



ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES EXTRAITS D'ÉCORCE
D'ESPÈCES FORESTIÈRES BORÉALES SUR *STREPTOMYCES SCABIEI* ET
LEURS EFFETS SUR LES SYMPTÔMES DE LA GALE COMMUNE CHEZ LA
POMME DE TERRE DE SEMENCE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

PAR
STÉPHANIE CLOUTIER
B. SC. (BIOLOGIE)

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

JUIN 2022

RÉSUMÉ

La gale commune, généralement provoquée par *Streptomyces scabiei*, est une maladie tellurique d'importance pour le marché de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Canada et dans le monde puisqu'elle dégrade la qualité des tubercules infectés. Au Canada, les pertes monétaires ont été estimées entre 15 et 17 millions de dollars pour l'année 2002. La chloropicrine est un produit homologué pour contrôler les symptômes de la gale commune mais des effets nocifs sur la santé humaine et l'environnement ont été récemment documentés. Les producteurs de pommes de terre doivent se tourner vers des alternatives culturales plus ou moins efficaces pour tenter de limiter la croissance de *S. scabiei* dans les sols et réduire les symptômes de la maladie. Le développement d'une nouvelle méthode de contrôle est nécessaire. Les extraits d'écorce issus de la forêt boréale sont riches en composés bioactifs dont certains ont démontré une activité antibactérienne contre des bactéries à Gram-positif. Conséquemment, ces extraits d'écorce pourraient aussi avoir une activité antibactérienne contre *S. scabiei*, une bactérie à Gram-positif.

L'objectif général de cette étude était d'évaluer l'efficacité des extraits d'écorce d'arbres de la forêt boréale à inhiber la croissance de *S. scabiei* et réduire les symptômes de la gale commune sur des tubercules de pommes de terre en conditions contrôlées. Une première série d'expériences a été réalisée en laboratoire dans l'objectif d'évaluer l'effet de huit extraits d'écorce incluant *Betula alleghaniensis*, *B. papyfera*, *Larix laricina*, *Picea mariana*, *Pinus contorta*, *Populus tremuloides*, *Tsuga canadensis*, *T. heterophylla*, comparés à un contrôle de tétracycline, sur la croissance de trois souches de *S. scabiei* à l'aide de la méthode de microdilution (Objectif 1). Dans un cycle de production de pommes de terre en serres (Objectif 2), une deuxième expérience a permis de : 1) déterminer l'effet du type de sol, de la variété de pommes de terre, de la stérilisation du sol et de l'ajout de *S. scabiei* sur la croissance de la pomme de terre et les symptômes de la gale commune afin de tester et valider les conditions expérimentales impliquées dans le développement des symptômes de la maladie (Objectif 2.1) et de 2) déterminer l'effet des trois extraits d'écorce les plus efficaces pour inhiber *S. scabiei in vitro* sur les symptômes de la gale commune et la croissance de *S. tuberosum* (Objectif 2.2).

Dans le cadre de l'objectif 1, la sensibilité des souches de *S. scabiei* ATCC 49173, EF-35 et SC-1 aux différents extraits d'écorce était similaire. Cependant, le type d'extrait a eu un effet significatif sur l'inhibition de la croissance des souches de *S. scabiei*. En effet, les extraits de *Pinus contorta* ($CI_{50} = 14 \mu\text{g mL}^{-1}$; $CI_{90} = 52 \mu\text{g mL}^{-1}$) et *Larix laricina* ($CI_{50} = 21 \mu\text{g mL}^{-1}$; $CI_{90} = 58 \mu\text{g mL}^{-1}$) se sont révélés être les plus efficaces contre *S. scabiei*, pour toutes souches confondues. L'extrait d'écorce de *Picea mariana* avait une efficacité limitée, soit une CI_{50} similaire aux extraits de *P. contorta* et *L. laricina* et une CI_{90} supérieure ($111 \mu\text{g mL}^{-1}$). Pour l'objectif 2.1, l'inoculation des sols avec *S. scabiei* a augmenté significativement la sévérité et l'intensité des lésions de gale en comparaison avec les sols non inoculés. Les tubercules de pommes de terre du cultivar Kalmia étaient affectés davantage par la gale commune comparativement au cultivar Envol. Pour l'objectif 2.2, des doses de 0.033 et 0.065 kg m⁻² en extraits d'écorce de *P. contorta*, *L. laricina* et *P. mariana* ont permis de réduire

la sévérité de la gale commune de 48% en comparaison avec un contrôle négatif sans extraits d'écorce, et ce sans avoir eu d'effets significatifs sur la croissance de *S. tuberosum* et son rendement en tubercules.

De plus, nos résultats préliminaires montrent que les composés diterpéniques, retrouvés dans les écorces de conifères, sont fortement actifs contre *S. scabiei*. Les composés diterpéniques testés étaient l'acide abiétique, l'acide déhydroabiétique, l'acide isopimarique, l'acide néoabiétique, l'acide palustrique et l'acide sandaracopimarique. L'activité antibactérienne de ces acides résiniques (CI_{90} entre 0.01 et 0.08 $\mu\text{g mL}^{-1}$) était comparable à la tétracycline, utilisée comme contrôle positif ($CI_{90} = 0.09 \mu\text{g mL}^{-1}$). Ces résultats suggèrent que les acides résiniques pourraient être responsables en grande partie de l'activité antibactérienne des extraits d'écorces de conifères et pourraient réduire les symptômes de la gale commune. L'ensemble des résultats obtenus dans le cadre de ce travail de recherche suggère que l'utilisation des extraits d'écorce riche en acides résiniques en champs pourrait permettre de prévenir l'apparition des symptômes liés à la gale commune. D'autres études seront cependant nécessaires pour optimiser le traitement (ex. formulation, moment d'application, nombre d'applications, toxicité). Cette étude est la première à montrer le potentiel des extraits d'écorce pour réduire les symptômes de la gale commune.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de recherche Pr Maxime Paré pour son implication et son dévouement dans toutes les étapes du projet de recherche et dans ma formation universitaire. Son accessibilité et ses conseils ont fait une grande différence dans la réalisation de ma maîtrise. Je remercie mon codirecteur Pr Jean Legault, mais également Pr André Pichette, Dr Martin Filion, Pre Claudia Goyer et M. Antoine Bédard pour leurs implications et leurs expertises.

Je tiens à remercier l'équipe technique qui a joué un rôle important dans ce projet de recherche, soit Catherine Tremblay, Catherine Dussault, Anne Schmitt, Claire Fournier, Geneviève Telmosse et Karl Lalancette. C'était un réel plaisir de les côtoyer. Je remercie également mes collègues Anne, Pénélope et Jérémy pour leur présence, leurs encouragements et leur soutien précieux pendant ma maîtrise.

Ma famille, mes amis et mon conjoint Kevin ont été d'une grande importance tout au long de mon parcours universitaire. Je les remercie pour leur patience, leurs encouragements et leur soutien dans les moments plus difficiles, mais également pour leur présence dans les moments de réussite.

Finalement, je remercie les organismes suivants pour leur appui financier : la Patate Lac-Saint-Jean inc., le Fonds de recherche axé sur l'agriculture nordique (FRAN-02), le Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT), le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), Mitacs et FPInnovations.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	ii
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIÈRES	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vii
CHAPITRE 1.....	8
INTRODUCTION GÉNÉRALE	8
1.1 LA CULTURE DE LA POMME DE TERRE.....	8
1.2 LA GALE COMMUNE.....	10
1.2.1 <i>STREPTOMYCES SCABIEI</i>	11
1.2.2 LES MÉTHODES DE CONTRÔLE.....	12
1.3 LES EXTRAITS D'ÉCORCE	14
1.4 IMPORTANCE DE L'ÉTUDE	17
1.5 HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS	17
CHAPITRE 2.....	19
<i>PINUS CONTORTA, LARIX LARICINA AND PICEA MARIANA BARK</i> EXTRACTS REDUCE <i>STREPTOMYCES SCABIEI</i> GROWTH AND POTATO COMMON SCAB SYMPTOMS WITHOUT AFFECTING NEGATIVELY POTATO GROWTH.....	19
ARTICLE	19
2.1 ABSTRACT.....	21
2.2 INTRODUCTION	22
2.3 MATERIAL AND METHODS	24
2.3.1 BACTERIAL STRAINS	24
2.3.2 OBJECTIVE 1.....	24
2.3.3 OBJECTIVE 2.....	26
2.3.4 STATISTICAL ANALYSES	29
2.4 RESULTS	30
2.4.1 OBJECTIVE 1.....	30
2.4.2 OBJECTIVE 2.....	32

2.5	DISCUSSION	38
2.5.1	THE EFFECT OF BARK EXTRACTS ON <i>S. SCABIEI</i> GROWTH.....	38
2.5.2	THE EFFECT OF BARK EXTRACTS ON COMMON SCAB SYMPTOMS	40
2.5.3	INOCULUM LEVEL, POTATO VARIETIES AND SOIL TYPE EFFECTS ON COMMON SCAB SYMPTOMS	41
2.5.4	BARK EXTRACTS POTENTIAL IN FIELD	42
2.6	CONCLUSION.....	44
2.7	REFERENCES	45
2.8	SUPPLEMENTARY MATERIALS.....	51
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	53
	RÉFÉRENCES.....	57

LISTE DES TABLEAUX

TABLE 1. CHEMICAL PROPERTIES OF THE TWO SOILS USED	27
TABLE 2. EFFECTS OF DIFFERENT S. SCABIEI STRAINS AND PRODUCT TYPES ON IC ₅₀ AND IC ₉₀	30
TABLE 3. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE BARK EXTRACTS ON ATCC 49173, EF-35 AND SC-1 STRAINS USING THE MICRODILUTION METHOD	31
TABLE 4. EFFECTS OF SOIL TYPE, POTATO VARIETY, STERILIZATION AND STREPTOMYCES SCABIEI ADDITION ON COMMON SCAB (CS) SYMPTOMS AND AGRONOMIC VARIABLES	33
TABLE 5. EFFECTS OF SOIL TYPE, POTATO VARIETY, BARK TYPE AND BARK APPLICATION RATE ON COMMON SCAB (CS) SYMPTOMS AND AGRONOMIC VARIABLES	36
TABLE S 1. ANTIBACTERIAL ACTIVITY (IC ₅₀) OF THE RESIN ACIDS ON ATCC 49173, EF-35 AND SC-1 STRAINS USING THE MICRODILUTION METHOD	51
TABLE S 2. ANTIBACTERIAL ACTIVITY (IC ₉₀) OF THE RESIN ACIDS ON ATCC 49173, EF-35 AND SC-1 STRAINS USING THE MICRODILUTION METHOD	52

LISTE DES FIGURES

- FIGURE 1. COMMON SCAB SEVERITY (%), LESION INTENSITY MEDIAN (1 TO 4 SCALE), TOTAL PLANT BIOMASS (WITHOUT TUBER, G PER POT), AND TUBER YIELD (G) IN RELATION TO SOIL TYPE (BN AND JYL), POTATO VARIETY (ENVOL AND KALMIA), SOIL STERILIZATION [WITHOUT (W/O) AND WITH (W/)]. LESION INTENSITY: 1 = NO SCAB LESION; 2 = SUPERFICIAL SCAB LESION; 3 = MODERATE SCAB LESION, 4 = DEEP SCAB LESION. ERROR BARS REPRESENT THE STANDARD ERROR (SE) FROM THE MEAN..... 34
- FIGURE 2. THE EFFECT OF BARK APPLICATION RATE (G PER POT OF 1.5L CAPACITY) ON THE AVERAGE COMMON SCAB SEVERITY OF KALMA AND ENVOL VARIETIES (%). ERROR BARS INDICATE STANDARD DEVIATIONS (SD) FROM THE MEAN (N=60). LETTERS SHOW SIGNIFICANT DIFFERENCES USING TUKEY ($P < 0.05$)..... 37
- FIGURE 3. THE INTERACTION EFFECT OF POTATO VARIETY AND BARK APPLICATION RATE (G PER POT OF 1.5L CAPACITY) ON AVERAGE ROOT BIOMASS (G) AND AVERAGE ABOVEGROUND BIOMASS (G) AMONG THE THREE BARK EXTRACTS TESTED. ERROR BARS INDICATE STANDARD DEVIATIONS (SD) FROM THE MEAN (N = 30). LETTERS SHOW SIGNIFICANT DIFFERENCES USING TUKEY POST-HOC TEST ($P < 0.05$)..... 37

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACIA	Agence canadienne d'inspection des aliments
AHA	<i>Antibacterial hydrophobic assay</i>
ANOVA	Analyse de la variance
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BN	Ferme Bergeron et Niquet inc.
CI ₅₀ (IC ₅₀)	Concentration inhibitrice de 50% la croissance bactérienne (<i>inhibitory concentration of 50% of bacterial growth</i>)
CI ₉₀ (IC ₉₀)	Concentration inhibitrice de 90% la croissance bactérienne (<i>inhibitory concentration of 90% of bacterial growth</i>)
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CRAAQ	Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec
CTVB	Centre de transformation et de valorisation de bioproduits
DMSO	Dimethylsulfoxyde
EU	<i>Experimental unit</i>
JYL	Ferme Jean-Yves Lalancette et fils inc.
LASEVE	Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales
LSD	<i>Least significant difference</i>
MAPAQ	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
OM	<i>Organic matter</i>
PLSJ	La Patate Lac-Saint-Jean Inc.
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
SLSJ	Saguenay-Lac-Saint-Jean
UQAC	Université du Québec à Chicoutimi
ZCP	Zone de culture protégée

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 LA CULTURE DE LA POMME DE TERRE

La pomme de terre, ou le tubercule, est un organe de réserve nutritive produit par *Solanum tuberosum* L., une plante herbacée appartenant à la famille des Solanacées (Plaisted et Hoopes 1987; Brown 1993). La pomme de terre, originaire de l'Amérique du sud, est l'une des cultures en importance au Canada et dans le monde après le riz, le blé et le maïs (Grun 1990). Au Canada, la pomme de terre est cultivée essentiellement pour le marché frais de l'alimentation, la transformation et la production de semences (Gouvernement du Canada 2020). Les principales régions productrices de pommes de terre pour la province de Québec sont la Capitale nationale (23%), Lanaudière (21%) et le Saguenay-Lac-Saint-Jean (SLSJ, 14%) (Déziel *et al.* 2019).

