

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Frères Mentouri Constantine1



Faculté des Sciences de la Vie

Département: Biologie et Ecologie Végétale

N° d'ordre : 92/Ds/2018

N° de série : 08/B.Eco/2018

Thèse présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Science

Filière: Biologie Végétale

Spécialité: Biodiversité et Production Végétale

Intitulé :

**Comportements biologique, physiologique, biochimique
et l'activité biologique de quatre variétés d'olivier (*Olea
europaea* L.) dans l'Est Algérien.**

Présenté et soutenu par : Sara Himour épouse Cherrier
Soutenu le: 15 /05 / 2018

Devant le jury

Président :

Baka Mebarek Professeur Université des Frères Mentouri Constantine 1

Rapporteur :

Yahia Abdelouahab Professeur Centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila

Examineurs :

Khelif Douadi Professeur Université des Frères Mentouri Constantine 3

Kadi Kenza MCA Université Abbes Leghrouf Khenchela

Bazri Kamel eddine MCA - Université des Frères Mentouri Constantine 1

Boubendir Abdelhafid MCA Centre universitaire Abdelhafid Boussouf Mila

*Année universitaire
2017 - 2018*

Remerciements

C'est autant de plaisir qu'un devoir de présenter tous ceux qui, chacun dans son domaine, m'ont aidé afin que je puisse mener à bien ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements les plus respectueux.

Ce travail a été réalisé une partie en Algérie (Centre Universitaire Mila) et l'hôpital Ben Tobal Mila et une partie en Turquie (Kahramenmas Sutcu Imam) à Orman Fakultesi Dekanligi..

*J'assure ma profonde gratitude à Mr,
Professeur **Baka Mebarek** de l'Université Frères Mentourie Constantine 1, pour
L'honneur qu'il ma fait de présider le jury d'examen de ma thèse.*

*Mes remerciements vont également à Mr **Khelifi Douadi** Professeur. l'Université Frères Mentourie Constantine 1 , à Mr **Bazri Kamel Eddine** maitre assistant A à l'Université Frères Mentourie Constantine 1, **Boubendir Abdelhafid** Maitre Assistant A au Centre Universitaire Abedlhafid Boussouf Mila et **kadi Kenza** Maitre Assistant A à l' Université Abess Laghrour Khenchla de me fait l'honneur et le plaisir d'avoir accepter d'être examinateurs de mon manuscrit de thèse.*

***Yahia Abdlouahab** Professeur au Centre Universitaire Abedlhafid Boussouf Mila de me fait le plaisir de suivie mon travail en tant que rapporteurs. Merci pour toutes les remarques constructives apportées à ce manuscrit*

*Je remercie également **Benchikou Mohamed Elmoncef** ,
Ex- promoteur de m'avoir donné la plate forme de cette thèse.*

*Je suis très reconnaissante, en particulier, à, Directeur **Haki et ayoub** des enseignants l'Universsité (Kahramenmas Sutcu Imam) à Orman fakultesi Dekanligi de m'avoir accepté de travailler dans leurs laboratoire et Madame **Boulkzeze** chef service de Laboratoire de l'hôpital Ben Tobal Mila, également le directeur de la Station Maazouzi Lekhdar . Je vous remercie énormément*

Dédicaces

*A ceux qui m'ont donné sans rien en retour,
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus difficiles,
Et ceux à qui je dois tant*

*A mes chers parents pour leur amour et leur support continu,
Je vous dois tous mes succès, tous mes bonheurs et toutes mes joies.
Je suis très heureuse et fière de votre présence à mes côtés.
Et j'espère vous honorer par le titre du Docteur.*

*A mon mari et mes enfants Ishak et Chouaib la lumière de mes yeux,
l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie*

*A mes chers frères,
A mes très chères sœurs Roumaïssa et Nedjouda et à mes belles sœurs, beaux frères, toute la belle
famille et à mes adorables nièces et neveux.*

A toute ma famille, mes amie, mes collègues surtout Hakima ,Safa, Nadira.....

*Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde reconnaissance pour
tout ce que vous avez fait pour moi*

Que Dieu le tout puissant vous procure continuellement santé, bonheur et tranquillité.

Liste des abréviations

µl : microlitre

25% : Dilution 1/4

2N : normalité

50%: Dilution de 1/2

ACP Analyse des composants principales

AFIDOL : Association Française Interprofessionnelle de l'Olive.

AlCl₃ Le chlorure d'aluminium

ATCC: American Type Culture Collection.

AVI: Analyse de variance..

AVK: Anti-vitamines K.

BHA Butylhydroxyanisol

BN : Bouillon Nutritif

Chem. Chemlel

Cm: Centimètre..

CML: Cellules musculaires lisses.

COI : Conseil Oléicole International.

CV Coefficient de variation

D.S.A: Direction des Services Agricoles.

Dath: Dathier.

DMSO: Diméthyl sulfoxyde.

DO : Densité optique

DPPH 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

DRDPA : Direction de la régulation et du développement des productions agricoles.,

E. coli: *Escherichia coli*.

EAO nespèces réactives de l'oxygène

EC₅₀ Concentration efficace médiane

Ed: Edition.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FeCl₃ : Chlorure ferrique

Fl: Feuille

Fr: Fruit.

g: Gramme

GN : Gentamicine

h : Heure.

H₂O₂ Le peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

ha: Hectare

HBMP: Héparines de bas poids moléculaire.

HCl : Acide chlorhydrique

hl : Hecto litre

HNF: Héparine non fractionnée.

HOO : radical hydroperoxyde

HPLC La chromatographie en phase liquide à haute performance

HS Hautement significative

ITAF: Institut technique de l'arboriculture fruitière.

J.C: Jésus Christ.

K.pneumoniae, Klebsiella pneumoniae

Kg: Kilo gramme

KI : Iodure de potassium

L. : Linné

L/l : L : longueur / l : largeur

Larg largeurs

LDL: Low Density Lipoprotein.

Long longueur

M mol

m: Mètre.

MH miller Hilton

Mimo mimosa

min : minute

mm: Millimètre.

mqx: Million de quintaux.

MS matière sèche

nm nanometer

NO : oxyde nitrique

Noy Noyaux

O : *Olea*

O₂⁻: anion superoxyde

OH : radical hydroxyle

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

P: Probabilité.

pH: Potentiel hydrique.

Qx : quintaux.

RO : radical alcoxyle

S .typhi, *Salmonella typhimurium*

S. aureus, *Staphylococcus aureus*,

T : Tonne

TQ :temps de Quick.

Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	Carte oléicole mondiale.	05
02	Carte oléicole d'Algérie	07
03	Schéma de la taxonomie du genre <i>Olea</i> (Oleaceae) simplifiée	10
04	Principales parties d'un olivier	11
05	Stade phréologiques d'olivier	14
06	Structure de phénol	19
07	Principaux acides hydroxybenzoïques	20
08	Principaux acides hydroxycinnamiques	21
09	Structure des flavonoïdes	22
10	Structure des tanins condensés et leur monomère	23
11	Structure de l'oleuropéine (a) et du ligstroside (b)	24
12	Situation géographique de la station Maazouzi Lakhdar	33
13	Précipitation de la période d'étude dans le région de Mila	34
14	Température de la période d'étude dans la région de Mila	35
15	Insolation totale mensuelle par H de la période d'étude dans la région de Mila	36
16	Extraction des polyphénols par micro-ondes	48
17	HPLC-DAD	50
18	Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqueté.	52
19	Analyse en composantes principales des paramètres morphologiques des variétés cultivées.	60
20	Classification hiérarchique basée sur la méthode de Ward des quatre cultivars	66
21	pH des feuilles et fruits d'olivier	71
22	Sucre soluble dans les feuilles et fruits d'olivier	74
23	Classification hiérarchique basée sur la méthode de Ward des quatre cultivars selon les composants secondaires des feuilles	77
24	Classification hiérarchique basée sur la méthode de Ward des quatre cultivars selon les composants secondaires des fruits	81
25	Rendements d'extraction des feuilles de quatre variétés	82

26	Rendements d'extraction des fruits de quatre variétés	83
27	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (moyenne \pm SD de trois mesures).	84
28	Courbe d'étalonnage de la quercitine. (moyenne \pm SD de trois mesures).	85
29	Courbe d'étalonnage de Mimosa (moyenne \pm SD de trois mesures).	86
30	Chromatogramme de mélange de références 1-acide Fumarique ,2-acide gallique ,3- (-)Gallocatechin ,4-oleropein ,5-(-) catechine ,6-4- hydroxybenzoïque acide ,7-acide caféique ,8-acide Siringique ,9-acide ellagique , 10-acid t-3 hydroxycinamique	93
31	Chromatogramme de l'extrait des feuilles de quatre variétés d'olivier a 280nm	95
32	Dendrogramme de la dissimilarité entre quatre variétés d'olivier, basé sur les teneurs en composant phénolique dans les feuilles	98
33	Chromatogramme de l'extrait des fruits de quatre variétés d'olivier a 280nm	100
34	Dendrogramme de la dissimilarité entre quatre variétés d'olivier, basé sur les teneurs en composant phénolique dans les fruits	103
35	Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits Méthanolique des feuilles de quatre variétés d'olivier et le BHA	110
36	Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits Méthanolique des fruits de quatre variétés d'olivier et le BHA	112
37	Pouvoir antibactérienne des extraits des fruits contre les souches d'études	121
38	Pouvoir antibactérienne des extraits des feuilles contre les souches d'études	124

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
1	Evaluation de la campagne oléicole 2015/2016à travers les wilayas potentielles -1	08
2	Production d'olive dans la wilaya de Mila	08
3	Bibliographie sur les mécanismes d'action antioxydante des fruits et feuilles d'olivier	27
4	Bibliographie sur les mécanismes d'action antibactérienne des fruits et feuilles d'olivier	29
5	Facteurs de la coagulation plasmatique	30
6	Caractérisation morphologique	38
7	Résultats de l'analyse descriptive de l'ensemble des caractères quantitatifs mesurés pour les quatre cultivars étudiés	58
8	Element du modèle de l'ACP sur les paramètres quantitative des quatre variétés d'études	60
9	Résultats de l'analyse descriptive de l'ensemble des caractères quantitatifs mesurés pour les trois ans d'études	62
10	Caractérisation morphologique et pomologique des quatre variétés (Feuilles, Fruits et Noyaux).	64
11	Matrice de dissimilarité entre les quatre variétés d'olivier en fonction des résultats morphologique	66
12	Suivie des stades phénologique durant l'année des quatre variétés d'études 2015	69
13	Teneur en eaux dans les feuilles, pulpes s et noyaux des quatre variétés d'étude	70
14	Teneur en lipides dans les feuilles et fruits des quatre Variété d'olivier	73
15	Résultats des tests phytochimique sur les extraits et feuilles <i>d'olea europaea</i> L. des quatre variétés (Sigoise, Chemlel, Dathier et Rougette).	75
16	Matrice de la dissimilarité entre les quatre variétés d'olivier en fonction des screening phytochimique des feuilles	77
17	Résultats des tests phytochimique sur les extraits et fruits <i>d'olea europaea</i> L. des quatre variétés (Sigoise, Chemlel, Dathier et Rougette).	78

18	Matrice de la dissimilarité entre les quatre variétés d'olivier en fonction des screening phytochimique des feuilles.	80
19	Teneur en polyphénols totaux (mg/g de poids sec de feuilles et fruits de quatre variété d'olivier).	84
20	Teneur en flavonoïdes (mg/g de poids sec de feuilles et fruits de quatre variété d'olivier	86
21	Teneur en tanine (mg/g de poids sec de feuilles et fruits de quatre variété d'olivier).	87
22	Temps de rétention de la norme utilisée	88
23	Les courbes étalonnages des références HPLC	89
24	Analyse quantitative et qualitative des extraits des feuilles de quatre variété d'olivier	96
25	matrice de dissimilarité des quatre variétés d'olivier en fonction des composants phénoliques des feuilles	98
26	Analyse quantitative et qualitative des extraits des fruits de quatre variété d'olivier	101
27	matrice de dissimilarité des quatre variétés d'olivier en fonction des composants phénoliques des fruit	102
28	Activité antioxydante des différentes Extraits méthanolique des Feuilles de quatre variétés vis-à-vis du radical DPPH	111
29	Activité antioxydante des différentes Extraits méthanolique des fruits des quatre variétés vis-à-vis du radical DPPH	113
30	Résultats de l'activité anticoagulante	116
31	Diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanolique des fruits des quatre variétés d'olivier (Dathier, Sigoise, Chemlal, Rougette	119
32	Diamètres des zones d'inhibition (en mm) induites par les quatre variétés d'olivier (feuilles) et par l'antibiotique (Gentamicine). (-) : Aucun effet	122

TABLE DES MATIERES

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introuduuon

PARTIE I - ETUDE BIBLIOGRAPHIE

I- Biologie d'olivier	04
1-Origine de l'olivier.....	04
2- Répartition et la production de l'olivier	05
2-1- Dans le monde	05
2-2- En Algérie	06
2-3- Dans la wilaya de Mila	08
3 - Taxonomie de l'olivier.....	08
4- Morphologie de l'olivier	10
II- Physiologie de l'Olivier.....	12
1-Cycle végétatif annuel.....	12
2- Exigences agro-écologiques	14.
3 -Variétés d'olivier en Algérie.....	14
III- Biochimie de l'olivier <i>Olea europaea</i> L.....	17
1- Biochimie des feuilles et fruits de l'olivier <i>Olea europaea</i> L.	17
1-1-Métabolites primaires des feuilles et fruits de l'olivier.....	17
1-2-Métabolite secondaire des feuilles et fruits de l'olivier.....	18
1-2-1-Composés phénoliques des feuilles et fruits de l'olivier.....	18
1.2.2 -Généralités sur Les composés phénoliques.....	18
1-2-3 -Classification des composés phénoliques.....	19
IV- Activité biologique des feuilles et fruits de l'olivier	26
1- Activité antioxydante.....	26
2- Activité antibactérienne.....	28

3-2- Evaluation de l'activité anticoagulante.....	52
3-2-1- Temps de Quick ou taux de prothrombine.....	52
3-3-Evaluation de l'activité antibactérienne.....	53
3-3-1-Souches microbiennes.....	53
3-3-3-Screening de l'activité antibactérienne	53
III- Analyse statistiques.....	5
PARTIE III - RESULTATS ET DISCUSSION	
I- Résultat et discussion de la caractérisation morphologique	58
1- Caractères morphologiques quantitatifs	58
2- Analyse statistique descriptive des paramètres morphologiques mesurés durant les trois ans.....	61
3- Caractères morphologiques qualitatifs	63
II- Résultats et discussion des études physiologiques	69
1- Suivi des stades phénologique.....	69
2- Teneur en eau.....	70
3- Détermination du pH	71
III – Résultats et discussion de la biochimie d'olivier.....	73
1- Métabolites primaire.....	73
1-1-Teneur en lipides dans les feuilles et fruits d'olivier.....	73
2-1 Sucres solubles.....	73
2- Métabolites secondaire	74
2-1- Teste phytochimique sur les extraits des fruits et feuilles d' <i>Olea europaea</i> L. des quatre variétés	74.
2-1-1- Teste phytochimique sur les extraits des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	74
2-1-2- Teste phytochimique sur les extraits des fruits d' <i>Olea europaea</i> L.....	78
2-2-Teneur en polyphénols.....	81
2-2-1 – Rendements d'extraction dans les feuilles	81
2-2-2 - Rendements d'extraction dans les fruits	82

2-2-3- Teneur en phénols totaux.....	83
2-2-4- Teneur en flavonoides	85
2-2-5- Teneur en tanin.....	86
2-3- Résultats d'analyses HPLC-UV	87
2-3-1- Chromatogrammes des étalons.....	88
2-3-2- Analyse des extraits des feuilles d'olivier.....	93
2-3-3- Analyse des extraits de fruits d'olivier.....	99
IV- Résultats et discussion activité biologique des feuilles et fruits d'olivier.....	110
1- Evaluation du potentiel anti-radicalaire des feuilles.....	110
2- Evaluation du potentiel anti-radicalaire des fruits	111
3- Evaluation de l'activité anticoagulante des fruits d'olivier	116
4- Evaluation de l'activité antibactérienne des fruits d'olivier.....	119
5- Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles d'olivier	122
V- Discussion général	128
C onclusion et perspectives	131
Liste des références bibliographique.....	135
A nnexe	
R ésumé	
ملخص	
A bstract	

Introduction

Introduction

Dans la culture arabo-musulmane, l'olivier est un arbre sacré et particulier, il fait partie des arbres cités dans le Coran sourate El-Noor aya : 35. L'olivier *Olea europaea* L. a été cultivé depuis l'antiquité dans la région méditerranéenne pour produire des olives de table, huile d'olive et des extraits de ces feuilles. Les produits de l'olivier ont été utilisés pendant des siècles comme nourriture, conservateurs naturels et dans la médecine populaire.

L'Algérie fait partie des principaux pays méditerranéens dont le climat est plus propice à la culture de l'olivier. Elle se positionne après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, la Tunisie, le Maroc et l'Egypte qui sont les plus importants pays producteurs des olives et d'huile d'olives.

L'olivier appartient à la famille des *Oleaceae*, le nombre élevé d'espèces est révisé par plusieurs auteurs, parmi ces chercheurs **Green et Wikens (1989)**, qui ont basé sur des études morphologiques, caryologiques, anatomiques, paléontologiques et biochimiques, ainsi que **Green (2002)** sur la morphologie et (**Bernard et al., 2002**) sur des bases moléculaires.

La caractérisation morphologique et phénologique est le premier indicateur de la diversité, cette dernière chez l'olivier s'intéresse particulièrement à l'arbre, l'inflorescence, la feuille, le fruit et le noyau selon les normes du **COI (1997)**.

La caractérisation biochimique se base sur les études quantitatives et qualitatives des différents métabolites primaires et secondaires trouvés dans l'olivier *Olea europaea* L. L'olivier avec les différents organes est caractérisé par une large gamme des composés phytochimiques y compris les glucides, les acides gras, les acides aminés, les protéines, les tanins, les composés phénoliques, des terpénoïdes, des stéroïdes, et bien d'autres constituants.

L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. En effet, l'utilisation des feuilles et fruits (huiles) de l'olivier en phytothérapie remonte à très loin dans l'histoire.

L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques. Certains composés identifiés dans les extraits des

feuilles et fruits, tels que les composés phénoliques sont doués d'activités biologiques extrêmement importantes (**Bisignano et al., 1999**).

Les thérapeutes nutritionnels affirment que la majorité des aliments phytochimiques, d'une alimentation idéale, particulièrement bons pour la santé sont riches d'éléments phytochimiques, composants chimiques des aliments végétaux. Ces éléments phytochimiques présentent certaines caractéristiques des nutraceutiques nutriments qui agissent comme des médicaments, mais sans effets secondaires ,parmi les bienfaits de ces composants chimiques, on peut citer ; la diminution des taux sanguins de glucose de cholestérol total et de cholestérol-LDL), la feuille est légèrement hypoglycémiant : elle aide donc à la régularisation des diabètes et réduit les dosages d'insuline . Les feuilles de l'olivier et l'huile d'olive diminuent l'incidence des maladies du cœur et normalise les irrégularités des battements du cœur (arythmie). Les recherches réalisées *in vitro* par plusieurs auteurs ont démontré que les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, ayant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis de nombreux microorganismes.

Le sujet de la présente thèse s'inscrit dans le cadre de l'étude du comportement biologique, physiologique et biochimique de quatre variétés de l'olivier de la station Maazouzi lekhdar Mila, et l'étude des activités biologiques de deux organes feuilles et fruits.

Cette présente thèse s'articule autour de trois parties.

Dans une première partie, nous nous proposons une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres :

- ✓ Biologie et physiologie de l'olivier
- ✓ Biochimie de l'olivier
- ✓ Activité biologique de l'olivier

Une deuxième partie regroupe les différentes méthodes de travail

Finalement les résultats et discussion font l'objet de la troisième partie de la thèse.

Première partie
Etude bibliographique

Chapitre 1
Biologie et physiologie
de l'olivier

I - Biologie de l'olivier

1-Origine de l'olivier

La famille des Oléacées est composée de 500 à 900 espèces, regroupées en 24 ou 29 genres. Le genre *Olea* comprend une soixantaine d'espèces localisées dans les régions tropicales et subtropicales de l'Afrique, l'Asie et de l'Océanie. (Savournin et Regli, 2002).

L'histoire de la présence de l'olivier est intimement liée aux civilisations qui ont vu le jour autour du bassin Méditerranéen (Grecques, Phéniciens, Carthaginois, Etrusques...). Palamarev (1989) considère que le genre *Olea* existait dans le bassin Méditerranéen depuis l'ère de l'Oligocène (plus de 23 millions d'années).

Selon Artaud (2008) bien que l'olivier soit originaire d'Asie mineure. Mais il s'est ensuite propagé à tout le bassin méditerranéen rapidement grâce aux Grecs et aux Romains lors de leur colonisation du bassin méditerranéen. Puis les européens qui sont partis à la découverte du nouveau monde, ont permis la culture de l'olivier aux Etats-Unis, en Amérique du Sud. Actuellement on le retrouve même au Japon. Liphshitz et al.(1991) ; Zohary et Hopf,(2000) considèrent que l'olivier sous sa forme sauvage était présent dans le bassin méditerranéen bien avant le Néolithique; mais soutiennent l'hypothèse d'un centre primaire de domestication à l'est.

Si on parle de l'origine génétique, les données moléculaires ont mis en évidence une divergence entre l'olivier Méditerranéen (*O. europaea ssp. europaea*) et l'olivier sub-saharien (*O. europaea ssp. Laperreni*) (Besnard et Baali-Cherif, 2009). Selon Chevalier (1948) et Turrill (1951) la domestication de l'olivier se serait produite entre 5700 et 5200 ans avant l'époque actuelle dans le Proche-Orient, selon cette hypothèse, les oléastres étaient un groupe homogène confiné à l'est du bassin méditerranéen, et les oliviers cultivés dériveraient de ce groupe d'oléastre. (Liphshitz et al., 1991 ;besnard et al.,2001;Brozined de Garaffa et al.,2002; Breton et al.,2006_a; breton et al.,2006_b)confirment cette hypothèse, ils montrent que L'origine génétique de l'olivier est jusqu'à présent mal connue, l'oléastre a toujours été considéré comme l'ancêtre de l'olivier cultivé. L'étude de la diversité moléculaire de cultivars et d'oléastres révélée que les cultivars s'apparentent aux oléastres.

Les relations entre l'olivier et l'oléastre sont discutées depuis l'Antique, les grecs dont Théophraste s'interrogeaient sur la façon de passer de l'un à l'autre (Amigues, 1993), et aussi l'olivier et l'oléastre sont considérés comme très proche botaniquement, les botanistes

en ont fait deux variétés de la même sous espèce *europaea* de l'espèce *Olea europaea*. Terral et al .(2004) et Breton et al.(2006) vues que l'olivier et l'oléastre sont génétiquement très proches.

2- Répartition et production de l'olivier

2-1- Dans le monde

Bien que l'olivier soit présent dans les quatre continents, environ 95% de la production mondiale de l'huile d'olive provient du Bassin méditerranéen. L'olivier est considéré comme une espèce caractéristique de la région méditerranéenne. On le rencontre surtout entre le 25^{ème} et 45^{ème} degré de latitude, dans l'hémisphère nord aussi bien que sud .on le trouve même dans Amériques (Californie, Mexique, Brésil, Argentine, Chili), en Australie et jusqu'en Chine (Benhayounet Lazzeri, 2007). La figure(01) montre la répartition de l'olivier dans le monde

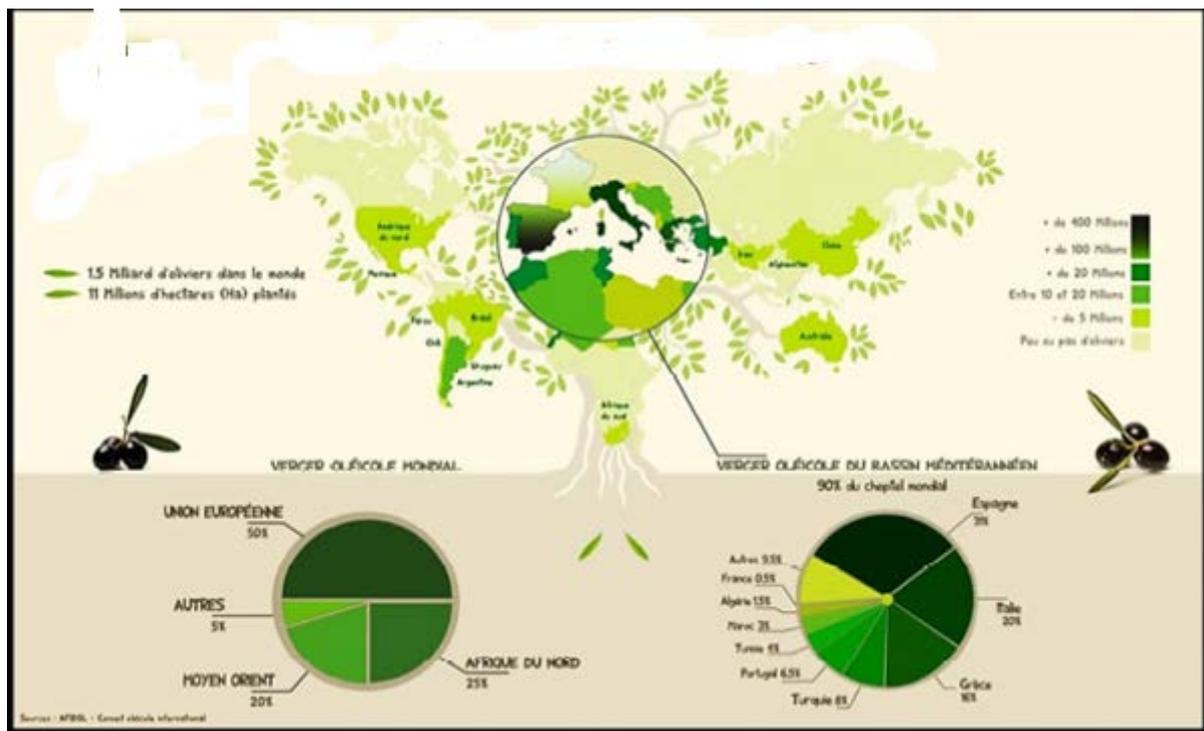


Figure N°01 : Carte oléicole mondiale (AFIDOL, 2015)

La production mondiale d'huile d'olive fluctue en fonction des conditions climatiques, et de la bisannualité de la récolte. Cette production mondiale est également influencée de la production d'huile d'olive de l'Italie, et de l'Espagne qui représentent environ deux tiers de la production mondiale totale . En effet l'Espagne produit à peu près 41 % de la production mondiale, et l'Italie produit 18 % de la production mondiale. Viennent ensuite les autres

producteurs comme la Grèce qui représente 12,1 %, le Portugal qui représente 1,7 % et la France avec 0,2 %. Cela fait de l'Europe le principal continent producteur d'huile d'olive, car elle présente environ 75 % de la production mondiale.

Les autres pays producteurs d'huile d'olive sont la Syrie qui représente 5,2 % de la production mondiale, et la Turquie avec 5,1 %, la Tunisie avec 4,9 %, le Maroc 3,3 %, et l'Algérie 1,7 % du volume global d'huile d'olive dans le monde.

Selon **Onfaa (2016)**, les données relatives à la production mondiale d'huile d'olive ont fait état d'une quantité de 2,4 millions de tonnes au cours de la campagne 2014/2015 (octobre 2014, septembre 2015), avec une baisse qui s'élève à près de 25% comparativement à la campagne antérieure. La baisse la plus importante a été enregistrée en UE, avec une baisse de 42%. Cependant, la Tunisie a enregistré une très bonne campagne oléicole, avec une augmentation qui s'élève à 38%. Par ailleurs, les prévisions de production d'huile d'olive pour la campagne en cours (2015/2016) s'est élevée à 2,9 millions de tonnes, soit une augmentation de 22% comparativement à la campagne écoulée, à noter également, que la campagne en cours (2015/2016) a démarré avec un stock de 796.000 t d'huile d'olive.

2-2- En Algérie

Selon **Onfaa (2016)**, la superficie du verger oléicole au cours de la campagne (2015/2016), selon les chiffres provisoires de la DRDPA, s'est élevée à 471657 ha. Cette superficie a connu une augmentation de près de 16% comparativement à la campagne écoulée, ce qui correspond à la mise en place de plus de 64000 ha de nouvelles plantations. Il est à signaler que 75 % de cette superficie a été réalisée à travers 15 wilayas oléicoles. Parmi les wilayas traditionnellement oléicoles, la wilaya de Skikda, seule a réalisé une superficie de plus de 5000 ha. Tandis que dans les nouvelles zones oléicoles, la wilaya d'El Bayadh a enregistré aussi une superficie considérable de 4274 ha. Selon le **Ministère de l'agriculture (2005)**, Cette surface est localisée au Nord (Centre, Est et Ouest) avec un pourcentage de 99.6%, et le Sud avec 0.4% Figure (02).

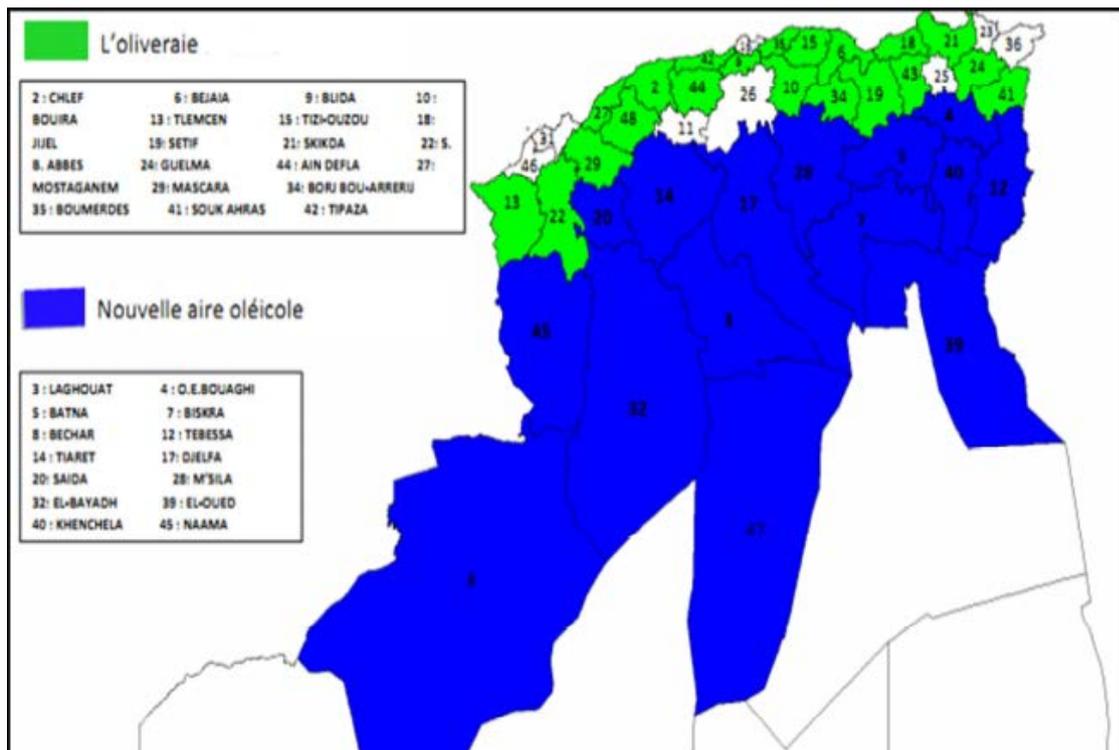


Figure N°02 : Carte oléicole d'Algérie (ITAFV, 2008)

La filière oléicole Algérienne est l'une des moins compétitives en Méditerranée, même si le pays est classé 7ème producteur mondial par le Conseil Oléicole International (COI). Elle a bénéficié de peu d'initiatives de modernisation; l'irrigation, la mécanisation et la fertilisation y sont ainsi faiblement répandues, et le tableau (I) regroupe l'amélioration de rendement dans les deux dernières années. . L'analyse des données de différentes wilayas fait ressortir les points suivants:

- Un accroissement des superficies oléicoles a été constaté dans l'ensemble des wilayas;
- Une augmentation de la production en olives a également été observée dans l'ensemble des wilayas potentielles à l'exception de la wilaya de Bouira où la production a baissé de près de 55%.
- Une augmentation de la production en huile d'olive a été enregistrée dans l'ensemble des wilayas potentielles à l'exception, aussi, de la wilaya de Bouira
- Une baisse du rendement des oliveraies a été constatée à travers les wilayas potentielles à l'exception de la wilaya de Jijel où le rendement a augmenté de 75%.

Tableau I : Evaluation de la campagne oléicole 2015/2016 à travers les wilayas potentielles (Onefa, 2016)

Wilaya	Béjaïa 23%		Tizi-Oizou 13%		Skikda 8%		Jijel 7%		Total national	
	2014 /2015	2015/ 2016	2014 /2015	2015/ 2016	2014 /2015	2015/ 2016	2014 /2015	2015/ 2016	2014 /2015	2015/ 2016
Superficie (ha)	52798	56063	35608	35912	10758	16067	14975	19715	407185	47655
Production D'olive a Huile(Qx)	893428	999835	382457	534642	196680	347780	146673	319018	420431	474730
Production d'Huile d'olive hl	193312	212896	75862	100947	45236	76500	28798	66758	746781	935170

2-3- Dans la wilaya de Mila

Avec une superficie totale de 10978,5 ha, l'oléiculture dans la wilaya de Mila occupe une place importante surtout dans les régions montagneuses, dont la majorité des superficies se localise dans la commune de Tassadane, Hamala, Grarem G, M. Zarza et Chigara.

La production oléiculture est estimée en 2010 à 70.173 quintaux de l'olive, cette production est augmentée au cours des dernières années et sa production en 2015 est estimée à 107 ,932 quintaux de l'olive Tableau (II).

Tableau II : Production de l'olive dans la wilaya de Mila. (D.S.A Mila, 2015)

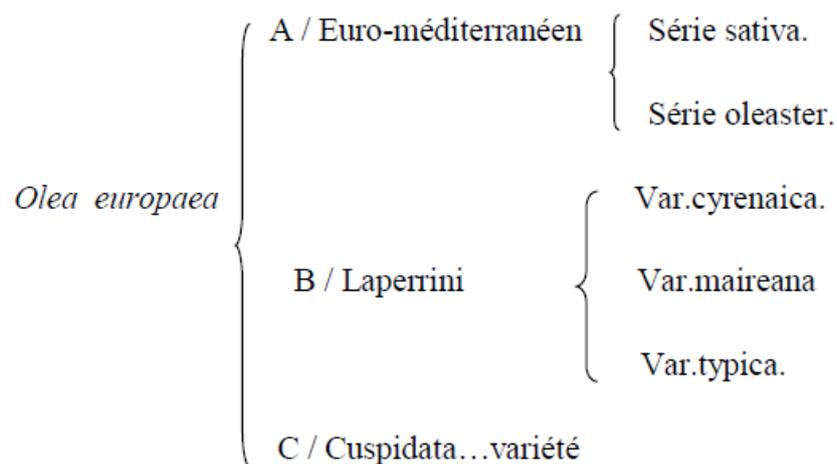
Années	2010/2011	2011/2012	2012/2013	2013/2014	2014/2015
Production(Qx)	70.173	80.219	87.218	90.142	107.932

3 - Taxonomie de l'olivier

L'olivier appartient à la famille des *Oléacées*, genre *Olea*. Elle comprend une trentaine de genres (De Candolle, 1886 ; Flahault, 1986), et plus de 600 espèces. Le nombre élevé d'espèces est étudié par plusieurs auteurs. Il est étudié par Green et Wikens (1989) sur une base d'études morphologique, caryologique, anatomique, paléontologique et biochimique. Green (2002) sur la morphologie et (Bernard et al., 2002) sur des bases moléculaires .*Olea europaea* a un nombre chromosomique de $2n=46$ chromosomes, la dénomination scientifique

l'olivier a été nommé *Olea europaea* et introduit pour la première fois dans "Species plantarum", par Linné, en 1753.

Selon **Loussert et Brousse (1978)**, l'espèce *Olea europaea* se subdiviserait en trois grandes sous espèces :



L'olivier présente la classification suivante :

- | | |
|------------------------|----------------------------------|
| ➤ Règne : | Plantae |
| ➤ Sous-règne : | Tracheobionta |
| ➤ Embranchement : | Spermaphytes (Phanérogames) |
| ➤ Sous Embranchement : | Angiospermes |
| ➤ Classe : | Dicotylédones (ouThérébinthales) |
| ➤ Sous-classe : | Astéridées (ou Gomopétales) |
| ➤ Ordre : | Gentianales (ou Lingustrales) |
| ➤ Famille : | <i>Oléacées</i> |
| ➤ Genre : | <i>Olea</i> |
| ➤ Espèce : | <i>Olea europaea</i> .L |

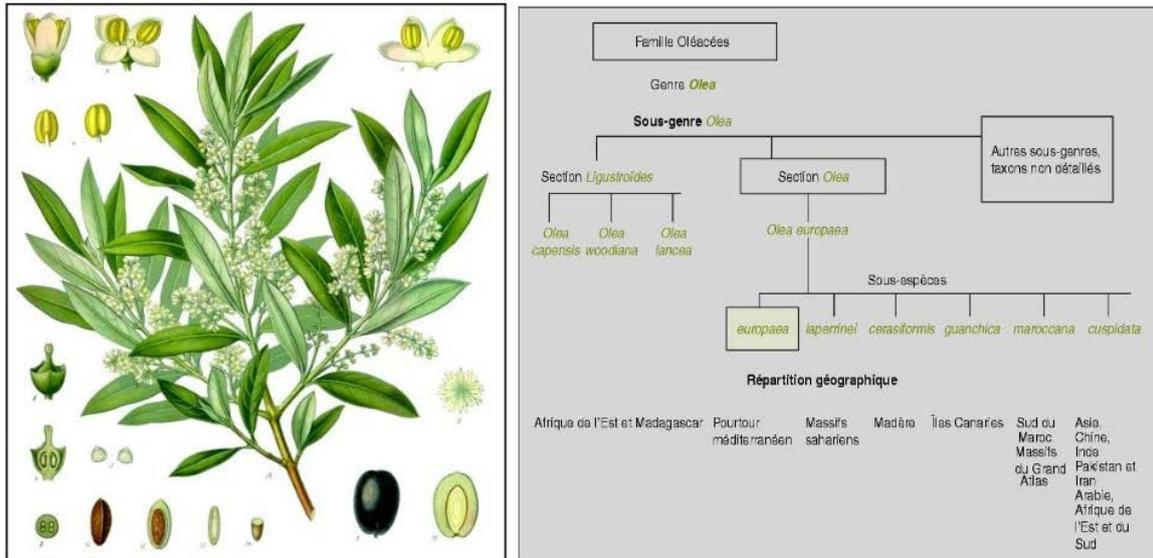


Figure N°03: Schéma de la taxonomie du genre *Olea* (*Oleaceae* simplifiée (Green, 2002)

4 -Morphologie de l'olivier

L'olivier est un arbre à feuillage persistant de longue vie, généralement plus de 500 ans, mais des arbres plus âgés de 2000 ans ont été enregistrés. (Besnard *et al.*, 2000).

L'olivier est une plante sempervirente d'une grande longévité. Son système racinaire est très large et se compose principalement de racines adventices qui se développent dans les premiers centimètres du sol (Villa, 2003).

Le système racinaire s'adapte aux conditions de sol et n'émet de racines profondes que si les conditions hydriques et minérales l'exigent, l'olivier présente un système racinaire à développement latéral, avec trois ou quatre racines dominantes et un important poilu qui reste généralement localisé dans une profondeur de 50 à 70 cm, principalement sous le tronc (Argenson *et al.*, 1999).

L'olivier est un arbre de 3 à 10 mètres, parfois un arbrisseau de 1,5 à 2 mètres. Dans les pays chauds, il peut arriver jusqu'à 10 mètres de hauteur (Fourastée, 2003), et selon Bartels (1997), l'arbre mesure jusqu'à 15 m de hauteur, généralement noueux, écorce adulte gris et crevassée, souvent couverte cicatrices.

Le tronc des jeunes oliviers est droit et circulaire Figure (04). En vieillissant, il se déforme et acquiert son aspect tourmenté caractéristique, des zones successives de dépression,

les cordes, apparaissent. Dans les zones très humides, des caries peuvent déformer le bois pourtant très dur. (Douat, 1998).

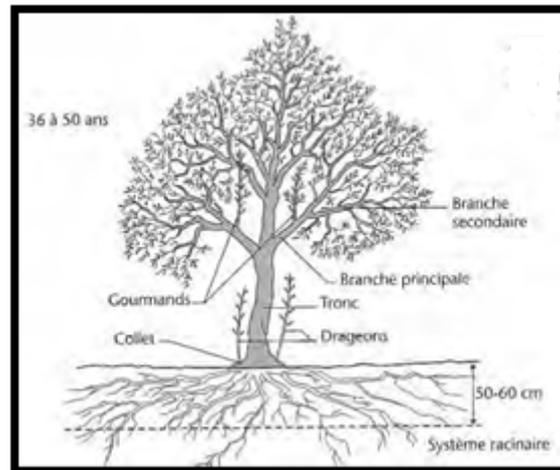


Figure N°04 : Principales parties d'un olivier (Argenson, 1999).

Les feuilles sont simples, lancéolées, pointues sur le rameau, elles sont opposées et le pétiole est court, elles sont glabres et à bords révolutes. La nervure principale est seule apparente. La face supérieure est luisante de couleur vert foncé, tandis que la face inférieure présente un aspect argenté dû à une pruine, les feuilles de l'olivier mesurent de 2 à 8 centimètres de long et de 0.5 à 1.5 centimètres de large. (Pellecuer ,1985 ; Douat ,1998).

L'olivier ne feuillit et ne défeuillât pas en entier chaque année : son feuillage est persistant. Les feuilles restent deux ans sur le rameau et ne se détachent qu'à la troisième année (Amoureux, 1784).

Dès le début du mois de mai, on peut voir fleurir les oliviers, cependant la floraison ne dure qu'une huitaine de jours. Ce sont des fleurs hermaphrodites, tétramères au cœur de la fleur, l'ovaire à 2 loges se prolonge par un épais stigmate, et les 2 étamines saillantes s'attachent sur le tube de la corolle. Les fleurs sont petites, blanches, odorantes, regroupées en grappes dressées à l'aisselle des feuilles (Douat ,1998 ; Pagnol, 1999).

Le fruit et le noyau sont de forme et de dimension variables, caractéristiques de la variété qui leur donne naissance. La forme du fruit peut être sphérique, ovoïde ou allongée, la longueur du fruit et celle du noyau sont le caractère le plus héréditaire (Fantanazza et Baldini, 1990).

II- Physiologie de l'olivier

1-Cycle végétatif annuel

Le déroulement annuel du cycle végétatif de l'olivier est en étroite relation avec les conditions climatiques de son aire d'adaptation (**Lousert et Brousse, 1978**). D'après **Boulouha (1995)** le cycle biologique de l'olivier est caractérisé par le chevauchement de deux fonctions physiologiques différentes:

- La floraison et la fructification de l'année en cours qui se manifestent sur les rameaux d'un an.
- La croissance végétative des nouvelles ramifications qui naissent sur les rameaux d'un an ou sur d'autres âges différents Figure (05).

- **Stade repos hivernal** : D'après **Lousert et Brousse (1978)**, la période du repos hivernal s'étend de novembre à février. Certaines variétés de l'olivier ont besoin d'un repos hivernal pour fleurir et fructifier normalement. Par ailleurs, le caractère des feuilles persistantes chez l'olivier empêche celui-ci d'entrer en phase de dormance mais seulement en phase de demi-repos. Pendant cette période, l'arbre reconstitue ses réserves et accumule une certaine quantité de froid nécessaire à l'évolution des bourgeons (**Daoudi, 1994**).

- **Réveil printanier** : Se manifeste par l'apparition de nouvelles pousses terminales et l'éclosion des bourgeons axillaires, ces derniers, bien différenciés donneront soit du bois (jeunes pousses), soit des fleurs. Trois étapes mènent à la formation des fleurs:

L'induction florale chez l'olivier se déroule entre décembre et février (**Ouksili, 1983**). La différenciation florale est définie comme étant l'ensemble des changements morphologiques que subit un méristème au cours de sa transformation en fleur ou en inflorescence.

D'après **Morettini (1950)**, la différenciation florale aurait lieu 40 à 60 jours avant la floraison, c'est-à-dire vers la mi-mars, la date de la différenciation florale est fonction de la nature de la variété (précoce ou tardive) (**Basso, 1954**).

Et finalement Croissance des ébauches florales et floraison: la croissance des ébauches florales commence dès leur différenciation, mais la période la plus active à lieu après la méiose et la maturation des cellules reproductrices aboutissant à l'éclatement du bouton à fleur. L'irrigation ou les pluies d'avant la floraison, améliorent le nombre de fleurs par inflorescence et le nombre de fleurs parfaites (**Nait Taheen et al, 1995**). Après la floraison en passe à la période de Pollinisation.

-Pollinisation : Chez l'olivier est essentiellement anémophile. Elle n'est assurée que si le pollinisateur se trouve à moins de 30 m de la variété à polliniser.

- **Fécondation** : La fécondation est le résultat de la fusion des noyaux reproducteurs mâles et femelles donnant naissance à l'embryon et à l'albumen, si le taux des fleurs fécondées varie de 1 à 5%, on obtient alors une récolte satisfaisante (**Nouri, 1994**).

- **Nouaison et grossissement du fruit** : Après la fécondation, l'ovaire se développe et grossit, on dit que le fruit est noué, cette nouaison correspond à l'apparition des jeunes fruits après la chute des pétales. Selon **Villemeur et Dosba (1997)** l'olivier se situe, en forte floraison, autour de 500000 fleurs par arbre adulte pour 1 à 2% de fruit. **Ouksili (1983)** affirme que le taux de nouaison est en fonction du pollinisateur, de ce fait, en remplaçant la pollinisation libre de Chemlel par une pollinisation contrôlée (utilisation de la variété Frantoio comme pollinisatrice) le taux de nouaison passe de 4,6 à 11,6%.

-Chute physiologique : De nombreux fruits peuvent chuter, c'est la chute physiologique de juin. Elle est salutaire, car elle constitue un éclaircissage naturel. Elle peut toucher jusqu'à 50% des fruits noués. Les premiers fruits qui tombent sont ceux dont la fécondation a été incomplète. Un temps humide et froid peut accentuer cette chute. Les jeunes fruits, en situation défavorisée pour leur alimentation, chuteront également (**Lousert et Brousse, 1978**).

- **Maturation** : La maturation est un processus physiologique et biochimique intervenant vers la fin du cycle végétatif annuel de l'olivier. C'est la phase durant laquelle le fruit s'enrichit en huile. La période de maturation dépend de la variété et des conditions climatiques locales (**Lousert et Brousse, 1978**). Selon **Abdulgari et Ayson (1994)** la durée de maturation dépend essentiellement de la variété (précoce ou tardive), de l'altitude et de l'irrigation. L'échelonnement de la maturation est une caractéristique génétique. Cependant, elle est contrôlée par les facteurs de l'environnement (**Fantanazza, 1988**).

- **Croissance végétative** : L'olivier présente en conditions pluviales une croissance cyclique bimodale. La première période débute en mars jusqu'au début juin. La deuxième intervient en septembre pour s'arrêter vers la fin du mois de novembre (**Poli, 1986**).

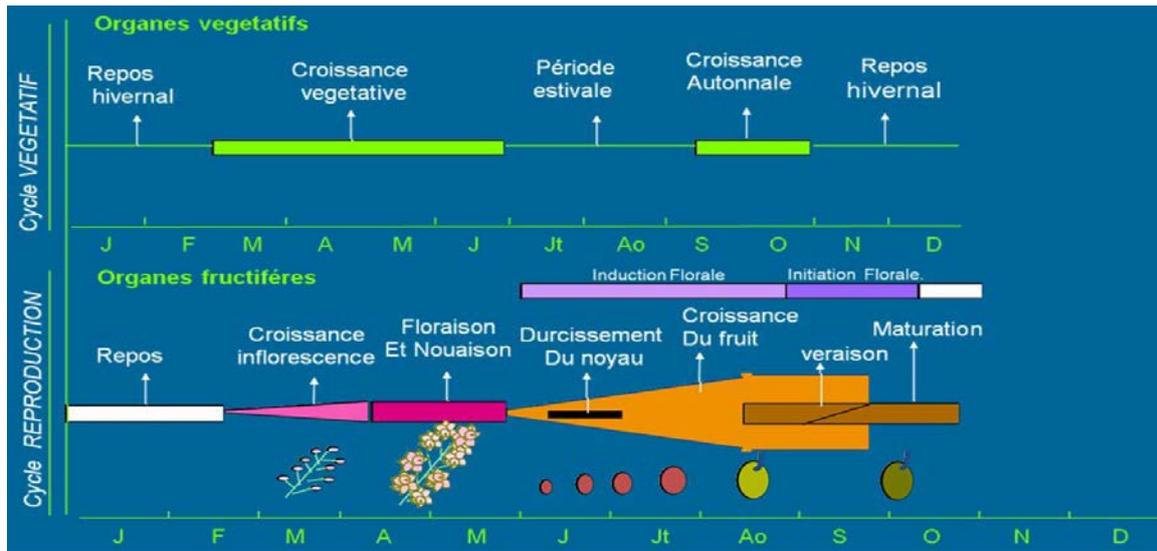


Figure N° 05 : Stade phénologiques d'olivier (Girona ,2001)

2- Exigences agro-écologiques

En repos végétatif hivernal, l'olivier résiste jusqu'à -8 à -10°C. Mais, les dégâts peuvent être très importants pour des basses températures (0 à -1°C) pendant la floraison, également a des hautes températures (35-38°C), l'augmentation de la température au delà 40°C orovoque l'arrêt de croissance végétative, les feuilles peut être brûlées et les fruits peuvent chuter, surtout si l'irrigation est insuffisante. La production de l'olivier est normale avec 600 mm de pluie bien répartis dans le temps entre 450 et 600 mm, la production est possible pour un sol profond et argilo limoneux (les capacités de rétention en eau du sol soient suffisantes), avec une pluviométrie inférieure à 200 mm, l'oléiculture est économiquement non rentable. Les facteurs défavorables de la production des oliviers sont: les vents chauds au cours de la floraison, et les gelées en printemps (Walid *et al.*, 2003).

3- Variétés de l'olivier en Algérie

Selon Ahmim (2006), parmi les variétés locales, donc rustiques, nous avons la variété Chemlel qui se rencontre dans toute la Kabylie du littoral au sud de Mchedallah, et la vallée de la Soummam, elle est considérée comme étant bonne productrice d'huile de bonne qualité. Les variétés Limli, Azaradj et Bouchouk, se rencontrent surtout dans la vallée de la Soummam, ces quatre variétés à elles seules représentent les trois quart de la production

oléicole nationale. Une autre variété mais plus de consommation que productrice d'huile est la Sigoise, de la région de Sig, donc de l'ouest du pays, elle produit d'excellentes olives de table. Les variétés introduites, pour la majorité durant l'époque coloniale sont la Cornicabra, la Sevillane la Lucque, La frontoio et la Leccino, sont pour la majorité d'origine italienne ou française.

Chapitre 2
Biochimie de l'olivier

III- Biochimie de l'olivier *Olea europaea* L.

1- Biochimie des feuilles et fruits de l'olivier *Olea europaea* L.

Nous connaissons actuellement plus de 250000 espèces végétales, parmi ces espèces *Olea europaea*, qui synthétise un large éventail de substances chimiques de structures variées, parmi elles, on distingue classiquement les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont des produits issus directement des phyto assimilâtes (sucres simples, acides aminés, protéines, acides nucléiques et organiques), qui participent à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (**Hopkins, 2003**). Ils sont souvent produits en grande quantité mais présentent une valeur ajoutée relativement basse. Ces métabolites sont aussi définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et, nécessaires à leur croissance et à leur développement (**Raven et al., 2000**). En revanche, les métabolites secondaires ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais sont synthétisés à partir des métabolites primaires et sont le résultat de réactions chimiques ultérieures. (**Croteau et al., 2000 ; Raven et al., 2000**).

1-1- Métabolites primaires des feuilles et fruits de l'olivier

Les feuilles fraîches de l'olivier sont caractérisées par une matière sèche proche à 50%. La composition chimique globale varie d'une variété à une autre également selon les conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations (**Nefzaoui, 1995**). Selon **Boudhrioua et al. (2008)** les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates, avec une quantité varie de 37 à 42.5 mg/g, la matière organique (protéines) varie de (5.0 à 7.6 mg/g), des lipides entre (1.0 et 1.3 mg/g), des monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins et principalement par des polysaccharides (tel que cellulose, hémicelluloses) varient de (1.3 à 2.3 mg/g), et les minéraux avec des quantités de (2.8 à 4.4 mg/g).

