

## **IMPACT DU SYNDROME DE LA FEUILLE JAUNE SUR LA CANNE À SUCRE (\*)**

*Nesrin CHRIKI* <sup>(1)</sup>, *Abdelmajid NADIF* <sup>(2)</sup>,  
*Mohammed OUHSSINE* <sup>(1)</sup>, *Fatima NEJJAH* <sup>(1)</sup>

*Les caractéristiques technologiques et microbiologiques du jus de canne de la variété de Canne à sucre CP66-346, infectée par le virus du syndrome de la feuille jaune ou assainie après culture de méristèmes, sont exposées. Le jus de la canne infectée présente une flore microbienne développée, contribuant à une diminution du pH et de la pureté et une augmentation de l'acidité et de la formation de dextranes.*

### **INTRODUCTION**

La Canne à sucre n'a cessé de voir sa productivité et ses superficies décroître au fil des années au Maroc. De 17000 ha en 1998, elle est passée à 13700 ha en 2005. Outre le gel qui a provoqué en 2005 des pertes en tonnage et en qualité dépassant toute prévision, la Canne à sucre est soumise principalement à des maladies d'origine virale [9] : virus bacilliforme, virus de la mosaïque qui a touché complètement les variétés tolérantes au gel, et virus de la feuille jaune ou SCYLV (sugarcane yellow leaf virus),

---

(\*) *Manuscrit reçu le 14 mai 2006.*

(1) *Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, 14000 Kénitra, Maroc. chrikinesrin@yahoo.fr, ouhssine40@yahoo.fr, fatima\_nejjah@yahoo.fr*

(2) *Office régional de Mise en Valeur agricole du Gharb, CTCS (Centre technique des Cultures sucrières), BP 79, 14000 Kénitra, Maroc. nadif22003@yahoo.fr*

responsable du syndrome de la feuille jaune ou YLS (yellow leaf syndrom) en association avec un phytoplasme, le SCYP (sugarcane yellows phytoplasma) [12]. Le YLS apparaît largement répandu à travers le monde.

Pour éviter l'importation de boutures de nouvelles variétés infectées, un système de quarantaine a été instauré. Jusqu'en 1999, les importations marocaines provenaient pour la plupart de la station américaine de Canal Point (CP) en Floride qui livrait ses variétés à titre gracieux. Les importations ont été suspendues suite à la détection du SCYLV. Le syndrome de la feuille jaune a été identifié au Maroc en 1998 [10]. Des analyses sérologiques effectuées au niveau de la quarantaine sous l'autorité de la Direction de la Protection des Végétaux (DPVCTRF) sur 44 variétés originaires de divers pays ont montré qu'elles étaient contaminées par le SCYLV et on a procédé à leur destruction. Elles étaient importées soit pour leur productivité telles que les variétés américaines (variétés CP), soit pour leur résistance telles que les variétés argentines (variété TUC, Trade Union Congress), ou encore pour leur précocité et leurs performances technologiques telles que les variétés taiwanaises (variété 'ROC').

Les symptômes YLS consistent en un jaunissement intense de la nervure centrale, alors que le limbe reste souvent vert (Figure 1).



*Fig. 1 : Symptômes de la maladie de la feuille jaune observés dans la plaine du Gharb dans un champ de Canne à sucre variété CP66-346.*

Il s'ensuit une perte de rendement très importante comme pour la variété 'H65-7052' à Hawaii et 'CP72-1210' en Floride [5]. Au Brésil, le rendement de la variété 'SP71-61' a baissé de 40 à 60 % [8]. À La Réunion, cette maladie a causé des pertes de 10 % de sucre et 36 % de tonnage [14].

Devant cette situation très critique, des variétés indemnes de virus ont été obtenues par culture *in vitro*, notamment par culture de méristèmes [2,4,7,etc.]. Dans ce travail, nous comparons le jus de Canne à sucre d'une variété infectée par le YLS et assainie par culture de méristèmes.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Origine des échantillons

Cette étude a concerné le jus de la variété 'CP66-346' infectée par le virus du syndrome de la feuille jaune (SCYLV) et celui de la même variété assainie par culture *in vitro* de méristèmes [4].

