



Biannual journal, edited by Ferhat ABBAS University, Sétif1

## Agriculture Journal

Homepage: <http://revue-agro.univ-setif.dz/>



### Caractérisation et identification de quelques écotypes d'olivier *Olea europaea L* en Algérie

Abdessemed<sup>1,2\*</sup> S, Abdessemed<sup>1</sup> A, Boudchicha<sup>1</sup> RH, Benbouza<sup>2</sup> H

<sup>1</sup> Centre de Recherche en Biotechnologie « CRBt », Ali Mendjli Nouvelle Ville UV 03, BP E73 Constantine, Algérie.

<sup>2</sup> Université de Batna 1, Algérie.

\* Corresponding author: [s.abdessmed@crbt.dz](mailto:s.abdessmed@crbt.dz) / [sanna.ing9@yahoo.fr](mailto:sanna.ing9@yahoo.fr)

Received: 22 November 2017 / Accepted: 20 April 2018

#### Abstract

Genetic diversity for food and agriculture, including wild species related, is a fundamental resource for the continuous improvement of varieties and breeds needed to make's face for the different changes (FAO, 2016). These genetic resources for food and agriculture institute a strategic breeding ground for all food production systems. However, the use of biodiversity in the context of plant breeding presupposes an analysis of locally existed and adapted genotypes to particular environments. In the context of realization of a research project on the improvement of olive production "*Olea europaea.L*" we have realized a prospectus and collected more than twenty cultivars (Collection and Orchard), up from different parts of Algeria. In a first step, and in order to determine the phenotypic descriptors, biochemical and molecular markers, like microsatellite able to identify cultivars with interest agronomic traits, we used a total of twenty-three morphological descriptors (quantitative and qualitative) of the International Olive Council (IOC), 11 pairs of preselected polymorphic microsatellite primers and thirteen parameters measured on monovarietal oils. Preliminary results indicate that nine quantitative descriptors for the endocarp, fruit, leaf and seven other qualitative descriptors of the endocarp were the most discriminating. For biochemical characteristics of the mono varietal oil three parameters as the rate of oleic acid, the level of unsaturated fatty acids and the content of total polyphenols, are the most discriminating to differentiate the cultivars studied. Finally, due to the selected microsatellite markers, we were able to highlight the great diversity of the 26 cultivars studied distributed over nine genetic pools obtained. The results indicate and confirm that the use of an approach combining three types of markers will allow better management and exploitation of local genetic resources for the development of this strategic crop in rural areas in a context of climate change.

**Key words:** Olive tree, genetic diversity, microsatellite primers, IOC descriptors, mono varietal oil.

#### Résumé

La diversité génétique pour l'alimentation et l'agriculture, incluant les espèces sauvages apparentées, constitue une ressource fondamentale pour l'amélioration continue des variétés et des races, nécessaire pour faire face aux différents changements. Ces ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture constituent un vivier stratégique dont tous les systèmes de production alimentaire sont tributaires. Toutefois, l'utilisation de la biodiversité dans le cadre de l'amélioration végétale présuppose une analyse des génotypes existants localement et adaptés à des environnements particuliers. Dans le cadre de la réalisation d'un projet de recherche sur l'amélioration de la production de l'olivier « *Olea europaea.L* » nous avons réalisé des prospections et collecté plus d'une vingtaine de cultivars (Collection et verger), provenant de différentes régions de l'Algérie. Dans une première étape, et afin de déterminer les descripteurs phénotypiques, les marqueurs biochimiques et moléculaires, de type microsatellites, susceptibles d'identifier les cultivars ayant des traits agronomiques intéressants nous avons utilisé un total de Vingt-trois descripteurs (quantitatifs et qualitatifs) morphologiques du Conseil Oléicole International (COI), 11 paires d'amorces microsatellites polymorphes présélectionnées et treize paramètres mesurés sur des huiles monovariétales. Les premiers résultats indiquent que neuf descripteurs quantitatifs relatifs à l'endocarpe, le fruit, la feuille et sept autres descripteurs qualitatifs de l'endocarpe se sont avérés les plus discriminants. Pour les caractères biochimiques de l'huile monovariétale trois paramètres à savoir le taux en acide oléique, le taux en acide gras insaturés et la teneur en polyphénols totaux, sont les plus discriminants pour différencier les cultivars étudiés. Enfin, grâce aux marqueurs microsatellites choisis, nous avons

pu mettre en évidence la grande diversité des 26 cultivars étudiés réparties sur neuf pools génétiques obtenus. Les résultats indiquent et confirment que l'utilisation d'une approche combinant trois types de marqueurs permettra une meilleure gestion et exploitation des ressources génétiques locales pour le développement de cette culture stratégiques, entre autres, dans les zones rurales dans un contexte de changement climatique.

**Mots clés :** *olivier, diversité génétique, amorces microsatellite, descripteurs COI, huile monovariétale.*

## INTRODUCTION

La culture de l'olivier (*Olea europaea L.*) est l'une des plus anciennes cultures de la région méditerranéenne où elle a occupée depuis la préhistoire une place importante. Les analyses de la diversité morphologique et génétique ont démontré que la ségrégation de la population sauvage de l'olivier s'étend sur un axe Est-Ouest ce qui reflète sa division bio-géographique dans le bassin méditerranéen où les régions orientales et occidentales sont séparées par une ligne joignant la Mer Adriatique et le désert de Libye (Blondel et al., 1995; Besnard et al., 2000. 2002a,b; Lumaret et al., 2004). En Afrique du nord, l'oléastre y existait probablement bien avant le XII<sup>e</sup> millénaire. Camps-Fabrer, (1984) confirme qu'*Olea europaea L.* apparaît dans de nombreux sites sahariens, et les analyses de charbon et de pollens conservés dans certains gisements ibéromaurusiens (Taforalt, Grotte Rassel, Courbet) ou capsien (Ouled Djellal, Relilaï) attestent que l'olivier existait en Afrique du Nord dès le XII<sup>ème</sup> millénaire. En Algérie, la culture de l'olivier remonte à la plus haute antiquité. Nos paysans s'y consacraient avec art durant plusieurs siècles (Alloum., 1974).

Certains travaux de recherche ont indiqué que le patrimoine génétique oléicole mondial est constitué par plus de 2 600 variétés différentes (Muzzalupo et al., 2014). L'olivier a développé une plate-forme variétale caractéristique pour chaque aire de culture, près de 1250 variétés cultivées dans 54 pays sont conservées dans près de 100 collections qui ont été incluses dans la base de données du germoplasme de l'olivier de la FAO (Bartolini, 2008). La plus grande partie de ces cultivars vient des pays de l'Europe méridionale tels que l'Italie avec 610 cultivars, l'Espagne 280 cultivars, la France 100 cultivars, la Grèce 101 cultivars et la Tunisie 70 cultivars (Corrado et al., 2010 ; Linos et al., 2014). En Algérie, l'olivier est l'un des principales essences fruitières, en superficie il s'étend sur plus du 1/3 (près de 34,09%) de l'espace dévolu aux cultures fruitières arborescentes, sur une superficie d'environ 383443 ha (FAOSTAT, 2014). L'olivier est principalement cultivé dans les zones côtières du pays. Les principaux et les plus anciens vergers oléicoles se trouvent dans les régions montagnardes et les collines recouvrant une surface de 195 000 hectares (Khoumeri, 2009), ainsi que dans les plaines occidentales du pays (Mascara, Sig, Relizane etc...) et dans les vallées comme la Soummam. Cette superficie a bien nettement augmenté par la mise en place d'un programme national pour le développement de l'oléiculture intensive dans les zones steppiques, présahariennes et sahariennes (Msila, Biskra, Ghardaïa, etc).

La diversité génétique décrit la variabilité des gènes entre ou à l'intérieur des espèces et de leurs populations. La diversité génétique pour l'alimentation et l'agriculture, incluant les espèces sauvages apparentées, constitue une ressource fondamentale pour l'amélioration continue des variétés et des races, nécessaire pour faire face aux différents changements (FAO, 2016). Ces ressources génétiques pour l'alimentation et l'agriculture constituent un vivier stratégique dont tous les systèmes de production alimentaire sont tributaires. Conserver et utiliser des ressources extrêmement diverses, tant au niveau des espèces qu'à l'intérieur de celles-ci, revient donc à sauvegarder notre capacité de surmonter les difficultés à venir (FAO, 2016).

