



## (12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication : **MA 34778 B1** (51) Cl. internationale : **G01N 21/00**

(43) Date de publication :  
**02.01.2014**

---

(21) N° Dépôt :  
**34901**

(22) Date de Dépôt :  
**29.05.2012**

(71) Demandeur(s) :  
**UNIVERSITÉ SOULTAN MOULAY SLIMANE (USMS), Présidence USMS BP 591, AV. IBN KHALDOUN, CP23000 Beni MELLAL (MA)**

(72) Inventeur(s) :  
**OUSSAMA ABDELKHALEK**

---

(54) Titre : **élaboration d'une nouvelle méthode d'identification des variétés d'oliviers (plants de quelques dizaines de jours)**

(57) Abrégé : LES TECHNIQUES CHIMIOMÉTRIQUES COUPLÉES AUX DONNÉES DE L'ANALYSE INFRAROUGE FTIR (FOURIER TRANSFORMÉ INFRAROUGE SPECTROSCOPIE) ONT ÉTÉ APPLIQUÉES SUR DES ÉCHANTILLONS DE FEUILLES DE JEUNES PLANTS D'OLIVIERS, ONT PERMET D'ÉLABORER UN MODEL D'IDENTIFICATION DE DIFFÉRENTES VARIÉTÉS CLONES ISSUES DE LA PICHOLINE MAROCAINE. L'IDENTIFICATION DES PLANTS D'OLIVIERS AUX STADES JEUNES, CONSTITUE UN OUTIL PRINCIPAL AUX SERVICES D'AGRICULTURES CONCERNÉS ET UN ENJEU ÉCONOMIQUE DE GRANDE VALEUR IMPORTANCE. CES TECHNIQUES GARANTISSENT LES MEILLEURES PERFORMANCES EN MATIÈRE DE CAPACITÉS DE PRÉVISION POUR LA CLASSIFICATION ET L'IDENTIFICATION DE NOUVEAUX ÉCHANTILLONS ET EN MATIÈRE COÛT.

## Résumé

Les techniques chimiométriques couplées aux données de l'analyse infrarouge FTIR (Fourier Transformé Infrarouge spectroscopie) ont été appliquées sur des échantillons de feuilles de jeunes plants d'oliviers, ont permis d'élaborer un modèle d'identification de différentes variétés clones issues de la Picholine marocaine. L'identification des plants d'oliviers aux stades jeunes, constitue un outil principal aux services d'agriculture concernés et **un enjeu économique de grande valeur importance.** Ces techniques garantissent les meilleures performances en matière de capacités de prévision pour la classification et l'identification de nouveaux échantillons et en matière coût.

34778  
02 JAN 2014

ELABORATION D'UN NOUVEAU PROCÉDE D'IDENTIFICATION DE LA  
VARIÉTÉ DES JEUNES PLANTS D'OLIVIERS (DE QUELQUES SEMAINES)

I- DESCRIPTION

L'olivier (*Olea europaea* L.) est une espèce méditerranéenne d'une grande biodiversité, elle compte des centaines de variétés. Toutefois, leur identification est généralement difficile, et confrontée à des problèmes taxinomiques (homonymie ou synonymie). Les travaux d'identification des différentes variétés d'olivier sont nombreux et ils ont porté sur divers caractères relatifs à la feuille, le fruit et l'endocarpe, ou en combinant des caractères morphologique, agronomiques et phénologiques. Les résultats issus de ces études sont importants et malgré l'instabilité de certains caractères, ils ont contribué à la résolution de nombreux problèmes d'homonymie et de synonymie. Dans le but de raffiner et d'optimiser l'identification des variétés d'autres études basées sur les marqueurs génétiques ont été entreprises.

