

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

ÉTUDE DES POTENTIELS ANTIMICROBIEN ET ANTIGERMINATIF
D'EXTRAITS FORESTIERS POUR LIMITER LES PERTES DE POMMES
DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) DURANT LEUR ENTREPOSAGE

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE DE LA
MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

PAR
MICHELLE BOIVIN

JUILLET 2021

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire, de cette thèse ou de cet essai a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire, de sa thèse ou de son essai.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire, cette thèse ou cet essai. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire, de cette thèse et de son essai requiert son autorisation.

*« La seule façon de faire du bon boulot,
c'est d'aimer ce que vous faites »*

Steve Jobs

REMERCIEMENTS

C'est grâce à de nombreuses rencontres et interactions que ce mémoire est ce qu'il est aujourd'hui. J'aimerais donc remercier ces personnes, à commencer par mes directeurs de recherche, Isabel Desgagné-Penix, Simon Barnabé et j'inclus également Nathalie Bourdeau. Ils m'ont offert cette opportunité incroyable en m'accueillant et je leur dois énormément ne serait-ce que pour la simple et bonne raison qu'ils ont contribué à me faire découvrir cette passion que j'ai pour la recherche. Merci pour votre support grâce auquel j'ai pu explorer et développer tant de choses : continent, compétences et aptitudes professionnelles, confiance en soi, etc. Je souhaite également remercier les nombreux partenaires et organismes subventionnaires qui ont rendu possible la réalisation de ce projet de recherche : Les Producteurs de pommes de terre du Québec (PPTQ), Consortium de recherche sur la pomme de terre du Québec (CRPTQ), Greenleaf Power, Centre local de développement Domaine-du-Roy, Innofibre, Agrinova, Centre d'études des procédés chimiques du Québec (CÉPROCQ), Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels au Québec (CRIBIQ), Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), Fonds de recherche du Québec en Nature et technologies (FRQNT), Mitacs, Fondation de l'UQTR, Centre Sève et Groupe de recherche en biologie végétale (GRBV).

Un merci sincère à mes collègues de laboratoire. Grâce à eux, mon parcours a été riche en émotions et rempli de merveilleux souvenirs. Je n'aurais pas pu autant aimer mon expérience si ce n'avait pas été d'eux.

Tout au long de mes études et particulièrement aux moments charnières, mes parents m'ont toujours encouragé à poursuivre dans les sciences malgré mes moments de doute. Donc, merci de m'avoir fourni le coup de pouce nécessaire qui a permis de me rendre là où j'en suis aujourd'hui.

Enfin, mon remerciement le plus important s'adresse à mon conjoint pour son support continu, autant dans les bons que les mauvais moments. Il a été mon ancre alors que l'équilibre entre les vies professionnelle et personnelle m'était difficile à trouver. Grâce à lui, j'ai appris l'importance de prendre une pause qui permet de revenir en meilleure forme. Je te remercie sincèrement de respecter le fait que mon travail occupe une grande place dans mon cœur. Te savoir présent à veiller sur moi est rassurant. Bref merci pour ton support dans mes projets, parfois réalistes et souvent farfelus, mais par-dessus tout, merci de me suivre dans ceux-ci.

RÉSUMÉ

Cultivée à travers 100 pays, la réputation de la pomme de terre n'est plus à faire. Toutefois, la conservation des pommes de terre lors de l'entreposage constitue un défi majeur pour les agriculteurs. En effet, la propagation des maladies et la germination hâtive entraînent des pertes économiques considérables rendant nécessaire l'application de produits chimiques pour aider à la conservation des tubercules. Dans le but de remplacer certains de ces produits réputés pour être nocifs pour l'environnement et considérant la présence de nombreuses molécules bioactives dans les plantes, ce projet vise à développer un ingrédient d'origine naturelle à partir de résidus d'écorces d'arbres pour prévenir les maladies et la germination lors de l'entreposage des pommes de terre. Suivant la production d'extraits forestiers par trois méthodes d'extraction (extraction à l'eau, fractionnement à l'acétate d'éthyle et extraction acide-base) et l'obtention d'huiles essentielles commerciales, des tests d'efficacité antimicrobienne et antigerminative ont été réalisés dans un premier temps pour sélectionner les extraits les plus prometteurs. L'essai colorimétrique *in vitro* avec le p-iodonitrotetrazolium a pu démontrer l'efficacité antimicrobienne de l'extrait acide-base d'épinette noire et des extraits fractionnés à l'acétate d'éthyle de sapin baumier et d'épinette noire sur les microorganismes responsables de la pourriture sèche et de la pourriture molle. Ce test *in vitro* a permis de mesurer l'efficacité antimicrobienne avec un temps de contact de 3h pour les bactéries et de 6h pour les champignons. Pour le test d'efficacité antigerminative, les extraits ont été appliqués sur les pommes de terre et le niveau de germination a été mesuré au bout d'un mois selon divers paramètres quantitatifs, ce qui a permis de comparer le potentiel antigerminatif des extraits. L'huile essentielle d'épinette noire a inhibé la germination à plus de 99,6 % (m/m). Puis, les concentrations minimales d'inhibition des extraits les plus prometteurs ont été déterminées pour les deux activités biologiques. Ces essais ont révélé que l'extrait d'épinette noire fractionné à l'acétate d'éthyle possède l'activité antimicrobienne la plus prometteuse avec des concentrations minimales variant entre $1,37 \times 10^{-3}$ et 3,00 % (m/m) dépendant de la souche microbienne. Du côté antigerminatif, l'huile essentielle d'épinette noire concentrée à 25 % (m/m) parvient à inhiber la germination à 98,6 % (m/m). Enfin, le mélange de deux extraits d'épinette noire, soit l'extrait d'acétate d'éthyle et l'huile essentielle, a montré d'intéressantes propriétés antimicrobiennes contre plusieurs phytopathogènes en démontrant une synergie avec une concentration d'inhibition fractionnaire inférieure à 0,5 en plus de révéler des propriétés suppressives de germination à la hauteur de 95,7 % (m/m). Ainsi, ce mélange d'extraits d'épinette noire a démontré, en laboratoire, qu'il pourrait être formulé en un produit avec de larges propriétés visant à contrôler les pertes post-récolte de pommes de terre dues aux diverses pourritures et à la germination durant l'entreposage. Les propriétés de celui-ci restent toutefois à être démontrées en conditions réelles d'entreposage.

Mots-clés : *Solanum tuberosum* L., pomme de terre, entrepôt, pertes post-récolte, pourriture sèche, pourriture molle, germination, extractibles forestiers, antimicrobien, antigerminatif.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ.....	v
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	ix
LISTE DES SYMBOLES.....	x
CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 L'industrie de la pomme de terre.....	1
1.1.1 Entreposage : germination et maladies	2
1.1.2 Nécessité de traitement et problématique des produits chimiques	6
1.1.3 Recherche d'alternatives.....	8
1.2 L'industrie forestière et ses résidus	9
1.2.1 Les molécules bioactives	10
1.2.2 Les écorces comme source de molécules bioactives	11
1.3 Les antimicrobiens.....	13
1.4 Les antigerminatifs	15
1.5 Les objectifs du projet	16
CHAPITRE II	
POTENTIELS ANTIMICROBIEN ET ANTIGERMINATIF DES RÉSIDUS FORESTIERS POUR L'ENTREPOSAGE DE POMMES DE TERRE (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L.).....	19
2.1 Contribution des auteurs.....	19
2.2 Résumé de l'article	19
2.3 Article scientifique : Black spruce extracts reveal antimicrobial and sprout suppressive potentials to prevent potato (<i>Solanum tuberosum</i> L.) losses during storage.....	21
Abstract.....	22
Introduction	23
Material and Methods.....	25
Biomass Conditioning	25

Extraction Process	25
Antimicrobial Activity.....	27
Sprout Suppressive Activity.....	29
Results	31
Forest Extract Production.....	31
Antimicrobial Tests	32
Sprout Suppressive Tests.....	36
Promising Potato Post-Harvest Product Based on Black Spruce Extracts Combination	40
Discussion.....	45
Forest Extract Production.....	45
Antimicrobial Tests	45
Sprout Suppressive Tests.....	46
Promising Potato Post-Harvest Product Based on Black Spruce Extracts Combination	47
Acknowledgments	49
Declaration of Interests.....	50
Credit Author Statement.....	50
References	50
Appendix A.....	57
CHAPITRE III	
DISCUSSION	58
3.1 Retour sur la problématique et les résultats.....	58
3.2 Limites et perspectives	63
3.3 Conclusion.....	67
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	68
ANNEXE A	
SPROUT SUPPRESSIVE MOLECULES EFFECTIVE ON POTATO (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i>) TUBERS DURING STORAGE: A REVIEW.....	79
ANNEXE B	
REVUE DE PRESSE SUR LES SORTIES MÉDIATIQUES IMPLIQUANT CE PROJET DE RECHERCHE	110

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure		Page
1.1	Estimation des utilisations prévues des stocks de pommes de terre selon les parts de la production entreposée en 2016-2017 (Déziel <i>et al.</i> , 2019)	1
1.2	Variété de maladies affectant la pomme de terre (Agriculture et Horticulture Development Board, 2018).....	4
1.3	Symptômes de la maladie de la pourriture molle sur <i>Solanum tuberosum</i>	5
1.4	Aperçu de la complexité des paramètres d'entreposage	7
1.5	Un aperçu simplifié des métabolites spécialisés (MS) : causes et molécules	10
1.6	Logistique d'approvisionnement en écorces (St-Pierre, 2018).....	13
1.7	Mécanismes d'action ou de résistance d'antimicrobiens reliés à des exemples d'antimicrobiens (Rajeev, 2018).....	15
1.8	Résumé graphique consistant à développer un ingrédient forestier pour limiter la germination et la propagation des maladies lors de l'entreposage des pommes de terre.....	17
 Tableau		
1.1	Proportion des composantes chimiques du bois selon le type d'essence (adapté de Browne <i>et al.</i> , 2009).....	11
1.2	Répertoire non exhaustif des extractibles des écorces d'arbres.....	12

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

2,6-DIPN	2,6-Diisopropylnaphthalène
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMF	Concentration minimale fongicide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CIPC	Chlorpropham
<i>e.g.</i>	<i>exempli gratia</i>
<i>etc.</i>	<i>et cetera</i>
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
CIF	Concentration d'inhibition fractionnaire
H ₂ O	Eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
MeOH	Méthanol
MH	Hydrazide maléique (<i>maleic hydrazide</i>)
MS	Métabolite spécialisé
<i>i.e.</i>	<i>id est</i>
INT	p-Iodonitrotetrazolium
p. ex.	Par exemple
sp.	Une espèce en particulier
spp.	Plusieurs espèces
UQTR	Université du Québec à Trois-Rivières
UV	Ultraviolet

LISTE DES SYMBOLES

\$	Dollars canadiens
%	Pourcentage
% m/m	Pourcentage massique
°C	Degré Celsius
G	Giga
g	Gramme
kg	Kilogramme
L	Litre
m ³	Mètre cube
mg	Milligramme
mm	Millimètre
mL	Millilitre
µL	Microlitre

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 L'industrie de la pomme de terre

Avec une consommation moyenne mondiale de 33,47 kg par habitant en 2017 (FAOstat, 2019), la pomme de terre se taille une place de choix dans les habitudes alimentaires de tous. Plusieurs raisons contribuent à sa popularité et au fait qu'on l'associe à la sécurité alimentaire: une facilité de culture qui offre de bons rendements de production et une bonne capacité d'adaptation, une bonne qualité nutritionnelle, une multitude de possibilités de produits de transformation, *etc.* (*International Year of the Potato, 2008*). Les marchés frais (*i.e.* l'achat du légume tel quel au supermarché), de semence (*i.e.* l'ensemencement pour les champs) et de transformation (*i.e.* les produits destinés à l'alimentation ou non, p. ex. agent adhésif ou biocarburant) sont les trois marchés découlant de la production de la pomme de terre. Au Canada, la répartition de ceux-ci est représentée à la Figure 1.1 qui est tirée du Portrait-diagnostic sectoriel de l'industrie de la pomme de terre au Québec (Déziel *et al.*, 2019).

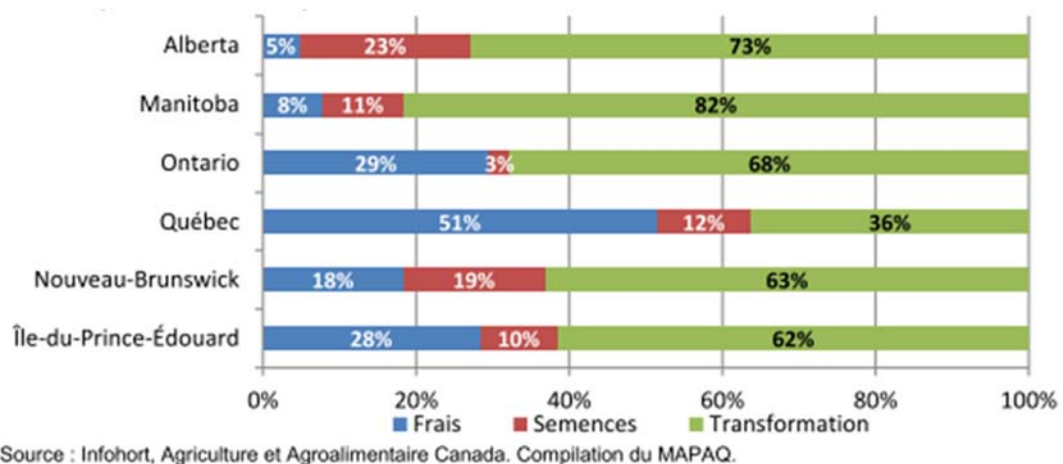


Figure 1.1 Estimation des utilisations prévues des stocks de pommes de terre selon les parts de la production entreposée en 2016-2017 (Déziel *et al.*, 2019).

Ainsi, avec une consommation canadienne de 57,9 kg par personne en 2017 (Déziel *et al.*, 2019), on peut en déduire que les Québécois préfèrent consommer les pommes de terre cuisinées eux-mêmes que les croustilles ou produits surgelés.

Avec une telle demande des consommateurs pour des tubercules frais, les producteurs québécois de pommes de terre doivent être en mesure de conserver la qualité des pommes de terre sur de longues périodes afin d’approvisionner le marché frais à longueur d’année. Comme les tubercules sont principalement récoltés à la fin de l’été ou au début de l’automne, l’entreposage peut s’étendre de quelques semaines à une année. L’entreposage et ses enjeux prennent alors beaucoup d’importance.

1.1.1 Entreposage : germination et maladies

L’entreposage des pommes de terre peut être vu comme un processus durant lequel les pommes de terre subissent des variations de conditions et qui sont spécifiques au marché ciblé, c’est-à-dire le marché frais, de semence ou de transformation. Généralement, ce processus débute avec une période de cicatrisation à une température de 10 à 15 °C, et une humidité relative élevée de 95 % (Pinhero *et al.*, 2009). En effet, suivant leur récolte, les pommes de terre peuvent avoir été blessées par la machinerie constituant ainsi une porte d’entrée pour les infections. La cicatrisation aide donc à limiter le développement de maladies durant l’entreposage. Un conditionnement s’en suit pour diminuer progressivement la température jusqu’entre 5 et 10 °C afin d’entreposer les pommes de terre pour une longue durée (Pinhero *et al.*, 2009). C’est principalement à cette étape que les conditions varient selon le marché ciblé. Les pommes de terre destinées aux marchés de transformation sont entreposées à des températures plus chaudes pour éviter le phénomène de la conversion de l’amidon en sucres, une conséquence irréversible et nuisible à la friture qui est causée par un entreposage froid (Pinhero *et al.*, 2009). Tandis que pour les pommes de terre de table, celles-ci sont entreposées à des températures plus fraîches pour mieux retarder le processus de germination (Pinhero *et al.*, 2009). Enfin, avant la vente, la température et l’humidité relative devront être augmentées,

car des pommes de terre froides sont plus sensibles aux blessures durant le transport (Pinhero *et al.*, 2009).

Au cours de l'entreposage, deux problématiques surgissent et causent de lourdes pertes économiques aux producteurs de pommes de terre, soit la germination hâtive et la propagation de maladies. Au Canada, les pertes post-récoltes peuvent avoisiner 10 % de la récolte pouvant ainsi représenter 75 millions \$ selon Agrinova, le centre collégial de transfert technologique dédié aux productions végétales et animales (Tremblay, 2016). Dans les pays en voie de développement où les infrastructures réfrigérées peuvent être manquantes, ces pertes peuvent facilement atteindre 20 à 50 % de la récolte (Hossain et Miah, 2009).

Il faut savoir que suivant la récolte, les tubercules traversent une période de dormance avant de germer. La dormance est définie par Mani (2014) comme « [...] un état physiologique caractérisé par une période durant laquelle il n'y a aucune croissance naturelle de germes, même sous des conditions optimales de germination (noirceur, 15 à 20 °C, humidité relative de 90 %) ». Cette dormance peut être prolongée par des températures froides inférieures à 4 °C (Pinhero *et al.*, 2009). Cependant, toutes les variétés de pommes de terre finissent naturellement par germer, ce qui peut mener aux pertes économiques mentionnées. Outre l'apparence peu valorisante d'une pomme de terre germée, la germination entraîne plusieurs conséquences telles qu'une rapide perte de poids du tubercule, une perte de la valeur nutritionnelle et une réduction des sucres (*i.e.* conversion de l'amidon en sucre) qui cause un noircissement des produits transformés frits (Mani *et al.*, 2014). En plus de la température d'entreposage, plusieurs autres facteurs influencent la fin de la dormance et le début de germination : la variété génétique, les conditions de culture, la présence de blessures, la maturité des tubercules pour ne nommer que ceux-ci (Mani *et al.*, 2014). À l'exception des conditions environnementales de l'entreposage, la majorité de ces facteurs ne peuvent pas être pleinement contrôlés de sorte que l'application de produits inhibiteurs de la germination constitue une option populaire auprès des producteurs.

Quant aux maladies, elles contribuent au déclassement des tubercules ou encore à son élimination immédiate. En effet, lorsqu'une pomme de terre est atteinte de pourriture, celle-ci peut en contaminer 100 kg d'autres (Raoul Des Essarts, 2015). Il est donc important d'agir rapidement lorsqu'il y a un début de propagation. Une vaste gamme de microorganismes (virus, champignons et bactéries) peuvent infecter la pomme de terre et ainsi causer une variété de maladies comme la tâche argentée, la gale commune, les pourritures molle et sèche, *etc.* (Figure 1.2).

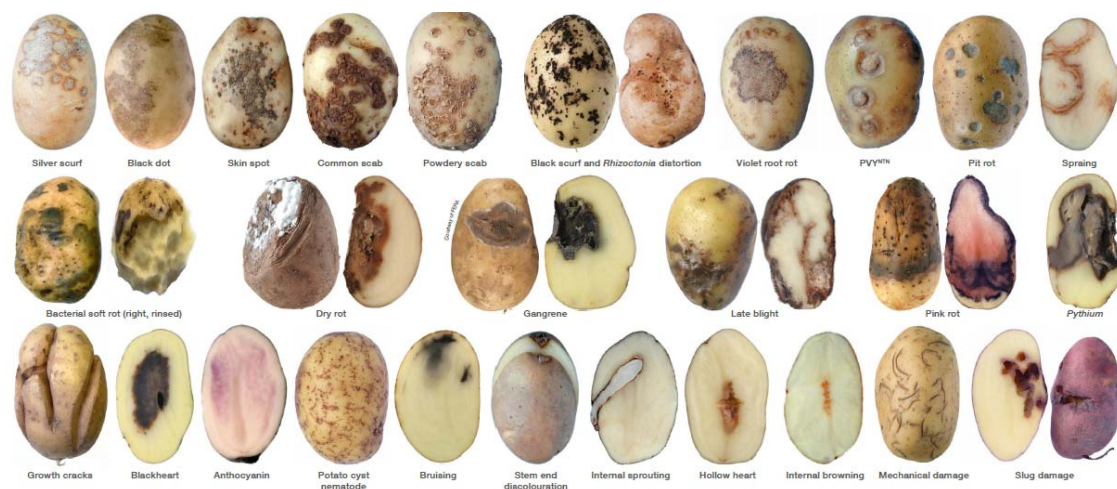


Figure 1.2 Variété de maladies affectant la pomme de terre (Agriculture et Horticulture Development Board, 2018).

Pour cette étude, ce sont les pourritures molles et sèches qui ont été ciblées, car elles sont davantage problématiques en Amérique du Nord et causent des dégâts considérables en entrepôt. Notons également qu'il y a peu de produits homologués pour prévenir la pourriture molle. Ce type de pourriture, d'origine bactérienne, affecte le périoderme en y créant des lésions s'affaissant, accompagnées d'une décomposition du tissu qui, à un stade plus avancé, va laisser couler une substance visqueuse assortie d'une odeur nauséabonde (Arora et Paul Khurana, 2004; Czajkowski *et al.*, 2015). Les principaux agents causaux de la pourriture molle sont *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. Par ailleurs, si des tubercules infectés sont plantés au champ, cela affectera négativement le taux d'émergence des plants et ceux-ci développeront la maladie de la jambe noire telle qu'illustrée à la Figure 1.3 (Ismiyatuningsih et Hartono, 2016).

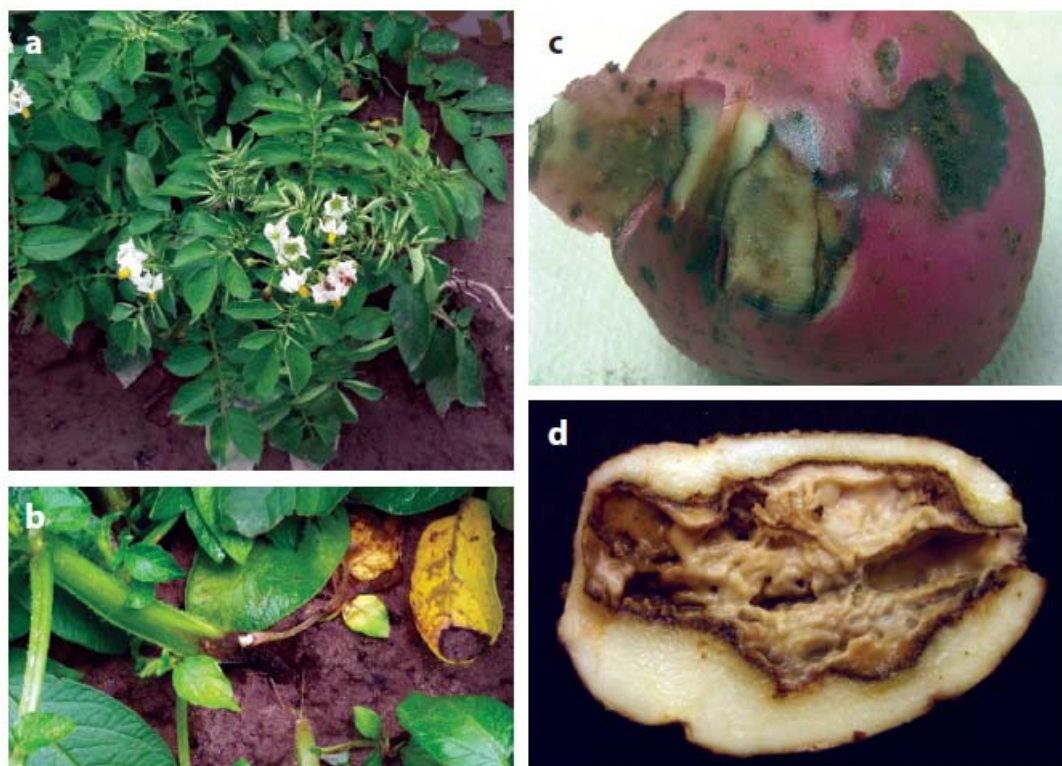


Figure 1.3 Symptômes de la maladie de la pourriture molle sur *Solanum tuberosum*.
 (a) Enroulement et flétrissement d'un plant de pommes de terre causé par *D. dianthicola*. (b) Symptômes de la jambe noire par *D. dianthicola*.
 (c) Pomme de terre infectée par *Pectobacterium* sp. qui présente des signes caractéristiques d'enflure au niveau des lenticelles et de creuses lésions.
 (d) Infection de *Pectobacterium* sp. via le stolon du tubercule (Charkowski, 2018).

Pour sa part, la pourriture sèche est causée par des champignons de la famille des *Fusarium* spp. Contrairement à la pourriture molle, une blessure du tubercule est nécessaire pour le succès de l'infection et les symptômes n'apparaissent qu'après deux ou trois mois d'entreposage (Arora et Paul Khurana, 2004; Stefańczyk *et al.*, 2016). De plus, l'identification de ces symptômes sur la surface des pommes de terre est difficile de sorte que pour confirmer la présence de la maladie, il est nécessaire de couper le tubercule. Sur la surface, une lésion se démarque par des anneaux concentriques déprimés, alors qu'à l'intérieur, des cavités tapissées de mycélium sont souvent retrouvées (Arora et Paul Khurana, 2004; Stefańczyk *et al.*, 2016). Par ailleurs, le tubercule affecté finit par se dessécher et durcir à moins qu'il n'y ait un développement de pourriture molle.

En somme, la période d'entreposage est une étape clé de la production de pommes de terre qui demande un suivi régulier pour limiter les conséquences de la germination des pommes de terre et de la propagation des maladies. Souvent, le contrôle de différents paramètres lors de l'entreposage ne suffit pas à restreindre les pertes de sorte que l'utilisation de produits chimiques devient nécessaire.

1.1.2 Nécessité de traitement et problématique des produits chimiques

Pour limiter les pertes, plusieurs paramètres doivent être considérés et contrôlés lors de l'entreposage de pommes de terre, dont l'humidité relative, la température et la ventilation (Pinhero *et al.*, 2009). S'ajoute à ceux-ci, les conditions de culture et de la récolte des tubercules où l'humidité relative, la température, la maturité, la présence de blessures influenceront également la régulation (Pinhero *et al.*, 2009). De surcroit, plusieurs paramètres interagissent entre eux, de manière additive ou antagoniste, complexifiant davantage l'entreposage tel que démontré à la Figure 1.4. Par exemple, la cicatrisation est une étape importante au début de l'entreposage pour éviter le développement de maladies, notamment la pourriture sèche. Toutefois, cela demande une température et une humidité relative élevées ce qui favorise le développement d'autres maladies, comme la pourriture molle, en plus de raccourcir la dormance naturelle des tubercules. À l'inverse, lors d'un entreposage de longue durée, une température froide (2-4 °C) retarde la germination, mais favorise la réduction de sucres ce qui est inacceptable pour le marché de transformation puisque cela occasionne un noircissement des produits frits (Teper-Bamnlker *et al.*, 2010).

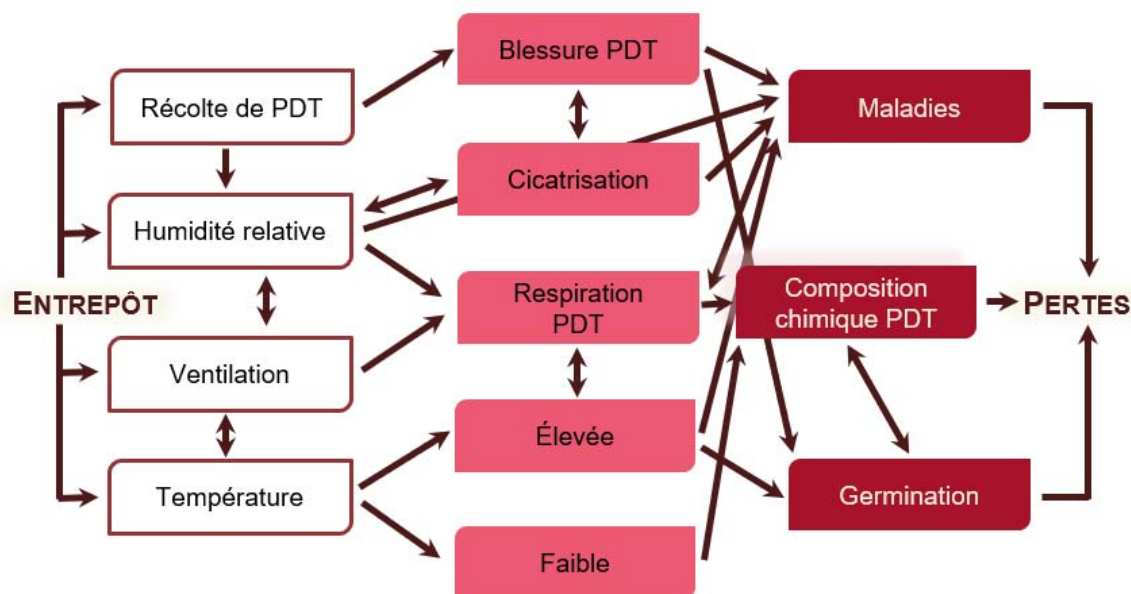


Figure 1.4 Aperçu de la complexité des paramètres d'entreposage.