Le mode de reproduction de *S. tuberosum* s'effectue de manière sexuée ou asexuée (Burton 1989). La reproduction sexuée se fait à partir des graines provenant d'une petite baie produite par *S. tuberosum*. L'utilisation de cette méthode de reproduction est moins fréquente et est utilisée essentiellement lors de la sélection d'individus d'intérêt (ex. sélection génétique). La multiplication végétative (asexuée) correspond à la plantation d'une semence, c'est-à-dire un tubercule en partie ou en entier aussi appelé planton. La reproduction à partir de bouture et de plantule en milieu stérile est également utilisée, particulièrement dans la production de semences de pommes de terre devant être exemptes de maladies (Agriculture et Agroalimentaire Canada 2015). Le mode de reproduction végétatif à partir d'une semence demeure le mode de reproduction le plus fréquemment utilisé dans l'industrie de la pomme de terre puisque le planton génère une croissance végétale plus hâtive que la graine (Plaisted et Hoopes 1987). Effectivement, la plante se développe plus rapidement à partir d'un planton mais le motif le plus important de l'utilisation d'un planton est que la culture est uniforme génétiquement, ce qui n'est pas le cas avec les graines. Toutefois, la multiplication végétative est propice à la transmission et au développement de

maladies. De ce fait, la production de semences est davantage concentrée dans des régions spécifiques et éloignées, comme au SLJS, afin de limiter la propagation des maladies qui affectent le plant de pommes de terre en partie ou en entier. Ces régions, reconnues comme étant des zones de cultures protégées (ZCP), sont encadrées par la loi de la province de Québec sur l'entrée, la dissémination et le développement de maladies nuisibles à la culture de la pomme de terre (Gouvernement du Québec 2021).

Les semences produites sur le territoire canadien sont soumises à un processus de certification selon le *Règlement sur les semences*, contrôlé par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA). Selon le règlement, le processus de certification consiste à produire des pommes de terre sur plusieurs générations à partir de matériel nucléaire. Le matériel nucléaire est un tubercule produit à partir d'une plantule stérile certifiée et exempte de maladie. La certification des semences s'effectue généralement lors de la 7^e génération de pommes de terre de semence produites. Ces tubercules de la 7^e génération peuvent être distribués et exportés à titre de semences certifiées. Afin de respecter les normes gouvernementales, le processus de certification des semences inclut également des tests en laboratoire et des inspections en champs.

Annuellement, des volumes importants de pomme de terre sont rejetés des différents marchés par la présence de maladies (ex. gale commune, rhizoctonie, pourriture molle et sèche, etc.) (Fiers *et al.* 2012). À titre d'exemple, selon le *Règlement sur les semences*, les normes relatives à la présence de symptômes de la gale commune incluent également la présence combinée des symptômes de la rhizoctonie (*Rhizoctonia solani*), une maladie provoquée par un champignon. Ainsi, les pommes de terre infectées par ces deux maladies sont retirées de la mise en marché ou déclassées lorsque 10% du nombre de pommes de terre d'un lot possède des symptômes combinés légers (1 à 5% de la surface couverte par les deux maladies) ou lorsque 5% ont des symptômes modérés (5 à 10% de la surface couverte par les deux maladies). De ces maladies, la gale commune est celle qui a la plus forte prévalence au Canada (Hill et Lazarovits 2005).

1.2 LA GALE COMMUNE

La gale commune est une maladie tellurique qui affecte négativement plusieurs cultures, comme la pomme de terre, la carotte, le radis et la betterave, en produisant des lésions brunâtres à la surface des légumes (Goyer et Beaulieu 1997). La gale commune est l'une des maladies affectant les pommes de terre en culture les plus préoccupantes pour les producteurs du Québec et du Canada (Hill et Lazarovits 2005). En effet, la gale commune est présente dans la majorité des sols où la pomme de terre est cultivée (Keinath et Loria 1989; Wanner 2009) et la prévalence de la maladie a été estimée à 82% de la production annuelle totale de pommes de terre du Canada (Hill et Lazarovits 2005). Les pertes monétaires provoquées par la gale commune ont représenté entre 15 et 17 millions de dollars pour l'année 2002 seulement (Hill et Lazarovits 2005). Le Québec est la province du Canada la plus touchée par la gale commune avec la plus grande proportion de pertes de rendement par hectares et une diminution des revenus jusqu'à 15% (Hill et Lazarovits 2005). Pour la Patate-Lac-Saint-Jean inc. (PLSJ), Québec, Canada, une coopérative regroupant 5 producteurs de pommes de terre dans le secteur Nord du Lac Saint-Jean, les pertes financières associées à la gale commune représentent en moyenne un demi-million de dollars annuellement (A. Bédard, communication personnelle, 06 mai 2021). Les volumes de pommes de terre distribués au Canada et exportés dans le monde se retrouvent ainsi réduits par les conséquences de la gale commune sur les tubercules.

La gale commune est causée par des bactéries du genre *Streptomyces* sp. (Lambert et Loria 1989b; Locci 1994). Au Canada, les espèces responsables de la maladie sont principalement *S. scabiei*, *S. turgidiscabies*, *S. acidiscabies* et *S. caviscabies* (Locci 1994; Lambert et Loria 1989a; Goyer *et al.* 1996; Wanner 2009). Cependant, *S. scabiei* est l'espèce prédominante dans les sols canadiens et elle est considérée comme l'agent pathogène principal de la gale commune au pays (Locci 1994; Loria *et al.* 1997).

1.2.1 *STREPTOMYCES SCABIEI*

Les *Streptomyces* spp. sont des bactéries majoritairement saprophytes appartenant au groupe des Actinobactéries (Locci 1994). Les *Streptomyces* spp. sont des bactéries Gram-positives. Les bactéries Gram-positives se distinguent des Gram-négatives au niveau de leur paroi cellulaire, de par la présence d'une couche plus épaisse de peptidoglycane et l'absence de membrane externe (Prescott *et al.* 2013). La paroi des bactéries est une cible thérapeutique possible pour plusieurs agents antibactériens (Khameneh *et al.* 2019). Les *Streptomyces* spp. sont non-mobiles et sécrètent des enzymes cataboliques et des métabolites spécialisés, dont certains ont permis la production de plusieurs agents antibiotiques (ex. érythromycine, streptomycine) utilisés à ce jour (Lauzier 2007; Chater *et al.* 2010). Cependant, quelques espèces sont phytopathogènes, telles que *S. scabiei* causant la gale commune chez la pomme de terre (Locci 1994). Les agents responsables de la gale commune produisent un groupe de toxines, nommées thaxtomines, qui affectent négativement la synthèse de la cellulose chez la pomme de terre et provoquent le développement de lésions de gale qui sont caractéristiques à la maladie (King *et al.* 1992; Bischoff *et al.* 2009).

Le nom *S. scabiei* provient de l'espèce *S. scabies* (renommée en 1997) isolée pour la première fois par Thaxter en 1890 (Thaxter 1891; Lambert et Loria 1989b). Cette espèce est caractérisée par son apparence filamenteuse et sa capacité à produire un réseau d'hyphes aériens, soit une caractéristique qui peut être également retrouvée chez les champignons (Lambert et Loria 1989b; Lauzier 2007). La formation d'une chaîne de spores spiralée hydrophobe permet à *S. scabiei* de survivre à des stress abiotiques et biotiques importants. La dispersion des spores se fait généralement via les organismes eucaryotes, le sol et l'eau du sol mais également par le vent, la pluie et la machinerie agricole (Agrios 2005). L'infection de la pomme de terre par *S. scabiei* a lieu lors de l'étape de la tubérisation, une phase hâtive du développement de *S. tuberosum* (Agrios 2005). La tubérisation est le moment où il y a la formation du tubercule de pomme de terre, qui est un moment charnière dans le développement de la maladie (Agrios 2005). *S. scabiei* peut infecter le tubercule soit directement, par les

lenticelles (petits pores) et/ou par une blessure, et se développer dans les premières couches cellulaires de la pomme de terre. En réponse à l'infection, *S. tuberosum* crée une barrière cellulaire afin de limiter l'infection et les taches brunâtres apparaissent à la surface des tubercules. Les symptômes de la gale commune cessent de croître lors de la récolte. *S. scabiei* demeure dans le sol et survit par la suite sur une matrice végétale ou directement dans le sol. *S. scabiei* demeure en dormance sous forme de spores pour l'hiver. *S. scabiei* peut survivre jusqu'à 10 années dans le sol sans plante hôte sous forme de spores (Agrios 2005). Sa croissance est favorisée dans les sols secs ayant un pH entre 5.5 et 7.5 et est défavorisée lorsque le pH est sous la valeur de 5.0 (Goyer et Beaulieu 1997; Powelson et Rowe 2008). La résistance de *S. scabiei* dans les tissus de la pomme de terre et sa capacité à survivre dans diverses conditions environnementales rend difficile le contrôle de cette maladie (Flinn *et al.* 2005; Al-Mughrabi *et al.* 2016).

1.2.2 LES MÉTHODES DE CONTRÔLE

Le contrôle de la gale commune se fait principalement par l'utilisation de produits chimiques et/ou de méthodes culturales. Le moyen de lutte ayant démontré la plus grande efficacité et une constance dans la réduction de la gale commune demeure l'utilisation de la chloropicrine, un produit ayant un effet de fumigation homologué au Canada pour réduire les maladies du sol dont la gale commune (Braun *et al.* 2017). Toutefois, la chloropicrine est coûteuse, non sélective, et affecte négativement les microorganismes bénéfiques nécessaires à la bonne qualité d'un sol comme des bactéries hétérotrophes, des nématodes et des champignons saprophytes et mycorhiziens (Braun *et al.* 2017). Par conséquent, le risque de développement de résistance bactérienne chez *S. scabiei* est possible. Mais encore, la chloropicrine est un produit volatil et des études récentes ont démontré des effets nocifs sur l'environnement (ex. diminution de la qualité du sol, contamination des eaux) et sur la santé humaine (Ashworth et Yates 2019; Fang *et al.* 2020). Conséquemment, des méthodes culturales sont proposées aux producteurs pour limiter les symptômes de la gale commune et réduire l'utilisation de la chloropicrine.

Les méthodes de culture sont principalement l'irrigation, l'augmentation de l'acidité du sol et la rotation des cultures. Ces méthodes culturales créent un environnement défavorable à la croissance et au développement de *S. scabiei* dans le sol. L'irrigation consiste à augmenter l'humidité du sol afin de limiter la croissance de *S. scabiei* et limiter l'infection des tubercules (Boulet 2011). L'efficacité de la méthode varie en fonction du type de sol, du cultivar de pomme de terre, des conditions environnementales et de la souche pathogène à contrôler (Wilson *et al.* 2001). Cette méthode requiert de la machinerie et de grands volumes d'eau. Le niveau d'humidité doit également demeurer stable, ce qui peut être plus difficile dans un sol sableux ayant une faible capacité de rétention de l'eau et lorsque les précipitations de pluie sont faibles (Boulet 2011). L'augmentation de l'acidité du sol consiste à ajouter un produit acide au sol, comme par exemple de l'engrais à base de soufre, afin d'obtenir un pH inférieur au seuil de 5.0 et défavoriser la croissance de *S. scabiei* (Lacey et Wilson 2001; Powelson et Rowe 2008; Wilson *et al.* 2018). L'efficacité de la méthode est variable en fonction des pathogènes de *Streptomyces* spp. (Dees et Wanner 2012). La rotation des cultures est couramment utilisée en agriculture, puisqu'elle permet entre autres de diversifier les communautés bactériennes du sol, augmenter la disponibilité des nutriments pour les plantes, améliorer la qualité du sol, avoir un effet suppressif sur des maladies et augmenter les rendements des cultures (Larkin *et al.* 2011). Il s'agit d'alterner la culture de la pomme de terre sur une même parcelle avec d'autres cultures, connues pour leur potentiel suppressif sur la gale commune, selon un cycle de deux ou trois ans (Larkin *et al.* 2011; Al-Mughrabi *et al.* 2016). Certaines pratiques culturales consistent à ajouter des amendements pendant les cycles de rotations des cultures. L'efficacité des amendements sur la gale commune est variable selon le produit utilisé et le type de sol (Soltani *et al.* 2002; Lazarovits 2010).

Les études antérieures sur ces méthodes culturales ne démontrent pas de résultats constants sur l'efficacité de ces méthodes à réduire la croissance de *S. scabiei* et les symptômes de la gale commune. Le développement de nouvelles méthodes de contrôle est donc nécessaire. Plus récemment, l'utilisation d'amendement de compost (Larkin and Tavantzis 2013; Wilson *et al.* 2018), de bactéries antagonistes (Kobayashi *et al.* 2015; Al-Mughrabi *et al.* 2016 ; Castro *et al.* 2019 ; Arseneault *et al.* 2020), le

développement de cultivars tolérants à la maladie (Wilson *et al.* 2010) et le développement de somaclones résistants (Labidi 2020) sont à l'étude. L'utilisation de produits forestiers n'a pas été étudiée sur la croissance de *S. scabiei* et les symptômes de la gale commune.

1.3 LES EXTRAITS D'ÉCORCE

L'écorce, nommée le périderme, sert de barrière de protection pour les végétaux ligneux contre leur environnement. En comparaison avec d'autres tissus végétaux, l'écorce contient une variété de métabolites secondaires qui peuvent être extraits sous forme d'extractibles (Francezon 2008). La nature et la quantité des métabolites secondaires des écorces varient principalement entre les espèces (Stevanovic et Perrin 2009). Chez les conifères, ces composés peuvent atteindre jusqu'à 25% de la masse anhydre de l'écorce contre moins de 10% pour le bois (Harkin et Rowe 1971). Les métabolites secondaires ont un rôle dans les mécanismes de défense des végétaux, notamment pour éloigner les herbivores et les protéger des bactéries et des champignons pathogènes (Zulak *et al.* 2010; Francezon 2018). Les métabolites secondaires peuvent être sommairement répartis en trois classes de composés : les terpènes, les composés phénoliques et les composés d'azotés (Taiz et Zeiger 2002). Les terpènes et les composés phénoliques sont des composés d'intérêt dans certains domaines (ex. pharmaceutique, cosméceutique, agroalimentaire) pour leurs propriétés biologiques, telles qu'anti-inflammatoire, antioxydante et antimicrobienne (Omar *et al.* 2000; Lareiter *et al.* 2014; Francezon et Stevanovic 2017; Thuerig *et al.* 2018). Par exemple, des études ont démontré le potentiel des extraits d'écorce de mélèze (Omar *et al.* 2000), de noyer cendré (Lareiter *et al.* 2014) et d'épinette noire (Boivin *et al.* 2021) à inhiber des bactéries à Gram-positif et des champignons par la bioactivité des métabolites secondaires décrits précédemment.