Le fruit de l'olivier, est une drupe plus ou moins ellipsoïdale de taille variable selon l'épicarpe. La composition chimique de l'olive est en fonction de plusieurs paramètres dont la variété, le climat et les conditions culturales. Selon **Maillard (1975)** la Pulpe (épicarpe + mésocarpe) se composent de 24.2 % d'eau, 56.40 % lipides, 6.8 % protides, 9.9 % glucides, et 2.66 % cendres, la coque du noyau se compose de 4.2 % d'eau, 5.25 % lipides, 15.6

% protides, 70.3 % glucides, et 4.16 % cendres. Pour l'amende, il se compose de 6.2 % d'eau, 12.26 % lipides, 13.8 % protides 65.6 % glucides, et 2.16 % cendres.

1-2 Métabolites secondaire des feuilles et fruits de l'olivier

L'olivier est considéré comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels à haute valeur. Les métabolites secondaires sont des molécules nécessaires à la défense de la plante contre les agressions extérieures. Ils sont produits en très petites quantité, et présentent une grande diversité structurale (plus de 200000 structures définies) (**Hartmann, 2007**). Les produits naturels sont les principales sources de molécules bioactives (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**). Parmi les métabolites secondaires bioactifs présents dans les plantes:

-Les composés azotés: alcaloïdes

-Les composés phénoliques: tanins, quinones, coumarines, flavonoïdes

-Les terpènes

1-2-1 Composés phénoliques des feuilles et fruits de l'olivier

1-2-1-1- Généralités sur Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un cycle aromatique, qui porte des groupes hydroxyles libres ou se lie à un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**), les méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, et aquatiques est une méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

Les substances appartenant au groupe des composés phénoliques sont très hétérogènes tant par dans leur composition que par leur structure, ont longtemps été mal connues et considérées comme des substances secondaires, métaboliquement inactives et ont suscité peu d'intérêt. A l'heure actuelle, cette opinion est en train de changer, les recherches des dernières

années ont démontré que les composés phénoliques ne sont nullement des produits inertes du métabolisme. Ils sont soumis à des variations quantitatives et qualitatives dans les tissus végétaux, témoignant une dynamique biochimique incontestable (Davies et al., 1964 ; Schneider, 1973).

Dans la cellule, les composés phénoliques sont essentiellement localisés sous forme soluble dans les vacuoles. Ils peuvent également s'accumuler dans les parois végétales : c'est le cas de la lignine (hétéropolymère d'alcools coniférylique, p-coumarylique et sinapylique) ou de certains flavonoïdes (Robards et al., 1999; Macheix et al., 2003).

Le composé phénolique le plus basique est le phénol Figure (06), les structures phénoliques peuvent varier de la molécule simple phénol à des structures complexes hautement polymérisés, tels que proanthocyanins (Bravo, 1998; Santos-Buelga et Scalbert, 2000). Les phénoliques végétales sont essentiellement présent sous une forme conjuguée avec les résidus d'hydrate de carbone liée à un groupe hydroxyle, groupes sur le cycle aromatique (s) (Bravo, 1998).

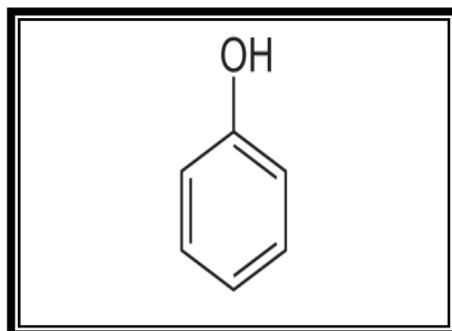


Figure N°06 : Structure de phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

1-2-1-2- Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés en plusieurs classes (Harborne, 1989; Marcheix et al., 1990), qui diffèrent initialement par la complexité du squelette de base (allant de simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modification de ce squelette (degrés d'oxydation, d'hydroxylation...), enfin par les liaisons possible de ces molécules de base avec d'autre molécules (glucides, lipides, protéines...).

Les composés phénoliques dans les feuilles et fruits de l'olivier sont très divers, et leurs structures sont très variables. Les feuilles et les fruits de l'olivier contiennent des monomères et des polymères phénoliques.

La composition phénolique des feuilles et fruits de l'olivier a fait l'objet de nombreuses études, les fruits contiennent plusieurs phénols simples comme Hydroxytyrosol glucoside et Hydroxytyrosol- 1- β -glucoside (**Obied et al .,2007a**), hydroxytyrosol/3,4-DHPEA/DOPET (**Servilli et al .,2004**), tyrosol glucoside/salidroside (**Guo et al .,2012**), 3,4-DHPEA-AC (**Gordon et al .,2001**), également la présence des phénols simples dans les feuilles a été signalée par plusieurs chercheurs, (**Gariboldi et al., 1986 ; Baldi et al., 1995 ; Benavente-Garcia et al., 2000 ; Briante et al., 2004 ; Mourtzinou et al., 2007 ; Altiok et al., 2008 ; Hayes et al., 2009**) ont montré la présence de Hydrotyrosol.

Les feuilles et les fruits de l'olivier sont riches en acide phénolique, ce dernier comporte deux groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

Pour le premier groupe hydroxybenzoïques, (**Briante et al., 2004**) ont signalé que les feuilles de l'olivier sont riches en acide gallique, et (**Mourtzinou et al., 2007**) ont signalé la présence de l'acide protocatechique, également l'acide vanillique a été mentionné par (**Benavente-Garcia et al., 2000 ; Briante et al., 2004 ; Altiok et al., 2008**). **Sarni-Manchado et Cheynier (2006) ; Artajo et al. (2006a); Jerman klen (2014)** ont mentionné la présence de vanilline dans les fruits de l'olivier, **Obied et al .(2005)** ont signalé la présence de l'acide vanillique dans les fruits de l'olivier. Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans la figure (07).

	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

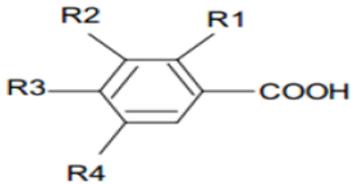


Figure N°07 : Principaux acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Le deuxième groupe est les acides hydroxycinnamiques, ces composés ont une distribution très large rarement libres, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, O-arylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique, selon **Baldi et al.(1995)**; **Benavente-Garcia et al.(2000)** ; **Briante et al.(2004)**; **Mourtzinis et al.(2007)** ; **Altiok et al.(2008)** les feuilles de l'olivier contiennent l'acide caféique. **Baldi et al.(1995)** ; **Mourtzinis et al.(2007)** ont également mentionné la présence de la molécule de coumarine dans les feuilles de l'olivier, également **Obied et al. (2005)** ont signalé la présence de l'acide coumarique dans les fruits de l'olivier, **Innocenti et al. (2006)** ont mentionné la présence de β -OH verbascoside et verbascoside /aceteoside dans les fruits, les dérivés de l'acide les plus répandus sont illustrés dans la figure (08)

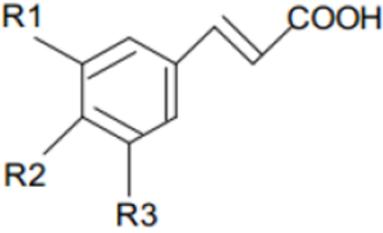
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure N°08: Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les flavonoïdes sont également une classe importante des polyphénols, au sens strict, les flavonoïdes sont définis comme étant des pigments végétaux quasiment universels (dans la plupart des végétaux), responsables de la coloration des fleurs, des fruits, parfois des feuilles. La coloration due à la présence des flavonoïdes est généralement la coloration jaune, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, en effet plus de 6500 structures ont été identifiées (**Bruneton, 1999**; **Harborne et Williams, 2000**).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau puranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 Figure(09).

- Dans la position 2: le flavonoïde est appelé flavane.
- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyl la flavane est appelé flavanone.
- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est appelé flavone.
- Si le squelette est remplacé en position 3 par un groupe hydroxyle, on l'appelle flavonol.
- Dans la position 3: le flavonoïde est désigné par le terme isoflavane (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Selon Mov sumov *et al.*(1987) les feuilles de l'olivier contiennent apigenin , Rovellini *et al.*(1997) ont mentionne la présence de apigenin-glucoside, et l'apigenin-7-glycoside dans les fruits a été signalé par plusieurs chercheurs (Le Tutour et Guedon, 1992; Baldi *et al.*, 1995 ; Zunin *et al.*, 1995; Benavente-Garcia *et al.*, 2000; Japon-Lujan *et al.*, 2006; Altiok *et al.*,2008; Hayes *et al.*, 2009). La présence des flavonoïdes a été signalé par plusieurs chercheurs , (Obeid *et al.* ,2005) ont signalé la présence de rutin, luteolin-4'-glucoside, Luteolin-7-glucoside, luteolin-4-O-glucoside et la quercitine, (Ryan *et al.* ,2002a) ont montré la présence d'apigenin-7-O-glucoside et apigenin.

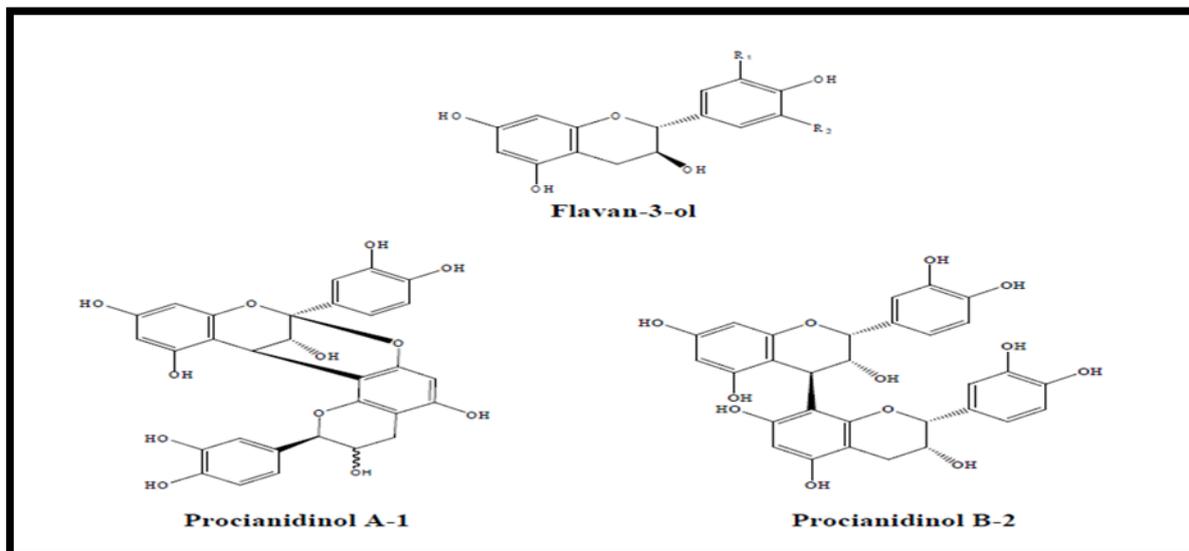


Figure N°09. Structure des flavonoïdes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques hydrosolubles, de masse molaire entre 500-2000D (**Khanbabaee et Ree, 2001**), Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les polysaccharides, et essentiellement les protéines (**Zimmer et Cordesse, 1996 ; Bruneton, 1999**). Parmi les propriétés des tanins se trouvent le goût astringent, qui est une sensation tactile due à la précipitation des protéines salivaires et produit une sensation d'assèchement dans la bouche (**Peronny, 2005**), on trouve deux types des tanins :

Les tanins condensés (proanthocyanidines) : ce sont des dérivés non hétérosidiques, n'ayant pas tous des propriétés tannantes, résultant de la polymérisation d'un nombre variable d'unités flavane (flavan-3-ols), le plus souvent épicatechine et catéchine, avec un degré de polymérisation entre deux et plus de cinquante unités (**Ghestem et al., 2001 ; Khanbabaee et Ree, 2001**).

Les tanins hydrolysables : sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide éllagique Figure (10), Les feuilles et les fruits de l'olivier contiennent les Tanins hydrolysables sous forme d'éllagique.

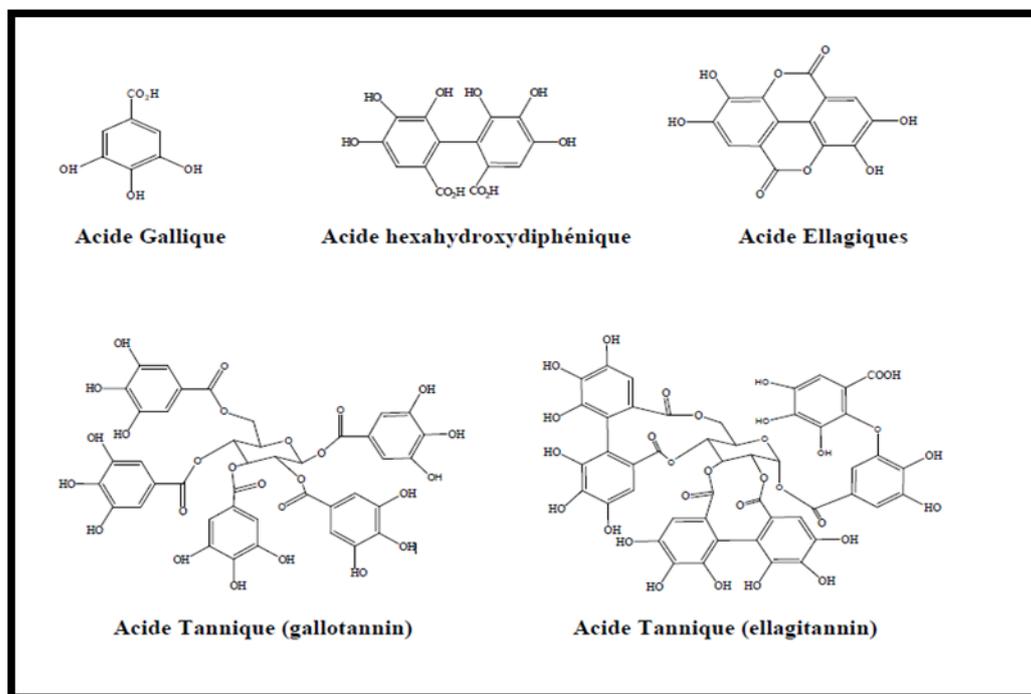


Figure N°10. Structure des tanins hydrolysables et leurs monomères (**Bruneton, 1999**).

Les dérivés sécoïridoides sont des composés glycolyses issus du métabolisme secondaire des terpènes (Soler, 2000). Parmi eux, l'oleuropéine Figure(11), qui est le composé majoritaire dans les feuilles et fruits de l'olivier, et c'est le principal responsable de l'amertume des olives (Shasha, 1961; Soler, 2000 ; Andrews, 2003). Le ligstroside (un groupement hydroxyle de moins que l'oleuropéine) est également présent en grande quantité dans l'olive, également plusieurs chercheurs ont signalé la présence d'autre sécoïridoides dans les fruits tel que (oléoside ,secologanoside ,demethyle-oleuropéine, oleurosides ,ligstroside aglycone (Servilli et al.,2004; Obied et al .,2007a; Fu et al.,2010).

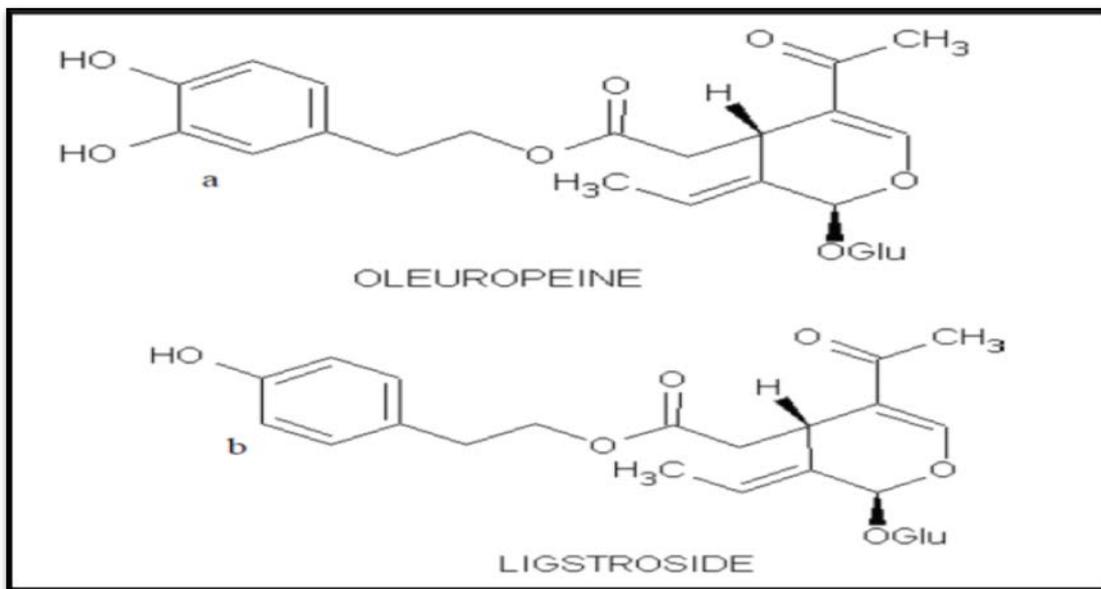


Figure N° 11 : Structure de l'oleuropéine (a) et du ligstroside (b)

Chapitre 3
Activités biologiques
de l'olivier

IV- Activité biologique des feuilles et fruits de l'olivier

Les produits végétaux sont particulièrement riches en métabolites secondaires, qui peuvent être exercé des rôles biologiques divers. Les polyphénols et notamment les flavonoïdes, et les tanins, constituent une des classes des micronutriments les plus abondantes.

Depuis l'antiquité, les feuilles et fruits de l'olivier sont employées en phytothérapie, à l'époque Grecque, les feuilles ont été utilisées pour désinfecter les blessures cutanées, les anciens leur attribuaient des vertus antiseptiques et la propriété de lutter toutes sortes d'infections. Au XIXème siècle, on s'en servait pour combattre le paludisme (malaria), ces usages sont tombés en désuétude pendant un certain temps en raison de l'omniprésence des antibiotiques.

Cependant, les professionnels modernes de la santé ont commencé à utiliser l'extrait de feuilles de l'olivier, en 1995, les premiers résultats furent très positifs. Depuis, il a été démontré que la feuille de l'olivier possède de nombreux avantages thérapeutiques contre de nombreuses maladies et des vertus dans le maintien de la santé globale.

L'olive possède des facultés thérapeutiques exceptionnelles. Depuis les siècles que l'homme domestique l'olivier, il à découvert de variés pouvoirs de guérison et de préventions contre certaines maladies. L'huile d'olive présente des propriétés anti-hypertensives, antioxydantes, antiagrégants plaquettaires responsables d'effets préventifs des maladies cardiovasculaires.

1. Activité antioxydante

La majorité des auteurs admis aujourd'hui, en l'absence de preuves absolues, l'hypothèse selon laquelle les radicaux libres ont une part de responsabilité dans la genèse des lésions athéromateuses, dans l'apparition de certains cancers ou dans les dégénérescences nerveuses (**Bruneton, 1999**).

Un radical libre est un atome ou une molécule ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend très réactif. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est généralement appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO) (**Favier, 2003**).

D'après **Dacosta (2003)**, les principaux radicaux libres qu'on rencontre dans le corps humain sont: l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$); le radical hydroxyle ($OH\cdot$); le radical alcoxyle ($RO\cdot$);

l'oxyde nitrique (NO.), et le radical hydroperoxyde (HOO). Il existe des mécanismes de défense cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires) ou qui piègent les radicaux libres (molécules antioxydantes).

Un antioxydant est une substance qui ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber la manifestation d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" contient ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (**Shimizu, 2004**).

Des chercheurs ont montré que les composés possédant un groupement carbonyle en C4 et une double liaison entre les carbones C2 et C3 sont les flavonoïdes dont les activités antioxydantes sont les plus marquées (**Picman et al., 1995**).

Ces dernières années, les épidémiologistes ont attiré notre attention sur le rôle des antioxydants présents dans notre alimentation est leur implication dans la prévention de certaines maladies telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives ou encore certains types de cancer (**Soulet et al.,2001**).

Un rapide coup d'œil sur les bases de données bibliographiques permet de se rendre compte que la première activité de l'*Olea europaea* mise en évidence est sa capacité antioxydante.

Plusieurs auteurs ont étudié l'activité antioxydante chez les deux organes, et le tableau(III) regroupe quelques études

Tableau III : Bibliographie sur les mécanismes d'action antioxydante des fruits et feuilles de l'olivier

Extraits	Bibliographies
Extraits des feuilles	Ferreira et al .,2006 ; Altiok et al., 2008; Lee et al., 2009; Lee et al., 2010 ; Azizollahi Aliabadi et al., 2012 ; Ioanna Lafka et al.,2013; Nashwa et al., 2014 ; El nazi et al .,2015 ; Sheikh et Gabr,2016 .
Extraits fruits	Silva et al. , 2006 Baccouri et al .,2008 ; Hajimahmoodi et al .,2008; Moo-sung et al .,2013; Celik et al .,2014; Dagdelen, 2016

2- Activité antibactérienne

L'utilisation des antibiotiques, conduit dans la plupart des cas à la sélection de populations microbiennes résistantes. Cette résistance est basée sur des mutations chromosomiques, ou à l'acquisition de gènes de résistance portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons, phages, intégrons). Ces résistances ont conduits à rechercher de nouveau agents antimicrobiens, d'une part, sont plus efficaces que les drogues synthétiques et, d'autre part, sont bien acceptés par l'organisme (sans exercer des effets délétères sur la santé humaine) (**García-Ruiz et al., 2008; Kempf et Zeitouni, 2009**).

Les chercheurs ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales, ils ont isolé, et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une base pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutiques, la médecine alternative, et la thérapie naturelle (**Huang et al., 2008**).

L'activité antimicrobienne a été attribuée à la fonction phénolique des flavonoïdes, cette activité est sensée augmenter avec le nombre de substituant hydroxyles, méthoxyles ou glucosyle. Les structures les plus efficaces étant les flavones et les flavanones (**Picman et al.,1995**).

De nombreuses études ont montré l'effet antimicrobien des tanins sur différentes bactéries, virus et champignons (**Bruneton, 1999 ; Peronny ,2005**), dans les infections pulmonaires ils agissent grâce à une action inhibitrice sur la croissance microbienne.

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, caractérisés par une absence de noyau et d'organites. Cependant, de nombreuses espèces pathogènes provoquent de nombreuses maladies infectieuses comme le choléra, la syphilis, la tuberculose... (**Nauciel, 2000**).

Des études plus récentes ont montré que les polyphénols, et les flavonoïdes présentent une activité antibactérienne importante (**Ferrazzano et al., 2011**). Ces composés agissent par deux mécanismes d'actions : un premier consiste à l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries (**Wu et al., 2013**) et un deuxième provoquant l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries (**Tsuchiya et Linuma, 2000**).

Les effets antimicrobiens des polyphénols issus de l'olive, et des feuilles de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que les polyphénols contenues dans l'olive, l'huile d'olive et feuilles de l'olivier, empêchent ou retardent le taux de croissance d'une gamme de bactéries (**Bisignano et al., 1999**). Plusieurs auteurs ont étudié l'activité antibactérienne chez les deux organes et le tableau (IV) regroupe quelques études.

Tableau IV : Bibliographie sur les mécanismes d'action antibactérienne des fruits et feuilles de l'olivier

Extraits	Bibliographies
Extraits des feuilles	Erdohan et Turhan,2011 ; Edrah et kumar ,2012 ; Nahal Boderba et al., 2012 ; Dada,2013 ; Altaf et al .,2014 ; Baker,2014 ; Gumgumjee et Hajar,2014 ; Malik ,2015.
Extraits des fruits	Pereira et al 2007 ; Medina et al., 2013; Hussain et al ., 2014 ; Esmail et al., 2015 ; Dagdelen, 2016 ;

3-Activité anticoagulante

L'hémostase concorde aux phénomènes physiologiques qui concourent à l'arrêt du saignement et au maintien de la fluidité du sang dans les vaisseaux. Un ensemble de mécanismes équilibre cette hémostase entre les deux extrêmes que sont l'hémorragie et la thrombose. Elle permet à la fois l'arrêt d'une hémorragie et la reperméabilisations des vaisseaux après une effraction vasculaire. L'hémostase résulte de trois processus complémentaires : l'hémostase primaire, la coagulation et la fibrinolyse (**Diagne, 1998; Allain, 2008; Decourcelle, 2009; Kaguelidou, 2012**).

La coagulation est un phénomène par lequel le sang fluide et circule se transforme en une masse insoluble et immobile (caillot). Il est lié à la transformation d'une protéine soluble à l'état normal le fibrinogène, en une masse insoluble la fibrine. Cette transformation a lieu après une série de réactions enzymatiques faisant intervenir de nombreux facteurs tant plasmatiques que plaquettaires (**Ekoumou, 2003**), cela est due aux plusieurs facteurs, ces facteurs sont définis à la fois par un nom et par un numéro en chiffres romains attribués en 1954 par un comité de nomenclature internationale (**Giullin, 1985**), et affectés du signe "a" lorsque le facteur est activé (**Igor, 2003**).

Tableau V: Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).

N° de facteurs	Nom de facteurs	Rôle	Lieu de synthèse
I	Fibrinogène	Substrat	Foie
II	Prothrombine	Zymogène	
III	Facteur tissulaire	Cofacteur	Sous-Endothélium Cellules sanguines
V	Proéaccéléline	Cofacteur	Foie
VII	Proconvertine	Zymogène	
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	
IX	Facteur antihémophilique B	Zymogène	
X	Facteur STUART		
XI	Facteur de Rosenthal		
XII	Facteur de Hageman		

Les facteurs de la coagulation Tableau (V), ont été découverts et décrits comme une activité biologique présente chez l'homme normal, et absente au cours de maladies hémorragiques héréditaires (Cambus, 2002).

Les thromboses sont les maladies vasculaires les plus fréquentes (Lacut et al., 2008), qui résultent d'une interaction complexe entre les protéines circulantes de la coagulation, les plaquettes et la paroi vasculaire (Jensen, 2002). Selon le site de leurs formations on distingue deux types des thromboses: thromboses artérielles et thromboses veineuses, deux entités distinctes différent entre elles dans les facteurs de risque, les mécanismes physiopathologiques et les manifestations cliniques (Lacut et al., 2008 : Franchini et Mannucci, 2008), pour le traitement contre les thromboses, il existe trois classes d'agents pharmacologiques antithrombotiques utilisables, les antiagrégants (aspirine, ticagrelor, clopidogrel...), représentent à l'heure actuelle le traitement de référence des thromboses artérielles (Aubry et Halna du Fretay, 2010), Les anticoagulants représentent le traitement principal de la maladie veineuse thrombo-embolique. De nombreux anticoagulants agissent à différents niveaux de la cascade de la coagulation et sont divisés en trois classes, deux classes des anticoagulants classiques (les héparines et les anti-vitamines K) étant la classe des nouveaux anticoagulants (Batty et Smith, 2010), et les fibrinolytiques, le but de traitement

fibrinolytique (streptokinase, urokinase, activateur tissulaire de plasminogène...) est de lyser le thrombus artériel ou veineux, traitement le plus souvent associé aux traitement anticoagulant et antiagrégant (**Crozier et Woimant, 2007**). **Raj Narayana et al (2001)** ont rapporté l'effet antithrombotique des flavonoïdes notamment l'effet antiagrégant de la quercitine, du 3-méthyl quercitine, de dihydroquercétine et des flavones. Cette propriété est liée à leur effet inhibiteur en se fixant aux récepteurs cellulaires des plaquettes (récepteur de l'ADP et récepteur de facteur von Willebrand). **Guerrero et al (2005)** ont rapporté que quelques flavonoïdes telle que l'apigénine inhibent effectivement l'agrégation plaquettaire in vitro par inhibition duTXA2 (**Arslan et al .,2011**). La catéchine et la quercitine inhibe in vitro d'une manière synergique la production plaquettaire du peroxyde d'hydrogène (**Pearson et al ., 2002**).

Deuxième partie

Etude expérimentale

I- Zone de prélèvement

1- Présentation de la zone de prélèvement

La station de Maazouzi Lakhder (1094 hectares) a été créée en période de la coloniale, c'est une ferme nationalisée. Le rôle de cette ferme est la production des céréales (576 ha) entre le blé dure qui superficie (233 ha) de blé tendre (283 ha), la lentille (60 ha), les oliviers (180 ha (100 arbre / ha) de l'huile d'olive.

La station se localise au niveau de 36°26'0.6" de latitude Nord et 6°9'0.36" de longitude Est, avec une altitude moyenne de 318 m. Elle est située à 10,3 Km à l'Ouest du chef-lieu de la wilaya de Mila entre Zeghaia et Oued Endja figure (12).

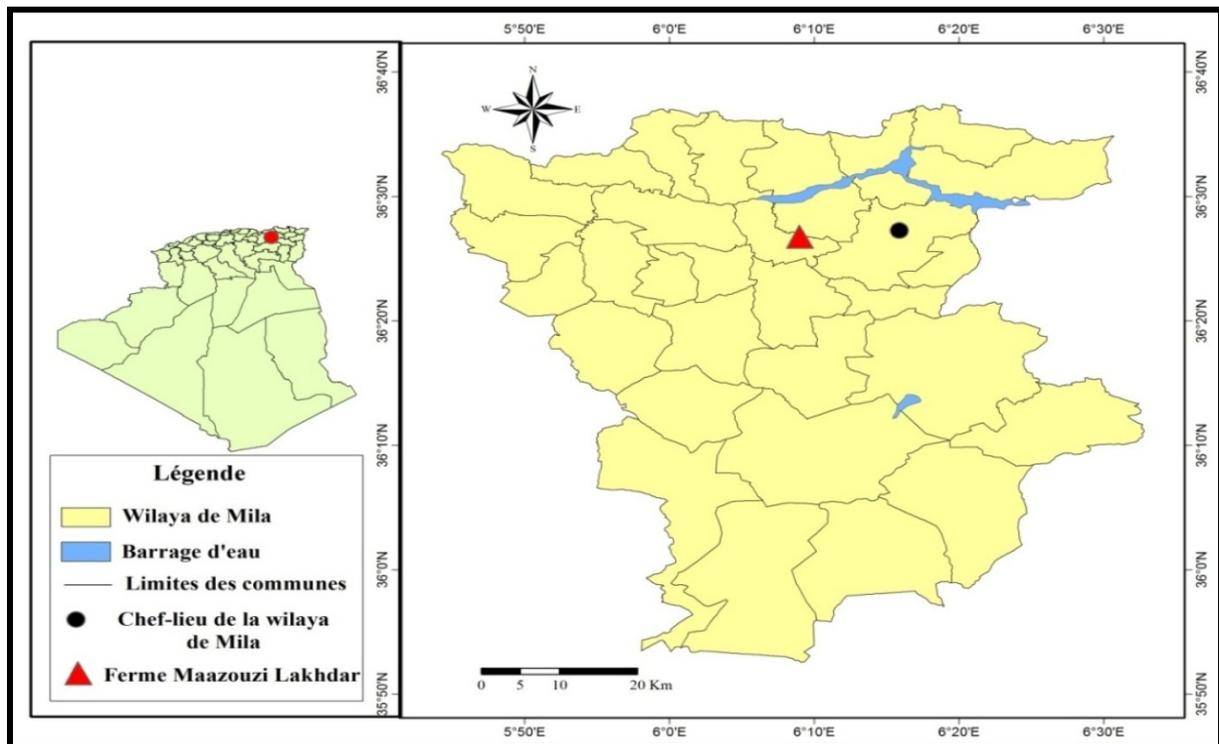


Figure N°12: Situation géographique de la station Maazouzi Lakhdar

2- Synthèse climatique

Les températures et les précipitations constituent les deux principaux paramètres des climats car l'ensoleillement est de façon générale, bien corrélé avec la température.

La station de Maazouzi Lakhdar située dans le Nord de la wilaya de Mila avec un étage bioclimatique sub- humide. La pluviométrie dans cette région reçoit une moyenne de 600 mm /an, l'irrégularité mensuelle de ces précipitations est très élevée, pendant l'été il ne pleut que 5% de la précipitation annuelle contre 60% en hiver, le reste est partagé entre l'automne et le printemps, celles de l'automne sont de type torrentiel.

La figure (13) représente les précipitations moyennes mensuelles enregistrées durant nos années d'étude. Ces données ont été recueillies auprès des services de météorologie (Station de Ain Tine Mila) pour une période allant de 2013 à 2015 .

Nous constatons que la répartition mensuelle des pluies au cours de cette Période (2013-2015) est irrégulière, le maximum de pluies a été atteint au mois de février 2013 (199.3 mm) et Décembre 2014 (186.6 mm) et Janvier 2015 (216.0 mm), tandis que les trois mois d'été juin, Juillet et Août n'ont reçu que de faibles quantités entre 0 et 5.3 mm dans les trois ans d'études, la moyenne de précipitation durant 3 ans est illustrée dans la figure (13).

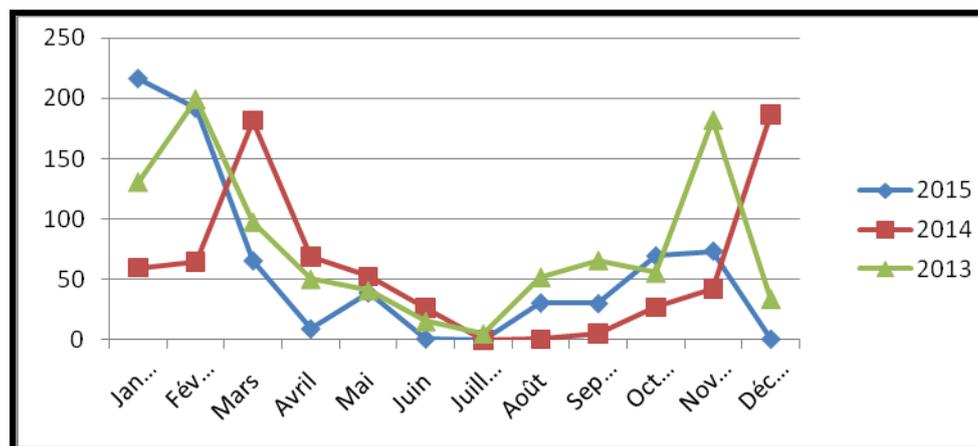


Figure N° 13 : Précipitation de la période d'étude dans la région de Mila
services de météorologie Station de Ain Tine Mila

Les massifs montagneux au Nord du bassin de Mila bloquent les influences méditerranéennes adoucissantes. La température est donc de type continental et change avec les saisons, elle est très basse en hiver en Décembre et Janvier, et est très élevée en Juillet et Aout.

La représentation graphique des températures est portée sur le graphe de la figure (14). En examinant ces trois courbes, nous constatons que les valeurs des températures moyennes minimales varient de 6.1 C° Janvier 2015 à 8.5 C° Décembre 2014 et les températures moyennes maximal varient de 22.7C° à 26.6 C° respectivement durant Juillet 2015 et 2013

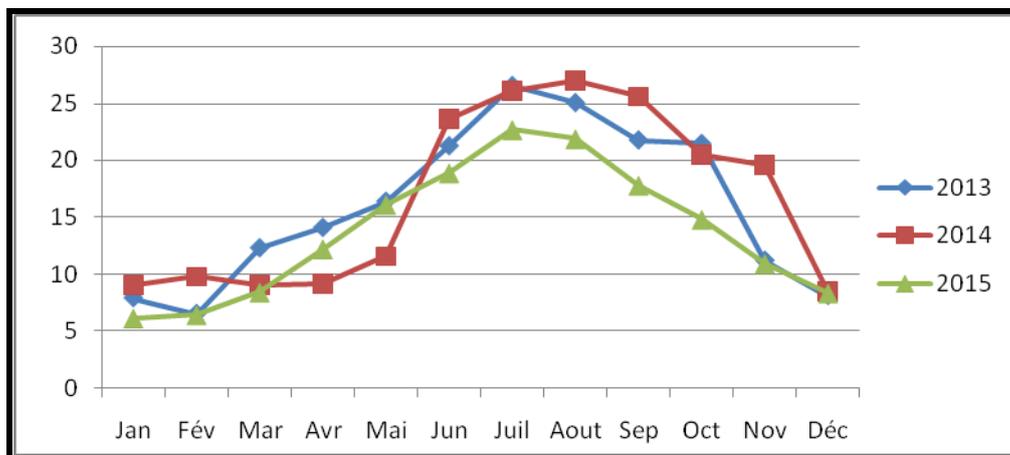


Figure N° 14 : Températures de la période d'étude dans la région de Mila
services de météorologie (Station de Ain Tine Mila)

Au cours de la période (2013-2015), les températures minimales varient entre 2.2 C° à 4.0C°- respectivement pour le mois de Février et le mois de Janvier, par contre les valeurs des températures maximales varient de 36.3 C° pour le mois de Juillet et 34.5C° pour le mois d'Août. (Tableau1 annexe 4).

Les données concernant les radiations solaires sont insuffisantes pour permettre une étude précise de ce facteur à l'échelle régionale, seules des grandes tendances se dessinent, le nombre annuel d'heures d'ensoleillement est plus important dans les mois Juin, Juillet et Août pour les trois ans 2013 (2745.5 heures/mois), 2014 (2904.4 heures/mois), et 2015 (2982.9 heures/mois) figure (15)

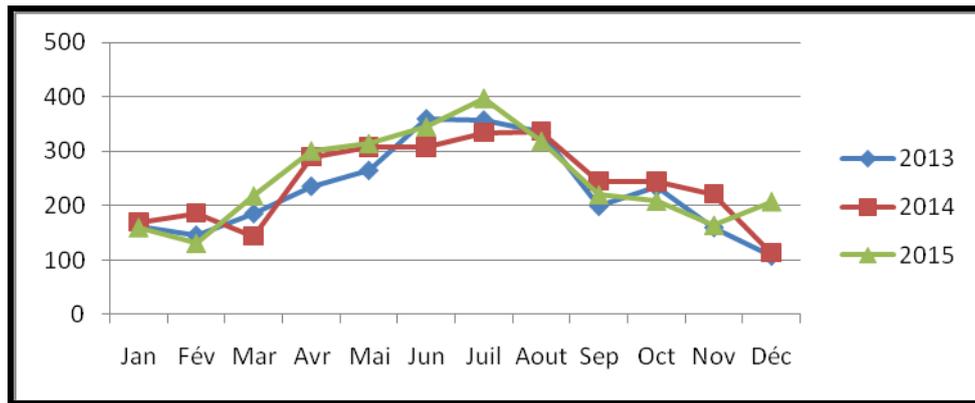


Figure N°15 : Insolation totale mensuelle par H de la période d'étude dans la région de Mila services de météorologie (Station de Ain Tine Mila)

II- Matériel et méthodes

Dans le cadre de la réalisation de cette thèse, nos travaux expérimentaux ont été effectués au niveau des établissements suivants :

- Station Maazouzi lekhdar (Suivie des stades phénologique)
- Laboratoire des Science naturel et matériaux Centre universitaire Abdalhafid Boussouf Mila (études biologiques, physiologique et biochimiques et l'activité antibactériennes).
- Laboratoire biochimie l'université (Kahramenmas Sutcu Imam) à Orman fakultesi Dekanligi Tuc (HPLC et l'activité antioxydante).
- Laboratoire de l'hôpital ben Tobal Mila (activité anticoagulante) .

1- Etude biologique et physiologique de l'olivier

La connaissance du patrimoine variétal du point de vue agronomique, morphologique, physiologique, sa bonne gestion et son exploitation pourront confronter la filière oléicole du pays et ce en respectant la plasticité des cultivars et leurs adaptations à des zones géographiques.

Dans ce cadre nous avons mené plusieurs prospections dans la station d'étude figure (12). Les échantillons de l'étude sont composés de quatre cultivars

1- 1- Description des variétés de l'olivier

Dans notre étude nous avons utilisé quatre variétés

A. Sigoise: origine d'Afrique du Nord : Ouest du pays (Oran, Tlemcen) c'est une variété auto fertile. Cette variété représente 20 % des oliviers algériens. Très riche en huile, Les fruits sont moyens (3 à 3,5 g), ovoïdes. Rendement en huile 18 à 20 %, mais sert aussi d'olives de table. Ces feuilles sont allongées modérément – droite.

B. Dathier : Noyau assez gros, régulier, en forme de datte. Chaire abondante, ferme et blanche se détachant du noyau. Calibre courant : 14/18 fruits aux 100g. Les feuilles allongées modérément - droite – incurvé.

C. Rougette : origine de Est du pays (Guelma, Mitidja). Variété connu pour son huile douce avec des olives de table rouge. Cette variété est caractérisée par fruit de bonne fermeté de couleur rouge-violet et de bonne adaptation aux sols pauvre vigoureux. Les feuilles très allongé- droite

D. Chemlel : origine de Centre Algérien Kabylie, elle constitué 35% de l'olivier Algérienne et c'est l'une des plus estimé pour la fabrication de l'huile, nous pensons qu'elles se rapprochent plutôt d'olivier de l'Hérault. Les fruits est faible, le pourcentage d'huile 18 à 22%. Les feuilles sont légèrement allongé-droite.

1-2- Etude morphologique

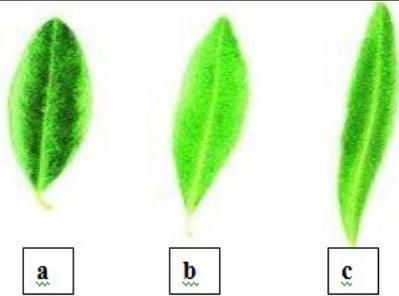
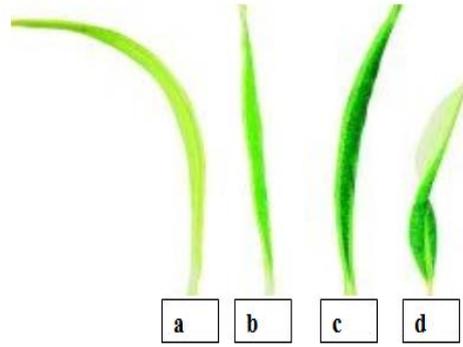
La méthodologie d'étude est inspirée de plusieurs travaux (**Ruby, 1917; Hauville, 1953; Baldini et Scaramuzzi, 1963; Barranco et Rallo, 1984; Caballero et Eguren, 1986 ; Ben Ammar, 1988**). La caractérisation morphologique et pomologique a été effectuée en se basant sur la méthodologie de caractérisation primaire de l'olivier éditée par le Conseil Oléicole International (**C.O.I, 1997**).

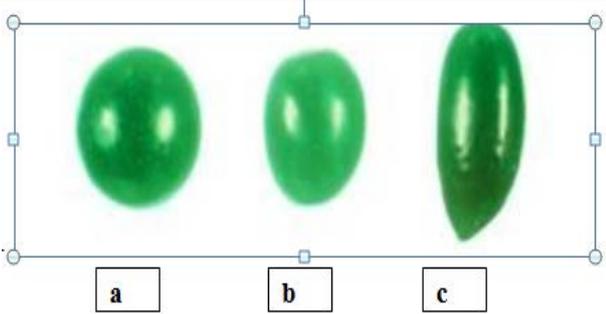
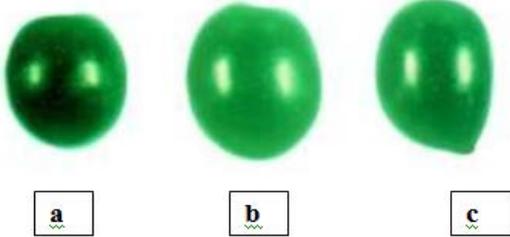
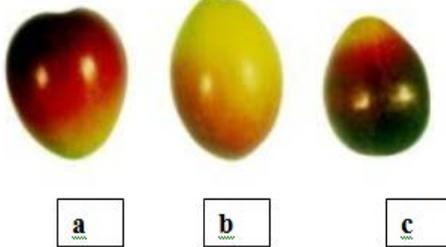
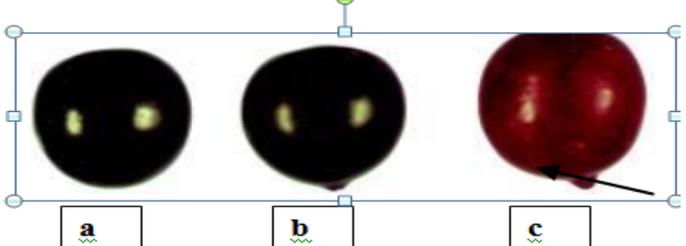
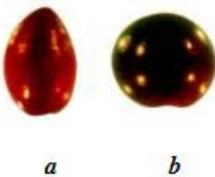
Nous avons prélevé quarante feuilles adultes de chaque arbre de la partie médiane de 8 à 10 pousses de l'année, choisies parmi les plus représentatives et situées dans la partie orientée vers le sud à la hauteur de l'observateur. Pour chaque feuille nous avons mesuré la longueur et la largeur à l'aide d'un pied à coulisse (Ineco HDCD1150) de précision de 0,02. Puis nous avons déterminé les longueurs et les largeurs moyennes des quarante feuilles de chaque accession et calculer le rapport longueur/largeur moyen (L/l) (avec L: longueur et l: largeur) afin de déterminer la forme du limbe. De même on a déterminé la courbure longitudinale des feuilles.

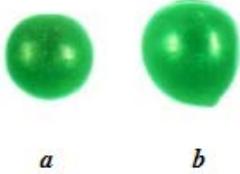
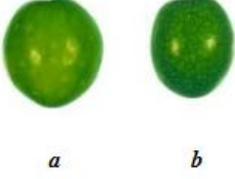
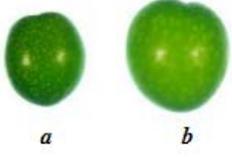
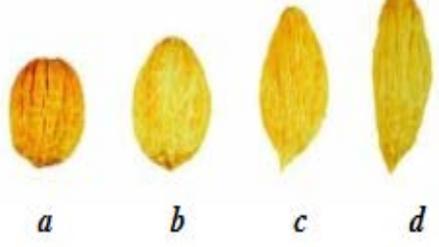
La caractérisation morphologique et pomologique des écotypes prospectés s'est basée exclusivement sur la caractérisation primaire de l'olivier établie par **COI (1997)** tableau (VI). Toutefois, on a exclu les caractères de l'arbre (port, densité de feuillage et vigueur).

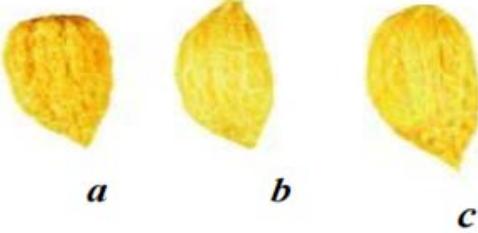
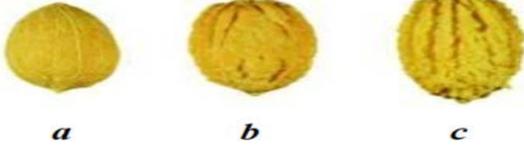
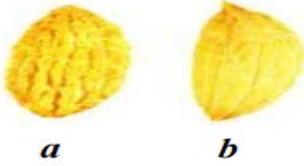
Chaque année (2013, 2014 et 2015), la caractérisation des organes de l'arbre a été faite pour 40 feuilles, 40 fruits et 40 noyaux .

Tableau VI : Caractérisation morphologique selon COI (1997).

Caractères	La photo selon le catalogue (COI, 1997)
La feuille	
longueur moyenne (L) a- courte (<5cm) b- moyenne (5-7cm) c- longue (>7cm)	
- largeur moyenne (l) a- étroite (<1cm) b- moyenne (1-1,5 cm) c- large (> 1,5 cm)	
- forme du limbe a- Elliptique ($L/l < 4$) b-Elliptique-lancéolée ($L/l 4-6$) c- Lancéolée ($L/l > 6$)	
Courbure longitudinale du limbe L'axe longitudinal de la feuille nous permet de classer le limbe en quatre catégories : a- Hyponastique b- Plan c- Epinastique d- Hélicoïdal	
Fruit	
- Le poids du fruit est une moyenne pluriannuelle. a- Faible : (< 2 g) b- Moyen (2-4g) c- Élevé (4-6g) d- Très élevé (>6g)	

<p>La forme est déterminée par le rapport Longueur/Diamètre et peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> a-Sphérique (<1,25), b-Ovoïde (1,25-1,45), c- Allongée (>1,45). 	
<p>- La symétrie est prise en position A (asymétrie maximale) et le fruit peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> a-Symétrique, b-Légèrement asymétrique c- Asymétrique. 	
<p>- La position du diamètre transversal maximal peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> a-Centrale b-Vers le sommet c- Vers la base. 	
<p>Le mamelon qui caractérise le point distal du fruit peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> a-Absent a- Ebauché b- Evident. 	
<p>- La forme du sommet peut être</p> <ul style="list-style-type: none"> a- Pointue. b- Arrondie 	

<p>- La forme de la base peut être</p> <p>a- Tronquée.</p> <p>b- Arrondie</p>	
<p>- Les lenticelles sur l'épiderme du fruit peuvent être</p> <p>a- Nombreuses</p> <p>b- Peu nombreuses</p>	
<p>Dimension des lenticelles</p> <p>a- Petites</p> <p>b- Grandes</p>	
<p>Noyaux</p>	
<p>- Le poids moyen pluriannuel après dénoyautage des fruits utilisés précédemment.</p> <p>). Le poids moyen de l'endocarpe peut être : Faible : (<0,3g) Moyen :(0,3-0,45g) Elevé : (0,45-0,7g) Très élevé (>0,7g)</p>	
<p>- La forme peut être, selon L/l,</p> <p>a-Sphérique (< 1,4),</p> <p>b-Ovoïde (1,4-1,8),</p> <p>c- Elliptique (1,8-2,2)</p> <p>d- Allongée (> 2,2)</p>	
<p>- La symétrie, la position du diamètre transversal maximum et la forme du sommet sont les mêmes que pour le fruit.</p>	

<p>- La forme de la base peut être</p> <p>a-arrondie</p> <p>b-pointue</p> <p>c- tronquée.</p>	
<p>- La surface peut être</p> <p>a- Lisse,</p> <p>b-Rugueuse</p> <p>c-Raboteuse.</p>	
<p>/ Le nombre des sillons fibrovasculaires Les sillons sont Observés à partir du point d'intersection du pédoncule : a- Réduit (<7) b- Moyen (7-10) c- Elevé (> 10)</p>	
<p>La distribution des sillons fibrovasculaires</p> <p>a- Uniforme</p> <p>b- Groupés à proximité de la suture</p>	
<p>L'extrémité du sommet</p> <p>a- Sans mucron</p> <p>b- Avec mucron</p>	

1-3- Etude physiologique

L'étude physiologique comporte le suivie des stades phénologiques de chaque variétés,
Le teneur en eau et le pH

1-3-1- Suivre de stade phénologique

Notre étude été déroulée le long de l'année 2015- 2016 dans la même oliveraie Maazouzi Lakhdar située dans la commune d'Oued Endja wilaya de Mila, trois arbres ont été choisis au hasard pour faire l'objectif de cette étude. Chaque arbre doit être en bon état nutritionnel et sanitaire, les enquêtes phénologiques ont été effectuées tous les 10 jours à compter de la saison de l'éveil de bourgeons post-anthèse, pendant la pleine floraison les mesures ont été effectuées tous les 4 jours. Les stades phénologiques ont été représentés par des lettres différentes (A à II) dans un phénogramme et chaque étape représente l'expression moyenne (50%) de chacune des phases phénologiques (Colbrant et Fabre, 1979).

1-3-2- Teneur en eau (%)

C'est la perte en masse subite par l'échantillon, après chauffage exprimée en pourcentage de masse (Audigie, 1978) avec :

H (%) : Teneur en eau (taux d'humidité) exprimé en pourcentage.

M1 : Poids de l'échantillon en gramme avant séchage (poids frais).

M2 : Poids de l'échantillon en gramme après le séchage (poids sec)

$$H (\%) = (M1 - M2) / M1 \times 100$$

1-3-3- Détermination du pH

Il s'agit de déterminer en unité de pH la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans une solution préparée à base des feuilles et fruits de l'olivier, objet de la mesure, le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu.

La mesure du pH d'un échantillon solide est effectuée sur une suspension de l'échantillon (1 g) dans l'eau distillée (10 ml), trois répétitions sont effectuées.

2- Etude phytochimique

La préparation des échantillons est d'une importance capitale pour toute analyse fiable. Dans notre étude, nous sommes intéressés à deux parties de l'arbre : les feuilles et les fruits.

2-1- Préparation des échantillons (fruits et feuilles de l'olivier)

Pour faciliter l'extraction des composés biochimique à partir des fruits et feuilles de l'olivier deux opérations de prétraitement de ce matériel ont été effectuées séchage et broyage

- **Séchage** : Le séchage des feuilles et fruits d'olivier a été effectué à l'aire libre à une température ambiante, puis dans une étuve portée à une température voisine de 45°C pendant trois jours.
- **Broyage**: Les fruits et feuilles séchés sont ensuite broyés à l'aide d'un moulin à café

2-2- Métabolites primaires

2-2-1 Teneur en lipides

➤ Principe

Afin d'extraire et de déterminer la teneur en matières grasses de nos échantillons, nous avons choisi l'énorme (AFNOR, 1984). Cette méthode est basée sur l'extraction solide liquide par Soxhlet, en utilisant l'hexane comme phase liquide, pendant 6 heures. L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides (matériel végétal) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps de l'extracteur, contient une cartouche en cellulose remplie de matériel végétal déjà préparé. Cette cartouche est fixée sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmontée d'un réfrigérant, le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec le matériel végétal, la solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction, et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair c'est-à-dire sans une proportion significative de soluté.