En raison de la complexité de l'entreposage, l'application de produits chimiques apparaît comme une bonne option pour contrer les pertes. Cependant, cela engendre des problèmes supplémentaires. En effet, certains produits chimiques utilisés dans l'industrie de la pomme de terre ont révélé une toxicité comme le chlorpropham (CIPC), un inhibiteur de germination utilisé mondialement, et le chlorothalonil, un fongicide à large spectre utilisé pour plusieurs cultures (Alamar *et al.*, 2017; Morissette et Martel, 2014; Paul *et al.*, 2015; Saskatchewan Ministry of Agriculture, 2020). Dans le cas du CIPC, qui a été récemment banni dans l'Union européenne, diverses caractéristiques contribuent à sa toxicité : l'accumulation de résidus au fil des années d'utilisation, une persistance accrue (on peut en retrouver dans l'huile de friture ou même en contamination croisée), une dégradation en molécules encore plus dommageables (*e.g.* la 3-chloroaniline dont on suspecte un effet cancérigène et dont la toxicité sur les systèmes hématopoïétique et rénal a été démontrée), *etc.* (Alamar *et al.*, 2017; Douglas *et al.*, 2018; Douglas *et al.*, 2019; Paul *et al.*, 2018). Pour plus ample détails sur la problématique entourant l'utilisation du CIPC, voir l'annexe A. Le développement de résistance de microorganismes envers certains produits, comme le thiabendazole, représente également une inquiétude pour les producteurs de pommes de terre dans la lutte contre la propagation des maladies

(Chudinova *et al.*, 2020). Ceux-ci souhaitent donc développer d'autres outils et stratégies de lutte.

La recherche d'alternatives a donc débuté il y a quelques décennies pour pallier le besoin de traitements antigerminatifs et antimicrobiens tout en voulant réduire les problématiques de toxicité envers l'environnement et la santé humaine ainsi que du développement de résistance.

1.1.3 Recherche d'alternatives

À titre indicatif, une revue de littérature exhaustive sur les molécules alternatives a été réalisée (Annexe A) et publiée en 2020 dans « American Journal of Potato Research » sous le nom de « Sprout suppressive molecules effective on potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers during storage: A review » (Boivin *et al.*, 2020).

Brièvement, du côté des alternatives d'inhibiteurs de germination, plusieurs molécules ont récemment émergé sur le marché tel que le 1,4-dimethylnaphthalene, le 3-decen-2-one et la carvone (Daniels-Lake *et al.*, 2013). Plusieurs recherches ont particulièrement ciblé les huiles essentielles, puisque les monoterpènes qu'elles contiennent sont considérés comme une avenue prometteuse. En effet, plusieurs huiles essentielles ont démontré une efficacité antigerminative notamment l'aneth, la coriandre, la menthe verte et les plantes muña (Daniels-Lake *et al.*, 2013; Gómez-Castillo *et al.*, 2013; Shukla *et al.*, 2019; Song *et al.*, 2008). Cependant, aucun de ces produits ne parvient à remplacer totalement le CIPC soit en raison d'une efficacité inférieure ou pour des questions de coûts. En fait, plusieurs alternatives nécessitent de réappliquer le produit à quelques reprises durant la saison d'entreposage pour maintenir un effet antigerminatif comparable au CIPC.

Pour continuer sur la voie de la recherche d'alternatives efficaces, à bon prix et respectueux de l'environnement, il serait intéressant d'étudier les possibilités que les résidus de la forêt peuvent offrir. Effectivement, la biomasse forestière regorge

d'extractibles possédant diverses propriétés biologiques telles qu'antioxydantes et antimicrobiennes. Ces extractibles constituent donc une source de molécules bioactives intéressantes à explorer pour le contexte de la conservation post-récolte de pommes de terre.

1.2 L'industrie forestière et ses résidus

Une des richesses du Canada est sa ressource forestière et, particulièrement au Québec où on retrouve 2,3 % de la forêt mondiale (Delisle, 2019). Il est donc logique que l'industrie forestière, devant une biomasse abondante, diversifiée et renouvelable, se soit autant développée jusqu'à atteindre un produit intérieur brut de 6,5 G\$ en 2017 au Québec, soit 2 % de l'activité économique globale (Boutin *et al.*, 2019). Cela dit, une telle industrie génère une grande quantité de résidus annuellement. À titre indicatif, l'exploitation forestière a généré environ 2 millions de tonnes de résidus d'écorces anhydres en 2018 (Delisle, 2019). Auparavant enfouies, les écorces trouvent aujourd'hui principalement leur débouché dans les usines de cogénération pour produire de l'énergie. Selon le ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (2020), c'est un volume de près de 2,5 millions m³ par année qui est brûlé par ces industries. Outre cette avenue, les écorces peuvent être vendues pour une utilisation industrielle, *e.g.* panneaux de bois, ou agricole, *e.g.* paillis de jardin. Cependant, il y a aussi une possibilité de développer des produits à haute valeur ajoutée pouvant être destinés aux marchés nutraceutiques, pharmaceutiques, cosmétiques et même agricoles : l'extraction de molécules bioactives (Blondeau *et al.*, 2019; Devappa *et al.*, 2015; Diouf *et al.*, 2009a; Diouf *et al.*, 2009c; Francezon *et al.*, 2017; Francezon et Stevanovic, 2017b; Garcia-Perez *et al.*, 2012; Geoffroy *et al.*, 2018; Krasutsky, 2006; Legault *et al.*, 2013; Maimoona *et al.*, 2011; Mishra *et al.*, 2016; Royer, 2016; Royer *et al.*, 2012; Royer *et al.*, 2013; Salem *et al.*, 2016; Salem *et al.*, 2019; Spinelli *et al.*, 2019; St-Pierre *et al.*, 2019; St-Pierre *et al.*, 2018; St-Pierre *et al.*, 2013).

1.2.1 Les molécules bioactives

On entend par molécules bioactives, des molécules ayant des propriétés biologiques bénéfiques comme anti-inflammatoire, antimicrobien, antioxydant, anticancer, antidiurétique, biostimulant, *etc.* Tel qu'illustré à la Figure 1.5, les plantes sont reconnues pour en être d'excellents producteurs notamment pour se défendre contre les stress biotiques (herbivores, microorganismes, virus), et abiotiques (UV, sécheresse, température, *etc.*), mais aussi pour attirer les pollinisateurs (molécules de signal) (Wink et Schimmer, 1999). Fait intéressant, entre 10 et 25 % des médicaments d'aujourd'hui contiennent au moins un composé actif ayant été isolé des plantes (Devappa *et al.*, 2015). Ces molécules sont généralement produites par le métabolisme spécialisé de la plante, *i.e.* non essentiel au développement, et sont donc appelées métabolites spécialisés (MS). Plus de 100 000 MS ont été identifiés et regroupés sous trois grandes familles : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les composés azotés (Dewick, 2009). La fonction spécifique des MS est souvent inconnue, mais il est suspecté que ces molécules agissent sur plusieurs cibles moléculaires, ce qui expliquerait leurs multiples activités biologiques. Par ailleurs, il n'est pas rare de constater un effet additif ou synergique de l'activité biologique dans un mélange de MS, c'est-à-dire que l'activité biologique d'un métabolite spécialisé utilisé seul est inférieure à celle obtenue de ce métabolite que lorsqu'il est mélangé avec d'autres métabolites (Astani *et al.*, 2010; Kasangana *et al.*, 2019; Mahizan *et al.*, 2019; Swamy *et al.*, 2016).

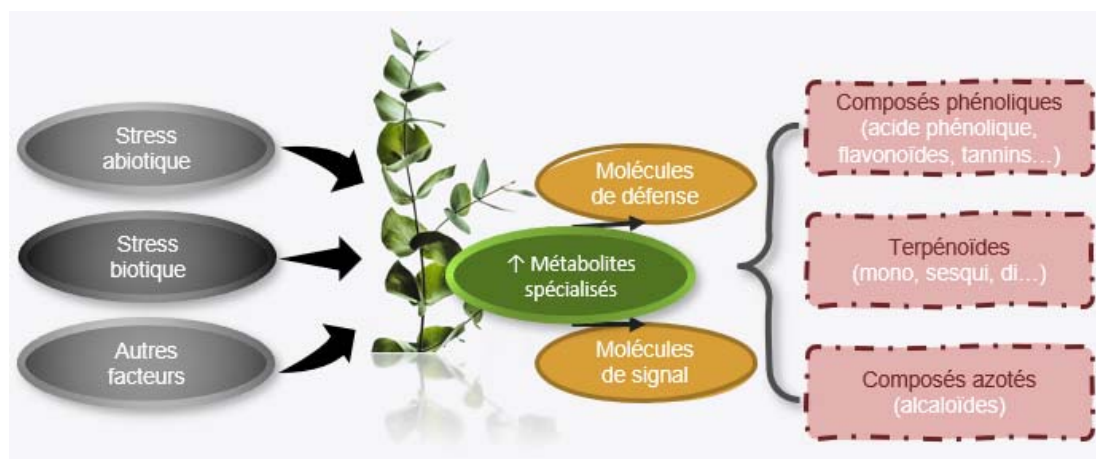


Figure 1.5 Un aperçu simplifié des métabolites spécialisés (MS) : causes et molécules.

Les MS peuvent être extraits par diverses méthodes et, à moins d'étapes de purification subséquentes, on extraira plusieurs familles de molécules à la fois. L'extraction par solvant (méthode conventionnelle), l'extraction assistée d'ultrasons, l'extraction par eau subcritique, l'extraction par fluides supercritiques et l'extraction assistée d'enzymes sont des exemples de technologie où chacune apporte ses avantages et inconvénients.

En sachant que tous les végétaux produisent des MS et en considérant l'importance du secteur forestier au Québec ainsi que la possibilité de mieux valoriser ces résidus, il apparaît opportun d'utiliser la biomasse forestière comme substrat pour l'extraction de MS.

1.2.2 Les écorces comme source de molécules bioactives

L'arbre se compose principalement de matières lignocellulosiques, dont la cellulose, qui sont issues du métabolisme primaire (à l'exception de la lignine) et qui soutiennent le développement de l'arbre. Alors que les matières extractibles, comme les MS, se retrouvent principalement dans l'écorce, mais en quantité inférieure à la cellulose, l'hémicellulose et la lignine (Tableau 1.1).

Tableau 1.1

Proportion des composantes chimiques du bois selon le type d'essence
(adapté de Browne *et al.*, 2009)

	Composition chimique du bois			
	Cellulose (%)	Hémicellulose (%)	Lignine (%)	Matières extractibles* (%)
Résineux	41-46	25-32	26-31	2-5
Feuillus	42-49	23-24	20-26	3-8
Écorces	16-40	35-58	40-50	2-25

* Les matières extractibles incluent les métabolites spécialisés.

Ainsi, plusieurs études ont investigué les propriétés biologiques des MS extraits d'écorces de différentes essences d'arbres (Tableau 1.2).

Tableau 1.2

Répertoire non exhaustif des extractibles des écorces d'arbres

Essence d'arbre	Extractibles ciblés	Références
Épinettes (<i>Picea mariana</i> , <i>Picea abies</i>)	Huile essentielle, polyphénols (flavonoïdes, tannins, stillbènes...)	(Diouf <i>et al.</i> , 2009c; Francezon, 2018; Francezon et Stevanovic, 2017a; Francezon et Stevanovic, 2017b; Garcia-Perez <i>et al.</i> , 2012; Metsämuuronen et Sirén, 2019; Royer <i>et al.</i> , 2013; Salem <i>et al.</i> , 2016)
Érables (<i>Acer rubrum</i> , <i>Acer saccharum</i>)	Huile essentielle, polyphénols	(Omar <i>et al.</i> , 2000; Royer et al., 2010; Royer <i>et al.</i> , 2013; Salem <i>et al.</i> , 2019)
Bouleaux (<i>Betula papyrifera</i> , <i>Betula alleghaniensis</i> , <i>Betula pendula</i>)	Huile essentielle, terpénoïdes, polyphénols, triterpènes	(Blondeau <i>et al.</i> , 2019; Diouf <i>et al.</i> , 2009a; Fridén <i>et al.</i> , 2016; Krasutsky, 2006; Popov <i>et al.</i> , 2016; Royer <i>et al.</i> , 2010)
Sapin (<i>Abies balsamea</i>)	Huile essentielle, polyphénols	(Ross <i>et al.</i> , 1996; Royer <i>et al.</i> , 2013)
Chênes (<i>Quercus</i> spp.)	Tannins, proanthocyanidines	(Elansary <i>et al.</i> , 2019; Royer et al., 2010)
Pins (<i>Pinus pinaster</i> , <i>Pinus sylvestris</i> , <i>Pinus banksiana</i>)	Polyphénols (flavonoïdes)	(Maimoona <i>et al.</i> , 2011; Metsämuuronen et Sirén, 2019; Royer <i>et al.</i> , 2013)
Peuplier (<i>Populus tremuloides</i>)	Polyphénols	(Diouf <i>et al.</i> , 2009b; Royer et al., 2010; Royer <i>et al.</i> , 2013; St-Pierre, 2018)

Au Québec, il y a avantage à utiliser les écorces d'arbres. En effet, puisqu'elles sont des résidus de scieries généralement destinés à la bioénergie, le coût d'approvisionnement est plutôt faible et la quantité est abondante. D'autant plus que la stratégie envisagée par ce projet mise sur la synergie industrielle, c'est-à-dire qu'avant la combustion des écorces,

celles-ci subiront un processus d'extraction et les résidus de cette étape seront renvoyés à l'usine de cogénération (Figure 1.6). Ainsi, l'idée du présent projet est de collaborer avec Greenleaf Power, l'usine de cogénération à Saint-Félicien (Québec, Canada), pour l'approvisionnement en biomasse, mais également pour un apport énergétique à l'usine d'extraction, qui reste à construire.

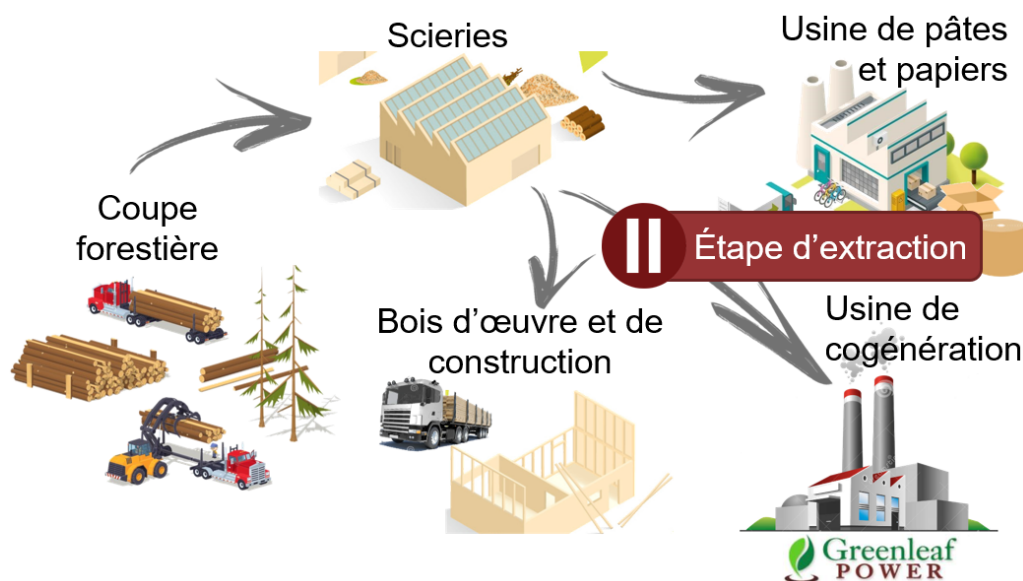


Figure 1.6 Logistique d'approvisionnement en écorces (St-Pierre, 2018).

À l'heure actuelle, la filière des extractibles est peu développée au Québec. Cependant, le taxol® et divers produits de Lucas Meyer Cosmetics, d'Artemis et de Men's Seasons sont des composés actifs issus de la biomasse forestière québécoise.

1.3 Les antimicrobiens

La pomme de terre peut être infectée au champ (semences ou sol contaminés) ou durant la récolte et l'entreposage (mélange de tubercules malades et sains, matériel contaminé, lavage de tubercules) (Raoul Des Essarts, 2015). Une fois affectés par la pourriture, les tubercules doivent être jetés. Ainsi, les producteurs de pommes de terre agissent principalement en prévention en instaurant des stratégies de salubrité et en appliquant des produits antimicrobiens. Ces derniers peuvent avoir plusieurs cibles

d'action, discutées dans le paragraphe suivant, qui auront pour effet d'inhiber la croissance ou de causer la mort cellulaire de certains microorganismes, appelé respectivement bactériostatique et bactéricide (ou fongistatique et fongicide) (Guardabassi et Courvalin, 2006). Ces produits antimicrobiens peuvent avoir un spectre d'activité large *i.e.* agir contre un grand éventail de microorganismes de même nature ou non, ou agir selon un spectre d'action étroit, *i.e.* spécifique à une espèce ou famille de microorganismes (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Selon la structure chimique de la molécule active, divers mécanismes d'action sont possibles, tel qu'illustré à la Figure 1.7, soit l'inhibition de la biosynthèse de la paroi cellulaire, de la fonction de la membrane cellulaire, de la synthèse protéique, de la synthèse des acides nucléiques (ADN, ARN) et l'inhibition de voies métaboliques (Rajeev, 2018). Toutefois, lorsque l'activité antimicrobienne d'une molécule repose sur une seule cible, il est fort possible que le microorganisme finisse par développer une résistance à celle-ci. Ainsi, lorsqu'un mutant résistant émerge, survit et se multiplie pendant que les autres sont éliminés, on obtiendra une souche résistante à cette molécule. Parmi les mécanismes de résistance (Figure 1.7), il y a l'exclusion du composé antimicrobien par imperméabilité ou pompe à efflux, la modification ou altération de la cible et l'inactivation du composé antimicrobien par des enzymes.

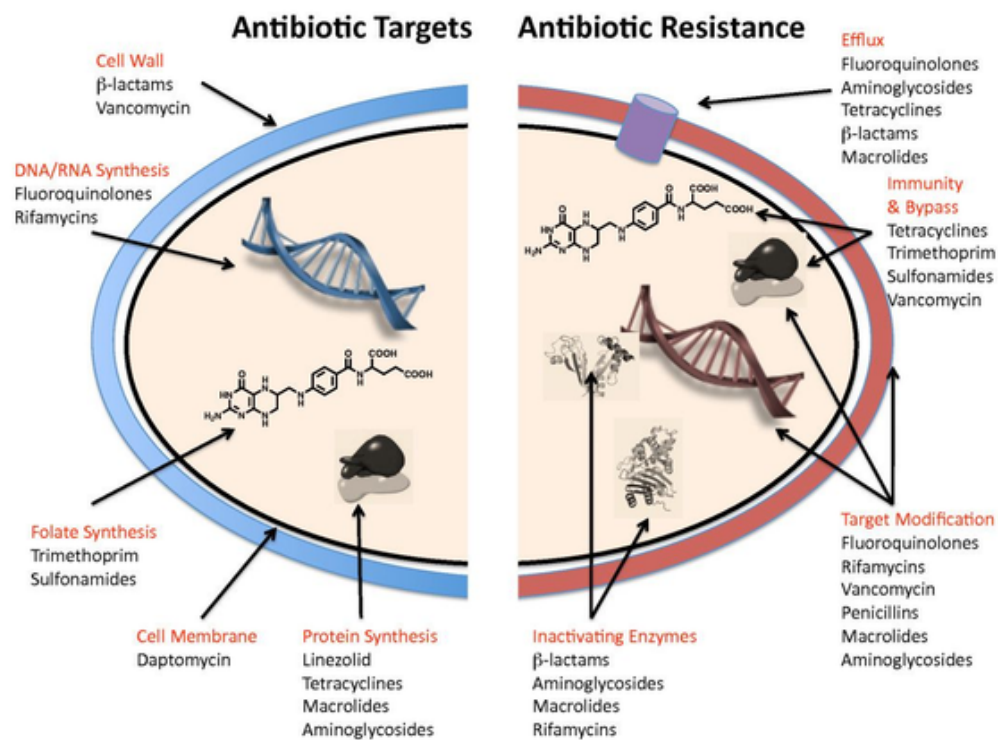


Figure 1.7 Mécanismes d'action ou de résistance d'antimicrobiens reliés à des exemples d'antimicrobiens (Rajeev, 2018).

Des stratégies indirectes peuvent également être employées pour limiter le développement de microorganismes, notamment l'exploitation de microorganismes antagonistes aux pathogènes, aussi appelée contrôle biologique (Dukare *et al.*, 2019). La compétition pour les nutriments et l'espace en plus de la sécrétion de composés antimicrobiens sont des exemples de fonctionnement du biocontrôle (Dukare *et al.*, 2019).

Enfin, les extraits de plantes les plus bioactifs sont souvent constitués de composés phénoliques qui agissent sur plusieurs cibles moléculaires qui perturbent principalement la membrane cellulaire (Bouarab-Chibane *et al.*, 2019; Dhifi *et al.*, 2016).

1.4 Les antigerminatifs

Pour limiter la germination, il est autant possible d'agir en prévention que de manière curative (Boivin *et al.*, 2020). Dans le premier cas, les produits antigerminatifs, comme le CIPC, l'hydrazide maléique (MH) ou le 2,6-DIPN, prolongeront la période de

dormance de la pomme de terre à travers différents processus physiologiques (Daniels-Lake *et al.*, 2013). Par exemple, ils pourront agir en tant qu'inhibiteur de la division cellulaire (CIPC, MH) ou d'un analogue de régulateur de croissance (2,6-DIPN) (Daniels-Lake *et al.*, 2013; Paul *et al.*, 2015). Dans le deuxième cas, les produits antigerminatifs curatifs, en raison de leur phytotoxicité, endommageront plutôt les germes qui auront débuté leur croissance faisant en sorte que le produit devra, fort probablement, être appliqué plus d'une fois pendant la période d'entreposage pour garder son efficacité. Dans cette catégorie, on retrouve les huiles essentielles et 3-decen-2-one (Daniels-Lake *et al.*, 2013; Teper-Bamnlker *et al.*, 2010). Plus précisément, l'application d'huile essentielle de *Mentha spicata* L., dont le composé actif est le *R*-carvone, est réputée pour causer des dommages au tissu vasculaire, possiblement en affectant l'intégrité et la fluidité des membranes cellulaires, au niveau du bourgeon de la pomme de terre pouvant mener à sa nécrose totale (Song *et al.*, 2008; Teper-Bamnlker *et al.*, 2010). Par ailleurs, cet effet est réversible nécessitant donc, plusieurs applications pour maintenir l'inhibition de la croissance de germes (Teper-Bamnlker *et al.*, 2010).

Bref, ce ne sont que quelques exemples de modes d'action que peuvent avoir les produits antigerminatifs, car le processus de germination de la pomme de terre est très complexe et plusieurs interactions restent à comprendre. Avec une meilleure compréhension de ce phénomène, de nouvelles cibles d'action pourraient être identifiées.

1.5 Les objectifs du projet

En considérant la problématique des producteurs de pommes de terre et en sachant que les extraits forestiers possèdent des activités biologiques, pourrait-on les utiliser, à titre d'ingrédient actif, pour développer un produit antimicrobien et antigerminatif qui limitera les pertes post-récolte survenant à l'entreposage de pommes de terre? Par conséquent, l'objectif général de ce projet de recherche est de développer un extrait forestier qui limitera la germination et les maladies durant l'entreposage des pommes de terre. Le projet se subdivise en quatre sous-objectifs soit, 1) la production d'extraits forestiers, 2) l'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*, 3) l'évaluation de

l'activité antigerminative *in vivo* et 4) l'évaluation de l'efficacité du produit prometteur en entrepôt. Il est à noter que l'objectif 4 a été pris en charge par les partenaires du projet, soit Innofibre et Agrinova, puisqu'il s'étendait au-delà de la durée de la maîtrise.

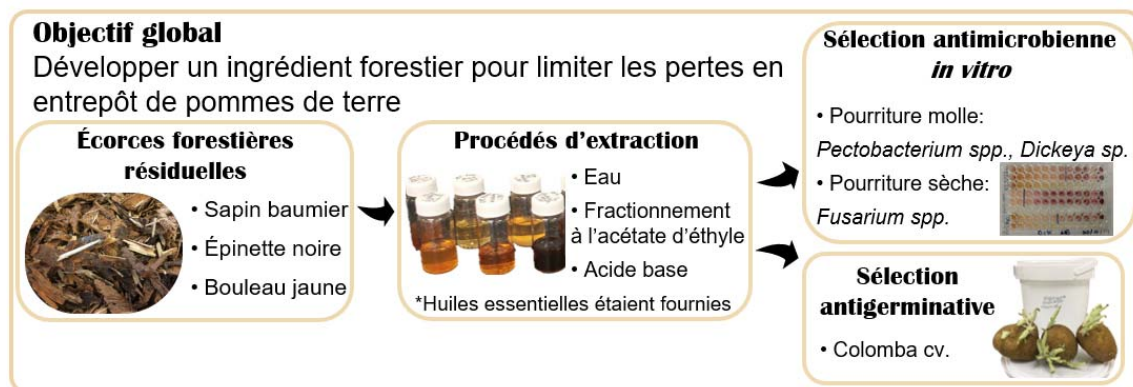


Figure 1.8 Résumé graphique consistant à développer un ingrédient forestier pour limiter la germination et la propagation des maladies lors de l'entreposage des pommes de terre.

L'originalité de ce projet de recherche réside dans le fait qu'aucun produit utilisé dans l'industrie de la pomme de terre, voire dans le monde agricole, n'est composé d'un ingrédient issu de la forêt. Malgré les nombreuses recherches pour trouver une alternative au CIPC et aux antimicrobiens problématiques, aucune étude n'a investigué les propriétés biologiques des arbres (ou de leurs résidus) pour ces effets dans le contexte de l'industrie de la pomme de terre. D'ailleurs, la recherche sur les propriétés des essences d'arbres québécois n'en est qu'à ses débuts et comporte son lot de défis et de limites (Section 2 – Chapitre III). Selon les résultats, il sera possible de formuler les extraits efficaces pour permettre leur application avec l'équipement agricole actuel des producteurs. De plus, le fait de s'associer à l'usine de cogénération Greenleaf (Figure 1.6) dans un contexte d'économie circulaire permettra un approvisionnement en matière première à faible coût ce qui minimisera les coûts de production de l'ingrédient forestier. Un ingrédient à prix abordable facilitera la commercialisation du produit auprès des utilisateurs finaux. Un tel produit biosourcé pourra être particulièrement intéressant pour les cultures biologiques où l'éventail de choix de produits antimicrobien et antigerminatif est d'autant plus restreint et coûteux que dans l'agriculture conventionnelle. À plus long terme, ces travaux de recherche contribueront au développement de la bioéconomie au Québec en faisant le lien

entre les industries agricoles et forestières. La diversification des produits issus de la forêt et la dynamisation de cette industrie grâce à ce projet seront avantageuses pour ce domaine en situation précaire. Ainsi, il contribuera au maintien d'emplois dans les entreprises établies dans l'exploitation forestière grâce à des revenus supplémentaires liés au traitement des résidus d'écorces qui auront une nouvelle valeur ajoutée. Il mènera également à la création d'emplois par l'implantation potentielle d'une usine d'extractibles dans la région du Lac-Saint-Jean.