L'efficacité d'un agent antibactérien est généralement évaluée par antibiogramme. Par exemple, il y a la méthode de diffusion du disque en milieu solide (ex. en boîte de Pétri) et la méthode par microdilution en milieu liquide (ex. en plaque de 96-puits) (EUCAST 2013). Brièvement, la première méthode consiste généralement

à imbiber un disque de papier d'une solution antibactérienne, à une concentration déterminée, et le déposer sur une gélose inoculée d'une bactérie pathogène. La sensibilité de la bactérie pathogène à l'agent antibactérien est évaluée par la mesure du diamètre d'inhibition de la croissance bactérienne autour du disque qui est visible à l'oeil nu. La seconde méthode consiste à créer un gradient de concentration d'une solution contenant un agent antibactérien potentiel et d'inoculer le gradient de concentration d'une solution bactérienne (EUCAST 2000). Il est possible de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), soit la concentration minimum qui est nécessaire pour inhiber la croissance visible des bactéries. Aussi, les concentrations inhibitrices de 50% (CI₅₀) et de 90% (CI₉₀) de la croissance bactérienne peuvent être déterminées à l'aide d'une sonde comme la résazurine, laquelle est transformée en résorufine fluorescente par les bactéries vivantes (O'Brien *et al.* 2000; Pabst *et al.* 2014; Côté *et al.* 2016). Ces méthodes sont adaptées pour tester l'efficacité des composés hydrophiles, mais elles pourraient sous-estimer l'efficacité des composés hydrophobes qui pourraient ne pas diffuser de manière homogène dans la gélose ou le milieu aqueux (Côté 2019). Pour contrer cette problématique dans la méthode de microdilution, il est possible d'utiliser un solvant (ex. diméthylsulfoxyde) afin d'augmenter la solubilité des molécules hydrophobes. Parallèlement, Côté *et al.* 2016 ont développé une méthode adaptée aux composés hydrophobes, méthode nommée l'*Antibacterial hydrophobic assay* (AHA).

Le laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales (LASEVE) de l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC) oriente ses activités de recherche sur l'étude de l'activité biologique de produits d'origine naturelle (ex. huiles essentielles, extraits d'écorce, bourgeons, etc.) à partir des végétaux de la forêt boréale. Parmi leurs recherches, une étude *in vitro* a démontré le potentiel des extraits d'écorce à réduire la croissance de bactéries (Bérubé-Gagnon 2006). Des extraits éthanoliques d'écorce d'épinette noire, d'épinette blanche, de sapin baumier et de mélèze laricin étaient actifs contre une bactérie à Gram-positif, *Staphylococcus aureus*, et inactifs contre *Escherichia coli*, une bactérie à Gram-négatif, et ce en utilisant la méthode de diffusion du disque. De ces extraits, l'écorce de l'épinette noire avait montré l'activité antibactérienne la plus élevée avec le plus grand diamètre d'inhibition observée dans

l'antibiogramme. Les chercheurs ont isolé, par autoubiographie, et identifié sept composés de nature terpénique par une analyse GC-MS. Ces composés correspondaient à 86% des volatils analysés et seraient responsables, en partie, de l'activité antibactérienne de l'écorce d'épinette noire.

Une seconde étude a démontré l'activité antibactérienne de l'oléorésine, une résine produite par le sapin baumier, contre *S. aureus* et des souches de *S. aureus* qui sont résistantes à la méthicilline (SARM) (Côté *et al.* 2016). Ils ont mesuré l'activité antibactérienne en utilisant leur nouvelle méthode, l'AHA, puisque l'oléorésine contient des molécules hydrophobes. Comme l'étude précédente, l'oléorésine s'est révélée active contre les bactéries Gram-positives *S. aureus* et SARM (MIC₉₀ entre 18.2 et 30 µg mL⁻¹), mais inactive contre la bactérie Gram-négative *E. coli* (MIC₉₀ > 90 µg mL⁻¹). Des composés terpéniques ont également été identifiés en partie responsables de l'activité antibactérienne de l'oléorésine de sapin baumier.

Les extraits d'écorce et leurs métabolites secondaires n'ont pas été testés sur *S. scabiei*, le pathogène responsable de la gale commune chez la pomme de terre. Cependant, des résidus et des extraits de la verge d'or du Canada ont été testés sur *S. scabiei* et les symptômes de la maladie sur des tubercules (Paré *et al.* 2018). Les extraits obtenus à partir de l'hexane et du dichlorométhane (200 µg mL⁻¹) ont permis de réduire la croissance de *S. scabiei* de 97% à l'aide de la méthode de microdilution et d'un test à la résazurine. Des résidus frais de la verge d'or (1.2 kg m⁻²) ont réduit significativement les symptômes de la gale commune de 45% en serres (Paré *et al.* 2018). Il a été documenté que la verge d'or du Canada produit une variété de métabolites secondaires, comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les diterpènes, qui pourraient être responsables de l'activité antibactérienne de la verge d'or du Canada (Reznicek *et al.* 1991; Kalemba 1992; Apáti *et al.* 2003; Paré *et al.* 2018).

1.4 IMPORTANCE DE L'ÉTUDE

L'absence de méthodes efficaces et respectueuses de l'environnement pour réduire les symptômes de la gale commune est l'une des problématiques prioritaires pour l'industrie de la pomme de terre puisque la maladie ne tend pas à s'atténuer, de par la persistance de l'agent pathogène principal, *S. scabiei*. Par ailleurs, la problématique de la gale commune est un sujet d'importance pour les recherches du Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ). Puisque la valeur des pommes de terre de semence est influencée négativement par la présence de la gale commune, ce projet pourrait permettre de contribuer à l'augmentation de la valeur économique de la pomme de terre de semence du Québec, considérant le fait que le SLSJ est l'un des plus grands bassins de production de semences de la province (Déziel *et al.* 2019). Les résidus forestiers d'écorce pourraient être une alternative intéressante aux fumigants à large spectre utilisés dans la culture de la pomme de terre (ex. chloropicrine) (Braun *et al.* 2017). En effet, l'exploitation du bois génère des volumes importants en biomasse forestière résiduelle comme les écorces. Au Québec, ce sont en moyenne près de 2 millions de tonnes métriques anhydres de résidus d'écorces qui sont produites annuellement (Delisle 2020). Ces résidus sont utilisés en partie pour produire de l'énergie, mais bon nombre de ces résidus sont inutilisés et enfouis dans des sites d'enfouissement techniques (Francezon et Stevanovic 2017; St-Pierre *et al.* 2019). La valorisation des résidus d'écorce inutilisés pourrait permettre de créer une valeur ajoutée et de maximiser la valeur économique des résidus du bois de la forêt boréale canadienne.

1.5 HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

L'utilisation des extraits d'écorces, réputés pour leur pouvoir antimicrobien, pourrait avoir un effet négatif sur la croissance de *S. scabiei* en laboratoire et réduire les symptômes de la gale commune sur les pommes de terre en serres.

Ce mémoire avait pour objectif général d'évaluer l'effet de différents traitements d'extraits d'écorce sur la croissance de *S. scabiei* et les symptômes de la gale commune

en conditions contrôlées. L'étude a été divisée en deux parties, soit l'objectif 1 et l'objectif 2. Une première série d'expériences, réalisée en laboratoire, avait pour objectif d'évaluer l'effet de huit extraits d'écorce sur l'inhibition de la croissance de deux souches pathogènes (ATCC49173 et EF-35) et une souche pathogène isolée en champs (SC-1) (Objectif 1). Afin de réaliser cet objectif, la méthode de microdilution en plaque 96-puits et les mesures de la concentration inhibitrice de 50% de la croissance bactérienne (IC₅₀) et de la concentration inhibitrice de 90% de la croissance bactérienne (IC₉₀), des indices d'efficacité, ont été utilisées. La seconde expérience (Objectif 2) a été réalisée en serres et était divisée en deux sous-objectifs. Les effets de l'origine du sol, la variété de pommes de terre, la stérilisation du sol et l'ajout de *S. scabiei* sur la croissance végétale de *S. tuberosum* (ex. biomasse totale du plant, rendement en tubercules) et les symptômes de la gale commune (ex. sévérité et intensité) ont été évalués dans un cycle de production de pomme de terre (sous-objectif 2.1). Les extraits ayant démontré une plus grande efficacité à inhiber la croissance de *S. scabiei* à l'objectif 1 ont par la suite été utilisés pour l'objectif 2.2. L'effet des extraits les plus performants en laboratoire sur la croissance végétale de *S. tuberosum* et les symptômes de la gale commune a été évalué dans le cycle de production de pomme de terre (sous-objectif 2.2).

Pour la présente étude, les essences d'arbres utilisées ont été sélectionnées selon des critères spécifiques : la distribution géographique (ex. forêt boréale canadienne), l'activité antibactérienne potentielle et la disponibilité des résidus (ex. essence d'intérêt pour l'exploitation forestière). Les essences sélectionnées sont le bouleau jaune (*Betula alleghaniensis* Britton), le bouleau blanc (*Betula papyfera* Marshall), le mélèze laricin [*Larix laricina* (Du Roi) Koch], l'épinette noire [*Picea mariana* (Miller) BSP], le pin tordu (*Pinus contorta* Douglas ex Loudon), le peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides* Michaux), la pruche de l'est [*Tsuga canadensis* (Linné) Carrière] et la pruche de l'ouest [*Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg.].

CHAPITRE 2

***PINUS CONTORTA*, *LARIX LARICINA* AND *PICEA MARIANA* BARK EXTRACTS REDUCE *STREPTOMYCES SCABIEI* GROWTH AND POTATO COMMON SCAB SYMPTOMS WITHOUT AFFECTING NEGATIVELY POTATO GROWTH**

ARTICLE

Title : *Pinus contorta*, *Larix laricina* and *Picea mariana* bark extracts reduce *Streptomyces scabiei* growth and potato common scab symptoms without affecting negatively potato growth

Authors

Stéphanie Cloutier¹, Jean Legault^{2,3}, Claudia Goyer⁴, Martin Filion⁵, André Pichette^{2,3}, Antoine Bédard⁶ and Maxime C. Paré^{1,3}

¹ Laboratoire d'écologie végétale et animale, Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, QC, Canada

² Laboratoire d'Analyses et de Séparation des Essences Végétales (LASEVE), Département des sciences fondamentales, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, QC, Canada

³ Centre de recherche sur la Boréale, Université du Québec à Chicoutimi, Saguenay, QC, Canada

⁴ Fredericton Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Fredericton, NB, Canada

⁵ Saint-Jean-sur-Richelieu Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Saint-Jean-sur-Richelieu, QC, Canada

⁶ La Patate-Lac-Saint-Jean Inc, Péribonka, QC, Canada

Contributions des auteurs :

Stéphanie Cloutier : réalisation des expériences *in vitro* et *in vivo*, analyses des données, écriture du manuscrit original. Maxime Paré : conception de l'expérience *in vivo*, analyses des données, écriture du manuscrit original. Jean Legault : conception de l'expérience *in vitro*, révisions du manuscrit. André Pichette : conception de l'expérience *in vitro* en matériel supplémentaire, révisions du manuscrit. Claudia Goyer : révisions du manuscrit. Martin Filion : révisions du manuscrit. Antoine Bédard : révisions du manuscrit.

2.1 ABSTRACT

Common scab is an important potato disease affecting tuber quality caused by *Streptomyces scabiei*. Most pesticides have limited efficacy against this disease and although soil fumigation using products such as chloropicrin can mitigate the symptoms, more environmentally friendly means of reducing potato common scab are sought after. Tree bark extracts with antimicrobial properties against *S. scabiei* may offer an environmental-sustainable alternative to conventional chemical control approaches. The objectives of this study were to: 1) evaluate the inhibitory effects of different bark extracts which susceptible to demonstrated antimicrobial activity, on the growth of three different *S. scabiei* strains under controlled conditions and to: 2) determinate the effects of the best performing extracts on common scab symptoms reduction and potato yield under representative *in planta* conditions. Bark extracts obtained from coniferous species (*Pinus contorta*, *Larix laricina* and *Picea mariana*) were significantly more efficient compared to extracts from than broadleaf tree species against *S. scabiei* growth and common scab symptoms incidence and severity. The symptoms were on average reduced by 48% with bark extracts concentrations inputs ranging from 0.033 and 0.065 kg/m². The results indicated that there were no significant *S. scabiei* strain differences in the IC₅₀ and IC₉₀ values obtained for the different extracts, suggesting efficacy against various scab-causing agents. Soil type also had a significant effect on common scab symptoms severity when using different bark extracts concentrations. The symptoms severity was generally higher in alkaline soil displaying better fertility. Interestingly, tuber yield and vegetative growth of *S. tuberosum* were not negatively affected by the extracts. This study shows that *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana* extracts may represent an environmentally friendly alternative to the use of chemicals to control common scab disease symptoms.

Keywords

Common scab, bark extract, boreal forest, *Solanum tuberosum*, *Streptomyces scabiei*, *Streptomyces* spp.

2.2 INTRODUCTION

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most cultivated vegetable in the agriculture industry throughout the world (Déziel and Chartrand 2019). However, its vegetative mode of multiplication favors the transmission and propagation of diseases such as common scab (Hill and Lazarovits 2005; Tsrer 2010). Common scab is a major disease affecting table and seed potatoes (Flinn *et al.* 2005). The disease alters the appearance and market value of the tubers (Lerat *et al.* 2009; Wanner et Kirk 2015). In Canada, the mean prevalence of common scab was estimated at 82% of total potato production areas in 2002, which represented several million dollars in economic losses (Hill and Lazarovits 2005).

Common scab is caused by filamentous bacteria belonging to the genus *Streptomyces* spp. (Gram-positive Actinobacteria) (Locci 1994; Seipke *et al.* 2012). *Streptomyces scabiei* is the predominant species causing common scab disease in Canadian and North American soils (Loria *et al.* 1997). These bacteria produce different pathogenicity factors, including the phytotoxin thaxtomin A (King *et al.* 1992). Thaxtomin A inhibits cellulose synthesis (Bischoff *et al.* 2009) and creates superficial, raised or deep lesions on the surface of infected tubers (Bukhalid and Loria 1997). *S. scabiei* has the capacity to survive in soil and cellular tissues of the tuber despite the defense mechanisms of *S. tuberosum*. This makes it difficult to manage common scab once established in a field (Flinn *et al.* 2005).

Current control methods are predominantly cultural and include irrigation (Wilson *et al.* 2001), crop rotations (Larkin *et al.* 2011), fumigants (Al-Mughrabi *et al.* 2016), reduction of soil pH (Lambert and Loria 1989; Lacey and Wilson 2001) and antagonistic microorganisms (Al-Mughrabi *et al.* 2016; Castro *et al.* 2019). However, most of these methods did not demonstrate consistent reduction of disease symptoms. In Canada, some chemicals (e.g. chloropicrin; 2,4-dichlorophenoxyacetic acid) were reported to control potato common scab, but they are not specific (Thompson *et al.* 2014; Al-Mughrabi *et al.* 2016) and they have negative effects on the environment, soil quality and human health (Ashworth and Yates 2019; Negrão *et al.* 2019; Fang *et al.* 2020).

The forest industries in Quebec produce significant volumes of bark residues with 1.7 million metric tons of anhydrous produced in 2019 (Delisle 2020). Bark residues are used in part for bioenergy production, but most part remains unused (Francezon and Stevanovic 2017; St-Pierre *et al.* 2019). Studies have shown that some tree bark extracts from boreal forest species, used in traditional Native American medicine, have bioactive compounds with high antimicrobial potential against Gram-positive *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. and *Bacillus* spp., as well as filamentous fungi (Omar *et al.* 2000; Laireiter *et al.* 2014). A previous study demonstrated antibacterial properties of resinous components of bark extracts obtained from *Abies balsamea*, *Picea glauca*, and *Larix Laricina* against Gram-positive bacteria (Bérubé-Gagnon 2006). Bark extracts residues with a history of antimicrobial properties against Gram-positive bacteria could therefore also inhibit the growth of *S. scabiei*.

