faut noter que pour des graines aussi vieilles, ces taux de germinations sont fort élevés mais montrent aussi qu'il était urgent de régénérer ces variétés.

4.2 Récupération des graines/renouvellement de la collection

Certaines variétés nous ont donné du fil à retordre car leurs graines germaient dans l'eau. De ce fait, elles ne pouvaient pas être placées en conservation car elles avaient perdu leur pouvoir germinatif. C'est ainsi que nous avons recommencé les opérations décrites cidessus plusieurs fois quand c'était nécessaire, afin d'obtenir des graines aptes à la conservation à long terme. Ces germinations dans les bacs peuvent être expliquées de la façon suivante : lors des jours très chauds d'été, le processus de fermentation de l'enveloppe gélatineuse des graines peut se réaliser en moins de 48 h (Guillet, 2006). De fait, nous avons observé des températures élevées lorsque le problème de germination s'est présenté.



Figure 19: Germination de graines dans un bac d'eau (17.08.2009)

Malheureusement, les 70 variétés que nous avions semées n'ont pas toutes donné des graines.

- Les variétés 18, 30, 38, 42 semées pour la conservation n'ont pas germé (voir tableau 1 ci-dessous). La variété Black Zebra semée pour la valorisation n'a pas germé non plus. Ses graines datent de 2002. Ces variétés devraient donc être semées d'urgence si l'on ne veut pas les perdre.
- Les variétés 1, 5, 6, 8, 11, 12, 22A, 23, 24, 27, 34, 37, 44, 45 semées pour la conservation sont tombées très malades, de sorte qu'aucune graine n'a pu être récoltée pour ces variétés.

Tableau 1 : Variétés destinées à la conservation n'ayant pas germé

Budenovka	Récolte: 2000	38
Ingenioli Giante Liscio	Récolte: 2000	18
Amish Gold	Récolte: 2002	42
Candy Stripe	Récolte: 2002	30

4.3 Plan de conservation

Nous proposons de continuer à conserver les variétés de tomates de la collection Luc Fichot comme expliqué au le point 5.5 (séchage au silicagel puis entreposage au congélateur). Cette méthode de conservation *ex situ* paraît être la plus adaptée à la situation qui se présente à nous vu que nous nous trouvons en présence de graines orthodoxes. Il semble cependant utile de régénérer toute la collection avant le stockage long terme au congélateur. Cela n'exclut pas un stockage provisoire à basse température permettant de renouveler la collection au rythme des moyens disponibles. Quand toutes les tomates seront placées dans des conditions de conservation long terme au congélateur, il faudra aussi prévoir de vérifier à peu près annuellement le taux de germination de quelques variétés de référence afin d'être sûr de ne pas perdre la collection.

4.4 Descriptions physicochimiques

• Brix

La mesure du degré brix est une mesure facile, rapide et peu coûteuse qui permet de mesurer la quantité de matières solubles dans un jus. Dans le cas de la tomate, cette mesure est assez bien corrélée à la teneur en sucre et à la qualité gustative des tomates de table (Navez B., 2005). Les résultats exacts sont fournis dans un tableau annexe 11. Le graphe cidessous reprend les résultats obtenus lors des analyses, dans les cas où plusieurs mesures ont été réalisées, nous reprenons ici la moyenne. Nous n'avons pu mesurer le degré brix de la variété Corne de bélier car nous ne parvenions pas à filtrer celle-ci après centrifugation. Nous pouvons tout de suite constater qu'une variété sort du lot point de vue brix : la variété Black Cherry. Ceci n'est pas tellement étonnant puisque nous avions déjà remarqué qu'elle était nettement plus sucrée que les autres variétés. A titre de comparaison, la mesure du degré brix d'une tomate du magasin a été réalisée. Celle-ci est de 4 °Bx, soit un peu moins que la moyenne des variétés.

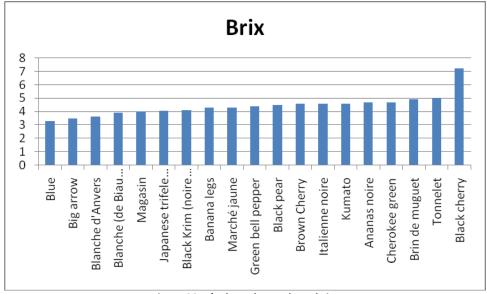


Figure 20: résultats des analyses brix.

Nous avons réalisé nos observations en deux fois. Les degrés brix des variétés Tonnelet et Japanese trifele black ont été mesurés les deux fois afin de servir de comparaison. Dans le premier cas, les mesures étaient très différentes entre les 2 séances de mesure ; 5.4 et 4.6°Bx pour Tonnelet alors que dans le deuxième cas, les mesures étaient relativement semblable entre les deux séances ; 4 et 4.1°Bx pour Japanese trifele black. Ceci peut remettre en question, de manière non fondamentale, la validité de nos données.

Les tomates cerise sont souvent considérées comme plus sucrées et il est connu qu'il existe un lien entre le diamètre du fruit et la teneur en sucre. Nous n'avons cependant pas pu constater ce lien au sein de notre collection comme le montre le graphique ci-dessous. Peutêtre l'échantillon testé était-il trop faible ou peut-être ce lien ne s'applique-t-il pas de manière aussi claire aux variétés non industrielles. Nous avons aussi constaté qu'il n'existe pas de lien entre la couleur du fruit et son degré brix. Le degré brix a aussi été comparé à divers autres paramètres sans qu'aucune corrélation n'ait été constatée.

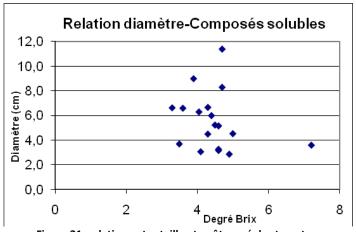


Figure 21: relation entre taille et goût sucré des tomates.

pH

Les résultats exacts des mesures de pH sont repris dans un tableau annexe 11. Le graphe ci-dessous reprend les résultats obtenus lors des analyses de pH, dans les cas où plusieurs mesures ont été réalisées, nous reprenons ici la moyenne. Nous n'avons pu mesurer le pH de la variété Corne de bélier car nous ne parvenions pas à filtrer celle-ci après centrifugation. Nous pouvons tout de suite constater qu'une variété sort du lot point de vue pH; la variété Kumato. Celle-ci n'avait pas, de notre point de vue, un goût particulièrement acide. L'acidité était peut-être cachée par un degré brix légèrement supérieur à la moyenne ; il est aussi possible que le pH ne soit simplement pas ou peu corrélé au pH. Il aurait probablement été plus pertinent de mesurer l'acidité plutôt que le pH lors de nos analyses, ce paramètre étant sensé être mieux corrélé aux propriétés organoleptiques. Nous constatons que la tomate du magasin est située dans la moyenne point de vue pH.

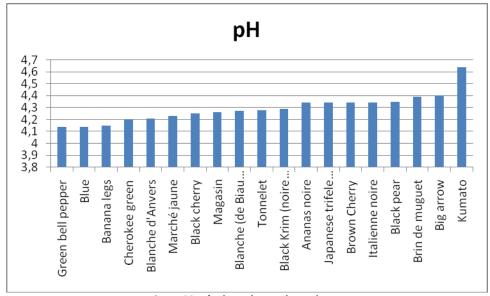


Figure 22: résultats des analyses de pH.

Nous avons réalisé nos observations en deux fois. Le pH de la variété Tonnelet a été mesuré les deux fois afin de servir de comparaison. Les deux mesures étant proches puisque dans le premier cas le pH était de 4.25 alors qu'il était de 4.3 dans le second cas.

Comme en atteste le graphe ci-dessous, il semble y avoir une corrélation entre le pH et la couleur du fruit. Les fruits de couleur généralement relative à un fruit non mûr (vert et jaune) présentent un pH relativement bas tandis que les fruits de couleur généralement associée à un fruit mûr (rouge, brun et noir) présentent un pH élevé.

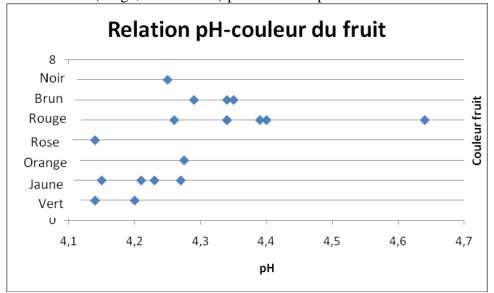


Figure 23: relation entre pH et couleur du fruit.

Nous espérions trouver, comme c'est souvent le cas dans la littérature (Navez B., 2005), une relation de proportionnalité entre le °Bx et le pH mais cela n'a pas été clairement le cas comme le montre la figure suivante. Cette figure tient aussi compte des calibres car ils devraient se différencier ; les plus petits calibres présentant une acidité et un °Bx plus élevé que les gros calibres. Quelles peuvent être les causes de ces résultats non cohérents par rapport à la littérature ? Nous avons travaillé le pH plutôt que l'acidité et les données fournies par la littérature concernent généralement plusieurs centaines d'échantillons, ces échantillons étant des variétés commerciales. Le pH a aussi été comparé à divers autres paramètres sans qu'aucune corrélation n'ait été constatée.

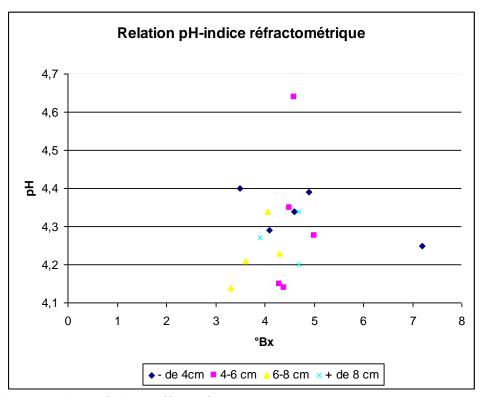


Figure 24: relation entre le pH et l'indice au réfractomètre.

Texture

Nous observons la force nécessaire à l'enfoncement d'une sonde de 3 mm de diamètre à une vitesse de 3mm/s dans une tomate. Pour chaque variété, nous avons réalisé 3 mesures par fruit sur 3 fruits. Les résultats qui seront fournis au cours des ces pages sont donc des moyennes de 9 mesures (sauf manque de matériel végétal ou mesure réalisée lors de deux séances afin de comparer les informations). Pour chaque mesure, nous avons obtenu un graphique Force-Distance (figure 24) tel que celui représenté ci-dessous. Dans ce graphique, nous observons très clairement plusieurs phases ;

- Dans un premier temps, la sonde rencontre la surface du fruit. La peau se plie face à l'enfoncement de la sonde jusqu'au moment où celle-ci se rompt. Il faut donc une force croissante pour enfoncer la sonde un peu plus dans le fruit.
- Dans un seconde temps, la peau se rompt et la pression nécessaire à l'enfoncement de la sonde descend soudainement, ce qui forme un point de rupture facilement identifiable.
- Dans un troisième temps, la sonde continue à s'enfoncer dans le fruit et la seule résistance qu'elle rencontre est la chair, la force nécessaire à l'enfoncement est donc relativement constante.
- Dans un quatrième temps, la sonde fait demi-tour.
- Dans un cinquième et dernier temps, la sonde se retire et un effet de succion entraîne une pression négative.

A partir de ce graphique, nous avons extrait un certain nombre de données; les coordonnées du point de rupture (ex.: 6.5N et 4mm dans le cas ci-dessous) ainsi que la hauteur du palier (ex.: 0.5N dans le cas ci-dessous). Nous interprétons la force de rupture

comme étant représentatif de la résistance de la peau, la distance de rupture comme étant représentative de l'élasticité de la peau et le pallier comme étant représentatif de la résistance de la chair.

D'une mesure à l'autre, les résultats n'étaient pas répétables car la structure interne d'une tomate n'est pas homogène (loges, irrégularités...). Nous avons donc réalisé 9 mesures par variété afin d'obtenir des résultats valables malgré la variabilité associée à la mesure.

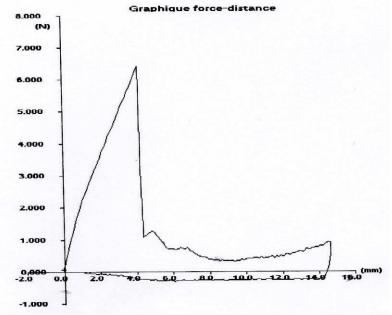


Figure 25: graphique force distance.

Les résultats exacts obtenus sont repris dans un tableau annexe 12. Ceux -ci sont exprimés de manière plus lisible ci-dessous :

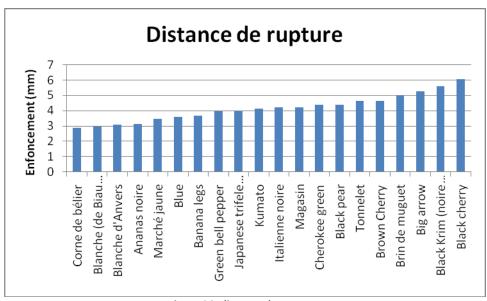


Figure 26: distance de rupture.

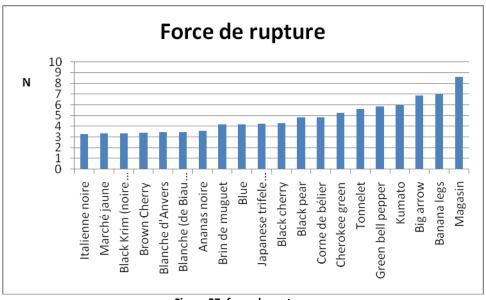


Figure 27: force de rupture.

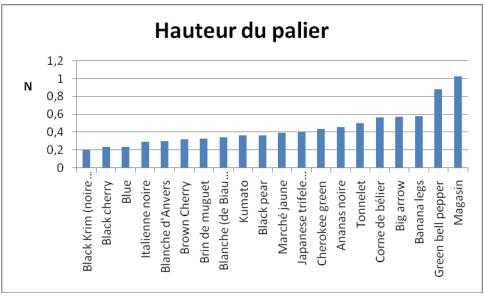


Figure 28: hauteur du palier.

Nous constatons que la variété Black cherry présente une plus grande élasticité de la peau, ce qui la rend plus molle. Cette plus grande élasticité donne une certaine impression de maturation trop avancée souvent associée à cette variété. En fait, cette variété se comporte comme si elle était dans un état physiologiquement plus avancé que les autres variétés alors qu'elle est au stade mature (couleur foncée et degré brix élevé en plus de ce qui est cité ici). Les variétés à faible enfoncement comme Corne de bélier ou Blanche (de Biau Germe) sont des variétés à peau fortement résistante aux déformations (presque cassante, dans la mesure où une tomate peut-être cassante).