➤ Mode opératoire

Les lipides sont extraits par un système soxhlet à l'aide de l'hexane selon la méthode de (Virot et al., 2008), avec certaines modifications. Elle consiste à mettre 5 g du matériel

végétal broyés introduit dans une cartouche de cellulose, avec l'utilisation de 350 ml d'hexane. Après 6 heures, Les extraits sont desséchés par une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre. On a récupéré le solvant organique par une évaporation sous vide, porté à une température 60 °C environ.

L'extrait obtenu est un extrait lipidique brut. Chaque extrait est pesé et nous avons calculé la teneur en lipide de chaque échantillon à l'aide de la relation.

$$Tl = \frac{M1}{M2} \times 100$$

Tl : Teneur en lipides

M1 : Masse de l'extrait

M2 : Masse de la prise d'essai (matière végétale)

2-2-2- Teneur en sucre soluble des feuilles et fruits

➤ Principes

Les sucres solubles totaux (saccharose, glucose, fructose, leurs dérivés méthyles et les polysaccharides) sont dosés par la méthode au phénol de **Dubois et al. (1956)**.

➤ Mode opératoire

Elle consiste à prendre 100 mg de matières fraîches (feuilles et fruits), les placées dans des tubes à essai, on ajoute 3 ml d'éthanol à 80%, on les laisse à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, les tubes sont placés dans une étuve à 80° C pour faire évaporer l'alcool, dans chaque tube, on ajoute 20 ml d'eau distillée, c'est la solution à analyser. Dans des tubes à essai propre, on introduit 1 ml de la solution à doser auquel on ajoute 1 ml de solution de phénol à 5%, les tubes sont soigneusement agités. On ajoute alors 5 ml d'acide sulfurique concentré à l'aide d'une burette dont le jet tombe brutalement sur la surface du liquide, on obtient une solution jaune orange à la surface, passer cette solution au vertex pour homogénéiser la couleur de la solution. On laisse les tubes pendant 10 mn et on les place au bain-marie pour 10 à 20 mn à une température de 30°C (La couleur de la réaction est stable pendant plusieurs heures). Les mesures d'absorbances sont effectuées à une

longueur d'ondes de 485 nm. Enfin les résultats des densités optiques sont rapportés sur un courbe étalon des sucres solubles (exprimés en g/l).

$$y = 2.4189 x + 0.2752$$

Y : les sucres totaux

X : l'absorbance pour chaque extrais

2-3- Métabolites secondaires

2-3-1- Screening phytochimique

➤ Principes

Le screening phytochimique met en évidence la présence des familles des molécules actives, Ce sont des études qualitatives utilisées pour connaître la composition chimique globale des extraits. Ils sont basés sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

➤ Mode opératoire

✓ **Recherche des substances phénoliques**

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3). À 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée, l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (**Békro et al., 2007**).

✓ **Recherche des saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 2 ml de l'extrait à analyser, ajouter 2 ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'un mousse indique la présence de saponines (**N' Guessan et al., 2009**).

✓ Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, a 1 ml de l'extrait sont ajoutés 200 µl de FeCl₃ 1 %. La présence de tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noir (Karumi *et al.*, 2004).

✓ Recherche des flavonoïdes

On trempe 10 g de la plante dans 150 ml d'acide chlorhydrique 1 % pendant 24 heures, on filtre et on procède aux tests suivants:

On ajoute à 10 ml du filtrat, du NH₄OH jusqu'au pH basique. L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes (Benwqhi, 2001 ; Chaouch, 2001).

✓ Recherche des triterpènes et stéroïdes

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la poudre dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon. L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stérols et des triterpènes (Kalla, 2012).

✓ Recherche des alcaloïdes

10 ml de l'extrait sont évaporés à sec. Le résidu obtenu est repris dans 1.5 ml d'acide chlorhydrique 2% sous agitation au bain marie à chaud. Après refroidissement et filtration. Le filtrat est traité par le réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc indique la présence d'alcaloïdes (Majob, 2003).

✓ Recherche des composés réducteurs (les glycosides)

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué prendre 1 ml de l'extrait est chauffé dans un bain marie, puis 200 µl de réactif de Fehling sont ajoutés à l'extrait. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (Cai *et al.*, 2011).

Recherche des coumarines

Le résidu de chaque extrait est dissout dans 2 ml d'eau chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0.5 ml de NH₄OH 25 %, ensuite, une goutte de

chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre qui sera observé sous U.V. à 366 nm (Bruneton, 1999). Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH_4OH .

✓ Recherche des quinones libres

Sur un volume de chacun de nos extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyde, 2005).

✓ Recherche des anthraquinones

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH_4OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (Oloyede, 2005).

2-3-2- Étude des polyphénols

1- Choix de la méthode d'extraction

La méthode d'extraction des biomolécules utilisée au laboratoire est la sonication, en raison de sa simplicité d'exécution : un gain de temps, une température ambiante ainsi que des quantités plus faibles de solvant utilisé et une grande reproductibilité (Palma et Barroso, 2002; Biesaga, 2011).

2- Choix des solvants

Les polyphénols, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. Ainsi, les solvants qui ont été retenus pour notre étude sont les mélanges méthanol/eau (70/30, v/v) dont la polarité sera qualifiée d'intermédiaire. Le méthanol présente une polarité moyenne, et l'eau dont la polarité est la plus élevée (Giusti et Wrolstad, 2001).

3- Étape d'extraction des polyphénols

Pendant l'étape d'extraction, certaines précautions ont été prises afin de protéger les polyphénols et d'autres biomolécules particulièrement sensibles à toute dégradation éventuelle, en particulier en les protégeant de la lumière.

Les polyphénols sont extraites par micro-onde figure (16), On a ajouté 1g de l'échantillon (fruits et feuilles) séché et broyée dans un ballon et on a complété 100 ml de mélange hydrométhanolique (méthanol – eau ; 70 / 30 ; V/V), pendant 1 heures de temps le mélange a été soumis après, une filtration à travers un entonnoir, le filtrat a été évaporé sous pression à l'aide d'un rota vapeur à 60 C° pour une élimination totale du méthanol, après , récupéré l'extrait par 10 ml de méthanol et le résidu été utilisé pour calculer la teneur en matière extraite .



Figure N°16: Extraction des polyphénols par micro-ondes

2-3-3- Analyse Quantitative des composés phénoliques

2-3-3-1-Méthodes analytiques par Spectrométrie UV-Visible

La spectrométrie UV-Visible a été utilisée pour la lecture des densités optiques des échantillons à des longueurs d'onde dans la région de l'UV-Visible.

1- Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux dans les extraits de feuilles et fruits de *Olea europaea* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**).

➤ **Principe**

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). Le réactif de Folin-Ciocalteu en milieu alcalin, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro polyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. (**Daels-rakotoarison, 1999**).

➤ **Mode opératoire**

0.2 ml d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec les dilutions convenables) est ajouté à 0.8 ml de la solution de Na_2CO_3 (75 mg/ml d'eau distillée), après agitation, 1ml de la solution de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) est ajouté à l'ensemble, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait. Le taux de polyphénols totaux des extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire, établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0- 200 mg/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme d'extrait de feuilles et fruits en poudre.

2- Dosage de la concentration en flavonoïde

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium AlCl_3 (10 % dans l'eau distillé). Après 10 minutes de réaction. Une lecture de la densité optique à 430 nm est effectuée. La quercitine est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0 -10mg/ml.

3- Dosage des tannins condensés

Le dosage des tannins condensés est effectué par la méthode n-butanol-HCl décrite par **Porter et al.,(1986)**. Le milieu réactionnel est composé de 0,5 ml de l'extrait, 3 ml de la solution n-butanol-HCl (95 %) et de 0,1 ml du réactif ferreux (sulfate d'ammonium ferrique 2% dilué dans HCl, 2N). Les échantillons sont agités puis incubés une heure

dans un bain marie à 100°C. L'absorbance est mesurée à 550 nm après refroidissement des tubes. Les résultats sont exprimés en se référant à une courbe d'étalonnage de mimoza

3-3-4- Chromatographie liquide à haute performance (HPLC-DAD)

L'analyse HPLC donnée dans la littérature a été utilisée pour l'identification et la quantification du composé de polyphénol (Savournin *et al.*, 2001). L'analyse par HPLC a été effectuée sur un appareil SHIMADZU Figure (17), une vanne d'injection manuelle, modèle de détecteur UV SPD20A à l'aide d'une colonne de 250 x 4,60 mm avec percolumn, emballage: Thermo Scientific ODS HYPERSIL C18. L'acquisition et la quantification des données ont été réalisées avec SHIMADZU. La phase mobile était de 92% d'eau distillée (pH = 3) avec 0,10 M d'acide ortho phosphorique (v / v, 1000: 2,30) et 21% d'acétonitrile (Carlo Erba, HPLC grade), acidifié avec 0,10 M d'acide ortho phosphorique (v / v, 1000 : 2.30). Le débit était de 1 ml / min, et le volume d'injection était de 20 µl. Le temps total d'analyse d'un échantillon est de 60 min. Les monomères phénoliques ont été détectés à 280 nm. Les pics des composés phénoliques ont été identifiés par comparaison de leur temps de rétention à ceux des standards et en vérifiant leur spectre caractéristique. Le dosage des composés phénoliques a été réalisé par calibration linéaire externe avec des solutions étalons des standards correspondants.



Figure N°17 : HPLC –DAD.

3- Etudes des activités biologiques de feuille et fruits de l'olivier

3-1- Evaluation du pouvoir antioxydant par mesure de la capacité du piégeage des radicaux libres 2,2-diphényle-1-pikryldhydrazyl radical.

Plusieurs techniques peuvent être utilisées afin de mesurer le pouvoir antioxydant des extraits et molécules. L'évaluation du pouvoir antioxydant peut se faire par la mesure du pouvoir des échantillons à piéger des radicaux libres. Les plus pratiques pour leur simplicité, rapidité, sensibilité et reproductibilité restent celles basées sur la décoloration de solutions d'un chromogène radicalaire (DPPH•). La présence d'un composé antioxydant provoque une rupture de la réaction en chaîne de formation de ces radicaux et donc à une décoloration de la solution du radical. Dans cette thèse, le pouvoir de l'agent antioxydant à piéger des radicaux libres, sous leurs différentes formes, est déterminé par la méthode DPPH.

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényle-1-pikryldhydrazyl radical, a été utilisé pour déterminer la capacité antioxydante des extraits. Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2-diphényle-1-picrylhydrazin) est formé (jaune) (Villano, et al., 2007). Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Molyneux et Songklanakarin, 2004).

Dans notre étude on a suivi la procédure de méthode de Blois (1958), qui a été utilisés pour la DPPH de radicaux libres. 1 mM a été utilisé comme solution d'extraits. Les solutions ont été transférées à tubes à essai afin d'obtenir les solutions mères de 15, 30 et 50 µg/ml concentrations ; et le volume total a été ajusté à 3 ml d'eau distillée de l'éthanol. Plus tard, 1 ml de DPPH solution stocké été ajouté à chaque échantillon moyen. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min à 25 °C, les valeurs d'absorbance ont été mesurés à 517 nm contre de l'éthanol échantillons à l'aveugle, (3 ml d'éthanol a été utilisé dans la détection avec 1 ml de DPPH solution comme un contrôle). La diminution de l'absorbance a indiqué le montant de DPPH est resté après la solution free radical-activité antiradicalaire .

Premièrement, les normes graphique ont été créées pour identifier l'activité de piégeage des radicaux DPPH des fruits et feuilles de l'olivier (*Olea europaea*) et composés antioxydants standard utilisé BHA. Des calculs sur les radicaux DPPH ont été effectués conformément à l'équation suivante : DPPH activité antiradicalaire (%) = $(1-AS/AC) \times 100$, comme AS c'est la valeur d'absorbance trouvé après l'ajout d'un échantillon à l'DPPH solution radicale, et à l'AC est la valeur d'absorbance du contrôle, qui comprend seulement le DPPH solution radicale. BHA a été utilisé pour le contrôle positif. Également nous avons calculé Ec50

3-2- Evaluation de l'activité anticoagulante

L'activité anticoagulante des extraits polyphénoliques des feuilles et fruits de l'olivier a été évaluée *in vitro* par la voie exogène de la coagulation sur un plasma normal déplaqueté et à l'aide d'un test global chromométrique; le temps de Quick (TQ).

Le sang est prélevé d'un jeune adulte comme volontaire sain non traité, dont le TQ est normal, par ponction veineuse dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,2 %, dont les tubes sont remplis jusqu'à 5 ml à raison de respecter du rapport sang/anticoagulant (1 volume pour 9 volumes du sang). Le sang est ensuite centrifugé pendant 5 minutes à 2500 rpm pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes.



Figure N° 18 : Centrifugation du sang pour obtenir un plasma déplaqueté.

3-2-1- Temps de Quick ou taux de prothrombine

Le temps de Quick est le temps de coagulation du plasma du patient mis en présence de facteur tissulaire et de phospholipides apportés par un réactif, la thromboplastine. Par rapport au temps obtenu pour un plasma témoin, ce temps s'exprime en secondes, (Amandine, 2009).

Le test de Temps de Quick (TQ) permet une exploration de la voie extrinsèque de la coagulation. Le TQ, converti en "taux de prothrombine" (TP) permet d'évaluer l'activité des facteurs du complexe prothrombinique en référence à un plasma normal à 100%. Ce test consiste à mesurer le temps que met à se former un caillot de fibrine à 37°C lorsqu'on ajoute dans le plasma un excès de thromboplastine ou facteur tissulaire en présence de calcium. Normalement le caillot se forme en 12 à 13 seconds, ce qui représente le temps de Quick. Le TQ explore les facteurs de la voie exogène de la coagulation: facteur VII, facteur X, facteur V, facteur II, fibrinogène (Caquet, 2004) Tableau (VII). Un temps de coagulation allongé par

rapport à celui de témoin explique que l'échantillon exerce un effet anticoagulant vis-à-vis de cette voie de coagulation. L'effet des polyphénols de l'olivier sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par (Athukorala *et al.*, 2007) avec modifications. D'une part, nous avons mis 100 µl de plasma déjà obtenu dans un tube témoin qui est ensuite incubé à 37°C dans un bain marie durant 2 minutes. D'autre part, 50 µl des extraits polyphénoliques dilués avec de l'eau distillé à 50% (1:1 (v/v)) sont additionnées à 100µl du plasma dans chacun des tubes à analyser qui sont ensuite incubés à 37°C durant un temps optimal de 15 minutes. Après l'incubation, la coagulation a été déclenchée par l'addition de 200 µl de thromboplastine pré-incubé à 37°C pendant 15 minutes. Le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot fibrineux est alors mesuré manuellement à l'aide d'un chronomètre qui est déclenché dès l'addition de thromboplastine dans les tubes jusqu'à ce que l'on observe la prise en masse du caillot. Les résultats sont exprimés par le temps de coagulation en seconde (s). La même opération a été répétée 3 fois dans les mêmes conditions pour chaque variété.

3-3- Evaluation de l'activité antibactérienne

3-3-1-Souches bactériennes :

Les souches bactériennes utilisées dans l'essai sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), ont été choisies pour leurs haute pathogénicités et leurs multi résistances sont : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 , *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Salmonella typhimurium* ATCC14028.

3-3-2-Screening de l'activité antibactérienne

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne, nécessitent un travail dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination. En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage. L'inhibition de la croissance bactérienne in vitro a été étudiée par la méthode de diffusion par disque (l'aromatogramme) sur gélose telle que décrite par (Bauer *et al.*, 1966).

Le test a porté sur tous les extraits d'*olea europaea* préparés précédemment et s'est déroulé selon les étapes suivantes

Méthode de diffusion sur gélose

L'antibiogramme est une méthode qui sert à déterminer l'effet des antibiotiques sur les bactéries testées, mais lorsqu'on substitue les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par l'extrait phénoliques, on l'appelle l'aromatogramme.

La méthode d'aromatogramme est la technique choisie pour déterminer l'activité antimicrobienne des extraits à tester, elle se base sur le pouvoir migratoire des extraits sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Cette méthode nous permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien des extraits sur les bactéries et déterminer sa résistance ou sensibilité vis-à-vis ces extraits.

- Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières ont été séchées pendant 30 min à la température du laboratoire et laissées 24h/37°C.

- Préparation des dilutions des extraits

Après l'extraction des polyphénols, on prépare trois dilutions: 100% ,50% et 25% (v/v), pour avoir 3 dilutions.

Pour pouvoir obtenir les différentes dilutions des polyphénols des extraits de quatre variété de l'olivier feuilles et fruits, nous les avons diluées dans le DMSO (diméthylsulfoxyde). Ce choix a été fait parce que le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, **Gachkar et al. (2007)** qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien.

- Préparation de l'inoculum

Chaque souche bactérienne a été ensemencée en stries sur des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) et incubée pendant 18 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies bien isolées. Après les 18 heures et à partir de ces boîtes, on a prélevé quelque colonies bien isolées et parfaitement identiques avec une anse de platine ou pipette Pasteur et les transférer dans un tube contient 9 ml d'une solution de l'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl) afin d'avoir une densité cellulaire initiale voisine à

celle de 0,5 Mc Ferland (10^6 UFC/ml). Cette comparaison est mesurée à l'aide d'un densitomètre.

L'inoculum bactérien est ajusté soit en ajoutant de la culture s'il est trop faible soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire en moins de 15 minutes après la préparation de l'inoculum.

- L'ensemencement et dépôt des disques

Dans les 15 minutes qui suivent l'ajustement de la densité de la suspension bactérienne, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé toute la surface de la gélose (Mueller Hinton) à trois répétitions en tournant la boîte à chaque fois avec 60°C , et enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose. Le but de chaque application est d'avoir une distribution uniforme de l'inoculum.

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de six millimètres de diamètre de papier MM stériles, (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) sont déposés sur la gélose précédemment inoculée avec le microorganisme choisi, puis les imbibés par les différentes dilutions des extraits (100, 50 et 25 %). Chaque disque contient 10 μl d'une seule dilution d'un extrait, d'autres disques imprégnés chacun de 10 μl de DMSO sont utilisés comme témoins négatifs. La gentamicine (GN) est utilisée comme témoin positif pour les souches bactériennes. Le test est effectué en triplicata et les antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les chromatogrammes.

- Incubation et expression des résultats

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, Après ce délai, l'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour de chaque disque.

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se explique par un halotranslucide autour du disque, similaire à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque, 6 mm). Selon **Rouibi et al. (2009)**, une souche est dite:

- Sensible lorsque la zone d'inhibition est supérieur ou égale à 15mm.

- Résistante lorsqu'il n'y a pas une zone d'inhibition.
- Limitée lorsque la zone d'inhibition est inférieure à 15mm.

III-Analyse statistiques:

Les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2010, et les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel SPSS (version 21). Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type SD. La différence entre les différents paramètres est déterminée par le test ANOVA à un critère suivie du test de la Corrélacion, ACP pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de $p \leq 0.05$ sont considérées statistiquement significatives.

Troisièmes parties
Résultats et discussion

I-Résultats et discussion des caractérisations morphologiques

1- Caractères morphologiques quantitatifs

Les résultats obtenus pour la longueur et largeurs, rapport longueur/largeur moyenne et le poids des feuilles, fruits, et noyaux sont regroupés dans le tableau (VII).

Tableau VII : Résultats de l'analyse descriptive de l'ensemble des caractères quantitatifs mesurés pour les quatre cultivars étudiés

N°		Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel	Moy	Ecart	CV%
Feuilles	Long (mm)	55,68±2,38	55,95±6,08	52,58±1,47	57,45±4,02	55,42	1,42	2,56
	Larg (mm)	8,80±1,56	9,43±2,06	7,85±1,11	10,16±1,47	9,06	0,74	8,11
	RLong/Larg	6,84±1,90	6,87±1,95	7,11±0,90	6,39±1,29	6,80	0,21	3,03
	Poids fl (g)	0,111±0.01	0,0984±0.009	0,1286±0.011	0,2017±0.009	0,135	0,033	24,63
Fruits	Long (mm)	23,81±2,55	20,73±2,07	27,40±1,70	19,49±1,35	22,86	2,75	12,02
	Larg (mm)	15,72±4,19	15,39±3,23	15,72±3,32	12,14±2,18	14,74	1,30	8,83
	Rap Long/Larg	1,65±0,24	1,40±0,13	1,86±0,25	1,71±0,32	1,66	0,13	7,85
	Poids fr (g)	2,43±0.02	3,04±0.13	3,35±0.10	1,97±0.05	2,69	0,49	18,44
Noyaux	Long (mm)	18,96±1,12	15,30±1,46	21,53±0,76	16,53±1,45	18,08	2,17	11,97
	Larg (mm)	8,89±3,47	7,92±2,36	7,21±2,28	7,13±2,48	7,79	0,62	7,93
	RLong/Larg	2,71±0,68	2,16±0,37	3,53±0,79	2,92±0,95	2,83	0,40	13,96
	Poids noy (g)	0,70±0.07	0,707±0.007	0,70±0.03	0,59± 0.03	0,674	0,042	6,247

L'analyse des résultats illustrés dans ce tableau révèle l'existence d'une variabilité entre les quatre variétés de l'olivier. Les résultats de l'analyse descriptive indiquent que les coefficients de variation des différents paramètres quantitatifs varient de 2.56% à 24.63 %. Le coefficient de variation le plus élevé est noté pour le paramètre poids des feuilles, tandis que les valeurs les plus basses sont enregistrées pour la longueur des feuilles.

Martin et Gendron (2004), ont donné les balises suivantes concernant l'interprétation du coefficient de variation :

- 1- Entre 0.0 % et 16.0 %, la variation est faible ;
- 2- Entre 16.0 % et 33.3 %, la variation est importante ;
- 3- Au delà de 33.3 % la variation est très élevée.

Sur cette base, nous pouvons classer les différents caractères quantitatifs étudiés selon le niveau de variation exprimé en première classe, sauf, pour les critères poids des feuilles et fruits. Ceci est confirmé par l'analyse de la variance à un critère (AVI), il se dégage alors des différences non significative dans la longueur et largeur des feuilles ($P>0,05$) et significative dans le RLong/Larg des feuilles ($P<0,05$). Ainsi des différences très hautement significative dans la longueur des fruits et noyaux et le RLong/Larg des fruits et noyaux ($P<0,001$) et non significative dans les largeurs des fruits ($P>0,05$) finalement hautement significative dans les largeurs des noyaux ($P<0,1$), pour le poids des fruits et feuilles, l'analyse de la variance a un critère a dégagé des différences hautement significatives entre les variétés ($P<0,001$), par contre pour le poids de noyau, l'analyse de la variance a un critère a révélé la présence d'une différence non significative ($P>0,05$) (annexe 1). La longueur des feuilles la plus élevés est enregistrée chez la variété Chemlel ($57,45\pm 4,02\text{mm}$), alors que la plus faible est enregistrée chez la variété Dathier ($52,58\pm 1,47\text{mm}$).

Au regard des résultats obtenus concernant la longueur et largeur moyenne des fruits et noyaux, nous pouvons ressortir que les longueurs des fruits et noyaux varient respectivement entre la valeur minimale $19,49\pm 1,35$ mm chez Chemlel, et $15,30\pm 1,46$ mm chez Rougette, et la valeur maximale $27,40\pm 1,70$ mm, et $21,53\pm 0,76$ respectivement chez Dathier.

Le poids moyen de feuilles des cultivars varie d'un minimum de 0.0984 g chez la variété Rougette à 0.2017 g chez la variété Chemlel, pour le paramètre poids de fruits, le poids le plus important est chez la variété Dathier $3.35\pm 0.10\text{g}$ et le moins important chez la variété Chemlel 1.97 ± 0.05 g, au regard des résultats obtenus concernant le poids de noyau les poids sont presque similaires entre 0.7 à 0.707g sauf la variété Chemlel $0.59\pm 0.03\text{g}$.

Le test de corrélation montre une corrélation positive importante entre longueur des fruits et noyaux ($r=0.803$), la largeur des fruits et noyaux ($r=0.92$) et le rapport long/larg des

fruits et noyaux ($r=0.94$), et une corrélation négative entre les rapports longueur /largeur et la largeur des feuilles, fruits et noyaux respectivement ($r=-0.79$, $r= -0.741$ et $r= -0.80$) annexe (2).

Les résultats de l'analyse des composantes principales montrent que les deux premiers axes expliquent 70,915% de variation totale disponible dans la matrice des données soumises à l'analyse (42.66% axe₁ et 28.24% axe₂) tableau(VIII)

Tableau VIII : Elément du modèle de l'ACP sur les paramètres quantitative des quatre variétés d'études

Composante	Extraction Sommes des carrés des facteurs retenus		
	Valeur propre	% variance expliquée	% variance expliquée cumulée
1	2,560	42,668	42,668
2	1,695	28,247	70,915

L'analyse du composant principal a montré une corrélation entre les rapports lon/larg des trois organes d'étude (feuilles, fruits et noyaux), également l'ACP a montré une corrélation entre les longueurs fruits et noyaux et les largeurs fruits et noyaux, L'analyse du composant principal a montré une corrélation entre la longueur et largeur des feuilles. Figure (19).

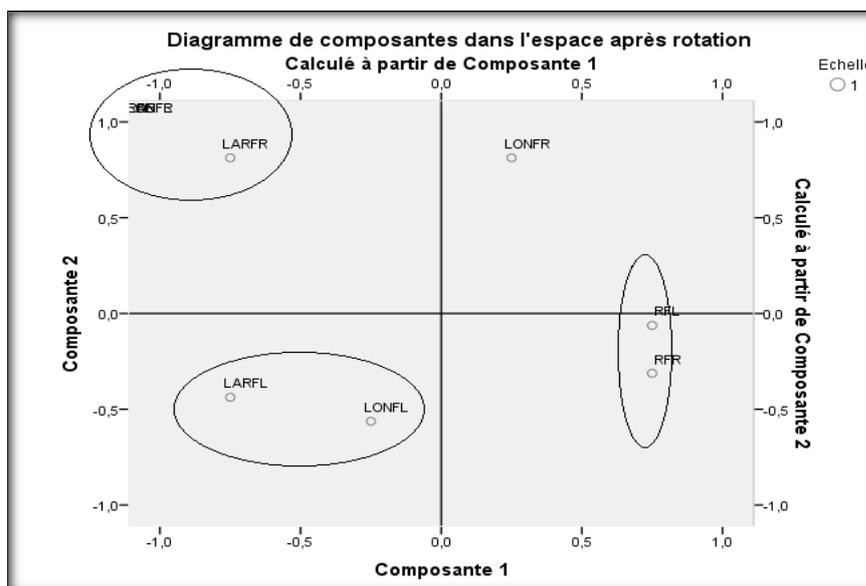


Figure N°19 : Analyse en composantes principales des paramètres morphologiques des variétés cultivées.

1-2- Analyse des paramètres morphologiques mesurés durant les trois ans d'étude

Tous les paramètres morphologiques sont mesurés durant les trois ans d'études 2013-2014-2015, des différences entre les mêmes paramètres durant le trois années ont été signalé, la coefficient de variation est important pour les paramètres chez les quatre variétés, on a trouvé une variation très importante dans le paramètre largeurs de noyaux, pour les deux variétés Sigoise et Chemlel avec une CV de 39.14% et 34.76% respectivement, également des différences importante dans tous le reste des paramètres chez les quatre variétés, sauf longueurs des feuilles, fruits et noyaux de toutes les variétés ,largeurs des fruits de deux variétés Chemlel et Dathier et rapport long/larg de fruits des quatre variétés, la coefficient de variation la moins importante est signalé chez Dathier longueur de feuilles 2.81% tableau (IX)

L'étude des corrélations entre les moyennes précipitations des trois années et les différents paramètres morphologiques ont signalé une corrélation importante positif entre la précipitation et la largeur des fruits et noyaux ($r=0.903$ et $r= 0.946$) respectivement, et la largeur des feuilles, également la duré d' Insolations est corrélée positivement avec le rapport longueur largeur des fruits et noyaux ($r=0.839$ et $r=0.850$) respectivement, mais elle a un effet négative sur la largeur des fruits= -0.917 et noyaux $r= 0.928$. L'analyse de la corrélation entre tous les paramètres morphologique et la moyenne de température a révélé une corrélation positif avec les largeurs des feuille et l'augmentation de température $r=0.880$ et négative avec tous le reste des paramètres (**Annexe 2**)

Tableau IX : Résultats de l'analyse descriptive de l'ensemble des caractères quantitatifs mesurés pour les trois ans d'études

	N°	Feuilles			Fruits			Noyaux		
Variétés		Long (mm)	Larg (mm)	Rlog/lar	Long(mm)	Larg (mm)	Rlong/Larg	Long(mm)	Larg(mm)	Rlog/larg
Sigoise	2 014	60,45	10,58	5,91	28,93	24,11	1,20	21,21	15,85	1,35
	2 015	54,98	10,18	5,40	20,97	13,00	1,61	17,31	6,24	2,77
	2 016	51,63	5,68	9,23	21,55	10,06	2,15	18,36	4,58	4,02
	Moyenne	55,69	8,81	6,85	23,81	15,73	1,65	18,96	8,89	2,71
	Ecartype	2,38	1,57	1,19	2,56	4,19	0,25	1,13	3,48	0,68
	CV	4,28	17,79	17,39	10,73	26,67	14,91	5,94	39,14	25,20
Rougette	2 014	43,80	9,64	4,80	24,88	21,85	1,14	18,23	12,65	1,45
	2 015	67,38	13,34	5,05	17,16	12,25	1,40	13,13	6,11	2,15
	2 016	56,68	5,32	10,76	20,16	12,08	1,67	14,57	5,02	2,91
	Moyenne	55,95	9,43	6,87	20,73	15,39	1,40	15,31	7,93	2,17
	Ecartype	6,08	2,06	1,95	2,07	3,23	0,13	1,46	2,36	0,37
	CV	10,86	21,78	28,34	9,99	20,97	9,53	9,53	29,79	17,02
Dathier	2 014	51,80	7,92	6,82	29,93	22,38	1,34	22,67	11,78	1,95
	2 015	55,54	10,02	5,54	28,28	13,84	2,04	21,94	5,65	3,88
	2 016	50,42	5,63	9,00	24,00	10,95	2,20	20,00	4,21	4,77
	Moyenne	52,59	7,86	7,12	27,40	15,72	1,86	21,53	7,21	3,53
	Ecartype	1,48	1,11	0,94	1,70	3,33	0,26	0,77	2,28	0,79
	CV	2,81	14,16	13,21	6,20	21,18	13,97	3,57	31,66	22,46
Chemlel	2 014	59,33	10,28	6,41	20,75	16,50	1,26	17,84	12,09	1,48
	2 015	49,41	13,00	3,80	16,80	11,05	1,52	13,63	5,55	2,46
	2 016	63,62	7,23	8,96	20,93	8,88	2,36	18,14	3,76	4,83
	Moyenne	57,45	10,17	6,39	19,49	12,14	1,71	16,54	7,13	2,92
	Ecartype	4,02	1,47	1,29	1,35	2,18	0,32	1,45	2,48	0,95
	CV	7,00	14,45	20,26	6,91	17,94	18,85	8,79	34,76	32,64

Cv : coefficient de variation ; Long : longueur ; larg : largeur ; R log/lar : rapport longueur/largeur

2- Caractères morphologiques qualitatifs

La classification morphologique des cultivars est basée sur les descripteurs primaires de la feuille, du fruit et du noyau selon la norme du Conseil Oléicole Internationale (*COI, 1997*).

D'après les résultats mentionnés dans le tableau (X), la forme des feuilles et fruit et noyaux de l'olivier est différente entre les quatre variétés. Les longueurs et les largeurs moyennes des feuilles sont les indicateurs de la variabilité des cultivars, les quatre variétés présentent des feuilles de longueur moyenne, largeur étroite sauf la variété Chemlel présente de largeur moyenne.

La forme de la feuille est déterminée en calculant le rapport entre la longueur et la largeur moyenne. Les quatre variétés ont la même forme lancéolée, pour la courbure de l'axe longitudinal toutes les variétés sont plan, seul Dathier épinastique, la couleur des feuilles est très variable, elle varie de vert pour Chemlel, vert-jaune pour Sigoise, vert foncé pour Rougette et vert à bleu-vert pour Dathier.

La longueur, largeur et le rapport longueur/largeur représentent les dimensions moyennes du fruit. La variabilité du rapport longueur/largeur dévoile aussi une variabilité de la forme du fruit des quatre variétés tableau (X) ainsi deux classes sont distinguées Ovoïde qui regroupe Rougette et Allongé qui regroupe Chemlel, Sigoise, et Dathier.

Le noyau également est un indicateur de variabilité des cultivars. La longueur, largeur et le rapport longueur/largeur représentent les dimensions moyennes du noyau. La variabilité du rapport longueur/largeur dévoile aussi une variabilité de la forme des noyaux des quatre variétés, ainsi deux classes sont distinguées -Ovoïde qui regroupe Chemlel et Rougette et elliptique qui regroupe Sigoise et Dathier. Tableau (X).

Tableau X: Caractérisation morphologique et pomologique des quatre variétés (Feuilles, Fruits et Noyaux)

	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel
Forme de feuille	<p>Longueur : Moyenne Largeur : Etroite Courbure de l'axe longitudinal : plan Forme lancéolée</p>  	<p>Longueur : Moyenne Largeur : Etroite Courbure de l'axe longitudinal : plan Forme lancéolée</p>  	<p>Longueur : Moyenne Largeur : Etroite Courbure de l'axe longitudinal : Epinastique Forme lancéolée</p>  	<p>Longueur : Moyenne Largeur : Moyenne Courbure de l'axe longitudinal : plan Forme lancéolée</p>  
Couleur	Vert -jaune	Vert foncé	Vert et Bleu –vert	Vert
Forme de fruit	<p>Forme : Allongé Mamelon : Absence Forme de base : Tronquer Forme de sommet : Arrondie Symétrie : légèrement asymétrique Forme de sommet : Arrondie Lenticelles : Nombreuses Dimension des lenticelles : Petites</p> 	<p>Forme : Ovoïde Mamelon : Absence Forme de base : Tronquer Forme de sommet : Arrondie Symétrie : symétrique Forme de sommet : Arrondie Lenticelles : Peu nombreuses Dimension des lenticelles : Petites</p> 	<p>Forme : Allongé Mamelon : Absence Forme de base : Tronquer Forme de sommet : Pointue Symétrie : asymétrique Forme de sommet : Pointue Lenticelles : Nombreuses Dimension des lenticelles : Grandes</p> 	<p>Forme : Allongé Mamelon : Absence ou faible Forme de base : Tronquer Forme de sommet : Pointue Symétrie : asymétrique Forme de sommet : Pointue Lenticelles : Peu nombreuses Dimension des lenticelles : Petites</p> 
Couleur	Vert- noir	Rouge foncé. noir	Mauve -noir	noir

	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel
Forme de noyau	<p>Forme : Elliptique Position Max transversal (B) : Centrale Forme de base : Pointue Forme de sommet : Pointue Surface en position B : Lisse Le nombre des sillons fibrovasculaires : Elevé La distribution des sillons : Uniforme Symétrie : légèrement asymétrique L'extrémité du sommet : Avec mucron</p> 	<p>Forme : Ovoïde Position Max transversal (B) : Centrale Forme de base : Tronquer Forme de sommet : Pointue Surface en position B : Rugueuse Le nombre des sillons fibrovasculaires : Elevé La distribution des sillons : Uniforme Symétrie : symétrique L'extrémité du sommet : Sans mucron</p> 	<p>Forme : Elliptique Position Max transversal (B) : Centrale Forme de base : Pointue Forme de sommet : Pointue Surface en position B : Raboteuse Le nombre des sillons fibrovasculaires : Elevé La distribution des sillons : Uniforme Symétrie : asymétrique L'extrémité du sommet : Avec mucron</p> 	<p>Forme : Ovoïde Position Max transversal (B) : Centrale Forme de base : Pointue Forme de sommet : Pointue Surface en position B : Rugueuse Le nombre des sillons fibrovasculaires : Elevé La distribution des sillons : Uniforme Symétrie : asymétrique L'extrémité du sommet : Avec mucron</p> 

D'après la matrice de la dissimilarité des quatre variétés de l'olivier en fonction des résultats morphologiques, tableau (XI), il ressort que les variétés les plus éloignées dans nos cultivars sont Chemlel et Dathier avec une distance de 7,000 suivie par Sigoise et Dathier 6,000. Les deux variétés les plus proches morphologiquement sont Chemlel et Rougette.

Tableau XI : Matrice de dissimilarité entre les quatre variétés de l'olivier en fonction des résultats morphologiques

Matrice de proximité				
Observation	Carré de la distance Euclidienne			
	Rougette	Sigoise	Chemlel	Dathier
Rougette	,000	5,000	4,000	5,000
Sigoise	5,000	,000	5,000	6,000
Chemlel	4,000	5,000	,000	7,000
Dathier	5,000	6,000	7,000	,000

Pour l'analyse de classification hiérarchique, Les matrices engendrées pour les différents marqueurs morphologiques, analysées par le logiciel SPSS21 basée sur la méthode d'agrégation de Ward, a permis d'établir les premières relations génétiques entre les différentes cultivars . En effet, le dendrogramme obtenu figure (20) révèle parfaitement l'existence d'un niveau significatif du polymorphisme morphologique inter-accession. Ainsi, en se situant à une distance d'agrégation de l'ordre de deux groupes des cultivars

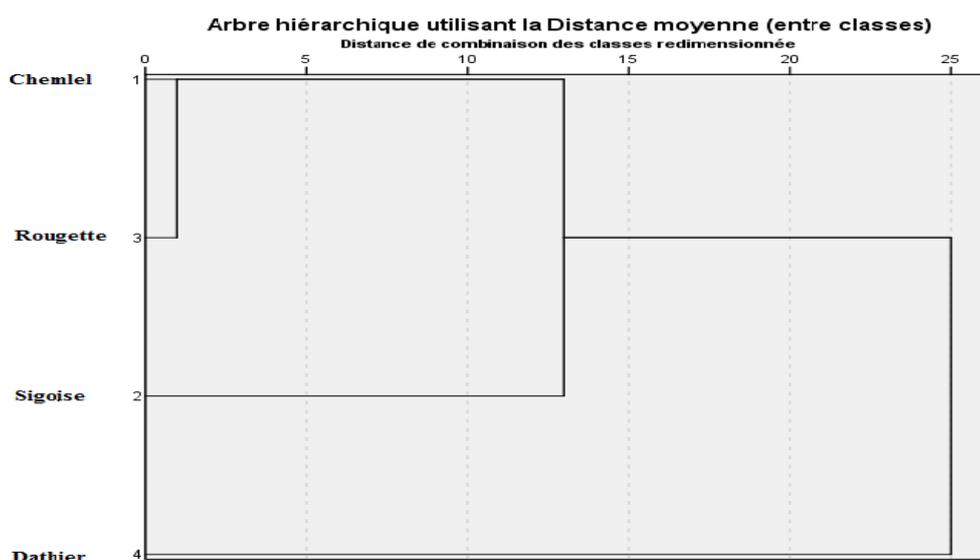


Figure N°20 : Classification hiérarchique basée sur la méthode de Ward des quatre variétés selon la morphologie des cultivars

- Un sous groupe de deux variétés Chemlel et Rougette ;
- Un groupe de Sigoise et Dathier.

❖ Discussion de la caractérisation morphologique

La variabilité phénotypique des quatre variétés, au regard de la plupart des caractères morphologiques étudiés, montre la richesse du patrimoine oléicole dans le site sélectionné. L'identification morphologique a été étudiée par plusieurs chercheurs qui ont utilisé les feuilles et fruits et noyaux (Ozkaya et al., 2006 ; Zaher et al., 2011 ; Salem, 2014 ; Ozkaya et al., 2015 ; Al-Ruqaie et al., 2015 ; Ben maachia et Ben Amar, 2014). La variabilité observée, pour les paramètres phénotypiques, dans notre travail, est semblable à celle d'autres études ayant utilisé les mêmes caractères pour étudier la diversité phénotypique de l'olivier (Cantinni et al., 1999 ; Idrissi et Ouazzani, 2003 ; Mnasri et al., 2013 ; Laaribi et al., 2014 ; Mnasri et al., 2014). Ce travail nous a permis d'ailleurs d'établir des fiches de caractérisation primaire des cultivars étudiés.

Les caractéristiques morphologiques des quatre cultivars étudiés ont montré des différences variant de non significative à très hautement significatives vis-à-vis de l'ensemble des paramètres morphologiques mesurés. Ces différences en caractères morphologiques pourraient être attribuées en grande partie aux facteurs génétiques (Rao et al., 2009).

L'analyse en composante principale ainsi que la classification hiérarchique en se basant sur les descripteurs morphologiques de la feuille, du fruit et du noyau ont bien révélé l'importance des paramètres du fruit et du noyau dans la discrimination des variétés de l'olivier et confirment ainsi les travaux de (Trigui et Msallem, 2002 ; Hannachi et al., 2006, Mnasri et al., 2013a et Mnasri et al., 2013b).

Dans les paramètres morphologiques la différence entre les variétés est remarquable dans les paramètres fruits, Ozkaya et al. (2015) ont trouvé des différences significative entre les variétés étudiées, également (Marin et al., 2012) ont étudié les fruits pour montrer la diversité entre les variétés étudiées. Krapac et al. (2011) ont également utilisé les fruits comme indicateur de la diversité.

Notre étude confirme également des études antérieures sur l'importance de la mesure de 26 traits morphologiques et pomologiques en Tunisie réalisé par **Hannachi et al. (2008)** et des traits morphologiques (quantitatifs et qualitatifs) en Italie (**Corrado et al., 2009**).

Le coefficient de variation le moins élevé trouvé est non similaire avec plusieurs travaux ceci peut être expliqué par le choix des variétés. (**Guellaoui et al. (2015)**) ont trouvé un coefficient de variation faible pour les paramètres longueur fruits 9.32% longueur et largeur et rap lon/larg des feuille respectivement 4.88% .11.72% .11.82%, également longueur et largeur de noyaux 11.45% et 10.61, respectivement, ce qui confirme nos résultats. **Guellaoui et al. (2015)** également ont trouvé une coefficient de variation important dans le paramètre poids des fruits. **Hannachi et al. (2008)** ont révélé qu'il existait une base génétique dans les cultivars de l'olivier lié à la taille des fruits et à l'utilisation probable des fruits.

De plus, **Suarez et al. (2011)** ont signalé que l'évaluation des traits agronomiques peut être difficile, car il faudra jusqu'à 10 ans pour atteindre la maturité prédictive.

Les phénotypes d'olive sont déterminés par une combinaison de facteurs génétiques et environnementaux. (**Thibaudon et Lachasse, 2005**) ont mentionné l'interaction entre la phénologie et les conditions climatiques.

Le coefficient de variation élevé trouvé entre les année d'étude est similaire avec les travaux de (**Ben Amar et al ., 2014**), qui ont travaillé durant trois ans d'étude , ces derniers ont trouvé que la caractérisation morphologique, bien que nécessaire, s'avère dépendante de l'environnement et par conséquent insuffisante pour l'identification définitive de ces écotypes.

En effet, l'analyse de la matrice des corrélations réalisée pour les paramètres morphologiques révèle l'existence des corrélations généralement forte et positive entres les paramètres morpho- pomologiques.

II- Résultats et discussion des études physiologiques

1- Suivre des stades phénologiques

La « phénologie » est « l'étude de l'influence des climats sur les phénomènes biologiques saisonniers végétaux (feuillaison, floraison.....). Le suivi de cycle de vie annuelle des quatre variétés est illustré dans le tableau (XII) cette étude a été réalisée durant l'année 2015.

Tableau N° XII : Suivre des stades phénologiques durant l'année 2015 des quatre variétés

Mois	fév.			Mar			Avr			Mai			Juin			Juil.			Aout			Sept			Oct.			Nov.		
	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27	5-6	16-17	26-27			
Chem	A	A	A	B	B	C	D	D	E	E	F	F	G	G	H	H	H	H	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I		
Dath	A	B	B	B	C	C	D	E	F	F	G	G	H	H	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I		
Roug	A	A	A	A	B	B	C	C	D	D	E	F	F	G	G	H	H	H	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I		
Sig	A	B	B	C	D	E	F	F	G	G	H	H	H	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I		

A - Stade hivernal - **B** – Réveil végétatif -**C** - Formation des grappes florales- **D** – Gonflement des boutons floraux - **E** – Différenciation des Corolles-**F** – Début de floraison- **F1** – Pleine floraison -**G** – Chute des pétales .**H** – Nouaison -**I** – Grossissement des fruits 1er stade -**I1** – Grossissement des fruits 2ème stade.

Le début du cycle stade réveil végétative commence par la formation des bourgeons floraux (stade B) dépend de la variété (Tableau XII). Notre étude a été réalisée que durant l'année 2015, la variété Dathier et Sigoise étaient plus précoces que Chemlel et la variété Rougette était la plus tardive. En général, le cycle floral était plus précoce chez la variété

Sigoise. Le stade nouaison (H) était à la même période pour les deux variétés Sigoise et Dathier et un peu tardives pour les deux autres variétés.

La floraison indique la précocité d'une variété par rapport à une autre, et le tableau (XII) indique que la variété Sigoise est plus précoce. Les autres stades sont proches pour les quatre variétés.

L'évolution des stades phénologiques au cours du temps est spécifique pour chaque variété et, en effet, on remarque que des stades ont été d'une courte période telle que le stade C (début de formation de l'inflorescence), le stade D (gonflement des boutons floraux) pour, le stade E (différenciation des corolles) pour les quatre variétés. En outre, on peut remarquer qu'à partir du stade G (fin floraison) il y a une similitude entre les quatre variétés durant cette année.

2- Teneur en eau dans les feuilles et fruits de l'olivier

Les teneurs en eau moyennes des feuilles, pulpes et noyaux de quatre variétés de l'olivier exprimés en pourcentage de poids frais sont données dans le tableau (XIII) :

Tableau XIII : Teneur en eaux dans les feuilles, pulpes et noyaux des quatre variétés d'étude

	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel	CV	AVI
Feuilles %	26,19	25,15	21,98	24,54	5.07	0.03
Bulbes %	53,66	55,80	55,88	60,58	3,6296034	0.15
Noyaux %	20,69	20,00	26,76	27,66	14.43	0.01

Ces résultats montrent une variation remarquable entre les quatre variétés de l'olivier (Sigoise, Chemlel, Rougette et Dathier).

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons dire que les pulpes de l'olive possèdent une teneur très élevée en eau entre 53,66% et 60,58%. En comparant la teneur en eau des quatre variétés, on observe que la variété Chemlel présente une dominance dans les valeurs moyennes de teneur en eau des feuilles, pulpes et noyaux (60,58%, 27,66% et 24,54% respectivement). Par ailleurs, les valeurs minimales sont remarquées chez la variété Dathier

feuille 21.98%, Sigoise pulpes 53,66 %, et Rougette noyau 20.00% respectivement. L'analyse de la variance (AVI) a montré une différence entre les quatre variétés, variant de de NS à S, selon l'organe et sa teneur en eau.

3-Détermination du pH :

Dans cette partie, on s'intéresse à étudié le degré de variation du pH entre les quatre variétés. Les valeurs de pH révélés sont rassemblées au sein de figure (21)

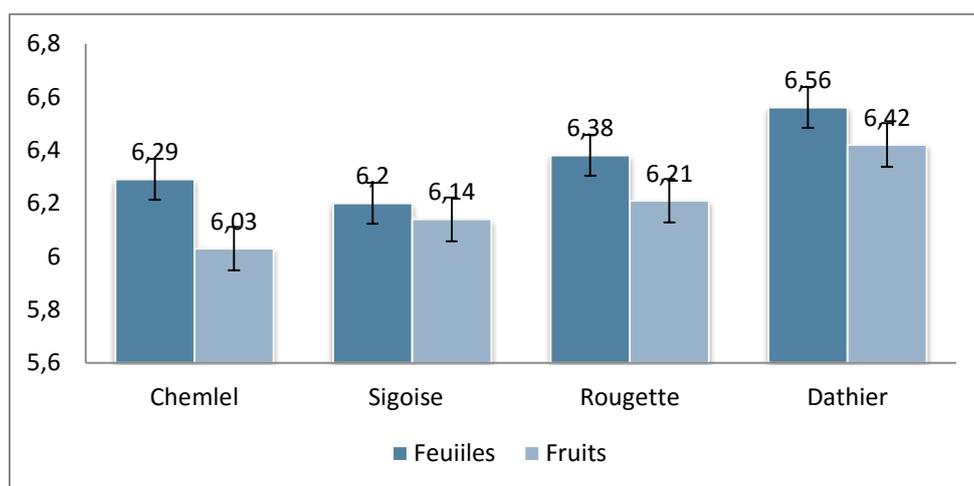


Figure N° 21 : pH des feuilles et fruits de l'olivier.

Cet histogramme représente une variabilité entre les quatre variétés. L'étude statistique qui est basée sur l'analyse de la variance à un critère, révèle une différence non significative pour les feuilles et fruits ($P > 0,05$), il est notable que les valeurs du pH des feuilles sont plus élevées que celles des fruits, dont les valeurs du pH des fruits varient entre 6,03 à 6,42 respectivement pour Chemlel et Dathier, alors que les valeurs du pH des feuilles varient entre 6,2 pour Sigoise et 6,56 pour Dathier.

❖ Discussion physiologie de l'olivier

La physiologie d'une plante indique les différents stades physiologiques, le cycle de vie de l'olivier commence par le stade réveil de dormance

Le comportement différentiel des quatre variétés semble indiquer une stratégie spécifique de chaque variété qui établit un équilibre interne vis-à-vis du milieu environnant. Ainsi, chaque variété a la capacité d'orienter son potentiel de production en fonction des conditions de l'année en variant le niveau d'expression des différents variables, ce qui confère à ces variétés ont une souplesse d'adaptation aux conditions du milieu. Le comportement d'une plante dans son cycle biologique est étroitement lié aux conditions climatiques. Selon **Ben Amar et al. (2014)** le début du cycle floral (stade B) dépend de l'année et de la variété la variété Koroneiki était plus précoce que Chemleli Sfax en 2009 et plus tardive en 2010 avec des dates similaires en 2011. Egalement **Bonofiglio et al. (2008)** ont signalé l'effet de la température sur la floraison et les différents stades végétatifs de l'olivier. **Fornaciari et al. (2009)** ont travaillé sur trois variétés de l'oliviers : Chetoui, Chemlali, Meski, dans leur étude les chercheurs ont trouvé que les exigences en froid et en chaleur de la Meski ce sont révélés supérieures à ceux de Chetoui et Chemlali, Alor la phénologie des ces trois variétés été différente, ce qui explique nos résultats.

La teneur en eau également est un indicateur physiologique, les teneurs en eau chez nos variétés sont supérieures à celles trouvées par **Rotondi et al. (2003)** et **Lumaret et al. (2004)** qui ont montré que l'eau représente 50% du poids de pulpe. Par ailleurs, ces pourcentages sont proches à ceux obtenus par **Manallah (2012)**, qui a travaillé sur la variété Bouchouk et Khanfes. Les caractères physiologiques des fruits de l'olive sont influencés par le patrimoine génétique et par le site géographique (**Cimato, 1990; Ben Temime et al., 2006**). Chaque individu, dans son milieu, exprime différemment ses potentialités génétiques ce qui se traduit par une importante variabilité intra-variétale (**Hannachi et al., 2008**).

Pour le pH, les résultats que nous avons trouvés sont validés par les travaux de **Kaskoos (2013)** qui a travaillé sur les feuilles de l'olivier. Par ailleurs, des résultats différents ont été obtenus par **Balatsoras et al. (1997)** pour les feuilles. **Ozkaya et al. (2015)**, ont trouvé des résultats supérieurs entre 7.10 à 7.30, ainsi que **Mejri (2007)** et **Iguerzaziz (2012)** qui ont travaillé sur les fruits de l'olivier.

Ces différences entre les résultats peuvent être expliquées par la variabilité entre les variétés examinées, et l'état de maturation, ainsi que la méthode de détermination du pH qui peut être aussi responsable de cette différence.

III - Résultats et discussion de la biochimie de l'olivier

1- Métabolites primaire

1-1- Teneur en lipides dans les feuilles et fruits de l'olivier

Les résultats obtenus pour l'extraction des lipides dans les feuilles et fruits de l'olivier, présentés par des teneurs en mg/g MS, ils sont regroupés dans le tableau (XIV)

Tableau XIV: Teneur en lipides dans les feuilles et fruits des quatre variétés de l'olivier

Variétés	Teneur lipides feuilles %MS	Teneur lipides fruits %MS
Sigoise	14.65	90.5
Rougette	6.68	46.2
Dathier	6.0	44.65
Chemlel	4.9	36.7

Les valeurs de tableau (XIV) montrent que la teneur maximal en lipides dans les feuilles (14.65 % MS) présenté chez Sigoise par contre la teneur minimal (4.9 % MS) chez Chemlel par rapport aux autres variétés, Pour les fruits, la teneur maximal en lipides est (90.5 % MS) trouvé chez Sigoise par contre la teneur minimal (36.7 % MS) chez Chemlel par rapport aux autres variétés.

L'analyse de la variance à un critère de classification révèle l'absence d'un effet significative entre les variétés pour la teneur en lipides dans les feuilles et les fruits .