The general objective of this study was to evaluate the efficacy of tree bark extracts to inhibit *S. scabiei* growth and common scab symptoms on potato tubers under controlled conditions. A first investigation was conducted *in vitro* using eight bark extracts known for their antimicrobial potential, to determine their effect on different *S. scabiei* strains by comparing their inhibitory concentration of 50% (IC₅₀) and 90% (IC₉₀) of bacterial growth with tetracycline, a broad-spectrum antibiotic used as a positive control (Objective 1). A second study was conducted in a greenhouse and was divided into two sub-objectives. The first sub-objective (2.1) was to evaluate the effect of soil type (sites), potato variety, soil sterilization and *S. scabiei* addition on potato growth and common scab symptoms to test and validate the experimental conditions leading to the development of common scab symptoms on potato tubers. The second sub-objective (2.2) was to investigate the effect of the best performing extracts found in the first objective on potato growth and common scab symptoms.

2.3 MATERIAL AND METHODS

2.3.1 BACTERIAL STRAINS

The antimicrobial activities of bark extracts were tested on three different bacterial strains of *S. scabiei* ATCC 49173, EF-35 and a strain (SC-1). The ATCC 49173 strain was supplied by the American Type Culture Collection and the EF-35 strain was supplied by the Université de Sherbrooke, Canada. The strain SC-1 was isolated from a field site of our research partner La Patate-Lac-Saint-Jean Inc., Canada according to the Fyans *et al.* (2016) method. All strains were confirmed as being pathogenic on potato and were bearing the *txtA* gene that is involved in thaxtomin A production (Wanner 2007). Bacterial cultures were stored at -80 °C.

2.3.2 OBJECTIVE 1

Antibacterial activities of eight bark extracts from different tree species of the boreal forest, and one control consisting of tetracycline were measured on the growth of three different strains of *S. scabiei*. Bark extracts were commercially prepared in powder form by FPIInnovation. Bark extracts from yellow birch (*Betula alleghaniensis* Britton), silver birch (*Betula papyfera* Marshall), tamarack [*Larix laricina* (Du Roi) Koch], black spruce [*Picea mariana* (Miller) BSP], shore pine (*Pinus contorta* Douglas ex Loudon), quaking aspen (*Populus tremuloides* Michaux), eastern hemlock [*Tsuga canadensis* (Linné) Carrière] and western hemlock [*Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg.] were tested.

Antibacterial effects of bark extracts on *S. scabiei* were measured by the microdilution method using 96-well plates (Paré *et al.* 2018). The *S. scabiei* inocula used in this assay were prepared by inoculating the three bacterial strains into Yeast malt broth and incubated at 28 °C for 4 to 5 days. Bacterial solutions were prepared to

obtain a concentration of 4% in Yeast malt broth and were homogenized (PowerGen Model 125 Homogenizer, Fisher Scientific, United States) at maximum speed for 60 sec. The optical density was measured using a spectrophotometer at 600 nm (Multiskan GO, Fisher Scientific, United States) and was adjusted between 0.10 and 0.15 nm with Yeast malt broth, to ensure a similar bacterial density. Different stock solutions were prepared for bark extracts. They were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO), a non-volatile solvent that increases the solubilization of hydrophobic compounds, to obtain a concentration of 8%. A concentration gradient was prepared in a dilution plate from stock solutions of bark extracts and from a solution of tetracycline (control) to obtain eight concentrations per product using DMSO as the solvent. Mixing was performed using a micropipette. A sample of each dilution (10 μL) was added to 2 mL of Yeast malt broth in each well of a deep well plate. The concentration gradient tested was 0.562 to 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for bark extracts. For the tetracycline control, the concentration gradient tested was 0.001 to 0.125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for all *S. scabiei* strains. The addition of 10 μL of the solvent DMSO to 2 mL of Yeast malt broth was done to evaluate the toxicity of the solvent. Survival of the *S. scabiei* strains was compared to a control consisting of the strains inoculated in 2 mL of Yeast malt broth. In addition, each bark extract was added to the plate without bacterial solution to avoid interference at the time of fluorescence reading of the resazurin reduction test (see below). The extracts (100 μL), tetracycline (100 μL) and bacterial solution (100 μL) were added to the plate. The 96-well plates were incubated at 28 °C for 24 hours. The growth of the *S. scabiei* strains was measured using a resazurin reduction test (Paré *et al.* 2018; O'Brien *et al.* 2000). The resazurin solution at 10% (v/v) was prepared in the buffer PBS-1X and 100 μL was added in each well. The plate was incubated at 28 °C for one hour, then fluorescence was measured with a fluorescence microplate reader (Fluoroskan Ascent, Fisher Scientific, United States). The efficacy of the bark extracts in inhibiting *S. scabiei* growth was evaluated by the inhibitory concentration of 50% bacterial growth (IC_{50}) and the inhibitory concentration of 90% bacterial growth (IC_{90}) from the dose response curve of the individual strain fitted by the Levenberg-Marquardt algorithm (Marquardt 1963). The inhibition of *S. scabiei* growth by the different bark extracts

was repeated four times in four distinct experiments. For each experiment, the gradient of dilutions of each product was added in triplicate.

2.3.3 OBJECTIVE 2

A cycle of potato production in a greenhouse was conducted at the Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, Canada in order to assess objectives 2.1 and 2.2.

2.3.3.1 Objective 2.1

The first experimental set-up was used to evaluate the effect of the soil origin (sites), potato variety, soil sterilization and *S. scabiei* addition on potato growth and severity of common scab. The factors evaluated in this experiment included two varieties of potato (Envol© and Kalmia©), the soil of two different sites (named BN, JYL), with/without soil sterilization and with/without *S. scabiei* addition [9.3×10^6 bacteria (ATCC 49173 + EF-35) per /pot]. The potato varieties Envoy© and Kalmia© are susceptible to common scab and potato plantlets were obtained from La Patate Lac-Saint-Jean Inc., Péribonka, Canada. The soils from two sites (BN and JYL) were collected at two locations with a known history of common scab disease (BN. 48°80'85''N, 71°21'73''W and JYL. 48°81'60''N, 72°24'61''W, Péribonka, QC, Canada). The sites were identified as Parent soil series (Raymond 1965) and the chemical properties for both soils are presented in Table 1. The soil was sieved to 5 mm and manually homogenized before use. Soil sterilization was performed in an autoclave (two cycles of two hours at 121 °C) before the inoculum addition. The design was a randomized complete block design with five replicates, for a total of 80 experimental units (EU).

Each treatment was prepared individually eight days before planting in a plastic bag to avoid cross-contamination and ensure homogenization of the bark extracts and bacterial strains throughout the soil. Each plastic pot (1.5 L capacity, which corresponds to an EU) were filled with about 1.03 kg of soil.

Table 1. Chemical properties of the two soils used

Soil property, unit	Method	BN soil	JYL soil
Soil pH	Distilled water	6.1	5.6
Soil organic matter, %	Combustion	4.8	3.2
N-NH ₄ , mg kg ⁻¹	Kjeldahl	5.2	4.8
N-NO ₃ , mg kg ⁻¹	Kjeldahl	24.2	12.9
P, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	53.1	44.2
K, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	109.4	60.3
Mg, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	64.7	26.3
Ca, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	765.2	382.6
Al, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	1610	1795
Fe, mg kg ⁻¹	Mehlich-3	113	128

The potato plantlets were obtained by tissue culture and grown for two months by La Patate Lac-Saint-Jean Inc. One potato plantlet was planted per pot (per EU) and the plastic bags of each treatment were used as a glove to avoid cross-contamination. Immediately after planting, a plastic film was added above the potato plantlet during the first six days to retain humidity and favor root growth. The growth parameters of the greenhouse were adjusted according to the local climate. Temperatures were maintained at 19 °C during the day and 12 °C during the night. Artificial light was used to provide a daily photoperiod of 17 hours per day. The potato plants were gently watered twice a day with a small portable water sprayer (2L) to minimize cross-contamination. The potato plants were fertilized with nitrogen (N), phosphorus (P), potassium (K) and micronutrients, according to the *Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec* (CRAAQ) recommendations.

2.3.3.2 Objective 2.2

To determine the effect of the best performing extracts on common scab symptoms and to evaluate their impact on key agronomic variables, a second experiment was conducted in a greenhouse in a randomized complete block design. The two best performing bark extracts (e.g. *P. contorta* and *L. laricina*) and the second best but available in great quantity (e.g. *P. mariana*) were applied at five doses (bark application rate) (0; 0.16; 0.33; 0.65; and 1.33 g per pot). In addition to bark type and bark application rate, the sites (BN and JYL) and potato varieties (Envol and Kalmia) were also included as factors. The experiment had five replicates for a total of 300 EU.

The preparation of treatments, plantation and greenhouse parameters were as described under objective 2.1. The bacterial inoculum was prepared following the procedure described in objective 1 and added to soil at 9.3×10^6 bacteria (ATCC 49173 + EF-35) per bag/pot]. The bark extracts (dissolved in 25 mL of distilled water) were added to soil (in plastic bag) four days after bacterial inoculation. The potato plantlets were planted eight days after the bacterial inoculation and four days after bark extract addition.

All potato plants were harvested after ten weeks of vegetative growth. The vegetation biomass (leaves and stems), roots and tubers were separated for each plant. The vegetation biomass was dried at 65 °C for 72 hours to calculate dry biomass. The soil particles were gently removed from tubers before measuring potato yield. The lesion severity was estimated according to a 1-4 scale (1 = no scab lesion, 2 = superficial scab lesion, 3 = moderate scab lesion, 4 = deep scab lesion). The scab severity was calculated by dividing the scab lesions coverage by the total potato surfaces. The lesion coverages on the surface of potato were measured using an electronic Vernier and calculated according to their geometric shapes (e.g. squares, circles). Scab severity was calculated according to Paré *et al.* (2018) as follows:

$$\text{Scab severity, \%} = \frac{a + b + c + d + n}{A + B + C + D + N} \times 100 \quad (1)$$

where the numerator is the sum of surface area (mm²) covered by the scab lesions on all tubers of the EU and the denominator is the total surface of each tuber (mm²) of the EU. The volume (mL) of each tuber was determined by the water displacement method and was converted to surface area (mm²) according to a pre-established correlation ($R^2 = 0.99$).

2.3.4 STATISTICAL ANALYSES

2.3.4.1 Objective 1

The data was analyzed using a linear mixed model (mixed model procedure) with SPSS, version 26 for Windows (IBM Corp. 2016), to compare the effects of the bacterial strains, the bark extracts and application rate on the IC₅₀ and IC₉₀ values. Experiments (n=4) was used as a random factor in the model. The homogeneity of the variance and normality of the distribution were verified. An LSD (Least significant difference) post-hoc test was used to identify the significant differences of strains, bark extracts and application rate. The significance level was accepted at $p < 0.05$.

2.3.4.2 Objective 2

The statistical analyses were conducted according to two models. The first model was used to evaluate the parameters (site, variety, soil sterilization, *S. scabiei* addition) of the experiment under objective 2.1. The second model was used to determine the effect of bark type and bark application rate for both soils and potato varieties (Objective 2.2). The analysis of variance (ANOVA) of both models were performed with ImerTest package (Kuznetsova *et al.* 2017) in RStudio (version 1.2.5033). The assumptions (homogeneity and normality) were verified before running the analyses. A Tukey post-hoc test was performed to determine the significant differences when needed. The significance level was accepted at $p < 0.05$.

2.4 RESULTS

2.4.1 OBJECTIVE 1

In this experiment, the efficiency of the bark extracts was evaluated by their IC₅₀ and IC₉₀ obtained using the microdilutions method. There were no significant differences in the IC₅₀ and IC₉₀ obtained for the different *S. scabiei* strains tested. Furthermore, the absence of significant interaction between *S. scabiei* strains and product types obtained (Table 2) suggests that all *S. scabiei* strains react similarly to the different bark extracts.

Table 2. Effects of different *S. scabiei* strains and product types on IC₅₀ and IC₉₀

Source of variation	df ₁	df ₂	IC ₅₀	IC ₉₀
			----- F value (Probabilities) -----	
Product types (PT)	6	5	42.923 (<0.001)	26.735 (<0.001)
<i>S. scabiei</i> strains (SCAB)	2	2	1.527 (0.226)	0.317 (0.730)
SCAB×PT	11	6	1.834 (0.071)	1.517 (0.200)

Experiments (n=4) were used as random factor in the mixed model.

PT: Tetracycline, *Tsuga heterophylla*, *Tsuga canadensis*, *Pinus contorta*, *Larix laricina* and *Picea mariana*

SCAB: ATCC 49173, EF-35, SC-1

df₁: IC₅₀ degree of freedom

df₂: IC₉₀ degree of freedom

Numbers in bold are significant (P < 0.05)

IC₅₀: inhibitory concentration of 50% bacterial growth

IC₉₀: inhibitory concentration of 90% bacterial growth.

The effects of the different products on the IC₅₀ and IC₉₀ are shown in Table 3. The positive control using tetracycline had an IC₅₀ of 0.10 µg mL⁻¹, which was much more effective than the tested bark extracts (Table 3). The bark extracts from *Betula papyfera*, *Betula alleghaniensis* and *Populus tremuloides* had limited effect on the growth of different *S. scabiei* strains. The IC₅₀ and IC₉₀ values for *Betula* spp. were over 200 µg mL⁻¹, which was the maximum concentration tested (Table 3). For the

other bark extracts, the IC₅₀ were significantly different among product types (Table 3). Extracts from *P. contorta* and *L. laricina* were the most active bark extracts with lowest IC₅₀ and IC₉₀ values, whereas *P. mariana* had similar IC₅₀ but superior IC₉₀ values (Table 3). IC₅₀ and IC₉₀ of both *Tsuga* species were not significantly different as compared to *P. mariana* extracts (Table 3). Our results suggest that bark extracts of *P. contorta* and *L. laricina* were the most effective in controlling *S. scabiei* growth *in vitro*. As compared to *P. contorta*, extract from *P. mariana* displayed a more limited control activity against *S. scabiei*. However, *P. mariana* extract was selected for greenhouse trial because of its commercial use.

Table 3. Antibacterial activity of the bark extracts on ATCC 49173, EF-35 and SC-1 strains using the microdilution method

Product type	Average IC ₅₀ (µg mL ⁻¹) ± SE		Average IC ₉₀ (µg mL ⁻¹) ± SE	
Tetracycline (positive control)	0.01 ± < 0.01	a	0.09 ± < 0.09	a
<i>Tsuga heterophylla</i>	48 ± 10	d	110 ± 27	c
<i>Tsuga canadensis</i>	47 ± 11	d	94 ± 14	c
<i>Pinus contorta</i>	14 ± 2	b	52 ± 6	b
<i>Larix laricina</i>	21 ± 4	bc	58 ± 8	b
<i>Picea mariana</i>	28 ± 4	cd	111 ± 11	c
<i>Populus tremuloide</i>	100 ± 13	e	> 200	
<i>Betula papyfera</i>	> 200		> 200	
<i>Betula alleghaniensis</i>	> 200		> 200	

IC₅₀: inhibitory concentration of 50% bacterial growth

IC₉₀: inhibitory concentration of 90% bacterial growth

SE: standard error

Letters show significant differences using LSD post-hoc test (p < 0.05). IC₅₀ and IC₉₀ had two distinct models and were not compared.