Nous observons que la tomate du magasin, qui semblait déjà plus ferme que les autres tomates si on la prenait en main, nécessite une plus grande force si l'on souhaite enfoncer une sonde. Cela n'est pas étonnant puisque cette caractéristique est sélectionnée. Une variété qui présente une plus grande fermeté est plus résistante aux chocs et plus transportable. Nous avons aussi constaté que les variétés qui sont les plus fermes se conservent plus longtemps ; nous avons fait cette observation dans le cas de Banana legs, Green bell peper et Corne de

bélier. Il faut noter que cette caractéristique est renseignée dans la littérature comme étant antagoniste par rapport au caractère goût.

Les tomates qui ont la plus grande force de rupture sont aussi celles qui ont la plus grande hauteur de palier, le graphe suivant représente la corrélation entre ces deux types de mesure.

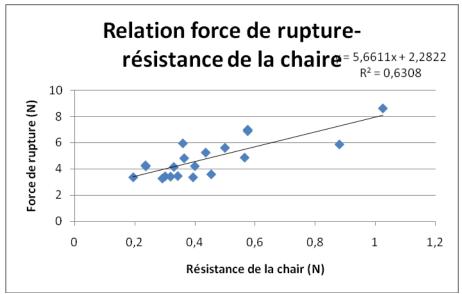


Figure 29: relation force de rupture, résistance de la chair.

Certaines mesures ont été réalisées lors des deux séances de mesure et permettent de comparer nos résultats entre les deux. Un regard particulier devrait être porté sur cette comparaison car les conditions environnementales étaient très différentes entre les deux séances ; la température était beaucoup plus élevée lors de la première séance. Nous pensons que cet écart de température aurait pu influencer nos résultats. Les résultats comparés sont présentés ci-dessous. Nous pouvons constater que dans les deux premiers cas, les différences sont importantes alors que dans les deux cas suivants, les différences sont faibles. Cela alors même que les résultats attendus auraient été opposés puisque les deux premiers échantillons ont été analysés le matin et que les deux échantillons suivants ont été analysés l'après midi et on eu le temps de « cuire ». Peut-on interpréter ces observations comme un signe du fait que les tomates présentes dehors en fin de saison sont plus « cuites » que celles présentes en début de saison ou bien est-ce le hasard ?

Tableau 2 Comparaison des résultats répétés lors des deux scéances d'analyse

Variété		Coordonées du pic		Hauteur de
		mm	N	plateau (N)
Tonnelet	1	4,555	5,876	0,566
Tonnelet	2	4,795	5,29533333	0,44466667
Japanese trifele	1	4,30166667	3,751	0,23855556
black	2	3,43166667	4,60455556	0,56911111
Drin do muguet	1	4,90833333	4,13711111	0,33477778
Brin de muguet	2	5,095	4,15066667	0,34183333
Black Krim (noire de	1	5,22166667	3,30922222	0,293
Crimée)	2	4,39166667	3,40066667	0,15975

D'autres relations ont été envisagées sans que l'on ne parvienne à mettre quoi que ce soit en évidence. Quelques exemples sont repris ci-dessous.

Rem. : dans le graphe « Relation force de rupture-résistance de la chair » ci-dessous, chaque type d'étiquette représente une couleur de tomate différente.

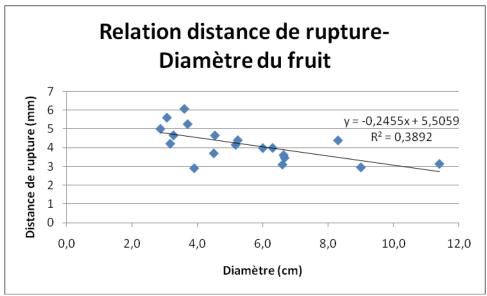


Figure 30: relation distance de rupture - diamètre du fruit.

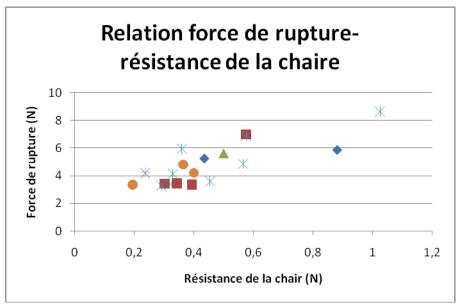


Figure 31: relation force de rupture - résistance de la chair.

Il est à noter que dans le cadre de meusres de routine, la fermeté n'est jamais mesurée par un texturomètre mais par son indice Durofel. La mesure de l'indice Durofel est une mesure non destructive. Une sonde exerce une pression sur la surface d'un fruit sans le percer, comme on le ferait au toucher, et mesure la contraction de la peau.

✓ Conclusion

Il faut cependant prendre du recul par rapport aux données récoltées et admettre qu'une certaine imprécision doit être liée à notre méthode de travail. Nous avons réalisé nos mesures

une seule fois par variété alors que nous savons très bien que les paramètres mesurés sur les tomates sont des paramètres qui évoluent, aussi bien en cours de maturation qu'en cours de saison. Nous ne constatons cependant pas de différence entre les mesures de pH et de degré brix réalisées lors de la première et lors de la deuxième séance d'analyse. Dans le cas des mesures de texture, nous pouvons envisager que les tomates évoluent en cours de saison.

4.5 Caractérisation

Les résultats des caractérisations sont présentés aux tableaux en annexe 13 et 14 ainsi que dans des fiches descriptives réalisée pour chaque variété (remises à part avec le travail) dont un exemple est présenté en annexe 15.

Les cotes de l'IPGRI présentées précédemment ont généralement été utilisées sauf lorsque les observations étaient différentes des propositions. Cela s'est souvent présenté dans le cas de la caractérisation de la couleur extérieure du fruit et de la couleur de la peau du fruit. Les répétitions ont été distinguées lorsque les fruits semblaient fort différents. En valorisation, la variété portant le numéro 14C ne ressemblait pas aux deux autres variétés numéro 14: la plante était de taille réduite et toujours en fleur le 24 septembre. Le type de feuille n'a été observé que sur les feuilles ne présentant pas ou très peu de symptômes dans le cas des variétés de conservation. Dans le cas des variétés de valorisation, la maturité n'a pas été notée car nous avons considéré qu'en raison du retard pris à cause des problèmes de brûlure rencontrés en début de culture ces dates ne seraient pas représentatives. Nous avons également noté que de nombreuses variétés ont été sujettes à l'éclatement de leurs fruits. Ce phénomène est lié à une irrégularité de l'apport d'eau et certaines variétés y sont plus sensibles. C'est un défaut majeur au niveau de la qualité des variétés anciennes, c'est pourquoi nous l'avons relevé.

D'une manière générale, nous pensons que le fait que les variétés de conservation présentaient différents symptômes de maladies a pu fortement biaiser les caractérisations au niveau de leurs fruits. En effet, en comparaison avec les résultats visibles sur le site de Mr. Fichot, nos fruits sont de taille réduite avec des taches dans la couleur et une peau plus dure et ridée.

4.6 Détermination des antioxydants et des anthocyanes

Les résultats sont repris dans le tableau en annexe (annexe 16).

La concentration en équivalent trolox correspondant à un pourcentage de diminution d'absorbance est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage. Les nombres de mol solubles dans la phase hydrophile (surnageant) et dans la phase hydrophobe (culot extrait à l'acétone) ont été calculés et ont permis de calculer le nombre de mol équivalent trolox par gramme de tomate. Enfin, les moyennes par variété ont été calculées.

> Plan d'expérience

Objectif : comparer le pouvoir anti-oxydant de différentes variétés de tomates

Observation : nombre de mol équivalent trolox par gramme de tomate

Facteur : variété ; fixe, qualitatif, 4 objets

Unité d'échantillonnage: 1 échantillon

Dispositif d'échantillonnage : complètement aléatoire

Méthode d'analyse : analyse de la variance à un critère de classification fixe

> Inférence

• **Hypothèse**: m1=m2=m3=m4

• Conditions d'application :

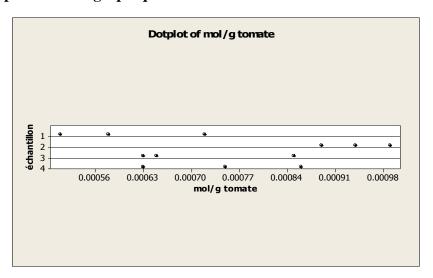
- 4 échantillons aléatoires, simples et indépendants
- 4 populations normales et de même variance

• Statistique descriptive

Descriptive Statistics: mol/g tomate

		Iean SE Mean StDev Minimum 05 0.000062 0.000107 0.000514
2		000028 0.000049 0.000892
3	3 0 0.000711 0.0	000071 0.000122 0.000630
4	3 0 0.000747 0.0	000068 0.000118 0.000628
Variable	échantillon Q1 Me	edian Q3 Maximum
mol/g toma	ate 1 0.000514 0.0	000577 0.000723 0.000723
2	0.000892 0.000933	5 0.000989 0.000989
3	0.000630 0.00065	1 0.000851 0.000851
4	0.000628 0.000749	9 0.000865 0.000865

• Représentation graphique



• Vérification des conditions d'application :

- populations normales : il n'est pas possible de tester la normalité des populations car le nombre de données est insuffisant (3 par variété), donc on la suppose.
- égalité des variances :

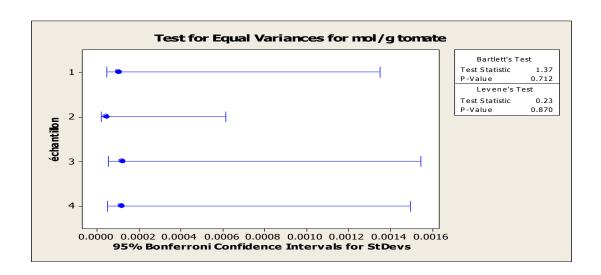
Test for Equal Variances: mol/g tomate versus échantillon

95% Bonferroni confidence intervals for standard deviations

échantillon N Lower StDev Upper 1 3 0.0000475 0.0001071 0.0013524 2 3 0.0000217 0.0000488 0.0006167 3 3 0.0000542 0.0001222 0.0015431 4 3 0.0000525 0.0001183 0.0014941

Bartlett's Test (Normal Distribution) Test statistic = 1.37; **p-value = 0.712**

Levene's Test (Any Continuous Distribution) Test statistic = 0.23; p-value = 0.870



Comme p-valeur = 0,712 > 0,05, on accepte l'hypothèse d'égalité des variances

• Tableau d'analyse da la variance

One-way ANOVA: mol/g tomate versus échantillon

Source DF SS MS F P

échantillon 3 0.0000002 0.0000000667 5.44 <u>0.025</u>

Error 8 0.0000001 0.0000000125

Total 11 0.0000003

S = 0.0001034 R-Sq = 67.12% R-Sq(adj) = 54.79%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Pooled StDev = 0.0001034

$$p=0.025 < 0.05 \rightarrow Rho$$

Les moyennes sont donc significativement différentes. Il y a donc des différences significatives de pouvoir anti-oxydant entre les variétés de tomates.

• Structuration des moyennes

Afin de voir où se situent les différences entre moyennes, il est nécessaire de faire une structuration des moyennes.

Le facteur est qualitatif et il n'y a pas de structure définie a priori. Nous pouvons donc utiliser la méthode de Newman et Keuls (ou méthode de la plus petite amplitude significative).

$$ppas = q_{1-\alpha} \cdot \sqrt{\frac{CM}{n}}$$

q à (k,p) degrés de liberté, tables de Newman et Keuls

CM : carré moyen ayant servi de base de comparaison (=CMr car AV1)

n : nombre d'observations ayant servi à calculer chaque moyenne =3

k: degrés de liberté du CM =8

p : nombre de moyennes comparées

p	$q_{0,95}$	ppas
4	4,53	0,0002924
3	4,04	0,0002608
2	3,26	0,0002104

1 3 4 2 0,0006047 0,0007109 0,0007474 0,0009386

Les moyennes sont ordonnées par ordre croissant. On compare les amplitudes observées avec les ppas théoriques. Si les amplitudes observées sont supérieures à la ppas calculée pour ce groupe, alors le groupe est hétérogène (les moyennes sont toutes différentes). On teste alors les groupes de taille inférieure. Si les amplitudes observées sont inférieures à la ppas, alors les moyennes de ce groupe ne diffèrent pas significativement.

1-2:0,0003339>0,0002924

1-4: 0,0001427 < 0,0002608 3-2: 0,0002277 < 0,0002608

Les variétés 1, 3 et 4 n'ont pas un pouvoir anti-oxydant significativement différent. Les variétés 3, 4 et 2 n'ont pas un pouvoir anti-oxydant significativement différent.

Nous observons un chevauchement, qui est dû à l'imprécision de la question (on obtient donc une réponse peu précise). Ainsi, les variétés 1 et 3 ne diffèrent pas significativement, de même que les variétés 3 et 4, mais 1 et 4 ne sont pas pour autant équivalentes.

Nous pouvons par ailleurs rechercher les variétés ayant le plus grand pouvoir antioxydant. La méthode utilisée est alors celle de Gupta (ou groupe de moyennes contenant la moyenne la plus grande).

On calcule:

$$\overline{y}_{\text{max}} - g_{1-\alpha} \cdot \sqrt{\frac{CM}{n}}$$

g à (p,k) degrés de liberté

ymax : moyenne la plus élevée, prise comme référence

CM : carré moyen ayant servi de base de comparaison (=CMr car AV1)

n : nombre d'observations ayant servi à calculer chaque moyenne =3

k : degrés de liberté du CM = 8

p: nombre d'objets (nombre de moyennes comparées) =4

0,0009386-3,42 RAC (0,0000000125/3) = 0,0007178

1 3 4 2 0,0006047 0,0007109 0,0007474 0,0009386

Les variétés 4 et 2 dépassent la valeur calculée et sont donc définies comme étant celles ayant le plus grand pouvoir anti-oxydant.

➤ Interprétation des résultats

Il apparaît donc que Brown Cherry est la variété ayant le plus grand pouvoir antioxydant. Elle est suivie par Banana legs, qui est une variété de tomate jaune. Viennent ensuite Kumato (noire) et enfin Flandria (rouge).