CHAPITRE II

POTENTIELS ANTIMICROBIEN ET ANTIGERMINATIF DES RÉSIDUS FORESTIERS POUR L'ENTREPOSAGE DE POMMES DE TERRE (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

Le contenu de ce chapitre est écrit sous la forme d'un article scientifique ayant fait l'objet d'une publication, en anglais, dans la revue *Journal of Agriculture et Food Research*. La référence de soumission du manuscrit est la suivante : JAFR-D-21-00028.

2.1 Contribution des auteurs

L'ensemble des manipulations précédant les résultats présentés dans cette publication scientifique a été réalisé par Michelle Boivin avec l'aide de Stéphanie Blais, technicienne d'Innofibre, un centre collégial de transfert technologique partenaire à ce projet. L'élaboration et la planification de ce projet de recherche, incluant la recherche bibliographique, l'établissement de la problématique et des objectifs, l'élaboration de la démarche méthodologique, la recherche de partenariats, les demandes de subventions ainsi que la supervision de l'étudiante, ont été supportées par Isabel Desgagné-Penix (directrice de maîtrise, UQTR), Simon Barnabé (codirecteur de maîtrise, UQTR) et Nathalie Bourdeau (chercheuse associée, Innofibre). Les corrections finales de cette publication ont été apportées par Nathalie Bourdeau, Simon Barnabé et Isabel Desgagné-Penix.

2.2 Résumé de l'article

Les résidus forestiers canadiens, comme les écorces, sont une matière abondante et accessible qui est présentement brûlée pour produire de l'énergie négligeant ainsi son potentiel d'être utilisée pour ses différentes propriétés biologiques. Alors que l'entreposage des pommes de terre constitue un défi pour les producteurs en raison

de la propagation de maladies et la germination hâtive des tubercules, les écorces d'arbres se présentent comme des candidates prometteuses dans la recherche d'alternatives écoresponsables aux produits chimiques de synthèse présentement utilisés pour limiter ces deux problématiques. Par conséquent, ce projet a pour but de développer un ingrédient biosourcé à partir de résidus d'écorces d'arbres québécois afin de limiter les maladies et la germination pendant l'entreposage de pommes de terre. Des extraits forestiers ont été produits à partir d'écorces d'épinette noire, de sapin baumier et de bouleau jaune par trois méthodes différentes : l'extraction à l'eau, le fractionnement de l'extrait à l'eau à l'acétate d'éthyle et l'extraction acide-base. Ensuite, des criblages des extraits produits et huiles essentielles originaires de la biomasse forestière du Québec ont été faits pour déterminer leur habilité à inhiber les pourritures sèches et molles de la pomme de terre et la germination. Deux extraits d'épinette noire, soit l'extrait fractionné à l'acétate d'éthyle et l'huile essentielle, ont démontré des résultats prometteurs à titre d'agents antimicrobiens et antigerminatif. Plus encore, lorsque mélangées, ces deux propriétés sont conservées. Ainsi, ces deux extraits d'épinette noire peuvent être formulés en un produit avec de larges propriétés antimicrobiennes et antigerminatives visant à contrôler les pertes post-récolte de pommes de terre dues aux diverses pourritures et à la germination.

2.3 Article scientifique

Black spruce extracts reveal antimicrobial and sprout suppressive potentials to prevent potato (*Solanum tuberosum* L.) losses during storage

Michelle Boivin^a, Nathalie Bourdeau^{b,c}, Simon Barnabé^a and Isabel Desgagné-Penix^{a, c,*}

^aDepartment of Chemistry, Biochemistry and Physics, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada.

^bInnofibre, Trois-Rivières, Québec, Canada.

^cGroupe de Recherche en Biologie Végétale (GRBV), Trois-Rivières, Québec, Canada.

*Corresponding author:

Desgagné-Penix, I, Department of Chemistry, Biochemistry and Physics, Université du Québec à Trois-Rivières, 3351 boul. des Forges, Trois-Rivières, QC, G9A 5H7, Canada. (Tel: 819-376-5011, Fax: 819-376-5014).

E-mail: Isabel.Desgagne-Penix@uqtr.ca

Abstract

Canadian forest residues, such as bark, are an abundant and accessible biomass currently burned to produce energy, therefore neglecting their great potential for various applications owing to their multiple biological properties. Potato storage constitutes a challenge for potato producers because of disease propagation and potato sprouting. Barks appear to be promising candidates in the research of greener alternatives to synthetic chemicals presently used to limit these problems. Hence, this study aimed to develop a bio-based ingredient from bark residues to prevent diseases and sprouting of potatoes during storage. First, forest extracts were produced from the bark of black spruce (*Picea mariana* Mill.), balsam fir (*Abies balsamea* L. Mill.) and yellow birch (*Betula alleghaniensis* Britton) by three different methods: water extraction, ethyl acetate fractionation of the water extract, and acid-base extraction. Then, *in vitro* screening of extracts and commercial essential oils was performed to determine their ability to inhibit potato soft and dry rot and potato sprouting. More specifically, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sambucinum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum*, and *Dickeya dianthicola* were selected for antimicrobial assays. Two black spruce extracts, ethyl acetate extract and essential oil, showed promising antimicrobial and anti-sprouting properties. The black spruce ethyl acetate extract inhibited microorganism growth with minimum concentrations ranging from 1.37×10^{-3} to 3.00% (w/w) depending on the strain. Black spruce essential oil completely prevented potato sprouting in Colomba cv. at a minimal concentration of 25% (w/w). Furthermore, when mixed, both properties were maintained, and even showed a synergistic effect. Indeed, in antimicrobial assays, the fractional inhibitory concentration index obtained was lower than 0.50. Therefore, these two black spruce extracts can be formulated into one product with broad properties aimed at controlling potato post-harvest losses due to rot and sprouting.

Keywords

Black spruce, extracts, antimicrobial, antisprouting, potato storage, *Solanum tuberosum* L.

Introduction

More than 2 million metric tons of anhydrous bark residues are generated annually by forest industries in Quebec, Canada [1]. Their valorization is important for ecological and economic reasons. For decades, bark residues have been used to produce bioenergy [1-3]. However, this approach did not fully maximize the potential. Indeed, several studies have highlighted the interest of using forest residues as sources of bioactive molecules that possess numerous biological activities such as antimicrobial (fungal and bacterial), antiviral, anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer properties [4-12].

The agriculture sector, specifically food storage and preservation, could benefit from these properties to reduce food waste. In fact, 10% of Canadian potato production is lost during storage [13]. These losses are even more significant for developing countries, varying from 20% to 50% [14]. Disease propagation, favored by the proximity of stored potatoes as well as early potato sprouting, is two main reasons for this percentage loss [15, 16]. Storage conditions, such as cold temperatures and relative humidity, can be regulated to limit these challenges, but it is not sufficient to be completely effective [17]. Thus, the use of chemical products, such as fungicides and sprout suppressants, is necessary. However, the toxicity of these products (*e.g.*, chlorpropham or chlorothalonil) and the emergence of microbial resistance to antimicrobial products (*e.g.*, thiabendazole) are problematic [18-20].

Research on greener, renewable, and sustainable alternatives, especially to replace chlorpropham (CIPC), began a few decades ago. Essential oils and the molecules they contain have been the subject of many investigations. It has been reported that many of them inhibit potato sprouting, including essential oils from dill, caraway, coriander, citronella, English lavender, mint, sage, etc., and some have been commercialized, including Biox-C (clove oil), Biox-M (spearmint oil), and Talent (caraway oil) [21, 22]. Some of them also exhibited antimicrobial properties. For instance, carvone detected in dill, caraway, and spearmint essential oils possess antimicrobial activity against phytopathogens (*Fusarium* sp. and *Helminthosporium solani*), and several human pathogens (either fungi or bacteria) [23]. However, one of the main drawbacks to the

commercialization of sprout suppressants is their high production costs and the fact that many applications throughout the potato storage period are required to maintain effectiveness. Indeed, the mint essential oil cost 7.5 times higher than that of CIPC [24]. Consequently, they are currently no alternatives more environmentally friendly, sustainable, and affordable to replace CIPC.

This situation makes it interesting to study the potential of bark residues to prevent post-harvest losses. As sawmill residues, the raw material is bundled and readily available, which can drastically reduce costs. Thus, using barks to extract either essential oil or any other specialized metabolites could be economically competitive compared to the use of essential oils from cultivated plants. Although no research has investigated forest extracts as a sprout suppressant for potatoes, the diversity of bark biological properties observed so far supports the interest of studying its capacity to limit both sprouting and potato diseases [3, 25]. Moreover, bioactive molecules found in sprout-suppressive essential oils, specifically monoterpenes (*e.g.*, carvone, pinene, limonene, and phelladrene), are also present in the bark residues of several Quebec trees. Altogether, this suggests that essential oils extracted from such bark residues may contain molecules with interesting antimicrobial and sprout suppressive activities.

In the present study, we evaluated the potential of forest residue extracts to limit post-harvest losses of potatoes due to the spread of diseases, mainly dry and soft rot, and early sprouting. To do so, different bark residues, particularly black spruce (*Picea mariana* Mill.), yellow birch (*Betula alleghaniensis* Britton), and balsam fir (*Abies balsamea* Mill.) were extracted differently (water extraction, ethyl acetate fractionation, and acid-base extraction) and their essential oils were obtained. Then, two screenings were performed to determine their antimicrobial and sprout suppressive potentials. Two black spruce extracts, the ethyl acetate fraction and the essential oil, successfully inhibited the development of microorganisms and potato sprouting. Therefore, by developing a bio-based ingredient with antimicrobial and sprout suppressive properties, substitution of harmful chemical products would now be possible while adding value to the forest industry by-products.

Material and Methods

Different extracts of black spruce (BS), yellow birch (YB), and balsam fir (BF) bark were produced. In addition to these forest extracts, Boréa Canada, located in Chapais (Canada), supplied essential oils (EO) from BS twigs and needles, YB bark, and BF bark. All samples were tested for their antimicrobial activity against potato pathogens responsible for dry and soft rot (*Fusarium* spp., *Pectobacterium* spp., *Dickeya* sp.) and their capacity to inhibit potato sprouting.

Biomass Conditioning

Forest extracts were produced from the bark of BS, YB, and BF, which were provided by the cogeneration plant of Greenleaf Power, Saint-Félicien (Canada). Each biomass was dried at room temperature to reach a minimal dryness of 85% (w/w), sifted using a William sieve to remove the <3 mm fraction containing inorganic matter and uniformly ground at 5 mm using a Wiley Mill crusher model 4 (Thomas Scientific, USA) [26]. The conditioned biomass was stored in closed containers at room temperature until utilization for extractions.

Extraction Process

Three extraction processes were carried out on each biomass: water extraction (W), ethyl acetate fractionation of the water extract (EAc), and acid-base extraction (AB). Once the fractions were collected, they were dried in an oven at 60 °C and weighed to calculate the extraction yield [26]. They were then stored at 4 °C until they were utilized for screening where they were dissolved at the desired concentration in MeOH-H₂O 20% (w/w). The extraction yield was calculated as follows:

$$\text{Extraction yield (\% w/w)} = \frac{W_{\text{dry extract (g)}}}{W_{\text{dry initial biomass (g)}}} \times 100$$

Water Extraction

Molecules retrieved in extracts from biomass with W extraction are mainly polar molecules, *for example*, phenolic compounds [26]. The extraction was performed using a digester MK System 6 L (Massachusetts, USA), a laboratory equipment redirected from pulp and paper plants. A 100% cotton bag was filled with conditioned biomass and placed in a cooking vessel filled with water at a weight ratio of 1:20 biomass:water. The cooking profile was set to 40 min to reach 100 °C, 20 min at 100 °C, and 40 min to cool down at 25 °C, as suggested by an internal procedure. The resulting cooking liquor was either dried to be used as a water extract or partially evaporated for use in ethyl acetate fractionation.

Ethyl Acetate Fractionation

Based on the method of Diouf *et al.* [6], EAc fractionation enriches proanthocyanidin oligomers in the organic fraction (OF), whereas the aqueous fraction (AF) contains proanthocyanidin polymers. Following the water extraction, the cooking liquor obtained was evaporated to 2% of dried matter (w/w) in a ventilated oven at 60 °C. Then, liquid-liquid extraction was performed by washing five times the cooking liquor with ethyl acetate at a volume ratio of 1:1 in a 2 L separating funnel. Most of the ethyl acetate solvent in the OF was recovered using a Rotavapor device. Then, all fractions (OF and AF) were dried and stored until further use, as mentioned above.

Acid-Base Extraction

As proposed by St-Pierre *et al.* [27], AB extraction enriches the extract with alkaloid compounds. Biomass was macerated for 24 h in 80% (v/v) MeOH-H₂O with a pH adjusted to 4. Following filtration, the MeOH-H₂O solution was retrieved and used for a succession of liquid-liquid extractions. Two rinses with hexane were first realized in a volume ratio of 1:2 (filtrate:hexane) in a 2 L separating funnel. The aqueous fraction obtained was then alkalinized with 1 N ammonium chloride and washed with chloroform under the same conditions as hexane. All fractions (OF and AF) were dried and stored until further use, as mentioned above.

Antimicrobial Activity

Forest extracts and essential oils were tested for their antimicrobial potential against potato pathogens using a colorimetric method based on Eloff [28], in which the iodinitrotetrazolium chloride (INT) dye was used to determine cell viability. Indeed, this tetrazolium salt can be reduced in red formazan, a purplish color, by the dehydrogenase present in live microbial cells.

MicroOrganisms Strains

Microbial strains were chosen for their ability to cause serious storage diseases, particularly dry and soft rot. *Fusarium* spp. (fungi) are known to be causative agents of dry rot, whereas *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* sp.(bacteria) cause soft rot. Therefore, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sambucinum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum*, and *Dickeya dianthicola* strains were obtained from Ph.D. Richard Hogue from IRDA (Quebec City, Canada) and Ph.D. Yang Liu from IRBV (Montreal, Canada). Before each antimicrobial test, the bacterial strains were grown in tryptic soy broth (TSB) for 24 h at 26 °C, and fungal strains were grown in potato dextrose broth (PDB) for 48 h at 24 °C, as recommended by ATCC.

Preliminary Screening at Fixed Concentration

All extracts were prepared at 1.25% (w/w) in MeOH-H₂O 20% (w/w), except for essential oils that were used pure for this preliminary colorimetric screening adapted from Eloff [28]. The negative controls included in this test were MeOH-H₂O 20% (w/w) and H₂O. Fifty microliters of extracts, essential oils, or controls were added to 96 well microplates in triplicate. Then, 50 µL of the microbial culture was added to each well. Hence, the final concentration was 0.625% (w/w) for extracts and 50% (w/w) for essential oils. The microplates were incubated according to the microorganism optimal growth temperature described above during either 3h for bacteria or 6h for fungi. Then, 40 µL of INT (2.85 g/L) was added to two out of three wells per sample, and the third well served

as a visual indicator of the initial color of the extract. The color revelation took 1h and 16h for bacteria and fungi, respectively. Depending on the coloration of the sample, the extract efficacy was rank as: ‘++’ for effective inhibition (no color change), ‘+’ for partial inhibition (a slight color change) or ‘-’ for no inhibition effect (a distinct color change). To facilitate the selection of promising extracts, antibacterial, antifungal, and antimicrobial potentials were established by calculating the mean of extract efficacies against all the bacteria, fungi, or the entirety of the microorganisms tested.

Broth Microdilution Method (MIC, MBC/MFC)

Adapted from the standardized method available in the M07-A9 document from the Clinical and Laboratory Standard Institute [29], this broth microdilution method allows the semi-quantification of antimicrobial potential by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal/fungicide concentration (MBC, MFC). Only the MIC and MBC (or MFC) of the three most promising extracts from the preliminary screening were determined. They were prepared at 5% (w/w) in MeOH-H₂O 20% (w/w). The included controls were MeOH-H₂O as a negative control and Emesto Silver (100 g/L penflufen and 18 g/L prothioconazole formulated as a suspension) or H₂O₂ 30% (active ingredient of StorOx) as positive controls. These products are used to limit potato dry and soft rot, respectively [30]. As described by St-Pierre *et al.* [26], sterile broth culture media and treatments were added to a 96 well plate followed by serial dilution. Then, the inoculum was added, and plates were incubated before the addition of INT (2.85 /L) and its color revelation, as previously described. MIC values were determined for each treatment as the lowest concentration inhibiting the proliferation of microorganisms, *that is*, the last well without color change. To determine MBC or MFC values, which correspond to the lowest concentration that kills all bacterial or fungal colonies (>99.9% reduction of the initial inoculum), no microbial colonies were grown on agar plates after 24 h of incubation. Therefore, once the MIC was determined, 100 µL of each well that showed microbial growth inhibition was subcultured onto agar plates and incubated. MIC and MBC/MFC values are given in % (w/w) and range from 3.00 to 1.52x10⁻⁴ for forest extracts (initial concentration of 5% w/w), from 60.02 to

3.05×10^{-3} for the BS extracts combination and BS-EO (initial concentration of 100% w/w), from 0.60 to 3.05×10^{-5} for BS-EAc_{OF} (initial concentration of 1% w/w), from 18.01 to 9.15×10^{-4} for H₂O₂ (initial concentration of 30%), from 60.02 to 3.05×10^{-3} for Emesto Silver (initial concentration of 100%) and from 12.00 to 6.10×10^{-4} for MeOH-H₂O (initial concentration of 20%).

Fractional Inhibitory Concentration (FIC)

To evaluate the presence of a synergistic antimicrobial activity within a combination of extracts, the fractional inhibitory concentration (FIC) was calculated according to the results of MIC and MBC/MFC previously obtained using the formula [31]:

$$FIC = \frac{MIC \text{ or } MBC \text{ or } MFC \text{ extract 1 combined}}{MIC \text{ or } MBC \text{ or } MFC \text{ extract 1 alone}} + \frac{MIC \text{ or } MBC \text{ or } MFC \text{ extract 2 combined}}{MIC \text{ or } MBC \text{ or } MFC \text{ extract 2 alone}}$$

The interpretation of the FIC was based on the index proposed by Sopirala *et al.* [31] where synergy was defined as $\sum FIC \leq 0.5$; additivity as $0.5 < \sum FIC \leq 1$; indifference as $1 < \sum FIC \leq 4$; and antagonism as $\sum FIC > 4$.

Sprout Suppressive Activity

For these tests, Colomba potatoes were used because they are sold for fresh markets with a short dormancy period and which sprout aggressively. Potato samples were provided by Les Patates Dolbec (Saint-Ubalde, Quebec, Canada), and sprout suppressive tests were conducted when the endodormancy of tubers was completed.

Sprout Suppressive Tests

Sprout suppressive tests were based on the work of Vokou *et al.* [32] and Dai *et al.* [33]. First, all extracts were prepared at 5% (w/w) in MeOH-H₂O 20% (w/w),

except for the pure essential oils. Controls included in this test were MeOH-H₂O 20% (w/w) and H₂O as negative controls and CIPC 1%, and l-carvone 99% as positive controls, where both are currently used as potato sprout suppressants. The potatoes were washed according to the following process: removal of dirt under running water, inspection of tubers for any signs of diseases, and soaking for 30 s; 1) sodium hypochlorite 1% (v/v); 2) ethanol 70% (v/v); and 3) demineralized water. Once potatoes were dried at room temperature, each treatment was vaporized uniformly onto the surface of the three potatoes before being placed in a closed bucket. After four weeks, different measures were taken for each potato: the longest sprout length, the dry sprout weight, and the notification of dry and soft rot signs. All measures coming from potatoes affected by illness were discarded for the analysis because the rottenness seemed to negatively affect the sprouting process and thus falsify the results. For each sprout suppressive test, an independent triplicate was performed; however, it must be noted that the physiological age of potato differed between them.

Calculation of Sprouting Index and Sprout Growth Inhibition

From the measures taken (initial potato weight and sprout height and weight), three variables were used to compare the antisprouting efficacy of forest extracts: sprouting index, industrial sprouting index, and sprout growth inhibition (Equations 1 to 3). Proposed by Demeulemeester [34], the sprout index was determined for each treatment and was defined by the length of the longest sprout. Developed by One Four Group [35], the industrial sprouting index allows verification of the marketing of potatoes. A result inferior to 10 signifies that potatoes can be sold for the processing sector and when below 5, potatoes may be intended for fresh markets. Based on Vokou *et al.* [32], the calculation of sprout growth inhibition as presented in Equation 3 allows the normalization of the sprout growth measure in relation to the initial potato weight because the potato size might influence sprouting. Moreover, sprout growth of the treated potatoes was compared with the mean sprout growth of control potatoes. This control varied depending on the nature of the treatments applied. Indeed, since extracts were diluted in MeOH-H₂O 20%, potatoes treated with MeOH-H₂O were used as the control, whereas

the other treatments, such as EOs, used potatoes H₂O treated as the control. The standardization of sprout growth allows the replicas to be compared with each other; potato sprouting might vary according to its physiological age.

Index	1	2	3	4	5	6
Longest sprout (mm)	No sprout	White point	<2	[2- 5[[5- 10]	>10

Equation 1. Sprouting index.

Industrial sprouting index

$$= [(\% N \times 0) + (\% A \times 2) + (\% B \times 6) + (\% C \times 15) + (\% D \times 40)]/100$$

Equation 2. Industrial sprouting index (scale of 0 to 40), where letters represent the height of the longest sprout per potato: N, no sprout; A, ≤ 2 mm; B,]2-10 mm]; C,]10-20 mm]; D, >20 mm.

$$\text{Sprout growth inhibition (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Treatment} \frac{\text{sprouts}(w_{dry})}{\text{potato}(w_{initial})}}{\text{Control} \sum_i^n \left(\frac{\text{sprouts}(w_{dry})}{\text{potato}(w_{initial})} \right)_i / n} \right) \times 100 \right]$$

Equation 3. Sprout growth inhibition.

Results

Forest Extract Production

In order to select a promising natural preservative ingredient that could prevent the spread of diseases and the sprouting of potatoes during storage, various extractions were carried out on forest bark residues including YB, BS, and BF. These extraction methods allow the enrichment of W extracts with a variety of polar molecules, EAc_{OF} extracts with proanthocyanidin oligomers, and AB_{OF} extracts with alkaloids [6, 26, 27, 36]. Table 1 shows the extraction yields for each extraction method.

Table 1. Extraction yield obtained from extraction of bark residues.

Extraction		Yield (g/100 g dried bark)		
Method	Fraction	BS	YB	BF
W	N.A.	9.35	6.75	3.27
EAc	OF	4.13	2.33	NA
	AF	2.79	5.13	NA
AB	OF	0.92	1.08	NA
	AF	3.63	4.40	NA

Abbreviations: BF, balsam fir; BS, black spruce; YB, yellow birch; W, water extraction; EAc, ethyl acetate fractionation; AB, acid-base extraction; AF, aqueous fraction; OF, organic fraction; NA, not applicable.

Extraction yields ranged from 0.92 to 9.35 g/100 g, where BS-AB_{OF} gave the lowest yield and BS-W, the highest yield. It seems that the W extraction method resulted in the highest yields, followed by the EAc and AB methods. By calculating extraction yields, it is possible to distinguish two extracts with similar efficacies, since a higher yield is preferable for industrial production.

Antimicrobial Tests

To rapidly discriminate the antimicrobial efficacy of all 17 extracts, an initial screen was performed using the iodinitrotetrazolium chloride (INT) colorimetric assay on potato phytopathogens problematic in North American warehouses. More specifically, the antimicrobial activity of extracts was determined against causal agents of bacterial rot (*Pectobacterium* spp., *Dickeya* sp.) and fungal rot (*Fusarium* spp.) [36]. Table 2 shows the inhibition levels of the extracts against the selected potato pathogens. Detailed results are presented in the Appendix (Table A1).

Table 2. Initial screen of the antimicrobial potential of forest extracts against potato storage pathogens using the INT colorimetric assay. The efficacy of the antimicrobial potential of an extract was rank as: ‘++’ effective inhibition, ‘+’ partial inhibition and ‘-’ no inhibition effect.

Sample number	Origin	Extraction method	Antibacterial	Antifungal	Antimicrobial
1	Control	MeOH-H ₂ O	-	-	-
2	Control	H ₂ O	-	-	-
3	YB	W	++	-	+
4	YB	EAc _{OF}	-	++	-
5	YB	EAc _{AF}	-	-	-
6	YB	AB _{OF}	-	-	-
7	YB	AB _{AF}	-	-	-
8	YB	EO	-	-	-
9	BS	W	+	-	-
10	BS	EAc _{OF}	+	++	+
11	BS	EAc _{AF}	+	-	-
12	BS	AB _{OF}	+	+	+
13	BS	AB _{AF}	++	-	-
14	BS	EO	-	+	-
15	BF	EAc _{OF}	+	++	+
16	BF	EAc _{AF}	+	-	-
17	BF	EO	-	+	-

Abbreviations: BF, balsam fir; BS, black spruce; YB, yellow birch; W, water extraction; EAc, ethyl acetate fractionation; AB, acid-base extraction; EO, essential oil; AF, aqueous fraction; and OF, organic fraction.

The most antibacterial extracts were 3 (YB-W) and 13 (BS-AB_{AF}). All BS and BF extracts tested (9-13 and 15-16) displayed partial inhibition against bacterial rot, but interestingly, their corresponding essential oils (14 and 17) did not show any inhibition. The most antifungal extracts were YB, BS, and BF-EAc_{OF} (3, 7, 13), followed by BS-EO and BF-EO (14 and 17) with partial inhibition. Altogether, the three most promising extracts with a large spectrum of inhibition, *that is*, antibacterial and antifungal, are BF-EAc_{OF}, BS-EAc_{OF}, and BS-AB_{OF} (3, 7, 9). For industrial use, a treatment possessing the capacity to inhibit both bacterial and fungal rot becomes even more interesting. Hence, BF-EAc_{OF}, BS-EAc_{OF}, and BS-AB_{OF} extracts were selected for further investigation of their antimicrobial properties.

To evaluate the antimicrobial activities of the three most promising extracts (BF-EAc_{OF}, BS-EAc_{OF}, and BS-AB_{OF}), the minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimal bactericidal and fungicidal concentrations (MBC and MFC) were established using the INT microdilution test. The MIC and MBC/MFC results are listed in Table 3.

Table 3. Minimum antimicrobial concentration of most promising forest extracts against (a) bacterial and (b) fungi potato storage pathogens.

(a)

Treatment	Soft rot (bacterial rot)					
	<i>P. carotovorum</i>		<i>P. atrosepticum</i>		<i>D. dianthicola</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Control; H ₂ O ₂	8.23x10 ⁻³	0.22	2.47x10 ⁻²	0.22	9.15x10 ⁻⁴	18.01
Control; MeOH-H ₂ O	>12.00	>12.00	>12.00	>12.00	>12.00	>12.00
BF-EAc _{OF}	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
BS-EAc _{OF}	0.60	3.00	0.60	3.00	0.60	3.00
BS-AB _{OF}	3.00	>3.00	>3.00	>3.00	>3.00	>3.00

(b)

Treatment	Dry rot (fungal rot)			
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. sambucinum</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC
Control; Emesto Silver	3.05x10 ⁻³	20.01	3.05x10 ⁻³	20.01
Control; MeOH-H ₂ O	>12.00	>12.00	>12.00	>12.00
BF-EAc _{OF}	3.33x10 ⁻¹	3.33x10 ⁻¹	3.33x10 ⁻¹	3.33x10 ⁻¹
BS-EAc _{OF}	3.71x10 ⁻²	1.11x10 ⁻¹	1.37x10 ⁻³	4.12x10 ⁻³
BS-AB _{OF}	3.00	3.00	3.00	3.00

Abbreviations: BF, balsam fir; BS, black spruce; EAc, ethyl acetate; AB, acid base; OF, organic fraction; MIC, minimum inhibitory concentration; MBC, minimum bactericidal concentration; MFC, minimum fungicidal concentration. Results are given in % (w/w) and >value means that the treatment is not active at the maximal concentration tested, which is indicated by the value in italics.