2.4.2 OBJECTIVE 2

2.4.2.1 Objective 2.1

Common scab symptoms, tuber yield and total plant biomass were analyzed according to a linear model (Table 4). The results showed that potatoes cultivated in BN soil were significantly more affected by common scab than potatoes grown in JYL soil (Figure 1). Common scab severity and lesion intensity of tubers grown in BN soil were 72% and 23% greater, respectively, compared with tubers grown in the JYL soil. The Kalmia potato variety was more affected by common scab compared with Envol (Figure 1). Soil sterilization reduced scab severity close to zero, whereas it significantly increased total plant biomass by about 100% (Figure 1). Finally, adding *S. scabiei* (ATCC 49173 and EF-35 strains) significantly increased common scab symptoms severity and lesion intensity but to a lower extent, whereas it had no significant effect on potato total plant biomass and tuber yield (Figure 1).

Table 4. Effects of soil type, potato variety, sterilization and *Streptomyces scabiei* addition on common scab (CS) symptoms and agronomic variables

Source of variation	df	CS symptoms		Agronomic variables	
		CS severity	Lesion intensity median	Tuber yield	Total plant biomass ^{dry} †
----- F value (Probabilities) -----					
Soil type (ST)	1	17.33 (<0.001)	7.22 (0.009)	7.99 (0.006)	1.66 (0.203)
Potato variety (VAR)	1	9.25 (0.003)	5.46 (0.022)	35.69 (<0.001)	17.97 (<0.001)
Soil sterilization (STER)	1	83.38 (<0.001)	64.10 (<0.001)	1.05 (0.310)	116.01 (<0.001)
<i>S. scabiei</i> addition (SSA)	1	5.23 (0.026)	5.46 (0.022)	3.86 (0.054)	0.06 (0.806)
ST×VAR	1	0.26 (0.613)	0.12 (0.727)	0.26 (0.615)	3.28 (0.075)
ST×STER	1	2.18 (0.145)	0.49 (0.486)	44.42 (<0.001)	17.09 (<0.001)
VAR×STER	1	1.22 (0.274)	0.01 (0.907)	0.78 (0.382)	1.66 (0.203)
ST×SSA	1	1.49 (0.226)	3.07 (0.084)	0.43 (0.512)	0.01 (0.929)
VAR×SSA	1	1.34 (0.251)	0.05 (0.816)	1.81 (0.184)	2.13 (0.149)
STER×SSA	1	0.16 (0.692)	1.11 (0.297)	0.00 (0.972)	0.39 (0.536)
ST×VAR×STER	1	0.61 (0.439)	2.67 (0.107)	2.60 (0.112)	0.00 (0.992)
ST×VAR×SSA	1	3.35 (0.072)	3.94 (0.051)	0.30 (0.586)	0.17 (0.681)
ST×STER×SSA	1	4.47 (0.039)	3.49 (0.066)	0.01 (0.934)	0.44 (0.509)
VAR×STER×SSA	1	5.98 (0.017)	4.93 (0.030)	1.46 (0.232)	3.34 (0.073)
ST×VAR×STER×SSA	1	0.01 (0.915)	0.05 (0.816)	0.22 (0.640)	0.03 (0.863)

ST: BN and JYL

VAR: Kalmia and Envol

STER: with and without sterilization

SSA: with and without *S. scabiei* inoculum

df: degree of freedom;

† without tubers

Numbers in bold are significant (P < 0.05).

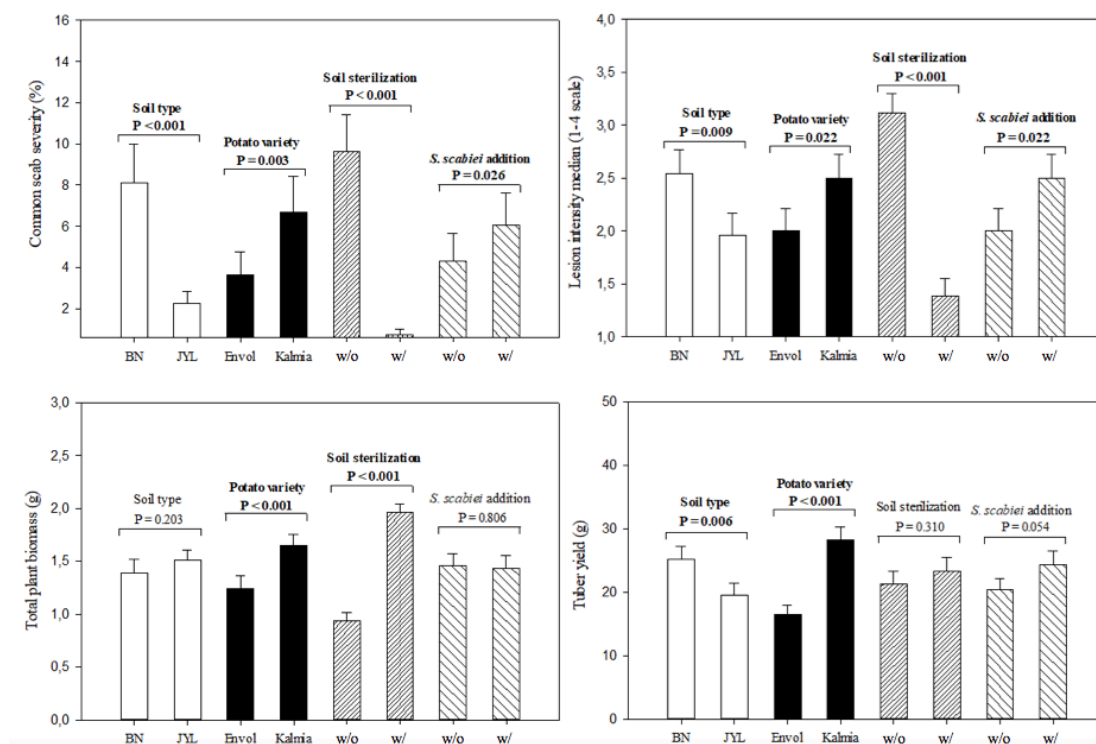


Figure 1. Common scab severity (%), lesion intensity median (1 to 4 scale), total plant biomass (without tuber, g per pot), and tuber yield (g) in relation to soil type (BN and JYL), potato variety (Envol and Kalmia), soil sterilization [without (w/o) and with (w/)]. Lesion intensity: 1 = no scab lesion; 2 = superficial scab lesion; 3 = moderate scab lesion, 4 = deep scab lesion. Error bars represent the standard error (SE) from the mean.

2.4.2.2 Objective 2.2

The effect of soil type, potato variety, bark type and bark application rate to soil have been investigated on potato symptoms and growth (Table 5). Results showed that only soil (BN > JYL) and bark application rate had significant effects on scab severity, whereas potato variety, bark type and all interactions were not significant (Table 5). Bark type (*P. contorta*, *L. laricina*, and *P. mariana*) had similar effect on common scab symptoms (Table 5). More importantly, compared to controls (no bark input), the

results showed a significant reduction of about 48% of common scab severity after adding 0.33 or 0.65 g of extract per pot (Figure 2). Lesion intensity (1 to 4 scale) was not affected by any of the factors (Table 5). Therefore, the common scab lesion was reduced with bark input, but the intensity of the lesions remained unchanged. Furthermore, although bark application rate did not significantly change tuber yield or root biomass (Table 5), an input of 1.30 g of extract per pot significantly increased aboveground biomass by about 20% in comparison with the control (Figure 3), which excludes any phytotoxicity effect of our tested bark extracts.

Table 5. Effects of soil type, potato variety, bark type and bark application rate on common scab (CS) symptoms and agronomic variables

Source of variation	df	CS severity	Lesion intensity median	Tuber yield	Root biomass _{dry} †	Aboveground biomass _{dry}
----- F value (Probabilities) -----						
Soil type (ST)	1	71.72 (<0.001)	1.84 (0.177)	34.15 (<0.001)	32.93 (<0.001)	61.37 (<0.001)
Potato variety (VAR)	1	3.73 (0.055)	0.00 (0.986)	36.86 (<0.001)	70.07 (<0.001)	65.93 (<0.001)
Bark type (BARK)	2	0.23 (0.796)	0.47 (0.628)	0.69 (0.504)	0.50 (0.607)	1.38 (0.254)
Bark application (INP)	4	3.61 (0.007)	2.86 (0.092)	1.20 (0.312)	1.06 (0.377)	2.71 (0.031)
ST×VAR	1	1.36 (2.444)	0.22 (0.640)	0.55 (0.459)	3.47 (0.064)	1.64 (0.201)
ST×BARK	2	0.24 (0.789)	0.30 (0.741)	1.33 (0.268)	1.76 (0.175)	0.26 (0.773)
VAR×BARK	2	0.12 (0.887)	1.12 (0.328)	0.09 (0.910)	0.53 (0.591)	0.69 (0.503)
ST×INP	4	1.34 (0.257)	1.58 (0.210)	1.31 (0.268)	0.73 (0.575)	1.11 (0.353)
VAR×INP	4	0.20 (0.937)	0.68 (0.412)	2.40 (0.051)	2.56 (0.040)	4.12 (0.003)
BARK×INP	8	0.06 (1.000)	0.47 (0.628)	0.68 (0.712)	1.05 (0.396)	0.53 (0.830)
ST×VAR×BARK	2	0.22 (0.806)	0.61 (0.542)	0.66 (0.520)	0.22 (0.800)	0.37 (0.688)
ST×VAR×INP	4	0.15 (0.962)	0.70 (0.402)	1.37 (0.246)	0.22 (0.929)	0.58 (0.679)
ST×BARK×INP	8	0.25 (0.980)	0.86 (0.423)	0.58 (0.798)	1.177 (0.084)	0.62 (0.764)
VAR×BARK×INP	8	0.34 (0.950)	1.46 (0.234)	0.94 (0.486)	0.44 (0.896)	0.93 (0.493)
ST×VAR×BARK×INP	8	0.28 (0.972)	0.59 (0.553)	1.51 (0.156)	0.77 (0.629)	0.77 (0.626)

ST: BN and JYL; VAR: Kalmia and Envöl; BARK: *Pinus contorta*, *Larix laricina*, *Picea mariana*

INP: 0.00-0.16-0.33-0.65-1.30g

df: degree of freedom

† Roots only, without tubers

Numbers in bold are significant ($P < 0.05$).

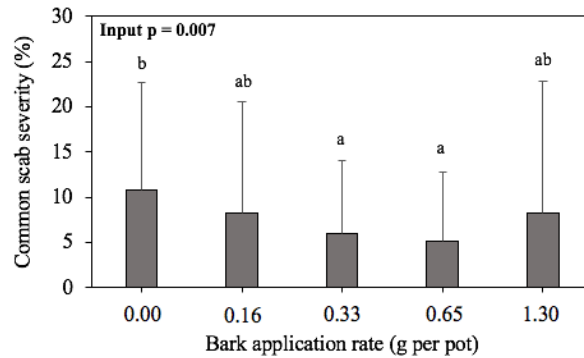


Figure 2. The effect of bark application rate (g per pot of 1.5L capacity) on the average common scab severity of Kalma and Envoy varieties (%). Error bars indicate standard deviations (SD) from the mean (n=60). Letters show significant differences using Tukey ($p < 0.05$).

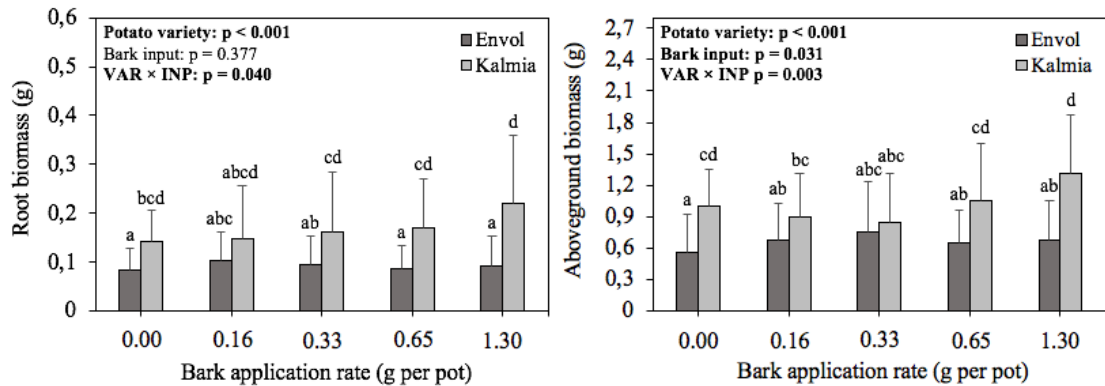


Figure 3. The interaction effect of potato variety and bark application rate (g per pot of 1.5L capacity) on average root biomass (g) and average aboveground biomass (g) among the three bark extracts tested. Error bars indicate standard deviations (SD) from the mean (n = 30). Letters show significant differences using Tukey post-hoc test ($p < 0.05$).

2.5 DISCUSSION

This study demonstrated the potential of bark extracts to inhibit *S. scabiei* growth (Objective 1) and more importantly to reduce severity of the potato common scab symptoms without affecting plant growth and tuber yields (Objective 2).