L'olivier présente deux formes, une sauvage qui est l'oléastre « *Olea europaea subsp. europaea var. sylvestris* » et l'autre cultivée, l'olivier « *Olea europaea subsp. europaea var. sativa* ». Cette espèce présente un grand polymorphisme dû aux influences du sol et du microclimat qui sont susceptibles d'apporter des modifications qui peuvent être phénotypique et/ ou génotypique (Ouzzani et al.,

1995 ; Trujillo et *al.*, 1995; Belaj et *al.*, 2001). Cette richesse du matériel génétique est notamment due à la grande longévité de l'arbre, à son histoire séculaire et à son type de pollinisation (Cantini *al.*, 2008 ; Bracci *al.*, 2009 ; Bracci *al.*, 2001).

En Algérie, Hauvill (1953), a indiqué qu'il existe environ 150 variétés d'olivier. Les intervenants et les acteurs de la filière oléicole se trouvent souvent confrontés à d'énormes problèmes, entre autres, de synonymie, d'homonymie et de confusion qui règnent dans leurs appellations (Ouazzani et *al.*, 1995). Le développement et la conservation de ce patrimoine à travers des stratégies requièrent l'investissement dans la connaissance qui constitue un atout pour assurer le développement de cette filière qui peut être un garant pour renforcer l'économie nationale et contribuer à la stabilité et le développement dans nos zones rurales. En Algérie, très peu de travaux de recherche ont été menés sur la diversité et autres aspects liés à cet arbre et peu d'informations sont disponibles que ça soit pour la caractérisation variétale, la conservation ou encore la valorisation du germoplasme. Sur l'ensemble des 150 variétés recensées, seules 36 variétés locales ont été identifiées sur la base de discriminateurs morphologiques du COI par Mendil et Sebai (2006). L'identification des cultivars de l'olivier est souvent basée sur des descripteurs morphologiques, biochimiques et agronomiques qui sont influencés par les facteurs environnementaux. Une identification précise et non ambiguë des cultivars permettra une gestion durable du patrimoine oléicole. Cela est possible moyennant l'utilisation des marqueurs moléculaires, qui est incontournable, non seulement pour l'identification ; mais aussi pour la préservation et la valorisation de la diversité génétique de nos ressources locales lors de la planification de nouvelles aires de culture et la réalisation des programmes d'amélioration.

## MATERIELS ET METHODES

Dans la perspective de contribuer à l'amélioration et à la gestion de cette ressource génétique importante un projet de recherche a été mené. En fait, l'étude s'est focalisée sur des cultivars d'olivier de la collection de Sidi Aiche au niveau de la station expérimentale l'ITAFV, et ceux de la commune de Sofian à Batna, avec un partenaire privé. Afin de caractériser ces cultivars trois approches ont été adoptées. La première est la caractérisation morphologique sur base des descripteurs du Conseil oléicole international (COI, 1997). La seconde est une caractérisation moléculaire à l'aide de marqueurs d'ADN nucléaires de type microsatellites (SSR). Et la troisième approche est l'utilisation des marqueurs biochimiques pour caractériser l'huile d'olive monovariétale, il s'agit de la détermination des indices de qualité de l'huile d'olive, la composition en acides gras par GC/MS et le dosage des composés phénoliques par HPLC.

## 2. Prospection et techniques de caractérisation morpo- moléculaire et biochimique

### 2.1 Caractérisation morphologique et biochimiques

Les cultivars ayant fait l'objet de caractérisations morphologique et analyses biochimiques de leurs huiles monovariétales sont au nombre de 7 cultivars : *Aghchren de titest*, *Aguenaou*, *Blanquette de Guelma*, *Chemlal*, *Limli*, *Rougette de Mitidja* et *Sigoise*. Le choix des cultivars a été surtout basé sur l'utilisation des fruits et l'importance de la surface de culture. Les informations sur ces cultivars sont représentées dans le Tableau 1 (catalogue des variétés algériennes de l'olivier de l'I.T.A.F.V, Mendil et Sebai, 2006).

La méthodologie suivie pour la caractérisation morphologique et celle de l'huile monovariétale sont décrites par Abdessemed (2017). Au total, vingt-trois descripteurs morphologiques des principaux

organes de l'arbre (feuille, fruit, et endocarpe) ont été retenus pour cette étude (Barranco et Rallo, 1984).

Pour la caractérisation biochimique, elle est basée sur la détermination des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques qui sont définies par la norme commerciale du (COI, 2009).

**Tableau 1** : Nom du cultivar, synonymes, origine, diffusion, utilisation et rendement en huile

Nom	Nbr de pieds	Synonymes	Origine	Utilisation	Rendement en huile (%)
<b>Aghchren de titest</b>	03	Pas de synonyme connus	Hammam Guergour (Sétif)	Double aptitude	14 à 18
<b>Aguentaou</b>	04	Agnaw	Bousselah (Sétif)	Double aptitude	16 à 20
<b>Blanquette de guelma</b>	04	Pas de synonyme connus	Guelma	Huile	18 à 22
<b>Chemlal</b>	04	Achamlal, Achamli, Achemlal	Kabylie	Huile	18 à 22
<b>Limli</b>	04	Imeli, limeli	Sidi Aiche (Bejaia)	Huile	20 à 24
<b>Rougette de Mitidja</b>	04	Pas de synonyme connus	Plaine de Mitidja	Huile	18 à 20
<b>Sigoise</b>	04	Olive de Tlemcen, Olive du Tell	Plaine de sig (Mascara)	Double aptitude	18 à 22

Les différents résultats de la caractérisation morphologique et biochimiques sont présentés dans le texte sous forme de moyennes et de coefficients de variation. L'analyse de la variance à un facteur (ANOVA1) a été effectuée, des différences significatives ont été définies à  $p < 0,05$  en utilisant le logiciel XL-STAT.

Une analyse en composante principale (ACP) a été réalisée dans le but de déceler la corrélation entre les caractères étudiés et faire ressortir les caractères les plus discriminants. Enfin, la classification des sept cultivars étudiés a été réalisée par la méthode CAH afin de déterminer la nature et le degré des divergences /ressemblances entre eux.

## 2.2 Caractérisation moléculaire

En ce qui concerne la caractérisation moléculaire, 26 cultivars ont été sélectionnés pour procéder à une analyse de la diversité génétique moyennant 11 marqueurs SSR (Simple Sequence Repeat) (GAPU 101, GAPU 103A, GAPU71A, GAPU71B, GAPU59, UDO99-012, UDO99-028, UDO99-039, UDO99-043, DCA9 et DCA18).

Les différentes étapes de la caractérisation moléculaire, sont comme suite :

- 1) l'extraction d'ADN génomique (méthode CTAB : Benbouza et *al.*, 2006),
- 2) Une réaction d'amplification génétique (PCR ou Polymerase Chain Reaction),
- 3) Une analyse du polymorphisme moléculaire par électrophorèse capillaire à l'aide du 2100 Bio-Analyzer.

A partir des données obtenues, plusieurs analyses ont été effectuées. Tout d'abord, les paramètres génétiques ont été calculés, la diversité génétique intra-cultivar et inter-cultivar a été estimée à l'aide de calcul de plusieurs indices génétiques. La similarité génétique est calculée à l'aide du coefficient simple matching (Sokal et Michener, 1958), par la méthode non pondérée du groupe de pair des moyennes arithmétiques (UPGMA) en utilisant le logiciel NTSYS (version 2.2). Enfin, la structure génétique spatiale et l'analyse des autocorrélations spatiales entre les individus d'olivier étudiés ont été réalisées avec le logiciel STRUCTURE en utilisant les données d'amplifications des SSRs utilisés (Pritchard et al., 2000; Falush et al., 2003 ; Excoffier et al., 2005), avec 10 permutations indépendantes en fonction de la valeur K (nombre de clusters) allant de 1 à 20. La méthodologie suivie pour la caractérisation moléculaire a été décrite précédemment (Abdessemed et al., 2015).