Au Maroc, la variété « Picholine marocaine » qui est la plus répandue, elle occupe plus de 98% des plantations d'olivier au Maroc (Boulouha et al., 1992; Bamouh, 1998). A partir de cette variété, une sélection clonale, a abouti à deux variétés nommées « Haouzia » et « Menara » (Boulouha 1995). Parallèlement aux travaux de recherches relatifs à la caractérisation et l'identification des différentes variétés à l'échelle internationale, et tout récemment, Zaher et al., 2011, ont combiné les caractères morphologiques relatifs à la feuille, le fruit et l'endocarpe et des marqueurs moléculaires « les microsatellites » pour différencier des variétés méditerranéennes et des clones issus de la Picholine marocaine, dont fait parti, la Menara et l'Houzia. Un total de 15 caractères morphologiques et 20 microsatellites ont été utilisés dans cette étude. Bien que les résultats soient importants, la masse de données qu'il faut analyser, le coût en termes de temps et d'argent, rendent l'opération d'identification délicate.

Ces différentes variétés d'oliviers, présentent des caractères agronomiques en terme d'adaptabilité, de productivité et de résistances aux maladies bien différentes. Ces caractéristiques constituent les critères de choix des agriculteurs envers ces variétés. D'autant plus que l'état marocain achète des millions de plants d'olivier de différentes variétés annuellement et le distribue aux agriculteurs dans le cadre de développement des zones rurales. **L'identification ainsi, est un enjeu économique très important.**

Dans ce sens et pour faciliter l'identification des différentes variétés et clones d'oliviers, ce projet de recherche a développé un modèle mathématique et spectrométrique à plusieurs variables en mesure de caractériser avec une grande précision un plant d'olivier à partir d'une feuille. Les techniques de classification principales, ont été appliquées aux données de l'analyse FTIR (transformée de Fourier) des échantillons de feuilles d'oliviers. Ces techniques garantissent les meilleures performances en matière de capacités de prévision pour la classification des éléments nouveaux, surtout décrite par un grand nombre et les différents groupes de variables.

La procédure d'analyse et de contrôle, est rapide mais en même temps avec une grande fiabilité est d'une grande importance à fournir les renseignements sans réactifs ni préparations et en un temps très court et moins coûteux.

### **1- Échantillons feuilles d'Oliviers :**

Les feuilles d'oliviers de deux variétés différentes (Picholine Languedoc, Picholine Marocain) et deux clones de la picholine marocaine ( Haouzia et Menara ) ont été utilisées dans ce travail. Des feuilles de chacune des variétés et clones ont été prélevées à partir de plantes d'une année, cultivées dans les mêmes conditions climatiques et géographiques.

### **2- Data**

**Ensemble de 40** échantillons d'oliviers ont été utilisés (32 pour le jeu de calibrage et 8 pour le jeu de validation).

### **3- Instrumentation**

Les spectres infrarouges ont été acquis sur un Bruker Vector 22 à transformée de Fourier (IRTF) équipé d'un détecteur de sulfate de triglycine deutéré (DTGS). Les mesures ont été effectuées en utilisant une seule réflexion diamant réflexion totale atténuée (ATR) (accessoire applicable avec pression de l'échantillon) (Dura Samp IR). La numérisation et la résolution ont été optimisées pour 98 scans et 4  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement, avec un bon rapport signal sur bruit. Le spectre de l'élément ATR propre et sec à l'air, a été utilisé comme arrière-plan.

### **4- Mesures spectroscopiques**

Les échantillons d'oliviers ont été analysés après le retrait de la branche. L'échantillon a été déposé directement entre le diamant de la vice de serrage. Les spectres ont été numérisés en mode absorbance 4000 à 600  $\text{cm}^{-1}$  et les données ont été traitées avec OPUS Logiciel. Le logiciel (Opus 4,0 TMS) monté sur le spectromètre de Fourier dans l'infrarouge à transformer utilisée dans cette étude permet l'acquisition automatique des spectres sans aucune forme de manipulation de l'ordinateur qui peut nuire à la qualité des résultats. Le transformée de Fourier est calculé automatiquement par le logiciel avant l'acquisition des spectres. Pour ATR-FTIR mesure, il était nécessaire de maintenir une pression contrôlée et assurer un bon contact entre l'échantillon et la surface du diamant.

Le spectre de l'Air a été pris comme référence pour le spectre de fond avant chaque prélèvement. Entre spectres, la plaque ATR a été nettoyée avec une solution d'éthanol, ce qui permet de sécher l'ATR. La propreté a été vérifiée par prélèvement d'un spectre de fond en comparant le spectre de fond précédent.