2.5.1 THE EFFECT OF BARK EXTRACTS ON *S. SCABIEI* GROWTH

The bark extracts effect on *S. scabiei* growth was evaluated using efficiency indicators (IC₅₀ and IC₉₀). The effectiveness of tetracycline, used as a positive control, in inhibiting *S. scabiei* growth (IC₅₀ of 0.01 µg mL⁻¹) shows that the experimental design was suitable to assess the effect of the bark extracts on bacterial growth (Table 3). There was no significant difference in the effectiveness on the three pathogenic *S. scabiei* strains (Table 2). The strain isolated from a local field (SC-1) reacted to the addition of the different bark extracts and tetracycline similarly to well-known pathogenic strains (ATCC 49173 and EF-35). These results suggest that the bark extracts likely affect a wide range of gram-positives species. Results show that extracts from coniferous species (*T. heterophylla*, *T. canadensis*, *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana*) were better at reducing *S. scabiei* growth than broadleaf trees species (Table 3). At the best of available knowledge, the bark extracts of coniferous species have never been tested on *Streptomyces* spp. pathogenic strains. Previous studies have shown that specific conifer molecules can have an antibacterial effect on other Gram-positive bacteria (Bérubé-Gagnon 2006; Côté *et al.* 2016). They have demonstrated that specific molecules in the ethanolic bark extracts of *A. balsamea*, *L. laricina*, *P. glauca* and *P. mariana* (Bérubé-Gagnon 2006) and oleoresin of *A. balsamea* (Côté *et al.* 2016) were active against *Staphylococcus aureus*, a Gram-positive bacterium that cause a wide variety of human clinical diseases. The compounds responsible for the antibacterial activity were abietic acid, dehydroabietic acid, isopimaric acid, neoabietic acid, palustric acid and sandaracopimaric acid (Bérubé-Gagnon 2006; Côté *et al.* 2016). These compounds are belonging to resin acids family (e.g. diterpenes). Resin acids are widely produced by coniferous trees species and some of these compounds

have known antifungal properties in addition to their antibacterial activities (Slavuchinske *et al.* 1999; Stevanovic and Perrin 2009). Results of the present study show a good potential in using the *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana* bark extracts to reduce *S. scabiei* growth and common scab symptoms without affecting potato growth. Many resin acids were identified in *Pinus* spp. (Ritch-Krc *et al.* 1996; Simard 2007) and bark of *L. laricina* and *P. mariana* (Conner *et al.* 1980; Bérubé-Gagnon 2006). A preliminary investigation was performed in order to evaluate the antimicrobial activity of the resin acids against *S. scabiei* strains, namely ATCC 49173, EF-35 and SC-1. As expected, all tested resin acids greatly reduced growth of all of the *S. scabiei* strains, resulting in low IC₅₀ (Table S1) and IC₉₀ (Table S2) values. Compared to our best bark extracts (*P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana*) (Table 3), all six tested resin acids had IC₅₀ and IC₉₀ more than 1 000 times lower, which is similar to the efficiency of tetracycline, our positive control (Tables 3, S1, and S2). These preliminary results suggest that the antibacterial activity of bark extract is probably due in part to resin acids. The mechanism of action of resin acids against *S. scabiei* remains unknown, but their antibacterial activity could be explained by the damages caused to the cell wall and membrane structure like others gram-positives bacteria as *S. aureus* and MRSA (Rautio *et al.* 2007; Sipponen *et al.* 2009; Côté *et al.* 2016). Recently, bark extracts of *P. mariana* were tested on other pathogenic microorganisms affecting potato tubers (Boivin *et al.* 2021). In a similar microdilution method, ethyl acetate *P. mariana* bark extract has demonstrated antimicrobial effect against *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* sp., gram-negative bacteria causing soft rot, and fungi *Fusarium* spp. causing dry rot in North American warehouses (Boivin *et al.* 2021). The results of our study suggest that *P. mariana* bark extract was more effective against gram-positive bacterial strains than the ethanolic bark extract of Boivin *et al.* (2021) against gram-negative bacteria and fungi. Indeed, a concentration of 0.60% (w/w) was necessary to inhibit more than 90% of *Pectobacterium* spp., *Dickeya* sp. and *Fusarium* spp. growth compared to 0.01% (w/w) to inhibit 90% of *S. scabiei*'s growth. The higher efficacy of coniferous bark extracts to inhibit gram-positives bacteria compared to gram-negatives bacteria can be partially explained by the resin acids effect on the cell wall and membrane structure. The outer membrane of gram-negatives bacteria, absent in gram-

positives bacteria, could serve as protective barrier against antibacterial agents such as resin acids (Rautio *et al.* 2007; Sipponen *et al.* 2009). This suggests that bark extracts of the present study could have effect against other pathogens causing plant or clinical diseases, mainly gram-positive bacteria and possibly fungi. The action spectrum of resin acids bark extracts needs to be evaluated but it is likely not specific to *S. scabiei*.

2.5.2 THE EFFECT OF BARK EXTRACTS ON COMMON SCAB SYMPTOMS

Compared to control, results show that the *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana* bark extracts significantly reduced by 48% common scab symptoms with no significant effect on potato agronomical variables such as tuber yield, root and aboveground biomass (Figures 2 and 3). The inhibition of *S. scabiei* growth by the bark extracts and resin acids in objective 1 likely explains reduction of common scab symptoms observed on potato tubers. The common scab symptoms reduction without effect on potato agronomic variables suggest that bark extracts from *P. contorta*, *L. laricina*, and *P. mariana* have great potential to be used as an original and new bioproduct to control potato common scab symptoms. Bark extracts from coniferous species have never been reported in reducing both *S. scabiei* growth and common scab symptoms. More importantly, this study is the first that highlight *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana* extracts efficiency in controlling common scab severity without affecting *S. tuberosum* growth. In literature, other plant extracts and/or residues were reported to reduce common scab severity on tubers. For instance, extracts and plant residues of goldenrod (*Solidago canadensis* L.) were highlighted to significantly reduce common scab symptoms observed on potato tubers (Paré *et al.* 2018). Nevertheless, the best performing bark extracts from the present study (e.g. *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana*) have already demonstrated higher efficiency compared to *S. canadensis*. Indeed, 1.2 kg m⁻² of *S. canadensis* were needed to reduce common scab severity by 45%, whereas inputs between 0.033 and 0.065 kg m⁻² of coniferous bark extracts were needed to reduce the severity by nearly 48% (Figure 2). Grounded roots and root extracts from *Geranium pratense* L. were also tested against common scab

symptoms in Japan (Ushiki *et al.* 1998). However, unlike the previous study, tuber symptoms were not significantly reduced by root and/or extract additions to the soil (Ushiki *et al.* 1998). In addition to the strong resin acids inhibition effect on *S. scabiei* growth, change in soil microbial communities may also explain the reducing effects of bark extracts on potato common scab symptoms. Studies have shown that the soil microbial growth increases after adding organic matter (OM), especially in the nutrient-poor soils such as Podzols (Stone *et al.* 2004; Saison *et al.* 2006; Mehta *et al.* 2014). As *Streptomyces* spp. are OM decomposers, adding OM through bark extracts likely increases competition among other soil heterotrophic microorganisms. Adding OM may result in beneficial bacteria density increases to the detriment of pathogenic populations, hence causing a decrease of potato common scab symptoms (Keinath and Loria 1991; Wilson *et al.* 2018).

2.5.3 INOCULUM LEVEL, POTATO VARIETIES AND SOIL TYPE EFFECTS ON COMMON SCAB SYMPTOMS

The inoculum level, potato varieties and soil type were also evaluated and reported as important factors in controlling common scab symptoms and potato yields (Objective 2.1). First, the addition of *S. scabiei* to the soil (mix solution of ATCC 49173 and EF-35) significantly increased common scab severity and lesion intensity when compared to non-inoculated soils (Figure 1). These results are in accordance with Keinath and Loria (1991) who demonstrated a positive correlation between the inoculum density of *S. scabiei* and common scab symptoms on potato tubers. Second, the present study is the first to show that Kalmia potato variety is more sensitive to common scab than Envoy potato variety to ATCC 49173 and EF-35 strains (Figure 1). According to other studies, potato varieties may have different resistance to pathogenic strains of *Streptomyces* spp. (Keinath and Loria 1989; Hiltunen *et al.* 2005; Clarke *et al.* 2019). Both the moment of tuberization and *S. scabiei* infection period may explain differences in susceptibility between the varieties (Khatri *et al.* 2011). Two to four weeks after the tuberization is often considered as critical stage of *S. scabiei* tuber infection (Adams 2008). However, since development (e.g. tuberization, maturation,

etc.) of the Envol and Kalmia are quite similar (i.e., both are early varieties), other explanations related to skin (Lulai 1995; Khatri *et al.* 2011) and genetics (Lerat *et al.* 2009) could explain the differences between the varieties. Furthermore, results showed that the soil used as growing medium has a strong and significant effect on the severity and intensity of the disease and tuber yields (Table 4, Figure 1). The soil pH may explain this difference. For instance, the BN soil has higher pH values compare to JYL, explaining the higher common scab severity in BN soil (Table 1). Indeed, many studies documented the increase of *S. scabiei* growth and common scab symptoms with increasing soil pH (Loria *et al.* 1997; Lacey and Wilson 2001; Wilson *et al.* 2018). In addition to soil pH, BN soil showed better soil fertility compare to JYL, with more OM, N, P, K, Ca, and Mg contents (Table 1). Unlike Paré *et al.* (2018) who showed a significant decrease in common scab symptoms with increasing mineral fertilization, the present study shows that the BN site, the most fertile, exhibited greater vulnerability to common scab symptoms. There is no scientific consensus or clear trends regarding the effect of soil fertility on common scab symptoms. It is often assumed that improving soil fertility also helps producing healthier plants that are more resistant to soil diseases (Janvier *et al.* 2007). However, since soil nutrient availabilities are increased when soil pH increases, results suggest that soil pH is the main factor in controlling common scab symptoms as compare to soil fertility. Nevertheless, results from objective 2.1 (Figure 1) highlight the necessity of considering (e.g. and/or controlling) the site, the potato variety and the *S. scabiei* concentration when common scab symptoms are studied in greenhouse and/or in the field.

2.5.4 BARK EXTRACTS POTENTIAL IN FIELD

Bark extracts of *P. contorta*, *L. laricina* et *P. mariana* could reduce the common scab symptoms in field without negatively affecting potato growth, according to the results obtained in objective 1 and objective 2. The history of antibacterial and antifungal activities of bark extracts containing resin acids suggest that *P. contorta*, *L. laricina* et *P. mariana* reduce tubers symptoms of other potato diseases by inhibiting the pathogen's growth. Physico-chemical characteristics of bioactive compounds could

influence their efficacy in field, in addition to the factors listed above. For instance, resin acids are hydrophobic compounds and their bioavailability may be limited in soil during field trials. An adjuvant may be needed to increase the solubilization and bioavailability of the resin acids in field to maximize their effectiveness to reduce common scab symptoms. However, the bioactive compounds concentration could be diluted with rain and irrigation. It may be necessary to reapply the product to maximize the common scab symptoms reduction over time. Finally, *S. scabiei* could develop resistance to the product because the bark extracts have not demonstrated any bactericidal effect on the bacteria.

2.6 CONCLUSION

The results of this study suggest that *P. contorta*, *L. laricina* and *P. mariana* bark extracts show potential to control common scab compared to extracts obtained from broadleaf trees such as *P. tremuloide*, *B. papyfera* and *B. alleghaniensis*. Inputs of 0.033 to 0.065 kg m⁻² of *P. contorta*, *L. Laricina* and *P. mariana* extracts significantly reduced tuber common scab symptoms by 48%, whereas they had no negative effect on *S. tuberosum* growth and tuber yield. Although active molecules in these extracts are still unknown, some evidences suggest that resin acids may explain antibacterial activity of bark extracts against *S. scabiei*. However, other studies are needed to directly test this hypothesis. The absence of study on the use of bark extracts to control common scab symptoms shows the novelty of our approach. Further studies are needed to validate bark extracts composition, optimize treatments (e.g. formulation, adjuvant, timing of application, etc.), develop commercial products with enhanced activities and low environmental impacts.

Acknowledgements

The authors are grateful to Catherine Dussault, Karl Girard-Lalancette, Catherine Tremblay, Geneviève Telmosse, and Anne Schmitt for their help with biological assays and greenhouse trials. The authors also thank La Patate Lac-Saint-Jean Inc., the Fonds de recherche axé sur l'agriculture nordique (FRAN-02), the Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT), the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), Mitacs and FPInnovations for their financial support. We also thank Dre C. Beaulieu for providing the *S. scabiei* EF-35 strain. We also want to thank the anonymous reviewers for their careful reading and their many insightful comments and suggestions.

2.7 REFERENCES

- Adams M. 2008. Potato tuber lenticels: development and structure. *Annals of Applied Biology*, 79 : 265-273.
- Al-Mughrabi KI, Vikram A, Poirier R, Jayasuriya K and Moreau G. 2016. Management of common scab of potato in the field using biopesticides, fungicides, soil additives, or soil fumigants. *Biocontrol Science and Technology*, 26 : 125-135.
- Ashworth DJ and Yates SR. 2019. Effect of application rate on chloropicrin half-life and simulated emissions across a range of soil conditions. *The Science of the Total Environment*, 682 : 457-463.
- Bérubé-Gagnon J. 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 76 p.
- Bischoff V, Cookson SJ, Wu S and Scheible WR. 2009. Thaxtomin A affects CESA-complex density, expression of cell wall genes, cell wall composition, and causes ectopic lignification in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 60 : 955-965.
- Boivin M, Bourdeau N, Barnabé S and Desgagné-Penix I. 2021. Black spruce extracts reveal antimicrobial and sprout suppressive potentials to prevent potato (*Solanum tuberosum* L.) losses during storage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 5 : 1-10.
- Bukhalid RA and Loria R. 1997. Cloning and expression of a gene from *Streptomyces scabies* encoding a putative pathogenicity factor. *The Journal of Bacteriology*, 179 : 7776-7783.
- Castro JC, Tuesta CM, Moscol JC, Cabello NG and Quispe JL. 2019. Isolation and selection of rhizospheric actinomycetes with antagonistic activity against potato phytopathogens (*Solanum tuberosum* spp. andigena). *Ecologia Aplicada*, 18 : 101-109.
- Cheng X, Deng J, Zhang SY, Rield B and Cloutier A. 2006. Impact of bark content on the properties of medium density fiberboard (MDF) in four species grown in eastern Canada. *Forest Products Journal*, 56 : 64-69.
- Clarke CR, Kramer CG, Kotha RR, Wanner LA, Luthria DL and Kramer M. 2019. Cultivar resistance to common scab disease of potato is dependent on the pathogen species. *Bacteriology*, 109 : 1544-1554.
- Conner AH, Diehl MA, and Rowe JW. 1980. Tall oil precursors and turpentine in black and white spruce. *Wood Science*, 13 : 111-116.

Coté H, Boucher MA, Pichette A, Roger B and Legault J. 2016. New antibacterial hydrophobic assay reveals *Abies balsamea* oleoresin activity against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *Journal of Ethnopharmacology*, 194 : 684-689.

Delisle JF. 2020. Ressources et industries forestière: portrait statistique 2020. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs. Direction du développement et de l'innovation de l'industrie, Québec, 138 p.

Déziel MH and Chartrand C. 2019. Portrait-diagnostic sectoriel de l'industrie de la pomme de terre au Québec. Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation, Direction du développement des secteurs agroalimentaires, Québec, Canada, 34 p.

Douville M, Vallée V, Proulx A, Bouchard M, Brulotte F, Baribeault J, Giguère M and Plasse JG. 2006. Profil des produits forestiers : première transformation. Ministère des ressources naturelles et de la faune, Direction du développement de l'industrie des produits forestiers, Québec, 109 p.

Fang W, Song Z, Tao S, Zhang D, Huang B, Ren L, Cheng H, Yan D, Li Y, Cao A and Wang Q. 2020. Biochar mitigates the negative effect of chloropicrin fumigation on beneficial soil microorganisms. *The Science of the Total Environment*, 738 : 1-11.