As expected, the positive controls, H₂O₂ and Emesto Silver, were efficient against soft and dry rot, respectively, whereas the negative control, MeOH-H₂O, had no impact on microorganism growth. The most effective extract was the one with the lowest

minimum concentrations, which corresponded to BS-EAc_{OF}, varying from 1.37×10^{-3} to 3.00% (w/w), depending on the microbial strain. Even though it is not as effective as H₂O₂ for controlling bacterial rot, MIC and MBC results of BS-EAc_{OF} support the possibility of preventing the development of soft rot with its application. As for its antifungal activity, it is more efficient than Emesto Silver because its MFC is much lower. Overall, it seems that forest extracts have a lower activity against bacteria causing soft rot compared to their efficacy in inhibiting the growth of fungi responsible for dry rot. Nevertheless, BS-EAc_{OF} showed promising MIC, MBC, and MFC, which would justify its application in potato storage to prevent the development of both soft and dry rots.

Sprout Suppressive Tests

The sprout suppressive potential of all 17 forest extracts was assessed through the application of extracts on the surface of potatoes, and the results are presented in Figure 1. Each extract was tested at a concentration of 5% (w/w), except for the pure EOs (100% w/w). The results are shown in Figure 1.

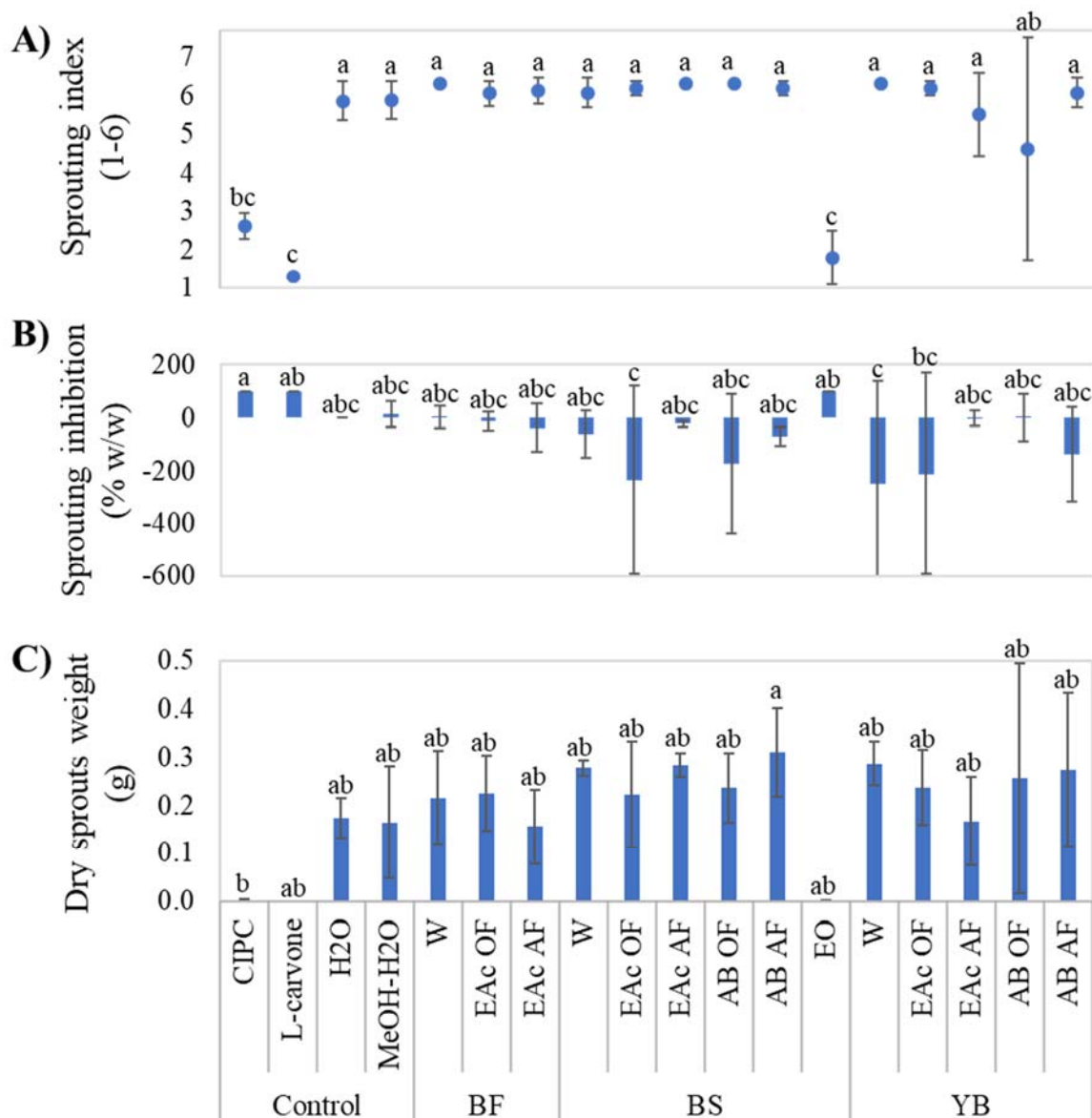


Figure 1. Sprout suppressive potential of forest extracts according to A) Sprouting index, B) Sprouting inhibition and C) Dry sprout weight. Abbreviations: BF, balsam fir; BS, black spruce; YB, yellow birch; W, water extraction; EAc, ethyl acetate fractionation; AB, acid-base extraction; EO, essential oil; AF, aqueous fraction and OF, organic fraction. Except essential oils that were tested pure, extracts were applied at a concentration of 5% w/w. Extracts having the same letter (a, b, c) present no significant differences ($p < 0.05$) according to HSD Tukey-Kramer statistical test.

An effective sprout suppressive potential is determined by three characteristics: (A) a low sprouting index, (B) a positive percentage of sprouting inhibition, and (C) a minimal dry sprout weight. In this regard, the positive controls, CIPC 1% and l-carvone 99%, were efficient in limiting sprouting because sprouts harvested from the potatoes treated weighed 0.0028 g and 0.0000 g, respectively. These results were expected because they are commercialized as potato sprout inhibitors [25]. The negative controls H₂O and MeOH-H₂O 20% did not have anti-sprouting activity. Of all the forest extracts, only BS-EO showed significant ($p < 0.05$) sprout suppressive activity with a sprouting inhibition of 99.6% (w/w). It inhibited sprouting as efficiently as CIPC, the most applied sprout suppressive product during storage. However, signs of phytotoxicity on potato skin treated with BS-EO were noted. This phytotoxicity was also observed in BF-EO and YB-EO. It affected the potatoes treated so severely that it disintegrated them, invalidating the sprout suppressant results of BF-EO and YB-EO. Furthermore, some extracts, such as BS-EAc_{OF} and YB-W, seem to stimulate sprout development according to the negative percentages of sprouting inhibition of -235.3 and 249.5% (w/w). By showing efficacy similar to that of CIPC, BS-EO was selected to evaluate its anti-sprouting property more accurately.

To further investigate the sprout suppressive activity and to diminish the phytotoxicity of the BS-EO sample, various concentrations were tested, and the results are shown in Figure 2.

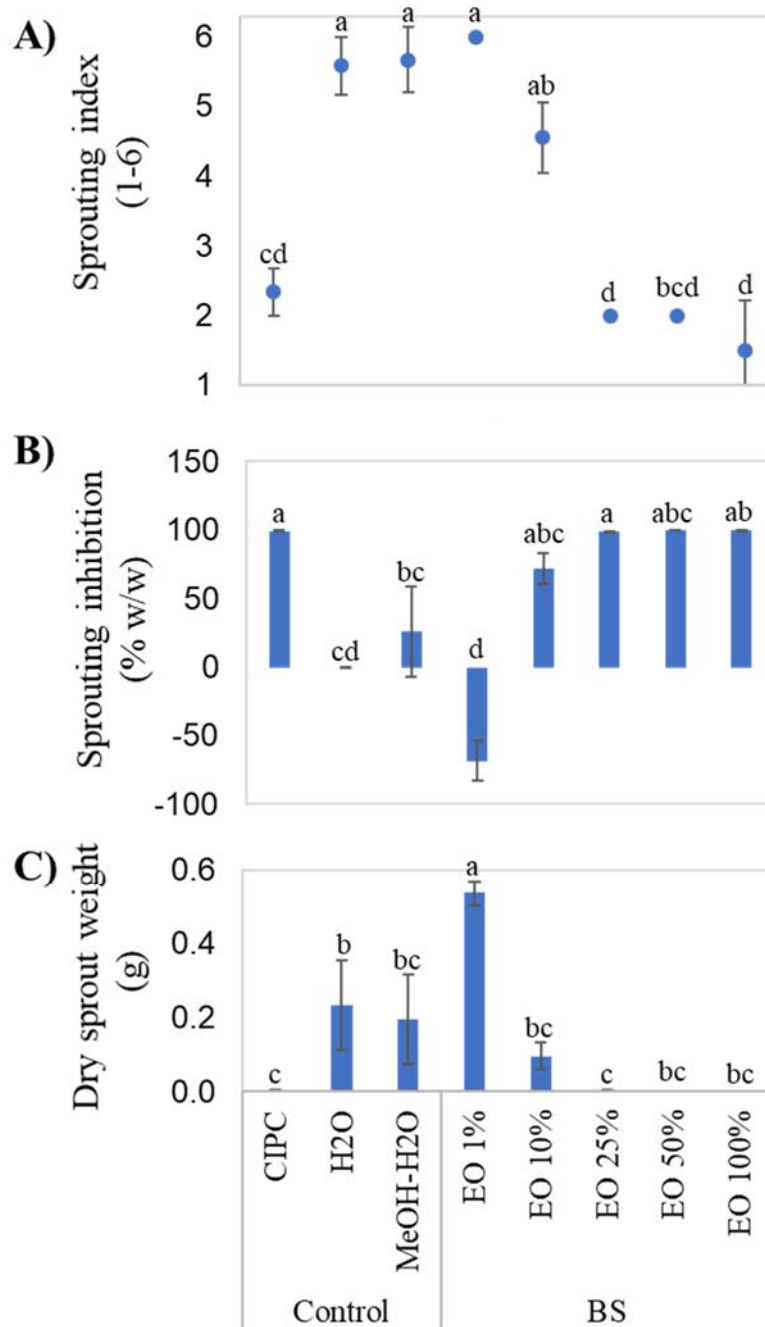


Figure 2. Minimum sprout suppressive concentration of black spruce essential oil indicated by A) Sprouting index, B) Sprouting inhibition and C) Dry sprout weight. Abbreviations: BS, black spruce; EO, essential oil. Treatments having the same letter (a, b, c, d) present no significant differences ($p < 0.05$) according to HSD Tukey-Kramer statistical test.

BS-EO 10% (w/w) inhibited sprouting but was as effective as the CIPC, with a BS-EO concentration of 25% (w/w). This is also the maximum concentration before the appearance of signs of phytotoxicity on the potato periderm, *that is*, mild necrosis that may promote rotting. Necrosis of emergent sprouts can be observed following treatment with BS-EO, confirming that the EO acts as a curative treatment by burning the bud meristematic cells like the others sprout EOs commercialized under Sprout Torch, Biox-M, and Talent [22, 25, 37]. Therefore, BS-EO could be a promising treatment as a sprout inhibitor that could replace CIPC.

Promising Potato Post-Harvest Product Based on Black Spruce Extracts Combination

BS-EAc_{OF} and BS-EO showed promising antimicrobial and sprout-suppressive activities, respectively. By combining the antimicrobial extract and the sprout suppressive one, BS-EAc_{OF} and BS-EO, an ideal potato post-harvest product could be obtained. Therefore, BS-EAc_{OF} and BS-EO were mixed at a minimal concentration to ensure antimicrobial and sprout suppressive activities, that is, 25% EO and 1% EAc_{OF}. Tests were carried out to confirm that the BS extract mix retained both biological properties. For antimicrobial activity, minimum concentrations of BS mix were determined using the INT microdilution assay. The results are listed in Table 4.

Table 4. Minimum antimicrobial concentration and fractional inhibitory concentration (FIC) of the BS extracts combination (25% EO, 1% EAc_{OF}) against **(a)** bacterial and **(b)** fungi potato storage pathogens.

(a)

Treatment	Soft rot (bacterial rot)					
	<i>P. carotovorum</i>		<i>P. atrosepticum</i>		<i>D. dianthicola</i>	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
BS-EAc _{OF}	0.60	3.00	0.60	3.00	0.60	3.00
BS-EO	60.02	>60.02	>60.02	>60.02	>60.02	>60.02
BS mix	20.01	60.02	20.01	>60.02	20.01	>60.02
FIC _{BS mix}	0.42	<0.45	<0.42	N.A.	0.42	N.A.

(b)

Treatment	Dry rot (fungal rot)			
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. sambucinum</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC
BS-EAc _{OF}	0.20	0.20	0.20	0.60
BS-EO	15.01	15.01	15.01	15.01
BS mix	6.67	6.67	6.67	20.01
FIC _{BS mix}	0.45	0.45	0.45	0.67

Abbreviations: BS, black spruce; EO, essential oil; EAc_{OF}, organic fraction of ethyl acetate fractionation; MIC, minimum inhibitory concentration; MBC, minimum bactericidal concentration; MFC, minimum fungicidal concentration; FIC, fractional inhibitory concentration. Results are presented as % (w/w). >MIC, MBC, or MFC values indicated that the treatment was not active at the maximal concentration tested, whereas > or <FIC values meant that the FIC was greater or lower than the mentioned value, respectively.

The minimum concentrations of the BS mix ranged from 20.01% to >60.02% (w/w) and from 6.67 to 20.01% (w/w) against soft rot and dry rot causal agents, respectively. These values are lower than those of BS-EO alone, with an overall range of 15.01 to >60.02% (w/w). Altogether, the combination of BS-EAc_{OF} and BS-EO has an antimicrobial synergistic effect, as confirmed by the FIC values lower than 0.5. Even though the efficacy was increased, it still did not reach the H₂O₂ antibacterial activity (Table 3). As for the antifungal activity, BS-EAc_{OF} alone was already comparable to Emesto Silver (Table 3); hence, the efficiency of the BS mix is further interesting. However, it is possible to observe that the results for dry rot differ slightly for BS-EAc_{OF} from previously, where the minimal concentrations generally increased from 1.37×10^{-3} to 1.11×10^{-1} % (w/w) (Table 3b) to 0.20- 0.60% (w/w) (Table 4b). These results confirmed that the antimicrobial activity of the BS extract mix was higher than that of its components alone.

With such positive antimicrobial results, the same BS mix was tested for its sprout inhibition potential on Colomba potatoes and the results are presented in Figure 3.

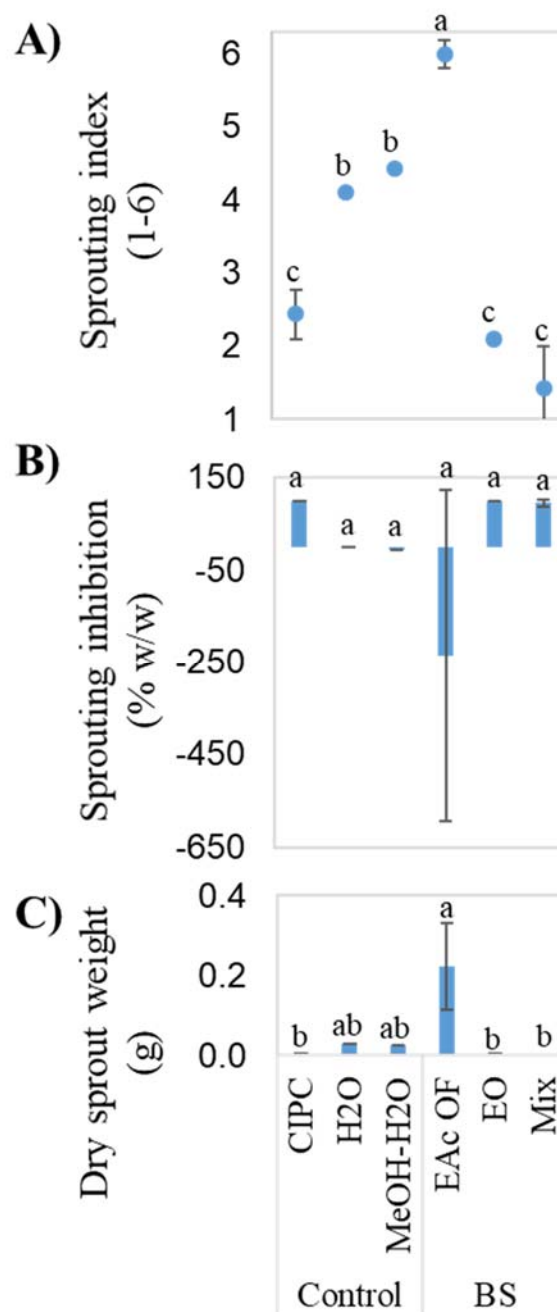


Figure 3. Sprout suppressive activity of black spruce extracts combination (25% EO, 1% EAc_{OF} w/w) indicated by A) Sprouting index, B) Sprouting inhibition and C) Dry sprout weight. Abbreviations: BS, black spruce; EAc_{OF}, organic fraction of ethyl acetate fractionation and EO, essential oil. Treatments having the same letter (a, b, c) present no significant differences ($p < 0.05$) according to HSD Tukey-Kramer statistical test.

Although BS-EAc_{OF} alone did not inhibit sprouting, and even stimulated it with a result of 235.28% w/w, the BS mix, with a sprouting inhibition of 95.71% w/w, maintained the capacity to inhibit sprout growth of BS-EO, which was as effective as CIPC (99.12% w/w).

To confirm if the BS mix allows potatoes to be sold to markets, it is possible to calculate the industrial sprouting index. Since markets have different degrees of potato sprouting acceptance, this index indicates the markets where potatoes are suitable for sale. For instance, fresh packaging, such as shipping to supermarkets, requires an industrial sprouting index of less than 5, whereas for the processing sector, it must be less than 10. The results are listed in Table 5.

Table 5. Potatoes market acceptability according to industrial sprouting index.

Treatment	Industrial sprouting index (scale of 0 to 40)			Market	
				Fresh packaging (<5)	Processing (<10)
CIPC	0.7	±	0.7	Yes	Yes
H ₂ O	10.5	±	3.9	No	No
MeOH-H ₂ O	18.7	±	13.6	No	No
BS-EO	0.0	±	0.0	Yes	Yes
BS-EAc _{OF}	23.3	±	14.4	No	No
BS-Mix	0.7	±	1.2	Yes	Yes

Abbreviations: BS, black spruce; EO, essential oil; EAc_{OF}, organic fraction of ethyl acetate fractionation. Values are presented as the mean ± standard deviation.

With an industrial sprout index of 0.7 ± 1.2 , it would be acceptable to sell potatoes treated with BS mix to all the different markets, even the most demanding one like fresh packaging.

Discussion

Forest Extract Production

The extraction yields obtained are consistent with the literature that reports a general variation between 2% and 20% for bark extractions [3], but they were inferior to the yields obtained by St-Pierre *et al.* [26]. This information is important to calculate because it can be decisive for commercialization; indeed, a lower yield tends to lead to a higher production cost. However, a higher yield does not directly imply a higher activity. Many factors influence both characteristics: extraction method, tree species, tissue used for extraction (bark, wood, leaves/needles), harvest site and time, storage period before extraction, *etc.* [3, 34, 35]. In fact, AB extraction was expected to give the lowest yields (approximately 1 g/100 g) because alkaloids are present only at low concentrations in plants. Nevertheless, from the perspective of industrial production, the properties of AB extracts could overcome the low yields obtained because alkaloids are known to possess strong biological properties at a minimal concentration [38, 39]. Data on the extraction yields of the commercial EOs used herein were not available; however, according to the literature, EOs obtained by hydro-distillation have yields close to 1% (w/w) [40].

Antimicrobial Tests

The antimicrobial efficacy of BS-EAc_{OF} can be partially explained by its chemical nature, which contains phenolic compounds such as taxifolin, epicatechin, quercetin, and resveratrol [26]. Although studies have reported antimicrobial activities of BS extracts [8, 26], none have identified precisely which metabolites are responsible for it and how they interact. However, phenolic compounds, particularly flavonoids and terpenoids, are known to have multiple mechanisms involving many sites of action [41]. Indeed, these molecules can interact with cell membranes and proteins, inducing structural changes or causing ion leakage, cell disruption, and even agglutination of cells [41-44]. More specifically, the components found in BS-EAc_{OF}, the standard compound of taxifolin, has been proven to inhibit some enzymes essential to the production of precursor components of the cell membrane [45]. Resveratrol has exhibited inhibitory activity

against efflux pumps present in microbial cells [45]. Therefore, although no study has elucidated the antimicrobial mode of action of BS extracts, phenolic compounds are thought to be responsible for it, and interestingly, their mechanisms generally differ from usual antibiotics [41, 46].

In addition, it is worth noting that BS-EAc_{OF} extract is known to have antioxidant and anti-inflammatory properties [6, 8, 47]. Besides its antimicrobial activity, these properties could help to prevent the infection of *Fusarium* spp. by promoting the healing of the potato skin because the success of the infection relies on the presence of wounds [6, 8, 36, 47, 48]. Hence, to determine if this is another mechanism that could prevent the development of dry rot, it would be pertinent to evaluate the suberization by characterizing the suberin level as proposed by Peck [49] in a future experiment.

Furthermore, EOs are known to inhibit the growth of a large variety of microorganisms and even phytopathogens responsible for dry and soft rot, such as *Fusarium* spp. and *Pectobacterium* spp. [50-52]. However, the EOs of BS, YB, and BF tested herein only showed weak or no antimicrobial activity, especially against *Fusarium* spp. These results may be explained by two possible reasons. First, EOs are generally less active against gram-negative bacteria, such as *Pectobacterium* spp. and *D. dianthicola*, due to their outer membrane that prevents hydrophobic compounds from disrupting the cytoplasmic membrane [50]. Second, the results may underestimate the antimicrobial potential of EOs because of the impossibility of diluting them homogeneously. Therefore, to evaluate more accurately the antimicrobial potential of EOs, it may be more appropriate to use the antibacterial hydrophobic assay developed by Côté [53] or formulate EOs by adding an emulsifying agent, such as Tween.

Sprout Suppressive Tests

The signs of phytotoxicity present on potato skin could be explained by the phytotoxic effect of EOs against potato skin, which promoted the development of rotteness. A higher volatility, such as the high concentration of pinenes (α and β) and

limonene present in BF-EO, in addition to the presence of oxygen functions such as methyl salicylate in the YB-EO, could be responsible for this phytotoxicity [54-57]. Therefore, it is likely that with a lower concentration of BF and YB-EOs, it would be possible to obtain conclusive and promising results about their sprout suppressive activity because some of their molecules have already demonstrated this property [25, 58-61].

The ability of some extracts to stimulate sprouting could be of interest for pre-sprouting seed potatoes, which is important for early tuber harvest and organic potato production [62, 63]. Indeed, better plant growth would shorten the growing period and therefore minimize the risk of disease development, such as late blight [62]. Moreover, plant extracts have been demonstrated to induce the production of phytoalexins, meaning that in addition to stimulating plant growth, the plant may be more resistant to further infections in the field [64, 65].

The efficiency of BS-EO is not surprising considering that some of its compounds, *such as* α -pinene, d-limonene, and linalool, have been proven to inhibit sprouting [25, 59-61]. The mode of action for the sprout-suppressive activity of BS-EO may be due to its monoterpenes. The cytotoxic effects of these compounds reduce mitochondria and Golgi bodies, which interfere with cellular respiration and photosynthesis [66]. They are also known to compromise the permeability and fluidity of the cell membrane [50, 66, 67]. Overall, the volatility and presence of oxygenated functions of the monoterpenes contained in BS-EO appear to be important for sprouting inhibition [55].

Promising Potato Post-Harvest Product Based on Black Spruce Extracts Combination

The variation in the CMI and CMF of BS-EAc_{OF} against fungal rot may partially be explained by the batch difference between each bark extraction, whereas the origin of BS-EAc_{OF} differed for these two antimicrobial tests. This observation corroborates the need of studies and traceability markers to evaluate the variability to standardize and regulate the efficacy of the final product as the chemical composition of the bark originally

varies depending on the harvest season and site, the age of the tree and the conditioning of the biomass after harvesting [3, 40, 66].

The effectiveness of the antimicrobial and sprout suppressive results demonstrated a synergy between the molecules of BS-EAc_{OF} and BS-EO. In reviewing the literature, many authors have reported this type of observation using plant extracts and EOs [51, 68-70]. This synergy not only reduces the active dose, but also limits the risk of developing resistance by multiplying the mechanisms of action, either by directly affecting the cellular components or the resistance mechanisms [66, 71]. It is interesting to note that synergistic effects can occur as well through physicochemical interactions between the different molecules of the two extracts [72].

However, formulation work is required because the BS mix is heterogeneous in MeOH-H₂O 20%. Therefore, particular attention should be paid to the formulation base because various factors, such as pH and salinity, can seriously affect the biological properties of the molecules in synergy [66].

In addition to antimicrobial and sprout suppressant activities, the use of plant extracts, including EO, has numerous advantages, such as being generally recognized as safe (GRAS), being rapidly degraded in the environment and being accepted in organic culture [51, 65]. However, some molecules, *such as* d-limonene, α -pinene, and linalool, may irritate, particularly in the case of degraded products due to oxidation [66]. Tripathi *et al.* [66] also reported that the oxidation of these compounds can generate a range of secondary organic pollutants. Application in industrial storage represents another obstacle. Indeed, these molecules are easily denatured at a higher temperature, so a cold fumigation application is necessary [66]. Nevertheless, it is worth mentioning that since potatoes are eaten, EOs are already used in animal diets and their accumulation in the system is unlikely because of their fast transformation and elimination [53]. Even though BS-EAc_{OF} and BS-EO exhibit a strong fragrance, it does not necessarily mean that it is going to leave an aftertaste to the treated potatoes, but it would have to be confirmed [71].

Moreover, to further reduce the cost of production, it would be interesting to assess the possibility of successive extractions on the same biomass. For instance, it would be possible to obtain both the EAc extract and the EO by first producing the EO by hydro-distillation of BS barks, followed by EAc extraction on the residual biomass.

In conclusion, the importance of this work is reflected in the advancement of knowledge in post-harvest potato management to replace harmful synthetic chemical compounds, leading to a bio-sourced product capable of improving potato conservation. Among the 15 forest extracts derived from BS, YB, and BF, BS-EAc_{OF} was the most active extract, according to MIC and MBC values, against the microbial development of dry rot (*Fusarium* spp.) and soft rot (*Pectobacterium* spp., *Dickeya* sp.). BS-EO, with a minimal concentration of 25% (w/w), prevented the sprouting of Colomba potatoes at 100% (w/w) and was as efficient as CIPC. Furthermore, when BS-EAc_{OF} and BS-EO are mixed, antimicrobial and sprout suppressive properties are maintained, allowing the formulation of a single product possessing broad properties to limit post-harvest losses. The development of a natural antimicrobial and sprout suppressive ingredient will thus support the potato industry, help to reduce food waste, and promote the use of forest residues.

Acknowledgments

The authors wish to thank Dr. Olivier Rezazgui, Dr. Narimane Fradj, and Marguerite Cinq-Mars for their helpful comments and for the revision of the manuscript. M.B. was supported by a Mitacs—Acceleration (grant number IT12409) and by a scholarship from the Technology Transfer Grants of the Fonds de Recherche du Québec Nature et Technologies (file numbers: 273213, 279930, 295697). This work was supported by the Consortium de Recherche et Innovations en Bioprocédés Industriels au Québec, project number 2017-042-C30, for its financial support to N.B., S.B., and I.D.-P. This study was also funded by the Canada Research Chair on plant specialized metabolism Award No 950-232164 to I.D.-P. The funding sources were not involved in the study herein, whether in the study design, the collection, analysis, and interpretation of data,

article writing, or in the decision to submit the article for publication. Thanks are extended to the Canadian taxpayers and the Canadian government for supporting the Canada Research Chairs Program.

Declaration of Interests

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have influenced the work reported in this paper.

Credit Author Statement

Michelle Boivin: Conceptualization, Methodology, Investigation, Formal analysis, Validation, Visualization, Writing- Original draft; **Nathalie Bourdeau:** Conceptualization, Methodology, Project administration, Resources, Funding acquisition, Writing- Reviewing and Editing; **Simon Barnabé:** Supervision, Writing- Reviewing and Editing; **Isabel Desgagné-Penix:** Conceptualization, Methodology, Resources, Funding acquisition, Supervision, Writing- Reviewing and Editing.