Dix tiges de canne de pieds différents sont prélevées de parcelles infectées des champs du Centre technique des Cultures sucrières de Kénitra. Elles sont tronçonnées et réduites dans un broyeur Jeffco Cutter-Grinder. Le broyat est pressé (presse Pinette Emidecau) 1,5 min à 250 bars. 500 ml de jus sont récupérés dans un flacon préalablement stérilisé puis utilisés immédiatement pour les analyses physico-chimiques et microbiologiques. Le reste du jus est conservé au congélateur. Les essais ont été répétés dix fois.

### Analyse physico-chimiques

On utilise un pH mètre Orion Research à électrode de verre à lecture directe. Le jus de canne est placé dans un Becher à  $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$  en présence d'un agitateur magnétique.

L'acidité du jus est déterminée sur 20 ml par titration par la soude N/14 en présence de phénophtaléine dont le pH de virage est environ 8,2. L'acidité est exprimée en g/l de chaux. 1 ml de soude N/14 correspond à une acidité exprimée en chaux de 0,1 g de CaO/l pour une prise d'essai de 20 ml.

À l'aide d'un polarimètre Saccharimat, on établit la teneur en sucre exprimée en g de saccharose par 100 ml.

À l'aide d'un réfractomètre Réfractomat, on obtient le nombre de g de solides solubles pour 100 g d'eau, appelé le degré Brix, pour une température de 20°C. Cette matière sèche soluble ne renferme pas que du saccharose. On a aussi d'autres sucres, des substances organiques et minérales.

On en déduit la pureté, pourcentage de saccharose dans la matière sèche du jus de canne : pureté = (polarité / Brix) x 100.

Pour déterminer la teneur en dextrans éventuellement produits par des microorganismes, on commence par éliminer les protéines par précipitation à l'acide trichloracétique suivie d'une filtration. À 100 ml de jus, 20 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés ainsi que 2 g de décalite qui facilitent la filtration sous vide sur papier Whatman n°4. Les dextrans, polymères de glucose essentiellement en 1-6, ont la particularité de former avec l'éthanol un trouble. À 12,5 ml du filtrat, on ajoute 12,5 ml d'éthanol absolu et on mesure le trouble formé avec un spectrophotomètre (Cecil instruments) à 720 nm après 20 min. On effectue la mise à zéro par un témoin composé de 12,5 ml du filtrat et 12,5 ml d'eau. Une gamme étalon (0 à 800 ppm de dextrans Pharmacia T2000 dans une solution de saccharose) est établie pour calculer les dextrans en ppm (mg x 1000) à partir des valeurs de l'absorbance A.

Puis on calcule le pourcentage de dextrans dans la matière sèche en ppm Brix : dextrans (ppm % Brix) = dextrans (ppm) x 100 / Brix

### **Analyses microbiologiques**

Pour le dénombrement de la flore microbienne, le jus est prélevé stérilement. Des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  sont réalisées dans de l'eau physiologique stérile (NaCl 0,9 %).

L'ensemencement est réalisé sur des milieux de culture solide. Un ml de chaque dilution est ensemencé en profondeur à raison de trois boîtes de Petri de 8 cm de diamètre par dilution. Les milieux gélosés sont autoclavés 20 min à 120°C. Après refroidissement vers 45°C, ces milieux sont coulés sur l'inoculum à raison de 15 ml par boîte. Les boîtes sont agitées doucement à la main afin d'avoir des colonies isolées. Après 72 heures d'incubation à 30°C, les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 30 et 300, sont retenues pour le comptage.

Le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) a été effectué sur milieu TSA (Trypticase Soja Agar), selon la méthode préconisée par Bourdarel et Ramirez [1]. Le TSA est un milieu riche non sélectif permettant le développement de tous les germes n'ayant pas d'exigence particulière. Son pH est ajusté à 7.

Les levures et les moisissures sont dénombrées sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) ajusté à pH 5,5.

Le dénombrement des bactéries lactiques est effectué sur milieu MRS, solidifié par 15 g/l d'agar et ajusté à pH 6,5.

## RÉSULTATS

Le pH du jus de Canne à sucre malade est faible par rapport à celui de canne assainie (Tableau I). L'acidité est aussi significativement plus élevée chez les plantes malades.

Le jus de canne infectée par YLS a un taux de dextrans très élevé par rapport au jus de canne saine.

Le Brix a enregistré une augmentation de 14 % chez la plante infectée. Par contre, la pureté a diminué de 19,6 %.