Ces résultats vont plutôt dans le sens de ce que nous pensions, c'est-à-dire que les tomates noires seraient plus riches en anti-oxydants que les tomates rouges. Cependant, les résultats sont à prendre avec précaution pour différentes raisons :

- Premièrement, une variété de tomate d'une couleur déterminée ne peut en aucun cas être représentative de l'ensemble des tomates de cette même couleur. Ainsi, le résultat obtenu pour la variété Brown Cherry ne nous permet pas d'affirmer que toutes les tomates noires sont significativement plus riches en anti-oxydants que les tomates rouges. D'autant plus que l'analyse statistique montre que la teneur en anti-oxydants de Kumato ne diffère pas significativement de celle de Flandria. Un plus grand nombre de variétés noires et rouges aurait dû être testé afin de pouvoir tirer des conclusions plus précises.
- Deuxièmement, deux variétés sont issues de notre culture de tomates du jardin botanique alors que les deux autres variétés ont été achetées en magasin (Colruyt) pour cause de manque de disponibilité (trop tard dans la saison). Il est à noter que les tomates provenant de ces deux origines étaient à un stade de maturité relativement différent, ce qui peut influencer les résultats.
- Troisièmement, l'absorption des extraits acétones est assez proche de celle du blanco. Cela peut être dû à une technique d'extraction non adaptée (ex.: Utilisation d'une trop grande quantité d'acétone qui aurait dilué les anti-oxydants, mauvais choix de solvant...) ou à une quasi absence d'anti-oxydants hydrophobes chez la tomate.
- ➤ Enfin, la technique de dosage des anti-oxydants totaux est assez controversée car elle ne représente pas forcément la concentration en anti-oxydants biologiquement actifs.

4.7 Résultats des tests ELISA

4.7.1 PVY

La définition du seuil à partir duquel le test est positif est très importante. Lorsque des extraits de plantes saines sont déposés dans les puits d'une microplaque, de faibles valeurs de densité optique appelées bruit de fond sont générées : elles se répartissent selon une loi normale. Quand l'extrait contient du virus, les courbes de valeurs obtenues avec les différentes concentrations virales vont vers de plus hautes valeurs de densité optique. Lorsque des échantillons ont des concentrations virales élevées, le seuil de positivité se définit en général sur base de 2 à 3 fois la valeur de densité optique des échantillons sains de référence. Pour des concentrations virales plus faibles, ce seuil est défini par un calcul probabiliste garantissant que la valeur de densité optique d'un échantillon sain a très peu de chance (p=0,005) de le dépasser. Ce seuil de positivité est égal à (x+3,25.s), avec x= valeur moyenne de 10 échantillons sains, s= l'écart type et 3,25 = coefficient donné par la table de Student Fisher pour 9 degrés de liberté (10-1 dl). (Lepoivre, 2003)

Si on considère le seuil de positivité comme égal à 3 fois la valeur de DO des échantillons sains de référence :

Plaque 1 : (0.006 + 0.015)/2 = 0.0105

```
Seuil de positivité : 0.0105 \times 3 = 0.0315
Plaque 2 : (-0.015 + 0.286 - 0.185)/3 = 0.029
Seuil de positivité : 0.029 \times 3 = 0.086
Plaque 3 : (0.192 + 0.304 + 0.27)/3 = 0.255
Seuil de positivité : 0.255 \times 3 = 0.766
```

On obtient les mêmes interprétations de résultats si on utilise les calculs probabilistes du seuil de positivité.

```
Plaque 1 : x = 0.0105 et s = 0.00636396. Seuil de positivité : 0.03118287 Plaque 2 : x = 0.02866667 et s = 0.23851695. Seuil de positivité : 0.80384674 Plaque 3 : x = 0.25533333 et s = 0.05742241. Seuil de positivité : 0.44195617
```

Concernant les résultats proprement dits, ils sont repris en annexe 17.

Plaque 1:

Les puits A2, D4, H2, H3, G5, G6, H6, A8, A9, A10, C9, D8, D9, D10, E8, E9, E10, F8, F9, G8, G10, H9, H10, H11 sont positifs. On considère que l'échantillon est positif lorsque les 3 répétitions présentent le même résultat. On peut donc conclure que l'échantillon 20 V C est positif au virus Y de la pomme de terre, car les répétitions A8, A9 et A10 présentent le même résultat. C'est le cas aussi pour l'échantillon 4 V A (répétitions D8, D9 et D10), pour l'échantillon 10 V C (répétitions E8, E9, E10) et pour l'échantillon 3 V A (répétitions H9, H10, H11).

Lorsque les répétitions ne présentent pas les mêmes résultats, cela peut être dû à différents facteurs :

- oublier de vortexer avant de prélever
- moins de 100µl déposé au fond du puits (différentes quantités de solution déposée selon le matériel utilisé ; une micropipette défaillante peut être l'origine d'une erreur de manipulation par exemple)
- effet du mode de conservation par du CaCl2 sur les résultats (?)

Malgré cela, on peut raisonnablement penser que les échantillons A2, D4, H6, C9, malgré leurs résultats positifs, sont issus d'un matériel végétal négatif (non infecté), car toutes les autres répétitions issues du même matériel végétal sont négatives (A3 et A4, D2 et D3, H5 et H7 et H8, C8 et C10).

Il est probable également que les échantillons H2, H3, G5, G6, F8, F9, G8 et G10 soient bel et bien issus de matériel végétal contaminé (donc positifs), malgré que les échantillons H4, G7, F10 et G9 soient négatifs. Dans ce cas, les échantillons révélés négatifs sont seuls alors que les autres répétitions issues du même matériel végétal sont positives. Les échantillons 7 S CaCl2, 21 S CaCl2, 33 S CaCl2, 50 S CaCl2 sont probablement positifs. Il faudrait refaire une analyse pour le confirmer.

Plaque 2:

Les puits **B5**, **B6**, **B7**, **C2**, **C3**, **C4**, **D5**, **D6**, **D7**, **F2**, **F3**, **F4**, **H2**, **H3**, **H4** sont positifs. On considère que l'échantillon est positif lorsque les 3 répétitions présentent le même résultat. On peut donc conclure que les échantillons 2 V B, 15 V A, 12 V A, 19 V B et 17 V C sont positifs au virus Y car les répétitions correspondantes présentent toutes les mêmes résultats.

Plaque 3:

Les puits **B8, B9, B10, G5, G6, G7** sont positifs. On considère que l'échantillon est positif lorsque les 3 répétitions présentent le même résultat. On peut donc conclure que les échantillons 8 V C et 16 V B sont positifs au virus Y car les répétitions correspondantes présentent toutes les mêmes résultats.

Conclusion

Les échantillons suivants sont contaminés par le virus Y de la pomme de terre :

2 V B: individu B de la variété Ananas noire

3 V A : individu A de la variété Kumato

4 V A : individu A de la variété Green bell pepper

10 V C : individu C de la variété Banana legs

8 V C: individu C de la variété Corne de bélier

12 V A : individu A de la variété Blanche d'Anvers

15 V A : individu A de la variété Black Krim (Noire de Crimée)

16 V B : individu B de la variété Blue

17 V C : individu C de la variété Brown cherry

19 V B : individu B de la variété Blanche (de Biau Germe)

20 V C: individu C de la variété Black pear

Le premier chiffre correspond au numéro que l'on a attribué à chaque variété depuis le début du projet, le V correspond à Valorisation (tomates cultivées dehors), et la lettre A, B ou C correspond à chaque individu de la variété (3 individus de la même variété en général). Le plan ci-dessous montre la disposition des plants dans la parcelle extérieure. Les individus infectés par le virus Y sont notés en rouge.

Horticultur	e			
		17 V A	15 V B	
18V C	7 V C	9 V A	13 V A	
2 V A	9 V C	6 V A	<u>12 V A</u>	
14 V C	14 V B	18 V A	7 V A	
<u> 2 V B</u>	16 V C	10 V A	<u>16 V B</u>	
20 V B	4 V C	4 V B	<u>4 V A</u>	
10 V C	13 V C	7 V B	<u>8 V C</u>	
15 V C	6 V C	5 V C	16 V A	
3 V C	14 V A	3 V A	19 V A	
<u> 17 V C</u>	3 V B	18 V B	5 V B	
1 V B	6 V B	20 V A	8 V B	
<u>20 V C</u>	9 V B	13 V B	5 V A	
<u>19 V B</u>	<u>10 V B</u>	1 V A	<u>15 V A</u>	
		17 V B	8 V A	
Phytopathologie				

Figure 32: représentation des plantes infectées selon leur disposition sur la parcelle. Les plants soulignés sont contrôlés positifs

Il est probable que les plants suivants soient également touchés : 7 S CaCl2 (variété Giraffe), 21 S CaCl2 (variété Cassade), 33 S CaCl2 (variété Bertucchi 781), 50 S CaCl2 (variété Humboltianum). Ce sont les plants cultivés en serre échantillonnés quelques semaines auparavant et conservés dans des boîtes avec du CaCl2. Il faudrait refaire des analyses pour confirmer.

4.7.2 CMV

La définition du seuil à partir duquel le test est positif est très importante. Lorsque des extraits de plantes saines sont déposés dans les puits d'une microplaque, de faibles valeurs de densité optique appelées bruit de fond sont générées : elles se répartissent selon une loi normale. Quand l'extrait contient du virus, les courbes de valeurs obtenues avec les différentes concentrations virales vont vers de plus hautes valeurs de densité optique. Lorsque des échantillons ont des concentrations virales élevées, le seuil de positivité se définit en général sur base de 2 à 3 fois la valeur de densité optique des échantillons sains de référence. Pour des concentrations virales plus faibles, ce seuil est défini par un calcul probabiliste garantissant que la valeur de densité optique d'un échantillon sain a très peu de chance (p=0,005) de le dépasser. Ce seuil de positivité est égal à (x + 3,25.s), avec x = valeur moyenne de 10 échantillons sains, s = l'écart type et 3,25 = coefficient donné par la table de Student Fisher pour 9 degrés de liberté (10-1 dl). (Lepoivre, 2003)

Si on considère le seuil de positivité comme égal à 3 fois la valeur de DO des échantillons sains de référence :

Plaque 1 : Moyenne des valeurs des témoins négatifs : 0,0055

Seuil de positivité : $0,0055 \times 3 = 0,0165$

Plaque 2 : Moyenne des valeurs des témoins négatifs : 0,01

Seuil de positivité : $0.01 \times 3 = 0.03$

Plaque 3 : Moyenne des valeurs des témoins négatifs : 0,027875

Seuil de positivité : $0.027875 \times 3 = 0.083625$

Si on utilise les calculs probabilistes du seuil de positivité :

Plaque 1 : x = 0.0055 et s = 0.00846843. Seuil de positivité : 0.03302239

Plaque 2 : x = 0.01 et s = 0.00552914. Seuil de positivité : 0.02796972

Plaque 3 : x = 0.027875 et s = 0.030512. Seuil de positivité : 0.127039

Au niveau des résultats proprement dits, ils sont repris en annexe 18.

Lorsque les répétitions ne présentent pas les mêmes résultats, cela peut être dû à différents facteurs :

- oublier de vortexer avant de prélever
- moins de 100µl déposé au fond du puits (différentes quantités de solution déposée selon le matériel utilisé ; une micropipette défaillante peut être l'origine d'une erreur de manipulation par exemple)

Plaque 1: Si on considère le seuil de positivité comme égal à 3 fois la valeur de DO des échantillons sains de référence, on a quelques échantillons isolés (la seule des trois répétitions positive) faiblement positifs, mais qui sont négatifs par la méthode de calcul probabiliste.

Plaque 2: Si on considère le seuil de positivité comme égal à 3 fois la valeur de DO des échantillons sains de référence, aucun échantillon n'est positif. Par la méthode de calcul probabiliste, un seul échantillon est faiblement positif (la seule des trois répétitions).

Plaque 3 : Quelque soit la méthode, tous les échantillons sont négatifs.

Au vu des résultats et en comparant les 2 méthodes de calcul utilisées, on peut raisonnablement penser qu'aucun échantillon n'est infecté par le CMV.

Conclusion

Aucun échantillon n'est touché par le CMV.

4.7.3 TMV

Les analyses du virus TMV, n'ont pas pu être réalisée par manque de temps.

4.8 Résultats de l'action médiatique

Les résultats du questionnaire sont consignés dans le tableau repris dans l'annexe 19.

Les répondants étaient majoritairement des personnes de plus de 50 ans, avec une proportion égale d'hommes et femmes.

La majorité des répondants consomment le plus souvent leurs tomates en frais et cela plusieurs fois par semaine. Néanmoins, pour 22% d'entre eux, les quantités consommées dépendent de la saison. Les grandes surfaces constituent le premier lieu d'achat des tomates, mais nombreux des répondants ont également un potager où ils cultivent leurs propres tomates. La qualité gustative des tomates rencontrées habituellement sur le marché est considérée par la majorité comme moyenne (54%) voire médiocre (29%).

Les critères de choix lors de l'achat des tomates les plus cités sont par ordre d'importance l'aspect (couleur, taille, forme), l'origine et le goût.

Les trois quarts des interrogés souhaiteraient voir une plus grande diversité d'aspect des tomates dans les supermarchés, surtout concernant la couleur (48%) et la forme (40%). Néanmoins, 61% d'entre eux trouvent les tomates rouges plus attirantes que celles d'autres couleurs.

Par ailleurs, le public interrogé n'est généralement pas favorable aux OGM : 83% des répondants ne seraient pas prêts à manger des tomates génétiquement modifiées même si elles sont plus riches en anti-oxydants. Par contre, ils sont plus disposés à consommer des tomates noires naturellement riches en anti-oxydants, à condition tout de même que le goût soit bon. La perception des tomates noires est cependant mitigée : 39% des répondants y sont indifférents, 39% les trouvent peu attrayantes, et 22% les trouvent attrayantes.

5 Conclusions et perspectives

L'ensemble du suivi de la culture est repris pour information en annexe 20.