References

1. Delisle, J.-F., *Ressources et industries forestières du Québec, Portrait statistique 2018*. 2019: Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs. 154.
2. Parent, G., É. Boulat, and C. Fortin, *Ressources et industries forestières : Portrait statistique*. 2012, Québec: Ministère des Ressources naturelles et de la Faune. 88.
3. Royer, M., et al., *Non-wood Forest Products Based on Extractives - A New Opportunity for the Canadian Forest Industry Part 1: Hardwood Forest Species*. *Journal of Food Research*, 2012. **1**(3): p. 8-45.
4. Omar, S., et al., *Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine*. *J Ethnopharmacol*, 2000. **73**(1-2): p. 161-70.

5. Krasutsky, P.A., *Birch bark research and development*. Nat Prod Rep, 2006. **23**(6): p. 919-942.
6. Diouf, P.N., T. Stevanovic, and A. Cloutier, *Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from Picea mariana bark and its proanthocyanidin-rich fractions*. Food Chemistry, 2009. **113**(4): p. 897-902.
7. Amri, I., et al., *Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of Pinus pinea essential oil*. Journal of Pest Science, 2012. **85**(2): p. 199-207.
8. Royer, M., et al., *Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian forest species*. PharmaNutrition, 2013. **1**(4): p. 158-167.
9. Ma, H., *Phytochemical and biological investigation of gallotannins from red maple (Acer rubrum) species*, in *Biomedical and pharmaceutical sciences*. 2014, University of Rhode Island. p. 132.
10. Francezon, N., N.R. Meda, and T. Stevanovic, *Optimization of Bioactive Polyphenols Extraction from Picea Mariana Bark*. Molecules, 2017. **22**(12): p. 1-15.
11. St-Pierre, A., et al., *Phytochemical Screening of Quaking Aspen (Populus tremuloides) Extracts by UPLC-QTOF-MS and Evaluation of their Antimicrobial Activity*. Molecules, 2018. **23**(7): p. 1-21.
12. Skrypnik, L., et al., *Comparative study on radical scavenging activity and phenolic compounds content in water bark extracts of alder (Alnus glutinosa (L.) Gaertn.), oak (Quercus robur L.) and pine (Pinus sylvestris L.)*. European Journal of Wood and Wood Products, 2019. **77**(5): p. 879-890.
13. Tremblay, J.-F., *Important projet de recherche sur la pomme de terre*, in *TVA Nouvelles*. 2016: Alma.
14. Hossain, A. and A.M. Miah, *Post Harvest Losses and Technical Efficiency of Potato Storage Systems in Bangladesh*. 2009, Bangladesh Agricultural Research Institute. p. 100.
15. Pinhero, R.G., R. Coffin, and R.Y. Yada, *Post-harvest Storage of Potatoes*. 2009, Elsevier Inc. p. 339-370.

16. Minor, T., S. Thornsberry, and A.K. Mishra, *The Economics of Food Loss in the Produce Industry*. Routledge studies in agricultural economics. 2019, New-York: Routledge. 312.
17. Alamar, M.C., *et al.*, *Assuring Potato Tuber Quality during Storage: A Future Perspective*. *Front Plant Sci*, 2017. **8**: p. 1-6.
18. Ernst, W., *et al.*, *The Toxicity of Chlorothalonil to Aquatic Fauna and the Impact of Its Operational Use on a Pond Ecosystem*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1991. **21**: p. 1-9.
19. Avis, T.J., C. Martinez, and R.J. Tweddell, *Minireview/Minisynthèse Integrated management of potato silver scurf (*Helminthosporium solani*)*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2010. **32**(3): p. 287-297.
20. Vijay, P., R. Ezekiel, and R. Pandey, *Use of CIPC as a potato sprout suppressant: health and environmental concerns and future options*. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2018. **10**(1): p. 17-24.
21. Teper-Bamnlker, P., *et al.*, *Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem*. *Planta*, 2010. **232**(1): p. 179-186.
22. Daniels-Lake, B., *et al.*, *Efficacy of Potato Sprout Control Products to Minimize Sprout Production*. 2013: North American Plant Protection Organization. 1-19.
23. de Carvalho, C.C.C.R. and M.M.R. da Fonseca, *Carvone: Why and how should one bother to produce this terpene*. *Food Chem*, 2006. **95**: p. 413-422.
24. Martin, M., *Le choix des inhibiteurs de germination s'étoffe!* *Perspectives agricoles*, 2013. **403**: p. 24-26.
25. Boivin, M., *et al.*, *Sprout Suppressive Molecules Effective on Potato (*Solanum tuberosum*) Tubers during Storage: a Review*. *American Journal of Potato Research*, 2020. **97**(5): p. 451-463.
26. St-Pierre, A., *et al.*, *Chemical Composition of Black Spruce (*Picea mariana*) Bark Extracts and Their Potential as Natural Disinfectant*. *Industrial Biotechnology*, 2019. **15**(3): p. 219-231.
27. St-Pierre, A., A. Lajeunesse, and I. Desgagne-Penix, *Determination of Piperidine Alkaloids from Indian Tobacco (*Lobelia inflata*) Plants and Plant-Derived Products*. *Austin Biochemistry*, 2017. **2**(2): p. 1-8.

28. Eloff, J.N., *A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria*. *Planta Med*, 1998. **64**(8): p. 711-713.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute, *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, approved standard*, in *CLSI document M07-A9*. 2012: 950 West Valley Road, suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA. p. 1-88.
30. Saskatchewan Ministry of Agriculture, *Guide to Crop Protection*, S.M.o. Agriculture, Editor. 2020, Government of Saskatchewan. p. 1-692.
31. Sopirala, M.M., *et al.*, *Synergy testing by Etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010. **54**(11): p. 4678-4683.
32. Vokou, D., S. Vareltzidou, and P. Katinakis, *Effects of aromatic plants on potato storage; sprout suppression and antimicrobial activity*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1993. **47**: p. 223-235.
33. Dai, H., *et al.*, *Ethylene inhibited sprouting of potato tubers by influencing the carbohydrate metabolism pathway*. *J Food Sci Technol*, 2016. **53**(8): p. 3166-3174.
34. Demeulemeester, K., K. Cornelissen, and M. Demarcke. *Low residue sprout inhibition in potatoes*. 2017; Available from: https://projectblue.blob.core.windows.net/media/Default/Potatoes/Kurt%20Demeulemeester_EAPR%20Presentation.pdf?fbclid=IwAR2SmatZEC_BpQDPmfuoZs_k7tJZ5aFVUIwXP4T9JOtD_3CaGIEy8S_gm94.
35. One Four Group. *Research and Development*. n.d.; Available from: <http://14group.com/wp-content/uploads/2017/11/14-Group-R-and-D-Facilities.pdf>.
36. Arora, R.K. and S.M. Paul Khurana, *Major Fungal and Bacterial Diseases of Potato and their Management*, in *Fruit and Vegetable Disease*, K.G. Mukerji, Editor. 2004, Kluwer Academic: Netherlands. p. 189-231.
37. Finger, F.L., *et al.*, *Action of Essential Oils on Sprouting of Non-Dormant Potato Tubers*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2018. **61**(e18180003): p. 1-11.
38. Cowan, M.M., *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 1999. **12**(4): p. 564- 582.

39. Isah, T., *Anticancer Alkaloids from Trees: Development into Drugs*. Pharmacogn Rev, 2016. **10**(20): p. 90-99.
40. Khan, S., *et al.*, *Essential oil composition of forest biomass stored under industrial conditions in Eastern Canada*. Industrial Crops and Products, 2014. **56**: p. 35-42.
41. Bouarab-Chibane, L., *et al.*, *Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models*. Front Microbiol, 2019. **10**: p. 1-23.
42. Górniak, I., R. Bartoszewski, and J. Króliczewski, *Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids*. Phytochemistry Reviews, 2018. **18**(1): p. 241-272.
43. Mulyaningsih, S., *Plant-derived antimicrobial agents and their synergistic interaction against drug-sensitive and -resistant pathogens*. 2010, University of Heidelberg: Germany. p. 130.
44. Savoia, D., *Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics*. Future Microbiol, 2012. **7**(8): p. 979-990.
45. Khameneh, B., *et al.*, *Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint*. Antimicrob Resist Infect Control, 2019. **8**(1): p. 118-146.
46. Tako, M., *et al.*, *Plant Phenolics and Phenolic-Enriched Extracts as Antimicrobial Agents against Food-Contaminating Microorganisms*. Antioxidants (Basel), 2020. **9**(2): p. 1-21.
47. Dastmalchi, K., *et al.*, *Solving the jigsaw puzzle of wound-healing potato cultivars: metabolite profiling and antioxidant activity of polar extracts*. J Agric Food Chem, 2014. **62**(31): p. 7963-7975.
48. Wang, Y., M.R. Naber, and T.W. Crosby, *Effects of Wound-Healing Management on Potato Post-Harvest Storability*. Agronomy, 2020. **10**(4): p. 1-17.
49. Peck, S.M., *Integrating Cultivar, Temperature and Quality into Early Storage Management Decisions for Wound Healing in Potatoes (Solanum tuberosum L.)*. 2015, University of Idaho. p. 136.
50. Dhifi, W., *et al.*, *Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review*. Medicines, 2016. **3**(4): p. 1-16.

51. Arraiza, M.P., *et al.*, *Antifungal Effect of Essential Oils*, in *Potential of Essential Oils*. 2018. p. 145-164.
52. Hajian-Maleki, H., S. Baghaee-Ravari, and M. Moghaddam, *Efficiency of essential oils against Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum causing potato soft rot and their possible application as coatings in storage*. *Postharvest Biology and Technology*, 2019. **156**: p. 1-15.
53. Côté, H., *Développement de nouveaux produits antibactériens issus de la forêt Québécoise*. 2019, Université du Québec à Chicoutimi. p. 239.
54. BoreA, *Technical Data Sheet; Black Spruce Essential Oil*. n.d.
55. Song, X., M. Bandara, and K.K. Tanino, *Potato Dormancy Regulation: Use of Essential Oils for Sprout Suppression in Potato*. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 2008. **2**(1): p. 110-117.
56. Amri, I., *et al.*, *Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: News approach for weeds management*. *Int J of Appl Biol and Pharm Technol*, 2012. **4**(1): p. 96-114.
57. Zayat Aroma Inc., *Material Safety Data Sheet: Yellow Birch*, Z. Aroma, Editor. 2020.
58. Meigh, D.F., *Suppression of sprouting in stored potatoes by volatile organic compounds*. *J. Sci. Food Agric.*, 1969. **20**: p. 159-164.
59. Beveridge, J.L., J. Dalziel, and H.J. Duncan, *The assessment of some volatile organic compounds as sprout suppressants for ware and seed potatoes*. *Potato Research*, 1981. **24**: p. 61-76.
60. Vaughn, S.F. and G.F. Spencer, *Volatile Monoterpenes Inhibit Potato Tuber Sprouting*. *American Potato Journal*, 1991. **68**: p. 821-831.
61. Baydar, H. and T. Karadoğan, *The effects of volatile oils on in vitro potato sprout growth*. *Potato Research*, 2003. **46**: p. 1-8.
62. Hagman, J., *Pre-sprouting as a Tool for Early Harvest in Organic Potato (Solanum tuberosum L.) Cultivation*. *Potato Research*, 2012. **55**(2): p. 185-195.
63. Mani, F. and C. Hannachi, *Physiology of Potato Sprouting*. *Journal of New Sciences*, 2015. **17**(2): p. 591-602.

64. Ahuja, I., R. Kissen, and A.M. Bones, *Phytoalexins in defense against pathogens*. Trends Plant Sci, 2012. **17**(2): p. 73-90.
65. Singh, J. and A.N. Yadav, *Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture*. 2020: Springer. 309.
66. Tripathi, A.K., *et al.*, *A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management*. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 2009. **1**(15): p. 1-12.
67. Nazzaro, F., *et al.*, *Essential Oils and Antifungal Activity*. Pharmaceuticals (Basel), 2017. **10**(4): p. 1-20.
68. Astani, A., J. Reichling, and P. Schnitzler, *Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils*. Phytother Res, 2010. **24**(5): p. 673-679.
69. Mahizan, N.A., *et al.*, *Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens*. Molecules, 2019. **24**(14): p. 1-21.
70. Baptista, R.C., C.N. Horita, and A.S. Sant'Ana, *Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review*. Food Res Int, 2020. **127**: p. 1-23.
71. Tripathi, P. and N.K. Dubey, *Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables*. Postharvest Biology and Technology, 2004. **32**(3): p. 235-245.
72. Langeveld, W.T., E.J. Veldhuizen, and S.A. Burt, *Synergy between essential oil components and antibiotics: a review*. Crit Rev Microbiol, 2014. **40**(1): p. 76-94.

Appendix A

Table A1. Detailed results on the initial screens of the antimicrobial potential of forest extracts against potato storage pathogens using the INT colorimetric assay. The efficacy of the antimicrobial potential of an extract was rank as: ‘+++’ effective inhibition, ‘+’ partial inhibition and ‘-’ no inhibition effect.

Sample number	Origin	Extraction method	Bacteria				Fungi		
			<i>P. carotovorum</i>	<i>P. atrosepticum</i>	<i>D. dianthicola</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. sambucinum</i>	
1	Control	MeOH-H ₂ O	-	-	-	-	-	-	
2	Control	H ₂ O	-	-	-	-	-	N.A.	
3	YB	W	++	++	+	++	-	-	
4	YB	EAc _{OF}	-	-	-	N.A.	++	N.A.	
5	YB	EAc _{AF}	+	+	-	-	-	-	
6	YB	AB _{OF}	+	+	-	-	+	-	
7	YB	AB _{AF}	+	N.A.	-	-	-	-	
8	YB	EO	+	-	-	+	-	N.A.	
9	BS	W	N.A.	+	N.A.	-	-	-	
10	BS	EAc _{OF}	+	+	N.A.	N.A.	++	++	
11	BS	EAc _{AF}	+	++	+	-	-	-	
12	BS	AB _{OF}	++	+	-	+	+	++	
13	BS	AB _{AF}	N.A.	++	N.A.	-	-	-	
14	BS	EO	+	-	-	+	+	N.A.	
15	BF	EAc _{OF}	+	+	N.A.	N.A.	++	N.A.	
16	BF	EAc _{AF}	++	+	+	-	-	+	
17	BF	EO	+	-	-	+	++	N.A.	

Abbreviations: YB, yellow birch; BS, black spruce; BF, balsam fir; water, W; ethyl acetate, EAc; acid base, AB; essential oil, EO; AF, aqueous fraction; OF, organic fraction.

CHAPITRE III

DISCUSSION

3.1 Retour sur la problématique et les résultats

Avec une production répandue dans plus de 100 pays et une consommation mondiale se chiffrant à 33,47 kg par personne en 2017, la pomme de terre est bien présente dans notre quotidien (FAOstat, 2019; International Year of the Potato, 2008). Cependant, l'entreposage pour les producteurs de pommes de terre représente un grand défi puisque de nombreuses pertes sont dénombrées. Dans les dernières années au Canada, ces pertes sont estimées à environ 10 % de la récolte (Déziel *et al.*, 2019). Parmi les causes, on retrouve les pertes dues à la propagation de maladies, notamment les pourritures sèches et molles, et celles liées à la germination. En l'occurrence, le secteur de la pomme recourt régulièrement à l'utilisation de produits chimiques, tels que le CIPC et le thiabendazole. Toutefois, ces produits chimiques, dont la plupart sont d'origine synthétique, peuvent être nocifs pour la santé et dommageables pour l'environnement ou encore, ils peuvent contribuer à l'émergence d'agents causaux de maladies résistants (Chudinova *et al.*, 2020; Paul *et al.*, 2018). C'est pourquoi la recherche d'alternatives a débuté il y a quelques années déjà sans toutefois aboutir à une solution idéale.

De plus en plus de chercheurs se tournent vers l'extraction des molécules de plantes (extractibles) pour y étudier leurs diverses propriétés biologiques, car les métabolites spécialisés des végétaux sont reconnus pour être une source de molécules bioactives, p. ex. une activité antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, anticancer et bien d'autres (Atanasov *et al.*, 2015). Au Québec (Canada), avec une industrie forestière très présente sur le territoire, entre autres grâce à une superficie totale de près de 1 million de km² forestiers, il devient donc intéressant d'analyser les propriétés biologiques des extractibles des écorces d'arbres québécois (Delisle, 2019). À ce jour, encore peu d'études ont recensé les propriétés de molécules extraites d'écorces d'essences québécoises.

Malgré tout, les articles mentionnent d'ores et déjà des avenues prometteuses pour l'utilisation de ces molécules notamment à des fins cosmétiques et sanitaires où ces industries peuvent, par exemple, tirer profit des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes de l'épinette noire (Garcia-Perez *et al.*, 2012; Royer *et al.*, 2013; St-Pierre *et al.*, 2019).

Devant la problématique encourue par les producteurs de pommes de terre, les laboratoires d'Isabel Desgagné-Penix et de Simon Barnabé accompagnés d'Innofibre et de leurs partenaires ont voulu explorer la possibilité des extractibles forestiers afin de limiter les pertes de pommes de terre post-récoltes. L'objectif général étant donc de développer un ingrédient biosourcé, à partir de résidus d'écorces, pour le contrôle des maladies lors de l'entreposage des pommes de terre.

Pour y parvenir dans le cadre de cette maîtrise, trois objectifs spécifiques ont été accomplis : 1) la production d'extraits forestiers, 2) l'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro*, 3) l'évaluation de l'activité antigermineuse *in vivo*. Étant donné que le quatrième objectif apporté en introduction, soit l'évaluation de l'efficacité du produit prometteur en entrepôt, est un objectif qui s'étale sur plusieurs mois et qui s'étend au-delà de la durée de maîtrise, les équipes d'Innofibre et d'Agrinova ont pris en charge celui-ci.

Le premier objectif spécifique consistait à produire les extraits forestiers à partir d'essences d'arbres retrouvées sur le territoire québécois et qui sont exploitées par l'industrie forestière. Leur exploitation assure ainsi la disponibilité des résidus d'écorces utilisés dans ce projet pour l'extraction de molécules bioactives. Par conséquent, l'usine de cogénération Greenleaf Power située à Saint-Félicien au lac Saint-Jean (Québec, Canada) a fourni des écorces d'épinette noire (*Picea mariana*), de bouleau jaune (*Betula alleghaniensis*) et de sapin baumier (*Abies balsamea*). Suivant le séchage et le broyage à 5 mm de ces biomasses, différentes extractions ont été effectuées sur chacune d'entre elles soit, l'extraction à l'eau, le fractionnement à l'acétate d'éthyle de l'extrait à l'eau et l'extraction acide-base. Ces trois extractions distinctes permettent d'enrichir les

extraits de différentes familles de molécules pouvant avoir une activité biologique intéressante à exploiter. Les extraits à l'eau contiennent des molécules polaires très variées comme les composés phénoliques (St-Pierre *et al.*, 2019). Alors que les extraits fractionnés à l'acétate d'éthyle concentrent plutôt les oligomères proanthocyanines dans la fraction organique (Diouf *et al.*, 2009c; St-Pierre *et al.*, 2019). Enfin, les extraits obtenus à la suite de l'extraction acide-base sont enrichis de composés alcaloïdes (St-Pierre *et al.*, 2017). Subséquemment aux trois méthodes d'extraction réalisées sur les écorces d'épinette noire, de bouleau jaune et de sapin baumier, les rendements d'extraction, c'est-à-dire la quantité d'extrait obtenu par rapport à la biomasse initiale, variaient entre 0,92 et 9,35 % (m/m). De manière générale, l'extraction à l'eau offrait un meilleur rendement, suivi du fractionnement à l'acétate d'éthyle et de l'extraction acide-base. Ces résultats étaient attendus puisque dans le cas des deux dernières méthodes, elles ciblent l'extraction d'une famille de molécules en particulier comparativement à la non-sélectivité des molécules polaires de l'extraction à l'eau. Par ailleurs, une utilisation industrielle dans un entrepôt de pommes de terre nécessite de tenir compte autant du potentiel biologique de l'extrait forestier que de son rendement d'extraction dans la sélection finale. Ainsi, pour compenser le rendement d'extraction généralement faible de l'extraction acide-base, l'activité biologique devra être importante et se caractériser soit par une faible concentration minimale d'activité ou soit par un large spectre d'activités biologiques.

Le deuxième objectif spécifique permettait d'évaluer le potentiel antimicrobien *in vitro* des extraits forestiers produits précédemment et des huiles essentielles d'épinette noire, de bouleau jaune et de sapin baumier fournies par BoréA Canada (Québec, Canada). Les tests antimicrobiens ont été effectués sur des microorganismes à l'origine des maladies développées en entrepôt causant d'importantes pertes comme les pourritures molles et sèches. Plus particulièrement, la capacité des extraits forestiers, incluant les huiles essentielles, à inhiber la croissance de *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* et *Dickeya dianthicola*, soit les bactéries causant la pourriture molle, ainsi que *Fusarium oxysporum* et *Fusarium sambucinum*, les champignons à l'origine de la pourriture sèche, a été évaluée avec un test

colorimétrique utilisant le colorant p-Iodonitrotetrazolium (INT). Ce colorant, dont la couleur initiale est légèrement jaunâtre, lorsqu'en contact avec des microorganismes actifs sera transformé en un composé de formazan de couleur violacée. Concrètement, la réaction colorimétrique suivant la réduction du composé par des déshydrogénases indique la respiration cellulaire et donc, la croissance microbienne (Eloff, 1998). Dans un premier temps, une sélection initiale à concentration fixe a été réalisée, ce qui a permis de désigner les meilleurs extraits, c'est-à-dire ceux qui inhibaient autant les bactéries que les champignons. Le fait d'agir contre les agents causaux des deux types de pourritures est un avantage important qui permettrait de limiter l'utilisation de pesticide. Trois extraits antimicrobiens se sont donc démarqués : l'extrait acide-base d'épinette noire (fraction organique), les extraits fractionnés à l'acétate d'éthyle (fraction organique) de sapin baumier et d'épinette noire. Outre ces extraits permettant une inhibition au moins partielle, d'autres extraits antibactériens présentaient une meilleure inhibition contre la pourriture molle soit l'extrait acide-base d'épinette noire (fraction aqueuse) et l'extrait à l'eau de bouleau jaune. Tandis que du côté antifongique, il y avait aussi l'extrait fractionné à l'acétate d'éthyle (fraction organique) du bouleau jaune qui faisait partie des extraits démontrant une inhibition efficace contre la pourriture sèche. Dans un deuxième temps, pour évaluer plus précisément l'activité antimicrobienne des trois extraits préalablement sélectionnés, soit l'extrait acide-base d'épinette noire et les extraits fractionnés à l'acétate d'éthyle de sapin baumier et d'épinette noire, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide ou fongicide (CMB, CMF) ont été déterminées en utilisant le test de microdilution en bouillon, approuvé par le CLSI, avec l'INT comme colorant. Ce test permet donc de déterminer la plus petite concentration qui limitera la croissance du microorganisme, dans le cas de la CMI, et celle qui parviendra à tuer le microorganisme, soit la CMB ou CMF. Avec les résultats obtenus de CMI et de CMB/CMF, il est possible de réaliser le classement suivant par ordre croissant d'efficacité : MeOH-H₂O (contrôle négatif) > extrait acide-base d'épinette noire (fraction organique) > extrait à l'acétate d'éthyle de sapin baumier (fraction organique) > extrait à l'acétate d'éthyle d'épinette noire (fraction organique) ≈ Emesto Silver (contrôle positif antifongique) > H₂O₂ (contrôle positif antibactérien). Bien que l'extrait à l'acétate d'éthyle d'épinette noire démontre une inhibition fongique similaire au produit antifongique utilisé

en entrepôt (Emesto Silver), l'inhibition bactérienne est inférieure aux résultats obtenus par le produit antibactérien utilisé à titre de contrôle (H_2O_2).

Le troisième objectif spécifique consistait à évaluer la capacité d'inhibition de la germination, soit l'activité antigerminative, des pommes de terre qu'auraient les extraits forestiers et les huiles essentielles. C'est alors que chacun des traitements a été appliqué en vaporisant la surface de pommes de terre de type Colomba, une variété de culture qui germe tôt dans la période d'entreposage et de manière plutôt agressive. Fournis par Les Patates Dolbec, les échantillons de pommes de terre utilisés dans ce test d'efficacité antigerminative possédaient ces caractéristiques : les tubercules étaient prêts à germer, c'est-à-dire que leur période de dormance naturelle était terminée, et ils étaient vierges de tout traitement antigerminatif fait préalablement en entrepôt. La germination a été évaluée selon diverses mesures, comme la longueur et la masse des germes, pour permettre une évaluation exhaustive. Les résultats ont démontré que les extraits forestiers n'avaient aucun potentiel antigerminatif, et au contraire, certains semblaient même promouvoir la germination des pommes de terre, comme l'extrait à l'eau de bouleau jaune et même l'extrait d'acétate d'éthyle d'épinette noire identifié comme antimicrobien dans l'objectif précédent. Cependant, l'huile essentielle d'épinette noire a complètement pu inhiber la germination. Les huiles essentielles de sapin baumier et de bouleau jaune n'ont généré aucun résultat valide, car des signes sévères de phytotoxicité affectant le processus de germination ont été retrouvés sur chacun des réplicats. Afin de préciser l'activité antigerminative de l'huile essentielle d'épinette noire, des dilutions entre 1 et 50 % ont été testées selon la même méthodologie. La concentration minimale d'huile essentielle d'épinette noire permettant d'inhiber complètement la germination de pommes de terre est de 25 %. Cette concentration permet d'obtenir des résultats statistiquement équivalents au contrôle positif, le CIPC, tout en étant statistiquement différents des contrôles négatifs, l' H_2O et le MeOH- H_2O . Un fait surprenant est que la germination est stimulée lorsque celle-ci est concentrée à 1 %. En effet, le pourcentage d'inhibition de la germination obtenu se chiffre à -69 % signifiant donc une germination supérieure au traitement à l' H_2O . D'autres travaux devront être réalisés pour explorer davantage ce fait.

Étant donné que l'extrait d'acétate d'éthyle d'épinette noire, qui possède le meilleur potentiel antimicrobien, semble favoriser la germination et que l'huile essentielle d'épinette noire a la propriété antigerminative recherchée en plus d'inhiber partiellement les champignons, le fait de mélanger ces deux extraits forestiers et de voir si les deux propriétés sont conservées devenait une investigation nécessaire. Ainsi, ces extraits ont été mélangés en fonction de leur concentration minimale d'activité respective, c'est-à-dire 1 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 25 % pour l'huile essentielle, ci-après désigné « mélange d'extraits d'épinette noire », notamment en raison de leur origine commune. Du côté antimicrobien, il a été remarqué que ce mélange permettait de diminuer les concentrations minimales, augmentant donc l'efficacité antimicrobienne. Cette synergie est d'ailleurs confirmée par les valeurs de concentrations fractionnaires inhibitrices calculées pour chaque résultat. Effectivement, celles-ci sont inférieures à 0,5 pour tous les phytopathogènes à la pomme de terre testés ce qui démontre une synergie selon Sopirala *et al.* (2010). Du côté antigerminatif, le pourcentage d'inhibition de la germination du mélange d'extraits d'épinette noire était de 95,7 % comparativement à 98,6 % pour l'huile essentielle seule et -235,3 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle. Il a donc été conclu que le fait de mélanger ces deux extraits forestiers permettait non seulement d'améliorer le potentiel antimicrobien, grâce à une synergie entre les molécules des deux types d'extraits, et permettait de conserver le potentiel antigerminatif apporté par l'huile essentielle.

3.2 Limites et perspectives

Cette section fait état des limites encourues par la méthodologie employée dans ce projet de recherche et dont la mention est nécessaire pour l'évaluation critique des résultats ainsi obtenus. D'ores et déjà, l'étude d'extraits forestiers apporte son lot de difficultés en soi, car ce sont des mélanges de dizaines de molécules dont la nature chimique et la concentration sont méconnues en plus de varier d'une extraction à une autre à plusieurs niveaux, par exemple : l'essence d'arbre, la géolocalisation de la croissance et la saison de récolte (Royer *et al.*, 2012).