Les dextrans augmentent de 85 %.

**Tableau I :**  
**Caractéristiques technologiques et microbiologiques du jus de Canne à sucre de la variété CP66-346 infectée par le virus de la feuille jaune et assainie (n = 10).**

|   | CP66-346            |                      |                     |                      |
|---|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
|   | infectée            |                      | assainie            |                      |
| <b>pH</b>                                   | 5,38                | ± 0,33               | 6,51                | ± 0,24               |
| <b>Acidité</b> (g CaO/l)                    | 0,418               | ± 0,03               | 0,309               | ± 0,03               |
| <b>Polarité</b> (g saccharose / 100 ml jus) | 17,62               | ± 1,99               | 19,164              | ± 1,09               |
| <b>Brix</b> (g solides solubles /100 g eau) | 24,46               | ± 2,34               | 21,38               | ± 2,88               |
| <b>Pureté</b> (%)                           | 72,0                | ± 4,73               | 89,6                | ± 2,5                |
| <b>Dextrans</b> (ppm Brix)                  | 1977                | ± 234                | 1069                | ± 147                |
| <b>FMAT</b> (cellules/ml)                   | 450.10 <sup>4</sup> | ± 76.10 <sup>4</sup> | 167.10 <sup>4</sup> | ± 16.10 <sup>4</sup> |
| <b>Levures</b> (cellules/ml)                | 166.10 <sup>4</sup> | ± 28.10 <sup>4</sup> | 79.10 <sup>4</sup>  | ± 10.10 <sup>4</sup> |
| <b>Bactéries lactiques</b> (cellules/ml)    | 28.10 <sup>4</sup>  | ± 5.10 <sup>4</sup>  | 15.10 <sup>4</sup>  | ± 2.10 <sup>4</sup>  |

La croissance microbienne est plus importante dans les cannes infectées (Tableau I). La FMAT est significativement élevée chez la plante malade, avec une hausse de 169 %. Il en est de même pour les levures (110 %) et les bactéries lactiques (87 %).

## DISCUSSION ET CONCLUSION

La diminution significative du pH et l'augmentation de l'acidité du jus peut être liée à la flore acidifiante potentielle présente dans le jus des cannes infectées par le SCYLV. Les pH acides favorisent le développement de certains microorganismes acidophiles comme les bactéries lactiques et les levures qui ont une activité invertasique [11]. Ces microorganismes transforment les sucres en acides [6].

Les pertes en saccharose sont de 8,1 % (1,55 g de saccharose / 100 g de jus de presse). À La Réunion, les pertes en sucre sont estimées à 10 % pour la variété 'R577' [14].

Le taux élevé de dextrans est un indicateur d'une détérioration des cannes [3]. Le syndrome de la feuille jaune a un effet significatif sur l'augmentation du taux de dextrans, qui passe de 1069 ppm Brix chez la plante assainie à 1977 chez la plante infectée. Cette hausse peut être expliquée par l'abondance des leuconostocs dans le jus des cannes infectées, qui produisent des polysaccharides, tels que les dextrans qui ont l'inconvénient de conduire à une cristallisation plus lente du saccharose [13]. Ils entraînent aussi une augmentation de la viscosité et ne facilitent pas la filtration des jus en épuration. Une teneur en dextrans de 0,542 g/l correspond à une perte de 0,1 % soit environ 1 kg par tonne de sucre [9]. 542 ppm correspondent dans nos conditions à  $542 \times 100 / 24,46 = 2215$  ppm Brix. Avec une augmentation de la teneur en dextrans de 908 ppm Brix, on peut estimer avoir une perte de 0,41 kg/tonne de sucre pour la canne infectée.

Le nombre élevé de microorganismes dans le jus de canne malade est à mettre en rapport avec la dégradation du saccharose utilisé comme source de carbone pour leur croissance. Cette utilisation est mise en évidence par la chute de la pureté.

Le développement de la flore microbienne peut s'expliquer par l'affaiblissement des défenses de la canne malade.