1-2- Sucres solubles

Les résultats obtenus pour la teneur en sucres dans les feuilles et fruits des quatre variétés de l'olivier sont regroupés dans l'histogramme figure (22)

L'histogramme montre que la teneur maximal en sucres dans les feuilles (46.70% MS) présenté chez Rougette, par contre, la teneur minimal (18.58% MS) chez Sigoise par rapport aux autres variétés. L'analyse de la variance à un critère de classification, révèle l'existence

d'un effet très hautement significative entre les quatre variétés, pour la teneur en sucres dans les feuilles, pour les fruits la teneur maximal en sucres dans les fruits est (62.35%MS) chez Chemlel, par contre, la teneur minimal est (34.75% MS) chez Dathier par rapport aux autres variétés. L'analyse de la variance à un critère révèle l'existence d'un effet très hautement significative entre les quatre variétés sur la teneur en sucre dans les fruits.

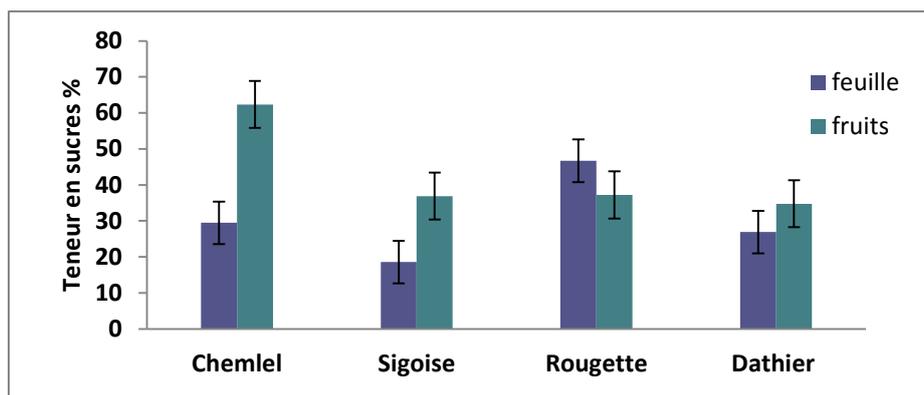


Figure N°22 : Sucre soluble dans les feuilles et fruits de l'olivier

2- Métabolites secondaire

2-1- Teste phytochimique sur les extraits des fruits et feuilles d'*Olea europaea* L. des quatre variétés

La réalisation de ces tests a pour but de révéler les différentes familles de substances existantes dans les feuilles et fruits de la plante étudiée, en se servant des réactions qualitatives de caractérisation. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés.

2-1-1- Teste phytochimique sur les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L.

Les résultats des tests phytochimique effectués sur les feuilles d'*Olea europaea* L. épuisées par l'eau et le méthanol sont regroupés dans le tableau (XV)

Tableau XV : Résultats des tests phytochimique sur les extraits des feuilles d'*Olea europaea* L. des quatre variétés (Sigoise, Chemlel, Dathier et Rougette).

Tests	Sigoise Fl	Rougette Fl	Dathier Fl	Chemlel Fl
Saponosides	++	+	++	+++
Composé phénolique	+++	+++	+++	+++
Alcaloïdes	-	-	-	-
Flavonoïdes	++	++	+++	++
Glycosides	++	++	++	++
Coumarines	++	++	+++	+++
Triterpènes et Stéroïdes	+++	+++	+++	+++
Tanins	+++	+++	+++	+++
Anthraquinones	++	++	+	++
Anthocyanes	-	-	-	-
Quinones libre	+	+	+	+

(+++) : Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : test négatif.

Les résultats de la composition phytochimique des feuilles ont montré que les quatre variétés ont des teneurs importantes des différents métabolites. Pour les saponines, on remarque que la variété Chemlel présente une teneur relativement élevée, et moyenne chez les deux variétés Sigoise et Dathier, par contre, la variété de Rougette présente une teneur faible ;

Les feuilles de l'olivier sont riche également en composés phénoliques, nous avons noté que les quatre variétés possèdent un teneur élevé;

Pour les alcaloïdes les feuilles des quatre variétés sont pauvre, nous avons remarqué l'absence totale de ce composant dans les quatre variétés ;

Dans les feuilles nous remarquons que la teneur en flavonoïdes est élevée chez la variété Dathier, moyenne chez les trois autres variétés ;

Les quatre variétés Sigoise, Rougette, Dathier, et Chemlel possèdent des teneurs moyennes en glycosides

La teneur en coumarines dans les feuilles est élevée dans les variétés de Chemlel et Dathier et moyenne dans les variétés de Sigoise et Rougette ;

Dans les feuilles, les Triterpènes et stéroïdes ont les même teneurs, qui est important chez tous les variétés ;

Pour les tanins, on remarque que les feuilles de quatre variétés ont un teneur identique et fortement important ;

Concernant les anthraquinones, nous avons remarqué la présence d'un anneau rouge dans les extraits des feuilles de toutes les variétés ce qui montre que les feuilles de l'olivier sont riche en anthraquinones. Les variétés Sigoise, Chemlel et Rougette possèdent une moyenne précipitation, chez la variété Dathier un faible précipité rouge est remarqué ;

Arrivant aux anthocyanes, on remarque l'absence des anthocyanes dans toutes les feuilles de quatre variétés de l'olivier ;

Dans les feuilles, nous remarquons que les quatre variétés possèdent la même teneur en quinones libre.

Selon les résultats des tests screening phytochimique des feuilles, nous avons regroupé les variétés selon leurs teneurs en composants secondaires avec l'analyse de classification hiérarchique, les matrices engendrées pour les différents marqueurs phytochimique, analysées par le logiciel SPSS21 basée sur la méthode d'agrégation de Ward, a permis d'établir les premières relations entre les différentes cultivars .

En effet la matrice de dissimilarité entre les composant des feuilles des quatre variétés en fonction des résultats de screening phytochimique tableau (XVI) a montré que les variétés les plus éloignés sont Sigoise et Dathier avec une distance de 5.000.

Tableau XVI : Matrice de la dissimilarité entre les quatre variétés de l'olivier en fonction des screening phytochimique des feuilles.

Matrice de proximité				
Observation	Carré de la distance Euclidienne			
	Sigoise	Chemlel	Dathier	Rougette
Sigoise	,000	2,000	5,000	1,000
Chemlel	2,000	,000	3,000	3,000
Dathier	5,000	3,000	,000	4,000
Rougette	1,000	3,000	4,000	,000

En effet, le dendrogramme obtenu figure (23) révèle parfaitement l'existence d'un niveau significatif des polymorphismes biochimiques inter-accession.

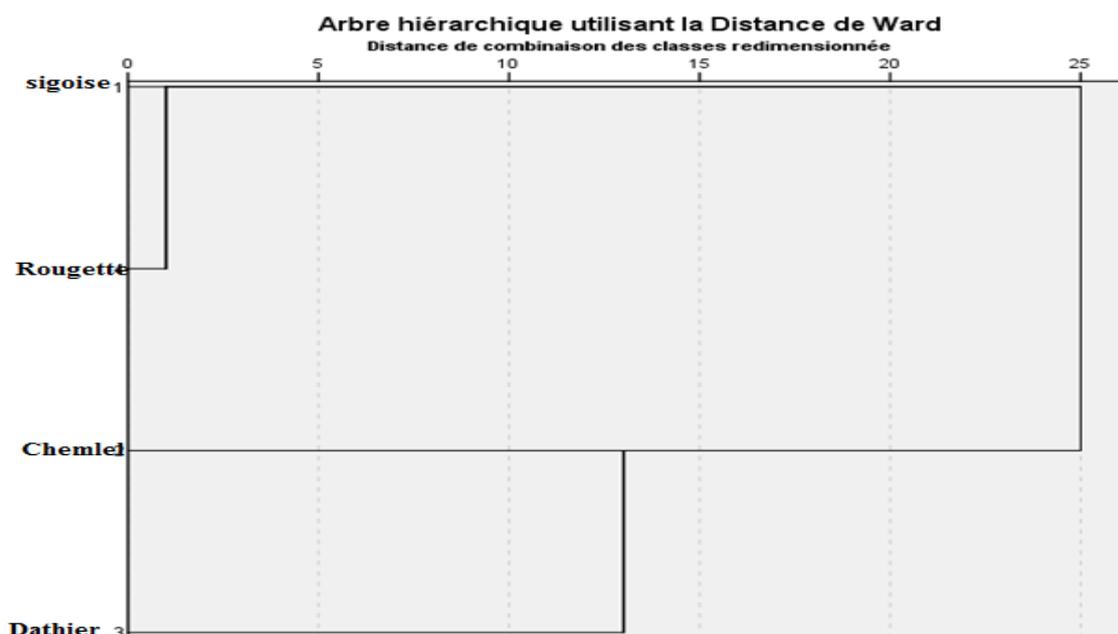


Figure N° 23: Classification hiérarchique basée sur la méthode de Ward des quatre cultivars selon les composants secondaires des feuilles

Ainsi, en se situant à une distance d'agrégation de l'ordre de deux groupes des cultivars

- Un groupe de trois variétés Chemlel, Rougette et Sigoise.
- Un sous groupe de deux variétés Sigoise et Rougette.
- Un groupe de Chemlel et Dathier.

2-1-2- Teste phytochimique sur les extraits des fruits d'*Olea europaea* L.

Les résultats de la composition phytochimique tableau (XVII) montrent que les saponosides dans les fruits sont très abondant chez la variété de Sigoise, faible chez Chemlel et absent chez les deux variétés Rougette et Dathier.

Tableau XVII : Résultats des tests phytochimique sur les extraits des fruits d'*Olea europaea* L. des quatre variétés (Sigoise, Chemlel, Dathier et Rougette).

Les tests	Sigoise Fr	Rougette Fr	Dathier Fr	Chemlel Fr
Saponosides	+++	-	-	+
Composé phénolique	+++	+++	+++	++
Alcaloïdes	-	-	-	-
Flavonoïdes	+++	++	+++	++
Glycosides	+++	+++	+++	+
Coumarines	+++	+	+	+++
Triterpènes et Stéroïdes	+++	+++	+	+++
Tanins	+++	++	++	++
Anthraquinones	+++	++	+++	+
Anthocyanes	-	-	-	-
Quinones libre	+	+	+	+

(+++) : Fortement présent ; (++) : Moyennement présent ; (+) : Faiblement présent ; (-) : Test négatif.

Nous remarquons la présence de la couleur verte foncé, ce qui indique la présence des composés phénolique dans les extraits des fruits de quatre variétés de l'olivier, nous remarquons que ces composés sont très élevés dans les trois variétés Dathier, Rougette et Sigoise, moyen chez la variété Chemlel ;

Pour les Alcaloïdes, nous avons remarqué l'absence d'un précipité blanc dans les fruits de quatre variétés d'*olea europaea* L.

Pour les résultats de test des flavonoïdes, nous remarquons que ce composé est présent avec des quantités importants dans les fruits, l'apparition des flavonoïdes est plus élevée chez les deux variétés Sigoise et Dathier par rapport aux deux autres variétés Rougette, Chemlel ;

Dans les fruits, on remarque que les variétés Sigoise, Dathier et Rougette possèdent des teneurs élevées en glycosides, et la variété Chemlel présente une teneur en glycosides faible ;

Pour les coumarines, on remarque la présence des fluorescences dans tous les variétés (fruits) révélée que le test de coumarine est positif. Dans les fruits les deux variétés de Chemlel, et Sigoise possèdent une teneur élevée de coumarine et faible chez les variétés Rougette et Dathier;

Les résultats de test des triterpènes et stéroïdes nous ont permis de remarquer l'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge dans les extraits des fruits des quatre variétés de l'olivier. Dans les fruits les triterpènes et stéroïdes sont très abondants chez les trois variétés Sigoise, Chemlel et Rougette, et une teneur faible chez la variété Dathier.

L'apparition d'une couleur verte foncée dans les quatre variétés fruits et feuilles prouve la présence des tanins, la teneur la plus élevée est remarquée chez la variété Sigoise suivie par les trois variétés ;

Concernant les anthraquinones, nous avons remarqué la présence des anneaux rouges dans tous les extraits des fruits des quatre variétés, indique que les fruits de l'olivier sont riches en anthraquinones. Le précipité rouge est très élevé chez les variétés Sigoise et Dathier et moyen chez les variétés Chemlel et Rougette ;

Arrivant aux anthocyanes, on remarque l'absence des anthocyanes dans les fruits des quatre variétés de l'olivier ;

Finalement les quinones libres, on remarque la présence des quinones libres dans tous les fruits des quatre variétés de l'olivier.

D'après la matrice de la proximité, selon les composants des métabolites secondaires des fruits de quatre variétés de l'olivier tableau (XVIII), il ressort que les variétés les plus

éloignés sont Chemlel et Dathier avec une distance de 19,000 alors que les variétés les plus proches sont Rougette et Chemlel

Tableau XVIII : Matrice de la dissimilarité entre les quatre variétés de l'olivier en fonction des screening phytochimique des fruits

Matrice de proximité				
Observation	Carré de la distance Euclidienne			
	Sigoise	Chemlel	Dathier	Rougette
Sigoise	,000	15,000	18,000	16,000
Chemlel	15,000	,000	19,000	11,000
Dathier	18,000	19,000	,000	6,000
Rougette	16,000	11,000	6,000	,000

Selon les résultats des tests screening phytochimique des fruits, nous avons regroupé les variétés selon leurs teneurs en composants secondaires avec l'analyse de classification hiérarchique, les matrices engendrées pour les différents marqueurs phytochimique, analysées par le logiciel SPSS21 basée sur la méthode d'agrégation de Ward, ont permis d'établir les premières relations entre les différentes cultivars. En effet, le dendrogramme obtenu figure (24) révèle parfaitement l'existence d'un niveau significatif des polymorphismes biochimiques inter-accession. Ainsi, en se situant à une distance d'agrégation de l'ordre de deux groupes des cultivars

- Un groupe de trois variétés Dathier, Rougette et Sigoise;
- Un sous groupe de deux variétés Dathier et Rougette;
- Un groupe de Sigoise et Chemlel.



Figure N°24 : Classification hiérarchique basée sur la méthode de ward des quatre cultivars selon les composants secondaires des fruits

Concernant la comparaison entre les fruits et feuilles de l'olivier, les teneurs des composés des différentes familles de métabolites secondaires sont plus élevées dans les feuilles que les fruits.

2-2- Teneur en polyphénols

2-2-1 – Rendement de l'extraction dans les feuilles

L'extraction hydro-méthanolique des polyphénols à partir du broyat des feuilles séchées de l'olivier a permis d'obtenir des extraits riches aux différents composants biochimiques.

Les teneurs en composants des extraits sont reportées en pourcentage de la matière sèche dans la figure (25)

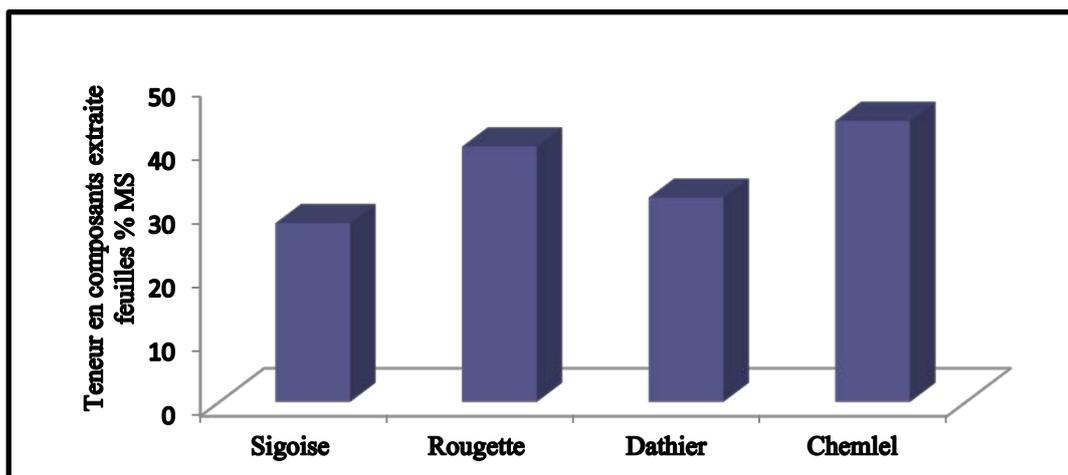


Figure N° 25: Rendement d'extraction des feuilles de quatre variétés

D'après les résultats obtenus, on note une variabilité entre les quatre variétés de l'olivier (Sigoise, Chemlel, Rougette, et Dathier).

D'après les teneurs en composants extraites des feuilles étudiés, qui sont rassemblés dans la figure (25), on s'aperçoit clairement que l'extraction hydro-méthanolique a donné un rendement très élevé qui varie d'une variété de l'olivier à une autre.

Pour les feuilles, la plus forte teneur revient à la variété Dathier avec une valeur maximale représente 46% de matière sèche alors que la plus faible teneur revient à la variété Rougette avec une valeur minimale représente 28% de matière sèche.

2-2-2 – Rendement d'extraction dans les fruits

L'extraction hydro-méthanolique des composants extraite à partir du broyat de pulpes séchées de l'olivier a permis d'obtenir des extraits riches en différents composants

Les teneurs en composants des extraits sont reportés en pourcentage de la matière sèche dans la figure (26). D'après les résultats obtenus, on note une variabilité entre les quatre variétés de l'olivier (Sigoise, Chemlel, Rougette, et Dathier).

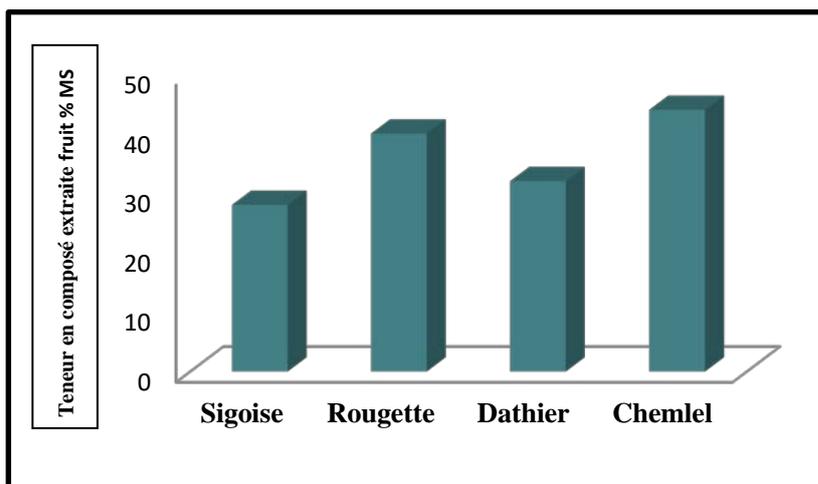


Figure N° 26: Rendement d'extraction des fruits de quatre variétés

D'après les valeurs des rendement d'extraction de fruits étudiés, qui sont rassemblés dans la figure (26), on remarque que l'extraction hydro-méthanolique a donné un rendement très élevé qui varie d'une variété à une autre.

En comparant les teneurs des composants dans les fruits, on remarque que la variété Chemlel possède la teneur la plus élevée avec un pourcentage de 44%, alors que la variété Sigoise possède la teneur la plus faible avec un pourcentage de 28%.

On comparant les deux organes d'étude on peut dire que les feuilles ont donnés le meilleur rendement d'extraction par rapport aux fruits.

2-2-3- Teneur en phénols totaux

L'étude quantitative de l'extrait brut méthanolique au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols. Une courbe d'étalonnage figure (27) a été tracée pour cet objective, et réalisée avec l'acide gallique à différentes concentration. Des mesures de densité optique pour chaque extrait se sont réalisées à 760 nm.

Les quantités des polyphénols correspondantes ont été rapportées en mg équivalent acide gallique par g du poids sec, sont déterminées par une équation de type : $y = a x + b$

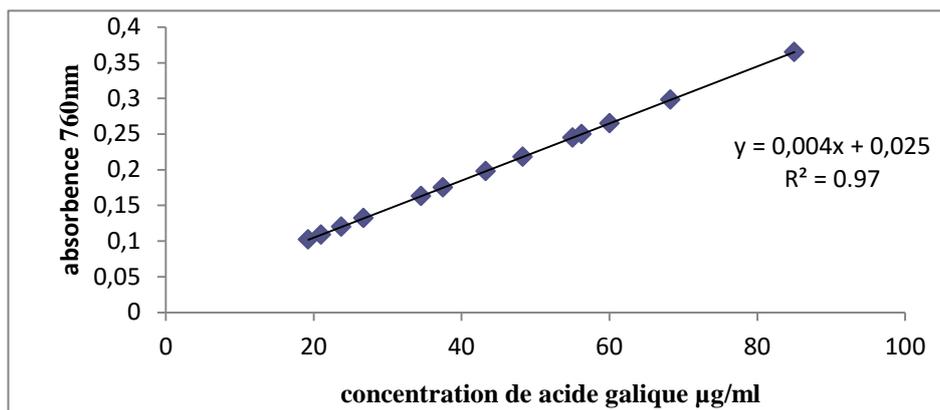


Figure N°27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**moyenne ± SD de trois mesures**).

Suivant le tableau (XIX), nous enregistrons en équivalent de l'acide gallique entre 31.25 et 78.75µg/mg MS des feuilles sec, et entre 20.75et 45.5µg/mg MS pour les fruits. Les extraits des feuilles représentent les teneurs les plus élevées en polyphénols. Les meilleurs teneurs sont enregistrés chez Rougette en équivalent de l'acide gallique 78.75 et 45.5 µg/mg MS respectivement pour les feuilles et fruits.

L'analyse des résultats illustrés dans ce tableau révèle l'existence d'une variabilité entre les quartes variétés de l'olivier. Les résultats de l'analyse descriptive indiquent que les coefficients est important 36.15% pour les feuilles et 30.70% pour les fruits, Ceci est confirmé par l'analyse de la variance à un critère (AVI), il se dégage alors une différence très hautement significative entre les teneurs en phénol totaux dans les variétés pour les deux organes feuilles et fruits (Annexe 2) .

Tableau XIX : Teneur en polyphénols totaux (µg/mg de poids sec de feuilles et fruits de quatre variété de l'olivier).

Variétés	Teneur en phénols totaux feuilles µg/mgMS	Teneur en phénols totaux fruits µg/mg MS
	31,25±1,5	20,75±0,22
Rougette	78,75±0,44	45,5±0,22
Dathier	36,75±0,44	22,75±0,001
Chemlel	66,25±0,72	23,75±0,11
CV	36.15%	30.70%
AV1	0.000 THS	0.000 THS

(Moyenne ± SD de trois mesures).

2-2-4- Teneur en flavonoïdes

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits méthanolique des feuilles et fruits de l'olivier afin de déterminer la teneur totale en flavonoïdes.

Une courbe étalonnage figure (28) a été réalisée avec la quercitine à une longueur d'onde 430 nm.

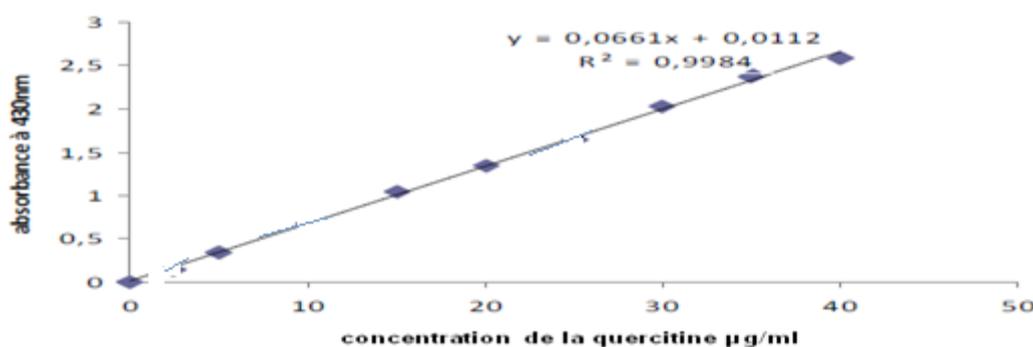


Figure N°28 : Courbe étalonnage de la quercitine (moyenne \pm SD de trois mesures).

Suivant le tableau (XX), on a enregistré en équivalent quercitine entre 76.75 et 31.25 μg Qur /mg feuilles sèches, et entre 43.5 et 20.75 μg Que/ mg pour les fruits. Les extraits des feuilles représentent les teneurs les plus élevées en flavonoïdes, les meilleurs teneurs sont enregistrées chez Rougette en équivalent de la quercitine 76.75 $\mu\text{g}/\text{mg}$ et 43.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectivement pour les feuilles et fruits.

L'analyse des résultats illustrés dans ce tableau révèle l'existence d'une variabilité entre les quatre variétés de l'olivier. Les résultats de l'analyse descriptive indiquent que les coefficients sont importants 33.89% pour les feuilles et 30.70% pour les fruits, ceci est confirmé par l'analyse de la variance à un critère (AVI), il se dégage alors des différences très hautement significative entre les teneurs en flavonoïdes dans les variétés pour les deux organes feuilles et fruits.

Tableau XX : Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g Qur/mg}$ de poids sec de feuilles et fruits de quatre variétés de l'olivier).

Variétés	Teneur en Flavonoïdes dans les feuilles $\mu\text{g Qur/mgMS}$	Teneur en Flavonoïdes dans les fruits $\mu\text{g Qur/mgMS}$
Sigoise	31,25 \pm 0,03	20,75 \pm 0,006
Rougette	76,75 \pm 0,06	43,5 \pm 0,02
Dathier	36,75 \pm 0,03	22,75\pm0,006
Chemlel	40,98 \pm 0,03	23,75 \pm 0,03
CV	33,897086	30,7095343
AV1	0.000 THS	0.000 THS

(Moyenne \pm SD de trois mesures).

2-2-5- Teneur en tanin

Des dosages spectrophotométriques ont été effectués à partir des extraits méthanolique des feuilles et fruits de l'olivier afin de déterminer la teneur totale en tanins.

Une courbe étalonnage figure (29) a été réalisée avec Mimoza à une longueur d'onde 580 nm.

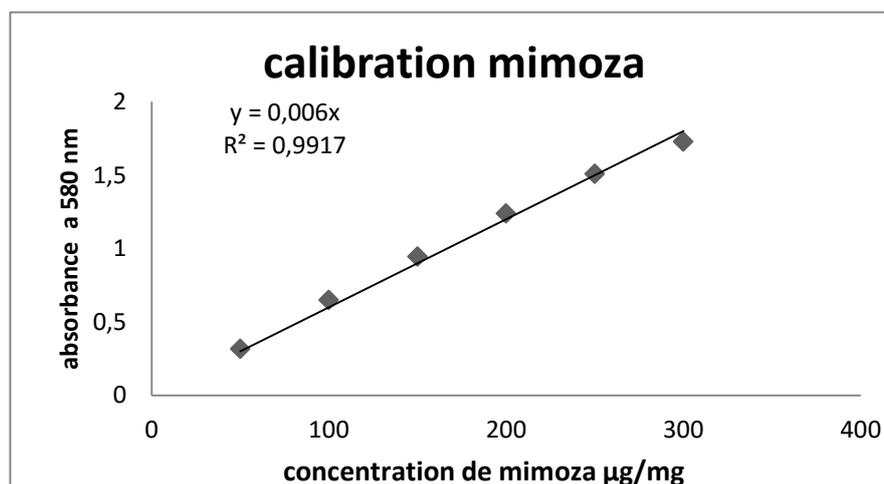


Figure N°29 : Courbe étalonnage de Mimoza (moyenne \pm SD de trois mesures).

Suivant le tableau (XXI) ci dessus, on a enregistré en équivalent Mimoza entre **51.67** µg/mg et **20.06** µg/mg feuilles sec, et entre 147.29 µg/mg et 34.83 µg/mg pour les fruits. Les extraits des feuilles représentent les teneurs les plus élevées en tanin, les meilleurs teneurs sont enregistrées chez Dathier en équivalent la Mimoza 51.67 µg/mg ; 147.26 µg/mg respectivement pour les feuilles et fruits.

Tableau XXI: Teneur en tanin (µg/mg de poids sec de feuilles et fruits de quatre variétés de l'olivier).

Variétés	Teneur en tanin dans les feuilles µg Mim/mgMS	Teneur en Tanin totaux fruits µg Mim/mgMS
Sigoise	20,06±0,03	34,83±0,15
Rougette	20,45±0,09	64,69±0,21
Dathier	51,67±0,06	147,29±0,20
Chemlel	22,05±0,06	91,04±0,07
CV	40,46	41,08
AV1	0.000 THS	0.000 THS

(Moyenne ± SD de trois mesures).

L'analyse des résultats illustrés dans ce tableau révèle l'existence d'une variabilité entre les quatre variétés de l'olivier. Les résultats de l'analyse descriptive indiquent que les coefficients sont très importants 40.46% pour feuilles et 41.08% pour les fruits, Ceci est confirmé par l'analyse de la variance à un critère (AVI), il se dégage alors une différence très hautement significative entre les teneurs en tanin totaux dans les variétés pour les deux organes feuilles et fruits.

2-3- Résultats d'analyses HPLC-DAD

Haute performance premières normes polyphénols, pour la caractérisation chimique des extraits qui sont passés à travers la phase liquide par des procédés ayant le détecteur DAD a été injectée dans la chromatographie en phase liquide. Ces normes sont données au dispositif à différentes concentrations de la courbe d'étalonnage pour chaque concentration standard par rapport à la surface du pic a été généré et détermine également le temps de rétention de la norme. Les noms des normes indiquées, et les temps de rétention sont présentés dans le tableau (XXII),

Tableau XXII : Temps de rétention de la norme utilisée

N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Composé références	Acide Fumarique	Acide Gallique	(-) Gallokatéşin	Oleuropéine	(-) Catechine	Acide 4-hidroksibenzoïque	Acide Caféique	Acide Syringique	Acide Ellagique	acid t-3 hydroxycinamique
R time min	5.13	5.41	7.50	8.00	12.44	13.73	16.10	17,06	26,61	35

2-3-1- Chromatogrammes des étalons

- Un temps de rétention d'un chromatogramme de l'échantillon obtenu avec l'acide fumarique est de 5,13 min, les concentrations utilisées pour tracer un courbe étalonnage sont de 20 à 300 ppm.

-Un temps de rétention 5,413 min laquelle l'acide gallique obtenu à partir d'un chromatogramme, pour créer un courbe d'étalonnage 10, 25, 50 et 60 ppm injectent des zones de pointe ont été calculées.

- Un temps de rétention 7,50 min avec du (-) gallokatéşine obtenu à partir d'un chromatogramme Tableau (XXIII).

- Le temp de rétention qui indique l'Oleuropéine est 8 min, pour tracer la courbe étalonnage, plusieurs concentrations ont été injectées de 100 à 600 ppm.

-Un temps de rétention du chromatogramme de l'échantillon 12,44 min obtenue avec la catéchine. Pour créer une courbe d'étalonnage 10, 25, 50, 100 et le dispositif 150 ppm injectent des zones de pointe ont été calculées.

- Le temps de rétention obtenu à partir de l'acide 4-hydroxybenzoïque est un chromatogramme 13,73 min. Pour créer une courbe d'étalonnage, 5, 10, 20, 50 et 400 ppm dispositif les surfaces des pics ont été calculées en injectant de l'acide 4-hydroxybenzoïque.

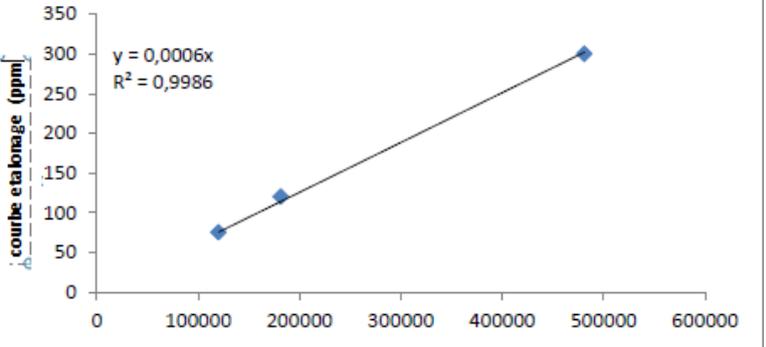
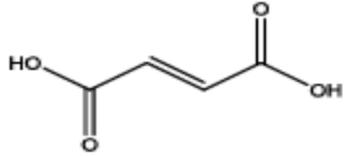
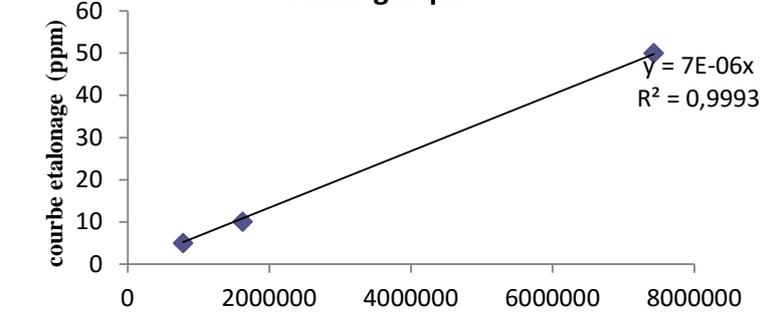
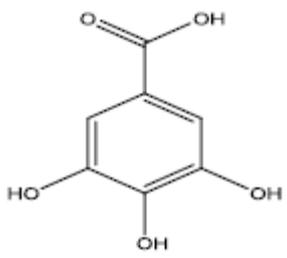
-Le temps de rétention d'un chromatogramme de l'échantillon obtenu à partir de l'acide caféique, 16,101 min. Pour créer une courbe d'étalonnage 12,5, 25, 50 et le dispositif 250 ppm injecter des zones de pointe calculée de l'acide caféique.

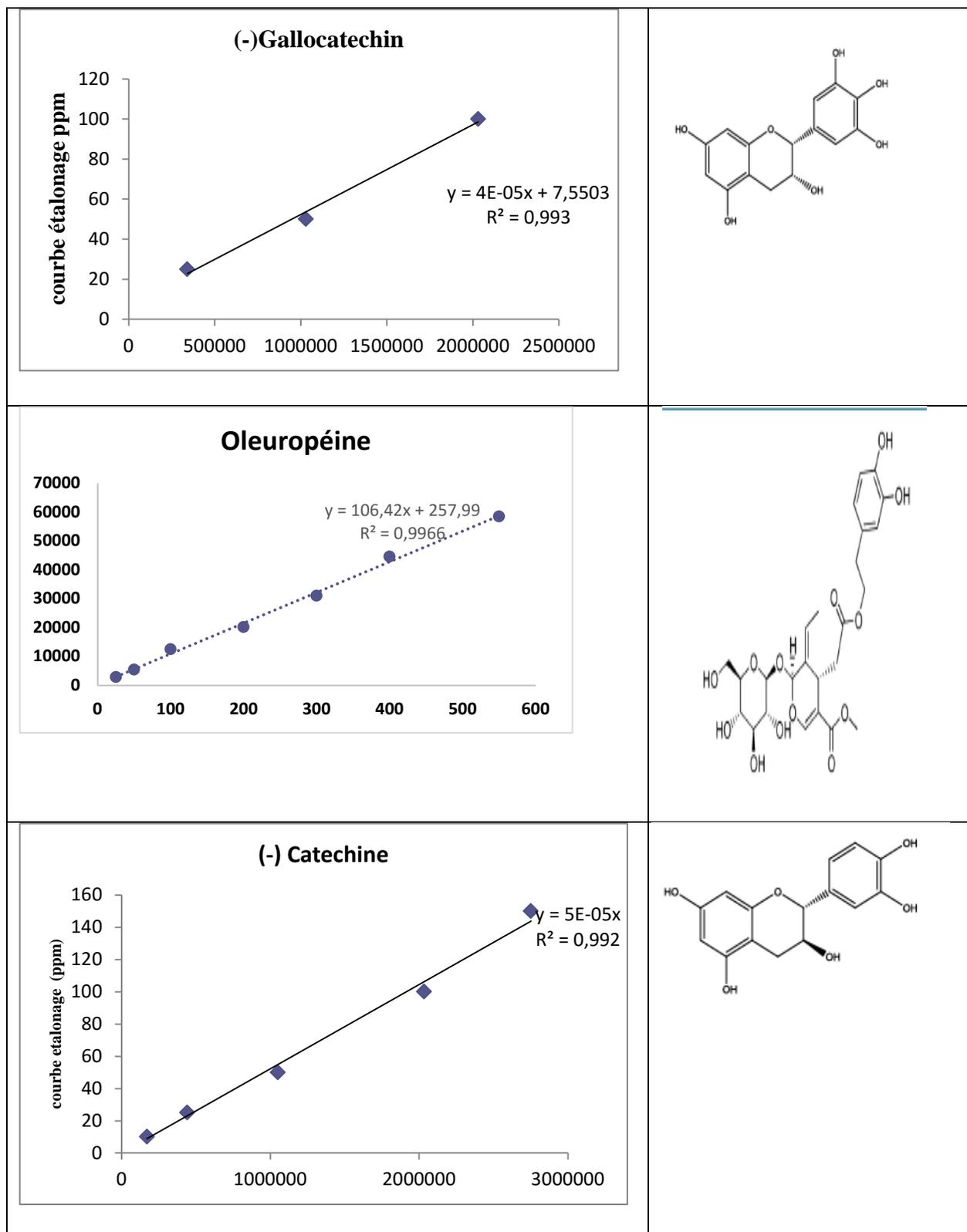
- Le temps de rétention obtenu à partir de l'acide syringique est un chromatogramme 17.06 min.

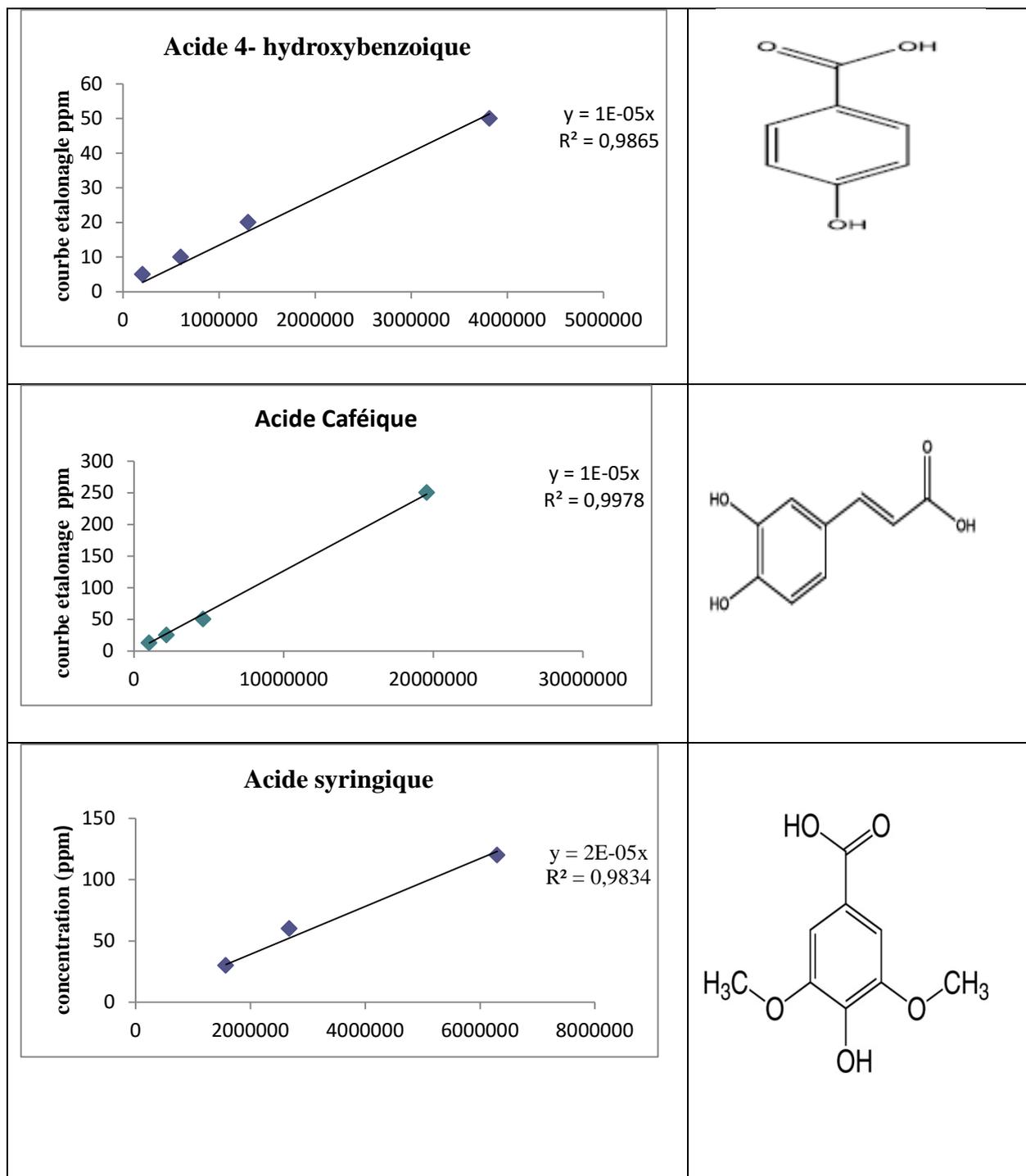
- Pour Le temps de rétention 26,61 min obtenue à partir d'un chromatogramme avec de l'acide ellagique. Pour créer une courbe d'étalonnage, 5, 10, 15 et en injectant de l'appareil à une concentration de 30 ppm a été calculée à l'aire du pic de l'acide ellagique.

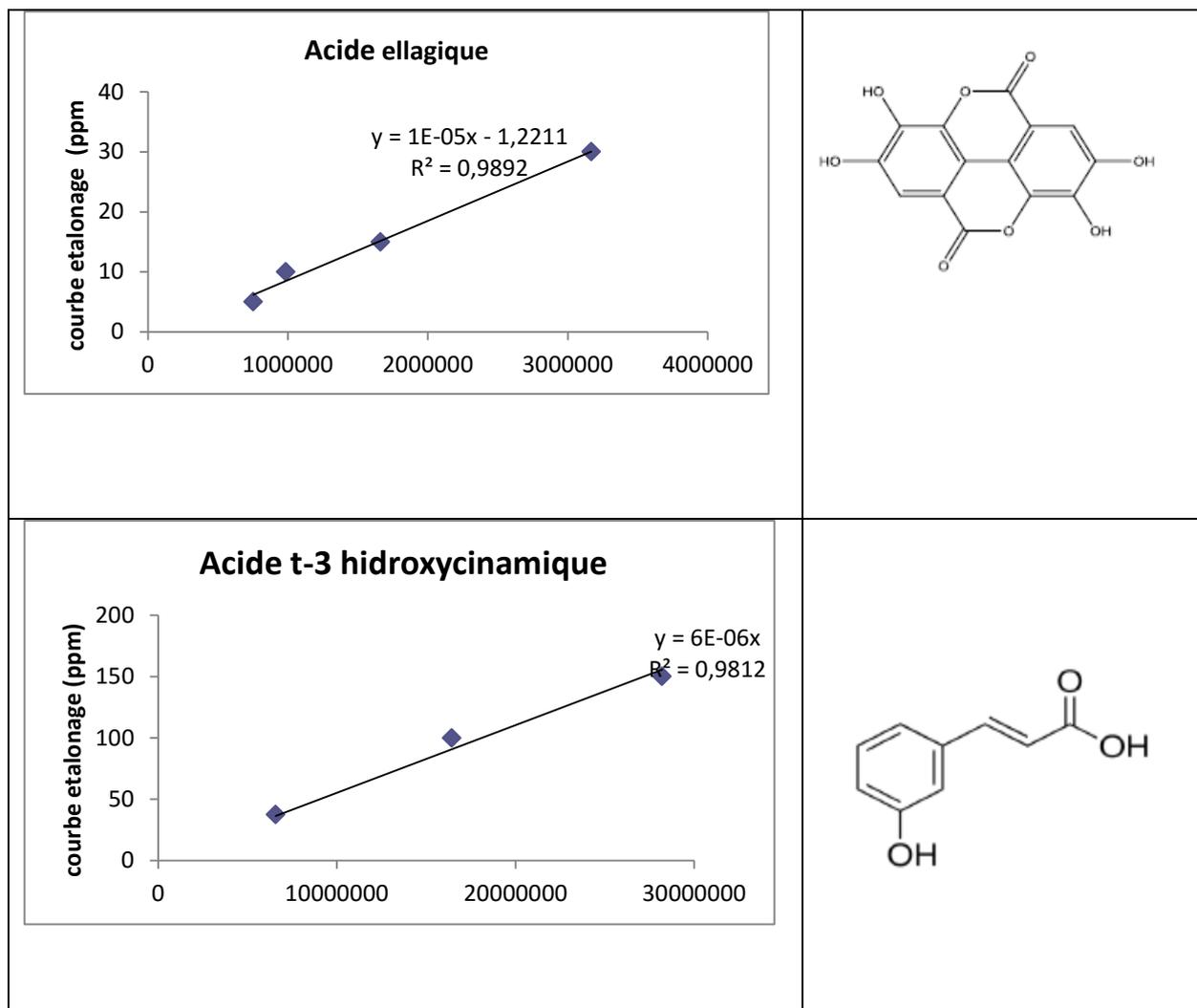
-un temps de rétention de 35min pour acide t-3hydroxycinamique

Tableau XXIII : Les courbes étalonnages avec structures des références HPLC

Les courbes étalonnages des références HPLC	Structures
<p style="text-align: center;">Acid fumarique</p> 	
<p style="text-align: center;">Acide galique</p> 	







La figure (30) montre les profils des chromatogrammes du mélange d'étalons utilisés. Cette analyse est enregistrée à une longueur d'ondes 280 nm. Le mélange est composé d'une solution méthanol-eau 70:30 (v/v) qui contient 10 étalons à des concentrations différentes : 1- acide fumarique, 2- acide gallique, 3- (-)gallocatechin, 4-oleuropéine, 5- (-) catéchine, 6- acide 4 hydroxybenzoïque, 7- acide caféïque, 8- acide syringique, 9- acide ellagique, 10- acide t-3 hydroxycinamique.

L'identification puis la quantification des composés phénoliques présents dans les extraits testés sont faits par comparaison de leurs temps de rétention et leurs surfaces des pics obtenus avec ceux des étalons

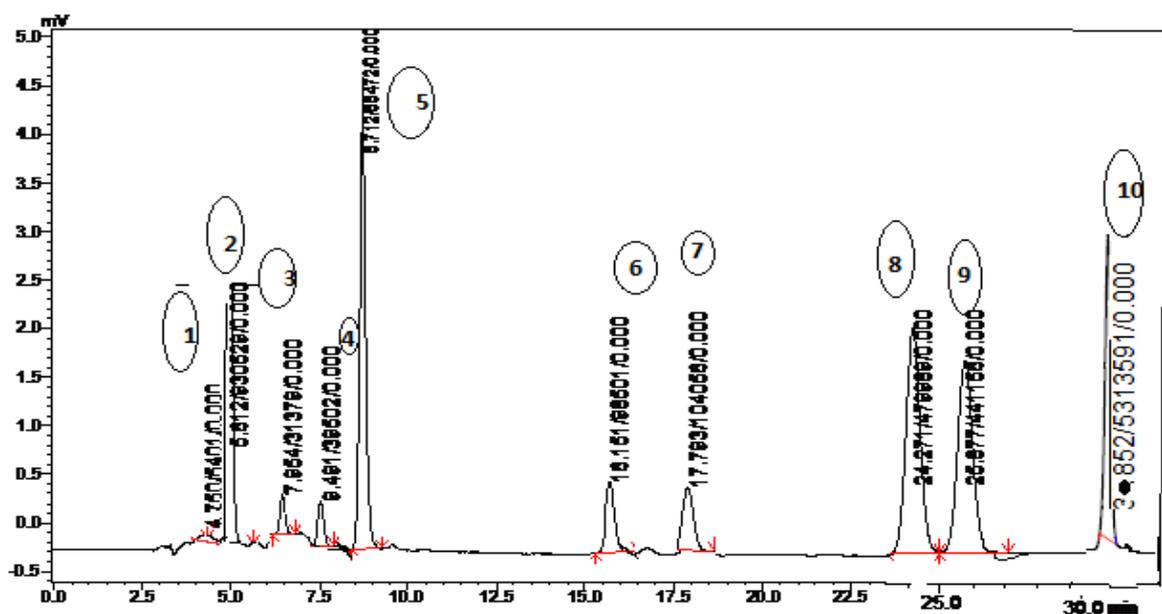
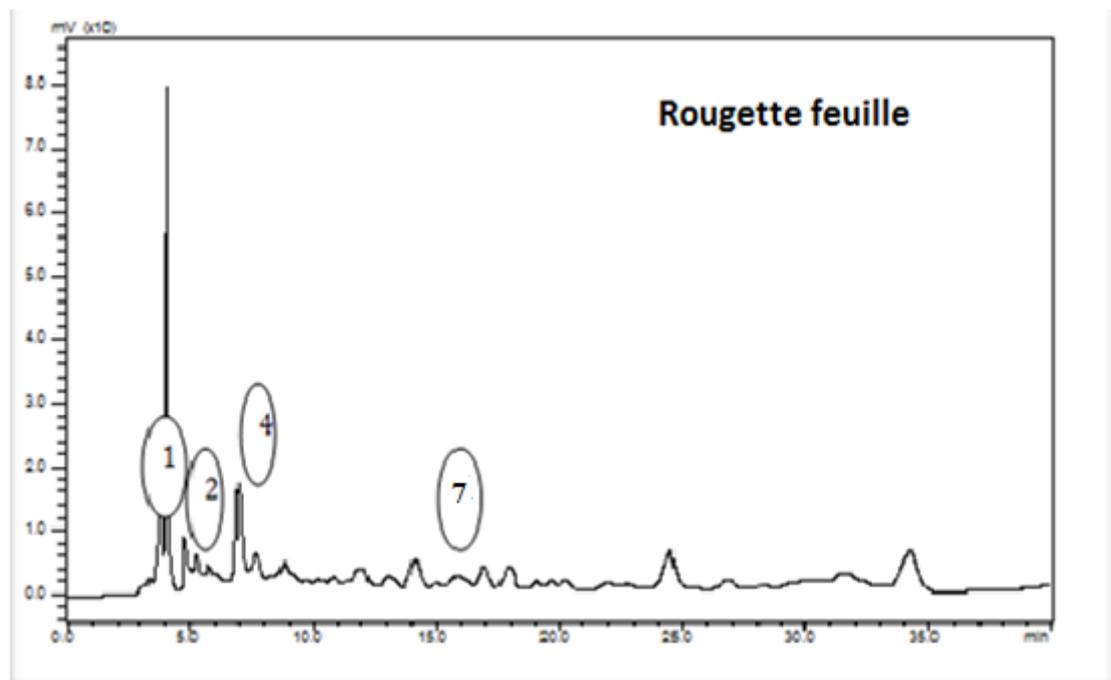
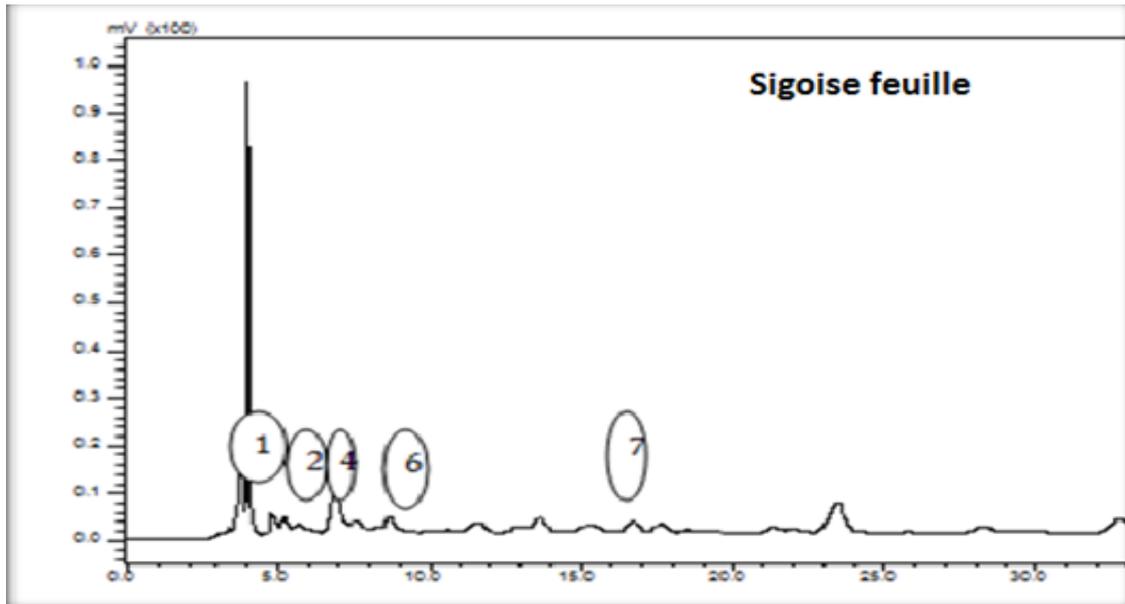


Figure N° 30 : Chromatogramme de mélange de références 1-acide fumarique, 2-acide gallique, 3- (-) gallocatechin, 4-oleuropéine, 5-(-) catéchine, 6- acide 4 hydroxybenzoïque, 7- acide caféïque, 8- acide Syringique, 9-acide ellagique, 10-acide t-3 hidroxycinamique.