Flinn B, Rothwell C, Griffiths R, Lague M, DeKoeper D, Sardana R, Audy P, Goyer C, Li XQ, Wang-Pruski G and Regan S. 2005. Potato expressed sequence tag generation and analysis using standard and unique cDNA libraries. *Plant Molecular Biology*, 59 : 407-433.

Francezon N and Stevanovic T. 2017. Integrated process for the production of natural extracts from black spruce bark. *Industrial Crops and Products*, 108 : 348-354.

Fyans JK, Bown L and Bignell DR. 2016. Isolation and characterization of plant pathogenic *Streptomyces* species associated with common scab infected potato tubers in Newfoundland. *Phytopathology*, 106 : 123-131.

Hill J and Lazarovits G. 2005. A mail survey of growers to estimate potato common scab prevalence and economic loss in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27 : 46-52.

Hiltunen LH, Weckman A, Ylhainen A, Rita H, Richter E and Valkonen JPT. 2005. Responses of potato cultivars to the common scab pathogens, *Streptomyces scabies* and *S. turgidiscabies*. *Annals of Applied Biology*, 146 : 395-403.

IBM CORP. 2016. IBM Corp. Released 2016. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Janvier CI, Villeneuve F, Alabouvette C, Edel-Hermann V, Mateille T and Steinberg C. 2007. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biology & Biochemistry*, 39 : 1-23.

Keinath AP and Loria R. 1989. Population dynamics of *Streptomyces scabiei* and other Actinomycetes as related to common scab of potato. *Phytopathology*, 79 : 681-687.

Keinath AP and Loria R. 1991. Effects of inoculum density and cultivar resistance on common scab of potato and population dynamics of *Streptomyces scabies*. *American Potato Journal*, 68 : 515-524.

Khatri BB, Tegg RS, Brown PH and Wilson CR. 2011. Temporal association of potato tuber development with susceptibility to common scab and *Streptomyces scabiei* induced responses in the potato periderm. *Plant Pathology*, 60 : 776-786.

King RR, Lawrence CH and Calhoun LA. 1992. Chemistry of phytotoxins associated with *Streptomyces scabies* the causal organism of potato common scab. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 : 834-837.

Kuznetsova A, Brockhoff PB and Christensen RHB. 2017. lmerTest package: yests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82 : 1-26.

Lacey MJ and Wilson CR. 2001. Relationship of common scab incidence of potatoes grown in Tasmanian Ferrosol soils with pH, exchangeable cations and other chemical properties of those soils. *Journal of Phytopathology*, 149 : 679-683.

Laireiter CM, Schnabel T, Kock A, Stalzer P, Petutschnigg A, Oostingh GJ and Hell M. 2014. Active anti-microbial effects of larch and pine wood on four bacterial strains. *Bioresources*, 9 : 273-281.

Lambert D and Loria R. 1989. *Streptomyces scabies* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39 : 387-392.

Larkin RP, Honeycutt CW, Griffin TS, Olanya OM, Halloran JM and He Z. 2011. Effects of different potato cropping system approaches and water management on soilborne diseases and soil microbial communities. *Phytopathology*, 101 : 58-67.

Lerat S, Simao-Beauvoir AM and Beaulieu C. 2009. Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. *Molecular Plant Pathology*, 10 : 579-585.

Locci R. 1994. Actinomycetes as plant-pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 100 : 179-200.

Loria R, Bukhalid RA, Fry BA and King RR. 1997. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*, 81 : 836-846.

Lulai E. 1995. Research leads to more hastened skin set. Valley Potato Grower, 61 : 28-29.

Marie-Victorin F, Brouillet L, Rouleau E, Goulet I and Hay S. 2002. Flore laurentienne. Gaetan Morin, Québec, 1093 p.

Marquardt DW. 1963. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. Journal of the Society of Industrial and Applied Mathematics, 11 : 431-441.

Mehta CM, Palni U, Franke-Whittle IH and Sharma AK. 2014. Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. Waste Management, 34 : 607-622.

Negrão A, Oliveira B, Gonçalves M, Mariano T, Oliveira T, Sabela AA, Silva R, Mantovani R, Nai G and Pacagnelli F. 2019. Effect of short-term inhalation of the herbicide 2,4D on cardiac remodeling: morphological aspects. International Journal of Cardiovascular Sciences, 32 : 247-252.

O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. 2000. Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. European Journal of Biochemistry. 267 : 5421–5426.

Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GHN, Goel K and Arnason JT. 2000. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology, 73 : 161-170.

Paré MC, Legault J, Pichette A, Tremblay C and Aubut MF. 2018. Canadian goldenrod residues and extracts inhibit the growth of *Streptomyces scabiei*, the causal agent of potato common scab. Canadian Journal of Plant Pathology, 40 : 70-75.

Rautio M, Sipponen A, Peltola R, Lohi J, Jokinen JJ, Papp A, Carlson P and Sipponen P. 2007. Antibacterial effects of home-made resin salve from Norway spruce (*Picea abies*). Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, 115 : 335-340.

Raymond R, Mailloux A and Dubé A. 1965. Pédologie de la région du Lac-Saint-Jean. Ministère de l'Agriculture et de la Colonisation, Québec, 157 p.

Ritch-Krc EM, Turner NJ and Towers GHN. 1996. Carrier herbal medicine: an evaluation of the antimicrobial and anticancer activity in some frequently used remedies. Journal of Ethnopharmacology, 52 : 151-156.

Saison C, Degrange V, Oliver R, Millard P, Commeaux C, Montange D and Le Roux X. 2006. Alteration and resilience of the soil microbial community following compost amendment: effects of compost level and compost-borne microbial community. *Environmental Microbiology*, 8 : 247-257.

Seipke RF, Kaltenpoth M and Hutchings MI. 2012. *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme? *FEMS Microbiology Reviews*, 36 : 862-876.

Simard F. 2007. Évaluation du potentiel anticancéreux des extractibles du bois de pin rouge. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Québec, 76 p.

Sipponen A, Peltola R, Jokinen JJ, Laitinen K, Lohi J, Rautio M, Männistö M, Sipponen P and Lounatmaa K. 2009. Effects of Norway spruce (*Picea abies*) resin on cell wall and cell membrane of *Staphylococcus aureus*. *Ultrastructural Pathology*, 33.

Savluchinske-Feio S, Gigante B, Roseiro C, Marcelo-Curto MJ. 1999. Antimicrobial activity of diterpene resin acid derivatives. *Journal of Microbiological Methods*, 35 : 201-206.

Stevanovic T and Perrin D. 2009. Chimie du bois. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 241 p.

Stone A, Scheuerell S and Darby H. 2004. Suppression of soilborne diseases in field agricultural systems: organic matter management, cover cropping, and other cultural practices. *Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture*, 2 : 131-178.

St-Pierre A, Blondeau D, Bourdeau N, Bley J and Desgagné-Penix I. 2019. Chemical composition of black spruce (*Picea mariana*) bark extracts and their potential as natural disinfectant. *Industrial Biotechnology*, 15 : 219-231.

Thompson HK, Tegg RS, Corkrey R and Wilson CR. 2014. Optimal rates of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid foliar application for control of common scab in potato. *Annals of Applied Biology*, 165 : 293-302.

Tsrer L. 2010. Biology, epidemiology and management of *Rhizoctonia solani* on potato. *Journal of Phytopathology*, 158 : 649-658.

Ushiki J, Tahara S, Hayakawa Y and Tadano T. 1998. Medicinal plants for suppressing soil-borne plant diseases II. Suppressive effect of *Geranium pratense* L. on common scab of potato and identification of the active compound. *Soil Science and Plant Nutrition*, 44 : 157-165.

Wanner L. 2007. High proportions of nonpathogenic *Streptomyces* are associated with common scab resistant potato lines and less severe disease. *Canadian Journal of Microbiology*, 53 : 1062-1075.

Wanner LA and Kirk WW. 2015. *Streptomyces* – from basic microbiology to role as a plant pathogen. American Journal of Potato Research, 92 : 236-242.

Wilson C, Zebarth BJ, Goyer C and Burton DL. 2018. Effect of diverse compost products on soilborne diseases of potato. Compost Science & Utilization, 26 : 156-164.

Wilson CR, Pemberton BM and Ransom LM. 2001. The effect of irrigation strategies during tuber initiation on marketable yield and development of common scab disease of potato in Russet Burbank in Tasmania. Potato Research, 44 : 243-251.

Zulak KG and Bohlmann J. 2010. Terpenoid biosynthesis and specialized vascular cells of conifer defense. Journal of integrative plant biology, 52 : 86-97.

2.8 SUPPLEMENTARY MATERIALS

Table S 1. Antibacterial activity (IC_{50}) of the resin acids on ATCC 49173, EF-35 and SC-1 strains using the microdilution method

Resin acids	IC_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$) \pm SE		
	ATCC 49173	EF-35	SC-1
Abietic acid	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.026 ± 0.003
Dehydroabietic acid	0.010 ± 0.003	< 0.005	0.010 ± 0.001
Isopimaric acid	0.010 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.0070 ± 0.0003
Neobietic acid	0.0080 ± 0.0003	0.009 ± 0.001	0.0090 ± 0.0003
Palustric acid	0.013 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.008 ± 0.001
Sandaracopimaric acid	0.0080 ± 0.0003	0.008 ± 0.001	0.0070 ± 0.0003

IC_{50} was obtain with one repetition of the microdilution method, same procedure as for objective 1

Resin acids commercially available.

Dilutions of each product were measured in triplicate.

Table S 2. Antibacterial activity (IC₉₀) of the resin acids on ATCC 49173, EF-35 and SC-1 strains using the microdilution method

Resin acids	IC ₉₀ (µg mL ⁻¹) ± SE		
	ATCC 49173	EF-35	SC-1
Abietic acid	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Dehydroabietic acid	0.02 ± 0.01	0.010 ± 0.002	0.017 ± 0.001
Isopimaric acid	0.013 ± 0.002	0.023 ± 0.003	0.011 ± 0.001
Neoabietic acid	0.015 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.014 ± 0.001
Palustric acid	0.024 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.019 ± 0.003
Sandaracopimaric acid	0.013 ± 0.001	0.014 ± 0.002	0.013 ± 0.001

IC₉₀ was obtain with one repetition of the microdilution method, same procedure as for objective 1

Resin acids commercially available.

Dilutions of each product were measured in triplicate.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette étude a permis d'atteindre l'objectif principal, qui était d'évaluer l'effet des extraits d'écorce sur la croissance de l'agent pathogène principal de la gale commune, *S. scabiei*, et les symptômes de la gale commune sur les tubercules. Les résultats de cette étude supportent l'hypothèse de départ selon laquelle les extraits d'écorce ont la capacité d'inhiber la croissance de *S. scabiei* et de réduire les symptômes de la gale commune sur les pommes de terre en conditions contrôlées. En effet, cette étude a permis de mettre en évidence la capacité des extraits d'écorce de *P. contorta*, *L. laricina* à réduire significativement la croissance de *S. scabiei in vitro*. Les extraits de *P. contorta*, *L. laricina* de même que *P. mariana* ont également permis de réduire la sévérité de la maladie *in vivo*, et ce sans démontrer d'effet négatif sur la croissance de *S. tuberosum* et le rendement en tubercules.

En ce qui concerne les essais *in vitro*, la méthode standardisée de microdilution, qui a été adaptée avec le solvant DMSO pour augmenter la solubilisation des composés hydrophobes, a permis d'évaluer l'effet inhibiteur des extraits d'écorce de conifères et de feuillus sur la croissance des souches *S. scabiei* ATCC 49173, EF-35 et SC-1. Les extraits d'écorce de *P. contorta* et *L. laricina* pourraient, selon certaines évidences, inhiber la croissance d'autres bactéries à Gram-positif ou champignons responsables d'autres maladies de la pomme de terre. Certains acides résiniques, contenus dans les extraits d'écorce de conifères, pourraient être des produits bioactifs potentiels dans le développement d'un produit biosourcé contre la gale commune de la pomme de terre. Les résultats préliminaires présentés en matériel supplémentaire supportent cette hypothèse. La sensibilité élevée des souches de *S. scabiei* aux acides résiniques montre la pertinence de réaliser des études plus poussées pour valider leurs effets sur *S. scabiei*, les symptômes de la maladie et d'autres variables d'intérêts pour le développement d'un produit biosourcé.

Parmi les extraits d'écorce testés lors de l'objectif 1, les extraits provenant des espèces *P. contorta* et *L. laricina* étaient les plus susceptibles de réduire les symptômes de la gale commune de par leur efficacité démontrée *in vitro*. Ils ont donc été sélectionnés pour le volet 2 réalisé en serres. De plus, l'extrait de *P. mariana* a

également été sélectionné par l'équipe de recherche pour l'étude en serres en raison des bons résultats *in vitro* et de la grande disponibilité de la ressource. En effet, l'utilisation de l'écorce de *P. mariana* est intéressante en vue d'une commercialisation à plus long terme, étant donné les volumes de biomasse résiduelle importants produits par les industries forestières du Québec et du Canada. L'ajout de *P. contorta*, *L. laricina* et *P. mariana* a pu réduire, sans distinction entre les espèces, les symptômes de la gale commune en serres. La biomasse aérienne et racinaire des plants de pommes de terre, de même que le rendement en tubercules n'ont pas été affecté négativement par les traitements d'extraits d'écorce, suggérant une activité phytotoxique limitée sur les plants de pommes de terre. Dans cet essai, le nombre d'échantillons du dispositif expérimental a été limité par l'espace total disponible dans les serres de l'UQAC. Il serait donc intéressant de reproduire l'expérience à plus grande échelle, par exemple dans les serres de l'organisme partenaire au projet, pour augmenter le nombre d'échantillons et la puissance du devis. Aussi, les maximums de la sévérité de la gale commune observés étaient relativement faibles (10 % en moyenne) sur les tubercules servant de contrôle, c'est-à-dire les tubercules qui n'ont pas été exposés aux traitements antibactériens. La méthode de reproduction utilisée a pu être un facteur limitant dans le développement des symptômes de la gale commune. L'utilisation de semences issues de matériel nucléaire, en remplacement des plantules utilisées, permettrait une croissance plus rapide du plant de pommes de terre. La formation du tubercule serait donc plus hâtive dans le cycle de production et permettrait d'allonger le temps de contact entre le tubercule et *S. scabiei*. Dans une prochaine expérience, cette substitution pourrait permettre d'augmenter les symptômes de la gale commune afin de vérifier l'effet des composés bioactifs sur des tubercules affectés plus sévèrement.

En somme, la diminution de la sévérité de la gale commune montre que les extraits d'écorce pourraient réduire les symptômes de la maladie en champs. D'autres études seront nécessaires pour valider l'effet antibactérien des acides résiniques, provenant des résidus d'écorce, pour développer un produit biosourcé et une régie d'application en champs. À notre connaissance, l'efficacité des extraits d'écorce n'a jamais été évalué en champs. Une variabilité dans l'efficacité du produit est attendue en champs de par l'influence des facteurs environnementaux sur la sévérité de la gale

commune et puisque la pression de la maladie serait variable dans l'espace et dans le temps. De plus, selon les résultats obtenus, l'efficacité des produits pourrait être variable entre différents cultivars de pommes de terre. Puisque les acides résiniques sont des composés hydrophobes, il pourrait être nécessaire d'ajouter un adjuvant au produit biosourcé pour maximiser la biodisponibilité des acides résiniques dans le sol et l'effet sur les symptômes de la gale commune.