En premier lieu, à la fin des divers processus d'extraction, les extraits sont séchés pour être entreposés jusqu'à leur utilisation dans les tests biologiques où ils ont été dissous dans 20 % m/m MeOH-H₂O. Il était nécessaire de sélectionner un solvant qui limiterait les biais liés aux solvants tels qu'une toxicité sur les microorganismes. De plus, il devait être commun pour tous les tests afin d'éviter une multitude de contrôles. Cette manière de faire permettait une solubilisation générale des extraits. Toutefois, étant donné la nature différente des extraits, leur solubilité était variable et a pu affecter leur concentration. Cette limite a été particulièrement problématique lors des tests de microdilution en bouillon pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides ou fongicides (CMB, CMF), car ces protocoles requéraient des dilutions en série, par conséquent une difficulté à mélanger a pu affecter la concentration expérimentale alors que les résultats finaux reposent sur la concentration théorique calculée. Pour restreindre ces effets, l'expérience a été réalisée en duplicat. Néanmoins, l'impossibilité de diluer de manière homogène les huiles essentielles lors des divers tests antimicrobiens a pu avoir l'effet de sous-estimer leur potentiel antimicrobien. Dans ce cas, il aurait été intéressant d'exécuter le protocole proposé par Côté (2019) qui permet d'éviter l'ajout d'un agent émulsifiant. Cela peut également affecter la synergie entre les molécules de l'extrait d'acétate d'éthyle et l'huile essentielle du mélange d'extraits d'épinette noire. En effet, s'il y a bien une sous-estimation des valeurs de CMI et CMB/CMF de l'huile essentielle d'épinette noire seule, cela mène à une surestimation des valeurs calculées de concentrations fractionnaires inhibitrices donc au lieu d'interpréter la présence d'une synergie, il pourrait plutôt s'agir d'un effet additif. Par ailleurs, la mauvaise solubilité de l'huile essentielle d'épinette noire dans 20 % MeOH-H₂O n'a pas pu permettre de tester plus précisément la concentration minimale de l'activité antigerminative que ce qui a été réalisé. Pour ce faire, un travail de formulation, avec des agents émulsifiants par exemple, sera nécessaire. En plus de réaliser des tests qui permettront d'obtenir un produit homogène, il sera nécessaire de vérifier que l'utilisation de l'émulsifiant sélectionné n'affectera pas les propriétés biologiques initiales des extraits. Il serait également intéressant d'ajouter un adjuvant à la formulation pour restreindre le nombre d'applications nécessaires pour maintenir l'effet antigerminatif. En effet, il est reconnu que les huiles essentielles, étant donné leur composition chimique,

sont hautement volatiles de sorte que le nombre de traitements est élevé (Owolabi *et al.*, 2010). Ainsi, en ajoutant un adjuvant, tel que l'octénylsuccinate d'amidon d'aluminium, on pourrait non seulement améliorer l'adhérence de l'huile essentielle aux tubercules et en prolonger l'activité antigermineuse, mais possiblement diminuer le prix du produit (Al-Mughrabi *et al.*, 2013).

En deuxième lieu, chaque extrait forestier affiche une couleur distincte, parfois claire, parfois sombre, de sorte que la distinction de la couleur du colorant utilisé dans les tests antimicrobiens peut être ardue. C'est pourquoi un contrôle pour chaque extrait sans ajout de colorant a été intégré dans les expérimentations. Malgré tout, la réaction colorimétrique de l'INT pouvait être plus faible, c'est-à-dire que le colorant était plutôt rose pâle au lieu de révéler une couleur violacée accentuée. Cette situation est survenue particulièrement avec les espèces fongiques possiblement en raison d'une concentration cellulaire plus faible, comparativement aux souches bactériennes. Ainsi, lors de la première sélection des extraits antimicrobiens, certains résultats ont été écartés (voir l'annexe B pour le tableau détaillé), car on ne pouvait pas clairement distinguer l'absence de réaction colorimétrique de l'INT, donc une inhibition complète de la croissance du microorganisme par l'extrait, dû à la couleur naturelle foncée et opaque de certains extraits (surtout les extraits à l'eau). Cette particularité est d'autant plus significative lorsque la concentration en extrait augmente et elle constitue la raison de l'établissement de la concentration finale des extraits à 0,625 % lors de la première sélection antimicrobienne. En outre, les observations visuelles déterminant le niveau d'inhibition durant les tests antimicrobiens colorimétriques peuvent être subjectives et leurs interprétations peuvent différer d'un exécutant à un autre. Il aurait été pertinent de faire des lectures d'absorbance avec un lecteur de microplaque et d'utiliser les contrôles sans colorant à titre de blancs pour établir plus précisément et avec objectivité le niveau d'inhibition. Ou encore, pour pousser l'analyse antimicrobienne plus loin, il serait intéressant d'effectuer le « time-kill test » selon le protocole standardisé du CLSI. Cela permettra de démontrer l'activité antimicrobienne en fonction du temps et par conséquent, de déterminer la réduction *in vitro* de la population microbienne après exposition à l'agent antimicrobien. Également comme perspective, il serait suggéré de

procéder à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits forestiers sur les pommes de terre. En effet, il serait possible d'infecter des échantillons de pommes de terre puis les traiter notamment avec le mélange d'extraits d'épinette noire. Chen *et al.* (2020) et Hajian-Maleki *et al.* (2019) proposent des méthodes pertinentes pour évaluer la pourriture sèche, causée par *Fusarium* spp., et la pourriture molle, causée par *Pectobacterium* spp. et d'autres bactéries. Par ailleurs, il pourrait aussi être intéressant de réaliser l'essai sur tranches de pomme de terre. En suivant la méthode de Lojkowska et Kelman (1994), il serait possible d'évaluer le potentiel antimicrobien des extraits forestiers en fonction du temps. Cependant, toutes ces méthodes suggérées ne remplacent pas l'essai en entrepôt, car l'entreposage est, en réalité, un processus durant lequel les conditions de température et d'humidité relative varient. Ces paramètres couplés à la ventilation jouent un rôle dans la propagation des maladies (Pinhero *et al.*, 2009).

En troisième lieu, il a été démontré qu'une variation de molécules et/ou de concentrations de celles-ci est fréquemment observée dans les extraits forestiers. En réalité, le type de biomasse utilisé pour l'extraction (écorces, bois, feuilles), le site et la période de récolte, le conditionnement et la période d'entreposage sont des facteurs pouvant influencer autant le rendement d'extraction que la nature et la concentration des molécules extraites (Khan *et al.*, 2014; Royer *et al.*, 2012; Tripathi *et al.*, 2009). Or, au cours de ce projet de recherche, certains extraits forestiers qui ont été utilisés en entier et ont donc dû être produits à nouveau à partir d'un lot d'écorces différent. Ainsi, à cause de cette variation moléculaire dans les extraits, l'efficacité des activités antimicrobiennes et antigerminatives a pu varier. Cette variation étant inévitable en cas de production commerciale, il devient donc nécessaire d'étudier cette variabilité pour prédire son effet sur l'efficacité. Pour ce faire, d'un côté, il faudrait déterminer le profil chimique, *p. ex.* la nature des molécules et leur abondance, d'extraits réalisés à partir de lots d'écorces récoltées à divers moments et sur une longue période, *p. ex.* organiser une récolte d'écorce mensuelle sur deux années. D'un autre côté, il faudrait déterminer les efficacités antimicrobienne et antigerminative pour chacune des molécules retrouvées dans l'extrait. Pour pousser plus loin la standardisation de l'extrait, il serait intéressant de développer des marqueurs. En connaissant les efficacités biologiques des molécules,

il serait alors possible d'utiliser des marqueurs pour standardiser les extraits forestiers en prévoyant l'impact d'un changement de composition chimique de l'extrait et ainsi, sa qualité, sa sécurité et son efficacité générale pourront être assurées (Bilia et Bergonzi, 2020). De surcroît, la stabilité des molécules actives, et par conséquent l'efficacité des propriétés biologiques, devra être étudiée. Cette donnée sera d'autant plus pertinente pour le fournisseur du produit qui pourra déterminer la durée de vie du produit.

3.3 Conclusion

En conclusion, ce mémoire présente, au meilleur de notre connaissance, une nouvelle avenue prometteuse pour les extraits forestiers dans l'industrie agroalimentaire. Plus particulièrement, les résultats issus de ces travaux de recherche ont démontré le potentiel des écorces d'essences québécoises pour limiter les pertes post-récolte de l'industrie de la pomme de terre, causées par la propagation de maladies et la germination. L'extrait fractionné à l'acétate d'éthyle mélangé à l'huile essentielle, tous deux issus de l'épinette noire, offre la meilleure possibilité de protection antimicrobienne et antigermineuse. Néanmoins, d'autres études sont nécessaires afin de valider l'efficacité pendant l'entreposage, où les conditions diffèrent de celles testées en laboratoire. Par ailleurs, il sera nécessaire de travailler la formulation pour offrir un produit stable et homogène. De plus, l'innocuité de l'extrait devra être démontrée en vue d'un processus d'homologation. Une collaboration étroite avec les producteurs de pommes de terre sera également nécessaire afin d'adapter la formulation avec leurs outils de travail déjà existants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agriculture and Horticulture Development Board, 2018. Diseases and defects of potatoes.
- Ahuja, I., Kissen, R., Bones, A.M., 2012. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Sci* 17, 73-90.
- Al-Mughrabi, K.I., Coleman, W.K., Vikram, A., Poirier, R., Jayasuriya, K.E., 2013. Effectiveness of Essential Oils and Their Combinations with Aluminum Starch Octenylsuccinate on Potato Storage Pathogens. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 16, 23-31.
- Alamar, M.C., Tosetti, R., Landahl, S., Bermejo, A., Terry, L.A., 2017. Assuring Potato Tuber Quality during Storage: A Future Perspective. *Front Plant Sci* 8, 2034.
- Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Jamoussi, B., 2012. Reviews on phytotoxic effects of essential oils and their individual components: News approach for weeds management. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 4, 96-114.
- Arora, R.K., Paul Khurana, S.M., 2004. Major Fungal and Bacterial Diseases of Potato and their Management, in: Mukerji, K.G. (Ed.), *Fruit and Vegetable Disease*. Kluwer Academic, Netherlands.
- Arraiza, M.P., González-Coloma, A., Andres, M.F., Berrocal-Lobo, M., Domínguez-Núñez, J.A., Jr, A.C.D.C., Navarro-Rocha, J., Calderón-Guerrero, C., 2018. Antifungal Effect of Essential Oils, Potential of Essential Oils.
- Astani, A., Reichling, J., Schnitzler, P., 2010. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother Res* 24, 673-679.
- Atanasov, A.G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E.M., Linder, T., Wawrosch, C., Uhrin, P., Temml, V., Wang, L., Schwaiger, S., Heiss, E.H., Rollinger, J.M., Schuster, D., Breuss, J.M., Bochkov, V., Mihovilovic, M.D., Kopp, B., Bauer, R., Dirsch, V.M., Stuppner, H., 2015. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnol Adv* 33, 1582-1614.
- Baptista, R.C., Horita, C.N., Sant'Ana, A.S., 2020. Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review. *Food Res Int* 127, 108762.

- Baydar, H., Karadogan, T., 2003. The effects of volatile oils on in vitro potato sprout growth. *Potato Research* 46, 1-8.
- Beveridge, J.L., Dalziel, J., Duncan, H.J., 1981. The assessment of some volatile organic compounds as sprout suppressants for ware and seed potatoes. *Potato Research* 24, 61-76.
- Bilia, A.R., Bergonzi, M.C., 2020. The G115 standardized ginseng extract: an example for safety, efficacy, and quality of an herbal medicine. *J Ginseng Res* 44, 179-193.
- Blondeau, D., St-Pierre, A., Bourdeau, N., Bley, J., Lajeunesse, A., Desgagne-Penix, I., 2019. Antimicrobial activity and chemical composition of white birch (*Betula papyrifera* Marshall) bark extracts. *Microbiologyopen* 9, e00944.
- Boivin, M., Bourdeau, N., Barnabé, S., Desgagne-Penix, I., 2020. Sprout suppressive molecules effective on potato (*Solanum tuberosum*) tubers during storage: A review. *American Journal of Potato Research*, 1-13.
- BoreA, n.d. Technical Data Sheet; Black Spruce Essential Oil.
- Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lanteri, P., Clement, Y., Leonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P., Bordes, C., 2019. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models. *Front Microbiol* 10, 829.
- Boutin, T., Ravaud, N.N.U., Gagnon, L., Matteau, E., Poulin-Moore, A., 2019. Importance du secteur forestier dans le développement économique des municipalités et des régions du Québec. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs.
- Browne, T., Paice, M., Paleologou, M., Zhang, X., Champoux, M., Leclerc, N., 2009. Guide de développement - Le bioraffinage forestier: Possibilité pour les entreprises québécoises de pâtes et papiers. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Québec.
- Charkowski, A.O., 2018. The Changing Face of Bacterial Soft-Rot Diseases. *Annu Rev Phytopathol* 56, 269-288.
- Chen, D., Nahar, K., Bizimungu, B., Soucy, S., Peters, R.D., De Koeyer, D., Dickison, V., 2020. A Simple and Efficient Inoculation Method for Fusarium Dry Rot Evaluations in Potatoes. *American Journal of Potato Research*.

- Chudinova, E.M., Kokaeva, L.Y., Elansky, S.N., Kutuzova, I.A., Pertsev, A.S., Pobendinskaya, M.A., 2020. The occurrence of thiabendazole-resistant isolates of *Helminthosporium solani* on potato seed tubers in Russia. *Journal of Plant Diseases and Protection* 127, 421-423.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, approved standard, CLSI document M07-A9, 950 West Valley Road, suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA.
- Côté, H., 2019. Développement de nouveaux produits antibactériens issus de la forêt Québécoise. Université du Québec à Chicoutimi.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 564- 582.
- Czajkowski, R., Perombelon, M., Jafra, S., Lojkowska, E., Potrykus, M., van der Wolf, J., Sledz, W., 2015. Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review. *Ann Appl Biol* 166, 18-38.
- Dai, H., Fu, M., Yang, X., Chen, Q., 2016. Ethylene inhibited sprouting of potato tubers by influencing the carbohydrate metabolism pathway. *J Food Sci Technol* 53, 3166-3174.
- Daniels-Lake, B., Olsen, N., Delgado, H.L., Zink, R., 2013. Efficacy of Potato Sprout Control Products to Minimize Sprout Production. North American Plant Protection Organization.
- Dastmalchi, K., Cai, Q., Zhou, K., Huang, W., Serra, O., Stark, R.E., 2014. Solving the jigsaw puzzle of wound-healing potato cultivars: metabolite profiling and antioxidant activity of polar extracts. *J Agric Food Chem* 62, 7963-7975.
- Delisle, J.-F., 2019. Ressources et industries forestières du Québec, Portrait statistique 2018. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs.
- Devappa, R.K., Rakshit, S.K., Dekker, R.F., 2015. Forest biorefinery: Potential of poplar phytochemicals as value-added co-products. *Biotechnol Adv* 33, 681-716.
- Dewick, P.M., 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd ed. Wiley.

- Déziel, M.-H., Chartrand, C., Beaudoin, A., Robitaille, J., Oulatounde, J., Vargas, R., Lavoie, C., Trudel, J., Gosselin, B., Martel, S., Laroche, L., Laroche, N., Gagnon, M., Beaudoin, M.-P., Bergeron, D., 2019. Portrait-diagnostic sectoriel de l'industrie de la pomme de terre au Québec. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., Mnif, W., 2016. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines* 3, 1-16.
- Diouf, P.N., Stevanovic, T., Boutin, Y., 2009a. The effect of extraction process on polyphenol content, triterpene composition and bioactivity of yellow birch (*Betula alleghaniensis* Britton) extracts. *Industrial Crops and Products* 30, 297-303.
- Diouf, P.N., Stevanovic, T., Cloutier, A., 2009b. Antioxidant properties and polyphenol contents of trembling aspen bark extracts. *Wood Science and Technology* 43, 457-470.
- Diouf, P.N., Stevanovic, T., Cloutier, A., 2009c. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry* 113, 897-902.
- Douglas, L., MacKinnon, G., Cook, G., Duncan, H., Briddon, A., Seamark, S., 2018. Determination of chlorpropham (CIPC) residues, in the concrete flooring of potato stores, using quantitative (HPLC UV/VIS) and qualitative (GCMS) methods. *Chemosphere* 195, 119-124.
- Douglas, L., MacKinnon, G., Cook, G., Duncan, H., Briddon, A., Seamark, S., 2019. The risk of chlorpropham cross-contamination of grain in potato stores. *Food Control* 98, 1-8.
- Dukare, A.S., Paul, S., Nambi, V.E., Gupta, R.K., Singh, R., Sharma, K., Vishwakarma, R.K., 2019. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 59, 1498-1513.
- Elansary, H.O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., Mattar, M.A., Al-Yafrasi, M.A., El-Ansary, D.O., El-Abedin, T.K.Z., Yessoufou, K., 2019. Polyphenol Profile and Pharmaceutical Potential of *Quercus* spp. Bark Extracts. *Plants (Basel)* 8.
- Eloff, J.N., 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med* 64, 711-713.

- FAOstat, 2019. FAOSTAT statistical database. [Rome]: FAO, c2019-.
- Francezon, N., 2018. Valorisation de l'écorce de *Picea mariana* par la production d'extraits naturels : les extraits aqueux et l'huile essentielle. Université Laval, Québec.
- Francezon, N., Meda, N.R., Stevanovic, T., 2017. Optimization of Bioactive Polyphenols Extraction from Picea Mariana Bark. *Molecules* 22.
- Francezon, N., Stevanovic, T., 2017a. Chemical Composition of Essential Oil and Hydrosol from Picea mariana Bark Residue. *BioResources* 12, 2635-2645.
- Francezon, N., Stevanovic, T., 2017b. Integrated process for the production of natural extracts from black spruce bark. *Industrial Crops and Products* 108, 348-354.
- Fridén, M.E., Jumaah, F., Gustavsson, C., Enmark, M., Fornstedt, T., Turner, C., Sjöberg, P.J.R., Samuelsson, J., 2016. Evaluation and analysis of environmentally sustainable methodologies for extraction of betulin from birch bark with a focus on industrial feasibility. *Green Chemistry* 18, 516-523.
- Garcia-Perez, M.E., Royer, M., Herbette, G., Desjardins, Y., Pouliot, R., Stevanovic, T., 2012. Picea mariana bark: a new source of trans-resveratrol and other bioactive polyphenols. *Food Chem* 135, 1173-1182.
- Geoffroy, T.R., Fortin, Y., Stevanovic, T., 2018. Process optimisation for pilot-scale production of maple bark extracts, natural sources of antioxidants, phenolics, and carbohydrates. *Chemical Papers* 72, 1125-1137.
- Gómez-Castillo, D., Cruz, E., Iguaz, A., Arroqui, C., Vírveda, P., 2013. Effects of essential oils on sprout suppression and quality of potato cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 82, 15-21.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., Króliczewski, J., 2018. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews* 18, 241-272.
- Guardabassi, L., Courvalin, P., 2006. Modes of Antimicrobial Action and Mechanisms of Bacterial Resistance, in: Aarestrup, F.M. (Ed.), *Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin*. ASM Press, Washington, D.C., p. 18.
- Hagman, J., 2012. Pre-sprouting as a Tool for Early Harvest in Organic Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivation. *Potato Research* 55, 185-195.

- Hajian-Maleki, H., Baghaee-Ravari, S., Moghaddam, M., 2019. Efficiency of essential oils against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing potato soft rot and their possible application as coatings in storage. *Postharvest Biology and Technology* 156.
- Hossain, A., Miah, A.M., 2009. Post Harvest Losses and Technical Efficiency of Potato Storage Systems in Bangladesh. Bangladesh Agricultural Research Institute.
- International Year of the Potato, 2008. FAO.
- Isah, T., 2016. Anticancer Alkaloids from Trees: Development into Drugs. *Pharmacogn Rev* 10, 90-99.
- Ismiyatuningsih, T.J., Hartono, S., 2016. Survey and Detection of *Pectobacterium atrosepticum* in Major Potato-Growing Areas in Central Java Province, Indonesia. *Ilmu Pertanian (Agricultural Science)* 1.
- Kasangana, P.B., Eid, H.M., Nachar, A., Stevanovic, T., Haddad, P.S., 2019. Further isolation and identification of anti-diabetic principles from root bark of *Myrianthus arboreus* P. Beauv.: The ethyl acetate fraction contains bioactive phenolic compounds that improve liver cell glucose homeostasis. *J Ethnopharmacol* 245, 112167.
- Khan, S., Krigstin, S., Volpé, S., Wetzel, S., 2014. Essential oil composition of forest biomass stored under industrial conditions in Eastern Canada. *Industrial Crops and Products* 56, 35-42.
- Krasutsky, P.A., 2006. Birch bark research and development. *Nat Prod Rep* 23, 919-942.
- Langeveld, W.T., Veldhuizen, E.J., Burt, S.A., 2014. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol* 40, 76-94.
- Legault, J., Girard-Lalancette, K., Dufour, D., Pichette, A., 2013. Antioxidant Potential of Bark Extracts from Boreal Forest Conifers. *Antioxidants (Basel)* 2, 77-89.
- Lojkowska, E., Kelman, A., 1994. Comparison of the effectiveness of different methods of screening for bacterial soft rot resistance of potato tubers. *American Journal of Potato* 71, 99-113.
- Luiz Finger, F., Mayana de Sousa Santos, M., Ferreira Araujo, F., Carvalho Lima, P.C., Cavalcante da Costa, L., de Fatima Martins França, C., da Costa Queiroz, M., 2018. Action of Essential Oils on Sprouting of Non-Dormant Potato Tubers. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 61.

- Mahizan, N.A., Yang, S.K., Moo, C.L., Song, A.A., Chong, C.M., Chong, C.W., Abushelaibi, A., Lim, S.E., Lai, K.S., 2019. Terpene Derivatives as a Potential Agent against Antimicrobial Resistance (AMR) Pathogens. *Molecules* 24.
- Maimoona, A., Naeem, I., Saddiqe, Z., Jameel, K., 2011. A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *J Ethnopharmacol* 133, 261-277.
- Mani, F., Bettaieb, T., Doudech, N., Hannachi, C., 2014. Physiological mechanisms for potato dormancy release and sprouting: a review. *African Crop Science Journal* 22, 155-174.
- Mani, F., Hannachi, C., 2015. Physiology of Potato Sprouting. *Journal of New Sciences* 17, 591-602.
- Meigh, D.F., 1969. Suppression of sprouting in stored potatoes by volatile organic compounds. *J. Sci. Food Agric.* 20, 159-164.
- Metsämuuronen, S., Sirén, H., 2019. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: a review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochemistry Reviews* 18, 623-664.
- Ministère des Forêts de la Faune et des Parcs, 2020. Compilation des données issues des registres forestiers 2019. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs, Québec.
- Mishra, T., Arya, R.K., Meena, S., Joshi, P., Pal, M., Meena, B., Upreti, D.K., Rana, T.S., Datta, D., 2016. Isolation, Characterization and Anticancer Potential of Cytotoxic Triterpenes from *Betula utilis* Bark. *PLoS One* 11, e0159430.
- Morissette, S., Martel, S., 2014. Problématique et solutions potentielles afin de réduire la contamination de l'eau par les pesticides dans les secteurs de production de pommes de terre. Agrinova.
- Mulyaningsih, S., 2010. Plant-derived antimicrobial agents and their synergistic interaction against drug-sensitive and -resistant pathogens. University of Heidelberg, Germany.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Feo, V., 2017. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals (Basel)* 10.
- Omar, S., Lemonnier, B., Jones, N., Ficker, C., Smith, M.L., Neema, C., Towers, G.H.N., Goel, K., Arnason, J.T., 2000. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 73, 161-170.

- Owolabi, M.S., Lajide, L., Oladimeji, M.O., Setzer, W.N., 2010. The Effect of Essential Oil Formulations for Potato Sprout Suppression. *Natural Product Communications* 5, 645-648.
- Paul, V., Ezekiel, R., Pandey, R., 2015. Sprout suppression on potato: need to look beyond CIPC for more effective and safer alternatives. *Journal of Food Science and Technology* 53, 1-18.
- Paul, V., Ezekiel, R., Pandey, R., 2018. Use of CIPC as a potato sprout suppressant: health and environmental concerns and future options. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 10, 17-24.
- Peck, S.M., 2015. Integrating Cultivar, Temperature and Quality into Early Storage Management Decisions for Wound Healing in Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). University of Idaho.
- Pinhero, R.G., Coffin, R., Yada, R.Y., 2009. Post-harvest Storage of Potatoes. Elsevier Inc., pp. 339-370.
- Popov, S.A., Kozlova, L.P., Kornaukhova, L.M., Shpatov, A.V., 2016. Simple and efficient process for large scale preparation of betulonic acid from birch bark extracts. *Industrial Crops and Products* 92, 197-200.
- Rajeev, L., 2018. Antibiotic Discovery. *Materials and Methods* 8.
- Raoul Des Essarts, Y., 2015. Pathogénie de *Dickeya dianthicola* et *Dickeya solani* chez *Solanum tuberosum*, développement et évaluation de stratégies de lutte biologique, Chimie Thérapeutique. Université Paris-Sud.
- Ross, J., Gagnon, H., Girard, D., Hachey, J.-M., 1996. Chemical Composition of the Bark Oil of Balsam Fir *Abies balsamea*(L.) Mill. *Journal of Essential Oil Research* 8, 343-346.
- Royer, M., 2016. Les extractibles forestiers, Biosourcé. CRIBIQ, pp. 1-18.
- Royer, M., Houde, R., Stevanovic, T., 2010. VOLET 1-Les extractibles forestiers québécois. Centre de recherche sur le bois, Québec.
- Royer, M., Houde, R., Viano, Y., Stevanovic, T., 2012. Non-wood Forest Products Based on Extractives - A New Opportunity for the Canadian Forest Industry Part 1: Hardwood Forest Species. *Journal of Food Research* 1, 8-45.

- Royer, M., Prado, M., García-Pérez, M.E., Diouf, P.N., Stevanovic, T., 2013. Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian forest species. *PharmaNutrition* 1, 158-167.
- Salem, M.Z.M., Elansary, H.O., Elkelish, A.A., Zeidler, A., Ali, H.M., EL-Hefny, M., Yessoufou, K., 2016. *In vitro* Bioactivity and Antimicrobial Acitivity of *Picea abies* and *Larix decidua* Wood and Bark Extracts. *bioResources* 11, 9421-9437.
- Salem, M.Z.M., Mansour, M.M.A., Elansary, H.O., 2019. Evaluation of the effect of inner and outer bark extracts of sugar maple (*Acer saccharum* var. *saccharum*) in combination with citric acid against the growth of three common molds. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 39, 136-147.
- Saskatchewan Ministry of Agriculture, 2020. Guide to Crop Protection, in: Agriculture, S.M.o. (Ed.). Government of Saskatchewan.
- Savoia, D., 2012. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future Microbiology* 7, 979-990.
- Shukla, S., Pandey, S.S., Chandra, M., Pandey, A., Bharti, N., Barnawal, D., Chanotiya, C.S., Tandon, S., Darokar, M.P., Kalra, A., 2019. Application of essential oils as a natural and alternate method for inhibiting and inducing the sprouting of potato tubers. *Food Chem* 284, 171-179.
- Singh, J., Yadav, A.N., 2020. *Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture*. Springer.
- Song, X., Bandara, M., Tanino, K.K., 2008. Potato Dormancy Regulation: Use of Essential Oils for Sprout Suppression in Potato. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* 2, 110-117.
- Sopirala, M.M., Mangino, J.E., Gebreyes, W.A., Biller, B., Bannerman, T., Balada-Llasat, J.M., Pancholi, P., 2010. Synergy testing by Etest, microdilution checkerboard, and time-kill methods for pan-drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 54, 4678-4683.
- Spinelli, S., Costa, C., Conte, A., La Porta, N., Padalino, L., Nobile, M.A.D., 2019. Bioactive Compounds from Norway Spruce Bark: Comparison Among Sustainable Extraction Techniques for Potential Food Applications. *Foods* 8.
- St-Pierre, A., 2018. Caractérisation des extractibles provenant des résidus de sciage du peuplier faux-tremble (*Populus tremuloides*) et évaluation de leur activité antimicrobienne. Université du Québec à Trois-Rivières.