2-3-2- Analyse des extraits des feuilles d'olivier

Les résultats des analyses quantitatives des composés phénoliques et organiques identifiés dans les extraits hydrométhanolique des feuilles de l'olivier a permis d'identifier sept composés acide fumarique , acide gallique ,oleuropéine, acide 4- hydroxybenzoïque, acide caféïque ,acide éllagique et l'acide t-3 hidroxycinamique. Figure (31)



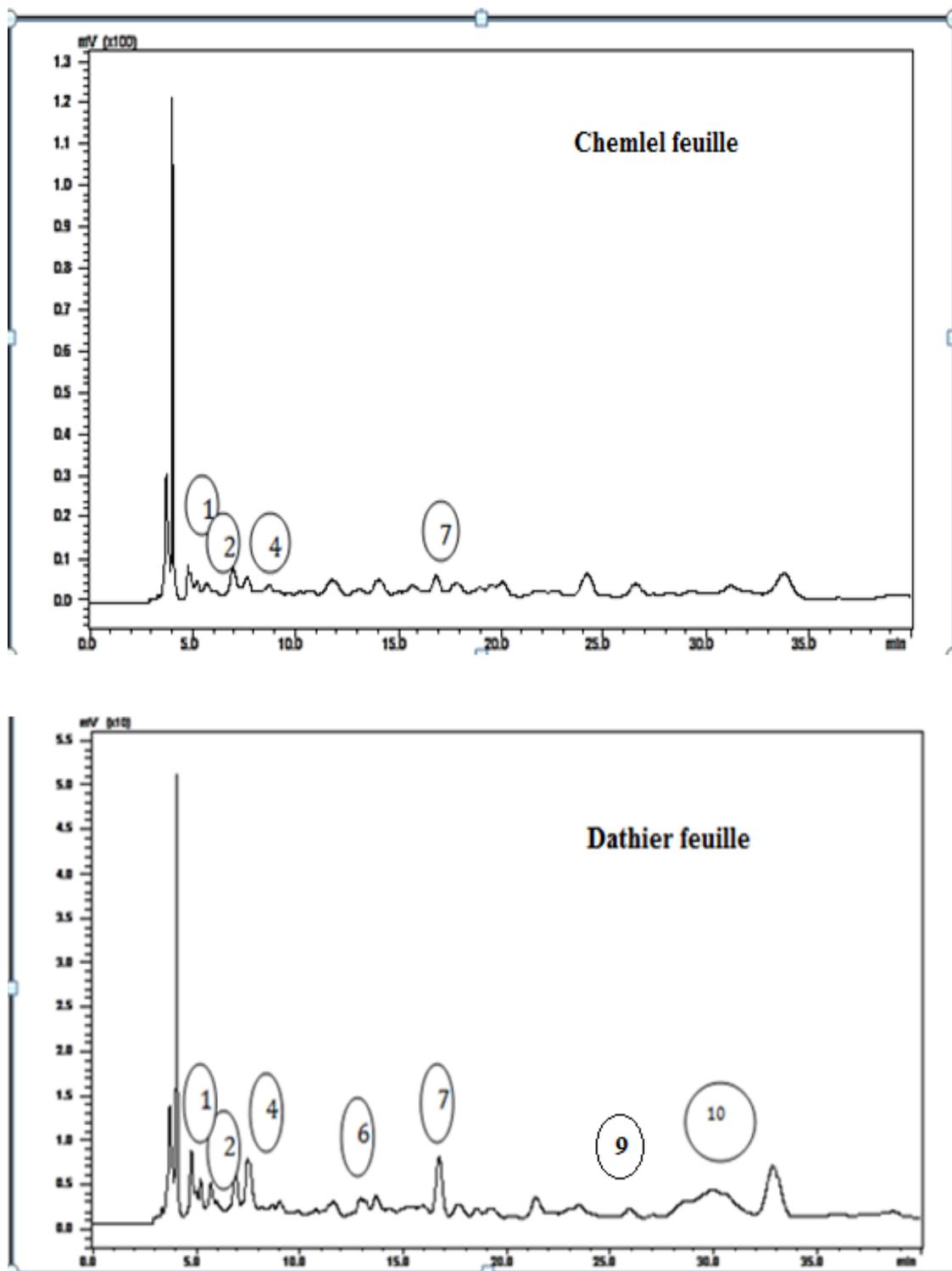


Figure N°31 : Chromatogramme de l'extrait des feuilles de quatre variétés de l'olivier à 280nm.

La quantification des composés phénoliques et organiques présents dans les extraits hydrométhanoliques révèle des grandes quantités de ces composés tableau (XXIV). Les résultats obtenus à partir de l'étude quantitative et qualitative des extraits des feuilles de quatre variétés de l'olivier sont regroupés dans le tableau (XXIV).

Les chromatogrammes correspondants sont reportés dans la figure (31), cette étude montre que les extraits des feuilles sont très riches en composés phénoliques et organiques, et que l'extrait des feuilles de la variété Dathier est le plus riche, l'analyse par HPLC a permis d'identifier sept composés.

Les analyses montrent que l'oleuropéine est le composé majoritaire dans les quatre extraits hydrométhanolique des feuilles, avec une dominance de la variétés Dathier (891.57 ppm), suivie par Chemlel (703.32 ppm), et Rougette (441.6 ppm), et finalement Sigoise (251.89 ppm), l'analyse de la variance (AVI) a montré une différence très hautement significative entre les quatre variétés pour la teneur en oleuropéine (annexe 2), ceci est confirmé par les résultats de l'analyse descriptive qui indiquent une variation très élevée avec un coefficient de variation proche à 39.39 %,

Tableau XXIV : Analyse quantitative et qualitative des extraits des feuilles de quatre variétés de l'olivier

Les variétés	Les composants	Temps	Quantités en ppm
Sigoise	Acide fumarique	5,199	16,7454
	Acide gallique	5,657	0,078918
	Oleuropéine	7,565	251,89
	4-hidrosibensoïque	13,618	0,63387
	Acide caféique	16,709	0,40818
Rougette	Acide fumarique	5,221	4,1256
	Acide gallique	5,608	0,10447
	Oleuropéine	7,679	441,6

	Acide caféique	16,918	0,46139
Dathier	Acide gallique	5.69	1,608992
	Acide fumarique	5,176	6,2778
	Oleuropeine	7,554	891,57
	4-hidroksibensoïque	13,676	0,04467
	Acide caféique	16,723	1,23195
	Acide éllagique	22,14	0,096687
	Acide t-3 hidroxcinamique.	29,903	1,739454
Chemlel	Acide fumarique	5.21	0,002952
	Acide gallique	5.68	0,451073
	Oleuropéine	7.61	703,32
	Acide Caféique	16.88	0,75469

Les teneurs de l'acide fumarique sont de (16.7454 ppm, 4.1256 ppm, 6.2778 ppm et 0.0029 ppm) respectivement, pour les variétés Sigoise, Rougette, Dathier et Chemlel, également (AVI) a montré une différence THS, et le coefficient de variation est très élevée 59.34 %.

Quant aux teneurs de l'acide caféique sont de l'ordre de (0.408 ppm, 0.46139ppm, 1.2319 ppm et 0.7569 ppm) respectivement pour Sigoise, Rougette, Dathier et Chemlel, avec un coefficient de variation très importante proche à 39.11 %, ce qui explique la différence THS signalé par (AVI). En ce qui concerne le reste des composés phénoliques identifiées dans des extraits et non déterminées dans d'autres l'acide 4-hidroksibensique identifier dans les deux variétés Sigoise et Dathier avec une quantité de (0.63387 ppm et 0.004467 ppm) respectivement, l'acide gallique est également identifié dans l'extraits de trois variétés Rougette, Dathier et Chemlel avec des quantité de (0.10447 ppm), (1.6089 ppm), (0.4510 ppm). L'extraits de Dathier contient les deux composants ellagique et acide t-3 hidroxcinamique avec les teneurs suivant (0.0966 ppm et 1.7394 ppm) respectivement, la différence entre les teneur de ces composants est THS, et les coefficient de variation varient de 93.46% à 150%.

D'après la matrice de dissimilarité entre les quantités des différents composants phénoliques et organiques des feuilles de l'olivier tableau (XXV), les quatre variétés sont très éloignées l'un à l'autre. Les deux variétés Chemlel et Dathier se séparent par le coefficient de dissimilarité le moins important (35482,042). La matrice de dissimilarité montre que les variétés Dathier et Rougette sont très éloignées (409306,475).

Tableau XXV : Matrice de dissimilarité des quatre variétés de l'olivier en fonction des composants des feuilles

Observation	Carré de la distance Euclidienne			
	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel
Sigoise	,000	36149,549	409306,475	204070,015
Rougette	36149,549	,000	202483,527	68514,561
Dathier	409306,475	202483,527	,000	35482,042
Chemlel	204070,015	68514,561	35482,042	,000

Deux groupes uniquement sont observés en cas où on considère les teneurs en composants phénoliques et organiques dans les feuilles de l'olivier comme critère comparative, le premier groupe regroupe les trois variétés Dathier, Chemlel et Sigoise, également les deux variétés Dathier et Chemlel forment un sous groupe, le deuxième groupe regroupe les deux variétés Sigoise et Rougette (Figure 32)

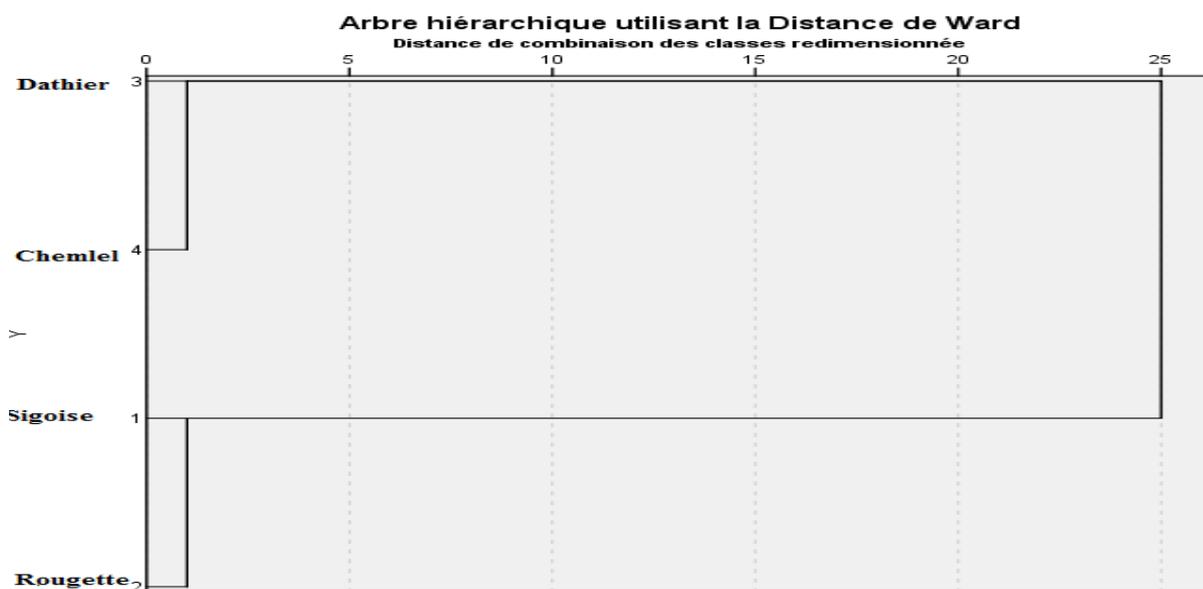
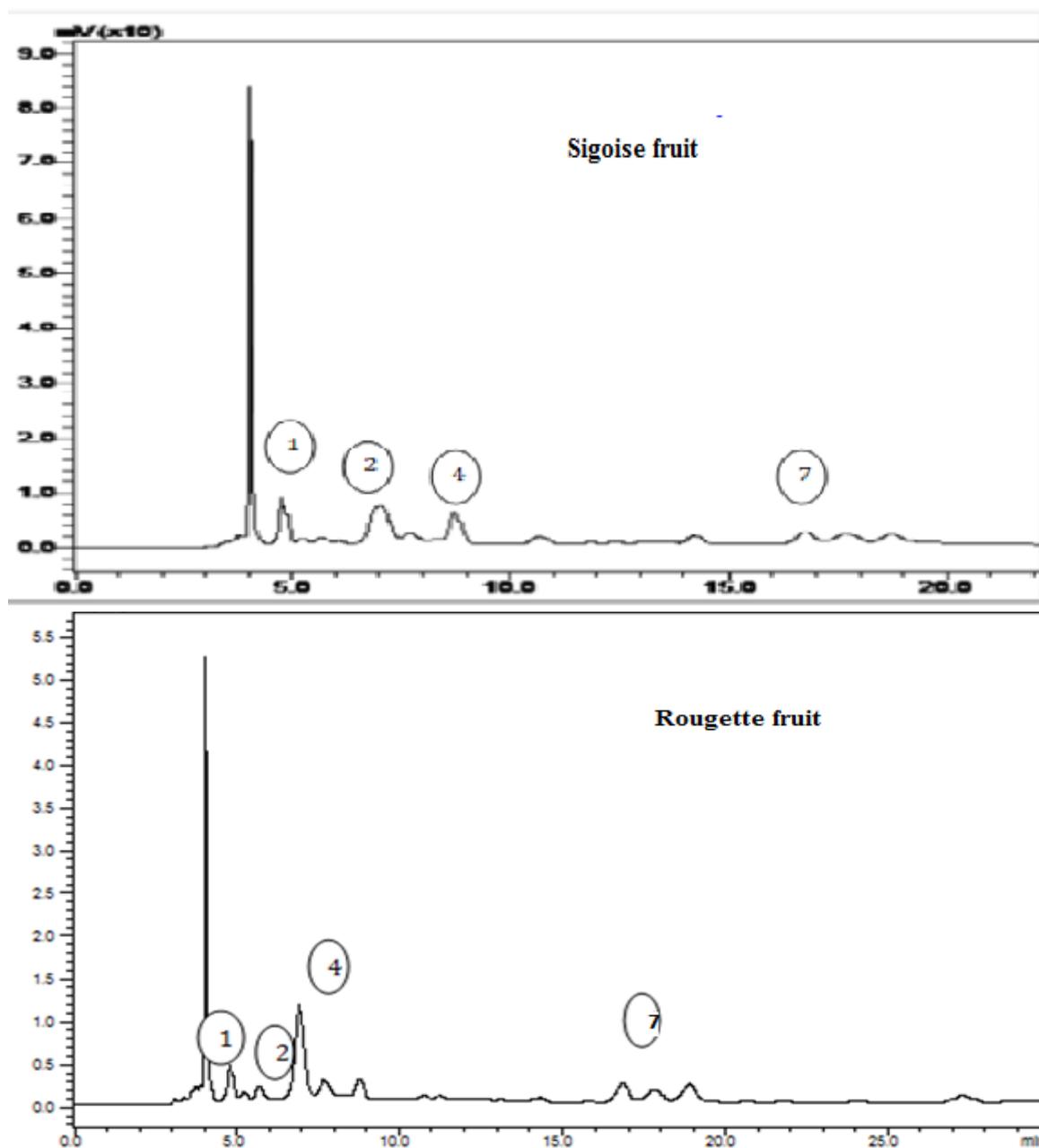


Figure N°32 : Dendrogramme de la dissimilarité entre quatre variétés de l'olivier, basé sur les teneurs en composants dans les feuilles

2-3-3- Analyse des extraits de fruits de l'olivier

Les résultats des analyses quantitatives des composés phénoliques, et organiques identifiés dans les extraits hydrométhanolique, des fruits de l'olivier a permis d'identifier quatre composés, l'acide fumarique, acide gallique, oleuropéine et acide caféique, figure (33)



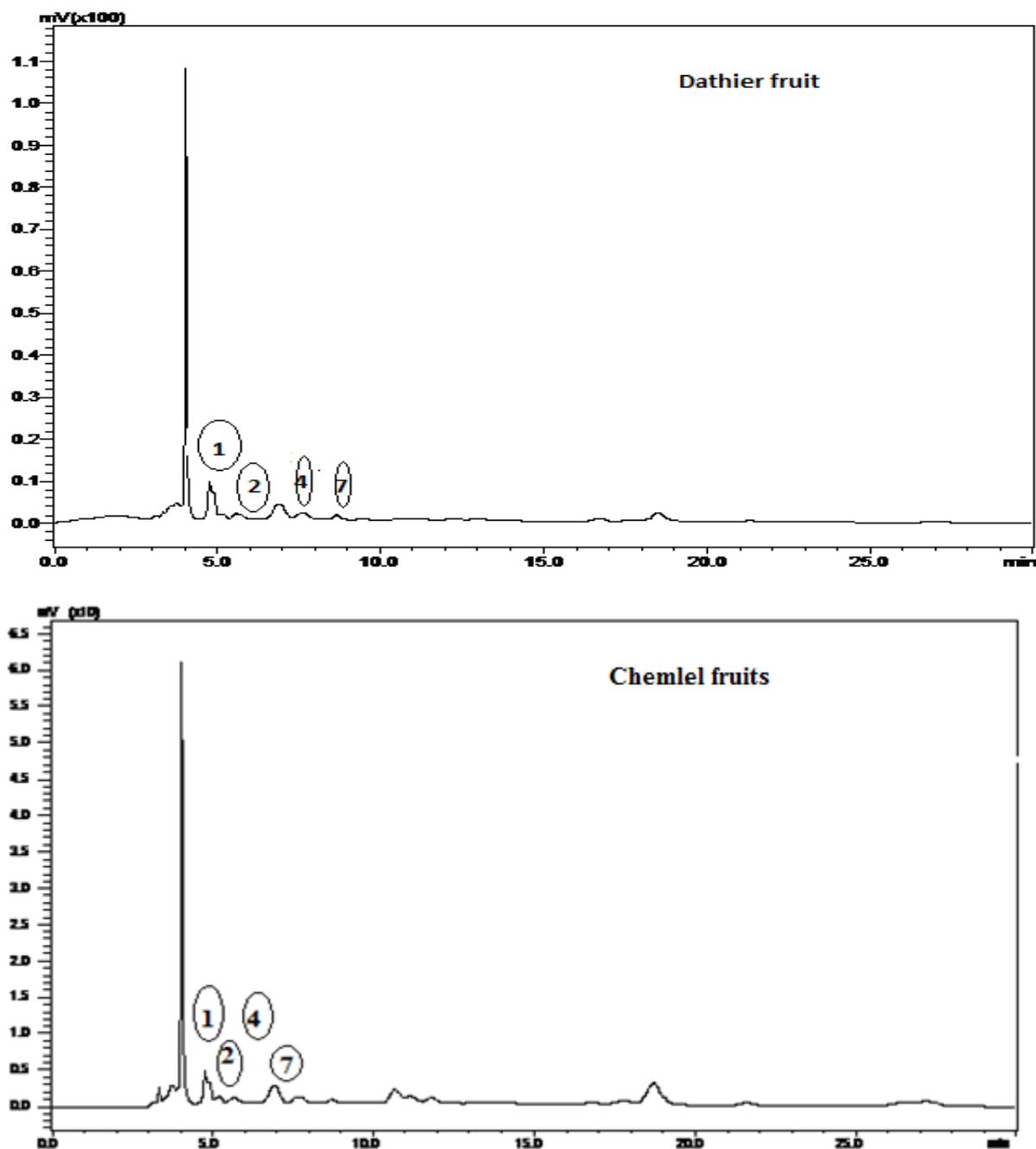


Figure N°33 : Chromatogramme de l'extrait des fruits de quatre variétés de l'olivier à 280nm.

La quantification des composants présents dans les extraits hydrométhanolique a révélé une grande quantité de ces composés. Les résultats obtenus à partir de l'étude quantitative et qualitative des extraits des fruits de quatre variétés de l'olivier sont regroupés dans le tableau (XXVI)

Les chromatogrammes correspondants sont reportés dans la figure (33). Cette étude montre que les extraits des feuilles sont très riches en composés phénoliques et organiques par rapport aux fruits, l'étude a montré que les extraits des fruits des variétés Rougette est le plus riche, l'analyse par HPLC a permis d'identifier quatre composés.

Tableau XXVI : Analyse quantitative et qualitative des extraits des fruits de quatre variétés de l'olivier.

Les variétés	Les composants	Temps	Quantité en ppm
Sigoise fruits	Acide fumarique	5,218	2,4912
	Acide gallique	5,664	0,068383
	Oleuropéine	7,674	177,51
	Acide Caféique	16,774	0,49139
Rougette fruits	Acide fumarique	5,212	43,4502
	Acide gallique	5,664	0,171857
	Oleuropéine	7,659	336,2979
	Acide Caféique	16,84	0,76023
Dathier Fruits	Acide fumarique	5,175	6,3594
	Acide gallique	5,59	0,106015
	Oleuropéine	7,607	268,7697
	Acide Caféique	16,734	0,15162
Chemlel Fruits	Acide fumarique	5.194	9,4242
	Acide gallique	5.647	0,087185
	Oleuropéine	7.654	100,5461
	Acide Caféique	16.83	0,06079

Les analyses ont montré que l'oleuropéine est le composé majoritaire dans les quatre extrait hydrométhanolique des fruits, avec une dominance de la variétés Rougette (336,2979ppm), suivie par Dathier (268,7697ppm), et Sigoise (177,51ppm) et finalement Chemlel (100,5461ppm), l'analyse de la variance (AVI) a montré une diference non

significative entre les quantités de Oleuropéines dans les fruits de quatre variétés, également la variation est faible, le coefficient de variation est 13.83 %. Ainsi les teneurs de l'acide fumarique sont de (2,4912 ppm, 43,4502 ppm, 6,3594 ppm et 9,4242 ppm) respectivement pour les variétés Sigoise, Rougette, Dathier et Chemlel, l'analyse de la variance (AVI) a montré une différence THS entre les quantités de l'acide fumarique dans les fruits de quatre variétés, également la variation est très importante, le coefficient de variation est 90.78 %.

Quant aux teneurs de l'acide caféique, ils sont de l'ordre de (0,49139 ppm, 0,76023 ppm, 0,15162 ppm et 0,06079 ppm) respectivement pour les mêmes variétés, l'acide gallique est également identifié dans l'extrait de quatre variétés Sigoise, Rougette, Dathier et Chemlel avec des quantités entre (0,06079 et 0,76023 ppm), le coefficient de variation de ces deux composants est de 56.78 % pour l'acide caféique, et 23.43% pour l'acide gallique (annexe 2).

D'après la matrice de dissimilarité entre les quantités des différents composants phénoliques des fruits de l'olivier tableau (XXVII), on constate que les quatre variétés sont très éloignées l'une de l'autre. Les deux variétés Rougette et Dathier se séparent par un coefficient de dissimilarité le moins important (5936,10), la matrice de dissimilarité montre que Rougette et Chemlel sont très éloignées (56737,176).

Tableau XXVII : matrice de dissimilarité des quatre variétés de l'olivier en fonction des composants des fruits

Matrices de proximité				
Observation	Carré de la distance Euclidienne			
	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel
Sigoise	,000	26891,320	8343,413	5971,694
Rougette	26891,320	,000	5936,160	56737,176
Dathier	8343,413	5936,160	,000	28308,581
Chemlel	5971,694	56737,176	28308,581	,000

Selon les résultats des teneurs en composants phénoliques et organiques des fruits nous avons regroupé les variétés selon la nature et la teneur en composants avec l'analyse de classification hiérarchique, Les matrices engendrées pour les différents marqueurs

phytochimique, analysées par le logiciel SPSS 21 basée sur la méthode d'agrégation de Ward, a permis d'établir les premières relations entre les différents cultivars. En effet, le dendrogramme obtenu figure (34) révèle parfaitement l'existence d'un niveau significatif des polymorphismes biochimiques inter-accession. Ainsi, en se situant à une distance d'agrégation de l'ordre de deux groupes des cultivars

- Un sous groupe de deux variétés Dathier et Rougette
- Un groupe de trois variétés Dathier, Rougette et Sigoise
- Un groupe de Sigoise et Chemlel

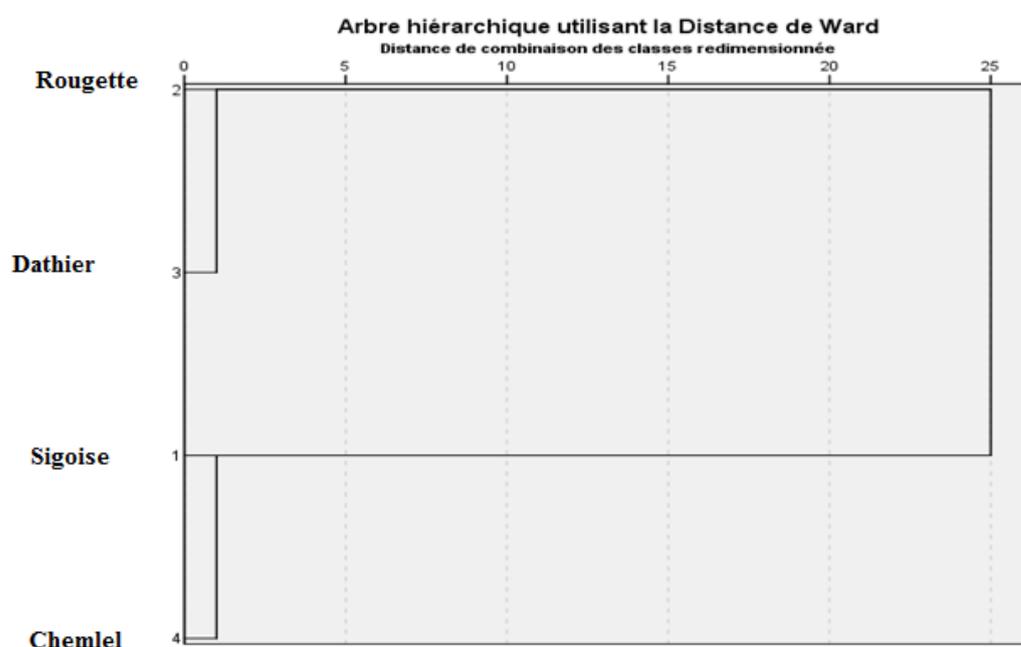


Figure N° 34 : Dendrogramme de la dissimilarité entre quatre variétés de l'olivier, basé sur les teneurs en composants dans les fruits

❖ Discussion biochimie de l'olivier

Pour les constituants biochimiques de l'olivier on constate que cette plante est riche en métabolites primaires et secondaires

On remarque que les quatre variétés d'étude sont riches en lipides, pour les feuilles on a trouvé que nos variétés sont riches en lipides par rapport à ceux de **Boudhioua et al., 2008**

(de 1,0 à 1,3%) et **Martin-Garcia et al., 2006** (3,2%), et proche pour les variétés Chemlel , Rougette et Dathier aux travaux de **Erbay et Icier, 2009** (6,5%) et **Garcia-Gomez et al., 2003** (6,2%). Pour les lipides des fruits nous avons remarqué une richesse importante des fruits des variétés d'études en lipide par rapport aux résultats de (**Benrachou ,2013 ; Molina Alcaide et al .,2003 ; Hadiddou et al .,2013**), et ont été proche de ceux de (**Theriez et Boule, 1970**) concernant la variété Sigoise avec une teneur de (85,6 - 90,0%) .

La présente étude a permis de constater que la teneur en sucres totaux dans les quatre variétés étudiées est d'environ 46.70% MS dans les feuilles, et 62.35% par g MS dans les fruits, les résultats de (**Milla et al., 2011**) ont confirmé nos résultats, la teneur en glucides de notre étude est proche de celle de la région de El Harrach 66,5 % par g MS.

Lepoivre (2003), a affirmé que la teneur en sucres est plus forte dans des milieux défavorables, nous avons calculé la moyenne de précipitation durant l'année d'étude 2015, et nous avons trouvé une moyenne faible de 60.76 mm/an.

Les examens phytochimique réalisés sur les fruits et feuilles de quatre variétés de l'olivier ont montré la présence des composés suivants : les flavonoïdes, tanins, saponines, terpènes et stéroïdes, glycosides, anthraquinones, quinones libres et les coumarines et les extraits ont été pauvre en alcaloïdes et anthocyanes .Ces composés secondaires ont des rôles différents.

Selon (**Bruneton, 2009**), les saponines sont des détergents alors on les trouve dans la plante, pour la protégé, également les tanins sont des polyphénols qui ont un effet antioxydant fondamental, en plus de cet effet fondamental les tanins possèdent des propriétés anti tumorales, antivirales et antibactériennes (**Takuo, 2005**).

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes, leurs fonction dans les fleurs est de fournir des couleurs attirant pour les pollinisateurs (**Middleton et Chithan, 1993; Harborne et Williams, 2000**). Dans les feuilles, les flavonoides favorisent le suivie et la protection de la physiologie des plantes, contre les pathogènes fongiques et rayonnement UV-B (**Harborne et Baxter, 1999 ; Harborne et Williams, 2000**). En outre, les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation, le transfert d'énergie, les actions des hormones de croissance des plantes et des régulateurs de croissance, le contrôle de la respiration et de la photosynthèse, morphogénèse et détermination du sexe (**Middleton et Chithan, 1993 ; Harborne et Baxter, 1999**), ils peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en raison de leur propriétés anti-

oxydantes et leur rôle inhibiteur à divers stades de développement du tumeur, l'apport de flavonoïdes a été inversement associé aux maladie cardiovasculaire (**Hollman et Katan, 1999, Kyungmi et al.,2008**), et en plus ils ont un effet antidiabétique (**Babu et al., 2013**).

Les composés terpéniques expriment des effets contre les bactéries (**Cowan, 1999**) et les stéroïls sont connus pour leurs efficacités à baisser le cholestérol (**Shaghghi et al., 2014**).

Les principes actifs des alcaloïdes sont connus par leurs effets toxiques (**Bruneton, 2009**). Selon **Sarni-Manchado et Cheynier (2006)**, les anthocyanes sont des molécules non stable, la présence de ces molécules dépend de l'acidité du milieu et les stades phénologiques de la plante, ces molécules sont rarement présentes dans les tissus des végétaux en pleine maturité, la forte concentration de ces molécule est dans les très jeune fruits, ce qui explique l'absence de cette molécule dans les deux organes (feuilles et fruits) des quatre variétés qui ont été prélevés en pleine maturation.

Pour les feuilles nos résultats sont semblables à ceux obtenus par (**Edrah et Kumar, 2012**) qui ont signalé la présence de certains composés (tannins, saponines, flavonoïdes et les cardiac glycosides) . **Dada (2013) et Malik (2015)** ont signalé l'absence des Saponines dans les feuilles. **Nahal Bouderberba et al.(2012)** ont signalé l'absence des tanins . **Kaskoos (2013)** a indiqué la présence des alcaloïdes dans les feuilles.

Pour les fruits, **Sánchez Casas et al.(2004)** ont signalé la présence des triterpènes dans l'huile d'olive. **Grati Kamoun(2007) et Mnasri et al.(2013a)** ont montré que la majorité des variétés de l'olivier présentent des huiles très riches en composés phénoliques. **Celik et al. (2014)** ont signalé la présence des flavonoïdes dans les fruits de l'olivier, (**Gherib, 2015**) a signalé l'absence des saponines et alcaloïdes dans les fruits d'oléastre.

Ces résultats montrent la richesse des fruits et feuilles de l'*Olea europaea* L. en certains principes bioactifs, on pourrait déduire qu'ils ont des effets bénéfique sur la santé tels que : antibactérienne, antioxydants, anti-tumoral et prévention des maladies cardiovasculaires. En comparaison avec la littérature, nos résultats sont en bon accord avec les recherches qui ont montré que les feuilles et les fruits des quatre variétés sont riches en polyphénols.

Selon nos résultats les rendements d'extraction varient pour les feuilles de 28 à 46% MS et de 28 à 44% MS pour les fruits, les teneurs que nous avons trouvés sont en accord

avec certaines sources de référence tel que (**Mylonaki et al., 2008**) qui ont assuré que la teneur en matière extraite peut dépasser les 25% de matière sèche. **Garcia-Gomez et al. (2003)** qui ont montré que la teneur en lignine représente 30,4% par rapport à la matière sèche.

Plusieurs études se sont intéressées à la quantification des polyphénols dans les extraits de l'olivier, une étude réalisée sur les variétés de l'olivier de la Grèce et du Portugal sont caractérisées par des teneurs en polyphénols variant dans un intervalle de 82- 171mg /100g de pulpes d'olives (**Boskou et al., 2006**), et de 165,76 mg/Kg de poids frais d'olives (**Malheiro et al., 2012**) respectivement. **Brahimi et al. (2013)** ont réalisé des dosages quantitatifs de l'extrait méthanolique des feuilles de l'olivier de deux variétés Chemleli et Nebjmel en Tunisie, ils ont montrés que la teneur en polyphénols total des feuilles de Chemleli (de 219,85 octobre à 464,27 mg/100 g janvier) et plus riche que la variété de Nebjmel (de 197,60 octobre à 270,53 mg/100 g janvier), ces résultats sont supérieurs à nos résultats mais la variation de la teneur en polyphénols semble être liée à la période de prélèvement. Egalement nos résultats sont confirmés par d'autres études réalisés par **Ryan et al. (1999)**.

Certains auteurs ont étudié les teneurs en polyphénols de l'olivier ont montré que les feuilles de l'olivier sont plus riche en composés phénoliques bioactifs que les fruits et l'huile d'olive (**Caponio et al., 2001 ; Lalas et al., 2011**), également que la présence des composés phénoliques est major dans les feuilles de l'olivier par apport aux autres organes (**Benavente Garcia et al.,2000; Japon-Lujan et al., 2006; Altiok et al., 2008**). Ces résultats confirment nos résultats pour que les feuilles de l'olivier aient présenté une teneur en polyphénols élevé par apport aux fruits. Les teneurs en composés phénoliques dans les feuilles de l'olivier varient selon la variété et la zone d'étude, (**Altiok et al., 2008**) ont trouvé des teneus entre 2,8 mg/g, (**Boudhrioua et al., 2009**) 44,3 mg/g de matière sèche,et selon **Mylonaki et al.(2008)** elle peuve même dépasser les 250 mg/g de matière sèche.

L'étude des concentrations de phénol totaux a montré la richesse de nos extrais en polyphénols, les teneurs ont varie de 13.25 à 78.75 µg/mg acide gallique dans les feuilles et de 20.75 à 45.5 µg/mg acide gallique dans les fruits. Selon **Boskou et al. (2006)** les polyphénols représentent 1 à 3 % du poids frais d'olive drupe à la maturité. **Silva et al .(2006)** ont confirmé nos résultats ,les chercheur ont trouvé des teneurs qui ont varié de 13.9 à 30.5 g/kg dans les fruits et 11.7 à 40.1 g/kg feuilles sèches. **Ben Salah et al .(2012)** ont

trouvé des teneur en PT dans les feuilles supérieur à nos résultats (73.05 à 144.19 mg-AG /g MS),la variétés Chemlel avait une teneur de (99.71 mg-AG /g MS) supérieur à notre Chemlel (66.25 mg-AG /g MS),vue que les prélèvements sont réalisés dans la même périodes, et que nous avons utilisé le même solvant d'extraction, on peut expliqué cette variabilité entre les teneur PT de la variété Chemlel par l'influence des conditions climatiques , **Sarni-Manchado et Cheynier (2006)** ont confirmé l'interaction entre les teneurs en polyphénols et l'environnement. **Aouidi et al. (2009)** les teneurs en phénols totaux varient de 28 à 59 mg/g Matière Sèche selon l'organe concerné (feuilles, pulpes), aussi selon le degré de maturité et le solvant d'extraction utilisé (méthanol ou éthanol).

Les résultats des teneurs en flavonoïdes sont en accord avec plusieurs travaux, (**Sheikh et Gabr, 2016**) ont signalé que la teneur en flavonoïdes dans les feuilles de l'olivier varie selon la méthode d'extraction, et la concentration de solvant, ils ont trouvé TF (25.51mg catéchine /g MS), ces résultats sont inférieur à nos résultats, ceci peut être expliqué par le choix des variétés d'études. **Ben Salah et al .(2012)** ont trouvé des teneurs en FT dans les feuilles supérieur à nos résultats (56.75 à 125.64 mg-CAT/g MS), la variété Chemlel avait une teneur de (82.74 mg-CAT/g MS) supérieur à notre Chemlel (40.98 mg-CAT/g MS). **Celik et al. (2014)** également ont trouvé des teneurs supérieurs (262.2µg/mg). **Abaza et al. (2011)** ont trouvé des teneurs en FT dans les feuilles inférieur à nos résultats qui ont varié de 3.42 à 21.47mg/gMS également pour (**Ilias et al ., 2011**), les teneurs en flavonoïdes des fruit étudié par (**Cheng et al ., 2017**) étaient inférieur à nos teneurs dans les fruits d'étude.

Les résultats obtenus pour les teneurs en tanin sont importante, les teneurs ont varié de 20.06 à 51.67µg/mg mim dans les feuilles et entre 34.83 et 147.29 µg/mg mim dans les fruits. **Mebirouk-Boudechiche et al.(2014)** ont trouvé que la teneur en tanin hydrolysable dans les feuilles de l'olivier été proche de 22.02mg/g, ce qui confirme nos résultats pour les fruit .

Dekdouk et al. (2015) ont trouvé une teneur de 86.86 mg/g, ces résultats sont dans l'intervalle de nos extraits.

La synthèse de ces différents résultats des teneurs en polyphénols présente une variation, cette variation inter-variétale des polyphénols de l'olivier due à l'influence de divers facteurs parmi lesquels : la méthode d'extraction choisie, les conditions dans les quelles l'extraction a été effectuée, ainsi qu'à l'origine géographique de la plante (**Lee et al.,**

2003) , la variété, les condition climatique (température, exposition au soleil, la sécheresse et la salinité...etc.), le régime d'irrigation (Larrauri et al., 1996; Romani, et al., 1999; Patumi et al.,2002), aussi que le facteur génétique (Morelló et al., 2004), l'organe de la plante utilisé (Natarajan et al., 2005). Ainsi que la variation de teneurs en polyphénols semble être liée à la zone géographique oléicole (Rotondi et al. , 2004 ; Baccouri et al., 2007).

L'étude quantitative et qualitative des extraits des feuilles de quatre variétés de l'olivier a montré que les extraits des feuilles sont très riches en composés phénoliques. L'étude a montré que l'extrait des feuilles de la variété Dathier est le plus riche, l'analyse par HPLC a permis d'identifier six composés phénoliques (acide gallique ,oleuropéine, acide 4-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide éllagique et l'acide t-3 hydroxycinamique),et un acide organique l'acide fumarique, quelques composés ont déjà été rapportés par plusieurs chercheurs, l'acide caféique a été étudié par (Baldi et al., 1995 ;Benavente-Garcia et al., 2000; Briante et al., 2004; Mourtzinos et al., 2007 ; Altiok et al., 2008). Nos résultats sont inférieur à ceux de Pereira et al. (2007), ils ont trouvé une teneur en acide caféique équivalente à 220mg/kg. Également Erdohan et Turhan (2011) ont trouvé une teneur de 1.09mg/kg, ces résultats sont proche de la teneur des deux variétés Dathier et Chemlel. La présence de l'acide gallique dans les feuilles de l'olivier est indiquée par (Briante et al., 2004 ; Mcdonald, 2001), nos résultats pour la teneur en acide gallique sont inférieur à ceux de (Nashwa et al., 2014). La présence de l'acide 4- hydroxybenzoïque été signalé par (Boskou, 2006 ; Mourtzinos et al., 2007). Finalement Oleuropéine, les analyses ont montré que cette molécule est le composé majoritaire dans les quatre extraits hydrométhanoliques des feuilles, avec une dominance de la variété Dathier (891.57 ppm), suivie par Chemlel (703.32 ppm), Rougette (441.6 ppm), et finalement Sigoise (251.89 ppm), la présence de cette molécule est indiqué par plusieurs chercheurs qui ont étudié les composés phénoliques des feuilles de l'olivier (Movsumov et al., 1987 ; Le Tutour and Guedon, 1992 ; Baldi et al., 1995; De Nino et al., 1997; Benavente- Garcia et al., 2000 ; Bouaziz et Sayadi, 2003; Briante et al., 2004; Japon-Lujan et al., 2006; Silva et al .,2006; Mourtzinos et al., 2007; Altiok et al., 2008; Malik et al., 2008; Laguerre et al., 2009; Hayes et al., 2009; Ben Salah et al ., 2012), les teneurs en oleuropéine se différent selon la variété d'étude et les conditions de culture . Ben Salah et al. (2012) ont trouvé des teneurs varient entre 30 et 55 mg/g d'OLE dans les feuilles de différents variétés. Pereira et al. (2007) ont trouvé 26471.4 mg/kg.

L'étude quantitative et qualitative des extraits des fruits et de quatre variétés d'olivier ont montré que les extraits des fruits sont très riches en composés phénoliques. L'analyse par HPLC a permis d'identifier un composé organique (acide fumarique), et trois composés phénoliques (acide gallique, oleuropéine, et acide caféique), ces molécules déjà ont été identifiées dans plusieurs travaux, (McDonald, 2001) a signalé la présence de l'acide gallique dans les fruits de l'olivier. Également (Savarese, 2007) a mentionné la présence de l'acide caféique. L'oleuropéine est l'élément le plus important dans les fruits de l'olivier, sa présence a été indiquée par plusieurs chercheurs (Tayoub et al., 2012 ; Arslan et Oscan, 2011 ; Esti et Cinquanta, 1998), la quantité d'OLE dans les fruits de turc, la variété Sriulak a été variée entre 644.2 et 1222.7 mg/kg (Arslan et Ozcan, 2011), pour les olives Italiennes entre 850 et 2080 mg/kg (Esti et Cinquanta, 1998), Tayoub et al. (2012) ont trouvé des quantités qui ont varié de 634.6 à 1025.5 mg/kg .

IV-Résultats et discussion activité biologique des feuilles et fruits de l'olivier

1- Evaluation du potentiel anti-radicalaire des feuilles

Test de piégeage du radical libre DPPH, l'activité antioxydante de l'extraits méthanolique aqueux des feuilles de l'olivier *Olea europaea* L. et l'antioxydant standard (BHA) vis-à-vis du radical DPPH à été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm

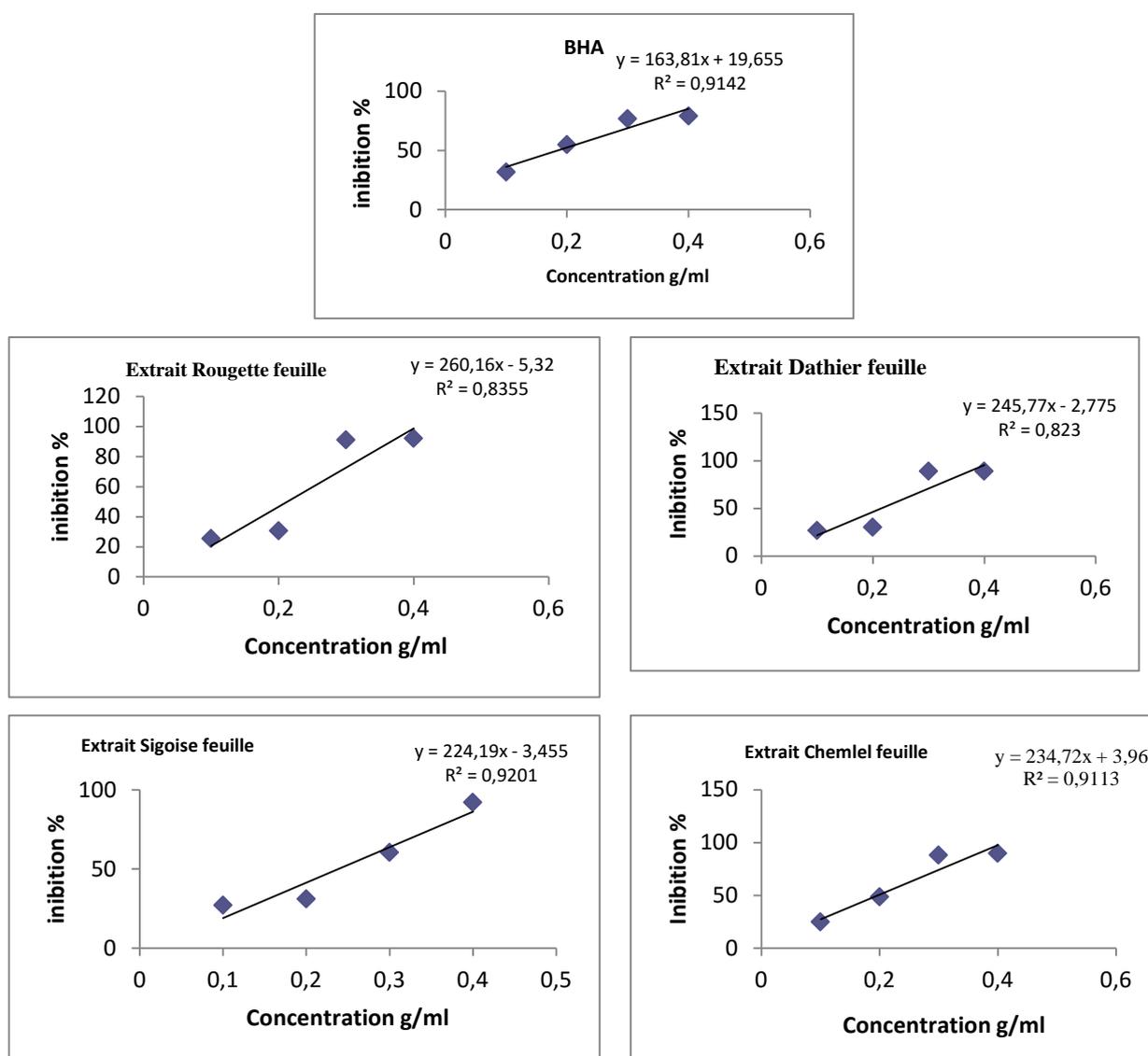


Figure N°35 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits méthanolique des feuilles de quatre variétés de l'olivier et le BHA

Les résultats obtenus à partir de ce test sont regroupés dans la figure (35) et le tableau (XXVIII), les valeurs d'EC₅₀ sont exprimées en (g/ml).

Tableau XXVIII: Activité antioxydante des différents extraits méthanolique des feuilles de quatre variétés vis-à-vis du radical DPPH

Variétés	Activité antioxydante (test DPPH) EC ₅₀ feuilles (g/ml)
Sigoise	0,189±0,05
Rougette	0,15638±0,03
Chemlel	0,2077±0,061
Dathier	0,1697±0,059
BHA	0,36123±0,011

On remarque que les extraits méthanolique des feuilles de quatre variétés de l'olivier Sigoise, Rougette, Chemlel, et Dathier ont une activité antioxydante importante, et ils sont capables de piéger le radical DPPH, comme le montre le tableau (XXVIII), qui est représenté par la figure (35), les valeurs de EC₅₀ sont extrêmement diverses, les résultats de ce test ont montré que 50% des radicaux libres sont éliminées par les polyphénols des feuilles de Chemlel (0.207±0.061 g/ml), suivie par Sigoise (0,189±0,05 g/ml), Dathier et Rougette ont montré les activités les plus importantes avec des valeurs d'EC₅₀ respectivement (0,1697±0,059 g/ml) et (0,1568±0.03 g/ml). En comparant le pouvoir antioxydant des quatre variétés avec BHA on peut classer les feuilles de l'olivier parmi les antioxydants les plus importants vus que l'EC₅₀ de BHA (0,36123±0,011 g/ml).

2- Evaluation du potentiel anti-radicalaire des fruits de l'olivier

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant la méthode du test DPPH. La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm, provoquée par la présence des extraits (Wu, 2007).

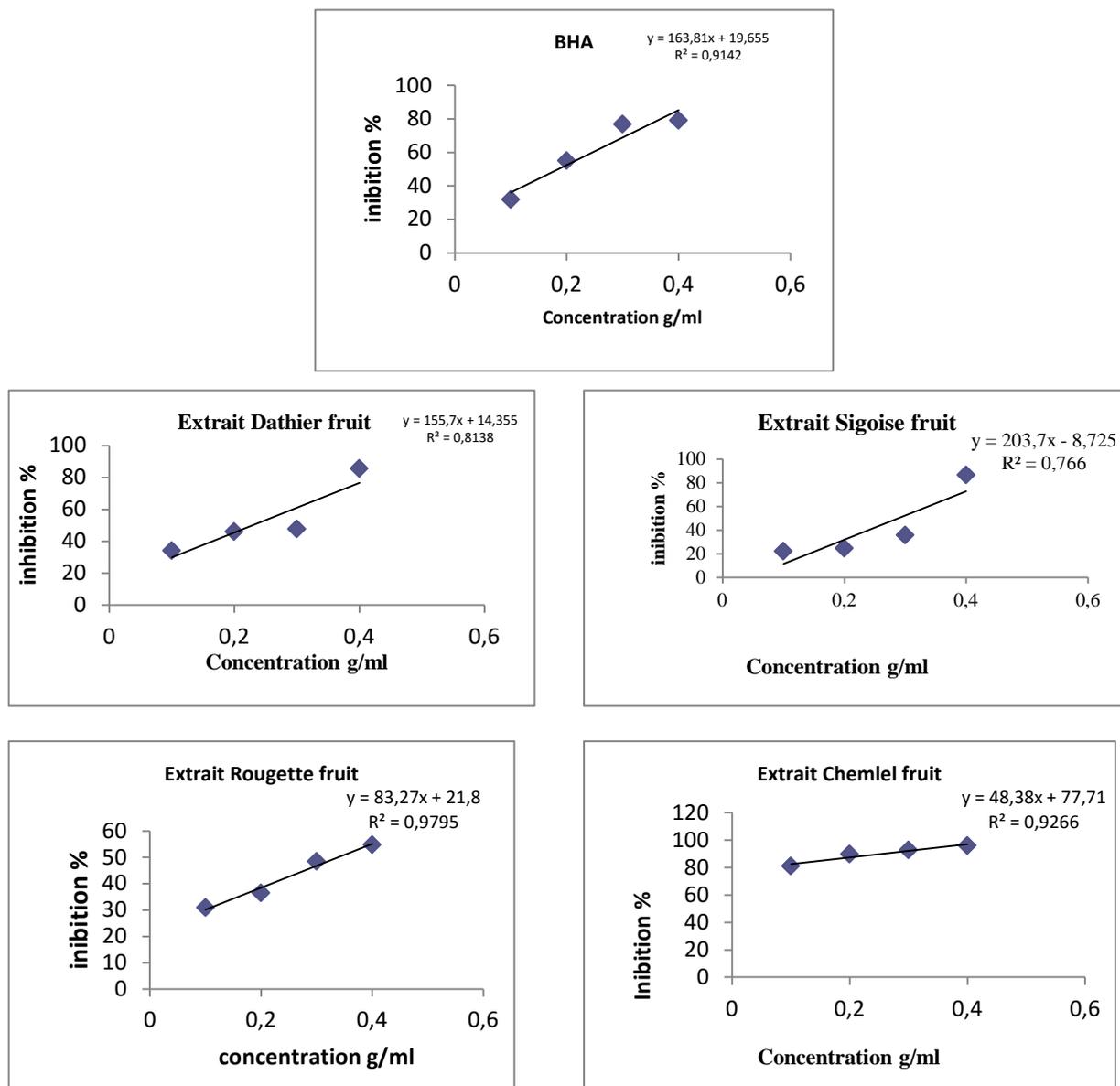


Figure N°36 : Variation du pouvoir d'inhibition en fonction de la concentration des extraits méthanolique des fruits de quatre variétés de l'olivier et le BHA

Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (**Hadbaoui, 2012**).

Les résultats obtenus à partir de ce test sont regroupés dans le tableau (**XXIX**) ci-dessous. Les valeurs des EC_{50} sont exprimées en (g/ml).

Tableau XXIX : Activité antioxydante des différents extraits méthanolique des fruits des quatre variétés vis-à-vis du radical DPPH

Variétés	Activité antioxydante (test DPPH) EC ₅₀ Fruit (g/ml)
Sigoise	0,1693±0,022
Rougette	0,5903±0,067
Chemlel	2,5970±0,109
Dathier	0,3666±0,058
BHA	0,36123±0,011

On remarque que presque tous les extraits méthanolique des échantillons étudiés possèdent une activité antioxydante et ils sont capables de piéger le radical DPPH. La valeur d'EC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, comme elle exprime la quantité de l'antioxydant nécessaire pour diminuer 50% de la concentration du radical. Plus EC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Villano et al., 2007). Comme le montre le tableau (XXIX), qui est représenté par la figure (36), les valeurs de EC₅₀ sont extrêmement diverses, Les extraits méthanolique les moins efficaces sont ceux des valeurs d'EC₅₀, qui sont plus élevées chez Chemlel (2,5970±0,109 g/ml) suivie de Rougette (0,5903±0,067 g/ml). Les fractions Méthanolique des fruits de Sigoise (0,1693±0,022 g/ml) et Dathier (0,3666±0,058g /ml) étaient les plus efficaces. On comparant le pouvoir antioxydant des quatre variétés avec BHA on peut classer les fruits d'olivier parmi les antioxydants les plus importants vus que l'EC₅₀ de BHA (0,36123±0,011 g/ml).