Bien que ce type de collection présente de nombreux intérêts, il faut rester vigilant quant à divers problèmes qui peuvent se présenter :

- En accord avec ce qui est précisé dans le travail, les données à obtenir lors de la récolte des échantillons sont souvent incomplètes dans ce qui nous a été remis. De plus, il semblerait que certaines graines que nous avons semées, et qui sont censées être de la même variété, donnent en réalité des plantes très différentes du point de vue phénotypique... D'où se pose le problème de distinction des accessions.
- La maintenance d'une telle collection peut avoir un coût relativement élevé, ce qu'il ne faut pas négliger dans ce cas-ci.
- La collection peut contenir certains pathogènes, ce qui pourrait avoir des conséquences (économiques, sanitaires,...) dramatiques.
- Bien que nous ayons fait le maximum afin que les graines régénérées pour la conservation soient de la meilleure qualité possible, il se peut que certaines propriétés des semences soient altérées d'une façon ou d'une autre. Cette remarque peut être étendue au reste de la collection et ce d'autant plus que les

graines ont été transportées et ont changé de conditions de conservation. Dès lors, la question de la conservation à long terme se pose.

- En l'absence de copie de sauvegarde, la collection dans son ensemble pourrait être perdue (exemple : deuxième série de congélateur dans un autre bâtiment)

Malgré ces désagréments, la collection reste très intéressante comme source de diversité génétique. En effet, on peut par exemple imaginer y trouver :

- des résistances à certains pathogènes ;
- de la tolérance à des conditions de culture non optimales ;
- des sources d'amélioration de la qualité du fruit ou des attributs de transformation ;
- de la précocité, pour étendre la saison de production.
- des formes, couleurs,... qui seraient très prisées dans le futur ou dans certains marchés de niche.

Il faut toutefois souligner que, au-delà des intérêts économiques, cette collection a tout simplement une grande valeur au regard de la biodiversité.

En ce qui concerne le volet pathologies de la tomate, les tenants et les aboutissants ne peuvent être clairement définis. Cependant, une entrevue avec Mme Léal Clotilde a permis de collecter un nombre certain d'informations pertinentes : nos plants de tomate sont infectés par deux virus de quarantaine le PSTV (Potato Spindle Tuber Viroïde) et le PMV (pépino mosaïc virus). Le premier est transmis par graine, et par blessure (insectes entre autres), le 2ème, est probablement transmis par graine, et certainement par blessure. Cette détection a été confirmée par un indexage biologique (opération qui consiste à infecter des plantes ciblées particulièrement sensibles à telle ou telle maladie; dans notre cas, le chenopodium a été utilisé entre autres), les plantes indicatrices ont présenté les mêmes symptômes, confirmant la présence de ces deux virus. Une confirmation via un test sérologique n'a pas été nécessaire dans le cas présent et dans le cadre des objectifs de travail de Mme Léal. Il est impossible de déterminer à l'heure actuelle si les graines étaient préalablement infectées ou si ce sont les conditions de cultures qui sont la cause de la contamination (gros problème d'aleurodes et de thrips dans la serre Ritchell). La présence de maladies de quarantaine est problématique. Nous rappelons les instructions de Mme Léal :

- Vider la serre de l'ensemble des plantes.
- Détruire le matériel végétal de façon correcte.
- Désinfecter ou détruire le matériel (tuteurs, pots, étiquettes).
- Effectuer un vide sanitaire (fumigation ou désinfection).
- Réutiliser la serre dans des conditions correctes

Une charte sanitaire est reprise dans l'annexe 21.

En vue d'une prochaine exploitation de la collection Luc Fichot, il est absolument indispensable de régler ce « problème de maladies ». Nous rappelons l'existence d'un protocole de désinfection des graines permettant d'obtenir des graines exemptes de virus (voir paragraphe 3.3.2). Nous rappelons que la détection d'une pathologie de quarantaine par l'AFSCA (agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire) conduirait à la destruction de toute la collection. Nous insistons également sur la nécessité d'améliorer la gestion des serres de la faculté et d'établir une étude de risque à l'intérieur et à l'extérieur des serres. Les facultés des sciences agronomiques reste une vitrine pour le monde extérieur de la

science, de la rigueur scientifique, des connaissances pratiques et de la défense des richesses naturelles, et cette réputation doit être entretenue.

Nous conseillons également, dans l'optique de l'établissement de collections d'amateurs exemptes de problèmes phytosanitaires, une vigilance accrue aux problèmes de maladies, le semis de petites quantités de départ, la consultation des divers organismes de contrôle présents en région wallonne et dont la vocation n'est pas la répression mais le conseil et l'accompagnement, et surtout une traçabilité complète et tenue à jour de l'ensemble des opérations, lieux de culture, origine d'achat ou échange des graines, étapes de la phytotechnie etc.

Le volet tomates noires et pouvoir antioxydants est un volet qui nous tient particulièrement à cœur. Les résultats que nous avons obtenus vont partiellement dans le sens de notre hypothèse de départ (pour rappel : les tomates noires ont un intérêt nutritionnel additionnel du point de vue de la teneur en antioxydants). Nous prenons néanmoins des précautions dans l'interprétation de nos résultats pour les raisons citées précédemment dans le rapport.

Nous continuons à penser que cette couleur particulière reflète une présence importante de lycopène et pourrait indiquer la présence d'anthocyanes dont les propriétés anti-mutagènes ne sont plus à démontrer. Durant l'avancement de notre projet nous avons constaté les diverses recherches liées à cette caractéristique sur des plantes telle que la violette de Madagascar, la baie d'açai, la nouvelle tomate mauve obtenue par modification génétique etc. Ces plantes riches en anthocyanes sont exploitées activement par l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, et nous pouvons imaginer que les tomates noires le seront également un jour. La collection Luc Fichot est donc une source non négligeable de variétés d'intérêt.

Enfin, il nous semble important de poursuivre et intensifier les efforts de valorisation de cette collection. Notre action médiatique a été réalisée à petite échelle, mais les réactions positives nous ont confortés dans notre conviction qu'il faut sensibiliser le grand public à la diversité variétale des légumes en général, et de la tomate en particulier. Cette diversité s'est extrêmement réduite ces dernières décennies, et il est important de lui refaire de la place avant qu'elle ne disparaisse. Nous sentons qu'en général le consommateur est aujourd'hui plus réceptif que jamais, car il commence à être lassé du manque de diversité et de qualité gustative des légumes en vente dans les grandes surfaces. Le meilleur moyen est sans doute de lui montrer et lui faire goûter les légumes et variétés oubliées. En effet, le plus souvent les variétés anciennes ont des propriétés organoleptiques que la plupart des tomates commercialisées aujourd'hui n'ont pas. Il est également important de sensibiliser les jeunes, par le biais par exemple d'interventions dans les écoles.

Annexes

Annexe 1: calendrier de l'observation des symptômes.

	MAI			
15 MAI 28 MAI	Traitement fongicide préventif (répété tous les 15 jours) Présence d'aleurodes (serre)			
	JUILLET			
3 JUILLET	Premiers symptômes tomates conservation (serre) = taches noires sur feuilles et extrémité de la plante asséchée → variétés 1, 5, 10, 11, 13, 14, 29, 37 = feuilles cassantes et gondolées → variétés 31, 39, 45			
22 JUILLET	Présence de thrips et beaucoup d'aleurodes (serre) Nouveaux symptômes tomates conservation = pourriture apicale du fruit → variété 6 = fruits marbrés → variétés 40, 41, 43 Arrachage des plantes malades = 1, 5, 11, 12, 23, 24, 27, 34, 37, 44, 45			
	AOUT			
9 AOUT	Premiers symptômes tomates valorisation (extérieur) = taches brunes - noires			
14 AOUT 27 AOUT	Diagnostique maladies serre : TMV, CMV ou virus Y Confirmation symptômes non fongiques (Mr. Steyer)			
	SEPTEMBRE			
2 SEPTEMBRE	Nouveaux symptômes tomates conservation = fumagine → variétés 39, 41, 42, 43, 46, 47, 48			
OCTOBRE				
8 & 9 OCTOBRE	Analyses ELISA			

Annexe 2: Liste des variétés destinées à la conservation

de Berao	Récolte: 2001	1
Delight Red	Récolte: 2001	2
Pruniforme	Récolte: 2001	3
Lutea	Botanique	
Macrocarpum Lutea	Récolte: 2001 Botanique	4
Gregory Altaï	Récolte: 2001	5
Giant Pear	Récolte: 2001	6
Giraffe	Récolte: 2002	7
Giant Pear	Récolte: 2002	8
Green Gage	Récolte: 2002	9
Green Grape	Récolte: 2001	10
Jersey Devil	Récolte: 2002	11
Jujube Cherr	Récolte: 2002	12
Jaune	Récolte: 2000	13
Indian Dark Violet	Récolte: 2002	14
Indian	Récolte: 2002	15
Islandaise	Récolte: 2000	16
Ivory Egg	Récolte: 2000	17
Ingenioli Giante Liscio	Récolte: 2000	18
Costoluto Fiorentino	Récolte: 2000	19
Corrogo	Récolte: 2002	20
Cassade	Récolte: 2002	21
Coeur de Pigeon	Récolte: 2002	22
Caro Rich	Récolte: 2000	23
la Carotina	Récolte: 2001	24
Chocolate	Récolte: 2002	25
Costoluto Genovese	Récolte: 2000	26
Cuatomate	Récolte: 2001	27
Californian	Récolte: 2002	28

Ciudad Victoria	Récolte: 2002	29
Candy Stripe	Récolte: 2002	30
Believe It or not	Récolte: 2002	31
Blue Ridge Mountain	Récolte: 2002	32
Bertucchi 781	Récolte: 2002	33
Black Brandywine	Récolte: 2002	34
Bianca	Récolte: 2002	35
Black Plum Prune Noire	Récolte: 2001	36
Black Plum	Récolte: 2000	37
Budenovka	Récolte: 2000	38
Black Zebra	Récolte: 2002	39
Brin de Muguet	Récolte: 2002	40
Arkansas Traveller	Récolte: 2002	41
Amish Gold	Récolte: 2002	42
Argentina	Récolte: 2002	43
Ananas Noire	Récolte: 2002	44
Hungarian Pink Heart	Récolte: 2002	45
Hartsack Yellow	Récolte: 2002	46
Lollipop	Récolte: 2001	47
Macrocarpum Orange	Récolte: 2002 Botanique	48
Melanocarpum	Récolte: 2002 Botanique	49
Humboltianum	Récolte: 2002 Botanique	50

Annexe 3: Liste des variétés destinées à la valorisation

Cette liste est présentée selon le format **variété**, Origine, date de production des graines les plus récentes (n° de code).

Rouges

Brin de muguet, France, 2002 (14)

Corne de bélier, origine inconnue, 2007 (8)

Big arrow, Belgique (9)

Tonnelet, Belgique(5)

Vertes

Green bell pepper, USA, 2006 (4)

Cherokee green, USA, 2006 (7)

Blanches

Blanche (de Biau Germe), France, 2003 (19)

Blanche d'Anvers, belge (?), 2007 (12)

Jaunes-oranges

Banana legs, USA (?), 2006 (10)

Marché jaune, Belgique, 2006 (1)

Noires

Ananas noire, Belgique, 2002 (2)

Black cherry, USA, 2004 (13)

Black Krim (Noire de Crimée), Crimée, 2006 (15)

Black pear, Moldavie, 2005 (20)

Black zebra, USA, 2002 (11)

Blue, Estonie (?), 2007 (16)

Brown cherry, Ceylan, 2006 (17)

Italienne noire, Italie, 2005 (18)

Japanese trifele black, Russie, 2004 (6)

Kumato, Iles Galápagos, 2006 (3)

Annexe 4: disposition des tomates conservation.

	Fond			
			1	1
	28	28	2	2
<u>.</u>	29	29	3	3
<u>;</u>	30	30	4	4
<u>;</u>	31	31	5	5
<u>:</u>	32	32	6	6
	33	33	7	7
:	34	34	8	8
:	35	35	9	9
	36	36	10	10
:	37	37	11	11
:	38	38	12	12
ē	Robinets d'arrosage		13	13
Sentier			14	14
Š			15	15
<u>:</u>	39	39	16	16
	40	40	17	17
	41	41	18	18
	42	42	19	19
	43	43	20	20
	44	44	21	21
	45	45	22	22
	46	46	23	23
	47	47	24	24
	48	48	25	25
	49	49	26	26
	50	50	27	27

В

Α

В

Α

Annexe 5: Disposition de tomates valorisation.

	Horticulture							
			17C	15C				
18A	7A		9C	13C				
2B	9B		6C	12A				
14A	14C		18C	7C				
2A	16A		10C	16C				
20B	4A		4B	4C				
10A	13A		7B	8C				
15A	6B		5A	16B				
3A	14B		3B	19B				
17A	3B		18B	5C				
1A	6A		20C	8B				
20A	9A		13B	5B				
19A	10B		1B	15B				
			17B	8A				
		Phytopathologic	е					

Annexe 6: Rapport de De Ridder Céline et Dumortier Pierre : « Biodiversité de la tomate et de la pomme de terre.

Biodiversité de la tomate et de la pomme de terre.

SEMINAIRE DU 15 ET 16 SEPTEMBRE 2009 ORGANISE AU CENTRE TECHNIQUE HORTICOLE DE GEMBLOUX.

Ce compte rendu est principalement axé sur les conférences ayant un lien avec notre projet interdisciplinaire.

Evaluation d'une collection d'anciennes variétés de tomates pour leur qualité et leur résistance aux maladies (CRA-W). (RONDIA A.)

La prospection

Les variété ont été choisies en réponse aux deux objectifs suivant : leur potentiel de résistance au mildiou et leur origine Belge. Elles proviennent de trois collections différentes afin de croiser les résultats, à savoir :

- Mr. Mertens (37),
- Mr. Fichot (5),
- Les fraternités ouvrières (20)

N° Nom de la variété

Origine des semences

Références

1 Kotlas Sprint

ASBL Fraternités ouvrières 159060

3 Coeur de Boeuf Ukrainien

ASBL Fraternités ouvrières 159093

4 Coeur de Boeuf Ukrainien

ASBL Fraternités ouvrières 159093

4 Coeur de Boeuf de Nice

5 Promyk

ASBL Fraternités ouvrières 161078

7 Maskarena

ASBL Fraternités ouvrières 161078

7 Maskarena

ASBL Fraternités ouvrières 161078

8 Peruvian Bush

ASBL Fraternités ouvrières 161079

8 Peruvian Bush

ASBL Fraternités ouvrières 162097

10 Yellow Belgium

ASBL Fraternités ouvrières 163028

11 Blanche d'Anvers ASBL Fraternités ouvrières 163028

12 Douce de Picardie

ASBL Fraternités ouvrières 163035

12 Douce de Picardie

ASBL Fraternités ouvrières 163033

14 Géante Beige

ASBL Fraternités ouvrières 165072

15 Teton de Vénus

ASBL Fraternités ouvrières 166076

16 La Destrousse

ASBL Fraternités ouvrières 166066

16 La Destrousse

ASBL Fraternités ouvrières 166060

17 Polish Red

ASBL Fraternités ouvrières 166060

17 Polish Red

ASBL Fraternités ouvrières 1660604

19 Moneymaker

ASBL Fraternités ouvrières 166084

19 Moneymaker

ASBL Fraternités ouvrières 162096

Lors d'un précédent échange de mail une liste des 20 variétés des fraternités ouvrières nous avait été transmise :

Les essais

Les variétés ont été plantées à l'extérieur et en serre. Dans les deux cas les plantes de la même variété sont disposées les unes à côté des autres pour bien les identifier.