- St-Pierre, A., Blondeau, D., Bourdeau, N., Bley, J., Desgagné-Penix, I., 2019. Chemical Composition of Black Spruce (*Picea mariana*) Bark Extracts and Their Potential as Natural Disinfectant. *Industrial Biotechnology* 15, 219-231.
- St-Pierre, A., Blondeau, D., Lajeunesse, A., Bley, J., Bourdeau, N., Desgagne-Penix, I., 2018. Phytochemical Screening of Quaking Aspen (*Populus tremuloides*) Extracts by UPLC-QTOF-MS and Evaluation of their Antimicrobial Activity. *Molecules* 23.
- St-Pierre, A., Lajeunesse, A., Desgagne-Penix, I., 2017. Determination of Piperidine Alkaloids from Indian Tobacco (*Lobelia inflata*) Plants and Plant-Derived Products. *Austin Biochemistry* 2, 1-8.
- St-Pierre, F., Achim, A., Stevanovic, T., 2013. Composition of ethanolic extracts of wood and bark from *Acer saccharum* and *Betula alleghaniensis* trees of different vigor classes. *Industrial Crops and Products* 41, 179-187.
- Stefańczyk, E., Sobkowiak, S., Brylińska, M., Śliwka, J., 2016. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland. *European Journal of Plant Pathology* 145, 871-884.
- Swamy, M.K., Akhtar, M.S., Sinniah, U.R., 2016. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016, 3012462.
- Tako, M., Kerekes, E.B., Zambrano, C., Kotogan, A., Papp, T., Krisch, J., Vagvolgyi, C., 2020. Plant Phenolics and Phenolic-Enriched Extracts as Antimicrobial Agents against Food-Contaminating Microorganisms. *Antioxidants (Basel)* 9.
- Teper-Bamnlker, P., Dudai, N., Fischer, R., Belausov, E., Zemach, H., Shoseyov, O., Eshel, D., 2010. Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta* 232, 179-186.
- Tremblay, J.-F., 2016. Important projet de recherche sur la pomme de terre, TVA Nouvelles, Alma.
- Tripathi, A.K., Upadhyay, S., Bhuiyan, M., Bhattacharya, P.R., 2009. A review of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* 1.
- Tripathi, P., Dubey, N.K., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 32, 235-245.

- Vaughn, S.F., Spencer, G.F., 1991. Volatile Monoterpenes Inhibit Potato Tuber Sprouting. *American Potato Journal* 68, 821-831.
- Vokou, D., Vareltzidou, S., Katinakis, P., 1993. Effects of aromatic plants on potato storage; sprout suppression and antimicrobial activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 47, 223-235.
- Wang, Y., Naber, M.R., Crosby, T.W., 2020. Effects of Wound-Healing Management on Potato Post-Harvest Storability. *Agronomy* 10.
- Wink, M., Schimmer, O., 1999. Modes of Action of Defensive Secondary Metabolites, in: Wink, M. (Ed.), *Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology*. Sheffield Academic Press, pp. 18-137.
- Zayat Aroma Inc., 2020. Material Safety Data Sheet: Yellow Birch, in: Aroma, Z. (Ed.).

ANNEXE A

SPROUT SUPPRESSIVE MOLECULES EFFECTIVE ON POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM*) TUBERS DURING STORAGE: A REVIEW

Le contenu de cette annexe est écrit sous la forme d'un article scientifique ayant fait l'objet d'une publication, en anglais, dans la revue *American Journal of Potato Research*. La référence de cet article est la suivante :

« Boivin, M., Bourdeau, N., Barnabé, S., & Desgagné-Penix, I. (2020). Sprout suppressive molecules effective on potato (*Solanum tuberosum*) tubers during storage: A review. *American Journal of Potato Research*, 1-13. doi:10.1007/s12230-020-09794-0. »

Michelle Boivin¹, Nathalie Bourdeau^{2,3}, Simon Barnabé^{1,3} and Isabel Desgagné-Penix^{1,3,*}

¹Département de chimie, biochimie et physique, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada.

²Innofibre, Trois-Rivières, Québec, Canada.

³Groupe de recherche en Biologie Végétale, Université du Québec à Trois-Rivières, Trois-Rivières, Québec, Canada.

*Corresponding author: Isabel.Desgagne-Penix@uqtr.ca

Abstract

Potatoes are at the heart of the world's diet, being cultivated in more than 100 countries. Being the fourth largest crop after maize, wheat and rice, the potato production is of utmost interest for food industry, supporting a wide range of research projects. This is particularly the case of storage, an essential step for the potato industry, which is regularly studied. Indeed, sprouting of potatoes during storage is very problematic, resulting in a net loss for industries and increased food waste. Therefore, there has been a lot of research on sprout suppressive molecules since the beginning of the 20th century. However, to date, there is no publication gathering all the studied molecules. This review presents an overview of the current knowledge on sprout suppressive molecules, natural and synthetic, along with a comparison of their effectiveness.

Keywords: sprout suppressant, potato, storage, *Solanum tuberosum*, chlorpropham, CIPC

Introduction

Although the history of potato began 8 000 years ago in the Andean region of South America, it was only in the 17th century that this vegetable was adopted throughout Europe, and from there, imported to Asia before North America¹. Without being exhaustive, the average world's production of potato represented 368.17 millions tons in 2018, with an average consumption of about 33.47 kg per capita in 2017². In North America, this number almost doubled to reach 53.79 kg per capita per year which places this vegetable as one of the most present in the North American diet^{1,2}. Since markets must be supplied year-round, potatoes are stored from periods of up to several months. Long-term storage of potatoes can be problematic due to two main phenomena: spread of diseases and sprouting. In order to prevent these phenomena, a wide range of chemical products can be applied to avoid significant economic losses. Although, some of these products, such as chlorpropham (also known as CIPC), have demonstrated toxic properties for both, environment and consumer health, there are still widely used^{3,4}.

In response, several governments are increasingly regulating and even considering banning the use of chlorpropham such as the European Union in June 2019⁵. Therefore, it becomes urgent to develop and market new sprout suppressive products, which are more environmental-friendly.

In order to develop alternative products, several research projects have investigated sprout suppressive properties of various molecules. To our knowledge, there is currently no review reporting on the all the molecules (synthetic and natural) studied and their effectiveness as sprout suppressant. Therefore, the aim of this literature review is to gain an understanding of the existing research on sprout suppressive agents, and to present that knowledge into two categories: commercially available sprout suppressive products and molecules, which have shown promising results.

Storage

In order to manage different depository conditions, a reliable potato storage facility must be able to control temperature as well as humidity, and be equipped with a good ventilation system. Since potatoes may have been damaged during harvest, a pre-storage of potatoes under high relative humidity (95%) at 10-15 °C for about two weeks is usually done⁶. The pre-storage conditions allow the potatoes to dry and heal the peel⁶. After pre-storage, potatoes are generally stored in crates at lower temperatures for a period ranging from a few weeks to several months.

As previously mentioned, one of the main challenges during storage is early sprouting. After potato harvest, tubers are naturally dormant thus, no sprouting occurs. Unfortunately, this period of innate dormancy does not last as long as the storage period required by the marketplace. Therefore, premature sprouting needs to be control, otherwise potatoes will lose weight and nutritional value. Moreover, the processing qualities of the tubers may be affected leading to major economic losses⁷. Thus, inhibit sprouting by managing environmental conditions (*e.g.* cold temperature of storage, humidity regulation and regulated gas composition conditions) and by the application of

chemical sprout suppressants (Figure 1), help prevent these losses^{6,8}. Regulating sprouting with chemical products comes with many challenges including the restriction of chlorpropham residues and the control of sweetening processes, ensuring tuber marketability⁸. Also, it is important to consider the storage conditions, which are different according to markets targeted. For example, cold storage is not an option for the processing sector because low temperatures increase the concentration of reducing sugars, which cause undesirable colours during frying⁹. Nevertheless, higher temperature storage of tubers is not a better option, because it increases tuber's respiration and considerable weight loss occurs⁹. Taking that into account, potatoes to be sold for processing will be stored between 8 and 13 °C whereas the storage of fresh market potatoes is below 7 °C⁸. Processing potatoes thus need application of sprout suppressant to prevent tubers sprouting promoted by a higher storage temperature.

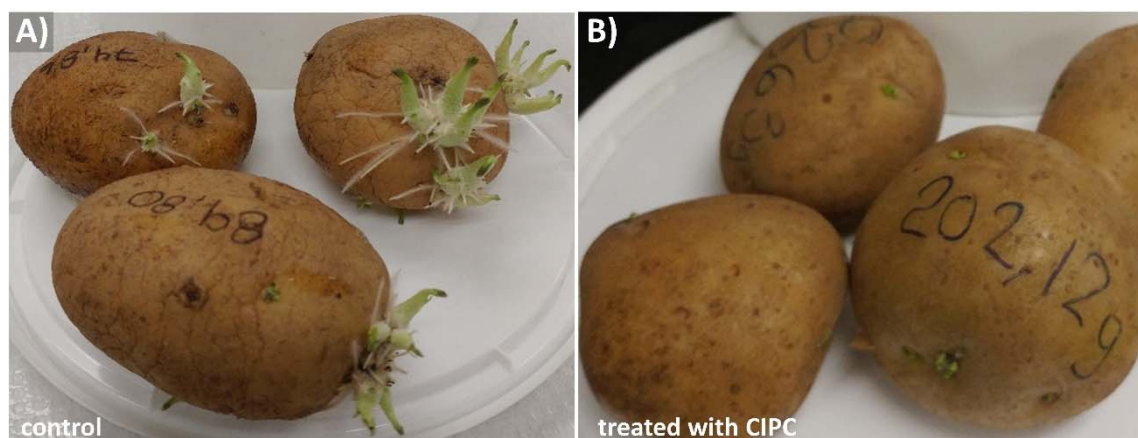


Figure 1: Sprouting differences between stored potatoes treated or not with sprout suppressant chlorpropham (CIPC): A) untreated; B) treated with CIPC.

Sprout suppressants commercially available and currently used

Used since the mid-20th century, chlorpropham (CIPC), a well-known cost effective potato sprout suppressant, is used as a postharvest product during storage. However, more and more studies shown that this product is dangerous for environment and consumer health because of the metabolites produced during tis degradation and the

long-lasting residues. Indeed, breakdown products of CIPC are more harmful than CIPC itself³. For example, 3-chloroaniline (3-CA) is produced by thermal degradation of CIPC, a phenomenon which takes place during fogging and microbial or digestive activity⁴. Although no studies show direct evidences of the carcinogenic effect of 3-chloroaniline (3-CA), 3-CA is highly toxic specifically on the haematopoietic and renal systems^{10, 11}. Furthermore, 3-CA has been suggested to be toxic because of its structural similarity to 4-CA known to be carcinogenic and genotoxic^{4, 12}. Moreover, prolong and continuous use of CIPC lead to a gradual accumulation and its residues can be found everywhere. Actually, breakdown products of CIPC are not only found in fresh potatoes, they are also found in the processed potato products such as French fries and potatoes chips⁴. CIPC residues have also been found in the oil used for frying and the water used for washing supporting the long-last presence of such residues^{3, 4}. Furthermore, even in presence of low concentration of CIPC, cases of cross-contamination occurred and resulted in yield losses because of the presence of CIPC-residues exceeding the maximum level permitted^{13, 14}.

Faced with this issue, many studies reported on alternatives less toxic and currently commercially available (Table 1). Astonishingly, CIPC is still used in over 90% of all current post-harvest sprout suppressant applications¹⁵. However, it will be reduced since the ban on CIPC has begun in some countries notably the European Union⁵.

Table 1: List of sprout suppressant agents currently on the market.

Commercial Name	Active molecule	Origin	Reference
1,4-Sight/ Dormir	1,4-dimethylnaphtalene (1,4-DMN)	Naturally found in potatoes, but synthesized for commercialization	16-19
Amplify	2,6-diisopropylnaphtalene (2,6-DIPN)	Synthetic	19, 20
Biox-C/ Sprout Torch	Eugenol	Clove oil	19
Biox-M	R-carvone	Spearmint oil	19, 21
Fazor Star	Maleic hydrazide (MH)	Synthetic	19, 22
Restrain	Ethylene	Natural compound	19, 21
SmartBlock	3-decen-2-one	Natural origin, but synthesized for commercialization	19, 23
Sprout Nip	Isopropyl-m-chloro-carbonilate (chlorpropham/CIPC)	Synthetic	18, 19, 24
Talent	S-carvone	Caraway oil	18, 19
	Hydrogen peroxide plus (HPP)	Synthetic	19, 25
	Limonene	Orange oil	26

In Canada, despite CIPC, active ingredients registered as sprout suppressant are 1,4-DMN, 2,6-DIPN, eugenol, maleic hydrazide and 3-decen-2-one²⁷. In United States, we can add to the previous list R-carvone, hydrogen peroxide plus²⁸. In Europe, Talent is use as a sprout suppressant in the Netherlands since 1995¹⁸ and orange oil is currently undergoing registration. Worldwide, organic potato production can rely clove oil, spearmint oil and caraway oil but they are also hydrogen peroxide plus and ethylene gas (Restrain)^{28, 29}.

Sprout suppressants can basically be classified according to their modes of action either preventive or curative. Preventive treatments act as a retardant to the sprouting process by prolonging dormancy through different physiological processes. For example, we can cite plant growth regulator analogs such as 2,6-DIPN or cell division inhibitor such as CIPC (Table 1). In opposition, curative treatments act by damaging sprouts, which is the case for most essential oils but also of 3-decen-2-one, HPP and CIPC. Since several of these products require several applications to maintain their effectiveness, many are currently used in combination with CIPC to ensure enhanced efficiency rate. This combination method allows to reduce both the cost of alternative product application since CIPC is cheaper and the maximum residues level of CIPC.

Beside CIPC breakdown products, residues from others sprout suppressants can also be an issue like hydrazine, a derivative of MH produce by plants, is reputed to be mutagen and carcinogen³⁰. Breakdown products of eugenol (by bacteria: ferulic acid, vanillin, vanillic acid³¹), S-carvone (dihydrocarvone, dihydrocarveol³²⁻³⁴) and HPP (oxygen, water) are considered to be safe while in other cases like 1,4-DMN (4-methyl-1-naphtanoic acid, 1-hydroxymethyl-4-naphtalene³⁵), 2,6-DIPN (2-[6(1-hydroxy-1-methyl)ethyl]naphthalen-2-yl]-2-hydroxypionic acid^{20, 36}) and 3-decen-2-one (2-decanone, 2-decanol³⁷), information about their toxicity is still missing.

Screening of sprout suppressant molecules according to their effectiveness

The search for molecules with sprout suppressive properties has been going on for several decades. Many studies have determined the efficiency of such molecules and they have been listed in Table 2 and Table 3. Sprout suppressant molecules can be divided by their composition either single molecule or extracts. Single molecules are chemically synthesized in the lab or purified from a biological source (Table 2) whereas natural plant extracts (Table 3) which are composed of multiple molecules, biosynthesized by living organisms, all present in a mixture. Although the molecules tested in Table 2 are often of synthetic origin, it is important to note that most are also synthesized, in small amount, in plants. For example, various naphthalene molecules that have shown promising results

(Table 2) have also been isolated from potatoes¹⁸. Yet, it was mostly chemically synthesized naphthalene molecules that were tested. It must be noted that the ranking of efficiency of the tables has been determined according to authors' results and conclusions. It is also an approximation since the methodologies between each study differed.

Table 2: Sprout suppressive efficiency of synthetic molecules. The efficacy as sprout suppressive molecules was rank as: “+++” effective, “+” partially effective, “-” ineffective and “?” for inconclusive results.

Name	Efficiency [†]	Reference
1,2-dimethylnaphthalene	+++	38
1,3-dimethylnaphthalene	+++	38
1,4,5-trimethylnaphthalene	-	39
1,4,6-trimethylnaphthalene	+++	39
1,4-dimethylnaphthalene (1,4-DMN)	+++	38-44
1,5-dimethylnaphthalene	+++	38
1,6,7-trimethylnaphthalene	+++	38, 39
1,6-dimethylnaphthalene	+++	38, 40
1-chloronaphthalene	+++	45
1-ethynylcyclohexyl acetate	+++	46
1-heptyne	-	46
1-hexadecanol	-	47
1-methylnaphthalene	-	38
1-phenylethanol	+++	46
1-tridecanol	+++	47
2,2,5-trimethylhexane	-	46
2,2-dimethyl-2-phenylethanol	+++	46
2,3,5,6-tetrachloronitrobenzene	+++	48
2,3,5-trimethylhexanone-3	-	46
2,3,5-trimethylnaphthalene	+++	38

Name	Efficiency[†]	Reference
2,3,6-trimethylnaphthalene	-	38, 39
2,3-dimethylnaphthalene	+++	40
2,3-dimethylnaphthalene	+	38
2,4,5-trimethylacetophenone	+++	46
2,4,6-trimethylacetophenone	+++	46
2,4-dimethylacetophenone	+++	46
2,4-dimethylcyclohex-2-enone-1	+++	46
2,5-dimethylacetophenone	+++	46
2,5-dimethylbenzyl alcohol	-	46
2,5-dimethylcyclopentanone	-	46
2,6-dimethylnaphthalene	-	38
2-cyclohexylethanol	+++	46
2-methoxy-3-ethylpyrazine	+	40
2-methyl-2-heptenone-2	-	46
2-methyl-5-isopropenylcyclohexanol-1	+++	46
2-methylbenzothiazole	-	38
2-methylcyclohexanol	+++	46
2-methylcyclohexanone	-	46
2-methylfuran	-	46
2-methylnaphthalene	+++	38
2-methylpentan-2,4-diol	-	46
2-phenylethanol	+++	46
2-phenylethyl acetate	+	46
3,3,5-trimethylcyclohexanone	-	46
3,3'-dimethylbiphenyl	+	38
3,4,6-trimethylcyclohex-2-enone-1	+++	46
3,4-dimethylacetophenone	+++	46
3,4-dimethylcyclohex-2-enone-1	+++	46
3,4-dimethylcyclohexanol	+++	46

Name	Efficiency [†]	Reference
3,4-dimethylcyclohexanone	+++	46
3,5,5-trimethylhexan-1-nitrile	+++	46
3,5,5-trimethylhexan-1-thiol	+++	46
3,5,5-trimethylhexane-1-acetate	+	46
3,5-dimethylbenzyl alcohol	-	46
3,5-dimethylcyclohex-2-enone-1	+++	46
3,5-dimethylcyclohexanone	+++	46
3,5-dimethylhex-1-ynol-3	+++	46
3,6-dimethylcyclohex-2-enone-1	+++	46
3-methylbenzyl alcohol	-	46
3-phenylpropanol	-	46
4,4'-dimethylbiphenyl	-	38
4-isopropylcyclohex-2-enone-1	+++	46
4-methyl-4-penten-2-ol	-	46
4-methylacetophenone	+++	46
Di-allate (<i>S</i> -2,3-dichloroallyl ester of di-isopropylthiocarbamic acid)	+++	46
<i>N</i> -amyl alcohol	+++	49
Tri-allate (<i>S</i> -2,3,3-trichloroallyl ester of di-isopropylthiocarbamic acid)	+++	46
α -angelica lactone (3-hydroxy-3-methylprop-2-en-1-carboxylic acid lactone)	-	46
β -angelica lactone (3-hydroxy-3-methylprop-1-en-1-carboxylic acid lactone)	-	46
Acetaldehyde	-	50
Acetonyl acetone (hexan-2,5-dione)	-	46
Acetophenone	-	46
Acetyl acetone (pentan-2,4-dione)	-	46
Acetyl valerol (heptan-2,3-dione)	-	46
Allyl alcohol (2-propenol)	+++	46

Name	Efficiency[†]	Reference
Anethol	+	51, 52
Anisaldehyde (4-methoxybenzaldehyde)	-	46, 52
Anisic acid	+++	53
Anisole (methoxybenzene)	-	46
γ -butyrolactone	-	46
Benzaldehyde	?	46, 54
Benzoic acid	-	54
Benzothiazole	+++	38, 40
Benzyl alcohol	+++	46
Benzyl methyl ketone	+++	46
Biphenyl	?	38, 40
Borneol	?	40, 51
Camphene	-	40
Camphor	+	40, 51, 52, 55, 56
Camptothecin	+++	57
Carvacrol (1-hydroxy-2-methyl-5-isopropylbenzene)	?	46, 51
Carveol (2-methyl-5-isopropenyl-cyclohex-2-en-1-ol)	-	46
Carvone (2-methyl-5-isopropenyl-cyclohex-2-en-1-one)	+++	40, 41, 46, 51, 56, 58-63
Carvone + β -cyclodextrine	+++	64
Cineole (1,4-cineole)	+++	55
Cineole (1,8-cineole)	+++	18, 55, 65, 66
Cineole (1-methyl-4-isopropyl-cyclohexan-1,8-diol anhydride)	-	46
Cinnamaldehyde (3-phenylprop-2-enal-1)	?	46, 54
Cinnamyl alcohol	-	54
Citral (3,7-dimethyl-2,6-octadienal)	+++	46, 49, 52, 56
Citronellal	+++	52
Citronellol	+++	40, 46, 51, 52, 55, 56
Coumaric acid	+++	53

Name	Efficiency[†]	Reference
Coumarin	-	40
Crotyl alcohol (2-butenol)	+++	46
Cryptone (4-isopropylbenzyl alcohol)	-	46
Cuminaldehyde	+++	54
Cyclohexanol	+++	46
Cyclohexanone	-	46
Cyclohexenylacetone	-	46
Cyclohexylacetone	-	46
Cyclohexylcarbinol	+++	46
Cyclopentanol	-	46
Cyclopentanone	-	46
Decan-1-ol	+++	47
Diacetone alcohol (2-methyl-2-pentanol-4-one)	-	46
Dichlorbenil	+++	25
Diethylene glycol monobutylether	-	46
Diethylene glycol monoethylether	-	46
di-isobutyl ketone (2,6-dimethylheptanone-4)	-	46
Diisopropyl-naphthalene (DIPN)	+++	43, 44
Dimethyl sulphoxide	-	46
Dioxan	-	46
Diphenylamine	+++	67, 68
Ethylene glycol monobutylether	-	46
Ethanol	?	50, 69
Ethephon (2-chloroethylphosphonic acid)	-	70
Ethoxyquin	-	67
Ethyl cinnamate	-	54
Ethyl ester of 2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T)	+++	50, 54, 71-77
Ethyl ester of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)	+++	50, 54, 71-77
Ethylene	+++	78, 79

Name	Efficiency[†]	Reference
Ethylene glycol monoethylether	-	46
Ethylene glycol monohexylether	+++	46
Ethylene glycol monophenylether	-	46
Eugenol	-	54, 80
Fenchone	+++	46, 55
Furfuryl alcohol	-	46
Gallic acid	+	53
Geraniol	?	46, 49, 51, 52, 55, 56
Geranyl acetate	+++	52, 56
Glyphosate	+++	71, 74, 76, 77
Hexetone (3-methyl-5-isopropyl-cyclohex-2-enone-1)	+++	46
Hydrocinnamaldehyde	+++	54
Hydrogen peroxide plus (HPP)	+++	25
α -ionone	+	46
Imazamethabenz-methyl	+++	81
Imazamethapyr	+++	81
Imazamox	+++	82
Imazapyr	+++	81
Imazaquin	-	81
Imazethapyr	+++	50, 71-77, 81
Isoamyl acetate	-	46
Isoeugenol	-	54
Isophorone (3,4,6-trimethylcyclohex-2-enone-1)	+++	46
Isoprenoid borneol	+++	40, 46
Isopropyl benzoate	+++	46
Jasmonates	+++	83, 84
R-(+)-limonene (1-methyl-4-isopropenyl-cyclohexene-1)	?	40, 46, 51, 55, 61
Limonene oxide	+++	55

Name	Efficiency[†]	Reference
Linalool	?	46, 51, 52, 55, 56, 85
Linalylacetate	-	51
<i>N</i> -methylpyrrolidone-2	-	46
Maleic hydrazide	+++	45, 54, 86
Menthol	?	51, 52, 55, 80, 85
Menthone (3-methyl-6-isopropylcyclohexanone-1)	?	46, 51, 85, 87
Menthone + neomenthol	+++	85
Mesityl oxide (4-methylpent-3-enone-2)	-	46
Methanol	-	50
Methional (3-methylmercaptopropanal)	-	46
Methyl 1-naphthaleneacetate (MENA)	+++	45, 48
Methyl acetate	+++	52
Methyl benzoate	+++	46
Methyl cinnamate	+++	54
Methyl furoate	-	46
Methyl salicylate	+++	40, 46
Methyl valeric acid (4-methyl-pentanoic acid)	-	46
Naphthalene	?	38, 40
Neomenthol	+++	85
Nerol	+++	51
Nonanol (3,5,5-trimethylhexan-1-ol, nonyl alcohol)	+++	46, 49, 72, 88
Ozone	-	65
α -phelladrene	+	51, 55
α -pinene	+	40, 51, 55
Paclobutrazol (1-(4chlorophenyl) 4, 4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-yl)-pentan-3-ol)	+++	70
Pelargonic acid (nonanoic acid)	+++	82
Perilla alcohol (4-isopropenylcyclohex-1-en-1-carbinol)	-	46

Name	Efficiency[†]	Reference
Perilla aldehyde (4-isopropenyl-cyclohex-1-enaldehyde-1)	+++	46
Phenol	+++	54
Piperitone (3-methyl-6-isopropyl-cyclohex-2-en-1-one)	+++	40, 46
Propargyl alcohol (2-propynol)	+++	46
Pulegone (3-methyl-6-isopropylidene-cyclohexanone-1)	+++	40, 41, 46, 55, 58, 87
Safrole (3,4-methylenedioxyallyl benzene)	+++	46
Salicylaldehyde (2-hydroxybenzaldehyde)	+++	46, 54
Silicone oil MS 200/20	-	46
T α -terpineol (1-methyl-4-isopropyl-cyclohex-1-en-8-ol)	?	40, 45, 46, 55, 85
Terpinen-4-ol	+++	55
Tetrachloroethane	-	46
Tetrahydrofurfuryl alcohol	-	46
Thujon	-	51
Thymol	?	52, 54
Triadimefon	+++	89
Triethyl phosphate	+	46
Unsaturated ketone (3-decen-2-one)	+++	3, 51, 66, 90
γ -valerolactone	-	46
Vanillin	-	40, 54

[†] it should be considered that the effectiveness reported in the table is approximate since the methodologies between each studies differed.

The first report of use of plant extracts for their sprout suppressive properties can be traced back to the time of the Incas at the very beginning of potato cultivation. Indeed, the precursor to essential oils currently used were Muña plants, which are rich in essential oil and contain more than 98% monoterpenes⁹¹. Table 3 presents a list of plant extracts, mostly essential oils that have been tested for their sprout suppressant activities.

Table 3: Sprout suppressant efficiency of essential oils tested. The efficacy as sprout suppressive molecules was rank as: “+++” effective, “+” partially effective, “-” ineffective and “?” for inconclusive results.