❖ Discussion activité antioxydante des feuilles et fruits

L'activité antiradicalaire des différents extraits a été évaluée par le test au DPPH, ce dernier est souvent utilisé pour la rapidité des résultats, comme il est employé pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydante présentes dans les extraits des végétaux (Yi et al., 2008). Du point de vue méthodologique, le test au radical libre DPPH• est recommandé pour des composés contenant des groupes SH-, NH- et OH- (Salah et al., 1995). Il se réalise à température ambiante, ce qui élimine tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles. Le test est largement utilisé dans l'évolution des extraits hydrophiles de thé vert, des jus de fruits et de raisins, pépins et pulpes, très riches en composés phénoliques (Yi-

Zhong Cai et al., 2006 ; Hatzidimitrou et al., 2007). Le temps de réaction de 30 minutes a été recommandé, et ces conditions sont utilisées dans plusieurs travaux (**Puspa et al., 2008 ; Hue et al., 2008 ; Berrin et al., 2008**). Deux méthodes ont été utilisées dans notre études, L'indice relative %RSA qui a montré selon (**Sanchez Moreno et al., 1998**) seulement la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, de réduire ou non les radicaux et dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs, dans nos extrais feuilles et fruits le %RSA augment avec l'accroissement de la concentration, Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, la réactivité été évaluée par la concentration effective EC_{50} . Selon (**Karamac et Amarowicz, 1997**) BHA est l'un des meilleurs antioxydants et son action dépend de la méthode d'études.

Selon **Sarni-Manchado et Cheynier (2006)** le terme phénolique s'adresse a des composés comportant un ou plusieurs groupement hydroxyle greffés sur un noyau benzénique, cette particularité structurel donne a la fonction phénol un caractère acide ; elle perd facilement un H^+ la perte d'un Hydrogène électron + proton engendre la formation d'un radical fortement stabilisé, ce qui le confère sa capacité antioxydante.

L'olivier et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydant naturel qui peut être utilisée, dans l'industries alimentaires et pharmaceutiques (**Savarese et al., 2007**).

Les phénols de l'olivier ont une énorme capacité à piéger les radicales libres et montrent un comportement synergique lorsqu'ils sont combinés, ce qui se déroule naturellement dans les feuilles d'olivier et donc dans leurs extraits (**Polzonetti et al, 2004**).

Les feuilles d'olivier possèdent un pouvoir antioxydant non négligeable (**Benavente-Garcia et al, 2000 et Savournin et al, 2001**)

Brand-William et al. (1995) Ont signalé que parmi les acide phénolique les plus actifs dans l'activité antioxydante l'acide gallique et caféique, les deux sont des acides phénoliques présent dans presque tous les extrais des feuilles et fruits d'olivier, ils appartiennent aux deux groupes : les acides hydroxybenzoïque et les acides hydroxycinnamique, et selon **Cuvelier et al.(1992)** les acides hydroxycinnamique ont toujours une activité anti radicalaire

mieux que les acides hydroxybenzoïques . (Popovici et al ., 2009) ont également signalé l'effet antioxydants de l'acide gallique.

Les composants phénoliques actifs dans l'extrait de feuilles et fruits d'olivier font partie de la famille des secoiridoïdes, connus par leur capacité à piéger le H₂O₂ (Visioli et al, 1994). Oleuropéine est le composant majoritaire dans les extrais des feuilles et fruits de l'olivier , plusieurs chercheur ont signalé l'effet anti radicalaire de cette molécule (Altiok et al., 2008 ; Ben Salah et al .,2012 ; Quirantes –Piné et al .,2013 ; Nashwa et al.,2014).

La corrélation entre la présence d'Oleuropéine et l'activité antioxydante exprimée en EC₅₀ est significative pour les deux organes d'études, les feuilles (-0.719) et les fruits (-0.672) (annexe 2), ceci est confirmé par les travaux de (Sheikh et Gabr, 2016).

Les valeurs de EC₅₀ sont extrêmement diverses entre les quatre variétés feuilles et fruits ceci est confirmé par Del Monaco et al. (2015) qui ont mentionné l'effet variété sur l'activité antioxydante, également nous avons remarqué une variabilité entre le pouvoir de nos variétés et les différents variétés cités dans les travaux des autres chercheurs, (Bayram et al.,2012) a mentionné l'effet de l'origine géographique, et (Brahmi et al.,2013) la maturité des organes d'études sur l'activité anti radicalaire.

3- Evaluation de l'activité anticoagulante des feuilles et fruits de l'olivier

Lors de cette étape, la capacité anticoagulante des différents extraits polyphénoliques des feuilles et fruits de l'olivier vis-à-vis de la voie exogène de la coagulation par le test TQ a été évaluée au temps d'incubation optimal fixé de 15 minutes.

On a utilisé le test de taux de prothrombine (TP), qui explore la voie extrinsèque de la coagulation sanguine où le facteur tissulaire (thromboplastine) est le déclencheur de cette voie (Tripodi, 2009).

Dans le but de rechercher un allongement au niveau du temps de coagulation qui se définit par une activité anticoagulante des extraits de l'olivier, ce test a été réalisé selon la méthode d'Athukorala *et al.* (2007). Les résultats obtenus pour l'activité anticoagulante sont regroupés dans le tableau (XXX)

Tableau XXX : Activité anticoagulante des extraits des feuilles et fruits de l'olivier.

	Sigoise	Rougette	Dathier	Chemlel	Temion	AV1
Feuilles	27,8±1.24	22,61±1.07	20,88±1.24	33,51±2.04	12.5	0.000
Fruits	23,49±0.53	22,05±0.11	24,9±1.54	32,13±1.13	12.5	0.000

L'analyse de ces résultats révèle l'existence d'une grande variabilité entre les valeurs de TQ de quatre variétés d'olivier. Ceci est confirmé par l'analyse de la variance (AVI), il se dégage alors une différence très hautement significative dans le TQ à la présence des extraits polyphénoliques des feuilles et fruits ($P < 0,001$).

D'une manière générale, on peut remarquer clairement que tous les extraits polyphénoliques étudiés exercent une activité anticoagulante, mais les résultats montrent une variation remarquable des valeurs de cette activité par rapport au témoin.

En présence d'extraits polyphénoliques des feuilles, on note qu'il y a un allongement de TQ de l'ordre de 21,01s, 15,30s, 10,11s, 8,38s et en comparant à celui du témoin (12,5 s) notés respectivement chez les variétés Chemlel, Sigoise, Rougette, et Dathier.

Par ailleurs, pour les extraits polyphénoliques des fruits on observe que les allongements de TQ les plus élevés sont enregistrés chez la variété Chemlel (19,63s), suivit de Dathier (12,40 s), ensuite viennent les variétés Sigoise et Rougette par des allongements de l'ordre de 10,99 s et 9,55 s respectivement.

En comparant le TQ des extraits des feuilles et fruits, on remarque que l'effet anticoagulant des feuilles est relativement élevé par rapport aux fruits.

Discussion activité anticoagulante

L'alimentation est une composante déterminante dans la prévention primaire de nombreuses maladies cardiovasculaires chroniques associées aux problèmes de coagulation du sang. (Morand et Milenkovic, 2014). Yoon et al. (2002); Pawlaczyk et al.(2011) ;Li Teng et al. (2014) ont mentionné que les polyphénols et les polysaccharides ont la capacité de réduire la coagulation, selon Ryu et al. (2015) les flavonoïde (Catéchine) sont des anticoagulants très important pour les traitement de thrombose.

Selon les résultats illustrés dans le tableau (XXX), on remarque que l'effet anticoagulant des feuilles est relativement élevé par rapport aux fruits. Une étude similaire réalisée par Manallah (2013), qui a travaillé sur les extraits polyphénoliques des fruits des deux variétés d'olivier (Khenfas et Bouchouk), elle a obtenus des résultats de TQ légèrement supérieurs à nos résultats (34.6s et 40.1s respectivement). Ces différences des résultats peuvent être expliquées par la variabilité entre teneurs en polyphénols des variétés examinées.

Les feuilles et fruits de l'olivier sont riches en Oleuropéine, Driss et al. (1996) Ont étudié les effets in vitro des composés phénoliques de l'olivier sur l'agrégation plaquettaire, la déformabilité érythrocytaire et la susceptibilité à la peroxydation des acides gras des membranes érythrocytaires. L'incubation des plaquettes avec le dihydroxyphényléthanol ou l'oleuropéine a provoqué une diminution de l'agrégation plaquettaire au collagène de $43,4 \pm 17,5$ à $27, 6 \pm 16,8$. Le temps de transit moyen des érythrocytes traversant des pores de faible diamètre d'un filtre oligopore a baissé de $1,27 \pm 0,08$ ms à $1,15 \pm 0,11$ ms. Ainsi la déformabilité érythrocytaire des globules rouges incubés avec le dihydroxyphényléthanol ou l'oleuropéine a été significativement augmentée. La production d'alcanes, pentane et éthane,

témoins d'une peroxydation des acides gras cellulaires, a baissé en présence du dihydroxyphényléthanol et de l'oleuropéine.

Par ailleurs, Toutefois, il faut signaler qu'il y avait d'autres composés doués aussi de cette activité, tels que les glycoprotéines, les coumarines (**Zhou et al., 2009**), quelques tannins (**Bae, 2011**) et les polysaccharides (**Youmbai, 2015**). De ce fait, ces études donnent espoir pour le développement des suppléments alimentaires qui contribuent à la prévention des thromboses.

Les polyphénols de l'olivier peuvent contribuer à réduire le risque de thrombose, en diminuant l'hyper agrégabilité des plaquettes et en augmentant la déformabilité des érythrocytes, et celui de l'athérosclérose en réduisant la susceptibilité à la peroxydation des acides gras polyinsaturés (**Driss et al., 1996**).

4- Evaluation de l'activité antibactérienne des fruits de l'olivier

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits des fruits de quatre variétés de l'olivier, (Dathier, Sigoise Rougette, Chemlel). vis-à-vis des cinq souches pathogènes *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium* sont résumés dans le tableau (XXXI)

Tableaux XXXI : Diamètres des zones d'inhibition des extraits méthanolique des fruits de quatre variétés d'olivier (Chemlel, Rougette, Sigoise, Dathier)

Les souches	D					Témoins	
		Chem	Roug	Sig	Dath	(-)	(+)
<i>p. aeruginosa</i>	100 %	10.6	6.3	6.5	15	DMSO	Gn
	50%	9.25	-	-	16.25	-	22.5
	25%	-	66	6.6	16		
<i>S. aureus</i>	100 %	15.66	7.73	14.50	9.33	DMSO	Gn
	50%	13.69	6.72	6.77	7.09	-	21.28
	25%	12.68	-	6.04	-		
<i>S. typhimurium</i>	100 %	-	-	10.28	6.36	DMSO	Gn
	50%	-	-	7.40	-	-	20.60
	25%	-	-	6.31	7.87		
<i>E. coli</i>	100 %	7	6.53	6.36	6.38	DMSO	Gn
	50%	11.62	7.2	11	6.87	-	16.47
	25%	9.8	7.12	10	6.20		
<i>Klebsiella. pneumoniae</i>	100 %	6.34	6.55	6.5	9.75	DMSO	Gn
	50%	6.64	6.07	-7.2	11.3	-	16.30
	25%	-	7.60	-	9.87		

Les extraits méthanolique de l'olivier *Olea europae* L. (Chemlel, Sigoise, Dathier, et Rougette), sont testés sur cinq souches bactériennes gram (-) et (+) *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium*. On a observé que les différents types de souches réagissent différemment aux extraits étudiés.

Nous avons remarqué un bon pouvoir antibactérien contre *S. aureus* chez la variété Chemlel, dilution 100% avec zone d'inhibition de (15.66 mm), cependant elle n'a pas montré un effet antibactérien faible avec les dilutions 50%, 25%, les zones sont de (13.69 et 12.68mm) respectivement.

S. aureus semble également sensible à l'extrait méthanolique de la variété Sigoise, une zone inhibition de (14.50 mm) est enregistrée avec la concentration 100%, mais l'extrait a montré un effet antibactérien faible avec les dilutions 50%, 25%, avec des zones de (6.77 et 6.04 mm) respectivement.

L'extrait méthanolique 50% de toutes les variétés ont montré un pouvoir important, par rapport à la dilution 100% contre la souche *E. coli*, Chemlel avait le pouvoir antibactérien le plus important par rapport aux autre extraits avec une zone d'inhibition de (11.62mm) suivie par Sigoise (11mm) et finalement les deux extrais Rougette et Dathier avec les zone (7.2 et 6.87mm)

Pour Dathier nous avons remarqué que la dilution 50% a un pouvoir antibactérien très important contre *p. aeruginosa* et *Klebsiella. Pneumoniae* avec des zones de (16.25 et 11.3 mm) respectivement.

p. aeruginosa également a montré une sensibilité aux extraits méthanolique des fruits de la variété Chemlel 100% avec une zone importante (10.6 mm). Elle a montré une certaine résistance aux extraits des fruits des deux variétés Sigoise et Rougette avec des zones qui varient entre (6.3 et 6.6 mm).

Les résultats des tests contre *S. typhimurium* montrent une activité antibactérienne importante de l'extrait méthanolique de la variété Sigoise, dilution 100%, avec un diamètre de (10,28mm), et de (7.40mm) pour la dilution 50%, et un faible pouvoir pour la dilution 25% (6.31mm). Alors que la variété Dathier a montré un effet moins important, avec des

diamètres qui varient entre (6,36 et 7.87mm). Chemlel et Rougette n'ont aucun effet antibactérien, aucune zone d'inhibition contre *S. typhimurium* n'a été signalée.

Si on compare les zones inhibitrices des différents extraits méthanoliques des fruits des quatre variétés d'étude, on peut classer les deux fruits Dathier et Chemlel comme des antibiotiques alimentaires, vue que les zones sont proches des zones de l'antibiotique Gn Dathier a monté un effet important contre *p. aerugenosa* (16.25mm) et le GN (22.5mm), et également contre *Klebsiella. Pneumoniae* (11.3 mm), et le GN (16.30mm), pour la variété Chemlel des zones importantes contre les deux souches *E .coli* et *S. aureus* (11.62 et 15.66mm) et respectivement pour Gentamicine (16.30 et 21.28mm).figure (37)

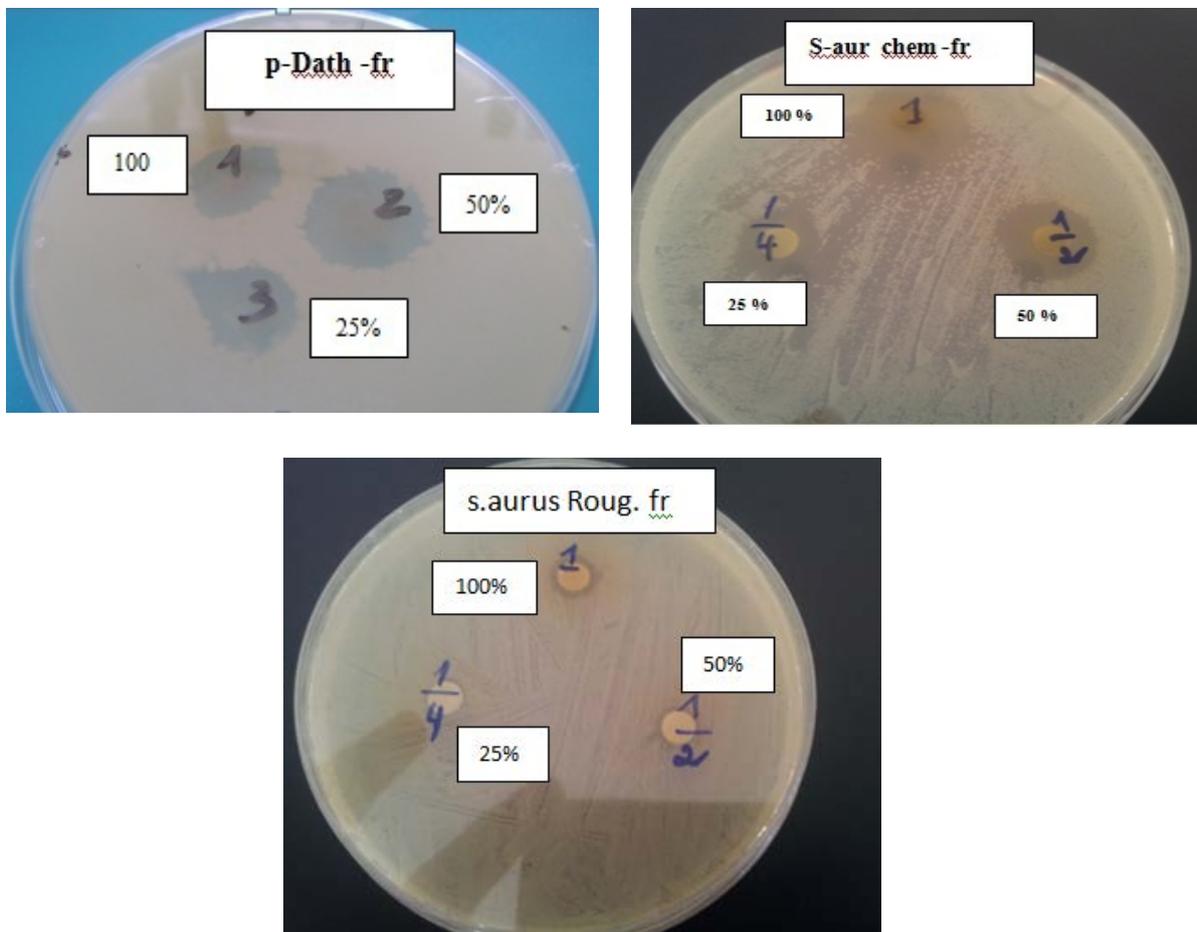


Figure N° 37 : Pouvoir antibactériennes des extraits des fruits contre les souches d'études

5- Evaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de l'olivier

Les extraits méthanolique des feuilles d'*Olea europaea* L. (Chemlel, Sigoise, Dathier, et Rougette), sont testés sur cinq souches bactériennes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium*. Nous avons observé que les différents types de souches réagissent différemment aux extraits étudiés tableau (XXXII)

Tableau XXXII : Diamètres des zones d'inhibition (mm) induites par les quatre variétés de l'olivier (feuilles) et l'antibiotique (Gentamicine).

Les souches	Variétés						Témoin	
		Chem	Rgt	Sig	Dath	CV	(-)	(+)
<i>p. aeruginosa</i>	100%	7	9.25	8.12	8	7,32		
	50%	6.87	7.25	8	6.5	6,56		35
	25%	6.37	6.5	7.75	6.62	6,90	-	
<i>S. aureus</i>	100%	15.66	19.59	18.65	17.49	7,12		
	50%	13.69	12.82	14.38	12.23	5,68	-	21.28
	25%	12.68	9.49	11.96	8.93	14,44		
<i>S. typhimurium</i>	100%	-	-	10.28	-	22,70		
	50%	-	-	7.40	-	8,26	-	20.60
	25%	-	-	6.31	-	1,91		
<i>E. coli</i>	100%	6.12	6.5	6.87	6.75	3,81		
	50%	-	6.12	6.76	6.12	4,08	-	16.47
	25%	-	-	-	-	0		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100%	7.75	7.75	6.5	11.62	19,64		
	50%	7.75	6.75	6.37	10.75	17,99		
	25%	6.62	7.00	6.25	7.7	6,63	-	16.30

Concernant les *S.aureus*, elles s'avèrent sensible à toutes les extraits et dilutions. La Rougette montre le pouvoir antimicrobien le plus important, avec une zone de (19.59mm dilution 100%), tandis que les dilutions 50% et 25% ont donné des zones moins importantes, avec des diamètres 12.82 et 9.49 mm respectivement. Également des fortes zones d'inhibition de 18.65, 14.38 et 11.96mm sont enregistrés avec Sigoise pour les trois dilutions 100% et 50% et 25% respectivement.

Klebsiella. Pneumoniae a montré une sensibilité aux différents extraits et concentrations, et la zone d'inhibition la plus importante est enregistrée avec l'extrait méthanolique de la variété Dathier 100% avec une zone de 11.62 mm, pour le reste des extraits, la sensibilité de cette souche est moins importante avec des zone qui varient entre 6.25 et 7.75 mm.

Pour la souche *p. aerugenosa* nous avons remarqué qu'elle est moins sensible aux extraits méthanolique des quatre variétés (Chemlel, Dathier, Sigoise et Rougette), des zones d'inhibition varient de 6.5 a 9.25mm, sont enregistrées avec les trois dilutions 100%, 50% et 25%, le pouvoir le plus important est signalé avec la variété Chemlel 100%.

En effet, *S. typhimurium* est totalement résistant aux extraits des trois variétés (Chemlel, Dathier et Rougette), quelque soit la concentration appliquée. Sigoise a un effet antibactérien important sur la souche *S .typhimurium*, la plus grande zone d'inhibition (10,28 mm) est enregistrée avec la dilution 100%, et 7.40 et 6,31mm pour les dilutions 50% et 25% respectivement.

E. coli a montré une résistance vers tous les extraits méthanoliques des quatre variétés, des zones d'inhibition inférieur à 6.87 sont enregistrées avec toutes les concentrations 100%, 50% et 25%. (Figure38)

Si on compare les zones inhibitrices des différents extraits méthanoliques des feuilles des quatre variétés d'étude, on peut classer les quatre variétés Dathier, Chemlel, Rougette et Sigoise comme des antibiotiques alimentaires contre la souche *S. aureus* vue que les zones sont proches aux zones de l'antibiotique GN 21.28mm. Dathier a montré un effet important contre *Klebsiella. Pneumoniae* (11.62mm) et le GN (16.30mm), pour la variété Sigoise une zone importante contre *S .typhi* (10.28mm) par rapport au Gentamicine (20.60mm). Les fruits de l'olivier ont des effets antibactériens sur les cinq souches important.

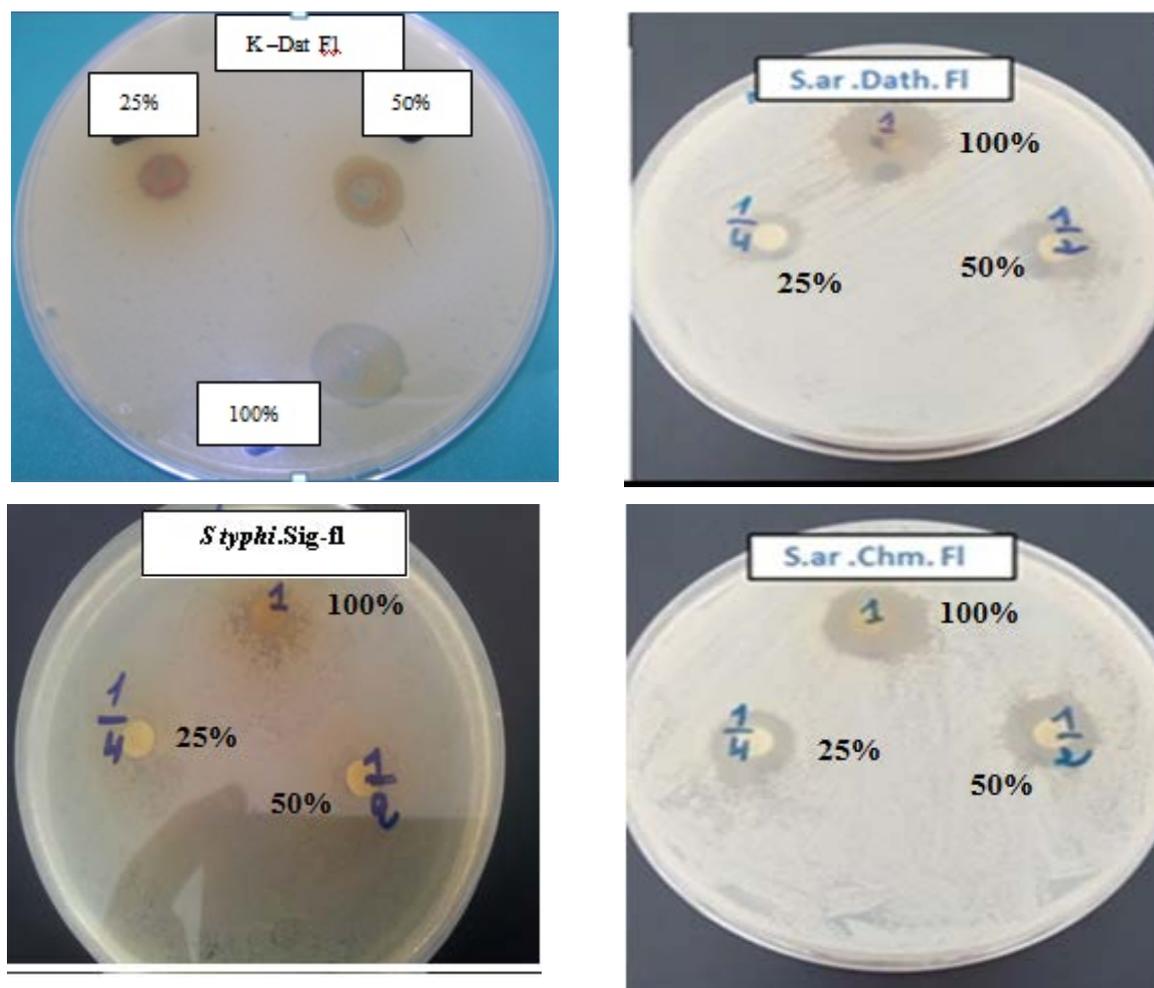


Figure N° 38 : pouvoir antibactériennes des extraits des feuilles contre les souches d'études

❖ Discussion activité antibactériennes

D'après ces résultats, l'action antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour de disque. On remarque que le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon la variété d'olivier feuilles ou fruits, la concentration appliquée et le type de bactérie testée.

Les effets antimicrobiens des polyphénols issus de l'olive, et les feuilles de l'olivier ont été le sujet de différentes recherches qui confirment l'effet antimicrobien des polyphénols. Il a été établi que les polyphénols contenus dans l'olive, l'huile d'olive et feuilles d'olivier, empêchent ou retardent le taux de croissance d'une gamme de bactéries (**Bisignano et al., 1999**).

Selon **Cowan (1999)**, les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. Une étude de **Nahal Boudierba et al.(2012)** sur l'activité antibactérienne des feuilles d'olivier sauvage en Algérie, ils ont réalisé deux extraits différentes (brute et aqueuse), ils ont trouvé des zones avec l'extrait brute contre *E.coli* (15,3mm), *K.pneumoniae* (11,7mm), *P.aeruginosa* (13,3mm), *S.aureus* (9mm), alors que l'extrait aqueuse les zones d'inhibitions sont de (6,67mm) avec *E.coli*, *K.pneumoniae* (19,03mm), *P.aeruginosa* (25,01mm) *S.aureus* (9,88mm). Nos extraits ont montré des zones d'inhibition moins importantes aux ceux de (**Nahal Boudierba et al., 2012**), sauf la souche *S. aureus*, cette différence est logique vue que l'oléastre est une plante très riche en polyphénols par rapport au *Olea europaea* L. Dans autres études effectuées par (**Pereira et al., 2007; Sudjana et al., 2008; Djenane et al., 2012**), ils ont déterminé que les feuilles d'olivier ont possèdè une forte activité antibactérienne contre *S. aureus*, ce qui confirment nos résultats. Dans des études réalisés sur les feuilles de l'*Olea europaea*.L par (**Altaf et al., 2014; Salem et Ashok, 2012; Tassou et Nychas, 1994**), ils ont trouvé que les deux souches bactériennes *E.coli*, et *S. typhimurium* sont résistantes avec tous les extraits des feuilles et fruits de l'olivier. Ces résultats confirment la résistance des ces souches aux différentes concentrations de nos extraits. Selon **Bennis et Chami (2004)**, les polyphénols notamment les tannins et les flavonoïdes comme l'epigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercitine, et lalutéoline, sont des substances antibactériennes importantes. Les polyphénols sont en fait capables d'engendrer des dégâts irréversibles au niveau de la membrane.

Selon (**Esmail et al. (2015)**) les bactéries à Gram- positif notamment *S. aureus*, ont montré une sensibilité légèrement supérieure aux extraits d'*Olea europaea* avec une zone d'inhibition de (23 mm de diamètre) par rapport aux bactéries à Gram-négatif telle que *E.coli* (15mm), *K.pneumoniae* (22mm), *Acinetobacter sp* (20mm) et *P.aeruginosa* (19mm) de diamètre. Ces résultats confirment que nos extraits étaient efficaces contre la souche *S.aureus*.

Nos résultats sont différent de ceux de (**Nahal Boudierba et al., 2012; Ilias et al., 2012; Salem et Ashok, 2012; Altaf et al., 2014**) qui ont révélé le pouvoir antibactérienne le plus important et efficace chez les bactéries à gram-négatif. La Raison de la sensibilité et la résistance des bactéries est liée au nature de la membrane externe, les bactéries à Gram-

négatif sont entourées avec une membrane externe qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharide (impermeabilité des solutions lipophiles), ce qui constituent une barrière sélective de ces solutions (Nikaido et Vaara, 1985). Les bactéries à Gram-positives devraient être plus sensibles car ils présentent seulement une couche externe peptidoglycane, qui ne constitue pas une barrière de perméabilité efficace (Scherrer et Gerhardt, 1971), donc l'extrait à des propriétés hydrophiles et il peut pénétrer à l'intérieur des cellules bactériennes. Il pourrait y avoir une autre possibilité c'est que l'extrait peut réussir à inhiber la respiration microbienne et augmenter la perméabilité de la membrane plasmique, ce qui se traduit par la mort des cellules bactériennes après un contact massif avec l'extrait, il peut également se produire, en raison de la nature hydrophile de la paroi cellulaire des bactéries (Knobloch et al., 1986). En ce qui concerne la sensibilité des souches vis-à-vis l'antibiotique (Gentamicine) et le DMSO, les résultats rapportent les valeurs en mm des zones d'inhibitions manifestées par l'antibiotique (Gentamicine) sur les différentes souches étudiées. La souche de *S.aureus* se révèle la plus sensible pour la Gentamicine, tandis que la souche de *S. typhimurium* est plus sensible que les souches *E.coli* et *K.pneumoniae*. Selon les résultats de (Khaleel Ibrahim et Mohammd Mahdi, 2014), l'activité antibactérienne de la Gentamicine sur les souches *E.coli*, *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae* *S.aureus* sont (12 mm, 14 mm, 13 mm, 16 mm) successivement, ces résultats sont inférieurs nos résultats.

*Discussion
générale*

V- Discussion générale

Les plantes réagissent dans leurs milieux de culture par un ensemble des modifications morphologiques, anatomiques, physiologiques et biochimiques, ce qui permet le maintien de la croissance, du développement et de la production (Li et al., 2003a ; Li et al., 2003b ; Denden et al., 2005). Ces réponses varient au sein des populations et des génotypes provenant des régions climatiques différentes (Li et al., 2003c).

Le comportement morphologique et physiologique des plantes dans leurs milieux dépend des conditions endogènes et exogènes (en particulier, le rythme de production des nœuds, et des feuilles et leurs expansions, la croissance primaire (élongation des entre-nœuds) et secondaire (épaississement des pousses) des pousses et l'extension du système racinaire sont affectés par la disponibilité de l'eau et la température (Bongi et Palliotti, 1994 ; Michelakis, 1995). Selon Masmoudi-Charfi et al. (2015) l'allongement des pousses et feuilles est positivement corrélé aux quantités des pluies printanières de l'année précédant, alors que la longueur finale des rameaux est corrélée aux quantités de pluies reçues durant l'été ainsi qu'aux températures maximales et minimales.

Une différence entre tous les paramètres morphologiques de nos variétés, peut être expliquée par la différence génétique entre les cultivars, Fontanazza et Baldoni (1990, in Halfaoui et Kana, 2002) ont signalé l'importance des fruits et noyaux pour l'identification génétique.

La couleur du fruit de nos variétés se diffère du vert au noir et Selon (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006) une bonne corrélation $r=0.84$ a été signalé entre le brunissement de l'olive et la teneur en Oleuropeine.

Selon Sarni-Manchado et Cheynier (2006) les composés phénoliques ont été impliqués depuis longtemps dans différents domaines de la physiologie de la plante et dans les relations avec l'environnement physicochimique et biologique.

La nature et la stabilité des polyphénols sont liées au pH de la cellule. Vamos-Vigyazo (1981) a montré que les polyphénols ont un optimum de pH généralement entre pH 4 et pH 7 et le pH de nos feuilles et fruits et dans cette intervalle.

Selon **Guinard (2000)**, les métabolites secondaires sont des outils de coévolution plantes-être vivants, plus de 30000 structures ont été caractérisées. Ces structures ont des relations avec les trois classes des métabolites primaires qui ont des aspects médicinaux, le screening phytochimique a montré la présence des flavonoïdes doués d'activités antitumorales, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antioxydantes, antiallergiques, anti-ulcéreuses, antivirales, antimicrobiennes, hypotenseurs, diurétiques, des acides phénols qui ont des activités antifongiques, antioxydantes, antibactériennes, des tanins avec leurs effets stabilisants sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, antiseptique, effet vasoconstricteur, les coumarines qui ont des activités anticoagulantes, antioxydantes, protectrices vasculaires et antioedémateuses (**Bruneton, 1999; Balasundram et al., 2006; Hennebelle, 2007; Li et al., 2007; Habauzit et Horcajada, 2008; Bondia-Pons et al., 2009; Gresele et al., 2011**).

L'identification quantitative et qualitative des extraits des quatre variétés ont montré que l'Oleuropéine est le composé majoritaire des feuilles et fruits d'olivier. **Briante et al., (2002)** ont comparé les teneurs en Oleuropéine dans les fruits et feuilles d'olivier de différentes variétés, ces travaux montrent que les feuilles sont plus riches en Oleuropéine que les fruits, pour certaines variétés.

Enormément de travaux ont étudié le rôle thérapeutique de l'Oleuropéine et de ses mécanismes d'action. Des recherches scientifiques poussées ont prouvé que l'Oleuropéine possède une activité antioxydante (**Visioli et al., 1994; Coni et al., 2000; Benavente-Garcia et al., 2000**), antimicrobienne (**Bisignano et al., 1999**), anti-inflammatoire (**Puel et al., 2006**), hypoglycémique (**Al Azzawie et Alhamdani, 2006**), hypotensive (**Panizzi, 1960**), hypolipidémique (**Andreadou et al., 2006**), anti-mycoplasmal (**Furneri et al., 2002**), immunomodulateur (**Giamarellos-Bourboulis et al., 2006**).

*Conclusion générale
et perspectives*

Conclusion générale et perspectives

La culture de l'olivier a toujours fait partie intégrante de notre paysage environnemental, depuis des milliers d'années, et si elle a pu résister jusqu'à nos jours, c'est grâce à sa grande diversité, qui lui a permis d'échapper aux effets contraignants des facteurs environnementaux et humains.

La présente étude a été entreprise pour valider les différences morphologiques phénologiques, physiologique et biochimique de l'olivier (*Olea europaea* L.) des quatre variétés Sigoise, Chemlel, Dathier et Rougette cultivées dans la station Maazouzi Lakhdar (Mila).

La caractérisation morphologique sur la base des paramètres quantitatifs et qualitatifs des feuilles, fruits et des noyaux de quatre variétés a montré une différence inter-variétale en termes des longueurs, largeurs et des poids et qui a bien prouvé la richesse du patrimoine oléicole de Mila et en particulier dans la station Maazouzi .

Les effets des conditions climatiques sur la morphologie et plus spécifique sur les paramètres du fruit et du noyau apparaissent par la comparaison inter-cultivars. Ils sont hautement significatifs, ainsi qu'une grande variabilité du matériel végétal étudié.

La caractérisation morphologique des cultivars de l'olivier a montré la richesse de ce patrimoine ainsi que l'existence d'une variété inconnue non encore enregistrés dans le catalogue national des variétés, la variété Dathier. L'étude morphologique des feuilles et fruits de l'olivier montre des différences entre les quatre variétés étudiées de point de vue qualitatif.

La présente étude nous a permis d'expliquer certains aspects de phénophase dans l'olivier. Il semble évident que la période de floraison des différentes variétés est liée aux divers facteurs endogènes et exogènes, les facteurs endogènes sont ceux du comportement de chaque variété aux données de culture, et l'exogènes sont liées aux conditions climatiques. Ce comportement différentiel des quatre variétés semble indiquer une stratégie spécifique de chaque variété qui établit un équilibre interne vis-à-vis du milieu environnant

Les résultats de la teneur en eau montrent une variation remarquable entre les quatre variétés de l'olivier, les pulpes d'olive possèdent une teneur très élevée en eau. En comparant

la teneur en eau des quatre variétés, on observe que la variété Chemlel présente une dominance dans les valeurs moyennes de teneur en eau feuilles, pulpes et noyaux.

Pour les valeurs du pH, nous avons remarqué que les pH des feuilles sont plus élevées que celles des fruits, dont les valeurs du pH des fruits varient entre 6,03 à 6,42, alors que les valeurs du pH des feuilles varient entre 6,2 à 6,5, il ressort que les feuilles et fruits d'olivier possèdent un pH légèrement acide.

Les résultats de l'étude chimique ont révélé existence d'une différence très importante entre les quatre variétés, dans la teneur en composant de métabolites primaire, la variété la plus riche en lipides été la Sigoise feuilles et fruits respectivement 14.65% et 90.5%MS, également les feuilles de Rougette ont été les plus riche en sucre 46.70%MS et les fruits de Chemlel 62.35% MS.

L'analyse qualitative réalisé par un screening phytochimique a montré la présence de plusieurs familles des composés naturelles, comme les flavonoïdes, les coumarines, les tanins, les glycosides, les saponosides les triterpènes et stéroïdes, et les anthraquinones, par contre, les tests de recherche de dérivés des alcaloïdes et des anthocyanes ont été négatifs.

Pour le dosage des phénols totaux la Rougette donne la teneur la plus élevée pour les feuilles aussi pour les fruits (78,75µg EAG/mg MS) et (45,5µg EAG/mg MS) respectivement. Les teneurs maximaux en flavonoïdes dans les feuilles et fruits sont enregistrés chez Rougette respectivement (76,75µg EQ/mg MS) et (43,5µg EQ/mg MS). La teneur maximal en tanin est enregistré chez la variété Dathier feuilles et fruits.

Les résultats des analyses quantitatives des composés identifiés dans les extraits hydrométhanolique des fruits d'olivier a permis d'identifier trois composés phénoliques , l'acide gallique ,oleuropéine et acide caféique, et un acide organique l' acide fumarique .

Pour les feuilles , les analyses quantitatives ont permis d'identifier six composés phénoliques (acide gallique ,oleuropéine , acide 4- hydroxybenzoïque , acide caféique ,acide éllagique et l'acide t-3 hidroxycinamique) et un acide organique l'acide fumarique, avec une dominance d' oleuropéine dans les deux organes (feuille et fruits) chez les quatre variétés.

Les extraits méthanolique des feuilles et fruits de quatre variétés de l'olivier Sigoise, Rougette, Chemlel, et Dathier ont une activité antioxydante importante, et ils sont capables

de piéger le radical DPPH *In vitro*, les valeurs de EC₅₀ sont extrêmement diverses, dont cette activité est plus importante chez les variétés Sigoise fruit, et Rougette feuilles.

L'activité anticoagulante des extraits polyphénoliques des feuilles et des fruits d'olivier a été évaluée *in vitro* en utilisant le test du temps de Quick (TQ). Les valeurs de temps de coagulation montrent une activité anticoagulante surprenante sur la voie exogène de la coagulation, dont cette activité est plus marquée chez la variété Chemlel.

Le pouvoir antibactérien des extraits a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur cinq souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella typhimurium*). Nous avons révélé que le pouvoir antibactérien le plus important et efficace est chez les bactéries à gram-négatif, un bon pouvoir antibactérien contre *S. aureus* avec tous les variétés et les concentrations pour les deux organes feuilles et fruits est signalé.

En fin, nous pouvons dire que cette étude est l'une de très peu travaux qui regroupent les différents comportements biologiques, biochimiques et physiologiques des variétés dans son environnements, Comme perspective à cette partie de thèse il serait intéressant de continuer ces études sur les feuille, fruits, noyaux également les rameaux, tout en incluant différents variables (tel que : le temps de collecte des organes d'olivier, l'âge des organes et des arbres, l'âge des, les conditions climatiques, l'origine géographique...). Cette étude plus approfondie est indispensable pour une amélioration variétale

Pour les résultats des activités biologiques de la présente thèse, concernant l'activité antioxydante, antibactérienne et anticoagulante, ils sont encourageants. Cependant, ils restent préliminaires et nécessitent d'encourager des études complémentaires et approfondies. Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Des études *in vivo* seront souhaitables pour l'évaluation des activités anticoagulantes et antiplaquettaires antioxydante et antibactériennes des extraits polyphénoliques des feuilles et fruits d'olivier.
- Etudier d'autre activité biologique *in vitro* et *in vivo*.

Références
bibliographiques

A

Abaza L , ben yousef N, manai H, mahjoub haddadaF, methenni k, zarrouk M (2011). Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites*, Vol 62, No 1 96-104.

Abaza L, Talorete TP, Yamada P, Kurita Y, Zarrouk M, et al. (2007). Induction of Growth Inhibition and Differentiation of Human Leukemia HL-60 Cells by Tunisian Gerboui Olive Leaf Extract. *Biosci Biotechnol Biochem* 71 .P 1306-1312.

Abdulgari C. et Ayson O (1994) Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Revue Olivae* n°52. PP:18-24.

Ahmim M. (2006). L'Olivier l'arbre beni. *Nature et biodiversité Algérienne*, *Populus* n°23672.

Al-Azzawie, H.F., Alhamdani, M.S (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci.* 78(12), 1371-1377.

Al-Enazi M.M, Rahiman S, El- Bahrawy A. Z. , Tantry B.A (2015). Antioxidant Modulating effect of *Olea europaea* leaf Extract on Superoxide dismutase (SOD) Activity in Streptozotocin induced diabetes. *Adv. Biores.*, Vol 6 (1) January 2015: 19-24 ©2015 Society of Education, India Print ISSN 0976-4585; Online ISSN 2277-1573.

Allain P (2008). Médicaments et coagulation. *Les médicaments*, 3ème édition CDM. 500 pp.

Al-Ruqaie, N.S. Al-Khalifah, A.E. Shanavaskhan . (2015). Morphological cladistic analysis of eight popular Olive (*Olea europaea* L.) cultivars grown in Saudi Arabia using Numerical Taxonomic System for personal computer to detect phyletic relationship and their proximate fruit composition . *Saudi Journal of Biological Sciences* (2015).

Altaf H, Iqbal A, Rabia L, Saeed A, Irum A, Ikram U et Zabta K.,2014. Antimicrobial potential of leaf and fruit extracts and oils of wild and cultivated edible olive. *Pak. J. Bot.*, 46(4): 1463-1468, 2014.

Altıok E, Bayçın D , Bayraktar O , Ülku S (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin *Separation and Purification Technology* 62 ,342–348.

Amoreux P (1784). Traité de l'olivier A Montpellier, chez la Veuve Gontier, libraire à la Loge, p356.

Amugues S. (1993). Héophraste, Recherches sur les plantes .Trad .Coll.Université de France .Paris : Les Belles Lettres, In : De l'olivier à L'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europaea* L. dans le Bassin méditerranéen Breton C, Medial F, Pinatel C, Berville A ., 2006.

Andreadou, I., Iliodromitis, E.K., Mikros, E., Constantinou, M., Agalias, A., Magiatis, P., Skaltsounis,A.L., Kamber, E., Tsantili-Kakoulidou, A., Kremastinos, D.T (2006). The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr.*, 136(8) : 2213-2219.

Andrews P., Busch J. L. C. H., Joode T. D., Groenewegen A. & Alexandre H (2003) Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside agglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*51 (5) pp 1415-1420.

Aouidi F ,Perraud-Gaime I ,Roussos S, Hamdim M (2009). Etude de la répartition quantitative des phénols totaux dans l'olivier en fonction des organes et leur degré de maturité. *Olivebioteq* 2009.376-379.

Argenson C, Regis S, Jourdain J.M, Vaysse P (1999). L'olivier. Edis .Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, p204.

Argenson C, Regis S, Jourdain J.M, Vaysse P (1999). Oléagineux Corps gras Lipids, 6, P80-83.

Argenson L (1999) . L'olivier dans le monde, Edition Luis Gérard,p55

Arslan D, Ozcan M.M (2011). Phenolic profile and antioxidant activity of oliv fruits of the Turkish variety “Sariulak ” from different locations.*grasas y aceites* 62(10);453-461.

Atefeibu E.S.I. (2002). Contribution a l'étude des tanins et de l'activité antibacterienne d'Acacia Nilotica Var Andesonii .Thèse de Doctorat, université cheikh Anta Diop de Dakar.33p

Athukorala,Y., Lee, KW., Kim, SK., Jeon, Y.J. (2007). Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea.*Bioresource Technology*, **98**: 1711–1716.

Aubry P et Halna du Fretay X (2010). Traitements antithrombotiques du syndrome coronarien aigu avec sus-décalage ST. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 59: 335-343.

Audigie C.L, 1978. Manipulation d'analyse biochimique. Ed Doin. Paris, p: 27-74.

Ben Salah M , Hafedh A et Manef A (2012). Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. *Med chem* 2012, 2:5.

B

Babu P.V.A, Liu D, Gilbert E.R (2013). Recent advances in understanding the antidiabetic actions of dietary flavonoids. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24:P1777– 1789.

Baccouri B, Zarrouk W, Baccouri O, Guerfel M, Nouairi I, Krichene D, Daoud D et Zarrouk M (2008). Composition, quality and oxidative stability of virgin olive oils from some selected wild olives (*Olea europaea* L. subsp. Oleaster). *GRASAS Y ACEITES*, 59 (4), OCTUBRE-DICIEMBRE, 346-351, 208, ISSN: 0017-3495.

Baccouri B, Zarrouk W, Krichene D, Nouairi I, Ben Youssef N, Daoud D, Zarrouk M., 2007. Influence of fruit ripening and Crop yield on chemical properties of virgin olive oils from seven selected oleasters (*Olea europaea* L.). *J. Agro.* 6 (3); P 388-396.

Bae, J-S . (2011).Antithrombotic and profibrinolytic activities of phloroglucinol. *Food and Chemical Toxicology*, **49** :1572–1577.

Bahorun T (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research council Mauritiias.* p83-94.

Baker I.A (2014). Investigation on Antimicrobial and Antioxidant Effect of Olive Leaf Extract in Karadi Sheep Meat During Storage. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* ISSN 2224-3208 (Paper) ISSN 2225-093X Vol.4, No.9, 2014.

Balatsouras G, Brighigna A, Doutsias G et Fernandez A.G (1997). Encyclopédie Mondiale de l'Olivier (COI). Edition Madrid, Espagne. P: 309.

Balatsouras G.D (1966). The chemical composition of the brine of stored Greek black olives. *Grasas y Aceites* p 17, 83-88.

Baldi, A., Romani, A. Tatti, S., Mulinacci, N., Vincieri, F.F(1995). HPLC analysis of polyphenolic compounds present in *Olea europaea L. (cv. Leccino)*. *Colloq. Inst. Natl. Rech. Agron.*, 69 (Polyphenols 94), 269-270.

Baldini E. et Scaramuzzi F (1963). Les cultivars. Dans "Les olives de table" Edagricole, eds. pp 61-111.

Barranco D, Rallo L (2005). Epocas de Floracido y Maduracion. Chap.5. in variedades d'olivo en Espana (Libro II). Junta de Andalucia (MAPA) Ed. Munidi-Prensa / Madrid.

Bartels A (1997). Guide des plantes du bassin méditerranéen, Paris, Eugenulmer, p400. 20-20.

Batty P et Smith G (2010). Anticoagulation. *Surgery*, 28 (6): 243-247.

Bauer A. W, Kirby W. M, Sheris J. C et Turck M (1966). "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method." *AM. J. Clin. Pathol.*

Bayram B, Esatbeyoglu T, Schulze N, Ozcelik B, Frank J, et . Rimbach G (2012). Comprehensive analysis of polyphenols in 55 Extra virgin olive oils by HPLC-ECD and their correlation with antioxidant activities," *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 67, no. 4, pp. 326–336.

Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H. and Ehilé E.E (2007). Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2): P 217-225.

Ben Amar F ,Ben Maachia S ., Yengui A (2014) diversité m orpho-pomologique de l’olivier (*Olea europea* L.) dans les oasis de Dégache (Tozeur ,Tunisie) revue des ragions Arides 12/2014 ;35(3) :307-311.

Ben Maachia S ., Ben Amar F ,(2016).Prospection, morphological and pomological identification of olive ecotypes (*Olea europea* L.)in the Dégache (Tozeur ,Tunisie) volume 33(2) published September ,01.2016.www.jnsiences.orgE-ISSN2286-5314.

Ben Saleh M,Hafedh A, Manef A (2012) study of phenolic Composition and biological activities assessment of olive leaves from different varieties grown in Tunisia Med chem. 2012.2:5.

Ben Slimen N, I et Kechaou N (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. Industrial crops and products, 29: 412-419.

Ben Temime S, Campeol E, Cioni P.L, Daoud D et Zarrouk M (2006). Volatile compounds from Chetoui olive oil and variations induced by growing area. Edition Food Chemistry, 99: 315–325.

Benavente-Garcia, O, Castillo, J, Marin, F. R, Ortuno, A, Del Rio, J (1997). Uses and properties of Citrus flavonoïds. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*45,P 4505-4515.

Benhayoun G et Lazzeri Y (2007). L'olivier en Méditerranée: du symbole à l'économie. Editions Harmattan. Paris, P: 17.

Bennis S.S et Chami F. S (2004). Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology*, 38 : p454 – 458.

Benrachou N (2013). Etude des caractéristiques physicochimiques et de la composition biochimique d’huiles d’olive issues de trois cultivars de l’Est algérien, thèse de doctorat en biochimie appliquée, Annaba. P 1

Benwqhi K (2001).Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon Dactylon L chiendent, mémoire de magister. Université d’Ouargla. P15 – 17.

Berrin B, Goksel T, Derya O (2008). Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxydant activity. *Food chemistry* , 209, 426-430.

Besnard G, Breton C, Baradat P, Khadari B, Bervillé A (2001).Cultivar identification in the olive (*Olea europaea* L.) based on RAPDS. *J Amer Hort Science* 2001b; 126:668

Besnard G., Khadari B., Baradat P., Berville A (2002). *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theor. Appl.Genet*, 104: 1353-1361.

Besnard G ; Baradat P ; Breton C ; Khadari B ; Berville A (2000). Olive domestication from structure of oleasters and cultivars using nuclear RAPDs and mitochondrial RFLPs. Genetics selection evolution ISSN 0999-193X Colloque national BRG/Conservatoire du patrimoine biologique régional de Midi-Pyrénées, Toulouse , FRANCE (09/10/2000) 2001, vol. 33, SUP1 (572 p.) (34 ref.), pp. S251-S268.

Biesaga M (2011). Influence of extraction method of stability of flavonoides “*journal of chromatography A* 1218(8) 2505:2512.

Bisignano, G., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Crisafi, G., Uccella, N., Saija, A (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Pharm Pharmacol*, 51(8), 971-974.

Blois, M.S (1958): Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, pp 1199-1200.

Boisseau M.R (1996). Données actuelles sur l'hémostase. *Phlébologie*, 42 (2) : 175 – 186.

Boizot N et Charpentier J-P (2006).Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des Techniques de l'Inra*. P79-82.

Bondia-Pons I, Aura A.M, Vuorela S, Kolehmainen M, Boudhrioua N, Bahloul N, Ben Slimen I et Kechaou N(2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products*, 29: 412-419.

Bongi G., Palliotti A (1994) . Olive. In: Handbook of environmental physiology of fruit crops. Vol. I. Temperature Crops. Schaffe B., and Andersen P.C. Eds. CRC Press Inc., Boca Raton Florida USA. Pp.165-187.

Bonofiglio .T , Orland F , Sgromo C . Romano. B, Fornaciari. M (2008). Influence of temperature and rainfall on timing of olive (*Olea europaea*) flowering in southern Italy. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 2008, Vol. 36: 59—69.

Boskou G., Salta F.N., Chrysostomou S., Mylona A., Chiou A (2006). Andrikopoulos N.K. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market. *Food Chemistry* 94, (2006) 558-564.

Bouaziz, M., Sayadi, S., (2003). Hight yield extraction of oleuropein from chemlali olives and leaves and bioconversion to hydroxytyrosol. *Polyphénols actualités*, 23, 11-15.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., Kechaou, N. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *industrial crops and products*, 29, 412– 419.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Kouhila, M., Nabil, K. (2008a) . Sorptions isotherms and isosteric heats of sorption of olive leaves (Chemlali variety): Experimental and mathematical investigations. *Food and Bioproducts Processing*, 86, 167-175.

Boudhrioua, N., Kouhila, M., Kechaou, N., (2008b). Experimental and mathematical investigations of convective solar drying of four varieties of olive leaves. *Food and Bioproducts Processing*, 86, 176- 184.

Boulouha B (1995) Contribution à l'amélioration de la productivité et de la régularité de production chez l'olivier (*Olea europaea* L.) « Picholine Marocaine ». *Olivae* n°58. PP: 54-57

Brahmi F, Mechri B, Dhibi M, et Hammami M (2013). Variations in phenolic compounds and antiradical scavenging activity of *Olea europaea* leaves and fruits extracts collected in two different seasons,” *Industrial Crops and Products*, vol. 49, pp. 256–264.

Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier et C. Berset (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT - Food Science and Technology* **28**(1): 25-30.

Bravo, L. (1998). "Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance." *Nutrition Reviews* **56**(11): 317-333.

Breton C , Medial F , Pinatel C , Berville A (2006). De l'olivier à L'oleastre :Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen .Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet - août 2006.

Breton C, Besnard G et Bervillé A (2006a). Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: De L'olivier à L'oléastre: Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers agricultures vol.15, n°4, juillet - août 2006.

Breton C, Besnard G, Bervillé A (2006a). Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In : De l'olivier à L'oleastre : Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen ., 2006. Cahiers agricultures vol.15,n°4, juillet - août 2006.

Breton C, Tersac , et Berville A (2006 b). Genetic diversity and gene flow between the wild olive (*Oleastre, Olea Europea* .L) and the olive. In: De l'olivier à L'oleastre: Origine et domestication de l'Olea europaea L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers agricultures vol.15, n°4.

Briante, R., La Cara, F., Febbraio, F., Patumi, M., Nucci, R., (2002). Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts. *Journal of Biotechnology*, 93, 109– 119.

Briante, R., Patumi, M., Febbraio, F., Nucci, R. (2004). Production of highly purified hydroxytyrosol from *Olea europaea* leaf extract biotransformed by hyperthermophilic α -glycosidase. *Journal of Biotechnology*., 111, 67–77.

Bronzini C.V, Maury J, Gambotti C, Breton C, Bervillé A et Giannettini J, (2002). Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleaster, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet.* P104.

Bronzini de Caraffa V, Maury J, Gambotti C, Breton C, Bervillé A, Giannettini J (2002). Mitochondrial DNA variation and RAPD mark oleasters, olive and feral olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet* ; 104: 1209-16

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.

C

Caballero J.M., Eguren J (1986). Agronomic characteristic of a world collection of olive cultivars. *Olea* n°1: 77-83.

Cai L.Y., Shi F.X., Gao X (2011). Preliminary phytochemical analysis of *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5 : 4059–4064.

Cambus JP (2002). Physiologie de l'hémostase. P: 2, 3.

Cantini C, Cimato A et Graziano S (1999). Morphological evaluation of olive germplasm present in Tuscany region. *Euphytica* 109:173–181.

Caponio F., Alloggio V., Gomes T (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry* 64, (1999) 203-209.

Caquet R (2004). 250 examens de laboratoire: prescription et interprétation. 9ème Ed, Masson. Paris, p: 388-389.

Celik H. Nadarogluh et SENOL M. (2014). Evaluation of antioxidant, antiradicalic and antimicrobial activities of olive pits (*Olea europaea* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20 (No 6) 2014, 1392-1400.

Chaouch .N (2001) Etude des Alcaloïdes dans le coloquinte *colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister; Université de Ouargla. P 44.

Cheng Z , Zhan M, Yang Z, Zumstein K, Chen H et Huang Q (2017). The Major Qualitative Characteristics of Olive (*Olea europaea* L.) Cultivated in Southwest China. *Frontiers in Plant Science* | www.frontiersin.org. May 2017 | Volume 8 | Article 559.8p

Chevalier A. (1948). L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Revue Internationale de Botanique Appliquée et d'Agriculture Tropicale* 28: 1–25.

Cimato A (1990). Effect of agronomic factors on virgin olive oil quality. *Edition Olivae*, 31: 20-31.

COI (1997). Méthodologie pour la caractérisation primaire des variétés d'olivier. *Projet RESGEN-CT (67/97)*, Union Européenne/ Conseil Oléicole International.

Colbrant P et Fabre P(1979). Stade de développement de l'olivier .In stades de développement des plantes cultivées .ACTA.Paris (FR).

Coni F, Di Benedetto R, Di Pasqual M, Mesella R, Modesti D , Matteri R, Carlini E.A (2000).protective effet of oleuropéine .an olive oil biophenol,on low density lipoprotein oxidizabilityin rabbit. *Lipids*,35(1),45-54.

Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural Products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Grissem W, Jones R. (eds). *Americ. Soc. of Plant Physiologists* . 1250-1318.

Cook N.C et Sammam S (1996). Flavonoids-chemistry, metabolism; cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem*. P: 66-76.

Cowan M. M (1999). Plant products as antimicrobial agent. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): p564 – 582.

Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000). Natural Products (Secondary metabolites). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Buchanan B., Grissem W, Jones R. (eds). *Americ. Soc. of Plant Physiologists* . 1250-1318.

Crozier, S.,Woimant, F. (2007) .Infarctus cérébral grave:quelle prise en charge?Acute management of severe ischemic stroke. *Réanimation*, **16** : 441- 451.

Cuvelier ME , Richard H, Berset C (1992). Comparison of the antoxidative activity of some acide phenol; strecture activity relationship. *biosci Biotech Biochem* 56;324-325

D

Dacosta E (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed).Paris, p317.

Dada E.O (2013). Antibacterial Activities of *Olea europaea* Leaf Extract on Some Bacteria Isolated from a Refused Dump Site in Akure, Nigeria. *Journal of Biology (2013), Vol. 01, Issue 06, pp. 118-124.*

Daels Rakotoarison D(1990). Extraits phénolique d'aubergine, de cola et d'églantier .Thèse de doctorat. univ de Lille .France .

Dagdelen A (2016). Identifying Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Phenolic Extracts and Mineral Contents of Virgin Olive Oils (*Olea europaea* L. cv. Edincik Su) from Different Regions in Turkey. Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry Volume 2016, Article ID 9589763, 11 p.

Daoudi L (1994) Etude des caractères végétatifs et fructifères de quelques variétés locales et étrangères d'olivier cultivées à la station expérimentale de Sidi-Aich (Bejaia). Thèse de magister .Inst. Nat. Agr. El-Harrach. 132p.

Davies D.D, Giovannelli J (1964). Plant Biochimistry ed WO.Jma FRS.VOL 3Blakwel Scientific Publication Oxford p397.

De Candolle A (1886). Origines des plantes cultivées. 3 ième édition. Felix Alcan, Paris, 320p.

De Nino A, Lombardo N, Perri E, Procopio A, Raffaelli A, Sindona G (1997). Direct identification of phenolic glycosides' from olive leaf extracts by atmospheric pressure ionization tandem mass spectrophotometry j. Mass Spectrom.,32,533-541.

Decourcelle P (2009). Les anticoagulants: mise au point en 2009. Thèse de doctorat.Université Henri Poincare - Nancy 1. P : 23.

Del Monaco G, Officioso A, D'Angelo S et al. (2015).Characterization of extra virgin olive oils produced with typical Italian varieties by their phenolic profile," *Food Chemistry*, vol. 184, pp.220–228.

Denden M., Bouslama M., Slimi H., BouaouinaT (2005). Action du trajet foliaire de diffusion de l'eau et de l'épaisseur de la cuticule sur la transpiration. Sécheresse ; 16 : 125-9.

Diagne M (1998). Contrôle biologique du traitement anticoagulant (chez 100 malades recrutés à la clinique cardiologique de l'hôpital Aristide le dantec). Thèse de doctorat. Université cheikh Anta Diop de Dakar. P :3.

Douat R, 1998.Guide complet de la culture de l'olivier Paris: De Vecchi, P130.

Driss F ,Duranton V, Viard V (1996).Biological activity of olive tree polyphenolic compound OCL.Oléagineux .corps gras lipids A1996.vol.3 n°6 pp0448-451.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, 350–356.

E

Edrah S et Kumar A(2012). Preliminary Phytochemical and Antibacterial Studies of *Olea europaea* and *Polygonum maritimum* Libyan Plants. International Journal of Science and Research (IJSR) ISSN (Online): 2319-7064..

Ekoumou C (2003). Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse de doctorat. Université de Bamako. P : 36.

Al-Enazi. MM, Rahiman.S, El- Bahrawy AZ , TantryB.A (2015). Antioxidant Modulating effect of *Olea europaea* leaf Extract on Superoxide dismutase (SOD) Activity in Streptozotocin induced diabetes. Adv. Biores., Vol 6 (1) January 2015: 19-24.

Erbay, Z., Icier, F., (2009). Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. Journal of Food Engineering, 91, 533-541.

Erdohan Z.Ö. et Turhan K.N (2011). Olive leaf extract and usage for development of antimicrobial food packaging. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances A_. Méndez-Vilas _(Ed.)1094-1101.

Esmail A, Chahboun N. Mennane Z. Amiyare R. Abed1, M. Barrahi H. A. Qebibo H. Ouhssine M. Berny E. H (2015). Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes [Study of antimicrobial activity of olive mille wastewater (OMWW) from Fez Boulman against some pathogenic strains) *J. Mater. Environ. Sci.* 6 (3) (2015) 869-ISSN : 2028-2508 CODEN: JMESC.

Esposito K et Marfella R (2004). Effect of a Mediterranean style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA*; 292(12):1440-6.

Esti M , Cinquanta L et La Notte E (1998). Phenolic compounds in different Olive varieties. *Journal of agricultural and food chemistry* 46(10)32-35.

F

Fantanazza et Baldini (1990). Proposition pour un programme, d'amélioration génétique de l'olivier, *Revue Olivae* n°34, P : 32--39.

Favier A. (2003). Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp: 108-115.

Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli A., Pinto, G., Pollio, A (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16, pp 1486-507.

Ferreira I C F R , Barros L , Soares M E , Bastos M L , Pereira J A (2007). Antioxidant activity and phenolic contents of *Olea europaea* L. leaves sprayed with different copper formulations. *Food Chemistry* 103 (2007) 188–195.

Flahaut R (1986). L'olivier. Ann., Ecole Nat. Agric. Tom. II, Montpellier.

Fontanazza G (1988) Comment cultiver en vue de la qualité d'huile. *Olivae* n°24 PP31-39.

Fornaciari M. Msallem M , Orlandi F, Ben Dhiab A. , Sgromo C. , El Behi A.W. , Romano B (2009). Interaction entre certains paramètres environnementaux et le

comportements de plantes d'oliviers de différents cultivars en Tunisie Olivebioteq 2009. S4-C5.

Fourastée I (2003) .Etude botanique olivier Oleacée. Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse - Code : 450 571 - 02-2003 - SIA-

Fu S., Segura-Carretero A., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., Menéndez J.A., Menéndez-Gutiérrez M.P., Micol V., Fernández-Gutiérrez A(2010). Qualitative screening of phenolic compounds in olive leaf extracts by hyphenated liquid chromatography and preliminary evaluation of cytotoxic activity against human breast cancer cells. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397, (2010) 643-654.

Furneri, P.M., Marino, A., Saija, A., Uccella, N., Bisignano, G (2002). In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *Int J Antimicrob Agents.*, 20(4), 293-296.

G

Garcia-Gomez A, Roig A et Bernal M.P (2003). Composting of the solid fraction of olive mill wastewater with olive leaves: organic matter degradation and biological activity. *Edition Bioresource Technology*, 86, 59-64.

Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V. (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. **19**: 835–841.

Gariboldi, P., Jommi, G., verotta, L., (1986). Secoiridoids from *Olea europaea*. *Phytochemistry*, 25, 865-869.

Gherib A (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'*Olea europea var.oleaster* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse doctorat Université d'Annaba pp

Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A-M (2001).Le préparateur en pharmacie. Dossier 2.Editions TEC & DOC Paris.p275.

Giamarellos-Bourboulis, E.J., Geladopoulos, T., Chrisofos, M., Koutoukas, P., Vassiliadis, J., Alexandrou, I., Tsaganos, T., Sabracos, L., Karagianni, V., Pelekanou, E., Tzepe, I., Kranidioti, H., Koussoulas, V., Giamarellou, H., (2006). Oleuropein: a novel immunomodulator conferring prolonged survival in experimental sepsis by *Pseudomonas aeruginosa*. *Shock*, 26(4), 410-416.

Girona, J. (2001). Strategie di deficit controllato nell'olivo. Proceeding of International olive course "Gestione dell'acqua e del territorio per un'olivicultura sostenibile", Naples, Italy, 138-48.

Giusti, M. M. et R. E. Wrolstad (2001). "Anthocyanins: characterization and measurement with UV-visible spectroscopy." *Current protocols in food analytical chemistry* New York: John Wiley & Sons: Unit. F1.2.1-13.

Gordon M.H., Paiva-Martins F., Almeida M (2001). Antioxidant activity of hydroxytyrosol acetate compared with that of other olive oil polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, (2001) 2480-2485.

Grati-Kamoun N (2007). Etude de la diversité génétique de l'olivier en Tunisie. Thèse doctorat en biologie de la faculté des sciences de Sfax.

Green, P. S. (2002) A revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bulletin* 57: 91–140.

Green, P. S. and Wickens, G. E (1989). The *Olea europaea* complex. In: Tan. K.(ed.). The Davis & Hedge Festschrift. Edinburgh University Press, Edinburgh. pp 287–299.

Gresele P, Cerletti C, Guglielmini G, Pignatelli P, De Gaetano G et Violi F (2011). Effects of resveratrol and other wine polyphenols on vascular function: an update. *J. of Nutr. Biochem*, 22: 201-211.

Guellaoui I, Ben Amar F, Boubaker M et Yengui A (2015). Caractérisation phénotypique d'hybrides d'olivier (*olea europaea*. L) issus de la variété locale « Chemlel Sfax ». *Revue de la bio ressource*. Vol 5 n° 2. 38- 53.

Guinard J (2000). Biochimie végétal. 2eme edition Dunod.188.

Giullin M.C (1985) La couagulation physiologie et exploitation EMC. SAN.13000.

Gumgumjee N M et Hajar AS (2014). Antimicrobial Activities and phytochemical properties of Saudi *Olea europaea subsp. Cuspidata*. Life Science Journal 2014;11(6s) <http://www.lifesciencesite.com>.

Guo N., Hu Z., Fan X., Zheng J., Zhang D., Xu T., Yu T., Wang Y., Li H (2012) Simultaneous determination of salidroside and its aglycone metabolite *p*-tyrosol in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Molecules* 17, (2012) 4733–4753

H

Habauzit V et Horcajada M.N (2008). Phenolic phytochemicals and bone. *Phytochem Rev*, 7: 313-344.

Hadiddou A, Oukabli A, Moudaffar C, Mamouni A, Gaboun F, Mekaoui A H'ssaini L et El Fechtali M (2013). Evaluation des performances de production de 14 variétés d'olivier (*olea europaea* L.) Nationales et méditerranéennes dans deux systèmes contrastés de culture (pluvial et irrigué) au Maroc. P: 37.

Hajimahmoodi. M, Sadeghi. N, Jannat. B, Oveisi. M.R, Madani S, Kiayi. M (2008). Antioxidant activity, Reducing Power and Total Phenolic Content of Iranian Olive Cultivar. *Journal of Biological Science* 8(4):779-783

Halfaoui K et Kana N (2002). Contribution à l'étude des ressources phylogénétiques algériennes : Caractérisation primaire de la variété « Chemlal » (*Olea europaea* L.) cultivées dans deux régions oléicoles Boghnie (Tizi-Ouzou) et Ighzer- Amokran (Bejaia). Thèse. ing. Agr. Univ. Tizi-Ouzou. p: 114.

Hannachi H, M'sallem M, Benalhadj S, El-Gazzah M (2007). Influence du site géographique sur les potentialités agronomiques et technologiques de l'olivier (*Olea europaea*) en Tunisie. *C.R. Biologies* 330, p 135-142.

Hannachi, H., Breton, C., Msallem, M., Ben El Hadj, S., El Gazzah, M., & Berville, A. (2008). Differences between native and introduced olive cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphisms: A case study in Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 116(3), 280–290. doi:10.1016/j.scienta.2008.01.004.

Harborne J. B. (1989). General procedures and measurement of total phenolics. In J. B. Harborne (Ed.). *Methods in plant biochemistry*: London: Academic Press .Volume Plant Phenolics (1–28).

Harborne JB, Baxter H (1999). *The handbook of natural flavonoids*, Vols 1 and 2. Chichester, UK: John Wiley and Sons.

Harborne JB, Williams CA..2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* ;55:481–504.

Harborne, J. B., Simmonds, N. W., (1964). *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London, pp. 101.

HarborneJ.B (1998) *Phytochemical Methods : A guide to moderne techniques of plant analysis* 3e ed. :chapman and hill.p 303.

Hartmann T(2007). From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry* Volume68,Issues22–24, 2007; 2831–2846.

Hatzidimitriou Ef., Nenadis N., Tsimidou M.Z (2007). Changes in the catechin and epicatechin content of grape seeds on storage under different water activity (aw) conditions.

Food Chemistry, 105, 1504-1511

Hayes, J.E., Stepanyan, V., Allen, P., O’Grady, M.N., O’Brien, N.M., Kerry, J.P. (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, 83 (2), 201-208.

Hennebelle T, Sahpaz S, Skaltsounis A.L et Bailleul F (2007). Phenolic compounds and diterpenoids from *Marrubium peregrinum*. *Edition Biochem. Syst. Ecol.*, 35: 624-626.

HollmanP. C. H. et Katan M. B (1999). Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. *Foodand Chemical Toxicology*, 37:937-942.

Hopkins W.G. (2003). Assimilation du carbone et productivité. Dans: Physiologie végétale. Traduction de la 2ème édition américaine par Serge Rambour. Editions De Boeck université, 515p.

Hua L , Xiaoyu W, Peihong L, Yong L, Hua W (2008). Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis* **2008**, 16 (6), 67-73.

Huang Guangrong., Jiang Jiabin.,and Dai Dehui. (2008). Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala* S. Moore. *African Journal of Biotechnol.* **7 (9):** 1335-1338

I

Idrissi, A., Ouazzani, N., (2003). Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L.). Plant Genetic Resources Newsletter, 136, 1-10.

Igor P.L.B, (2003). Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam (Rutaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako. P : 24.

Iguergaziz N, (2012). Essai d'élaboration d'un alicament sous forme de comprimés de datte entière et/ou dé-sucrées additionnées d'extrait aqueux des feuilles d'olivier algérien, thèse de magister en génie alimentaire, Boumerdes.p 129.

Ilias F, Kholkhal W, Gaouar N, Bekhechi C, Bekkara F (2011) .Antibacterial and antifungal Activities of olive (*Olea europaea* L.) from Algeria. J. Microbiol. Biotech.Res., 1(2).P 69-73.

Innocenti M., La Marca G., Malvagia S., Giaccherini C., Vincieri F.F., Mulinacci N(2006). Electrospray ionisation tandem mass spectrometric investigation of phenylpropanoids and secoiridoids from solid olive residue. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20, 2013-2022.

Ioanna Lafka T Andriana E. Olive Leaves and Their Potential as Edible Oils Antioxidants. *Foods* 2013, 2, 18-31; doi:10.3390/foods2010018

J

Japon-Lujan, R., Luque-Rodriguez, J.M., Luque de Castro, M.D., (2006a). Dynamic ultrasoundassisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A*, 1108, 76-82.

Japon-Lujan, R., Ruiz-Jimnez, J., Luque de Castro, M.D., (2006b). Discrimination and Classification of Olive Tree Varieties and Cultivation Zones by Biophenol Contents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (26), 9706-9712.

Jensen R. (2002). Clinical Presentation of Arterial Thrombosis vs. Venous Thrombosis. *Clinical Hemostasis Review* 2002; 16(8):1-6.

Jerman Klen T., Mozetič Vodopivec B.(2014) The fate of olive fruit phenols during commercial olive oil processing: traditional press versus continuous two- and three-phase centrifuge. *LWT - Food Science and Technology* 49, 267-274

K

Kaguelidou F, (2012). Anticoagulants, Antiagrégants plaquettaires. P:1.

Kalla A, (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum* .

Karamac, M et Amarowicz.R.(1997). Antioxidant activity of BHA, BHT and TBHQ examined with IVLiiler's test. *Grasas y Aceites Vol.48. Fase. 2 (1997)*, 83-86 83

Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugb uaja V.O.(2004). Identification of active principales of *M.balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *Journal of Medical Sciences*. 4: 179-182.

Kaskoos R, (2013). Pharmacognostic Specifications of Leaves of *Olea europaea* Collected from Iraq. 8 pp.

Kempf S. Zeitouni. (2009). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et conséquences *Pathologie Biologie : article in press.*

Khaleel Ibrahim R et Mohammd Mahdi N,(2014). Antimicrobial activity of fig (*Ficus carica* L.) leaf extract as compared with latex extract against selected bacteria and fungi, Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences. P1624.

Khanbaba K et Ree T.R. (2001).Tannins: Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, 18:p641-649.

Knobloch K.H, Weigand N, Weis H, Schwar M, Vogenschow H (1986). Action of Terpenoids on energy metabolism. In: Progress in Essential oil Research: 16th International Symposium on Essential Oils, Gruyter, D. Eds.; Germany, Berlin, pp. 429- 445.

Krapac M, Sladonja B et Benčić D.(2011). Fruit Morphological Changes during Pit Hardening in Autochthonous Istrian Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *Agriculturae Conspectus Scientifi cus* | Vol. 77 (2012) No. 1 (49-52).

Kyungmi M et Susan E (2008). Flavonoïd effects on DNA oxidation at low concentrations relevant to physiological levels. *Food and Chemical Toxicology*, 46:96–104

L

Laaribi I, Mezghani A, Mars M, Labidi1 F et Ben Amar F (2012). Variabilité morphologique observée au niveau d'une descendance d'Oliviers issue d'autofécondation (*Olea europaea* L.). *Revue Ezzaitouna* 13 (1 et 2) P 13.

Lacut K, Deluc A, Le Moigne E, Mottier D (2008). Existe-t-il un lien entre la maladie artérielle athéromateuse et la maladie veineuse thromboembolique ? *mt* 2008;14(1) : 32-36.

Laguerre, M., Lopez Giraldo, L.J., Piombo, G., Figueroa-Espinoza, M.C., Pina, M., Benaissa, M.,Combe, A., Rossignol Castera, A., Lecomte, J., Villeneuve, P., (2009). Characterization of Olive Leaf Phenolics by ESI-MS and Evaluation of their Antioxidant Capacities by the CAT Assay. *J Am Oil Chem Soc*, 86, 1215-1225.

Lalas S , Athanasiadis V,Gortzi O .,Bounitsi M, Giovanoudis I, Tsaknis J ,Bogiatzis F, (2011).Enrichement of table olives with polyphénols extracted from olive leaves .*Food Chemistry* ,vol ,127,1521-1525.

Larrauri JA, Ruperez P, Bravo L and Saura-Calixto F (1996). High dietary fibre powders from orange and lime peels: Associated polyphenols and antioxidant capacity. *Food Res. Intern.*,29(8): 757-762.

Le Tutour, B., Guedon, D., (1992). Antioxidant activities of *Olea europaea* leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*, 31, 1173-1178.

Lee K.W, Kim Y.J, Lee H.J et Lee C.Y (2003). Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J.Agric. FoodChem*, 51: P 7292 – 7295

Lee, O.H., Lee, B.Y., (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10), 3751-3754.

Lee, O.H., Lee, B.Y., Lee, J., Lee, H.B., Son, J.Y., Park, C.S., Shetty, K., Kim, Y.C., (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100, 6107-6113.

LepoivreP. (2003).Phytopathologie.édition des Boeck université rue des Minimes39, B1000 Bruxelles

Li C., Junttila O., Ernstsén A., Heino P., Palva E.T (2003 a). Photoperiodic control of growth, cold acclimation and dormancy development in silver birch (*Betula pendula*) ecotypes. *Physiol. Plant.* 117: 206-212.

Li C., Viherä-Aarnio A., Puhakainen T., Junttila O., Heino P., Palva E.T (2003 c). Ecotype-dependent control of growth, dormancy and freezing tolerance under seasonal changes in *Betula pendula* Roth. *Trees* 17: 127-132.

Li Teng k,1Faridah A, Janna Ong A, Eusni Rahayu M T et Muhajir H (2014). Anticoagulant Activity of Polyphenolic-Polysaccharides Isolated from *Melastoma malabathricum* L. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2014, Article ID 614273, 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/614273>.

Li, C., Junttila, O., Heino, P., Palva, E.T (2003.b). Different responses of northern and southern ecotypes of *Betula pendula* to exogenous ABA application. *Tree Physiol.* 23: 481-487.

Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Tian, Y.(2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102: 771-776.

Liphshitz N, Gophna R, Hartmann M, Biger G (1991) The beginning of olive (*Olea europaea*) cultivation in the Old World: a reassessment. *J Archaeol Sci* 18:441–453.

Lousert R et Brousse G (1978) L'olivier technique agricole et production méditerranéenne. Ed.G.P. Maisonneuve et Larose. 437p.

Lumaret R, Ouazzani N ,Michaud H et al .,(2004). Allozymes variation of oleaster population (Wild olive tree) (*Olea europaea* L.) in the Mediterranean basin *Heredity* 92:343-351.

M

Macheix J.-J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P., (2003). Composés phénoliques dans la plante Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Dans *Les polyphénols en agroalimentaire*; Sarni-Manchado P. et Cheynier V., Eds.; Lavoisier: Paris; pp 1-28.

Maillard R(1975). L'olivier. Maison des agriculteurs .Ed .Invuflec. Paris, 147 P.

Majob F., Kamalinejab M., Ghaderi N., Vahidipour H.R (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research.* 77-82.

Malheiro R, Casal S, Sousa A, De Pinho P, Peres A.M, Dias L.G, Bento A et Pereira J.A, (2012). Effect of cultivar on sensory characteristics, chemical composition, and nutritional value of stoned green table olives. *Food and bioprocess technology*, 5 (5): 1733-1742.

Malik S N (2015). Antibacterial Activity of Olive (*Olea europaea*) Leaves and Arugula (*Eruca sativa*) Seeds Extract . Available online on www.ijppr.com *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*; 7(2); 307-310 ISSN: 0975-4873 .

Malik, N.S.A., Bradford, J.M. (2008). Recovery and stability of oleuropein and other phenolic compounds during extraction and processing of olive (*Olea europaea L.*) leaves. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6(2): 8-13.

Manallah A (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea L.* Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

Martin Garcia I, Yanez Ruiz D, Moumen A et Molina Alcalde E (2006). Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea var. europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. *Small Ruminant Research*, 61, 53-61.

Masmoudi-Carfi C, Msallem M et Ben Abdellah S (2015). Variabilité de paramètres morphologique chez l'olivier et relation corrélatives. *Revue des Bio ressource Vol 5nà2* Décembre 2015.14-37.

McDonald S., Prenzler P.D. Antolovich M., Robards K (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry* 73, 73-84.

Mebirouk-Boudechiche L, Cherif M, Boudechiche L, Sammar F (2014). Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie. *Revue Méd. Vét.*, 2014, 165, 11-12, 344-352.

Medina E, de Castro A, Romero C, Ramírez E ET Brenes M.(2013). Effect of antimicrobial compounds from olive products on microorganisms related to health, food and agriculture. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.)1087-1094.

Michelakis N(1995) . Effet des disponibilités en eau sur la croissance et le rendement des oliviers. *Olivae* 56: 29-39.

Middleton JR,Chithan K(1993) The impac of plant flavonoids on mam-malian biology implication for immunity , inflammation and cancer.

Milla A, Daoudi-Hacini S, Jean-François Voisin Et Doumandji S,2011.Caractéristiques biochimiques de quelques espèces de fruits charnus communes dans le Sahel algérois

recherchées par les oiseaux frugivores. Ecole nationale vétérinaire; Muséum national d'histoire naturelle Paris, France. ISSN- 2170-1318.

Mnasri Rahmani S, Saddoud Dabbebi O, Ferchichi A.(2013 a). The study of olive oil quality and morphological biodiversity of *Olea europaea* L. in the region of “Hbebsa”. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 4, 59-66.

Mnasri Rahmani S, Saddoud Dabbebi O, Ferchichi A (2013 b). AFLP marker-based identification and genetic relationships of olive cultivars in the region of Hbebsa “North West of Tunisia” in the region of “Hbebsa”. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 3, 36-41.

Mnasri Rahmani S, Saddoud Dabbebi O, Ferchichi A (2013 c), Preliminary characterization and morph-agronomic evaluation of millennium olive varieties in Tunisia. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences 3, 150-155.

Mnasri Sameh, Olfa Dabbebi Saddoud, Ali Ferchichi, (2014a). Agronomic and morphological study of two autochthones Tunisian olive varieties “Neb Jmel” and “El Hor”. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES). Vol. 4, No. 4, p 240-247, 2014.

Mnasri Sameh, Olfa Dabbebi Saddoud, Ali Ferchichi, (2014b). DNA Fingerprinting of Millennium Olive Varieties in Tunisia by AFLP- Markers. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES). Vol. 4, No. 4, p 310-317, 2014.

Molyneux, P., Songklanakarin, J.(2004).The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. SciencesTechnology, 26 (2) :211-219.

Moo-Sung K, Sushruta K, Seung-H J, Ji-Young K, Hyung-R L, Sang-Rin L, Yong-Dae P, Kyung-Ae L, Tae-Kyu P and Hyun K (2013). *Olea europaea* Linn (Oleaceae) Fruit Pulp Extract Exhibits Potent Antioxidant Activity and Attenuates Neuroinflammatory Responses in Lipopolysaccharide-Stimulated Microglial Cells. Tropical Journal of Pharmaceutical Research June 2013; 12 (3): 357-362 ISSN: 1596-5996 (print); 1596-9827 .

Morand C. Milenkovic D (2014). Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques* 42 (2014), 47-62.

Morelló J.R., Romero M.P., Motilva M.J (2004). Effect of the maturation process of the olive fruit on the phenolic fraction of drupes and oils from Arbequina, Farga, and Morrut cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 6002-6009.

Morettini (1950) .olivicolutra Ramo .ed .degli .agric .Roma .595pp

Mourtzinou, I., Salta, F., Yannakopoulou, K., Chiou, A., Karathanos, V.T., (2007). Encapsulation of Olive Leaf Extract in β -Cyclodextrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55 (20), 8088-8094.

Movsumov, I.S., Aliev, A.M., Tagieva, Z.D., (1987). Pharmacochémical studies of olives grown in the Azerbaijan Soviet Socialist Republic. *Farmatsiya (Moscow)*, 36, 32-34.

Mylonaki S, Kiassos E, Makris D.P et Kefalas P (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal. Bioanal. Chem.*, 392(5), 977-985.

N

N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D., Aké- Assi L (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Science & Nature*. 6 : 1-15.

Nahal Boudarba N, Kadi H, Moghtet S, Meddah B et Moussaoui A.(2012). Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Olea Europaea* Leaves from Algeria. *The Open Conference Proceedings Journal*, 2012, 3, (Suppl 1-M11), 66-69.

Nait Taken R., Boulouha B. et Ben Chaabane A (1995) Etude des caractéristiques de la biologie florale chez les clones sélectionnés de la variété population « Picholine marocaine ». *Olivae* n°58. PP: 48-53.

Nashwa, F. S. Morsy*, M. E. Abdel-Aziz (2014). Efficiency of olive (*Olea europaea* L.) leaf extract as antioxidant and anticancer agents. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2014, 20(1), 46-53.

Natarajan D, John Britto S, Srinivasan K, Nagamurugan N, Mohanasundari C, Perumal G (2005). Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis* a rare medicinal herb. *J Ethnopharmacol*, 102, p : 123 – 126.

Nefzaoui A., (1995). Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. Advanced course. Syria 12-23 March 1995.

Nikaido H et Vaara (1985). Molecular basic of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Reviezs*, 1, P 1-32.

Nouri S (1994) Contribution à l'étude des phénomènes de croissance et développement chez l'olivier (*Olea europaea* L.) comportements de différents types de rameaux. Essai de détermination de la période de pollinisation effective. Thèse. Ing. 132P.

O

Obied H.K., Allen M.S., Bedgood D.R., Prenzler P.D., Robards K., Stockmann R (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 823-837

Obied H.K., Bedgood Jr D.R., Prenzier P.D., Robards K(2007). Chemical screening of olive biophenol extracts by hyphenated liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 603, 176-189

Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires (2016). Bilan de la campagne oléicole 2015/2016 « Segment huile d'olive ». onfaa.inraa.dz.

Oloyede OI (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr* ; 4 : p379 – 381.

Ouksili A (1983) Contribution à l'étude de la biologie florale de l'olivier (*Olea europaea* L.). De la formation des fleurs à la période de pollinisation effective. Thèse Doct. Ing. E.N.S.A.M. Montpellier. 143 p.

Ozkaya M.T. Akir , E. Gokbayrak C, Z Ercan H., Taskin N (2006). Morphological and molecular characterization of Derik Halhali olive (*Olea europaea* L.) accessions grown in Derik–Mardin province of Turkey. *Scientia Horticulturae* 108 (2006) 205–209.

Ozkaya M.T., Ergulen E., Ulger S. et Ozilbey N.2015. Molecular, Morphological and Oil Composition Variability within Olive (*Olea europaea* L.) at Semi-Arid Conditions. *BIOTECHNOL. & BIOTECHNOL.* 22:2,699-704.

P

Pagnol J (1999).L'huile d'olive Genève: Aubanel, p175.

Palamarev E (1989).Palaeobotanical evidences of the Tertiary history and origin of theMediterranean schlerophyll dendroflora. *Plant Syst. Evol.*, 162: 93107.

Palma, M. et C. G. Barroso (2002). "Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products." *Analytica Chimica Acta* 458(1): 119-130.

Panizzi, L (1960). The constitution of oleuropéine, a bitter glycoside of the olive with hypotensive action. *Gazz. Chim. Ital.*, 90, 1449-85.

Pawlaczyk I, Capek P, Czerchawski L et al (2011). An anticoagulant effect and chemical characterization of *Lythrum salicaria* L. glycoconjugates," *Carbohydrate Polymers*, vol. 86, no. 1, pp. 277–284.

Pearson, D.A., Paglieroni, T.G., Rein, D., Wun, T., Schramm, D.D., Wang, J.F., Holt, R.R., Gosselin,R., Schmitz, H.H., Keen, C.L. (2002) The effects of flavanol-rich cocoa and aspirin on ex vivo platelet function. *Thrombosis Research*, 106: 191-197

Pellecuer J (1985). Connaître, trouver, identifier, utiliser les plantes médicinales des régions méditerranéennes Edition SAEP,p145.

Pereira, A. P., Ferreira, I.C.F.R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P.B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., Pereira, J.A., (2007). Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. *Cobrançosa*) Leaves. *Molecules*, 12, 1153-1162.

Peronny S (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le MAKI (Lemur Catta).Thèse de Doctorat du Muséum national d'histoire naturelle .Discipline Eco-Ethologie .p151.

Picman A-K ; Schneider E –F ; Picman J. (1995). Effect of flavonoids on mycelial growth of verticillium albo-atrum. *Biochemical Systematics and ecology*,23:683-693.

Poli M (1986) L'alternance de la production de l'olivier . *Olivae* n°10. P :11-13.

Popovici C, Saykova I, Tylkowski B (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 2009, 4, 25-39 .

Puel, C., Mathey, J., Agalias, A., Kati-Coulibaly, S., Mardon, J., Obled, C., Davicco, M.J., Lebecque, P., Horcajada, M.N., Skaltsounis, A.L., Coxam, V., (2006). Dose-response study of effect of oleuropein, an olive oil polyphenol, in an ovariectomy/inflammation experimental model of bone loss in the rat. *Clin Nutr.*, 25(5), 859-868.

Puspa R P, Hirotoshi T, Ikuo K, Ryosuke M (2008). Phenolic compounds and antioxidant activities of skins and seeds of five wild grapes and two hybrids native to Japan. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 622-625.

Q

Quirantes-Piné R., Lozano-Sánchez J., Herrero M., Ibáñez E., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A (2013). HPLC-ESI-QTOF-MS as a powerful analytical tool for characterising phenolic compounds in olive-leaf extracts. *Phytochemical Analysis* 24, 213-223.

R

Raj Narayana K.M, Sripalreddy M.R, Chaluvadi D.R et Krishna J (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian of Pharmacology*. 33 : 2-16.

Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000). Biologie végétale. 6^e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.

Robards K., Prenzler P.D., Tucker G., Swatsitang P. Glover W (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.

Romani .A, Mulinacci. N, Pinell. P ,Vincieri. F et Cimato.A (1999). Polyphenolic Content in Five Tuscany Cultivars of *Olea europaea* L. *J. Agric. Food Chem.*,47,964–967.

Rotondi, A., Massimiliano, M., Claudia, R. and Luciana, B (2003). Morphological and molecular analyses for the characterization of a group of Italian olive cultivars. *Euphytica*, 132: 129–137.

Rouibi A, Fairouz S, Redouane B, et al. (2009) Identification et effet antiseptique des huiles essentielles de deux espèces xérophytes *Cassia acutifolla* et *Cassia obovata*. *Agricultura* 3–4:71–2

Rovellini, P., Cortesi, N., Fedeli, E., (1997). Analysis of *Olea europaea* by HPLC-UV and HPLCElectrospray-MS. *Riv. Ital. Sastanze Grasse*, 74, 273-279.

Ruby, J., (1917). Recherches morphologiques et biologiques sur l’Olivier et ses variétés cultivées en France [Thèse]. France, Faculté des sciences, Paris.

Ryan D., Antolovich M., Prenzler P., Robards K., Lavee S (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. *Scientia Horticulturae* 92, 147-176.

Ryan D., Robards K., Lavee S(1999). Determination of phenolic compounds in olives by reversed-phase chromatography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 832, 87-96.

Ryu R, Jung U. J, Seo Y-R, Kim H-J, Moon B S , Bae J-B, Lee D G et Choi M-S (2015). Beneficial Effect of Persimmon Leaves and Bioactive Compounds on Thrombosis .Food Sci. Biotechnol. 24(1): 233-240 (2015) DOI 10.1007/s10068-015-0031-1.

S

Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell, G.P., Rice-Evans C.A(1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339-346.

Salem .A.S (2014). Morphological and molecular characterization of libyan olive, *olea europaea* l., cultivars (42 local and 16 wild type) in comparison to 41 introduced (world) cultivars Submitted by Department of Horticulture and Landscape Architecture Doctoral Colorado State University .

Salem E et Ashok K (2012) .Preliminary Phytochemical and Antibacterial studies of *olea europaea* and *Polygonum maritimum* Libyan Plants. (IJSR) 2319-7064: 3-358.

Sanchez Casas J., De Miguel Gordillo C., Marin Exposito J (1999). La qualité de l'huile d'olive provenant de variétés en Estrémadure en fonction de la composition et la maturation de l'olive. *Olivae* 79. 38-40.

Sanchez-Moreno C., Larrauri Jose A ., Saura-Calixto F (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1998, 76(2), 270-276.

Sarni-Manchado P and Cheynier V (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec & Doc, Paris, p. 2-10.

Savarese M., De Marco E., Sacchi R (2007). Characterisation of phenolic extracts from olives (*Olea europaea* cv. Pisciottana) by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry* 105, 761-770.

Savournin, C., Baghdikian, B., Elias, Riad., Dargouth-Kesraoui, F., Boukef, K., et Balansard, G.,(2001). Rapid High-Performance Liquid Chromatography Analysis for the

Quantitative Determination of Oleuropein in *Olea europaea* Leaves. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 618-621.

Scherrer R et Gerhardt P (1971). Molecular sieving by the *Bacillus megaterium* cell wall and protoplast. *J. Bacteriol.* 107 . P718-735.

Schneider V .(1973). *Z. Pflanzenphysiol.*, 70, I, 88.

Servili M., Selvaggini R., Esposito S., Taticchi A., Montedoro G., Morozzi G (2004). Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in oil. *Journal of Chromatography A* 1054, (2004).

Shaghghi M. A, Harding S.V, Jones P. J. H., 2014. Water dispersible plant sterol formulation shows improved effect on lipid profile compared to plant sterol esters. *Journal of functional foods*, 6: P 280 –289.

Shasha B. & Leibowitz J. (1961) On the oleuropein, the bitter principle of olives. *Journal of Organic Chemistry.* 26 (6) pp 1948-1954.

Sheikh B Y , Gabr S (2016). Influence of Extraction Solvents and Phytochemical Analysis in the Evaluation of *in-vitro* Antioxidant Activity of Saudi Arabian Olive Leaves Extract. *American Journal of Chemistry and Application.* Vol. 3, No. 2, 2016, pp. 6-12.

Shimizu, H.(2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,35 (9) : 2072-2077

Silva S., Gomes L., Leitão F., Coelho A.V., Boas L.V (2006). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. fruits and leaves. *Food Science and Technology International* 12, 385-396.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152-178.

Soler-Rivas C., Espin J. C. & Wichers H. J. (2000) Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture .* 80 (7) pp 1013-1023.

Soulet, J.P. Lecoupeau, J. Vercauteren (2001). Implications chimique et biologique de la présence de polyphenols dans le cacao. Deuxième journée scientifique de l' FR de sciences pharmaceutiques. Pharm. Bordeaux. 140:127-166.

Srinivasan, V B, Vaidyanathan, V, Mondal, A, Rajamohan, G, 2012. Role of the Two Component Signal Transduction System CpxAR.

Suarez, M.P., Casanova, L., Jimenez, R., Morales-Sillero, R., Ordovas, J., & Rallo, p.(2011). Variability of first flower to ground distance in olive seedlings and its relationship with the length of the juvenile period and the parent genotype. *Scientia Horticulturae* 129:747–751

Sudjana, A.N., D'Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Rileya, T.V. Hammera, K.A., (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33, 461-463.

T

Tassou C.C et Nychas G.J.E (1994). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by olive phenolics in broth and in food model system. *J. Food Prot.* Vol. 57.p: 120-124-132.

Tayoub G, Sulaiman H, Hassan A, Alorfi M (2012). Determination of Oleuropein in leaves and fruits of some Syrian olive varieties. *Int. J. Med.Arom. Plants*, Vol.2, No.3, pp.428-433

Terral JF, Alonso N , Capdevila RBI et al. (2004). Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* .L) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archeological material. *J Biogeogr*; 31:63-77.

Theriez, M. et Boule, G (1970). Valeur alimentaire du tourteau d'olive. *Ann. Zootech.* 19 (2) 143–157

Thibaudon .M, Lachasse.C (2005). Phénologie : intérêt et méthodes en aérobiologie Interest of phenology in relation to aerobiology. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*.

Trigui, A., Msallem, M., (2002). Oliviers de Tunisie, In: Catalogue des variétés autochtones et types locaux, identification variétale et caractérisation morpho-pomologique des ressources génétiques oléicoles de Tunisie vol. 1. Ministère de l'Agriculture, IRESA, Institut de l'Olivier, Tunisia.

Tripodi A, Chantarangkul V, Mannucci PM (2009). Acquired coagulation disorders: revisited using global coagulation/anticoagulation testing. *J. Thromb. Haemostasis*. 147(1):77-82. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07833.x. Epub 2009 Jul 30.

Tsuchiya, H. et Linuma, M. (2000). Reduction of Membrane Fluidity by Antibacterial Sophoraflavanone G Isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine*, 7, 161-165

Turrill WB (1951). Wild and cultivated olive. *Kew Bull.* 3, 437-442.

V

Vamos-Vigzyo L (1981). Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetable *CRC Crit rev Food sci Nutr.* 15:49-127.

Villa P (2003). La culture de l'olivier (Variétés, différents types de culture- les tailles- les engrais- les soins-la récolte et la production d'huile d'olive), Paris, De Vecchi S. A. p143..

Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parilla MC (2007) Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71:230–235.

Villemeur P, Dosba F (1997). Oléiculture. Evaluation variétale et acquisition de la maîtrise des pratiques culturales. *OCL*. Vol 4 n°5. Septembre/Octobre. PP: 351 – 355.

Virot, M., Tomao, V., Ginies, C., Visinoni, F., Chemat, F. (2008). Microwave-integrated extraction of total fats and oils. *The Journal of Chromatography A*, 1197: 57-64.

Visoli F et Galli C (1994). Oleuropeine prospecte low density lipoprotein from oxidation. *Life Sci.*, 55, 1965-71.

W

Walid, L.D, Skirdej, A., Elattir, H (2003). Transfert de technologie en agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA.

Wu, T., Zang, X., He, M., Pan, S., Xu, X (2013). Structure–activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase, *J. Agric. Food Chem.*, 6, pp 8185-8190.

Y

Yi Z., Yan Y., Liang Y., and Zeng B.(2008). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of Pericarpium *Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, **41**:597-603.

Yi-Zhong Cai, Mei Sun, Jie Xing, Qiong Luo, Harold Corke (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences*, 78(25), 2872-2888.

Yoon S J, Pereira M S, Pavao M S G , Hwang J.-K, Pyun Y R., et Mourao P A S., (2002).The medicinal plant *Porana volubilis* contains polysaccharides with anticoagulant activity mediated by heparin cofactor II,” *Thrombosis Research*, vol. 106, no. 1, pp. 51–58.

Youmbai A (2015). Contribution à l'étude des polysaccharides hydrosolubles de quelques plantes de la famille des Apiaceae récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Algérien). Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie. Université Kasdi Merbah, Ouargla. 64pp.

Z

Zaher, H., Boulouha, B., Baaziz, M., Sikaoui, L., Gaboun, F., & Udupa, S. M. (2011). Morphological and genetic diversity in olive (*Olea europaea* subsp. *europaea* L.) clones and varieties. *Plant Omics Journal*, 4(7), 370-376.

Zhou H.Y, Hong J.L, Shu P, Juan Ni Y et Qin M.J(2009). A new dicoumarin and anticoagulant activity from *Viola yedoensis* Makino. *Edition Fitoterapia*, 80: 283- 285.

Zimmer N et Cordesse R (1996).Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants Ed INRA Prod Anim, **9** :p167-179

Zohary D et Spiegel-Roy P(1975). Beginnings of fruit growing in the old world, *Science*, 187: 319-327.

Zunin, P., Evangelisti, F., Pagoano, M. A., Tiscornia, E., (1995). Phenolic compounds in oil from *Olea europaea* and anti-Dacus treatments. Riv.Ital. Sostanze Frasse, 72, 55-59.

Annexes

Annexe I analyse de la variance

Tableau 1 AVI -Longueur feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	413,849	333	1,243	,970	,594
Intra-groupes	188,396	147	1,282		
Total	602,245	480			

Tableau 2 AVI -Largeur feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	369,178	282	1,309	1,112	,212
Intra-groupes	233,067	198	1,177		
Total	602,245	480			

Tableau 3 AVI –rapport long/larg feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	466,245	346	1,348	1,328	,028
Intra-groupes	136,000	134	1,015		
Total	602,245	480			

Tableau 4 AVI -Longueur fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	504,939	303	1,666	3,031	,000
Intra-groupes	97,307	177	,550		
Total	602,245	480			

Tableau 5 AVI –Largeur fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	373,864	288	1,298	1,091	,257
Intra-groupes	228,381	192	1,189		
Total	602,245	480			

Tableau 6 AVI –Rap long/larg fruits des quatre variété

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	304,512	138	2,207	2,535	,000
Intra-groupes	297,734	342	,871		
Total	602,245	480			

Tableau 7 AVI -Longueur noyaux des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	513,151	300	1,711	3,456	,000
Intra-groupes	89,095	180	,495		
Total	602,245	480			

Tableau 8 AVI -Largeur noyaux des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	321,130	232	1,384	1,221	,061
Intra-groupes	281,115	248	1,134		
Total	602,245	480			

Tableau 9 AVI –Rap Long/larg noyaux des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

Variétés

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	467,273	264	1,770	2,833	,000
Intra-groupes	134,972	216	,625		
Total	602,245	480			

Tableau 10 AVI –pH des feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

var

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	28,000	12	2,333	2,333	,339
Intra-groupes	2,000	2	1,000		
Total	30,000	14			

Tableau 11 AVI –pH des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

var

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	29,500	12	2,458	9,833	,096
Intra-groupes	,500	2	,250		
Total	30,000	14			

Tableau 12 AVI –teneur en H2O Bulbe des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

bulb

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	,668	12	,223	16,392	,010
Intra-groupes	,054	2	,014		
Total	,722	14			

Tanleau 13 AVI –teneur en H2O noyaux des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

noya

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	,156	12	,052	51,861	,001
Intra-groupes	,004	2	,001		
Total	,160	14			

Tableau 14 AVI –teneur en H2O feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

feuille

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	,178	12	,059	30,881	,003
Intra-groupes	,008	2	,002		
Total	,185	14			

Tableau 15 AVI poids frais des feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

pfl

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	2188,178	4	547,045	991,195	,000
Intra-groupes	107,621	195	,552		
Total	2295,799	199			

Tableau 16 AVI poids frais des noyaux des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

PFN

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	110,678	4	27,670	501,665	,000
Intra-groupes	10,755	195	,055		
Total	121,433	199			

Tableau 17 AVI poids frais des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

PFRF

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	3849,078	4	962,270	1068,519	,000
Intra-groupes	175,610	195	,901		
Total	4024,688	199			

Tableau 18 AVI phénol totaux fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

FTfruit

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	1209,141	3	403,047	4299,167	,000
Intra-groupes	,750	8	,094		
Total	1209,891	11			

Tableau 19 AVI phénol totaux feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

FTfeuille

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	4333,807	3	1444,602	1004,941	,000
Intra-groupes	11,500	8	1,438		
Total	4345,307	11			

Tableau 20 AVI flavonoïdes totaux feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

FLAVFEU

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	35,895	3	11,965	3626,204	,000
Intra-groupes	,026	8	,003		
Total	35,922	11			

Tableau 21 AVI flavonoïdes totaux fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

FLAVFRUI

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	234,263	3	78,088	83554,780	,000
Intra-groupes	,007	8	,001		
Total	234,271	11			

Tableau 22 AVI tanin totaux feuilles des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

tanfeu

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	2146,701	3	715,567	80837,518	,000
Intra-groupes	,071	8	,009		
Total	2146,772	11			

Tableau 23 AVI tanin totaux fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

tanfrui

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	20534,971	3	6844,990	119991,289	,000
Intra-groupes	,456	8	,057		
Total	20535,427	11			

Tableau 23 AVI activité antibactérienne contre *S aureus* la concentration 100% des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

aufr

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	85,626	3	28,542	22,242	,000
Intra-groupes	10,266	8	1,283		
Total	95,892	11			

Tableau 24 AVI activité antibactérienne contre *S Tiphys* la concentration 100% des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

tipyfr

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	40,075	3	13,358	2044,658	,000
Intra-groupes	,052	8	,007		
Total	40,128	11			

Tableau 25 AVI activité antibactérienne contre *E Coli* la concentration 100% des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

colifr

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	,789	3	,263	1,052	,421
Intra-groupes	2,000	8	,250		
Total	2,789	11			

Tableau 26 AVI activité antibactérienne contre *k* la concentration 100% des fruits des quatre variétés

ANOVA à 1 facteur

klibfr

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	31,572	3	10,524	15,786	,001
Intra-groupes	5,333	8	,667		
Total	36,905	11			

Tableau 27 AVI activité anticoagulante des feuilles des quatre variétés**ANOVA à 1 facteur**

AAGFE

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	386,688	4	96,672	43,526	,000
Intra-groupes	19,989	9	2,221		
Total	406,677	13			

Tableau 28 AVI activité anticoagulante des fruits des quatre variétés**ANOVA à 1 facteur**

AAGFR

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	175,275	4	43,819	39,955	,000
Intra-groupes	9,870	9	1,097		
Total	185,145	13			

Annexé 2 les corrélations

Tableau 1 Corrélations entre les paramètres morphologique

		Variétés	LONFL	LARFL	RFL	LONFR	LARFR	RFR	LONNO	RNO	LARNO
Variétés	Corrélation de Pearson	1	,137**	,203**	-,059	-,602**	-,097*	-,352**	-,696**	-,352**	,013
	Sig. (bilatérale)		,003	,000	,200	,000	,033	,000	,000	,000	,777
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
LONFL	Corrélation de Pearson	,137**	1	,308**	,166**	-,151**	-,126**	,042	-,124**	,016	-,043
	Sig. (bilatérale)	,003		,000	,000	,001	,005	,359	,006	,722	,349
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
LARFL	Corrélation de Pearson	,203**	,308**	1	-,795**	-,168**	,178**	-,438**	-,239**	-,444**	,237**
	Sig. (bilatérale)	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
RFL	Corrélation de Pearson	-,059	,166**	-,795**	1	-,014	-,337**	,498**	,084	,494**	-,346**
	Sig. (bilatérale)	,200	,000	,000		,763	,000	,000	,064	,000	,000
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
LONFR	Corrélation de Pearson	-,602**	-,151**	-,168**	-,014	1	,685**	-,056	,803**	-,094*	,506**
	Sig. (bilatérale)	,000	,001	,000	,763		,000	,219	,000	,039	,000
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
LARFR	Corrélation de Pearson	-,097*	-,126**	,178**	-,337**	,685**	1	-,741**	,465**	-,725**	,922**
	Sig. (bilatérale)	,033	,005	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
RFR	Corrélation de Pearson	-,352**	,042	-,438**	,498**	-,056	-,741**	1	,100*	,940**	-,772**
	Sig. (bilatérale)	,000	,359	,000	,000	,219	,000		,028	,000	,000
	N	481	481	481	481	481	481	481	481	481	481
LONNO	Corrélation de Pearson	-,696**	-,124**	-,239**	,084	,803**	,465**	,100*	1	,157**	,374**

	,000	,817	,053	,043	,743	,004		,718	,001	,000	,010	,001	,015
longnoyaux	-,306	-,221	-,332	,087	,938**	,513	,117	1	,400	,103	,459	-,370	-,004
	,333	,490	,292	,788	,000	,088	,718		,198	,751	,133	,237	,989
largnoyaux	-,920**	-,088	,299	-,402	,545	,953**	-,810**	,400	1	-,828**	,946**	-,954**	,480
	,000	,785	,345	,195	,067	,000	,001	,198		,001	,000	,000	,114
rlonglargnoyaux	,885**	,033	-,573	,579*	-,109	-,762**	,992**	,103	-,828**	1	-,723**	,850**	-,677*
	,000	,919	,051	,049	,736	,004	,000	,751	,001		,008	,000	,016
pricipation	-,832**	-,181	,100	-,234	,553	,903**	-,708**	,459	,946**	-,723**	1	-,928**	,302
	,001	,574	,757	,463	,062	,000	,010	,133	,000	,008		,000	,340
ensoleil	,973**	,141	-,426	,556	-,492	-,917**	,839**	-,370	-,954**	,850**	-,928**	1	-,636*
	,000	,662	,167	,060	,104	,000	,001	,237	,000	,000	,000		,026
temperature	-,764**	,013	,880**	-,935**	,114	,475	-,680*	-,004	,480	-,677*	,302	-,636*	1
	,004	,967	,000	,000	,724	,118	,015	,989	,114	,016	,340	,026	

Tableau 3 corrélation entre les molécules composants des fruits et activité antioxydante

		var	fum	gali	oleo	café	oxydante
var	Corrélation de Pearson	1	-,111	-,027	-,373	-,763	,811
	Sig. (bilatérale)		,889	,973	,627	,237	,189
	N	4	4	4	4	4	4
fum	Corrélation de Pearson	-,111	1	,958*	,698	,724	-,072
	Sig. (bilatérale)	,889		,042	,302	,276	,928
	N	4	4	4	4	4	4
gali	Corrélation de Pearson	-,027	,958*	1	,824	,621	-,166
	Sig. (bilatérale)	,973	,042		,176	,379	,834
	N	4	4	4	4	4	4
oleo	Corrélation de Pearson	-,373	,698	,824	1	,668	-,672
	Sig. (bilatérale)	,627	,302	,176		,332	,328
	N	4	4	4	4	4	4
café	Corrélation de Pearson	-,763	,724	,621	,668	1	-,569
	Sig. (bilatérale)	,237	,276	,379	,332		,431
	N	4	4	4	4	4	4
oxydante	Corrélation de Pearson	,811	-,072	-,166	-,672	-,569	1
	Sig. (bilatérale)	,189	,928	,834	,328	,431	
	N	4	4	4	4	4	4

*. La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

Annexe 3 Tableau 1 : Températures moyens maxi et mini EB degré C° durant trois ans d'études

Lieu	Années	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jun	Juil	Aou	sep	Oct	Nov	Déc
<i>Mila</i>	2013Max	12.4	11	17.4	20.0	22.6	28.1	34.2	32.6	27.8	27.2	15	12.3
	2013 Min	4.5	3	7.5	6.9	8.9	13.8	16.9	16.7	15.2	14.3	6.4	3.4
	2014 Max	13.7	16.2	13.3	20.7	24.4	30.2	33.4	34.4	32.5	26.5	18.2	12
	2014 Min	4.0	4.5	4.6	9.2	11.6	16.3	18.5	20.5	19.4	15.6	12	4.9
	2015 Max	12.1	10.2	15.5	21.3	26.3	22.4	36.3	34.5	29.2	23.5	17.1	15.1
	2015 Min	2.5	2.2	5.1	8.1	12.4	14.8	19.1	19.1	15.1	14.6	8.6	5.3

Oleuropein and Antibacterial Activities of *Olea europaea* L. Leaf Extract

Himour S.