## RÉFÉRENCES

- 1 - Bourdarel (H.J.), Ramirez (A.) - Détermination des différentes souches bactériennes contaminantes du jus de betterave et du moût fermenté en distillerie agricole. - *Ind. Aliment. Agric. Paris*, 1984, 101(1-2), 5-10.
- 2 - Chatenet (M.), Delage (C.), Ripolles (M.) - Detection of *Sugarcane yellow leaf virus* in quarantine and production of virus-free sugarcane by apical meristem culture. - *Plant Dis.*, 2001, **85**(11), 1177-1180.
- 3 - Chen (J.C.P.), Chou (C.C.) - *Cane sugar handbook: A manual for cane sugar manufacturers and their chemists*, 12<sup>th</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, 1993, 1090 p.
- 4 - Chriki (N.), Rochdi (A.), Nadif (A.), Saumtally (S.), Ouhssine (M.) - Assainissement par culture d'apex : moyen de lutte curatif au niveau de la quarantaine contre la maladie de la feuille jaune (YLS) de la canne à sucre. - *EPPO Bull.*, 2003, **33**(2), 351-354.
- 5 - Comstock (J.C.), Ireby (M.S.), Lockhart (B.E.L.), Wang (Z.K.) - Incidence of yellow leaf syndrome in CP cultivars based on polymerase chain reaction and serological techniques. - *Sugarcane*, 1998, **4**, 21-24.
- 6 - De Roissard (H.B.) - Partie IV- Ch.1- Bactéries lactiques. In Luquet (F.M.), Bonjean-Linczowski (Y.), Société scientifique d'hygiène alimentaire (France), *Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre*. Vol. 3 : Qualité - Énergie et tables de composition. Paris : Techniques et Documentation Lavoisier, 1986, (445 p.)
- 7 - Fitch (M.M.M.), Lehrer (A.T.), Komor (E.), Moore (P.H.) - Elimination of sugarcane yellow leaf virus from infected sugarcane plants by meristem tip culture visualized by tissue blot immunoassay. - *Plant Pathol.*, 2001, **50**(6), 676-680.
- 8 - Lockhart (B.E.L.), Pieter (C.), Cronjé (P.J.) - Yellow leaf syndrome. In Rott (P.), Bailey (R.A.), Comstock (J.C.), Croft (B.J.), Saumtally (A.S.) (Eds.), *A guide to sugarcane diseases*. Montpellier : CIRAD Publications Service, and ISSCT, 2000, 291-295.

- 9 - Nadif (A.) - *Contribution à l'étude de deux principales viroses infectant la culture de la canne à sucre dans la plaine du Gharb*. Thèse État Biol., Fac. Sci. Semlalia, Univ. Cadi Ayyad Marrakech. 2001, n°278.
- 10 - Nadif (A.), Akalach (M.), Cronjé (P.), Jones (P.) - First report of yellow leaf syndrome of sugarcane in Morocco. - *Plant Dis.*, 1998, 83(4), 398. <http://www.apsnet.org/pd/searchnotes/1999/dapnotes.pdf>
- 11 - Ouhssine (M.) - *Étude physico-chimique et microbiologique du jus de canne à sucre, mise au point d'une méthode de détermination rapide de la charge microbienne à la réception de la canne et moyens de lutte*. Thèse 3<sup>e</sup> Cycle Univ. Ibn. Tofail, 1994, 175 p.
- 12 - Parmessur (Y.), Aljanabi (S.), Saumtally (S.), Dookun-Saumtally (A.) - Sugarcane yellow leaf virus and sugarcane yellows phytoplasma: elimination by tissue culture. - *Plant Pathol.*, 2002, **51**(5), 561-566.
- 13 - Pautrat (C.), Bressan (C.), Mathlouthi (M.) - Physico-chemical study of the effect of some polysaccharides on the sucrose crystallization conditions. - *Proc. C. I. T S. General Assembly, Munich*, 1996, p. 178-189.
- 14 - Rassaby (L.), Rott (P.) - Une nouvelle maladie virale sur canne à sucre à La Réunion. Principaux résultats de trois années de recherche. - *Phytoma*, 2002, (551), 33-35.

## ABSTRACT

### Impact of yellow leaf virus on sugar cane

The technological and microbiological characteristics of the juice of CP66-346 variety sugar cane infected by yellow leaf virus and purified after meristem tip culture were studied. The infected sugar cane juice presented a developed microbial flora, contributing to decreased pH and purity and increased acidity and dextran formation.

**Key-words:** *Saccharum officinarum*, sugar cane, yellow leaf syndrome.

---