Le choix des descripteurs

Les descripteurs choisit portent sur la plante, les fruits, les graines et la composition chimique (brix). Au niveau de la plante l'accent a été mis sur l'observation du feuillage et du port de la plante qui sont tous deux des paramètres importants dans l'étude d'une maladie telle que le mildiou.

L'évaluation de la production et le poids moyen

La récolte a débuté le 10 juillet et a été réalisée deux fois par semaine afin d'évaluer la précocité et la régularité de la production.

L'évaluation de la maladie

Une échelle a été établie pour permettre de caractériser les observations des symptômes. Celle-ci va du stade 1 « pas de lésions » au stade 9 « feuille et fruits noires ». Les premiers symptômes sont apparus à la mi-août ce qui est considéré comme tardif.

L'évaluation gustative

Deux paramètres ont été évaluer : l'appréciation visuelle et l'appréciation gustative. La première a été réalisée par l'observation des fruits étalés côte à côte et l'attribution d'une cote allant de 1 « je n'aime pas » à 9 « j'aime ». La deuxième a été précédée d'une formation sur la perception du goût avec des tomates très différentes. Elle s'est ensuite déroulée en testant la fermeté, la jutosité, le sucré, l'amertume, l'acidité, l'arôme et l'épaisseur de la peau. Une échelle de 1 à 9 a également été réalisée pour coter ces différents paramètre et une cote globale a été attribuer à chaque fruit : « j'aime » ou « je n'aime pas »

Les résultats

Les 3 variétés les mieux cotées pour l'appréciation gustative :

- 1) Cerise orange M36
 - Aromatique

Brix = 9,8 (brix moyen = 5)Hâtive (début juillet)

- 2) Santalina
- Aromatique
- Brix= 10,3
- Hâtive
- 3) Cerise orange M33
 - Brix plus faible
 - Plus résistante au mildiou

Les trois variétés les mieux cotées pour l'appréciation visuelle :

1) Téton de Vénus (mais 13^{ème} en appréciation gustative)
 2) Des Andes (mais 12^{ème} en appréciation gustative)
 3) Monda (mais 23^{ème} en appréciation gustative)

Les trois variétés qui ont une meilleure résistance au mildiou :

- Carotiva (cote = 1)
- Cerise noire (2)
- Matina (2)

Les variétés que nous avons en commun avec cet essai:

- cerise noire (black cherry)
 - 7^{ème} en appréciation gustative
 - Aromatique
 - Brix = 7,8
 - Bonne résistance au mildiou
- Tonnelet (variété de Luc Fichot)
 - 6^{ème} en appréciation gustative
 - 4^{ème} en appréciation visuelle

Conclusions

On remarque une différence importante entre l'appréciation visuelle et gustative. Au niveau de cette dernière deux paramètres sont particulièrement importants : le degré brix et les arômes. En général les tomates cerise sont les plus appréciées et possèdent justement beaucoup de sucre et d'arômes

Synthèse bibliographique sur les caractéristiques organoleptiques des tomates.

(COGNET S.)

La tomate représente 14% de la production mondiale de légumes qui s'élève à 881.10⁶ tonnes chaque année. En Belgique, les tomates sont principalement produites en Flandre, en culture hors sol sous serres. 46% des serres sous verres en Flandre sont destinées à la production de tomates pour le marché frais. La production de tomate Flamande représente 230 000t/an soit une proportion infime de la production mondiale. Les Belges consomment en moyenne 9,8 kg de tomates fraîches par an.

 $\label{eq:Qui choisit les tomates que nous retrouvons sur les étals de nos supermarchés ?$

Ce sont les experts de criée qui sont responsables dans ce domaine. Ces derniers se basent sur des données qui leurs sont fournies par différentes institutions :

- PCH (Proefcentrum Hoogstraten) à Meerle,
- PSKW (Proefstation voor de Groenteteelt, Sint-Katelijne-Waver) à Sint-Katelijne,
- Waver pour les essais agronomiques,
- PCG (Provinciaal Proefcentrum voor de Groenteteelt Oost-Vlaanderen vzw) pour l'évaluation sensorielle,
- VCBT (Vlaams Centrum voor Bewaring van Tuinbouwproducten) d'Herverlee pour les analyses physico-chimiques.

Les tomates ainsi sélectionnées vont alors rejoindre un des segments existants c'est-à-dire un ensemble de variétés aux caractéristiques

organoleptiques identiques. Toutes les tomates produites en Belgique sont commercialisées sous le label Flandria et portent une appellation désignant le segment. Ainsi les tomates que l'on retrouve en supermarché sous le nom Kumato ou Cœur de Bœuf ne sont en aucun cas ces variétés.

Rem. : cette définition est en fait éloignée de la réalité puisque les seuls points communs pris en considération sont l'aspect visuel et l'emballage (couleur, forme, calibre...)

Quelle est la composition des tomates?

Celles-ci ont des teneurs en protides, glucides, lipides et fibres faibles. Elles ne contiennent pour ainsi dire que de l'eau et ne sont pas vraiment riche en vitamines par rapport aux autres légumes.

Ex. : vitamines A (souvent considéré comme un des intérêts pour les tomates) ; il faudrait 4,5kg de tomates par jour pour atteindre les besoins quotidiens alors que 240 g de carottes suffiraient.

Quel est l'intérêt nutritionnel réel des tomates?

Sa teneur en anti-oxydants (lycopène). Ceux-ci évitent les dépôts de lipides dans les artères et donc les risques cardiovasculaires. Impact commercial en Belgique : Flandri+ = tomates dont la teneur en lycopène est très élevée.

Et au niveau de la qualité ?

De 1999 à 2006, Les gens paraissent moins satisfaits par la qualité globale des tomates. Cela s'explique par différents faits :

- Les critères physico chimiques pris en considération lors de la segmentation et de la sélection ne sont que peu liés à la satisfaction des consommateurs.
- Les consommateurs sont régulièrement frustrés car la segmentation et le goût ne sont pas liés.
- Le retour d'une consommation de masse à une consommation pour le plaisir, la santé et avec un soucis de l'éthique.

Critères importants pour les consommateurs :

- Fermeté en bouche
- 2. Parfum
- 3. Jutosité **Source de déception**
- 4. Sucré
- Acide

La couleur n'intervient que pour le premier achat.

Quels sont les tests de routine point de vue analyses physico chimiques sur tomate ? Infra-Rouge (couleur), durofel (texture), acidité, degré brix (sucre).

Type de tomate	°Brix
Cerise	7.5-8.5
Cocktail	6-7
Intermédiaire	4-5
Gros calibre	4-5

Le pourcentage de matières sèches solubles évalué sur une échelle de brix d'un jus de tomate n'est influencé qu'à 60 à 70% par sa teneur en sucre. Quelque chose d'autre que la concentration en sucres intervient donc sur cet indice. Les mesures montrent l'opposition de deux caractères: texture >< Saveur.

Défi : Il n'existe pas de lien évidant entre les caractéristiques physico-chimiques et les caractéristiques de mise en bouche.

Comment préserver au mieux les caractéristiques organoleptiques tout en tenant compte des impératifs économiques (où comment fait-on dans la pratique) ?

Récolte au stade 9 -10 du code OCDE sur base de caractéristiques de fermeté et de couleur. <u>But :</u> être ferme tout en maintenant la capacité à mûrir. Ne pas conserver les tomates à moins de 12°C sous peine de voir l'arôme détruit. Si la température descend en dessous, l'arôme est définitivement perdu. Froid : Pas de différence point de vue des caractéristiques physico chimiques mais propriétés organoleptiques fortement influencées.

Quel est l'avenir des variétés anciennes ?

Selon l'orateur, Stéphane Cognet, les variétés anciennes ne se retrouveront jamais dans nos supermarchés pour la simple et bonne raison que celles-ci ne conservent pas assez longtemps que pour être intégrées dans ce type de filière. Ces variétés ne sont donc adaptées qu'aux chaînes de commercialisation courtes.

Ex. : vente sur le marché de produit frais récoltés récemment et à manger endéans les quelques jours.

Annexe 7: disposition des puits sur les plaques ELISA lors de l'analyse PVY.

Plaque							
1	1	2	3	4	5	6	7
A	blanco	17 V B	17 V B	17 V B	13 V A	13 V A	13 V A
		47 S	47 S	47 S	28 S	28 S	28 S
В	blanco	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2
С	blanco	10 S	10 S	10 S	19 V A	19 V A	19 V A
D	blanco	9 V C	9 V C	9 V C	7 V A	7 V A	7 V A
Е	blanco	15 V B	15 V B	15 V B	6 V B	6 V B	6 V B
F	blanco	9 V B	9 V B	9 V B	13 V C	13 V C	13 V C
		13 S	13 S	13 S	21 S	21 S	21 S
G	blanco	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2	CaCl2
Н	blanco	7 S CaCl2	7 S CaCl2	7 S CaCl2	8 V A	8 V A	8 V A

8	9	10	11	12
20 V C	20 V C	20 V C	positif	positif
3 V C	3 V C	3 V C	négatif	négatif
5 V A	5 V A	5 V A		
4 V A	4 V A	4 V A		
10 V B	10 V B	10 V B		
33 S	33 S	33 S		
CaCl2	CaCl2	CaCl2		
50 S	50 S	50 S		
CaCl2	CaCl2	CaCl2		
8 V A	3 V A	3 V A	3 V A	

Plaque 2	1	2	3	4	5	6	7
		46 S	46 S	46 S			
A	blanco	CaCl2	CaCl2	CaCl2	1 V B	1 V B	1 V B
		41 S	41 S	41 S			
В	blanco	CaCl2	CaCl2	CaCl2	2 V B	2 V B	2 V B
С	blanco	15 V A	15 V A	15 V A	14 V A	14 V A	14 V A
D	blanco	2 V A	2 V A	2 V A	12 V A	12 V A	12 V A
E	blanco	6 V C	6 V C	6 V C	9 V A	9 V A	9 V A
F	blanco	19 V B	19 V B	19 V B	15 V C	15 V C	15 V C
G	blanco	4 V C	4 V C	4 V C	13 V B	13 V B	13 V B
Н	blanco	17 V C	17 V C	17 V C	10 V A	10 V A	10 V A

8	9	10	11	12
18 V A	18 V A	18 V A		
16 V A	16 V A	16 V A		
positif	positif	positif		
négatif	négatif	négatif		

Plaque 3	1	2	3	4	5	6	7
A	blanco	18 V C	18 V C	18 V C	7 V B	7 V B	7 V B
В	blanco	5 V B	5 V B	5 V B	8 S	8 S	8 S
C	blanco	6 V A	6 V A	6 V A	3 V B	3 V B	3 V B
D	blanco	10 V C	10 V C	10 V C	5 V C	5 V C	5 V C
E	blanco	14 V C	14 V C	14 V C	4 V B	4 V B	4 V B
F	blanco	18 V B	18 V B	18 V B	20 V B	20 V B	20 V B
G	blanco	14 V B	14 V B	14 V B	16 V B	16 V B	16 V B
Н	blanco	positif	positif	positif	négatif	négatif	négatif

8	9	10	11	12
16 V C	16 V C	16 V C		
8 V C	8 V C	8 V C		
17 V A	17 V A	17 V A		
1 V A	1 V A	1 V A		
7 V C	7 V C	7 V C		
20 A	20 A	20 A		
8 V B	8 V B	8 V B		

Annexe 8: disposition des puits sur les plaques ELISA lors de l'analyse CMV.

Plaque 1	1	2	3	4	5	6
A	Blanco	4 V A	4 V A	4 V A	14 V A	14 V A
В	Blanco	17 V C	17 V C	17 V C	2 V B	2 V B
С	Blanco	15 V C	15 V C	15 V C	2 V A	2 V A
D	Blanco	19 V A	19 V A	19 V A	8 V A	8 V A
Е	Blanco	3 V C	3 V C	3 V C	5 V A	5 V A
F	Blanco	4 V C	4 V C	4 V C	6 V B	6 V B
G	Blanco	19 V B	19 V B	19 V B	1 V B	1 V B
Н	Blanco	15 V B	15 V B	15 V B	15 V A	15 V A

	7		8		9		10		11		12
14 V A		20 V C		20 V C		20 V C		négatif		positif	
2 V B		9 V A		9 V A		9 V A		négatif		positif	
2 V A		17 V B		17 V B		17 V B		négatif		positif	
8 V A		13 V A		13 V A		13 V A		négatif		positif	
5 V A		13 V C		13 V C		13 V C		négatif		positif	
6 V B		3 V A		3 V A		3 V A		négatif		positif	
1 V B								négatif	•	positif	Ť
15 V A								négatif		positif	

Plaque 2	1	2	3	4	5	6
A	blanco	16 V A	16 V A	16 V A	9 V C	9 V C
В	blanco	10 S	10 S	10 S	9 V B	9 V B
С	blanco	10 V A	10 V A	10 V A	50 S	50 S
D	blanco	13 S	13 S	13 S	46 S	46 S
Е	blanco	47 S	47 S	47 S	10 V C	10 V C
F	blanco	10 V B	10 V B	10 V B	3 V B	3 V B
G	blanco	12 V A	12 V A	12 V A	8 S	8 S
Н	blanco	33 S	33 S	33 S	8 V B	8 V B

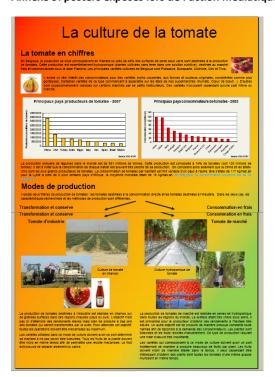
7	8	9	10	11	12
9 V C	1 V A	1 V A	1 V A	négatif	positif
9 V B	5 V B	5 V B	5 V B	négatif	positif
50 S	17 V A	17 V A	17 V A	négatif	positif
46 S	7 V C	7 V C	7 V C	négatif	positif
10 V C	20 A	20 A	20 A	négatif	positif
3 V B	14 V B	14 V B	14 V B	négatif	positif
8 S	18 V A	18 V A	18 V A	négatif	positif
8 V B	7 V B	7 V B	7 V B	négatif	positif

Plaque 3	1	2	3	4	5	6
A	blanco	18 V C	18 V C	18 V C	16 V C	16 V C
В	blanco	8 V C	8 V C	8 V C	7 S CaCl2	7 S CaCl2
С	blanco	14 V C	14 V C	14 V C	41 S	41 S

					CaCl2	CaCl2
D	blanco	4 V B	4 V B	4 V B	20 V B	20 V B
Е	blanco	5 V C	5 V C	5 V C	7 V A	7 V A
F	blanco	18 V B	18 V B	18 V B	16 V B	16 V B
G	blanco	6 V A	6 V A	6 V A	6 V C	6 V C
					21 S	21 S
Н	blanco	13 V B	13 V B	13 V B	CaCl2	CaCl2

7	8	9	10	11		12
16 V C				négatif	positif	
7 S CaCl2				négatif	positif	
41 S						
CaCl2				négatif	positif	
20 V B				négatif	positif	
7 V A				négatif	positif	
16 V B				négatif	positif	
6 V C				négatif	positif	
21 S						
CaCl2				négatif	positif	

Annexe 9: posters exposés lors de l'action médiatique.