### **5- Méthodes Chimométriques:**

#### **a/ Partial Least Squares**

La PLS est une analyse surveillée sur la base de la relation entre l'intensité de signal et les caractéristiques de l'échantillon [28]. Tous les algorithmes PLS construisent un modèle de régression entre deux blocs (matrices de données) X et Y, en utilisant comme variables latentes leurs représentation, calculée de sorte qu'ils expliquent les directions de covariance

maximale. Y peut être un vecteur (dans PLS1) ou une matrice (dans PLS2). L'équation générale de toutes les méthodes d'étalonnage inverses, tels que PLS, est la suivante:

$$Y = X + B B_0 \quad (1)$$

$$X = T P T + E$$

$$Y = T Q T + F$$

T = score matrice

P et Q = matrices de chargement

E et F = matrices d'erreurs

Où X et Y sont représentés par leurs variables latentes et B contient les coefficients de régression déterminés dans l'étape d'étalonnage. Différents algorithmes ont été développés pour calculer les modèles PLS.

#### **b/ Méthodes d'analyse discriminante PLS-**

La régression PLS n'est pas en soi adaptée aux problèmes de reconnaissance des formes, comme des fins de classification. Cependant, cette technique peut être adaptée pour la classification. PLS est effectuée en utilisant un binaire de codage exclusif avec un bit par classe. Pour la codification de la variété l'olivier, les quatre types de plants ont été classés dans les quatre groupes. Par conséquent, pour chaque échantillon, l'origine peut être représentée par un vecteur de sortie cinq dimensions avec 1 à la position correspondante à l'origine des variétés et 0 aux autres postes. Comme par exemple, les échantillons numérotés 2, qui appartiennent à la variété Picholine du Languedoc de, seront codifiées par le vecteur {0, 1, 0, 0, 0}. Pendant le processus de calibrage, la méthode D-PLS est formée pour calculer les valeurs d'adhésion quatre', un pour chaque classe; l'échantillon est ensuite affecté à la classe montrant la valeur la plus élevée des membres. Quatre modèles ont été calculés, l'un pour chacune des origines. La performance des modèles d'étalonnage a été estimée à partir du pourcentage d'échantillons correctement classés (CC%).

**c. Logiciel :** Les applications chimiométriques ont été réalisées en utilisant la version d'un logiciel spécifique.

Les résultats de ce travail ont fait preuve de l'existence d'une différenciation claire de ces variétés d'oliviers à partir de leurs feuilles. Le modèle de classification obtenu, prouve que la classification des échantillons provenant de différentes variétés, est possible avec le couplage de techniques chimiométriques et de la spectroscopie FTIR. Les modèles de classification obtenus, mise à part l'intérêt scientifique, ils peuvent être d'une grande utilité pour le contrôle et l'identification des plants d'oliviers aux stades jeunes et constituent ainsi un outil d'appui aux services d'agriculture concerné par le contrôle et la certification des plantes, d'une part. D'autre part, contrairement aux autres méthodes basées sur les caractères morphologiques, cette technique est rapide et simple, ne demande aucun traitement chimique des échantillons, en plus de sa précision et de son coût moins cher.

## REVENDEICATIONS

**1-Le procédé d'identification de la variété de jeunes plants d'oliviers, comprend essentiellement les étapes suivantes:**

**A) Analyse spectroscopique infrarouge (2) par réflexion sur ATR des échantillons de plants d'oliviers.**

**B) Traitement des spectres par des programmes spécifiques (3) pour l'élaboration d'un model chimiométrique de reconnaissance de plants.**

**2 - Le procédé d'identification de la variété de jeunes plants d'oliviers selon la revendication 1, se fait par analyse simple infrarouge sans préparation ni traitement chimique et biochimique des feuilles de plans, en les soumettant juste aux radiations infrarouge sur l'accessoire ATR.**

**3 - Le procédé d'identification de la variété de jeunes plants d'oliviers selon la revendication 1 et 2, se termine par le transfert et le traitement de données sur le programme, pour l'aboutissement d'un model spécifique et précis. Sa validation se fait sur des échantillons dont l'origine est connue avant de l'appliquer aux nouveaux échantillons.**

Photo d'un spectromètre infrarouge FTIR