## RESULTATS ET DISCUSSION

### ✓ la caractérisation morphologique

Les résultats des données morphologiques sont résumés dans le tableau 02. L'étude phénotypique basée sur les traits des différents organes de l'olivier a permis de révéler un polymorphisme inter cultivar, de caractériser et d'établir une fiche descriptive préliminaire pour chaque cultivar. L'examen des données de l'ACP (Figure 01) fait ressortir une variabilité de 79%, associé respectivement aux axes : 1, 2 et 3. Ceci indique une variabilité moyenne entre les cultivars sur le plan morphologique avec des valeurs propres de (4,52), (2,3) et (1,9) respectivement pour l'axe 1, 2 et 3. Nous avons 41% de variabilité total expliquée par la CP1. En effet, sur les vingt-trois descripteurs utilisés seuls neuf descripteurs quantitatifs (V1 : longueur de la feuille, V3 : rapport longueur/ largeur de la feuille, V5 : largeur du fruit, V6 : rapport longueur/ largeur du fruit, V7 : poids du fruit, V8 : longueur endocarpe, V9 : largeur endocarpe, V10 : rapport longueur/ largeur endocarpe et V11 : poids endocarpe) et sept descripteurs qualitatifs relatifs à l'endocarpe se sont avérés les discriminants et contribuent le plus dans la variabilité entre les cultivars étudiés.

**Tableau 02** : Moyenne  $\pm$  déviation standard et analyse ANOVA des paramètres morphologiques de sept cultivars d'Algérie.

	Paramètres morphologiques	Abréviation	Agchren de Titest	Aguenaou	Limeli	Blanquette de Guelma	Sigoise	Chemlal	Rougette de Mitidja	Moy CV%
<b>Feuille</b>	Longueur (mm)	V <sub>1</sub>	55,94 $\pm$ 3,25	60,16 $\pm$ 3,79	56,83 $\pm$ 0,30	46,83 $\pm$ 0,23	50,62 $\pm$ 3,32	70,19 $\pm$ 0,91	51,08 $\pm$ 0,72	3%
	Largeur (mm)	V <sub>2</sub>	14,25 $\pm$ 2,89	14,40 $\pm$ 2,01	16,67 $\pm$ 1,52	14,23 $\pm$ 1,20	12,78 $\pm$ 0,77	14,37 $\pm$ 0,73	13,24 $\pm$ 0,43	9%
	Forme (L/l)	V <sub>3</sub>	4,19 $\pm$ 0,80	4,43 $\pm$ 0,39	3,52 $\pm$ 0,35	3,37 $\pm$ 0,32	4,02 $\pm$ 0,53	4,95 $\pm$ 0,20	3,94 $\pm$ 0,10	10%
<b>Fruit</b>	Longueur (mm)	V <sub>4</sub>	19,97 $\pm$ 0,54	22,93 $\pm$ 0,86	15,58 $\pm$ 1,38	17,96 $\pm$ 0,82	19,31 $\pm$ 1,17	16,05 $\pm$ 0,39	18,25 $\pm$ 0,47	5%
	Largeur (mm)	V <sub>5</sub>	13,73 $\pm$ 0,58	14,61 $\pm$ 1,50	7,79 $\pm$ 1,94	12,64 $\pm$ 1,39	14,43 $\pm$ 1,21	9,63 $\pm$ 0,55	11,84 $\pm$ 0,28	9%
	Forme (L/l)	V <sub>6</sub>	1,46 $\pm$ 0,02	1,60 $\pm$ 0,158	1,95 $\pm$ 0,25	1,42 $\pm$ 0,10	1,34 $\pm$ 0,04	1,68 $\pm$ 0,13	1,54 $\pm$ 0,01	6%
	Poids (g)	V <sub>7</sub>	2,76 $\pm$ 0,25	3,42 $\pm$ 0,39	0,62 $\pm$ 0,39	1,96 $\pm$ 0,38	2,74 $\pm$ 0,46	1,05 $\pm$ 0,09	1,76 $\pm$ 0,09	19%
<b>Endocarpe</b>	Longueur (mm)	V <sub>8</sub>	15,91 $\pm$ 0,69	16,83 $\pm$ 0,05	13,75 $\pm$ 0,13	15,43 $\pm$ 0,87	14,30 $\pm$ 0,12	14,09 $\pm$ 0,81	15,07 $\pm$ 0,39	3%
	Largeur (mm)	V <sub>9</sub>	7,91 $\pm$ 0,35	12,13 $\pm$ 0,63	6,42 $\pm$ 0,08	6,45 $\pm$ 0,39	7,71 $\pm$ 0,10	6,84 $\pm$ 0,16	6,47 $\pm$ 0,14	3%
	Forme (L/l)	V <sub>10</sub>	2,01 $\pm$ 0,007	2,02 $\pm$ 0,19	2,14 $\pm$ 0,009	2,39 $\pm$ 0,006	1,84 $\pm$ 0,02	2,02 $\pm$ 0,04	2,33 $\pm$ 0,11	3%
	Poids (g)	V <sub>11</sub>	0,59 $\pm$ 0,05	0,64 $\pm$ 0,03	0,34 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,06	0,55 $\pm$ 0,01	0,45 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,01	7%

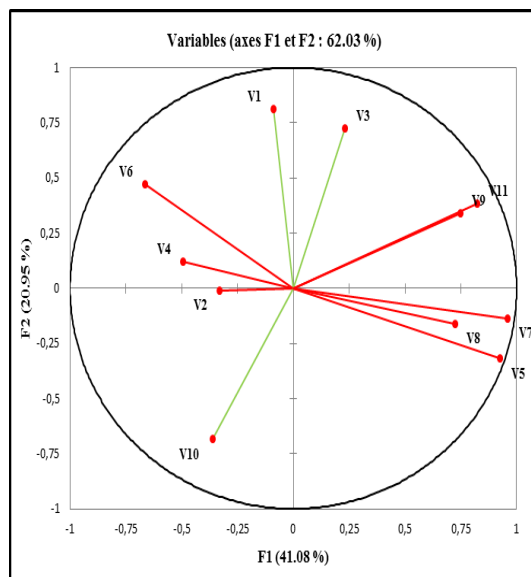


Figure 1 : ACP appliqué aux données morphologiques

Les résultats de la classification ascendante hiérarchique avec la méthode UPGMA des données morphologiques sur base de la distance euclidienne, produit un dendrogramme représentant le regroupement des 7 cultivars. En fait, la figure 02 montre trois groupes: le 1er groupe (Agchren de titest, Aguenau, Blanquette de Guelma, Sigoise et Rougette de Mitidja) comprend des cultivars avec des fruits et des endocarpes de grandes tailles utilisés pour la production d’huile d’olive ou ayant une double utilisation (Huile et olive de table). Pour le 2ème et le 3ème groupes ils sont composés d’un seul cultivar : Limeli et Chemlal, respectivement.

Ces cultivars sont caractérisés par des feuilles longues, des fruits et des endocarpes de petites tailles à vocation de production d’huile.