Pour l'industrie de la pomme de terre, les résultats de cette étude démontrent le potentiel d'une nouvelle méthode de contrôle de la gale commune, soit de créer un produit biosourcé à partir de résidus d'écorce pour contrôler les symptômes de la maladie sur les pommes de terre. La substitution de la chloropicrine par les extraits d'écorce de conifère représenterait un gain environnemental important en plus de réduire les risques sur la santé humaine. Aussi, un produit biosourcé à base de résidus d'écorce pourrait permettre d'augmenter les volumes de pommes de terre destinés au marché de la pomme de terre de semence et ainsi réduire les pertes financières associées à la gale commune et possiblement à d'autres maladies de la pomme de terre causées par des bactéries Gram-positifs ou des champignons. Tel que mentionné dans la section introduction générale de ce présent mémoire, le *Règlement sur les semences* tient compte de la présence de symptômes de la gale commune combinée aux symptômes de la rhizoctonie, une maladie provoquée par un champignon. Ainsi, une réduction de la sévérité de la gale commune, soit la surface couverte par la gale, permettrait de réduire les semences déclassées ou retirées de la mise en marché.

En ce qui concerne l'industrie forestière, le parcours menant au développement d'un produit biosourcé à partir de résidus forestiers pourraient être ralenti par des obstacles comme les coûts associés au transport (ex. essence, entreposage) et à la transformation d'un tel produit. Le développement d'usine de transformation près des installations forestières productrices de résidus forestiers pourrait alors être envisagé. L'extraction à grande échelle pourrait permettre de réduire les coûts de transformation, en comparaison avec de petits volumes, mais pourraient représenter un défi également. Cependant, des centres d'innovation québécois développent actuellement des techniques de production d'extraits aux usages industriels pour résoudre cette

problématique. Les coûts d'extraction pourraient être influencés par la méthode utilisée et le rendement de l'extraction. Une évaluation des paramètres et des facteurs d'extraction (ex. solvant, température, durée d'extraction) pourrait être requise afin d'optimiser les rendements d'extraction de réduire les coûts associés à la transformation. L'utilisation des résidus forestiers pour développer et commercialiser un produit contre la gale commune permettrait de créer une valeur ajoutée aux résidus, cadrant ainsi parfaitement avec les principes d'économie circulaire et du développement durable.

RÉFÉRENCES

Agriculture et Agroalimentaire Canada. 2015 (modifié le 24 mai 2015). La biologie du *Solanum tuberosum* L. (pomme de terre). Consulté le 03 mars 2021, <https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-sur-la-biologie/solanum-tuberosum-1/-fra/1330982063974/1330982145930>

Agrios G. 2005. Plant pathology. Academic Press, San Diego, 922 p.

Al-Mughrabi KI, Vikram A, Poirier R, Jayasuriya K et Moreau G. 2016. Management of common scab of potato in the field using biopesticides, fungicides, soil additives, or soil fumigants. *Biocontrol Science and Technology*, 26 : 125-135.

Apáti P, Szentmihályi K, Kristó ST, Papp I, Vinkler P, Szoke É et Kéry Á. 2003. Herbal remedies of *Solidago* - correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 32 : 1045–1053.

Arseneault T, Roquigny R, Novinscak A, Goyer C et Filion M. 2020. Phenazine-1-carboxylic acid-producing *Pseudomonas synxantha* LBUM223 alters the transcriptome of *Streptomyces scabies*, the causal agent of potato common scab. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 110 : 101480.

Ashworth DJ et Yates SR. 2019. Effect of application rate on chloropicrin half-life and simulated emissions across a range of soil conditions. *The Science of the Total Environment*, 682 : 457-463.

Bérubé-Gagnon J. 2006. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi, 76 p.

Bischoff V, Cookson SJ, Wu S et Scheible WR. 2009. Thaxtomin A affects CESA-complex density, expression of cell wall genes, cell wall composition, and causes ectopic lignification in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 60 : 955-965.

Boivin M, Bourdeau N, Barnabé S et Desgagné-Penix I. 2021. Black spruce extracts reveal antimicrobial and sprout suppressive potentials to prevent potato (*Solanum tuberosum* L.) losses during storage. *Journal of Agriculture and Food Research*, 5 : 1-10.

Boulet L. 2011. La gale commune de la pomme de terre. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Réseau d'Alerte Phytosanitaire, Québec, 5 p.

Braun S, Gevens A, Charkowski A, Allen C et Jansky S. 2017. Potato common scab: a review of the causal pathogens, management practices, varietal resistance screening methods, and host resistance. *American Journal of Potato Research*, 94 : 283-296.

Brown CR. 1993. Origin and history of the potato. *American potato journal*, 70 : 363-373.

Burton WG. 1989. *The potato*. Longman Scientific and Technica, New York, 742 p.

Castro JC, Tuesta CM, Moscol JC, Cabello NG et Quispe JL. 2019. Isolation and selection of rhizospheric actinomycetes with antagonistic activity against potato phytopathogens (*Solanum tuberosum* spp. andigena). *Ecologia Aplicada*, 18 : 101-109.

Chater KF, Biró S, Lee KJ, Palmer T et Schrempf H. 2010. The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *Federation European Microbiological Societies Microbiology Review*, 34 : 171-198.

Côté H. 2019. Développement de nouveaux produits antibactériens issus de la forêt québécoise. Thèse de doctorat, Université du Québec à Chicoutimi, Québec, 205 p.

Coté H, Boucher MA, Pichette A, Roger B et Legault J. 2016. New antibacterial hydrophobic assay reveals *Abies balsamea* oleoresin activity against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *Journal of Ethnopharmacology*, 194 : 684-689.

Dees MW et Wanner LA. 2012. In search of better management of potato common scab. *Potato Research*, 55 : 249-268.

Delisle JF. 2020. Ressources et industries forestière: portrait statistique 2020. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs. Direction du développement et de l'innovation de l'industrie, Québec, 138 p.

Déziel MH et Chartrand C. 2019. Portrait-diagnostic sectoriel de l'industrie de la pomme de terre au Québec. Direction du développement des secteurs agroalimentaires, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, 34 p.

Déziel MH, Rioux MC et Dionne A. 2019. Monographie de l'industrie de la pomme de terre au Québec. Direction du développement des secteurs agroalimentaires, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, 80 p.

European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2000. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 6 : 509-515.

European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2013. Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method. *Clinical Microbiology and Infection*, 3 : 1-18.

Fang W, Song Z, Tao S, Zhang D, Huang B, Ren L, Cheng H, Yan D, Li Y, Cao A et Wang Q. 2020. Biochar mitigates the negative effect of chloropicrin fumigation on beneficial soil microorganisms. *The Science of the Total Environment*, 738 : 1-11.

Fiers M, Edel-Hermann V, Chatot C, Le Hingrat Y, Alabouvette C et Steinberg C. 2012. Potato soil-borne disease: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32 : 93-132.

Flinn B, Rothwell C, Griffiths R, Lague M, DeKoeber D, Sardana R, Audy P, Goyer C, Li XQ, Wang-Pruski G et Regan S. 2005. Potato expressed sequence tag generation and analysis using standard and unique cDNA libraries. *Plant Molecular Biology*, 59 : 407-433.

Francezon N et Stevanovic T. 2017. Integrated process for the production of natural extracts from black spruce bark. *Industrial Crops and Products*, 108 : 348-354.

Francezon N. 2018. Valorisation de l'écorce de *Picea mariana* par la production d'extraits naturels : les extraits aqueux et l'huile essentielle. Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec, 171 p.

Gouvernement du Canada. 2020. Revue d'information sur les marchés de la pomme de terre. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Division des cultures et de l'horticulture, Canada, 59 p.

Gouvernement du Québec. 2021. Règlement sur la production et la mise en marché des pommes de terre de semence. Loi sur la mise en marché des produits agricoles, alimentaires et de la pêche, Québec, 22 p.

Goyer C et Beaulieu C. 1997. Host range of *Streptomyces* strains causing common scab. *Plant Disease*, 81 : 901-904.

Goyer C, Faucher E et Beaulieu C. 1996. *Streptomyces caviscabies* sp. nov., from deep-pitted lesions in potatoes in Québec, Canada. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46 : 635-639.

Harkin JM et Rowe JW. 1971. Bark and its possible uses. Forest Service, U.S. Department of Agriculture, États-Unis, Research note FPL; 091, 56 p.

Hill J et Lazarovits G. 2005. A mail survey of growers to estimate potato common scab prevalence and economic loss in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27 : 46-52.

- Kalembe D. 1992. Phenolic acids in four *Solidago* species. *Pharmazie*, 47 : 471–472.
- Keinath AP et Loria R. 1989. Population dynamics of *Streptomyces scabiei* and other Actinomycetes as related to common scab of potato. *Phytopathology*, 79 : 681-687.
- Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V et Fazly Bazzaz BS. 2019. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrobial resistance and infection control*, 8 : 118-146.
- King RR, Lawrence CH et Calhoun LA. 1992. Chemistry of phytotoxins associated with *Streptomyces scabies* the causal organism of potato common scab. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 : 834-837.
- Kobayashi Y.O, Kobayashi A, Maeda M, Someya N et Takenaka S. 2015. Biological control of potato scab and antibiosis by antagonistic *Streptomyces* sp WoRs-501. *Journal of General Plant Pathology*, 81: 439-448.
- Labidi S. 2020. Amélioration de la résistance de la pomme de terre à la gale commune par l’habituation de cals à la thaxtomine A et le traitement au 2,4-D. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, 115 p.
- Lacey MJ et Wilson CR. 2001. Relationship of common scab incidence of potatoes grown in Tasmanian ferrosol soils with pH, exchangeable cations and other chemical properties of those soils. *Journal of Phytopathology*, 149 : 679-683.
- Lambert D et Loria R. 1989a. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 39 : 393-396.
- Lambert D et Loria R. 1989b. *Streptomyces scabies* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39 : 387-392.
- Laireiter CM, Schnabel T, Kock A, Stalzer P, Petutschnigg A, Oostingh GJ et Hell M. 2014. Active anti-microbial effects of larch and pine wood on four bacterial strains. *Bioresources*, 9 : 273-281.
- Larkin RP et Tavantzis S. 2013. Use of biocontrol organisms and compost amendments for improved control of soilborne diseases and increased potato production. *American Journal of Potato Research*, 90 : 261-270.
- Larkin RP, Honeycutt CW, Griffin TS, Olanya OM, Halloran JM et He Z. 2011. Effects of different potato cropping system approaches and water management on soilborne diseases and soil microbial communities. *Phytopathology*, 101 : 58-67.

- Lauzier A. 2007. Facteurs physiologiques modulant la production de thaxtomine chez *Streptomyces scabies*. Thèse de doctorat, Université de Sherbrooke, Québec, 129 p.
- Lazarovits G. 2010. Managing soilborne disease of potatoes using ecologically based approaches. *American Journal of Potato Research*, 87 : 401–411.
- Locci R. 1994. Actinomyces as plant-pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 100 : 179-200.
- Loria R, Bukhalid RA, Fry BA et King RR. 1997. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease*, 81 : 836-846.
- O'Brien J, Wilson I, Orton T, Pognan F. 2000. Investigation of the alamar blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *European Journal of Biochemistry*. 267 : 5421–5426.
- Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GHN, Goel K et Arnason JT. 2000. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 73 : 161-170.
- Pabst C, Krosil J, Fares I, Boucher G, Ruel R, Marinier A, Lemieux S, Hébert J et Sauvageau G. 2014. Identification of small molecules that support human leukemia stem cell activity *ex vivo*. *Nature methods*, 11 : 436-442.
- Paré MC, Legault J, Pichette A, Tremblay C et Aubut MF. 2018. Canadian goldenrod residues and extracts inhibit the growth of *Streptomyces scabiei*, the causal agent of potato common scab. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 40 : 70-75.
- Plaisted RL et Hoopes RW. 1987. The origin of rural New-Yorker No. 2. *American Potato Journal*, 64 : 41-46.
- Powelson ML et Rowe RC. 2008. Managing diseases caused by seedborne and soilborne fungi and fungus-like pathogens. *Potato health management*, 183-195.
- Prescott LM, Willey JM, Sherwood L et Woolverton CJ. 2013. *Microbiologie*. De boeck, Bruxelles, 1070 p.
- Reznicek G, Jurenitsch J, Plasun M, Korhammer S, Haslinger E, Hiller K et Kubelka W. 1991. Four major saponins from *Solidago canadensis*. *Phytochemistry*, 30 : 1629–1633.
- Soltani N, Conn KL, Abbasi PA et Lazarovits G. 2002. Reduction of potato scab and verticillium wilt with ammonium lignosulfonate soil amendment in four Ontario potato fields. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24 : 332–339.

Stevanovic T et Perrin D. 2009. Chimie du bois. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 241 p.

St-Pierre A, Blondeau D, Bourdeau N, Bley J et Desgagné-Penix I. 2019. Chemical composition of black spruce (*Picea mariana*) bark extracts and their potential as natural disinfectant. *Industrial Biotechnology*, 15 : 219-231.

Taiz L et Zeiger E. 2002. Plant physiology. Sinauer Associates, Sunderland, 690 p.

Thaxter R. 1981. The potato scab. Connecticut Agricultural Experiment Station, New Haven, Rept. 1890 : 81-95.

Thuerig B, Ramseyer J, Hamburger M, Ludwig M, Oberhansli T, Potterat O, Scharer HJ et Tamm L. 2018. Efficacy of a *Magnolia officinalis* bark extract against grapevine downy mildew and apple scab under controlled and field conditions. *Crop Protection*, 114 : 97-105.

Wanner LA. 2009. A patchwork of *Streptomyces* species isolated from potato common scab lesions in North America. *American Journal of Potato Research*, 86 : 247-264.

Wilson CR, Pemberton BM et Ransom LM. 2001. The effect of irrigation strategies during tuber initiation on marketable yield and development of common scab disease of potato in Russet Burbank in Tasmania. *Potato Research*, 44 : 243-251.

Wilson C, Tegg R, Wilson A, Luckman G, Eyles A, Yuan Z, Hingston L et Conner A. 2010. Stable and extreme resistance to common scab of potato obtained through somatic cell selection. *Phytopathology*, 100 : 460-467.

Wilson C, Zebarth BJ, Goyer C et Burton DL. 2018. Effect of diverse compost products on soilborne diseases of potato. *Compost Science and Utilization*, 26 : 156-164.

Zulak KG et Bohlmann J. 2010. Terpenoid biosynthesis and specialized vascular cells of conifer defense. *Journal of integrative plant biology*, 52 : 86-97.