Annexe 10: le questionnaire de l'action médiatique.

Questionnaire

- Sous quelle forme consommez-vous le plus souvent des tomates
 - a) En frais
 - b) En conserve
 - c) Produits transformés
 - d) Autre
 - e) En frais et en conserve
 - f) En frais, en conserve et produits transformés
- 2) Avec quelle fréquence achetez/ mangez vous des tomates en frais?
 - a) Jamais
 - b) rarement
 - c) 1 fois par mois
 - d) plusieurs fois par mois
 - e) 1 fois par semaine
 - f) plusieurs fois par semaine
 - g) tous les jours
 - h) dépend de la saison
- 3) D'où proviennent le plus souvent les tomates que vous consommez?
 - a) grande surface
 - b) épicerie
 - c) magasin bio
 - d) marché
 - e) votre potager
 - f) autre (à préciser)
- 4) Quand vous achetez des tomates, quels sont vos critères de choix ? (3 par ordre d importance)
 - a) Prix
 - b) Fraîcheur
 - c) Aspect (couleur, taille, forme)
 - d) Goût
 - e) Origine
 - f) Qualité
 - g) Uniformité
 - h) Agriculture biologique
 - i) Autre (à préciser)
- 5) Souhaiteriez-vous voir une plus grande diversité d'aspect des tomates en vente dans les supermarchés ?
 - a) Oui
 - b) Non
- 6) Si oui, quel type de diversité souhaiteriez vous rencontrer ?
 - a) Couleur
 - b) Forme
 - c) Taille
- 7) Quelle couleur de tomate vous attire le plus ?
 - a. Rouge
 - b. Jaune
 - c. Orange
 - d. Noir
 - e. Vert
 - f. Indifférent
 - g. Autre
- Pensez-vous que les tomates rencontrées habituellement sur le marché ont une qualité

gustative

- a) Très bonne
- b) Bonne
- c) Moyenne
- d) Médiocre
- e) Très mauvaise
- 9) Seriez-vous prêt à acheter/manger des tomates OGM si elles sont plus riches en antioxydants?
 - a) Oui
 - b) Non
- 10) Les tomates noires vous paraissent
 - a) Peu attrayantes
 - b) Attrayantes
 -) Indifférent
- 11) Seriez-vous prêt à acheter/manger des tomates noires, non OGM, s'il était prouvé qu'elles sont plus riches en antioxydants ?
 - a) Qui
 - b) Non

Questions pour données socio-économiques

- 12) Tranche d'âge <18; b) 18-29; c) 30-39; d) 40-49; e) 50-64; f) 65 et plus
- 13) Sexe
 - a) Femme; b) Homme; c) Couple
- 14) Profession
- 15) Lieu de résidence (ville, région)

Annexe 11: degré Brix et pH des variétés analysées.

Variété	°Brix	рН
Marché jaune	4,3	4,23
Ananas noire	4,7	4,34
Kumato	4,6	4,64
Green bell pepper	4,4	4,14
Tonnelet	5	4,275
Japanese trifele black	4,05	4,34
Cherokee green	4,7	4,2
Big arrow	3,5	4,4
Banana legs	4,3	4,15
Blanche d'Anvers	3,6	4,21
Black cherry	7,2	4,25
Brin de muguet	4,9	4,39
Black Krim (noire de Crimée	4,1	4,29
Blue	3,3	4,14
Brown Cherry	4,6	4,34
Italienne noire	4,6	4,34
Blanche (de Biau germe)	3,9	4,27
Black pear	4,5	4,35
Magasin	4	4,26

Annexe 12: résultats des analyses au texturomètre.

\/- \\\- \\\- \	Coordone	ées du pic	Hauteur de	
Variété	mm	N	plateau (N)	
Marché jaune	3,44875	3,348375	0,394	
Ananas noire	3,12611111	3,576	0,4544444	
Kumato	4,14388889	5,94155556	0,36011111	
Green bell pepper	3,975	5,85977778	0,88066667	
Tonnelet	4,65	5,6	0,5	
Japanese trifele black	3,98	4,2	0,4	
Cherokee green	4,385	5,23822222	0,436	
Corne de bélier	2,895	4,85441667	0,5655	
Big arrow	5,255	6,87455556	0,5755556	
Banana legs	3,6925	6,986125	0,57575	
Blanche d'Anvers	3,08833333	3,42211111	0,30111111	
Black cherry	6,0685	4,26433333	0,23566667	
Brin de muguet	5	4,14	0,33	
Black Krim (noire de Crimée	5,6	3,35	0,195	
Blue	3,59944444	4,18933333	0,23666667	
Brown Cherry	4,655	3,40155556	0,319	
Italienne noire	4,20833333	3,255	0,29188889	
Blanche (de Biau germe)	2,94166667	3,44533333	0,34311111	
Black pear	4,39486667	4,80722222	0,36433333	
Magasin	4,22833333	8,61777778	1,02533333	

Annexe 13: Origine et résultats des caractérisations pour les variétés de conservation.

	type de croissance	type de feuille	couleur de la corolle	présence de rayures vertes sur le fruit	forme prédominante du fruit	couleur extérieur du fruit mûr	longueur du pédicelle (moyenne 10 pédicelles en cm)	maturité	couleur de la peau du fruit	couleur de la chair du fruit	forme du fruit en coupe transversale	nombre de loges	diamètre maximal du fruit (moyenne 3 fruits)	Remarques
2	2	-	2	0	3	5	0,8	Н	2	4	1	2	2,6	
3	1	2	2	0	2	3	1	Н	orange	2	2	4	2,7	
4	4	4	2	0	4	2	1	Т	2	2	1	2	2,0	
6	4	-	2	0	2	5	1	Н	2	4	2	6	4,0	
7	4	3	2	0	3	3	0,8	Т	2	3	1	2	4,9	Eclatement
8	4	-	2	0	4	6:B	0,9	Т	2	4	2	8	5,1	
9	4	2	2	0	3	2	0,4	Н	orange	2	1	2	2,8	
10	4	-	2	1	5	1	0,8	Н	orange	1	1	2	3,4	
13	4	-	2	0	1	4	1,1	Т	1	2	2	5	4,1	
14	4	-	2	1	1	6:N	0,4	Η	rose	1+ 5	1	5	5,0	Eclatement
15	4	-	2	1	1	6:N	0,5	Т	rose	4	1	7	5,0	
16 17	2	-	2	0	3+ pointe	5 2	0,7	H	2	4 2	1	2	3,5	Eclatement
19	4		2	1	4	5	0,7	T			3	7	3,1	
20	4	3	2	0	1	<u>5</u>	0,7	<u>'</u> Н	Rouge 2	4	3	>10	4,0 5,1	Eclatement
21	4	<u> </u>	2	0	1	<u>5</u>	0,5	 	Orange	4	3	>10	8,8	Eclatement
22	4		2	1	8	2	0,3	_ <u>'</u>	2	2	1	2	1,8	Loiatement
25	4		2	1	2	6:B	1,2	Н	verte	1+ 5	1	5	6,3	Eclatement
26	2		2	0	1	5	0,8	 H	2	4	3	6	6,7	Eclatement
28	4	2	2	0	3	5	0,6	Н.	2	4	1	2	2,5	Loiatomont
29A	4	3	2	0	3	5	0,8	Н.	2	4	1	2	2,0	
29B	4	3	2	0	1 et 3	5	0,6	 H	2	4	3	6	2,3	
31	4	-	2	0	2	5	-		2	4	2	5	6,1	Eclatement, fruits soudés

1 1	ĺ	Ì	1		Ì	j i		i	i i			j i		
32A	2	-	2	0	4	3+1	0,8	Т	2	5	1	2	3,6	
32B	2	-	2	0	2	5	0,7	Т	orange	5	2	10	5,0	
33	4	6	2	0	2	5+3	0,7	Т	orange	5	2	>10	6,0	
35	4	·	2	0	3	2	0,5	Н	1	2	1	2	1,5	Eclatement
36	4	-	2	1	4	6:B	1	Т	orange	1+ 5	1	2	2,4	
39	4	ı	2	1	2	5+1	0,9	Т	verte et jaune	4+1	2	36	6,1	Eclatement
40A	4	ı	2	0	5	5	0,8	Н	2	4	1	2	3,2	
40B	4	·	2	0	5	5	1,1	Н	2	4	1	2	2,6	
41	4	ı	2	0	2	5	1,2	Т	1	4	1	4	6,0	
43	4	ı	2	0	6	5	1,3	Н	2	4	2	3	4,1	Eclatement
46	4	-	2	0	1	2	0,8	Н	1	2	1	10	7,4	Eclatement
47	2	•	2	0	2	2	0,9	Т	1	2	1	3	3,2	
48	4	ı	2	0	1	3	0,9	Т	1	3	1	4	6,6	Eclatement
49	4	·	2	0	3	4	0,9	Т	2	5	1	2	3,4	
50A	4	ı	2	0	4	5	0,8	Н	2	4	1	2	3,2	
50B	4	ı	2	0	3	5	1	Н	2	4	1	3	2,8	

	Variété	Origine		Variété	Origine
2	Delight Red	/	26	Costoluto Genovese	Italie
3	Pruniforme Lutea	/	28	Californian	USA
4	Macrocarpum Lutea	/	29	Ciuad Victoria	Mexique
6	Giant Pear	?	31	Believe It or Not	USA
7	Giraffe	Russie	32	Blue Ridge Mountaine	USA
8	Giant Pear	3	33	Bertucchi 781	Italie
9	Green gage	USA	35	Bianca	?
10	Green grape	USA	36	Black plum	Russie
13	Jaune	?	39	Black Zebra	USA
14	Indian Dark Violet	USA	40	Brin de Muguet	France
15	Indian	USA	41	Arkansas Traveller	USA
16	Islandaise	Islande	43	Argentina	Argentine
17	Ivory Egg	USA	46	Hartsack Yellow	USA
19	Costoluto Fiorentino	Italie	47	Lollipop	USA
20	Corrogo	Sénégal	48	Macrocarpum Orange	/
21	Cassade	?	49	Melanocarpum	/
22	Cœur de Pigeon	France	50	Humboldtianum	/
25	Chocolate	Russie			

Tableau: Origines des variétés de conservation. (Guilet D., 2006 ; passion tomate, 2009 ; Fichot L, 2008.)

Annexe 14: Origine et résultats des caractérisations pour les variétés de valorisation.

	type de croissance	type de feuille	couleur de la corolle	présence de rayures vertes sur le fruit	forme prédominante du fruit	couleur extérieure du fruit mûr	longueur du pédicelle (moyenne 10 pédicelles en cm)	nombre de jours à maturité	couleur de la peau du fruit	couleur de la chair du fruit	forme du fruit en coupe transversale	nombre de loges	diamètre maximal du fruit (moyenne 3 fruits)		nombre de fruit par grappe (deà)	Remarques
1	4	3	2	0	1	2	1,1	-	2	2	1	"3 - 6"	6,7	8	12	
2	4	3	2	1	3	5+1	1,4	-	1	5	3	7	11,4	3	-	
3	4	3	2	1	4	5	1,4	-	2	4	1	2	5,2	7	14	Eclatement
4	4	6	2	1	3	1+2	1	-	jaune-orange	1+2	3	4	6	6	10	
5	4	6	2	1	5	3	1,3	-	2	4	1	4	4,5	6	14	
6	4	2	2	0	3	В	1,2	-	2	4	2	6	6,3	9	-	
7	4	3	2	1	1	1+2	1,1	-	2	11	1	6	8,3	8	10	
8	4	6	2	0	6	5	1,1	-	2	4	2	2	3,9	6	10	
9	4	3	2	0	2	5	1,2	-	2	4	1	3	3,7	11	28	
10	4	3	2	0	8	2	1,4	-	2	2	2	2	4,5	9	20	
12	4	3	2	0	1	2	-	-	1	2	3	610	6,6	-	-	
13	4	3	2	0	2	N	1	-	1	1+N	1	2	3,6	9	32	Fissures près du calice
14	4	4	2	0	4	5	1	-	2	4	1	2	2,9	9	10	
15	4	3	2	0	8	В	0,9	-	2	1+4	1	310	3,1	3	10	Eclatement
16	4	2	2	1	1	4	1,1	-	Rose	5	3	>10	6,6	3	7	Eclatement, fissures
17	4	3	2	0	8	5	1,3	-	2	4	1	2	3,3	8	16	
18	4	3	2	1	7	5	1,2	-	2	4	1	2	3,2	8	15	
19	4	3	2	1	1	2	1,1	-	1	2	3	>10	9	4	-	
20	4	2	2	1	7	В	1,1	-	2	4	2	46	5,2	5	12	

1	Marché Jaune	Belgique	12	Blanche d'Anvers	?
2	Ananas Noire	Belgique	13	Black Cherry	USA
3	Kumato	Iles Galapagos	14	Brin de Muguet	France
4	Green Bell Pepper	USA	15	Black Krim	Crimée
5	Tonnelet	Belgique*	16	Blue	Estonie
6	Japapnese trifele Black	Russie	17	Brown Cherry	Sri Lanka
7	Cherokee Green	USA	18	Italienne Noire	Italie
8	Corne de Bélier	France	19	Blanche (de Biau Germe)	France
9	Big arrow	Belgique*	20	Black Pear	Moldavie
10	Banana Legs	USA			

Tableau: Origines des variétés de valorisation. (Guillet D., 2006 ; passion tomate, 2009 ; Fichot L, 2008.)