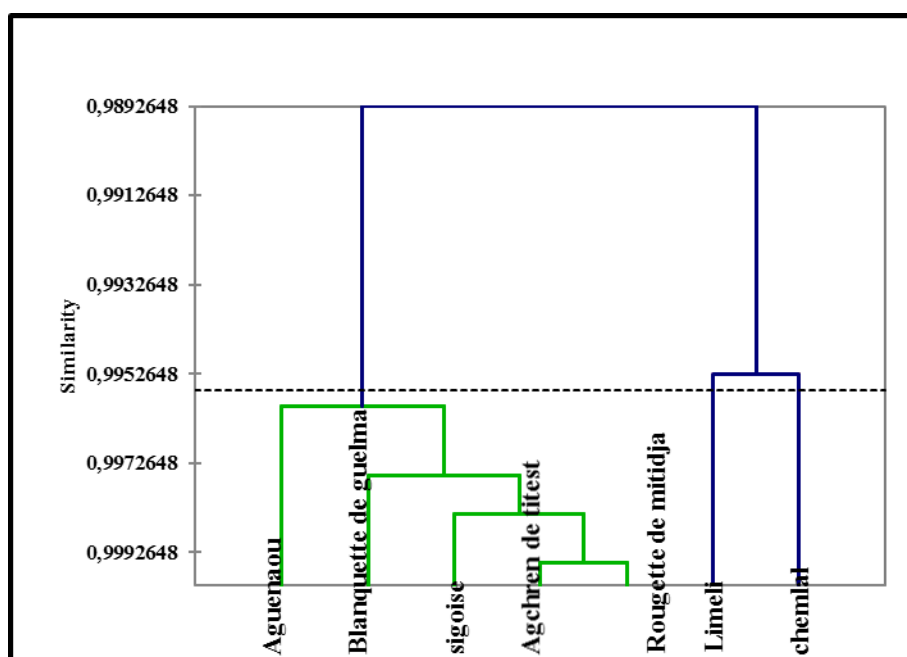


Figure 2 : Dendrogramme pour les 7 cultivars par la méthode CAH

## ✓ La caractérisation biochimique de l'huile monovariétale

### 1. Indices de qualité de l'huile d'olive

#### 1.1 Acidité

Les teneurs de l'acidité libre des échantillons analysés sont exprimés en pourcentage d'acide oléique et illustrés sur la figure 3. Les valeurs se situent entre 0,073 et 0,221%. Toutes les huiles analysées se classent dans la catégorie « extra vierge » (norme du COI : acidité <0,8%). L'huile du cultivar Rougette de Mitidja a exprimé les teneurs d'acidité les plus faibles contrairement à celle du cultivar Limli qui a enregistré les teneurs d'acidité les plus élevées. Selon El Antari et *al.*, (2000), dans les conditions où les olives sont récoltées à la main et transformées directement sans procéder au stockage, l'acidité de l'huile ne devrait guère dépasser 0,5 %, ce qui est le cas de nos huiles extraites. Les huiles de nos cultivars sont moins acides que les huiles des variétés tunisiennes analysées par Zarrouk et *al.*, (2008), pour lesquelles l'acidité libre est comprise entre 0,38 et 0,41% d'acide oléique. Par contre, elles sont proches des huiles des variétés espagnoles Picual, Cornicabra, Manzanilla, Arbequina et Local dont les valeurs sont comprises entre (0,10 et 0,25 %) (Pardoet *al.*, 2007) et des variétés d'huiles européennes introduites en Tunisie ainsi que la variété tunisienne Chemlali dont les teneurs varient entre (0,11 et 0,28 %) (Dabbou et *al.*, 2010).

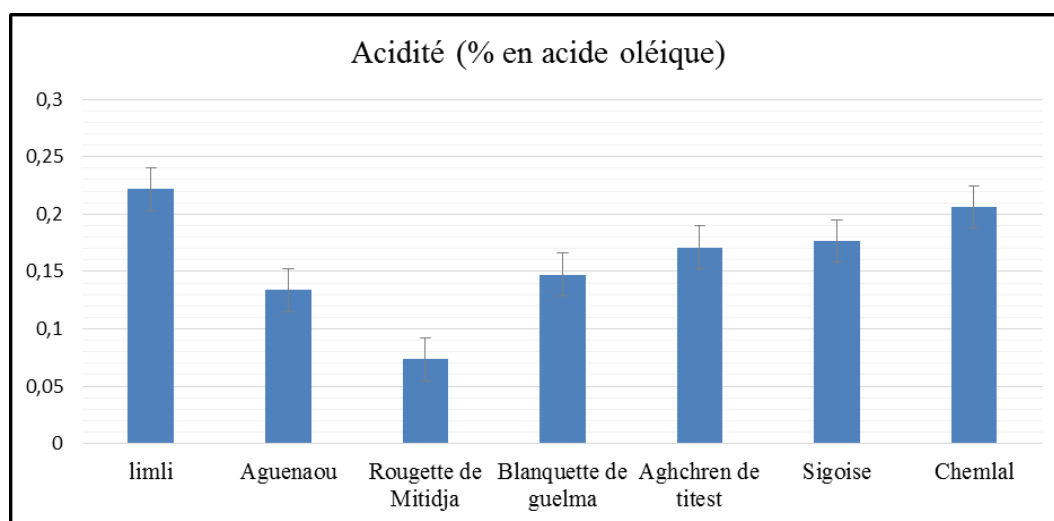


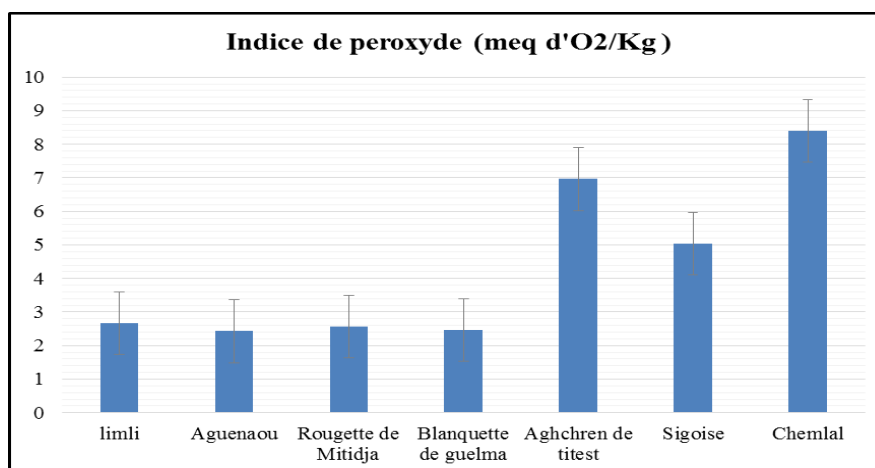
Figure 3 : Acidité des différents échantillons

#### 1.2 Indice de peroxyde

Les huiles analysées montrent des indices de peroxyde qui oscillent entre 2,4 meq d'O<sub>2</sub>/Kg pour les cultivars Aguentaou et Blanquette de guelma, et de 8,4 meq d'O<sub>2</sub>/Kg pour le cultivar Chemlal (Figure 4). En comparant ces valeurs à celles de la norme commerciale du COI, on constate également que tous les échantillons analysés sont conformes à la norme ce qui permet aussi de classer nos huiles dans la catégorie « extra vierge » (IP ≤ 20).

Nos résultats indiquent des indices de peroxyde proches de ceux enregistrés pour les huiles des variétés tunisiennes Chétoui, Jarboui, AinJarboua, NebJmel, Rekhami, Regregui qui varient entre 2,63 et 7,90 meq d'O<sub>2</sub>/Kg (Haddada et *al.*, 2008) et des variétés espagnoles Picual, Hojiblanca et Arbequina (4,30 et 7,5 meq d'O<sub>2</sub>/Kg) (Gutiérrez et *al.*, 2002).



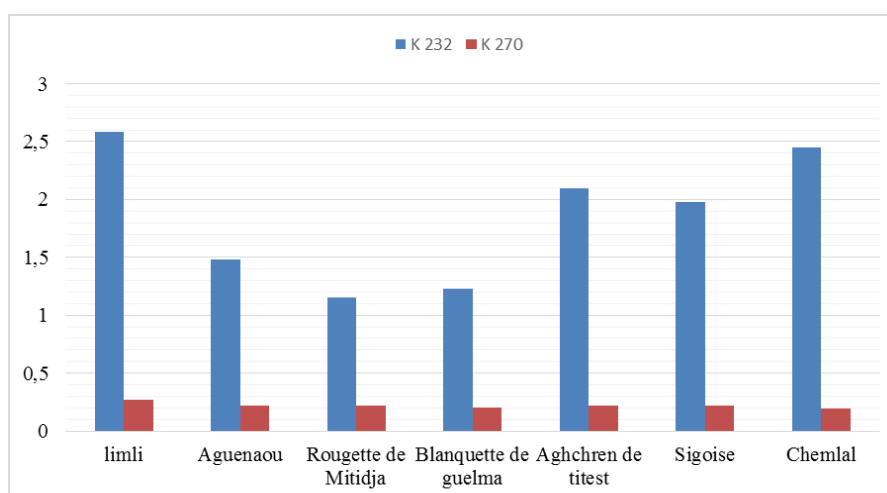


**Figure 4** : Indices de peroxyde des différents échantillons

Nos résultats indiquent des indices de peroxyde proches de ceux enregistrés pour les huiles des variétés tunisiennes Chétoui, Jarboui, AinJarboua, NebJmel, Rekhami, Regregui qui varient entre 2,63 et 7,90 meq d'O<sub>2</sub>/Kg (Haddada et al., 2008) et des variétés espagnoles Picual, Hojiblancaet Arbequina (4,30 et 7,5 meq d'O<sub>2</sub>/Kg) (Gutiérrez et al., 2002).