Laboratory Science Natural and Materials.
University Mentouri Constantine.

Yahia A.

Belattar H.

University Centre Abdelhafid Boussouf. Mila.

doi: 10.19044/esj.2017.v13n6p342

URL:<http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n6p342>

Abstract

In this study, we reported the determination of phenolic compounds in olive leaves by reversed phase HPLC/DAD and the evaluation of their *in vitro* activity against several microorganisms. These organisms might however, be causal agents of human intestinal and respiratory tract infections. Extract of the leaves of two varieties of *Olea europaea* L. (*Chemlel* and *Dathier*) was investigated for antibacterial activity against four pathogenic bacteria. Leaves extract was prepared using water and methanol (20/80) in a cold extraction process. The tested bacteria were *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The extracts were found to be effective against all isolates tests. Ethanolic extract at a concentration of 100 % presented the highest potential of inhibiting variety of *Dathier* against *S.aureus*. This is with an inhibition zone of 17.49 mm and 15.66 mm for the variety *Chemlel* against *S.aureus*. The high Oleuropein content and the important antibacterial activities of olive leaves extract could be useful sources for industrial extraction and pharmacological application.

Keywords: Antibacterial activity, *Olea europaea*, Oleuropein, HPLC

Introduction

Antibiotics are one of the most important weapons in fighting bacterial infections. It has greatly benefited the human's health since their introduction. However, over the past few decades, these health benefits are under threat as many commonly used antibiotics have become less and less effective against certain illnesses. This is not only because many of them produce toxic reactions, but also due to emergence of drug-resistant bacteria. It is essential to investigate newer drugs with lesser resistance. Traditional medicine has

remained the most affordable and easily accessible source of treatment in the primary health care system of poor communities (**Hosseinzadeh et al., 2015**).

Subsequently, the antimicrobial activity of a plant is highly related to secondary substances that are synthesized and produced by these plants. Secondary metabolites are substances of low molecular weight, which were not the products of the primary metabolic pathway of the producing organism. However, it was first thought to be of no advantage to the plant. Nowadays, it has been believed that they have vital functions (**Kant et al., 2010**).

Olea europaea preparations have been used widely in folk medicine in Mediterranean area. Olive leaf is one of the potent source of plant polyphenols having antioxidant, antimicrobial, and antiviral properties due to its rich phenolic content (**Aytul, 2010**).

The large number of phenolic compounds present in olive leaves aroused the interest of researchers around the world. Also, the studies with animals and humans have reported beneficial health effects such as the capacity of antioxidant, anti-hypertensive, hipo-glicemiant, hypocholesterol, anti-inflammatory, and as co adjuvant in the treatment of obesity (**Esmaeili-Mahani et al., 2010**).

The objectives of this work entail the determination of Oleuropein in the leaves of *Chemlel and Dathier*. Also, it aims to test the extract of *Olea europaea* for antibacterial activity .

Materials and Methods

Plant Material

Olea europaea leaves specimens are collected every autumn between October and November. The leaves we used in this experiment were collected in November 2014 from the region of Mila in the North East of Algeria. However, it was collected exactly from Maazouzi Lekhder station. The leaves were dried for twenty days at the ambient laboratory temperature (20-30°C).

They were milled to a fine powder in an electrical mill and stored in the dark at laboratory temperature in closed containers until required.

Preparation of *Olea europaea* Leaves Extract

The resulting powder is kept away from air, moisture, and light in tightly closed glass vials. To extract the polyphenols total, we took 5 g of each powder of olive tree leaves and macerate in 100 ml methanol for five days. After stirring, the recovered filtrate was dried in a rotary evaporator for 20 minutes at 60° C.

However, the polyphenols are then rest orated with 10ml of methanol (**Arab et al., 2013**).

Determination of Total Polyphenol Content

A diluted sample extract (2 ml) or phenolic standard was mixed with the Folin Denis reagent (2.5 ml) and aqueous sodium carbonate 20% (5 ml), in a 50 ml-volumetric flask. After 45 min, the volume constitutes water. Also, the total phenolic content was determined calorimetrically at 760 nm. The total phenolic content was expressed as mg of Gallic acid equivalents (GAE) per gram of dry weight (mg GAE/g) through the calibration curve of Gallic acid ($R_2 = 0.99$). The sample was analyzed in three replications (**Singelton et al., 1999**).

Determination of Total Flavonoids

The total flavonoids content of the leaf extract was determined according to the colorimetric assay developed by **Zhishen et al. (1999)**. The total flavonoids content was calculated from the standard curve of Quercetin ($10 - 250 \text{ mg. L}^{-1}$) plotted by using the same procedure. Hence, total flavonoids were expressed as mg Quercetin equivalents per gram of dried leaves.

HPLC Analysis of Olive Leaves Extracts

The HPLC analysis given in the literature was used for the identification and quantification of polyphenol compound (**Savournin et al., 2001**).

Consequently, HPLC analysis was performed on a SHIMADZU apparatus, manual injection valve, and UV detector model SPD20A. This was done using a column of $250 \times 4.60 \text{ mm}$ with per column, packing: Thermo Scientific ODS HYPERSIL C18. Furthermore data acquisition and quantitation were performed with SHIMADZU. The mobile phase was 92% distilled water acidified ($\text{pH}=3$) with 0.10 M orthophosphoric acid (v/v, 1000 : 2.30) and 21% acetonitrile (Carlo Erba, HPLC grade) acidified with 0.10 M orthophosphoric acid (v/v, 1000 : 2.30). The flow rate was 1 ml/min, and the injection volume was 20 μl . Routine quantitation of Oleuropein was assessed at 280 nm and run time was 8 min.

Determination of Antibacterial Activity of the Leaves Extract

All the bacteria tested (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) were grown on Mueller Hinton Agar. The antibacterial activity of the extract was measured by diffusion test on Mueller–Hinton agar. However, this was previously inoculated with 1 ml of bacterial suspension reactivated by culture during 18 h with microbial charge of (106 CFU/MI). Sterilized paper discs (6 mm) were impregnated with 20 μl of different concentrations of extract (100%, 50%, 25%) prepared in DMSO, and placed into nutrient agar. The plates were incubated at 4 $^{\circ}\text{C}$ for 2 h to allow

the diffusion of the active compounds in the medium. Negative controls were prepared using the same solvent employed to dissolve the plant extract. However gentamicin discs (10 µg, Oxoid, UK) had positive controls.

Plates incubation was performed at 37 °C for 24 h. Inhibition zones in mm (without disc paper diameter) around discs were measured. The antibacterial activity was expressed by the diameter of the inhibition zones produced by the extract against microorganisms which was tested (**Tagg & Mcgiven, 1971; Boudierba et al., 2012**).

Result and Discussion

The evaluation of yields of extracts reveals the following order, *Dathier*, higher than *Chemlal*. This difference was probably related to genetic feature of each variety since their growth is in the same climatic and geographical conditions. In addition the extraction was carried out with the same solvent. The total phenol (TP) and flavonoid (TF) content of olive leaves obtained from two varieties are shown in Table 1 below.

Table 1. Yield of extraction, total phenols, and total flavonoïdes in olive leaves extracts.

Varieties	Extraction yields(%)	Total phénols (TP) (mgGAE/g)	Total flavonoïdes (TF) (mgCE/g)
<i>Dathier</i>	33	49.6	71.8
<i>Chemlel</i>	34.40	84.4	85.3

Table 1 reveals the extraction yields, total phenols, and total flavonoids. The total phenolic and total flavonoid contents of the leaves of two varieties *Dathier* (49.6mg GAE/g and 71.8 mg QE/g) and *Chemlel* (84.4mg GAE/g and 85.3 mg QE/g) respectively were significantly higher than the values obtained by **Abaza et al. (2011)**. Furthermore, it is inferior than the values obtained by **Ben saleh et al. (2012)**. Phenolic compounds are important leaves constituents because they exhibit antibacterial activity (**Michele Hansen et al., 2002**)

HPLC Analysis of the Olive Leaves Extracts

Analysis of the olive leaf extract by HPLC illustrated a complex mixture of phenolic compounds in the two varieties, *Chemle* and *Dathier* (Figure 1).

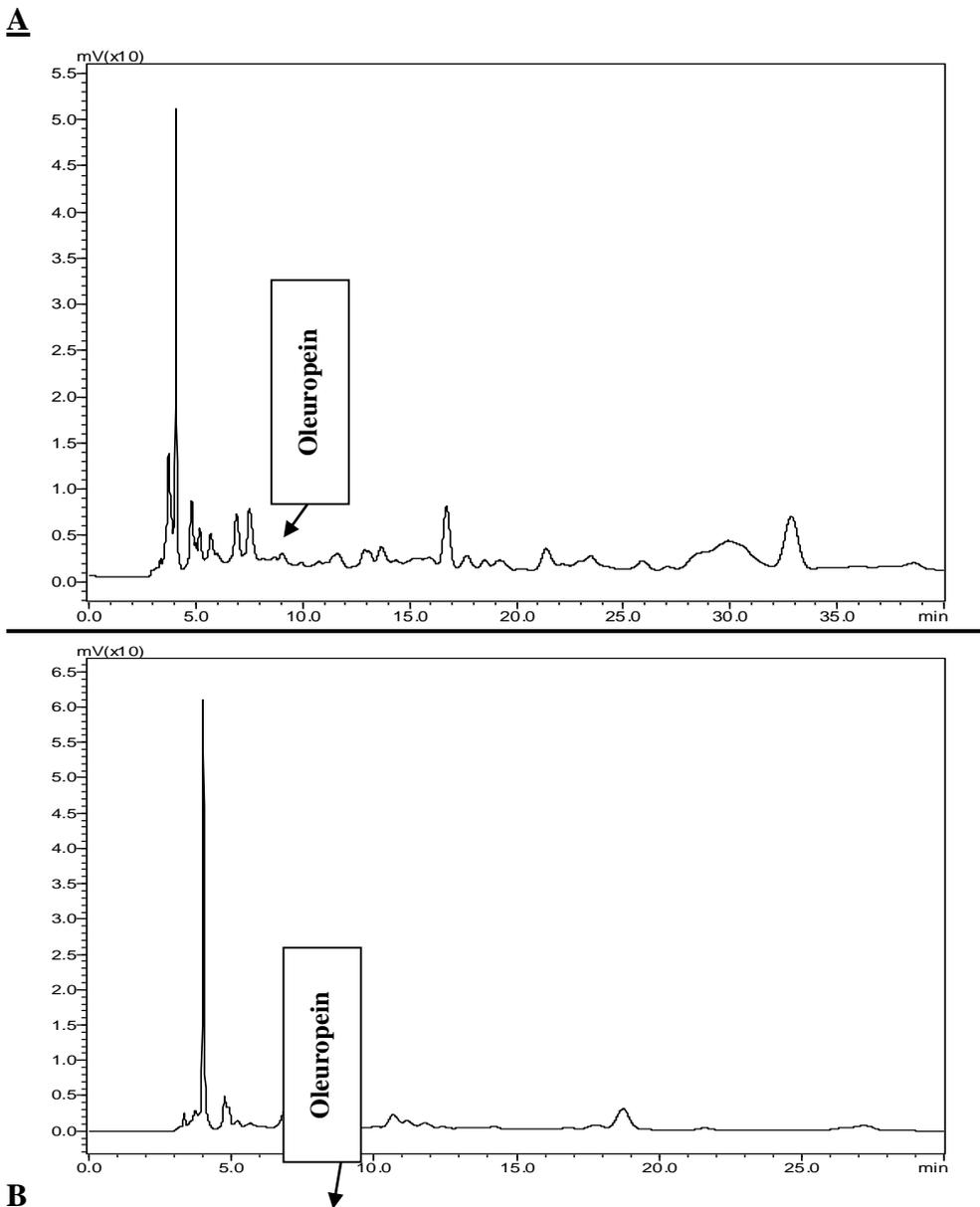


Figure 1. HPLC phenolic profile of olive leaf extract. (A *Dathier*, B *Chemlel*)

Subsequently if we compare our extract with the reference of Oleuropein Standard, we will find that this molecule appear in the run time of 8 minute (Figure 2).

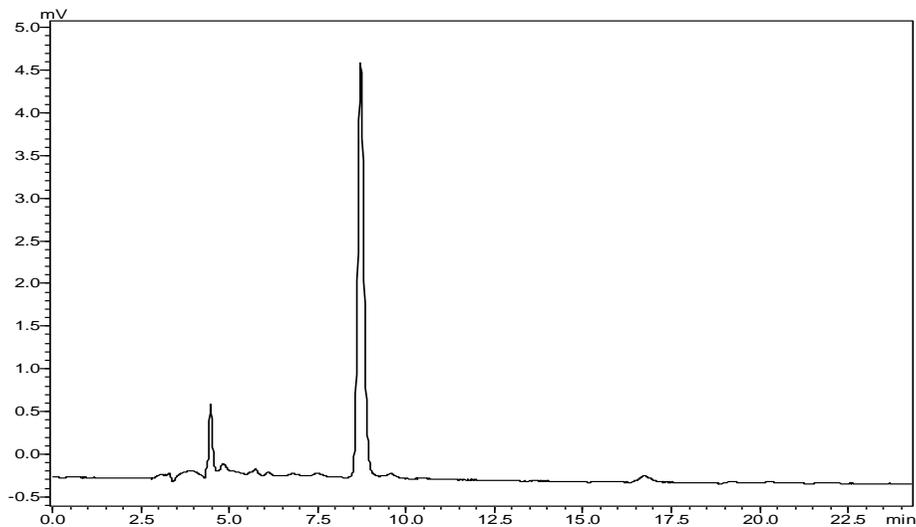


Figure2. HPLC Chromatogram of Oleuropein Standard.

To calculate the Oleuropein amount in the olive leaves extracts, a seven -point calibration curve ($R^2 = 0.99$) was constructed using the standard solutions (Tyrosol) with increasing concentrations (Figure 3).

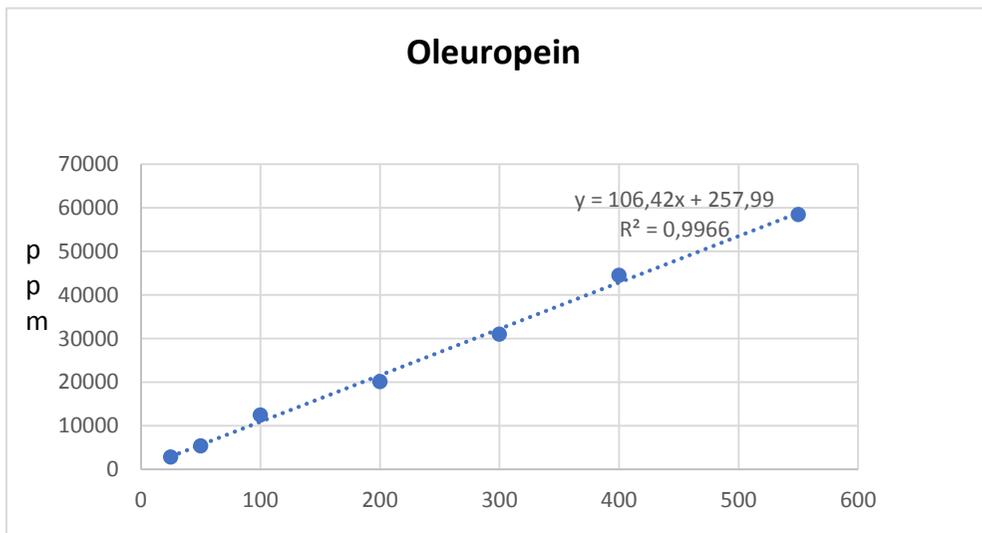


Figure 3. Calibration curve ($R^2 = 0.99$) of Oleuropein

The olive leaves contain higher amount of polyphenols than olive oil. For example, the amount of Oleuropein, which is the most abundant phenolic compound, ranges from 0.005% and 0.12% in olive oil. On the other hand, in olive leaves, it ranges between 1 and 14% (**Japon-Lujan et al., 2006**). In our study, Oleuropein was present in high amount in extracts from two varieties (Table 2).

Table 2. Quantification of the phenolic compounds in olive leaves extract

	Molecule	Run time min	Quantity mg / g
<i>Chemlel</i>	Oleuropein	7.61	0.703
<i>Dathier</i>	Oleuropein	7,504	0.891

The reference data of Oleuropein content in olive leaves were obtained by the classical technique of HPLC (**Savournin et al., 2001; Bouaziz & Sayadi, 2005**). The Oleuropein was eluted at $t_R = 8$ min T (Figure 2). However it was found to be the major phenolic compound (**Japon-Lujan et al., 2006; Mourtzinis et al., 2007; Altiok et al., 2008**). Comparing our results with those of other studies, the concentration of Oleuropein in our station were similar to those recorded in Syrian varieties and Iranian varieties as indicated by **Tayoub et al. (2012)**. The Oleuropein concentration in leaves of Syrian olive is between 4.3-8.2mg/g, while Iranian olive leaves is between 6.1-13-mg/g. (**Afaneh et al., 2015**) in their study, mentioned that the amount of Oleuropein in the leaves is 15.6 ± 0.16 mg/g **Nashwa et al. (2014)** found a quantity of 540mg/kg, while **Ben Salah et al. (2012)** found that it is between 30-52 mg/kg.

Antibacterial Activity

The diameter of hibition zone of the methanolic extract of olive leaves (*Chemlal, Dathier*), and two negative and positive controls with four bacterial strains (*E. coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus*). Were indicated in Table 3 and figure 4.

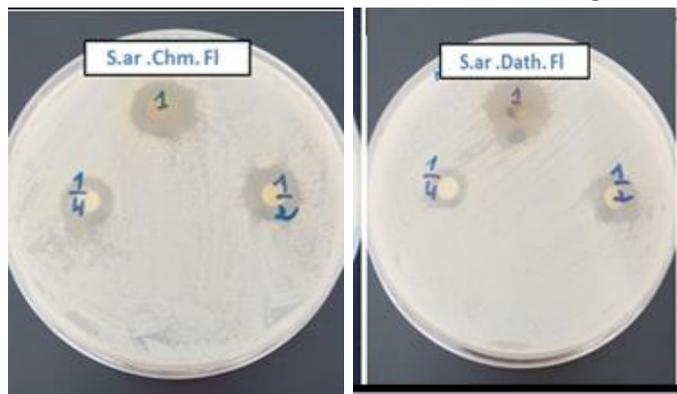


Figure 4. Zone of inhibition of olive leaves extracts against *Staphylococcus aureus*

Some researchers have sought the total polyphenols content of the olive showing that olive leaves are rich in bioactive phenolic compounds in comparison with olive oil and fruit (**Caponio et al., 2001**).

Several studies have shown the biological effects of a wild olive tree that shows its medicinal values. **Bouderba et al. (2012)** investigated the antibacterial activity of wild olive leaves in Algeria. However, they performed two different extracts (crude and aqueous) and results in response to the *E. coli* crude extract (15,3 mm), *K .pneumonia* (11,7mm), *P.aerugenosa* (13,3mm), and *S.aureus* (9mm). Furthermore, the aqueous extract of the zone of inhibition is (6,67mm) with *E.coli*, *K .pneumonia* (19,03mm), *P.aerugenosa* (25,01mm), and *S.aureus* (9,88mm).

Table 3. Zone of inhibition (mm) of olive leaves extracts against four bacterials strains

	Dilution	Escherichia coli	Klebsiella pneumonia	Pseudomonas aeruginosa,	Staphylococcus aureus)
Chemlel	100%	6.12	7.75	6.87	15.66
	50%	-	7.75	7	13.69
	25%	-	6.62	6.37	12.68
Dathier	100%	6.75	7.75	6.5	17.49
	50%	6.12	10.75	8	12.23
	25%	-	11.62	6.62	8.93
Gentamycine		16.47	16.30	20.60	21.28

Consequently, our extracts have shown an inhibition zone to be less than (**Bouderba et al., 2012**). This difference is a logical view that the oleaster is a plant rich in polyphenols compared to *Olea europaea*. Based on the results of **Aouidi, 2012**, the antimicrobial effect of olive leaves is due to its phenolic composition. Also, it has been reported by **Lee and Lee (2010)**. That these researchers also found that a mixture of phenolic compounds of olive leaves has greater antimicrobial activity than those phenolic compounds that were tested individually. They thus demonstrate the presence of antimicrobial effect of phenolic compounds from olive leaves. **Djenane et al. (2012)** mentioned that Oleuropein from olive leaves has a very strong vis-à-vis activity of *Staphylococcus aureus* (inhibition diameter = 30.18 mm).

Conclusion

This work has vividly shown that both methanolic extracts of the *Olea europaea* of two varieties (*Chemlel* and *Dathier*) have antibacterial property against the four potential pathogens. Phenolic compounds are important leaves

constituents because they exhibit antibacterial activity in leaves of *Olea europaea*, Oleuropein was found to be the major phenolic compound

Olive leaves can be included in the list of herbal medicines due to their high antimicrobial potential and lesser side effects. Hence, this extract and their components can be recommended for therapeutic purposes. Also, it can be used as an alternative source of medicine.

References:

1. Abaza L, Ben Youssef N, Manai H, Mahjoub Haddada F, Methenni K, et al. (2011). Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas y Aceites* 62: 96-104.
2. Afaneh I, Yateem H, & Al-Rimawi F (2015). Effect of Olive Leaves Drying on the Content of Oleuropein. *American Journal of Analytical Chemistry*, 6, 246-252.
3. Altioek E, Baycin, D, Bayraktar, O, & Ulku, S. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Sep. Purif. Technol.*, 62(2), 342-348.
4. Aouidi F (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'industrie agro alimentaire Thèse de *Doctorat Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie. Université du Carthage*. 140p.
5. Arab K, Bouchenak O, & Yahiaoui K. (2013). Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique SCIENCE* 09(3) 159–166
6. Aytul K.K (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of olive leaf extract and its food applications. A Thesis Submitted to the Graduate School of Engineering and Sciences of İzmir Institute of Technology.
7. Ben Salah M, Abdelmelek H & Abderraba M. (2012). Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. *Medicinal chemistry*. 2(5): 107-111.
8. Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente, J, Ortuno A, & Del Rio J. A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L-leaves. *Food Chemistry*, 68(4), 457-462.

9. Bouaziz M, & Sayadi S. (2005). Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 107, 497-504.
10. Boudierba N, Kadi N, Snouci H, Boumediem M & Moussaoui A. (2012) . Antibacterial activity and phytochemical screening of *Olea europaea* leaves from Algeria. *The Open Conference Proceedings Journal*,3,(Suppl1-M11),66-69.
11. Briante R., Patumi M., Febbraio F, & Nucci R. (2004). Production of highly purified hydroxytyrosol from *Olea europaea* leaf extract biotransformed by hyperthermophilic α -glycosidase. *Journal of Biotechnology.*, 111, 67–77.
12. Caponio F, Gomes T, & Pasqualone A. (2001). Phenolic compounds in virgin olive oils: influence of the degree of olive ripeness on organoleptic characteristics and shelf-life. *Eur Food Res Technol*, vol 212,; 329- 333. In Lalas S, Athanasiadis V, Gortzi O, Bounitsi M, Giovanoudis I, Tsaknis J, Bogiatzis F. Enrichment of table olives with polyphenols extracted from olive leaves. *Food Chemistry*, vol 127, 1521-1525.
13. Changwei A.O, Anpin Li, Abdelnaser A.E, Tran D.X, & Shinkichi T. (2008) .Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of *Ficus microcarpa* L. fil. extract. *Food Control.*; 19(10) 940–948.
14. Djenane D, Yangüela J, Derriche F. Bouarab L, & Roncales P . (2012). Olive tree leaf extract; in vitro tests on *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* and *Pseudomonas aeruginosa*; application in turkey meat .*Phytothérapie*. 2012, Volume 10, Issue 1, pp 10–18.
15. Esmaili-Mahani S, Rezaeezadeh-Roukerd M, Esmailpour K, Abbasnejad M, Rasouljan B, Sheibani V, Kaeidi A, & Hajjalizadeh Z. (2010). Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract *elicits antinociceptive activity*, potentiates morphine analgesia and suppresses morphine hyperalgesia in rats. *J.Ethnopharmacol*132 (1):200-205.
16. Harborne J.B (1998). Phytochemical methods - a guide to modern techniques of plant analysis. *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, 2(7), 1669-1678.

17. Hosseinzadeh S, Jafarikukhdan A, Hosseini A, & Armand R. (2015). The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. International Journal of Clinical Medicine, 2015, 6, 635-642.
18. Houghton PJ (1995). The role of plants in traditional medicine and current therapy. *J Alter Complement Med.* 1(2):131-43.
19. Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez JM, & Luque de Castro M D. (2006). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related polyphenols from olive leaves. *J Chromatogr A.* 2006; 1108: 76–82.
20. Kant RU, Pratibha, D, & Shoeb, A. (2010). Screening of antibacterial activity of six plant essential oils against pathogenic bacterial strains. *Asian J. Med. Sci.* 2(3), 152-158.
21. Kaskoos R A (2013). Pharmacognostic Specifications of Leaves of *Olea europaea* Collected from Iraq. Original Article *AJPCT*[2][2]153-160
22. Laguerre M, Lopez Giraldo J, Piombo G , Figueroa-Espinoza M.C, Pina M, Benaissa M, Combe A, Rossignol Castera A, Lecomte J, & Villeneuve P. (2009). Characterization of Olive Leaf Phenolics by ESI-MS and Evaluation of their Antioxidant Capacities by the CAT Assay. *J AmOil ChemSoc*, 86, 1215-1225.
23. Lee O.H and Lee B. (2010) .Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolic sin *Olea europaea* leaf extract .*Bioresource Technology* .101 3751–3754.
24. Malik N. S.A and Bradford J. M. (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in “Arbequina”olives. *Scientia Horticulturae* 110, 274-278.
25. Michele Hansen N.D , Andrew Verity N.D, Dip H , Dip N, Dip Irid. (2002). Olive Leaf Extract Potent Antibacterial, Antiviral and Antifungal Agent. Published in Australia by Goldgolf Pty. Ltd.28p.
26. Mourtzinis I, Salta F, Yannakopoulou K, Chiou A, & Karathanos V.T. (2007). Encapsulation of Olive Leaf Extract in β -Cyclodextrin. *J. Agric. Food Chem.*, 55 (20), 8088-8094.
27. Nashwa F.S, Morsy M. Abdel-Aziz E. (2014). Efficiency of olive (*Olea europaea* L.) leaf extract as antioxidant and anticancer agents.

- Journal of Agro alimentary Processes and Technologies , 20(1), 46-53.
28. Saviourin C, Baghdikian B, Elias R, Dargouth-Kesraoui F, et al. (2001). Rapid High-Performance Liquid Chromatography Analysis for the quantitative Determination of Oleuropein in *Olea europaea* Leaves. *J Agric Food Chem* 49: 618-621.
 29. Singleton VL, Orthofer R, & Lamuela-Raventos RM. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin– Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152–178.
 30. Tagg JR & Mcgiven AR (1971). Assay system for bacteriocins. *Applied Microbiology.*; 21(5) 943–944.
 31. Tayoub G, Sulaiman H, Hassan A H, Alorfi M. (2012). Determination of oleuropein in leaves and fruits of some Syrian olive varieties .*Int.J.Med .Arom.Plants*, issn2249-4340.vol2 n°3.pp 428/433.
 32. Trease GE, & Evans MD. (1989). A text book of Pharmacognosy, 13th Edn. Baillier, Tindal and Caussel, London. pp. 144 -148
 33. Zhishen, J. Mengcheng T, & Jian ming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, *Food Chem*1999, 64, 555–559.

Anticoagulant Activities of *Olea Europaea* Leaves and Fruit Extract

Himour Sara

Laboratory Science Natural and Materials.
University Centre Abdelhafid Boussouf. Mila.

Belhain Hayat

Bouketta Mehbouba

University Centre Abdelhafid Boussouf. Mila.

Doi: 10.19044/esj.2017.v13n30p90 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n30p90](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n30p90)

Abstract

The objective of this study is the evaluation of the anticoagulant activity of polyphenols obtained from extracts of the leaves, and fruits of olive (*Olea europaea* L.) of four varieties cultivated in the station Maazouzi Lakhdar (Mila, Algeria). The anticoagulant activity of the polyphenolic extracts, of the leaves and fruits of olive have been evaluated *in vitro*, using the test of Quick time (QT). The values of clotting time showed a surprising anticoagulant activity on the exogenous pathway of coagulation, significant in the case of leaves and fruits of the Chemlel variety.

Keywords: *Olea europaea* L., polyphenols, anticoagulant activity

Introduction

The olive tree (*Olea europaea* L.), is one of the major trees that is used since antiquity as an aromatic and medicinal plant and considered as a reservoir of natural compounds of high therapeutic value.

Several epidemiological studies have shown the relationship between the consumption of olive and olive oil, and the low incidence of cardiovascular diseases. In reality, the olive through its products, table olives and olive oil, has a more preventive use than a one because it represents a large part of the Mediterranean diet. The components/parts used in traditional medicine are the leaves and fruits (Bruneton, 1999).

In herbal medicine, the effect of many medicinal plants is assigned in whole or in part to the phenolic compounds of these plants. These substances have a wide range of biological *in vitro* activities, which make them beneficial to human health such as the antithrombotic effect, antiplatelet

agent, anti-inflammatory, vasodilator and hypotensive effects therefore (Boskou, 2009).

In addition, the cardiovascular diseases are the first cause of mortality in the world, with a number of deaths which will rise from 17.1 million in 2004 to 23.4 million in 2030 (WHO, 2008).

On the other hand, the lack of essential drugs, the lack of health care, the high cost of drugs and the search for drugs with a minimum of secondary effects explain the recourse to traditional practices based on medicinal plants. It is for that several studies are focused on the search for natural anticoagulants to treat these vascular pathologies.

In this context this study was inscribed aiming to evaluate *in vitro* the anticoagulant activity of the polyphenolic extracts of the leaves and fruits of a few varieties of olive *Olea europaea* L.

Plant material

The plant material used in our study is constituted of the leaves and fruits of four varieties of olive (*Olea europea* L.) : Chemlel, Sigoise, Rougette and Dathier. They were collected from Mila (station Maazouzi Lakhdar) during the month of October 2015.

Methods

We took forty leaves and fruits in a random manner for each variety. The fruits have been stoned, and then each material for extract (leaves and fruits) is placed in the oven at 40°C for 5 days to dry.

The dehydrated samples were triturated to obtain homogeneous samples of olive pulp pate and samples of a fine leaves powder. These last are stored in boxes, in glass, away from light and humidity, until the use for extract preparation.

Extraction of polyphenols

Having the objective to make an extraction of phenolic compounds, five grams of crushed olive leaves and fruits were added to a mixture of methanol and water (100 ml, 70: 30 (v / v)). The mixture was allowed to stand for 7 days at room temperature in the dark. Then, it was filtered using a 0.45 µm filter (Abaza *et al.*, 2007).

After filtration, the filtrate was evaporated using a rotavapor at a temperature of 60°C for a total elimination of methanol. When the solution becomes completely dry, it was retrieved with 100 ml of a mixture of methanol and water (70:30 (v/v)) then placed in a refrigerator.

Anticoagulant activity

The anticoagulant activity of the polyphenolic extracts of the leaves and fruits of olive was evaluated *in vitro* by the exogenous pathway of the coagulation on a normal plasma using a global test chronometric; the Quick time (QT).

The blood is obtained from a young adult as voluntary healthy non treaty, whose QT is normal, by venipuncture in sodium citrate 3.2% tube (9:1 v/v, blood: anticoagulant). The blood is then centrifuged for 5 minutes at 2500 rpm to obtain platelet poor plasma.

Quick time

The prothrombin time (PT), was developed by Armand Quick in 1935 for investigating patients with liver disease (Quick, 1935). PT measures the time to form the initial clot after tissue thromboplastin is added to the recalcified, citrated blood specimen, and is an expression of the extrinsic pathway. The PT is responsive to congenital or acquired deficiencies of factors VII, X, V, and II and fibrinogen (Wiesner, 2003).

An elongated time of coagulation compared to that of witness explained that the sample exercises an anticoagulant effect in this pathway of coagulation. The effect of olive polyphenols on the exogenous pathway of coagulation has been evaluated according to the protocol described by **Athukorala** and his collaborators, with some changes (Athukorala *et al.*, 2007).

On the one hand, we put 100µl of plasma already obtained in a witness tube which is then incubated for 2 minutes at 37°C. On the other hand, 50 µl of the polyphenolic extracts diluted with distilled water to 50% (1:1 (v/v)) was added to 100µl of plasma in each of the analyze tubes, then incubated at 37°C during an optimal time of 15 minutes. After the incubation, thromboplastine (200µl) pre-incubated at 37°C for 15 minutes was added and clotting time was recorded. The results are expressed by the clotting time in second (s).

The same operation was repeated three times in the same conditions for each variety.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed by the SPSS 21 software. The results are expressed using means \pm s tandard deviations (SDs). Parameters were compared between groups using analysis of variance (ANOVA) and the values of $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

Results and Discussion

In the purpose of seeking an extension at the clotting time of which is defined by an anticoagulant activity of olive extracts, this test is performed according to the method of Athukorala *et al.*, (2007). This classic test commonly known under the name of Prothrombin time (PT) explores the extrinsic pathway of blood coagulation where the tissue factor (thromboplastine) is the trigger of this pathway (Tripodi, 2009).

Table I: The results obtained for the anticoagulant activity (s).

	Sigoise	Chemlel	Rougette	Dathier
Leaves	27,80 ± 1,24 ^a ***	33,51 ± 2,04 ^a ***	22,61 ± 1,30 ^a ***	20,88 ± 1,24 ^a ***
Fruits	23,49 ± 0,53 ^a ***	32,13 ± 1,13 ^a ***	22,05 ± 0,13 ^a ***	24,90 ± 1,54 ^a ***

a: The average of the results achieved on 3 attempts ±SD.

***Highly significant difference.

The analysis of these results reveals the existence of a large variability between the QT values of leaves and fruits of four varieties of olive. This is confirmed by the analysis of variance (ANOVA); it emerges a highly significant difference in the QT in the presence of the polyphenolic extracts of the leaves and fruits (p<0.001).

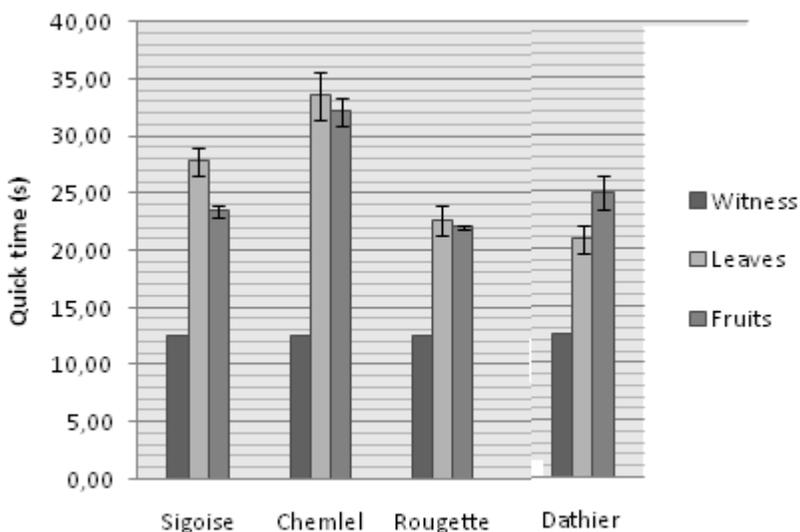


Figure n°01: The effect of the polyphenolic extracts of the leaves and fruits on the QT.

In a general way, it can be noted clearly that all the polyphenolic extracts studied exercise an anticoagulant activity. But the results show a remarkable variation of the values of this activity compared to the witness.

In the presence of polyphenolic extracts of the leaves, we note that there is a prolongation of QT in the order of 21,01s, 15,30s, 10,11s and 8,38s in comparison to the witness (12.5 s) noted respectively among the Chemlel, Sigoise, Rougette and Dathier varieties.

In addition, in the presence of polyphenolic extracts of the fruits, it is observed that the highest prolongations of QT are among the variety Chemlel (19, 63 s) followed by the variety Dathier (12.40 s). Then come the Sigoise and Rougette varieties by prolongations of the order of 10, 99 s and 9.55 s, respectively.

By comparing the QT of the leaves and fruits extracts, we note that the anticoagulant effect of the leaves is relatively high compared to the fruits.

A similar study conducted by Manallah (2013) who has worked on the polyphenolic extracts of the fruits of two varieties of olive (Khenfas and Bouchouk) has been obtained from the results of QT slightly higher compared to our results (34.6s and 40.1s, respectively).

These differences between the results can be explained by the variability between the varieties examined, the reagent used, and the method of polyphenol extraction which may also be responsible for these differences.

In addition, recent studies by Lemaoui (2011) concerning the evaluation of the anticoagulant *in vitro* activity of the essential oils of *Nigella sativa* L. seeds have shown that these oils rich in polyphenols may cause a prolongation at the level of the clotting time.

Conclusion

The present work is within the framework of *in vitro* evaluation of the anticoagulant activity of polyphenols extracted from leaves and fruits of four varieties of olive (*Olea europaea* L.).

The anticoagulant activity of the polyphenolic extracts was evaluated *in vitro* using the Test QT who says that the polyphenols exert a great anticoagulant activity on the exogenous pathway of the coagulation with a difference very highly significant between the four varieties studied. In effect, we have noticed that the polyphenolic extracts of the leaves and fruits of the variety Chemlel present a very interesting anticoagulant capacity with a time of QT prolongation of 21,01s and 19,63s in the presence of polyphenolic extracts of the leaves and fruits, respectively.

In the light of these results, it is apparent that the polyphenolic extracts of the leaves and fruits of olive can be used for the prevention of thrombosis, and as natural anticoagulants in food industries, cosmetics and pharmaceuticals.

References:

1. Abaza L, Talorete T.P.N, Yamada P, Kurita Y, Zarrouk M et Isoda H, 2007. Induction of Growth Inhibition and Differentiation of Human Leukemia HL-60 Cells by Tunisian Gerboui Olive Leaf Extract. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 71: 1306-1312.
2. Athukorala Y, Lee K.W, Kim S.K, Jeon, Y.J, 2007. Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, 98: 1711–1716.
3. Boskou D, 2009. Olive Oil. Minor Constituents and Health, Edition CRC Press. Boca Raton London New York, 229pp.
4. Bruneton J, 1999. Pharmacognosie: Phytochimie Plantes Médicinales. Techniques et Documentation, 3^{ème} Edit Lavoisier, Paris. 494pp.
5. Lemaoui A, 2011. Activités antioxydante et anticoagulante des huiles essentielles des graines de *Nigella sativa* L. Algérienne. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 72pp.
6. Manallah A, 2012. Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. En vue de l'obtention du diplôme de Magister en biochimie appliquée. Université Ferhat Abbas, Sétif. 81pp.
7. Quick A.J, 1935. The prothrombin in hemophilia and in obstructive jaundice. *J Biol Chem*; 109: 73-4.
8. Tripodi A, 2009. Tests of Coagulation in Liver Disease. *Clinics in Liver Disease*, 13: 55–61.
9. WHO, 2008. World Health Statistics 2008. 110pp.
10. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, *et al.* 2003. United Network for Organ Sharing Liver Disease Severity Score Committee. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor liver. *Gastroenterology*; 124: 91-6.

Résumé

La présente étude porte principalement sur le comportement biologique, physiologique et biochimique de l'olivier cultivé, *Olea europaea* L., représenté par quatre variétés: Sigoise, Rougette, Chemlel et Dathier échantillonnés à la station Maazouzi Lakhdar, Mila.

Les caractérisations morphologiques (quantitatives et qualitatives), relatifs aux feuilles, fruits et noyaux, décrits dans les descripteurs du Conseil Oléicole Internationale (COI, 2003), ont révélé des différences entre les variétés. L'ensemble des caractères morphologiques évalués durant les trois ans d'études (2013-2014-2015) ont révélé une différence significative entre les variétés étudiés, confirmé par des coefficients de variations variant de 2.81% à 39.14%. Des corrélations positives entre la moyenne de précipitation, la durée d'insolation et les caractères morphologiques varient de $r=0.839$ à 0.946 , et négative pour la largeur des fruits et noyaux avec la température.

Les résultats de l'analyse des données de la caractérisation biochimiques ont permis de constater une grande différence entre les variétés. La teneur en lipide la plus importante a été enregistrée chez Sigoise feuille et fruit, la Rougette a donné le meilleur teneur en sucres au niveau des feuilles, ainsi que chez Chemlel fruits. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs familles de composés naturelles dans les deux organes. La Rougette a été la variété dominante concernant la teneur en phénols et flavonoïdes totaux feuilles et fruits, et Dathier pour les tanins. L'analyse quantitative des composés phénoliques identifiés dans les extraits hydrométhanolique par HPLC a permis d'identifier quatre composés : acide fumarique, acide gallique, oleuropéine et acide caféique, sept composés dans les feuilles : acide fumarique, acide gallique, oleuropéine, 4-hydroxybenzoïque acide, acide caféique, acide élлагique et l'acide t-3 hydroxycinamique, avec une dominance importante de Oleuropeine.

L'évaluation du potentiel biologique des extraits des feuilles et fruits, a révélé une activité anticoagulante importante chez Chemlel pour les deux organes et un pouvoir antioxydant intéressant chez Rougette feuilles et Sigoise fruits. Tous les extraits présentent un pouvoir antibactérien important, les extraits des feuilles de Rougette ont donné une meilleure zone d'inhibition contre *S. aureus*.

Mots clés : *Olea europaea* L., morphologie, physiologie, HPLC, Oleuropéine, activité biologique, antioxydante, anti coagulantes, antibactériennes.

الملخص

تركز هذه الدراسة على السلوك البيولوجي والفسولوجي والبيوكيميائي لشجرة الزيتون *Olea europaea* L. ، المزروعة في مزرعة معزوزي الأخضر ميلا ، العينات متمثلة في أربعة أصناف سيقواز ، روجات ، شمال و داتي. الوصف المورفولوجي (الكمي والنوعي) ، المتعلق بالأوراق والثمار والنوى أنجز تبعا للوصف المقدم من المجلس الدولي للزيتون (2003,IOC) ، اظهر اختلافات بين الأصناف المدروسة خلال ثلاث سنوات (2013-2014-2015) حيث لوحظ فرق كبير بين الأصناف المدروسة و تم التأكيد باحتساب معاملات الاختلافات التي تراوحت بين 2.81% إلى 39.14% أيضا تراوحت الارتباطات الإيجابية بين متوسط هطول الامطار ومدة الإضاءة بالدراسة المورفولوجية 0.839 و 0.946 وكانت سلبية لعرض ثمار ونوى الزيتون مع درجة الحرارة.

كشفت نتائج التحاليل الخاصة بالدراسة البيوكيميائية عن وجود فرق كبير بين الأصناف. تم تسجيل أهم محتوى من الدهون في أوراق و ثمار صنف سيقواز ، وقدمت روجات أفضل محتوى السكر في الأوراق و فيثمار صنف شمال . وكشف التحليل النوعي الذي اجريناه من خلال الفحص الكيميائي النباتي عن وجود عدة عائلات من المركبات الطبيعية في كلا العضوين . كانت روجات الصنف المهيمن سواء الأوراق او الثمار لمحتوى العام الفينولي و فلافونويدى ، والدائي للعفصيات تم التعرف عن طريق التحليل الكمي من المركبات الفينولية المحددة في المستخلص الميثيلي من قبل HPLC على أربعة مركبات استخلصت من ثمار الزيتون : حامض الفيوماريك، حمض الغاليك، حامض الكافيك والاليروبيين و سبع مركبات في الأوراق: حامض الفيوماريك، حامض الغاليك، حامض الكافيك والاليروبيين , حامض- 4 الهيدروكسي بنزويك ، ، حامض الاليجيك و حامض 3-هيدروكسي سناميك، مع هيمنة كبيرة لمركب الاليروبيين.

تقييم القدرة البيولوجية للأوراق وثمار شجرة الزيتون ، كشفت عن وجود أحسن نشاط مضاد للتخثر عند صنف شمال في العضوين . و نشاط مضاد للأكسدة مثيرة للاهتمام عند روجات أوراق و سيقواز ثمار ايضا جميع المستخلصات تظهر قوة مضادة للبكتيريا هامة، خاصة مستخلصات أوراق في روجات التي أعطت أفضل منطقة تثبيط ضد *S. aureus*

الكلمات المفتاحية

اولياوروبيا.L ، مورفولوجيا، فيزيولوجية ، HPLC، أوليوروبيين، النشاط البيولوجي، مضادات الأكسدة، مضاد للتخثر، مضاد للبكتيريا .

Abstract

The present study focuses on the biological, physiological and biochemical behavior of the cultivated olive tree, *Olea europaea* L., represented by four varieties sampled at the Maazouzi Lakhdar station, Mila: Sigoise, Rougette, Chemlel and Dathier. The morphological characterizations (quantitative and qualitative), relating to the leaves, fruits and cores, described in the descriptors of the International Olive Council (IOC, 2003), revealed differences between the varieties. The set of morphological traits assessed during the three years of study (2013-2014-2015) revealed a significant difference between the varieties studied confirmed by coefficients of variation ranging from 2.81% to 39.14%. Positive correlations between mean precipitation, duration of insulations and morphological characters ranged from $r = 0.839$ to 0.946 , and negative for fruit width and nuclei with temperature.

The results of the analysis of the biochemical characterization data revealed a great difference between the varieties. The most important lipid content was recorded in Sigoise leaf and fruit, Rougette gave the best sugar content in the leaves, as well as in Chemlel fruits. The qualitative analysis performed by phytochemical screening revealed the presence of several families of natural compounds in both organs. Rougette has been the dominant variety for total leaf and fruit phenol and flavonoid content, and Dathier for tannins. Quantitative analyzes of the phenolic compounds identified in the hydromethanol extracts by HPLC identified four compounds: fumaric acid, gallic acid, oleuropein and caffeic acid, seven compounds in the leaves: fumaric acid, gallic acid, oleuropein, 4-hydroxybenzoic acid acid, caffeic acid, ellagic acid and t-3 hydroxyroamic acid, with a significant dominance of Oleuropein.

The evaluation of the biological potential of leaf and fruit extracts, revealed a significant anticoagulant activity in Chemlel for both organs and an antioxidant power of interest in Rougette leaves and Sigois fruits. All extracts have an important antibacterial power, extracts of leaf at Rougette gave a better zone of inhibition against *S. aureus*.
Key words: *Olea europaea* L., morphology, physiology, HPLC, Oleuropein, biological activity, antioxidant, anticoagulant, antibacterial.

Nom et prénom Himour Sara

Date de soutenance : 15/05/2018

Thème : Comportements biologique, physiologique, biochimique et l'activité biologique de quatre variétés de l'olivier (*Olea europaea* L.) dans l'Est Algérien.

Nature de diplôme : Doctorat en Science Biologie Végétale, Spécialité: Biodiversité et production Végétale

Résumé

La présente étude porte principalement sur le comportement biologique, physiologique et biochimique de l'olivier cultivé, *Olea europaea* L., représenté par quatre variétés: Sigoise, Rougette, Chemlel et Dathier échantillonnés à la station Maazouzi Lakhdar, Mila.

Les caractérisations morphologiques (quantitatives et qualitatives), relatifs aux feuilles, fruits et noyaux, décrits dans les descripteurs du Conseil Oléicole Internationale (COI, 2003) ont révélé des différences entre les variétés. L'ensemble des caractères morphologiques évalués durant les trois ans d'études (2013-2014-2015) ont révélé une différence significative entre les variétés étudiés, confirmer par des coefficients de variations varient de 2.81% à 39.14%. Des corrélations positif entre la moyenne de précipitation, la duré d'insolations et les caractères morphologiques varient de $r=0.839$ à 0.946 , et négative pour largeur des fruits et noyaux avec la température.

Les résultats de l'analyse des données de la caractérisation biochimiques ont permis de constater une grande différence entre les variétés. La teneur en lipide la plus importante à été enregistrée chez Sigoise feuilles et fruits, la Rougette a donné le meilleur teneur en sucres au niveau des feuilles, ainsi que chez Chemlel fruits. L'analyse qualitative réalisée par un screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs familles de composés naturelles dans les deux organes. La Rougette été la variété dominante concernant la teneur en phénols et flavonoïdes totaux feuilles et fruits, et Dathier pour les tanins. L'analyses quantitatives des composés phénoliques identifiés dans les extraits hydrométhanolique par HPLC a permis d'identifier quatre composés : acide fumarique , acide gallique ,oleuropéine et acide caféique, sept composés dans les feuilles : acide fumarique , acide gallique ,oleuropéine ,4- hydroxybenzoïque acide , acide caféique ,acide éllagique et l'acide t-3 hydroxycinamique, avec une dominance important de Oleuropeine .

L'évaluation du potentiel biologiques des extrais des feuilles et fruits, a révélé une activité anticoagulante importante chez Chemlel pour les deux organes et un pouvoir antioxydant intéressant chez Rougette feuilles et Sigoise fruits .Tous les extraits présentent un pouvoir antibactérien important, les extraits des feuilles de Rougette ont donné une meilleure zone d'inhibition contre *S. aureus*.

Mots clés : *Olea europaea* L., morphologie, physiologie, HPLC, Oleuropéine, activité biologique, antioxydante, anticoagulante, antibactérienne.

Laboratoire de recherche : Science Naturel et Matériaux Mila

Jury d'évaluation :

Président : Baka Mebarek	Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine 1
Rapporteur : Yahia Abdelouahab	Professeur Centre universitaire Abdelhafid Boussouf	Mila
Examineurs :		
Khelif Douadi	Professeur Université des Frères Mentouri	Constantine 3
Kadi Kenza	MCA Université Abbes Leghrour	Khenchela
Bazri Kamel Eddine	MCA - Université des Frères Mentouri	Constantine 1
Boubendir Abdelhafid	MCA Centre universitaire Abdelhafid Boussouf	Mila