« Delight red »

- Origine de la variété :
- Aspect du plant

✓ Type de croissance : Indéterminée

✓ Type de feuille : 3-Standard



• Caractéristiques du fruit et de l'inflorescence

✓ Couleur de la corolle : 2- Jaune

✓ Longueur du pédicelle à partir de la zone d'abscission (moyenne en cm) : 0.8

✓ Forme prédominante du fruit : 3- Ronde

✓ Couleur extérieure du fruit mûr : 5- Rouge

✓ Présence de rayures vertes sur le fruit (épaulé) : 0- Absent

✓ Diamètre maximum des fruits (moyenne en cm): 2.6

✓ Maturité : Précoce

✓ Forme du fruit en coupe transversale : 1- Ronde

✓ Nombre de loges : 2

✓ Couleur de la chair (péricarpe) : 4- Rouge

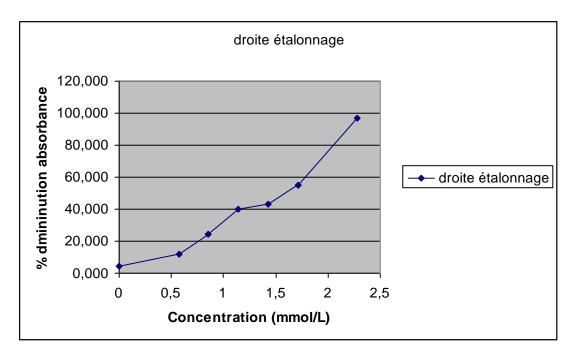
✓ Couleur de la peau du fruit mûr : 2- Jaune

Remarques:



Annexe 16: résultats des analyses antioxydants.

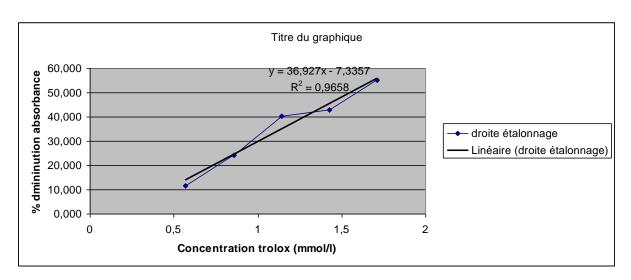
Concentration	A(t=0)	A(t=30 min)	%
DPPHo	1,085	1,103	1,659
0		1,13	4,147
0,571		0,958	11,705
0,856		0,822	24,240
1,142		0,649	40,184
1,427		0,619	42,949
1,712		0,488	55,023
2,283		0,037	96,590



m culot extrait (g)	A (t=o)	A(t=30)	%	Céq trolox (mmol/l)	mol/g surnageant	mol/g culot	mol/g tomate
	1,174	1,205	2,641	0,2702			
		0,857	27,002	0,9299	0,0007439		0,0007230
		0,963	17,973	0,6854	0,0005483		0,0005767
		1,025	12,692	0,5423	0,0004339		0,0005144
		0,57	51,448	1,5919	0,0012735		0,0008915
		0,633	46,082	1,4466	0,0011573		0,0009353
		0,473	59,710	1,8156	0,0014525		0,0009890
		0,884	24,702	0,8676	0,0006941		0,0006514
		0,705	39,949	1,2805	0,0010244		0,0008514
		0,915	22,061	0,7961	0,0006369		0,0006298
		0,922	21,465	0,7799	0,0006240		0,0006283
		0,846	27,939	0,9552	0,0007642		0,0007490
		0,747	36,371	1,1836	0,0009469		0,0008649
10,32		1,149	2,129	0,2563		0,000695445	
10,32		1,186	1,022	0,2263		0,000614085	
10,32		1,161	1,107	0,2286		0,000620344	
10,35		1,153	1,789	0,2471		0,000668468	
10,35		1,131	3,663	0,2978		0,000805755	
10,35		1,145	2,470	0,2655		0,000718390	
10,48		1,181	0,596	0,2148		0,000573895	
10,48		1,173	0,085	0,2010		0,000536918	
10,48		1,16	1,193	0,2309		0,000617036	
10,1		1,161	1,107	0,2286		0,000633856	
10,1		1,146	2,385	0,2632		0,000729778	
10,1		1,207	2,811	0,2748		0,000761751	

Prob.: plus grand que A0

	Flandria	Brown cherry	Kumato	Banana legs
	Magasin	Jardin botanique	Magasin	Jardin botanique
Moyenne (Mol d'éq. Trolox /g de tomate)	0,0006047	0,0009386	0,0007109	0,0007474



Annexe 17: résultats bruts obtenus après test ELISA (PVY)

Plaque 1	1	2	3	4	5	6	7
A	-0,063	0,033	0,023	0,023	-0,063	-0,044	-0,031
В	-0,038	-0,044	0,011	-0,009	-0,072	-0,034	-0,077
С	-0,032	-0,086	-0,078	-0,084	-0,066	-0,099	-0,085
D	-0,024	-0,064	-0,06	0,051	-0,047	-0,075	-0,024
Е	0,03	-0,052	-0,045	-0,091	-0,067	-0,046	-0,077
F	0,018	0,003	-0,023	-0,084	-0,027	-0,086	-0,083
G	0,063	-0,025	-0,045	-0,067	0,235	0,13	-0,022
Н	0,047	0,127	0,128	0,012	0,017	0,051	-0,025

8	9	10	11	12
2,714	3,015	3,015	2,714	2,936
-0,046	-0,071	-0,06	0,006	0,015
-0,02	0,065	-0,048	-0,07	0,144
0,092	0,043	0,044	-0,069	-0,139
2,588	2,618	2,861	-0,104	-0,142
0,085	0,212	-0,009	-0,091	-0,093
0,038	0,008	0,032	-0,055	-0,086
0,004	0,443	0,396	0,364	-0,101

......

Plaque 2	1	2	3	4	5	6	7
A	-0,334	-0,332	-0,376	-0,347	-0,325	-0,37	-0,272
В	-0,324	-0,381	-0,36	-0,409	2,333	2,333	2,333
C	-0,154	2,684	2,48	2,538	-0,347	-0,422	-0,297
D	0,29	-0,33	-0,271	-0,008	2,529	2,529	2,676
E	-0,454	-0,471	-0,435	-0,406	-0,115	-0,431	-0,314
F	-0,431	1,615	1,582	1,406	-0,461	-0,463	-0,47
G	0,33	-0,39	-0,436	-0,419	-0,439	-0,461	-0,467
Н	1,076	2,612	2,913	2,691	-0,276	-0,386	-0,415

8	9	10	11	12
-0,316	-0,19	-0,247		
-0,384	-0,385	-0,439		
2,538	2,684	2,605		
-0,015	0,286	-0,185		

Plaque 3	1	2	3	4	5	6	7
A	-0,09	-0,098	-0,099	-0,098	-0,029	-0,04	-0,021

В	-0,101	-0,106	-0,106	-0,104	-0,096	-0,098	-0,042
С	-0,097	-0,087	-0,093	-0,096	-0,113	-0,098	-0,113
D	-0,096	-0,092	-0,093	-0,105	-0,108	-0,106	-0,096
Е	-0,021	-0,043	-0,052	-0,075	0,217	0,196	0,137
F	0,403	-0,009	-0,016	-0,007	-0,037	-0,01	0,027
G	0,032	0,047	0,042	-0,026	2,909	2,909	2,909
Н	-0,032	3,024	3,024	3,201	0,192	0,304	0,27

8	9	10	11	12
-0,093	-0,095	-0,106		
2,825	2,825	2,783		
-0,094	-0,102	-0,107		
0,102	0,091	0,204		
-0,058	-0,05	-0,038		
-0,05	-0,031	0,007		
0,022	0,007	0,017		

La couleur verte correspond au blanco. La couleur jaune correspond aux témoins positifs et négatifs. La couleur rouge correspond aux échantillons infectés par le virus Y de la pomme de terre.

Annexe 18: résultats bruts obtenus après test ELISA (CMV).

Plaque 1	1	2	3	4	5	6
A	-0,014	0,025	0,003	0,012	0,037	-0,002
В	0,009	0,002	-0,002	0,008	0,008	0,015
С	0,001	-0,001	0,001	0,007	0,017	0,008
D	-0,007	0,003	0,002	0,007	0	0,001
E	0,004	0,008	0,002	0,007	0	-0,001
F	0,012	0	-0,004	0,01	0,006	-0,001
G	0	0,001	-0,001	0,002	0,033	-0,001
Н	-0,003	-0,002	-0,003	0,003	-0,001	-0,004

7	8	9	10	11	12
-0,003	-0,004	0,004	-0,011	-0,001	0,12
0,001	-0,004	0,002	0,002	-0,003	0,099
-0,005	0,001	0,007	-0,001	0,005	0,101
0	-0,002	0,007	0,001	0,004	0,167
0,003	0,066	0,006	0,005	0,004	0,095
-0,004	0,001	0	0,005	0,006	0,107
-0,003	-0,002	-0,004	0,032	0,025	0,123
0	-0,001	0,001	-0,006	0,004	0,091

.....

Plaque 2	1	2	3	4	5	6
A	0,005	0,001	0,01	0,001	-0,003	0,002
В	-0,001	0	0,004	0,008	0,004	0,004
C	0	-0,001	-0,002	0,002	0,002	0,003
D	-0,002	-0,002	0	0,006	0,002	0,002
E	0,003	0,006	0,008	0,004	0,004	0,006
F	0	0,002	0,003	-0,003	0,006	0,006
G	0	0,008	0,01	0,009	0,009	0,017
Н	-0,002	0,027	0,03	0,006	0,004	0,008

7	8	9	10	11	12
-0,001	0	0,007	-0,038	0,002	0,205
0,003	-0,001	0,017	0,006	0,007	0,133
0,002	0,001	0,008	0,003	0,009	0,143
0,003	0,008	0,011	0,011	0,005	0,133
0,003	0,017	0,016	0,025	0,018	0,194
0,006	0,014	0,017	0,013	0,011	0,141
0,011	0,008	0,011	0,012	0,011	0,205
0,007	0,005	0,008	0,011	0,017	0,16

·						
Plaque 3	1	2	3	4	5	6

A	-0,005	0,003	0	0,003	-0,003	0,003
В	-0,007	0,002	0,002	0,009	0,01	-0,006
C	0,002	0,006	0,011	0,09	0,004	0,002
D	0,017	0,005	0,001	0,014	0,009	-0,023
E	0,005	0,006	0,027	0,016	0,009	0,001
F	0,006	0,011	0,048	0,032	0	0,001
G	-0,005	-0,005	0,005	0,008	-0,007	0,004
Н	-0,01	-0,011	-0,01	-0,002	-0,007	0,002

7	8	9	10	11	12
-0,005	0,039	-0,003	0,02	0,103	0,135
0,007	0,015	0,026	0,056	0,015	0,173
-0,001	0,011	0,006	0,031	0,015	0,239
-0,003	0,003	-0,009	0,007	0,014	0,23
0,012	0,007	0,021	0,012	0,017	0,235
0,005	0,019	0,039	0,01	0,024	0,282
0,014	0,017	0,026	-0,001	0,018	0,255
0,011	0,016	0,027	0,032	0,017	0,277

La couleur verte correspond au blanco. La couleur jaune correspond aux témoins positifs et négatifs. La couleur rouge correspond aux échantillons infectés par le virus de la mosaïque du concombre.

Annexe 19: résultats des questionnaires.

	1a	1b	1c	1d	1e	1f	2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	2h	За	3b	3c	3d	3e	3f	4a	4b	4c	4d	4e	4f	4g	4h	4i	5a	5b
1					1							1	Ü						1	1	1				1		Ü		1		1
2	1									1										1					1			1			1
3	1											1			1									1						1	
4	1											1			1					1				1	1			1		1	
5	1											1					1					1	1							1	
6	1													1					1							1				1	
7	1											1					1					1		1						1	
8	1													1					1				1							1	
9						1								1	1				1			1		1	1					1	
10					1						1								1	1				1						1	
11	1												1		1						1	1	1							1	
12	1													1	1							1		1							1
13					1						1								1				1		1						1
14	1													1					1						1			1		1	
15						1						1			1			1					1		1					1	
16						1						1			1			1					1		1					1	
17	1				1										1						1		1					1		1	لــــــــــــــــــــــــــــــــــــــ
18	1												1						1				1								1
19	1												1		1									1					$\vdash \vdash$	1	
20						1							1						1				1						$\vdash \vdash$		1
21	1										1				1						1		1		1					1	
22	1									1					1				1		1	1	1						 		1
23	1											1						1											\sqcup	1	
24						1						1			1									1					 	1	لـــــا
Tot	16	0	0	0	4	5	0	0	0	2	3	9	4	5	12	0	2	3	10	4	5	6	11	8	9	1	0	4	1	17	7
%	64	0	0	0	16	20	0	0	0	9	13	39	17	22	39	0	6	10	32	13	11	13	24	18	20	2	0	9	2	71	29

	6a	6b	6c	7a	7b	7c	7e	7f	7g	8a	8b	8c	8d	8e	9a	9b	10a	10b	10c	11a	11b	12a
1				1									1			1		1			1	
2							1					1				1	1					
3	1	1										1				1	1			1		
4								1				1				1			1	1		
5	1	1						1				1				1		1		1		
6	1	1	1		1							1				1		1		1		
7		1						1			1					1		1		1		
8	1	1	1	1								1					1				1	
9	1			1								1				1	1				1	
10		1		1								1				1	1			1		
11	1	1							1			1				1			1		1	
12				1										1	1				1	1		
13				1									1			1		1		1		
14	1			1									1			1			1	1		
15	1			1								1				1			1		1	
16		1		1								1				1			1		1	
17	1	1	1					1					1			1			1	1		
18	1			1						1					1		1			1		
19				1									1			1			1		1	
20	1			1									1			1	1			1		
21	1				1								1		1		1			1		
22				1							1					1			1	1		
23				1								1				1	1				1	
24		1						1				1			1						1	
Tot	12	10	3	14	2	0	1	5	1	1	2	13	7	1	4	19	9	5	9	14	9	0
%	48	40	12	61	9	0	4	22	4	4	8	54	29	4	17	83	39	22	39	61	39	0

Annexe 20: Calendrier suivi

8 & 9 OCTOBRE

	MARS							
25 MARS	Semis							
	AVRIL							
8 AVRIL 30 AVRIL	Repiquage en pots pressés Repiquage temporaire sur tourbe							
	MAI							
12 MAI 15 MAI 19 MAI	Repiquage pleine terre Traitement fongicide préventif (répété tous les 15 jours) Phytotoxicité tomates valorisation (extérieur)							
	JUIN							
Suivit pincement des gourmands et tuteurage								
JUILLET								
3 JUILLET 22 JUILLET 28 JUILLET	Premiers symptômes tomates conservation (serre) Arrachage des tomates conservation trop atteinte Récolte 1 tomates conservation							
	AOUT							
9 AOUT 11 AOUT 14 AOUT 19 & 20 AOUT 27 AOUT 31 AOUT	Premiers symptômes tomates valorisation R2 tomates conservation Diagnostique maladies serre: TMV, CMV ou virus Y Récolte 1 tomates valorisation + analyses physico-chimiques 1 Confirmation symptômes non fongiques (Mr. Steyer) Récolte 2 tomates valorisation							
SEPTEMBRE								
11 SEPTEMBRE 20 SEPTEMBRE	Récolte 3 tomates valorisation + analyses physico-chimiques 2 Présentation et dégustation au CHT							
	OCTOBRE							

Analyses anthocyanes et analyses ELISA

Infection par le matériel végétal entrant (dit de base) :

- Terreau : stériliser afin d'éliminer nématodes et bactéries
- Pots et conteneurs : désinfecter à l'eau de javel ou utiliser des neufs.
- Etiquettes: idem.
- Tuteurs : idem.
- Bottes : présence d'un bac de désinfection (pédiluve) à l'entrée, et nettoyage des bottes à l'entrée et à la sortie.