### 1.3 Absorbance dans l'ultraviolet

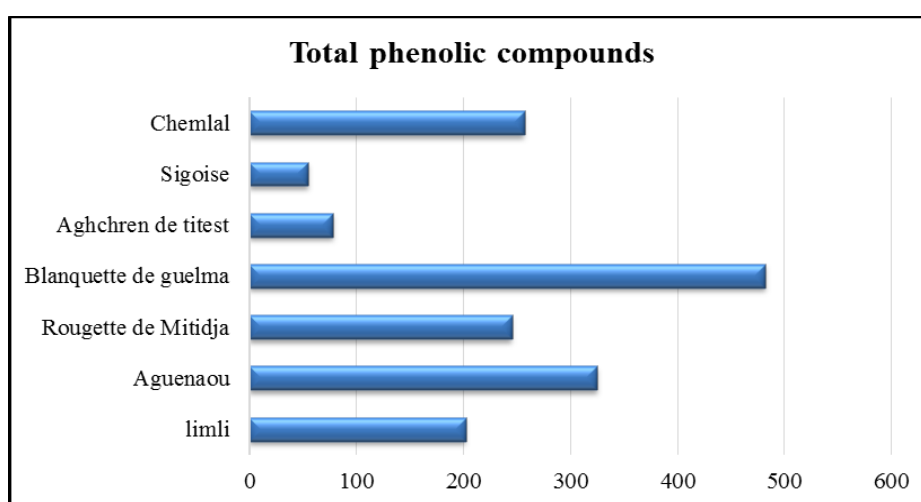
Les valeurs les plus élevées du coefficient K<sub>232</sub> sont relevées pour le cultivar Limeli (2,58) et Chemlal (2,45) et la valeur la plus basse est enregistrée pour les cultivars Rougette de Mitidja (1,15) et Blanquette de Guelma (1,23). Quant au coefficient K<sub>270</sub>, les valeurs obtenues se situent entre 0,205 pour le cultivar Blanquette de Guelma et 0,269 pour le cultivar Limeli. Les échantillons d'huile présentent tous des coefficients d'extinction spécifique dans l'UV (K<sub>232</sub>, K<sub>270</sub>) égales aux limites établies par le COI (2003) pour une huile d'olive extra-vierge (K<sub>232</sub> ≤ 2,5 et K<sub>270</sub> ≤ 0,22). Les résultats que nous avons obtenus (Figure 5) sont similaires ceux enregistrés pour les variétés européennes introduites en Tunisie Ascolana Tenera, Koroneiki et Picholine et qui varient entre 1,6 et 2,8 (pour le coefficient K<sub>232</sub>) et entre 0,1 et 0,2 (pour coefficient K<sub>270</sub>) (Dabbou et al., 2010). De même, les variétés grecques indiquent des valeurs de (1,20 à 2,40) pour le coefficient K<sub>232</sub> et (0,07 à 0,20) pour coefficient K<sub>270</sub> (Blekas et al., 2002).



**Figure 5** : Coefficient d'extinction spécifique à 270 nm et 232nm

## 2. Détermination des phénols totaux par HPLC

Les teneurs en polyphénols totaux diffèrent significativement ( $p < 0,05$ ) d'un cultivar à un autre (Figure 6). Les teneurs les plus élevées sont enregistrées pour les cultivars *Blanquette de Guelma* (482 mg/kg) et *Aguenaou* (325 mg/kg), alors que les valeurs les plus faibles sont obtenues pour les cultivars *Aghchren de titest* (78 mg/kg) et *Sigoise* (55 mg/kg). En fait, les variations des teneurs des polyphénols peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs à savoir la maturité des olives, le stockage avant la trituration des olives, la méthode de fabrication, mais elles dépendent également de la variété cultivée et de la zone géographique (Garcia et al., 2003) (effet du terroir). Généralement, la concentration en phénols dans l'huile d'olive varie de 1g/kg à 800 mg/kg (Visioli et al., 2002). Des concentrations supérieures à 500 mg/kg ont été signalées (Montedero et al., 1993), alors que d'autres indiquent des concentrations qui varient entre 100 et 800 mg/kg (Maestro et al., 1993). La teneur en phénols est de 232 mg/kg pour l'huile d'olive vierge extra et de 62 mg/kg pour l'huile raffinée (Owen et al., 2000).



**Figure 6 :** Teneurs en polyphénols totaux des différents échantillons d'huiles

Les résultats que nous avons obtenus pour les teneurs en polyphénols totaux sont relativement proches de celles des variétés italiennes (Baiano et al., 2009), pour lesquelles les teneurs en polyphénols sont comprises entre 133,68 et 322,18 mg/kg, et des variétés turques étudiées dont les teneurs en polyphénols varient entre 75,46 et 333,37 mg/kg (Ocakogulu et al., 2009). Cependant, les teneurs en polyphénols totaux de nos cultivars sont supérieures à celles des variétés espagnoles (Ceci et Carelli, 2007), et aux variétés cultivées en Argentine (*Picual*, *Barnea*, *Empeltre*, *Manzanilla Californiana* et *Manzanilla Criolla*) et dont les teneurs varient de 37,2 à 93,2 mg/kg, et de 25,3 à 92,7 mg/kg, respectivement.

## 3. Composition en acides gras des huiles par GC/MS

Les résultats obtenus pour les 7 échantillons analysés par chromatographie en phase gazeuse sont présentés dans le tableau 3. Ces résultats montrent des teneurs répondant aux normes établies par le COI (2003) pour les huiles d'olive extra vierge. Cette composition acide est variable, en effet l'acide le plus dominant est l'acide oléique, toutes les huiles étudiées enregistrent des taux supérieurs à 60%.

**Tableau 3.** Moyenne Moyenne  $\pm$  déviation standard des caractéristiques physico-chimiques des huiles olive

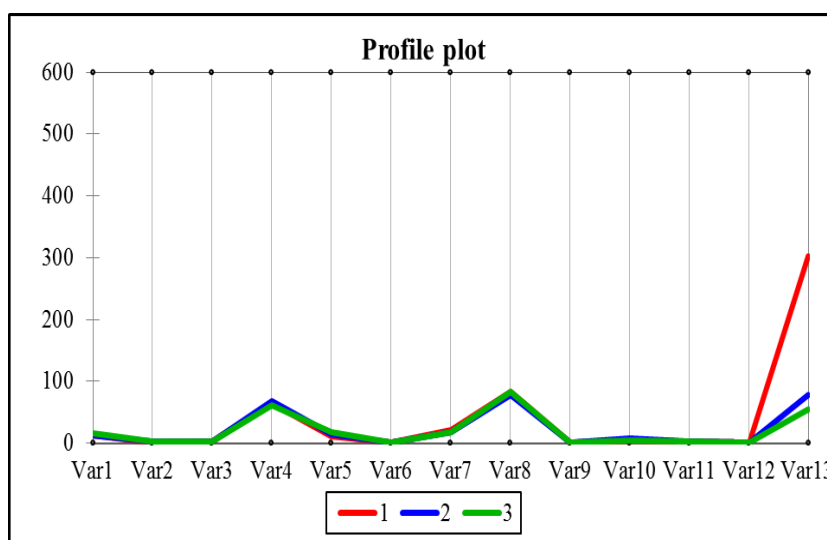
Indice de qualité	Agchren de Titest	Aguentaou	Limeli	Blanquette de Guelma	Sigoise	Chemlal	Rougette de Mitidja	EVOO
Acidité (%acide oleique)	0,22 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,020	0,073 $\pm$ 0,023	0,15 $\pm$ 0,019	0,171 $\pm$ 0,002	0,177 $\pm$ 0,51	0,206 $\pm$ 0,08	$\leq$ 0,8
Indice de Peroxyd (meq O <sub>2</sub> /kg)	2,67 $\pm$ 0,25	2,43 $\pm$ 0,06	2,57 $\pm$ 0,058	2,467 $\pm$ 0,058	6,967 $\pm$ 0,80	5,03 $\pm$ 0,71	8,40 $\pm$ 0,10	$\leq$ 20
K <sub>232</sub>	2,58	1,48	1,15	1,23	2,1	1,98	2,45	$\leq$ 2,5
K <sub>270</sub>	0,269	0,221	0,22	0,205	0,22	0,22	0,19	$\leq$ 0,22