Environnement extérieur des serres de production :

- Désherbage (les mauvaises herbes sont un réservoir de pathologies et de ravageurs).
- Eviter des plantes cultivées aux abords des serres (arbres fruitiers par exemple).
- Les alentours doivent être propres.

Environnement intérieur des serres de production :

- Vide sanitaire
- Eviter la présence de plantes dans la serre autres que les plantes à étudier (arum par exemple)
- Désherbage correct et régulier.
- Désinfection du matériel (fumigation, eau de javel, détol).
- Désinfection du sol.
- Analyse préalable du sol (analyse chimique et présence de nématodes)

Attention particulière à toutes les opérations mécaniques effectuées :

- Tuteurage.
- Arrosage.
- Egourmandage.
- Pulvérisation.
- Passage physique des personnes.

Tenir à jour une traçabilité (carnet de culture) avec toutes les informations utiles (origine des semences, opérations culturales, observations.

Bibliographie

- Abushita A.A., Daood H.G. & Biacs P.A., 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J. Agric. Food Chem.*, **48**(6), 2075-2081.
- Agrireseau, 2009. *Le virus Y de la pomme de terre*. Disponible sur : http://www.agrireseau.qc.ca/pdt/documents/PresentationMosaique.pdf, (06/12/2009).
- Agrisalon.com, 2008. Tomates, tour d'horizon 2008. Disponible sur : http://www.agrisalon.com/06-actu/article-20578.php, (15/08/ 2009).
- Bakrim A., Lamhamdi M., Sayah F. & Chibi F., 2007. Effects of plant hormones and 20-hydroxyecdysone on tomato (*Solanum Lycopersicum*) seed germination and seedlings growth. *African Journal of Biotechnology*, **6** (24), 2792-2802.
- Baribeau H., 2004. *L'indice TAC*. Disponible sur: http://www.brunoheubi.com/alimentation/indice-TAC.html, (22/05/09).
- Basu A. & Imrhan V., 2007. Tomatoes versus lycopene in oxidative stress and carcinogenesis: conclusions from clinical trials. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **61**(3):295-303.
- Bertuglia S., Malandrino S. & Colantuoni A., 1995. Effect of *Vaccinium myrtillus* anthocyanosides on ischaemia reperfusion injury in hamster cheek pouch microcirculation. *Pharmacological Research*, **31**(3-4), 183-187.
- Bjelakovic G. *et al.*, 2007. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *J.A.M.A.*, **297**(8), 842-857.
- Black M., Bewley J.D. & Halmer P., 2006. *The encyclopedia of seeds, science, technology and uses.* Wallingford, UK: CABI.
- Blamey M. & Grey-Wilson C., 2003. *La flore d'Europe occidentale*. Paris : Flammarion.
- Blancard D., 1988. Maladies de la tomate. Paris : INRA Editions.
- Brand-Williams W., Cuvelier M-E & Berset C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, **28** (1), 25-30.
- Butelli E. *et al.*, 2008. Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. *Nature Biotechnology*, **26**(11), 1301 1308.
- Chaux C. & Foury C., 1994. *Productions légumières. Tome 3 Légumineuses potagères, légumes fruits.* Paris : Technique et documentation Lavoisier.
- Clark M.F. et Adams A.N., 1977. Characteristics of the microplate method of enzymelinked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, **34** (3),475-483.
- Coldsbrough A., Belzile F. & Yoder J., 1994. Complementation of the tomato anthocyanin without (aw) mutant using the dihydroflavonol 4-reductase gene. *Plant Physiol.*, **105**(2), 491-496.
- Córdoba-Sellés M. C., García-Rández A., Alfaro-Fernández A. & Jordá C., 2007. Seed Transmission of *Pepino mosaic virus* and Efficacy of Tomato Seed Disinfection Treatments. *Plant disease*, **91**(10), 1250-1254.

- Delaunay, 2008. *Epidémiologie des groupes et variants du virus Y de la pomme de terre*. Disponible sur: http://www.rennes.inra.fr/bio3p/equipes/biologie_et_evolution_des_phytovirus_a_arn/resultats_marquants/epidemiologie_du_pvy, (06/12/2009).
- Doré C. & Varoquaux F., 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Paris : INRA.
- Elhabiri M., 1997. Thèse. Disponible sur : http://membres.lycos.fr/mourad/essai.html (22-05-09).
- Ellinger S., Ellinger J. & Stehle P., 2006. Tomatoes, tomato products and lycopene in the prevention and treatment of prostate cancer: do we have the evidence from intervention studies? *Curr . Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.*, **9**(6), 722-7.
- FAO stat. Disponible sur: http://faostat.fao.org/ (14/08/2009).
- FAO, 2007. Disponible sur: http://faostat.fao.org et http://ecocrop.fao.org (17/05/2009).
- FAO, 2009. Disponible sur: http://faostat.fao.org. Dont les pages suivantes ont été utilisées: http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=1379 et http://www.fao.org/es/ess/toptrade/trade.asp (17/05/2009).
- Fichot L., 2008. *Collection de tomates anciennes*. Disponible sur : http://www.essaime-artomate.be/sommaire.html, (04/12/09).
- Frusciante L. *et al.*, 2007. Antioxidant nutritional quality of tomato. *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**(5), 609-17.
- Gitenay D. *et al.*, 2007. Comparison of lycopene and tomato effects on biomarkers of oxidative stress in vitamin E deficient rats. *Eur. J. Nutr.*, **46**(8), 468-75.
- Giusti M. & Wrolstad R., 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F1.2.1-F1.2.13.
- Guil-Guerrero J. L. & Rebolloso-Fuentes M. M., 2008. Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties, *Journal of Food Composition and Analysis*, **22**(2), 123-129.
- Guillet D., 2006. Semences de Kokopelli. 6^e éd. Nimes : La voix des semences.
- Hartmann H., Kester D. & Davies F., 1990. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 5 éd. New Jearsey: Prentice Hall.
- Heimler D., Isolani L., Vignolini P. & Romani A., 2009. Polyphenol content and antiradical activity of *Cichorium intybus* L. from biodynamic and conventional farming. *Food Chemistry*, **114**(3), 765–770.
- Heuzé V., 1992. Aspects physico-chimiques liés à la maturation et à la conservation des tomates. Mémoire: Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).
- INRA, 2000. *La qualité organoleptique de la tomate*. Disponible sur : http://www.inra.fr/internet/Directions/DIC/ACTUALITES/NATURE/pdf/tomaquali.p df, (19/05/09).
- INRA, 2009. *Mosaïque du tabac*. Disponible sur http://www.inra.fr/hyp3/pathogene/3tomovi.htm, (04/12/09).

- INRA, 2009. Sélectionner des tomates qui plaisent aux consommateurs. http://www.inra.fr/les_partenariats/collaborations_et_partenaires/entreprises/en_direct _des_labos/selection_tomates_qui_plaisent_consommateurs, (15/08/09).
- Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF) (Université Laval), 2007. *La tomate: profil santé*. Disponible sur http://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/EncyclopedieAliments/Fiche.aspx?doc=to mate_nu (01/12/09).
- IPGRI, 1996. *Descripteurs de la tomate* (Lycopersicon spp.). Disponible sur : http://www.bioversityinternational.org/fileadmin/bioversity/publications/pdfs/488.pdf?cache=1242836409, (22/03/09).
- IPGRI, 2008. *Maintaining crop and cultural diversity in the Andes*. Disponible sur: http://www.bioversityinternational.org/publications/publications/annual_report/2008/maintaining_crop_and_cultural_diversity_in_the_andes.html, (21-05-09).
- IPNI, 2005. The international plant names index. http://www.ipni.org/ipni/simplePlantNameSearch.do?find_wholeName = solanum+lycopersicum&output_format=normal&query_type=by_query&back_page = query_ipni.html (03/12/2009).
- Javeau C., 1971. *L'enquête par questionnaire. Manuel à l'usage du praticien.* Bruxelles : Ed de l'Institut de Sociologie.
- Jones J. B., Jones J. P., Stall R. E. & Zitter T. A., 1991. *Compendium of Tomato Diseases*. St Paul: APS Press.
- Kavanaugh C., Trumbo P. & Ellwood K., 2007. The U.S. Food and Drug Administration's Evidence-Based Review for Qualified Health Claims: Tomatoes, Lycopene, and Cancer. *J.N.C.I.*, **99**(14), 1074-1085.
- Lee J., Durst R. & Wrolsatd R., 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, **8**(5), 1269-1278.
- Lepoivre P., 2003. *Phytopathologie*. 1 éd. Bruxelles: De Boeck Université.
- Linéaires, 2009. Tomates et fraises : chute de la consommation. Disponible sur http://www.lineaires.com/Fruits-et-legumes/Les-chiffres/Tomates-et-fraises-chute-de-la-consommation, (14/08/2009).
- Lumpkin H., 2005. A comparison of lycopene and other phytochemicals in tomatoes grown under conventional and organic management systems. Technical bulletin N° 34. AVRDC publication number 05-623. Shanhua, Taïwan:AVRDC- the World Vegetable Center. 48 p.
- Messaien C-M., Blancard D., Rouxel F. & Lafon R., 1991. Les maladies des plantes maraîchères. Paris : INRA.
- Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, 2009. Virus de la mosaïque du concombre/ Virus de la mosaïque de la tomate/ Virus de la bigarrure/ Virus des taches bronzées de la tomate. Disponible sur : http://www.omafra.gov.on.ca/IPM/french/tomatoes/diseases-and-disorders/viruses.html.) (1/12/2009).

- Navez B., 2005. Identification des caractères gustatifs dans l'étude variétal des tomates, lors de la 3ème Rencontres du végétal, INH, Angers. Disponible sur http://rencontres-du-vegetal.inh.fr/telechar/3reva/4_navez.pdf, (02/12/09).
- Newtone, 2006. *Cours de colorimétrie simplifié*. Disponible sur : http://www.munsell.fr/Colorimetrie/Cours_Colorimetrie_coordonnees_CIELAB.htm, (19/05/09).
- Optech Refractomètres, catalogue commercial. Disponible sur : http://www.inforlab-chimie.fr/brochure-refractometres-document-m38-129.html, (19/05/09).
- Passion tomate, 2009. Disponible en ligne sur : http://ventmarin.free.fr/passion_tomates/passion_tomate.htm (04/12/09).
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R. & Defraigne J., 1999. Espèces oxygénées activées, antioxydants et cancer. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **4**(4).
- PRINCE DE BRETAGNE, 2004. *Tomates (Fiche merchandiser)*. Disponible sur : http://pagesperso-orange.fr/fernand.paugam/Fiche%20marchande/Fiche%20marchande%20F/Tomate.pd f (20-05-09).
- Renaud V. & Dudouet C., 2001. Le traité Rustica du potager. Paris : Éditions Rustica.
- Schall S., 2008. *De mémoire de potagers*. Toulouse : Ed. Plume de carotte.
- Shareck M., 2008. Consommation alimentaire d'antioxydants et risque de cancer du poumon : une étude cas-témoins montréalaise. Mémoire : Université de Montréal, Faculté des études supérieures.
- Stickland S., 1998. Variétés d'hier Légumes d'aujourd'hui Cultivez la diversité dans votre jardin. France Mens : Terre vivante.
- The ECPGR tomato database, 2009. Disponible sur http://documents.plant.wur.nl/cgn/pgr/tomato/default.htm (21-05-09).
- Tomodori, 2007. *La fleur de tomate*. Disponible sur : http://tomodori.com. (17/05/2009).
- Tout en un Rustica pratique. Spécial potager, janvier 2009.
- Trommeter M., 2000. Gérer la conservation des ressources génétiques végétales : valeur et valorisation des collections. *Cahiers Agricultures*, **9**(5), 381-389.
- UPOV, 2001. Principes directeurs pour la conduite de l'examen des caractères distinctifs, de l'homogénéité et de la stabilité. Tomate (Lycopersicon lycopersicum (L.) Karsten ex Farw.). Disponible sur : http://www.upov.int/fr/publications/tg rom/tg044/tg_44_10.pdf, (22/03/09).
- Van Vracem P. & Gauthy-Sinechal M., 1987 *Etudes de marchés et sondages* d'opinion –outil fondamental du Marketing. Bruxelles : Ed. De Boeck.
- Vézina L. & Lacroix M., 2006. Test Elisa (enzyme-linked immunosorbent assey).
 Disponible sur http://www.agrireseau.qc.ca/lab/documents/test%20ELISA.pdf (03/12/09).