**Tableau 04:** Compositions d'acides gras (%) d'huiles d'olive extra-vierges algériennes

Cultivar	C16 :0 Palmitique acide	C16 :1 palmitoleic acide	C18 :0 stéarique acide	C18 :1 oléique acide	C18 :2 Linoléique acide	C18 :3 Linoléénique acide	AGS : acide gras saturé	AGI : Acide gras insaturé	C18 :1/C18 :2	AGI/AGS
Limli	15,79	1,55	2,64	63,94	11,44	0,76	19,44	78,81	5,59	4,054
Aguentaou	10,04	0,92	2,38	63,14	5,79	0,76	<b>37,85</b>	80,54	10,91	<b>2,127</b>
Rougette de Mitidja	12,06	1,33	2,82	<b>70,09</b>	3,41	0,88	16,25	<b>87,27</b>	<b>20,52</b>	5,371
Blanquette de guelma	12,33	0,93	2,98	60,12	<b>17,58</b>	0,82	11,60	83,26	3,49	7,175
Aghchren de titest	12,04	1,92	<b>3,38</b>	67,44	13,79	0,79	17,82	78,45	4,89	4,402
Sigoise	15,20	<b>2,70</b>	1,90	62,00	17,30	<b>0,90</b>	17,10	82,90	3,58	4,84795322
Chemlal	<b>16,44</b>	2,02	1,85	65,50	13,96	0,62	18,45	81,58	4,69	4,42168022

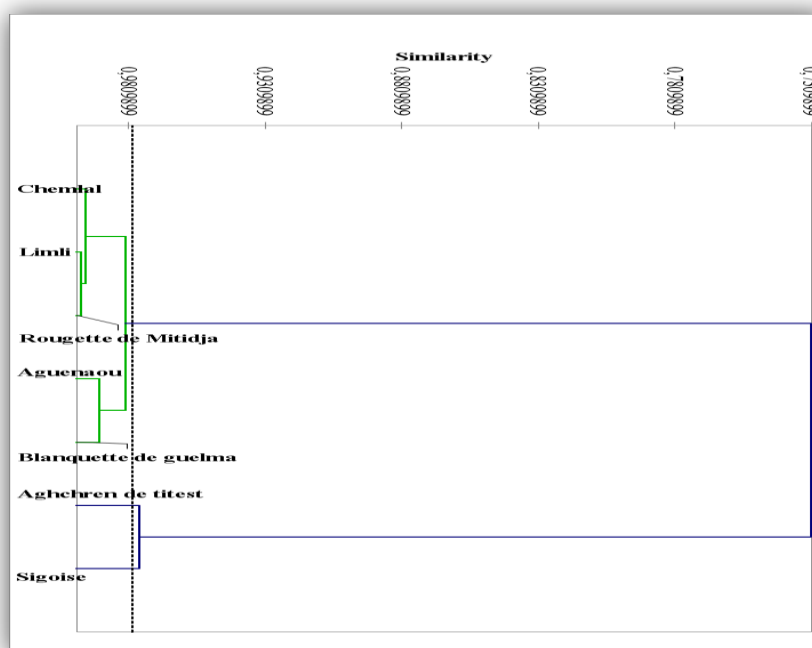
Les taux en acide oléique et linoléique trouvés dans nos cultivars sont très proches de ceux obtenus pour des variétés marocaines (El Antari *et al.*, 2003), des variétés tunisiennes (Haddada *et al.*, (2007) et des variétés turques (Gurdeniz *et al.*, 2008). Mais ces taux sont supérieurs aux teneurs des variétés *Chemlali* et *Chétoui* de Sousse et de Sfax (Guerfel *et al.*, 2009) et de la variété espagnole *Arbequina* (Allalout *et al.*, 2009) et inférieurs à ceux enregistrés par , pour des variétés espagnoles (*Picual*, *Cornicabra*, *Manzanilla*, *Arbequina*, *Local*) (Pardo *et al.*, 2007).

Les résultats des analyses statistiques de l'huile d'olive réalisées (Figure 7) ont indiqué que sur treize variables analysées seuls trois paramètres : le taux en acide oléique, le taux en AGI et la teneur en polyphénols totaux sont discriminants.



**Figure 7** : Les paramètres les plus discriminants (Var4 : le taux en acide oléique, Var 8 : le taux en acide gras insaturé, Var13 : la teneur en polyphénols totaux)

Ainsi nous visualisant trois groupes distincts (figure 8), le premier groupe comprend : *Limeli*, *Aguaou*, *Rougette de Mitidja*, *Blanquette de Guelma* et *Chemlal*. Ces derniers ont enregistrés les taux les plus élevés en polyphénols totaux (202- 482 mg/kg), un pourcentage assez important en AGI (80-87%) et un taux moyen d'acide oléique. Par contre, le deuxième groupe, représenté par *Agchren de Titest*, caractérisé par une huile ayant le pourcentage le plus faible en AGI, un taux moyen d'acide oléique et un faible taux en polyphénols. Le troisième groupe, composé par la *Sigoise*, caractérisé par l'huile la plus riche en AGI et le taux le plus faible en biophénols.



**Figure8 :** Dendrogramme des 7 cultivars par la méthode CAH pour les paramètres de l'huile d'olive

#### ✓ la caractérisation moléculaire

L'analyse moléculaire des 26 cultivars par les marqueurs SSR a permis de les distinguer d'une manière précise. Au total, 129 allèles ont été amplifiés de façon reproductible. Les résultats de la diversité moléculaire ont révélé des groupes de cultivars partiellement isolés les uns des autres, où neuf pools génétiques ont été identifiés, par le logiciel STRUCTURE (Abdessemed et al., 2015). Le nombre moyen d'allèles obtenus est de 11,72 et est légèrement supérieur à celui enregistré dans d'autres études (Cicatelli et al., 2013, Trujillo et al., 2013 ; Diez et al., 2014 ; Haouane et al., 2011 ; Chalak et al., 2014 ; Muzzalupo et al., 2014). Ces résultats indiquent que le germoplasme de l'olivier algérien comporte une importante diversité génétique. Les résultats ont permis d'identifier trois marqueurs, GAPU103A, DCA9 et UDO43, dont la combinaison des profils génétiques a permis la séparation de 20 cultivars sur les 26 étudiés, et qui peuvent être considérés comme des marqueurs génétiques qui ont un pouvoir de discrimination élevé. Ce constat a été rapporté pour les mêmes loci dans différentes études sur le génotypage d'olivier dans différents pays méditerranéens (Belaj et al., 2003; Bandelj et al., 2004; Alba et al., 2009; D'Imperio et al., 2011).

Dans notre étude aucun cas de synonymie n'a été détecté, ce qui corrobore l'exactitude de la désignation des génotypes et le niveau de polymorphisme dans les cultivars étudiés. Par contre, un cas d'homonymie, celui du cultivar *Chemlal*. Les accessions de ce cultivar ont été regroupées dans deux groupes différents, probablement en raison de leurs origines géographiques différentes (Batna et Kabylie).

## CONCLUSION

Une collection de géotypes caractérisés constitue une source de richesse pour les programmes d'amélioration végétale et la création de collection de référence. Le présent travail a permis de déterminer des descripteurs phénotypiques, des marqueurs biochimiques et moléculaires discriminants. L'utilisation de l'outil moléculaire a permis de distinguer facilement entre des cultivars ayant la même utilisation, c'est-à-dire, en fruits de consommation, production d'huile ou à double usage (fruit/huile). L'expression du phénotype est influencée par l'environnement, les tests moléculaires nous donnent une preuve incontestable de la variabilité conservée dans les cultivars algériens ainsi que la détection d'allèles uniques. Enfin, l'évaluation de la diversité phénotypique et moléculaire de certains cultivars algériens ainsi que leurs huiles, constituent non seulement une contribution scientifique importante mais peuvent être utilisés comme un outil d'orientation pour les oléiculteurs.

### ***Éléments phares pour le développement de cette culture et booster l'exportation de produits de qualité aux normes européennes***

#### *En matière de plantation de nouvelles aires de commercialisations nationales et exportation*

✓ Les critères de la qualité et d'authenticité pour différents types d'huile sont décrits par la réglementation européenne EUC / 1348/13 et IOC / 2015. Il est impératif de procéder à la détermination de ces différents critères pour les huiles algériennes destinées à des fins d'exportation. En ce sens, il serait judicieux de mettre en place un programme de plantation (et/ou le fortifier pour certaines régions) des cultivars possédant une qualité d'huile répondant aux normes internationales. En effet, la démarche de plantation des nouvelles oliveraies dans certaines régions se fait d'une manière presque aléatoire sans aucune étude des conditions pédoclimatiques ni sur un choix réfléchi des cultivars à planter.

✓ Le développement d'outils stratégiques pour la certification de l'huile en dotant les structures étatiques et/ou privées par les laboratoires et la formation du personnel technique.

✓ Mettre en place des outils pour certifier l'origine variétale des aliments (VOO et olives de table).

#### *En matière de valorisation et conservation du patrimoine*

✓ Une fois notre patrimoine caractériser et identifier génétiquement, il est impératif de procéder, pour certains cultivars importants, à la protection des appellations d'origine protégée (AOP) (Protected Designation of Origin) des ressources génétiques et d'autres produits de niche.

✓ Lancement de projets de recherche visant à la triple caractérisation de tout le patrimoine oléicole avec les descripteurs phénotypiques, biochimiques et moléculaires identifiés discriminants.

✓ Prioriser les thématiques de recherche axées sur la lutte contre le stress biologique, l'étude des biomolécules et à la valorisation des sous-produits et des déchets de l'oléiculture.

## REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cet article ont été effectués au Laboratoire de biologie moléculaire et le laboratoire de qualité analyse du Centre de recherche en Biotechnologie à Constantine ainsi qu'au laboratoire du CRA-Oli, Italie.

Je tiens à remercier vivement mon maître de formation Dr Bernard CHINA pour m'avoir initié à la biologie moléculaire, pour le temps passé ensemble et le partage de son expérience au quotidien. Au Directeur Générale de l'Institut technique de l'Arboriculture Fruitière et de la Vigne « ITAFV » Mr Mahmoud MENDIL, Mr Ahmed SEBAI, Mme Kessiri pour leur support et orientation. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Boughedda Samira, Boumegoura Ali, Belabed Zoubida, Amamra Imen, Bourasse Ali, Belaidi Amine, Boukebousse Khaled, Ouffrooukh Karima et Derdour Mouna, pour leur soutien et les aides prodigués ainsi que pour les relations amicales, conviviales, fraternelles et professionnelles tissées en dehors et au sein du laboratoire.

## RÉFÉRENCES

- Abdessemed, S., (2017). Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea*. L dans la région des Aurès. Thèse de doctorat en sciences.
- Abdessemed, S., Muzzalupo, I. Benbouza H. (2015). Assessment of genetic diversity among Algerian olive (*Olea europaea* L.) cultivars using SSR marker. *Sci Hort* 192:10–20.
- Alba, V., Montemurro, C. Sabetta, W. Pasqualone, A. et Blanco, A. (2009). SSR-base identification key of cultivars of *Olea europaea* L. diffused in Southern-Italy. *Scientia Horticulturae* (123): 11–16.
- Alloum, D., 1974.
- Allalout, A. Krichène, D. Methenni, K. Taamalli, A. Oueslati, I. Daoud, D. and Zarrouk, M. (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 120: 77-83.
- Alloum, D. (1974). L'oléiculture algérienne. *L'olivier*. Paris : CIHEAM, p. 45-48. (Options Méditerranéennes) : n. 24). <http://om.ciheam.org/om/pdf/r24/CI010572.pdf>.
- Angiolillo, A. Mencuccini, M. et Baldoni, L. (1999). Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms. *Theoretical and Applied Genetics*, (98) : 411–421.
- Baiano, A. Gambacorta, G. Terracone, C. Previtali, M.A. Lamacchia, C. and La Notte, E. (2009). Changes in phenolic content and antioxidant activity of Italian extra-virgin olive oils during storage. *Journal of Food Science*, 74(2): 177-183.
- Bandelj, D. Jakše, J. Javornik, B. (2004). Assessment of genetic variability of olive varieties by microsatellite and AFLP markers. *Euphytica* 136:93–102.
- Barranco, D. Trujillo, I. et Rallo, P. (2000). Are Oblonga and Frantoio olive the same cultivar. *Horticultural Science* 35:6.
- Bartolini, G. (2008). *Olea* databases. Valable sur le site: <http://www.oleadb>
- Belaj, A , Trujillo, I. de la Rosa, R. et Rallo, L. (2001). Polymorphism and discrimination capacity of randomly amplified polymorphic markers in an olive germplasm bank. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 126, 64-71.
- Belaj, A , Satovic, Z. Rallo, L. et Trujillo, I. (2002). Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. *Theor Appl Genet* (2002) 105:638–644.
- Benbouza, H. Baudoin, J.P. et Mergeai, G. (2006). Amélioration de la méthode d'extraction d'ADN au CTAB appliquée aux feuilles de cotonnier. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, (10) : 73-76.

- Besnard, G. Khadari, B. Villemur, P. Bervillé, A. (2000). Cytoplasmic male sterility in the olive (*Olea europaea* L.) Theoretical and Applied Genetics. 100, 1018–1024.
- Besnard, G. Khadari, B. Baradat, P. et Bervillé, A. (2002). *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. Theor. Appl. Genet. 104, 1353–1361.
- Besnard, G. et Bervillé, A. (2002). On chloroplast DNA variations in the olive (*Olea europaea* L.) complex: comparison of RFLP and PCR polymorphisms. Theor. Appl. Genet. 104, 1157–1163.
- Blekas, G. Psomiadou, E. Tsimidou, M. and Boskou, D. (2002). On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. European Journal of Lipid Science and Technology, 104: 340–346.
- Blondel, et Aronson (1995). Plant Life in the World's Mediterranean Climates.
- Bracci, T. Sebastiani, L. Busconi, M. Fogher, C. Belaj, A. et Trujillo, I. (2009). SSR markers reveal the uniqueness of olive cultivars from the Italian region of Liguria. Sci Hortic (122):209–215.
- Bracci, T. Busconi, M. Sebastiani, L. et Fogher, C. (2011). Molecular studies in olive (*Olea europaea* L.): overview on DNA markers applications and recent advances in genome analysis. Plant Cell Report, Vol.30, pp. 449–462.
- Camps-Farber, H. (1974). L'olivier et son importance économique dans l' Afrique antique. L'olivier. Paris : CIHEAM (Options méditerranéennes n°24).
- Cantini, C. Cimato, A. Autino, A. Redi, A. et Cresti, M. (2008). Assessment of the tuscan olive germplasm by microsatellite markers reveals genetic identities and different discrimination capacity among and within cultivars. Sci Hortic 133: 598-604.
- Ceci L.N. and Carelli A.A. 2007. Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. Journal of American Oil Chemist's Society, 84: 1125-1136.
- Chabour M, 2003. Olive oil extraction methods in Algeria: changes and surviving traditions. Olivae 99: 50-55.
- Chalak, L. Haouane, H. Essalouh, L. (2015). Extent of the genetic diversity in Lebanese olive (*Olea europaea* L.) trees: a mixture of an ancient germplasm with recently introduced varieties. Genet Resour Crop Evol 62(4) :621–33.
- Cicatelli, A. Fortunati, T. De Feis, I. (2013). Oil composition and genetic biodiversity of ancient and new olive (*Olea europaea* L.) varieties and accessions of southern Italy. Plant Sci 210:82–92.
- Cimato, A. Cantini, C. Sani, G. Marranci, M. (1997). IL germoplasma dell'olivo i Toscana Regione Toscana-CNR-A.R.S.I.A.
- Cipriani, G. Marazzo, M. Marconi R. Cimato, A. et Testolin, R. (2002). Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars. Theor Appl Genet 104:223–228. COI, 1997
- C.O.I., (1997). Methodology for Primary Characterisation of Olive Varieties, Project RESGEN-CT (67/97), EU/IOC, International Olive Council (IOC).
- C.O.I., (1996). Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/ T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.
- C.O.I., (2003). Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.
- C.O.I., (2009). Production de l'huile d'olive. Conseil Oléicole International.
- Corrado, G. La Mura, M. Ambrosino, O. Pugliano, G. Varricchio, P. et Rao, R. (2009). Relationships of companion olive cultivars: comparative analysis of molecular and phenotypic data. Genome, 52: 692–700.
- Dabbou, S. Rjiba, I. Nakbi, A. Gazzah, N. Issaoui, M. and Hammami, M. (2010). Compositional quality of virgin olive oils from cultivars introduced in Tunisian arid zones in comparison to Chemlali cultivars. Scientia Horticulturae, 124: 122–127.
- Demnati, D. (2008). Facteurs affectant la qualité d'une huile d'olive vierge. AV. Hassan II (Rabat): Technologie Alimentaire, Analyse Sensorielle et Gestion de la Qualité. Royaume du Maroc.
- Dièz, M. Trujillo, I. Barrio, E. Belaj, A. et Barranco, D. (2011). Centennial olive trees as a reservoir of genetic diversity. Annals of Botany (108): 797–807.



- D'Imperio, M. Viscosi, V. Scarano, M. D'Andrea, M. Zullo, B.A. et Pilla, F. (2011). Integration between molecular and morphological markers for the exploitation of olive germplasm (*Olea europaea*). *Sci Hort* 130:229–240.
- El Antari, A. Hilal, A. Boulouha, and El Moudni, A. (2000). Etude de l'influence de la variété, de l'environnement et des techniques culturales sur les caractéristiques des fruits et la composition chimiques de l'huile d'olive vierge extra au Maroc. *Olivae*, 80: 29-36.
- El Antari, A. El Moudni, A. and Ajana, H. (2003). Evolution comparative de la qualité et de la composition acide de l'huile d'olive chez quelques variétés méditerranéennes cultivées au Maroc. *Olivae*, 95: 26-31.
- Excoffier, L. Estoup, A. Cornuet, J.M. (2005). Bayesian analysis of an admixture model with mutations and arbitrarily linked markers. *Genetics* 169, 1727–1738.
- Falush, D., Stephens, M., Pritchard, J.K., 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164, 1567–1587.
- FAO, (2016). Food and Agriculture organization of the United Nations, Événement spéciale : sécurité alimentaire et diversité génétique.
- FAOSTAT, (2014). Food and Agriculture organization of the United Nations, <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Garcia, A. Brenes, M. Garcia, P. Romero, C. et Garrido, A. (2003). Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology*. 216 (6) : 520-525.
- Guerfel M., Ouni Y., Taamalli A., Boujnah D., Stefanoudaki E. and Zarrouk M. 2009. Effect of location on virgin olive oils of the two main Tunisian olive cultivars. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111: 926–932.
- Guillaume, Bauchet. and Mathilde, Causse, (2012). Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives, *Genetic Diversity in Plants*, Prof. Mahmut Caliskan (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/33073.
- Gurdeniz, G. Ozen, B. and Tokatli, F. (2008). Classification of Turkish olive oils with respect to cultivar, geographic origin and harvest year, using fatty acid profile and mid-IR spectroscopy. *European Food Research & Technology*, 227:1275-1281.
- Gutiérrez F., Villafranca, M.J. and Castellano, J.M. (2002). Changes in the Main Components and Quality Indices of Virgin Olive Oil During Oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(7) : 669-676.
- Haddada, F.M. Manai H. Oueslati, I. Daoud, D. Sanchez, J. Osorio, E. and Zarrouk, M. (2007). Fatty acid, triacylglycerol, and phytosterol composition in six Tunisian olive varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55:10941-10946.
- Haddada, F.M. Krichène, D. Manai, H. Oueslati, I. Daoud, D. and Zarrouk, M. (2008). Analytical evaluation of six monovarietal virgin olive oils from Northern Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110: 905-913.
- Hauville, A. (1953). La répartition des variétés d'olives en Algérie et ses Conséquences pratiques. *Bulletin de la société des Agriculteurs d'Algérie*, 580.
- Haouane, H. El Bakkali, A. Moukhli, A. Tollon, Ch. Santoni, S. Oukabli, A. El Modafar, Ch. et Khadari, B. (2011). Genetic structure and core collection of the World Olive Germplasm Bank of Marrakech: towards the optimized management and use of Mediterranean olive genetic resources. *Genetica* 139:1083–1094.
- Khoumeri, L. (2009). Influence de la photopériode, des milieux de culture et des hormones de croissance sur le développement in-vitro des embryons et des micro-boutures de l'olivier (*Olea europaea* L.) Var Chemlal. Thèse. Ing. 100p.
- Linos, A. Nikoloudakis, N. Katsiotis, A. Hagidimitriou, M. (2014). Genetic structure of the Greek olive germoplasm revealed by RAPD ISSR and SSR markers. *Sci. Hort.* 175, 33–43.
- Loussert, R. et Brousse, G. (1978). L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne Paris: Maisonneuve et Larousse, 128p.

- Loussert, R. Brousse, G. (1978). L'olivier. Techniques agricole et production méditerranéennes(Édit) Maisonneuve et Larousse, paris, France 480p.
- Lumaret, R. Ouazzani, N. Michaud, H. Vivier, G. Deguilloux, MF. Di Guisto, F. (2004). Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean Basin. *Heredity* 92: 343-352.
- Maestro, R. Garcia, J.M. and Castellano, J.M. (1993). Changes in polyphenol content of olive stored in modified atmospheres. *HortScience*, 28 : p1.
- Mendil, M. et Sebai, A. (2006). Catalogue national des variétés de l'olivier.100p.
- Montedoro. G. Servili, M. Baldioli, M. and Miniati, M. (1993). Simple and hydrolysable phenolic compounds in virgin olive oil. 3. Spectroscopic characterizations of the secoiridoid derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 2228- 2234
- Muzzalupo, I. Vendramin, G.G. et Chiappetta, A. (2014). Genetic Biodiversity of Italian Olives (*Olea europaea*) Germplasm Analyzed by SSR Markers. *The Scientific World Journal*, 12 pages.
- Ocakoglu, D. Tokatli, F. Ozen, B. and Korel, F. (2009). Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years. *Food Chemistry*, 113: 401-410.
- Oliveras-Lopez Mj. Innocenti, M. Giaccherini, C. Ieri, F. Romani, A. et Mulinac, N. (2007). Study of the phenolic composition of spanish and italian monocultivar extra virgin olive oils: Distribution of lignans, secoiridoidic, simple phenols and flavonoids. *Talanta*, 73: 726-732.
- Ouazzani, N. Lumaret, R. et Villemur, P. (1995). Apport du polymorphisme alloenzymatique à l'identification variétale de l'Olivier (*Olea europaea* L.). *Agronomie* 15:31–37.
- Owen, R.W. Mier, W. Giacosa, A. Hull, W. E. Spiegelhalder,, B. and Bartsch, H. (2000). Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clinical Chemistry*, 46: 976-988.
- Pardo, J.E. Cuesta, M.A. and Alvarruiz, A. (2007). Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel"(Ciudad Real, Spain).*Food Chemistry*, 100: 977–984.
- Pritchard, J.K. Stephens, M. Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945–959.
- Psyllakis, N. Mikros, L. et Kiritsakis, A. (1980). Caractéristiques Qualitatives de l'Huile d' Olive et les Facteurs qui Influencent sur ces Caractéristiques, Proceedings of the 3rd International Congress on the Biological Value of Olive Oil, Institution of Subtropical and Olive Trees, Chanea, Greece, pp.553–565.
- Rallo P , Dorado G et Martin A, 2000. Development of Simple Sequence Repeats (SSRs) in Olive tree (*Olea europaea* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, Vol.101, pp : 984–989.
- Sokal, R.R. Michener, C.D. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships: *Univ. Kansas Sci. Bull.* 38, 1409–1438.
- Trujello, I. Maria, A Ojeda, Nievs, M. Urdirroz, Potter, D. Barranco, D. Rallo, L. M Diez, C (2013). Identification of world Olive Germoplasm Bank of Cordoba (Sapin) using SSR and morphological markers. *Tree Genetics and Genomes*.
- Trujillo, I. Rallo, L. et Arus, P. (1995). Identifying Olive cultivars by Isozyme Analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120(2):318–324.
- Visioli, F. Poli, A. and Galli, C. (2002). Antioxidand and other biological activities of phenols from olive and olive oil. *Medicinal Research Reviews*, 22 (1) : 65-75.
- Zarrouk, W. Haddada, F.M. Baccouri, B. Oueslati, I. Taamalli, W. Fernandez, Z. Lizzani- Cuvelier L, Daoud D. and Zarrouk M. (2008). Characterization of virgin olive oil from Southern Tunisia. *European Journal of Lipids Science and Technology*, 110: 81-88.