Essential oil origin	Molecule(s)	Efficiency [†]	Reference
<i>Anethum graveolens</i> (dill)	Carvone	+++	58, 92
<i>Artemisa annua</i> (sweet wormwood)	Ketone, camphor	-	52, 56
<i>Artemisia pallens</i> (davana)	N. D.	-	93
<i>Carum carvi</i> (caraway)	S-(+) carvone (54.9%), S(+)-limonene (40.3%), unknown (2.5%)	?	51, 56, 61, 94, 95
<i>Cedrus deodara</i> (cedar)	Chavicol	-	52
<i>Chenopodium ambrosioides</i> (anserine)	α -terpinene (63.1%), <i>p</i> -cymene (26.4%), ascaridole (3.9%), isoascaridole (3.6%), 1,8-cineole (1.3%), γ -terpinene (0.5%), <i>trans</i> -verbenyl acetate (0.5%)	+++	96
<i>Chrysopogon zizanioides</i> (vetiver)	N. D.	-	93
<i>Citronella mucronata</i> (citronella)	N. D.	-	93
<i>Coriandrum sativum</i> (coriander, cilantro)	Linalool (76.5%), α -pinene (10.8%), geranylacetate (1.9%), pinenes (5-10%), camphor (5-10%), limonene (1-5%), geraniol (1-5%), canfena (1.5%)	+++	51, 94, 97, 98
<i>Cymbopogon flexuosus</i> (lemongrass)	Citral	+++	52, 56
<i>Cymbopogon martini</i> (palmarosa)	Geraniol, geranyl acetate	+++	52, 56, 93
<i>Cymbopogon nardus</i> L. (citronella)	Citral (>50%), citronellal (30- 35%) and β -myrcene (10-15%)	+++	99
<i>Cymbopogon winterianus</i> (citronella)	Citronellal and citronellol	+++	52, 56

Essential oil origin	Molecule(s)	Efficiency [†]	Reference
<i>Cymbopogon schoenanthus</i> (lemongrass)	N. D.	-	93
<i>Daucus carota</i> (carrot seed)	N. D.	-	93
<i>Echinophora tuneifolia</i>	α -phelladrene (45.9%), m-eugenol (29.5%), p-cymene (24.4%)	+++	51
<i>Elaeis guineensis</i> (narkanchan)	N. D.	+	93
<i>Eucalyptus citriodora</i> (lemon-scented gum)	Cineole	-	52, 92
<i>Eucalyptus globulus</i> (blue gum)	1,8 cineol (>80%), limonene (2-10%), α -pinene (1-5%), β -pinene (0.5-2%)	-	94
<i>Foeniculum vulgare</i> (fennel)	Anethol (76.4%), limonene (7.7%), fenchone (3.3%)	-	51, 97
<i>Geranium dissectum</i> (geranium)	N. D.	-	93
<i>Lavandula angustifolia</i> (English lavender)	Linalool, linalyl acetate, terpinen-4-ol	+++	93
<i>Lavandula hybrida</i> (lavandin super)	Linalylacetate (37.6%), linalool (22.6%), citronellol (9.5%)	-	51
<i>Lavendula officinalis</i> (lavender)	Linalool	-	52, 56
<i>Lippia americana</i>	N. D.	-	93
<i>Lippia multiflora</i>	1,8-cineole (60.5%), sabinene (16.9%), α -terpineol (14.1%), α -pinene (4.4%)	+++	96
<i>Melaleuca leucadendra</i> (cajeput)	N. D.	-	93
<i>Mentha arvensis</i> (japanese mint)	Menthol, menthone	+	52
<i>Mentha piperita</i> (peppermint)	Menthol (44.1%), menthone (29.55%), menthylacetate (3.8%), d-menthofurane (0.5-5%), limonene (1-3%), pulegone (0.5-2%)	+++	51, 52, 94, 97
<i>Mentha pulegium</i> (pennyroyal)	Pulegone, methone	+++	58, 100
<i>Mentha spicata</i> (spearmint)	R-carvone, dihydrocarvone	+++	92, 93, 100-105

Essential oil origin	Molecule(s)	Efficiency [†]	Reference
<i>Mentha spicata</i> IV (spearmint)	Piperitenone oxide (79.2%), β -caryophyllene (4.2%) and terpin-4ol (1.8%)	+++	106
<i>Mentha spicata</i> VII (spearmint)	Carvone (68.5 %), limonene (14.0%), terpin-4-ol (1.6%), β -caryophyllene (1.6%)	+++	106
<i>Minthostachys glabrescens</i> (muña)	N. D.	+++	58
<i>Minthostachys mollis</i> (muña)	α -pinene, β -pinene, limonene, pulegone, menthone, isomenthone	+++	82, 87, 107
<i>Nardostachys jatamansi</i> (jatamanshi)	N. D.	-	93
<i>Nigella sativa</i> L. (black cumin)	N. D.	-	92
<i>Ocimum Sanctum</i> (basil)	Ketone, camphor	+	52, 56
<i>Ocimum tenuiflorum</i> (tulsi)	N. D.	-	93
<i>Origanum onites</i> (oregano)	Carvacrol (78.2%), γ -terpinene (4.3%), borneol (3.1%)	?	51, 100
<i>Origanum vulgare</i> spp. Hirtum (greek oregano)	Thymol, carvacrol	-	100
<i>Posotemon cablin</i> (patchouli)	N. D.	-	93
<i>Rosa damascena</i> (damask rose)	Citronellol (46.7%), geraniol (23.3%), nerol (11.9%)	+++	51
<i>Rosmarinus officinalis</i> (rosemary)	1,8-cineol (27.8%), camphor (40.6%), borneol (5.4%), α -terpineol	?	51, 82, 93, 100
<i>Artemisia tridentata</i> (sagebrush)	N. D.	+++	82
<i>Salvia fruticosa</i> (sage)	1,8-cineol, camphor, α -terpineol	+++	100
<i>Salvia officinalis</i> (garden sage)	Thujon (42.1%), camphor (19.0%), bornylacetate (16.4%)	-	51
<i>Syzygium aromaticum</i> (clove oil)	Eugenol, other eugenol-based components	?	82, 93
<i>Thuja occidentalis</i> (thuja, northern white-cedar)	N. D.	+	93

Essential oil origin	Molecule(s)	Efficiency [†]	Reference
<i>Thymus vulgaris</i> (thyme)	N. D.	-	93
<i>Trachyspermum ammi</i> (ajwain)	N. D.	+++	93

[†] it should be considered that the effectiveness reported in the table is approximate since the methodologies between each studies differed.

Many essential oils display sprout suppressant properties such as dill, coriander, spearmint and muña. However, many applications are required during storage period to maintain sprouting inhibition and since the production of essential oil is costly, it makes it difficult to implement these kinds of sprout suppressant on the market^{19, 108, 109}.

Could the forest resource be an avenue for sprout suppressive molecules?

Canada's forest resource is abundant, particularly in the province of Quebec where it represents 2.3% of the world's forest¹¹⁰. In 2018, Quebec forest industry generates alone about 2 million tons of anhydrous bark residues¹¹⁰. Like essential oils, it has been demonstrate that barks molecules can possess a multitude of biological properties such as antioxidant, antimicrobial or anticancer¹¹¹. Then perhaps some bark extractions will have sprout suppressant properties especially since terpenoid and phenolic compounds can be enriched in bark extracts, and which are the same family compounds as found in essential oils gathered herein. In addition, because bark is a residue produced by sawmills, production cost could be lower than essential oils depending on the extraction process. This novel avenue is presently under investigation by UQTR and Innofibre.

Non-chemical alternatives to control potato sprouting

Beside the utilization of single or mixture of molecules for regulating sprouting during the storage of potatoes, other ways such as physical treatment (*e.g.* cold temperature, gamma radiation^{19, 112}, UV-C¹¹³ or pressure treatments¹¹⁴) as well as

biological treatment (*e.g.* micro-organisms¹¹⁵ or genetic engineering¹¹⁶) have been studied.

Future perspectives

Overall, it is hard to recommend best possible options of sprout suppressant since there is a lot of variables to consider including if the production is organic or conventional, who is the end-user market, and what is the genetic variety of the potatoes (which influences dormancy period and susceptibility to diseases). The secret of managing potato sprouting probably lies in planification by coordinating applications of different treatment to retrieve maximum benefits from diversified mechanisms of action. This was the case with CIPC, before its was banned. For instance, prolonging dormancy with 2,6-DIPN (easier to apply then MH, because the window of application is easily missed with MH¹⁹) combined with applications of essential oils like Talent which can also prevent the propagation of disease during storage¹⁸. By doing so, it would be possible to profit from the antimicrobial activity and the low toxicity of essential oil while reducing, at the same time, costs. Essential oils pose no problem regarding the storage of potato seeds in the same facility as the treated potatoes, compared to CIPC, since their effect is reversible and that their volatility makes it easy to clear the air of the storage facility from any chemical residues. Hopefully, bark extracts will prove themselves as sprout suppressant and eventually be more price competitive than essential oils.

Conclusion

Although CIPC is a sprout suppressant highly efficient and available at low cost, its consequences on environment and consumer health cannot be ignored which prompt for the development of alternatives. This review provided an overview of sprout suppressive molecules that have been tested and reported so far. A list of currently commercialized sprout suppressants along with promising molecules have been described to offer an overall guide for the research in this area. In addition, the efficiency of single molecules and mixtures of molecules from different essential oils was reported. Several

alternatives showed promising results and can possess additional interesting activities such as antimicrobial, which is very valuable for industry. Indeed, the application of such agent will not only help to control sprouting and diseases of potatoes during storage but would also be cost-effective for the potato industry.

Acknowledgements

The authors wish to thank Olivier Rezazgui for his helpful comments and for the revision of the manuscript. The authors gratefully acknowledge Mitacs and the Fonds de recherche du Québec Nature et technologies (FRQNT) for scholarship to M.B. Also, the Consortium de Recherche et Innovations en Bioprocédés Industriels au Québec (CRIBIQ), project number 2017-042-C30, is acknowledged for its financial support to N.B, S.B and I.D-P. This review was also funded by the Canada Research Chair on plant specialized metabolism Award No 950-232164 to I.D-P. Thanks are extended to the Canadian taxpayers and to the Canadian government for supporting the Canada Research Chairs Program.

References

1. International Year of the Potato. <http://www.fao.org/potato-2008/en/potato/index.html>
2. FAOstat, FAOSTAT statistical database, Ed. [Rome]: FAO, c2019- (2019).
3. Paul V, Ezekiel R and Pandey R, Sprout suppression on potato: need to look beyond CIPC for more effective and safer alternatives. *Journal of Food Science and Technology* **53**:1-18 (2015).
4. Paul V, Ezekiel R and Pandey R, Use of CIPC as a potato sprout suppressant: health and environmental concerns and future options. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* **10**:17-24 (2018).
5. Juncker J-C, Règlement d'exécution (UE) 2019/989 de la commission du 17 juin 2019, in *L 160/11*, Ed by européenne C. Journal officiel de l'Union européenne, Bruxelles (2019).

6. Pinhero RG, Coffin R and Yada RY, Post-harvest Storage of Potatoes. Elsevier Inc., pp 339-370 (2009).
7. Mani F, Bettaieb T, Doudech N and Hannachi C, Physiological mechanisms for potato dormancy release and sprouting: a review. *African Crop Science Journal* **22**:155-174 (2014).
8. Alamar MC, Tosetti R, Landahl S, Bermejo A and Terry LA, Assuring Potato Tuber Quality during Storage: A Future Perspective. *Front Plant Sci* **8**:2034 (2017).
9. Wiltshire JJJ and Cobb AH, A review of the physiology of potato tuber dormancy. *Ann Appl Biol* **129**:553-569 (1996).
10. m-Chloroaniline. *Occupational Toxicants* **3**:38-43 (1992).
11. Arena M, Auteri D, Barmaz S, Bellisai G, Brancato A, Brocca D, Bura L, Byers H, Chiusolo A, Court Marques D, Crivellente F, De Lentdecker C, De Maglie M, Egsmose M, Erdos Z, Fait G, Ferreira L, Goumenou M, Greco L, Ippolito A, Istace F, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R, Lythgo C, Magrans JO, Medina P, Miron I, Molnar T, Nougadere A, Padovani L, Parra Morte JM, Pedersen R, Reich H, Sacchi A, Santos M, Serafimova R, Sharp R, Stanek A, Streissl F, Sturma J, Szentes C, Tarazona J, Terron A, Theobald A, Vagenende B, Verani A and Villamar-Bouza L, Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance chlorpropham. *EFSA Journal* **15** (2017).
12. Boehncke A, Kielhorn J, Könnecker G, Pohlenz-Michel C and Mangelsdorf I, Concise International Chemical Assessment Document 48, Ed. World Health Organization, Geneva (2003).
13. Douglas L, MacKinnon G, Cook G, Duncan H, Briddon A and Seamark S, The risk of chlorpropham cross-contamination of grain in potato stores. *Food Control* **98**:1-8 (2019).
14. Frazier MJ and Olsen N, The Effects of Chlorpropham Exposure on Field-Grown Potatoes. *Am J of Potato Res* **92**:32-37 (2015).
15. AHDB, *Sprout Suppression 2020*. <https://ahdb.org.uk/sprout-suppression-20202019>].
16. DormFresh, 1,4 SIGHT®. <http://www.dormfresh.co.uk/products/14dmn/2019>]

17. Weber F, *Décision relative à une demande d'autorisation de mise sur le marché d'un produit phytopharmaceutique*, Ed. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (2017).
18. Baker A, *Use of natural sprouting inhibitors for potato storage*. Horticultural Research and Development Corporation (1997).
19. Daniels-Lake B, Olsen N, Delgado HL and Zink R, *Efficacy of Potato Sprout Control Products to Minimize Sprout Production*. North American Plant Protection Organization (2013).
20. U.S. Environmental Protection Agency, 2,6-Diisopropylnaphthalene, in *Biopesticide registration action document*, Ed. U.S. Environmental Protection Agency (2003).
21. Rossillon F, *Inhibiteurs de germination : État des lieux d'une situation en évolution*, in *Le journal de la pomme de terre*, Ed. Éditeur CNIPT, Paris, pp 1-4 (2018).
22. CERTIS, *Traitement de pomme de terre anti-germinatif foliaire : Fazor Star*, Ed (2015).
23. AMVAC, *SmartBlock*. <https://www.amvac.com/products/smartblock2019>].
24. Brenntag Canada Inc., *Sprout Nip E.C.: Potato Sprout Inhibitor*, Ed (2008).
25. Afek U, Orenstein J and Nuriel E, Using HPP (hydrogen peroxide plus) to inhibit potato prouting during storage. *Amer J of Potato Res* 77:63-65 (2000).
26. CIPC Compliant, *Alternative Sprout Suppressants*. http://www.cipccompliant.co.uk/alternative_sprout_suppressants/2019]
27. Agriculture et Agroalimentaire Canada, *Profil de la culture de la pomme de terre au Canada, 2014*. (2017).
28. Olsen N, *Sprouting in Storage: Impact and Control*, in *Colloque sur la pomme de terre, CRAAQ*, Ed (2016).
29. Frazier MJ, Olsen N and Kleinkopf G, *Organic and Alternative Methods for Potato Sprout Control in Storage*, in *College of Agricultural and Life Sciences*, Ed. University of Idaho, Idaho, p 4 (2004).

30. Swietlinksa Z and Zuk J, Cytotoxic effects of maleic hydrazide. *Mutation Research* **55**:15-30 (1978).
31. Tadasas K and Kayahara H, Initial Steps of Eugenol Degradation Pathway of a Microorganism. *Agricultural and Biological Chemistry* **47**:2639-2640 (1983).
32. Patočka J and Kuča K, Biologically Active Alcohols: Cyclic Alcohols. *Military Medical Science Letters* **82**:162-171 (2013).
33. Bhatia SP, McGinty D, Letizia CS and Api AM, Fragrance material review on dihydrocarveol. *Food Chem Toxicol* **46 Suppl 11**:S123-125 (2008).
34. Arena M, Auteri D, Barmaz S, Brancato A, Brocca D, Bura L, Carrasco Cabrera L, Chiusolo A, Civitella C, Court Marques D, Crivellente F, Ctverackova L, De Lentdecker C, Egsmose M, Erdos Z, Fait G, Ferreira L, Greco L, Ippolito A, Istace F, Jarrah S, Kardassi D, Leuschner R, Lostia A, Lythgo C, Magrans JO, Medina P, Mineo D, Miron I, Molnar T, Padovani L, Parra Morte JM, Pedersen R, Reich H, Sacchi A, Santos M, Serafimova R, Sharp R, Stanek A, Streissl F, Sturma J, Szentes C, Tarazona J, Terron A, Theobald A, Vagenende B, Van Dijk J and Villamar-Bouza L, Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance carvone (substance evaluated d-carvone). *EFSA Journal* **16** (2018).
35. European Food Safety Authority, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance 1,4-dimethylnaphthalene. *EFSA Journal* **11** (2013).
36. Höke H and Zellerhoff R, Metabolism and toxicity of diisopropylnaphthalene as compared to naphthalene and monoalkyl naphthalenes: a minireview. *Toxicology* **126**:1-7 (1998).
37. European Food Safety Authority, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance (3E)-3-decen-2-one (applied for as 3-decen-2-one). *EFSA Journal* **13** (2015).
38. Meigh DF, Filmer AAE and Self R, Growth-inhibitory volatile aromatic compounds produced by *Solanum tuberosum* tubers. *Phytochemistry* **12**:987-993 (1973).
39. Filmer AAE and Rhodes MJC, An assessment of 1,4,6-trimethylnaphthalene as a sprout suppressant for stored potato tubers. *Potato Research* **27**:383-392 (1984).
40. Beveridge JL, Dalziel J and Duncan HJ, The assessment of some volatile organic compounds as sprout suppressants for ware and seed potatoes. *Potato Research* **24**:61-76 (1981).

41. Beveridge JL, Dalziel J and Duncan HJ, Headspace Analysis of Laboratory Samples of Potato Tubers Treated with 1,4-Dimethylnaphthalene, Carvone, Pulegone and Citral. *J Sci Food Agric* **34**:164-168 (1983).
42. Beveridge JL, Dalziel J and Duncan HJ, Dimethylnaphthalene as a sprout suppressant for seed and ware potatoes. *Potato Research* **24**:77-88 (1981).
43. Lewis MD, Kleinkopf GE and Shetty KK, Dimethylnaphthalene and diisopropylnaphthalene for potato sprout control in storage: 1. Application methodology and efficacy. *American Potato Journal* **74**:183-197 (1997).
44. Riggle BD and Schafer RK, Sprout Inhibition Compositions Comprising Chlorpropham and Substituted Naphthalenes and Methods of Using Same. United States Patent 5622912 (1997).
45. Findlen H, Effect of several chemicals on sprouting of stored table-stock potatoes. *American Potato Journal* **32**:159-167 (1955).
46. Meigh DF, Suppression of sprouting in stored potatoes by volatile organic compounds. *J Sci Food Agric* **20**:159-164 (1969).
47. Sawyer RL and Thorne WH, Alcohols for sprout inhibition of potatoes. *American Potato Journal* **39**:167-175 (1962).
48. Ellison JH, Inhibition Of Potato Sprouting By 2,3,5,6-Tetrachloronitrobenzene And Methyl Ester Of A-Naphthaleneacetic Acid. *The American Potato Journal* **29**:176-181 (1952).
49. Burton WG, Experiments on the use of alcohol vapours to suppress the sprouting of stored potatoes. *Eur Potato J* **1**:42-51 (1958).
50. Paul V and Ezekiel R, Suppression of potato sprout growth by alcohols, acetaldehyde and 2, 4-dichlorophenoxy acetic acid-ethyl ester at higher temperatures. *Journal of The Indian Potato Association (India)* (2002).
51. Baydar H and Karadogan T, The effects of volatile oils on in vitro potato sprout growth. *Potato Research* **46**:1-8 (2003).
52. Farooqi AHA, Agarwal KK, Fatima S, Ahmad A, Sharma S and Kumar S, Anti-Sprouting Agent for Potato Tuber and a Method for Producing the Same. United States Patent 6313073B1 (2001).

53. Lulai E, Orr P and Glynn M, Suppression of sprouting in stored potatoes using aromatic acids. United States Patent 5635452 (1997).
54. Vaughn SF and Spencer GF, Naturally occurring aromatic compounds inhibit potato tuber sprouting. *American Potato Journal* **70**:527-533 (1993).
55. Vaughn SF and Spencer GF, Volatile Monoterpenes Inhibit Potato Tuber Sprouting. *American Potato Journal* **68**:821-831 (1991).
56. El-Awady Aml A, Moghazy AM, Gouda AEA and Elshatoury RSA, Inhibition of Sprout Growth and Increase Storability of Processing Potato by Antisprouting Agent. *Trends in Horticultural Research* **4**:31-40 (2014).
57. Wang CY, Buta JG, Moline HE and Hruschka HW, Potato sprout inhibition by camptothecin, a naturally occurring plant growth regulator [in storage]. *Journal American Society for Horticultural Science* **105** (1980).
58. Van Es A and Hartmans K, Dormancy, sprouting and sprout inhibition. *Storage of potatoes: post-harvest behavior, store design, storage practice, handling*:114-132 (1987).
59. Oosterhaven K, Hartmans KJ and Scheffer JJC, Inhibition of potato sprout growth by carvone enantiomers and their bioconversion in sprouts. *Potato Research* **38**:219-230 (1995).
60. Oosterhaven K, Hartmans KJ and Huizing HJ, Inhibition of Potato (*Solanum tuberosum*) Sprout Growth by the Monoterpene S-Carvone: Reduction of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Activity without Effect on its mRNA Level. *Journal of Plant Physiology* **141**:463-469 (1993).
61. Hartmans KJ, Diepenhorst P, Bakker W and Gorris LGM, The use of carvone in agriculture; sprout suppression of potatoes and antifungal activity against potato tuber and other plant diseases. *Industrial Crops & Products* **4**:3-13 (1995).
62. de Vries RG, Sprout inhibiting and/or anti-fungal composition for potatoes. United States Patent 6001773 (1999).
63. Sorce C, Lorenzi R and Ranalli P, The effects of (S)-(+)-carvone treatments on seed potato tuber dormancy and sprouting. *Potato Research* **40**:155-161 (1997).
64. Costa E Silva M, Galhano CIC and Moreira Da Silva AMG, A new sprout inhibitor of potato tuber based on carvone/ β -cyclodextrin inclusion compound. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **57**:121-124 (2007).

65. Daniels-Lake BJ, Prange RK, Kalt W, Liew CL, Walsh J, Dean P and Coffin R, The effects of ozone and 1,8-cineole on sprouting, fry color and sugars of stored Russet Burbank potatoes. *American Potato Journal* **73**:469-481 (1996).
66. Suttle JC, Olson LL and Lulai EC, The Involvement of Gibberellins in 1,8-Cineole-Mediated Inhibition of Sprout Growth in Russet Burbank Tubers. *American Journal of Potato Research* **93**:72-79 (2015).
67. Filmer AAE and Rhodes MJC, Investigation of sprout-growth-inhibitory compounds the volatile fraction of potato tubers. *Potato Research* **28**:361-377 (1985).
68. Mehta A, Sprout suppression in stored potatoes by natural growth inhibitor - Diphenylamine. *Journal of Food Science and Technology* **41**:539-541 (2004).
69. Claassens MM, Verhees J, van der Plas LH, van der Krol AR and Vreugdenhil D, Ethanol breaks dormancy of the potato tuber apical bud. *J Exp Bot* **56**:2515-2525 (2005).
70. Nyankanga RO, Murigi WW, Shibairo SI, Olanya OM and Larkin RP, Effects of Foliar and Tuber Sprout Suppressants on Storage of Ware Potatoes under Tropical Conditions. *American Journal of Potato Research* **95**:539-548 (2018).
71. Paul V, Pandey R, Ezekiel R and Kumar D, Potential of glyphosate as a sprout suppressant for potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers during storage. *Indian Journal of Plant Physiology* **19**:293-305 (2014).
72. Burton WG, van Es A and Hartmans KJ, The physics and physiology of storage, in *The Potato Crop: The scientific basis for improvement*, ed. by Harris PM. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 608-727 (1992).
73. Burton W, Post-harvest physiology. *The potato Harlow: Longman Scientific and Technical*:423-522 (1989).
74. Hutchinson PJS, Felix J and Boydston R, Glyphosate Carryover in Seed Potato: Effects on Mother Crop and Daughter Tubers. *American Journal of Potato Research* **91**:394-403 (2014).
75. Tayler P, Gussin E and Leck K, Control of sprouting in potatoes from applications made under commercial conditions, in *Proceedings of the 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research Pudoc, Wageningen*, Ed, pp 589-590 (1996).

76. Paul V and Ezekiel R, Sprout suppression of potato tubers stored at 18° C by pre-and post-harvest application of sub-lethal doses of glyphosate. *Indian journal of plant physiology* **11**:300-305 (2006).
77. Paul V and Ezekiel R, Inhibition of potato sprout growth by pre-harvest foliar application of glyphosate. *Potato Journal* **33** (2006).
78. Dai H, Fu M, Yang X and Chen Q, Ethylene inhibited sprouting of potato tubers by influencing the carbohydrate metabolism pathway. *J Food Sci Technol* **53**:3166-3174 (2016).
79. Gnimassou Y-M, Étude de l'inhibition de la germination des pommes de terre par l'éthylène, in *Faculté des sciences de la santé et des services communautaires*, Ed. Université de Moncton (2017).
80. Luiz Finger F, Mayana de Sousa Santos M, Ferreira Araujo F, Carvalho Lima PC, Cavalcante da Costa L, de Fatima Martins França C and da Costa Queiroz M, Action of Essential Oils on Sprouting of Non-Dormant Potato Tubers. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **61** (2018).
81. Tayler PN, Method of Inhibiting Sprout Growth on Agronomic Crops using Acetohydroxy Acid Synthase Inhibiting Herbicides. United States Patent 5244866 (1993).
82. Olsen N, *Sprout Suppression 2020- A technical viewpoint*. <https://ahdb.org.uk/sprout-suppression-2020>
83. Lulai E, Orr P and Glynn M, Natural Suppression of Sprouting in Stored Potatoes using Jasmonates. United States Patent 5436226 (1995).
84. Dhaif Allah MS, El-Adgham FI, El-Araby SM and Ghoneim IM, Influence of Jasmonic Acid and Chlorpropham Treatments on Sprouting, Quality and Storability of Potato Tubers during Cold Storage. *Alex J Agric Sci* **63**:303-311 (2018).
85. Coleman WK, Lonergan G and Silk P, Potato Sprout Growth Suppression by Menthone and Neomenthol, Volatile Oil Components of *Minthostachys*, *Satureja*, *Bystropogon*, and *Mentha* Species. *Amer J of Potato Res* **78**:345-354 (2001).
86. Lee WC, Li TL, Chang PC and Chou SS, High performance liquid chromatographic determination of maleic hydrazide residue in potatoes. *Journal of Food and Drug Analysis* **9**:167-172 (2001).

87. Aliaga TJ and Feldheim W, Hemmung der Keimbildung bei gelagerten Kartoffeln durch das ätherische Öl der südamerikanischen Munapflanze (*Minthostachys* spp.). *Ernährung/Nutrition* **9**:254-256 (1985).
88. Currah IE and Meigh DF, Nonyl Alcohol Vapour in Potato Stores During Sprout Suppression. *J Sci Food Agric* **19**:409-415 (1968).
89. Paul V and Ezekiel R, Suppression of Sprout Growth of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Tuber by Triadimefon. *Journal of Plant Biology* **30**:353-356 (2003).
90. Teper-Bamnlker P, Dudai N, Fischer R, Belausov E, Zemach H, Shoseyov O and Eshel D, Mint essential oil can induce or inhibit potato sprouting by differential alteration of apical meristem. *Planta* **232**:179-186 (2010).
91. Song X, Bandara M and Tanino KK, Potato Dormancy Regulation: Use of Essential Oils for Sprout Suppression in Potato. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology* **2**:110-117 (2008).
92. Biruk M, Response of Potato (*Solanum tuberosum* L.) to Fertilizer Application and Post-Harvest Tuber Treatment with Plant Essential Oil Extracts in North-Eastern Ethiopia, in *School of Plant Sciences*, Ed. Haramaya University (2015).
93. Shukla S, Pandey SS, Chandra M, Pandey A, Bharti N, Barnawal D, Chanotiya CS, Tandon S, Darokar MP and Kalra A, Application of essential oils as a natural and alternate method for inhibiting and inducing the sprouting of potato tubers. *Food Chem* **284**:171-179 (2019).
94. Gómez-Castillo D, Cruz E, Iguaz A, Arroqui C and Vírveda P, Effects of essential oils on sprout suppression and quality of potato cultivars. *Postharvest Biology and Technology* **82**:15-21 (2013).
95. Sanli A, Karadogan T, Tonguç M and Baydar H, Effects of caraway (*Carum carvi* L.) seed on sprouting of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers under different temperature conditions. *Turkish Journal of Field Crops* **15**:54-58 (2010).
96. Owolabi MS, Lajide L, Oladimeji MO and Setzer WN, The Effect of Essential Oil Formulations for Potato Sprout Suppression. *Natural Product Communications* **5**:645-648 (2010).
97. Goodarzi F, Kalvandi R, Rrazaghi K, Shaabani M, Mansouri A and Fatemian H, *Effect of some hamedan herbal plants extract on potato sprouting control*. Agricultural Engineering Research Institute of Iran (2014).

98. Goodarzi F, Mirmajidi A and Razaghi K, Comparing inhibitory effect of chlorpropham and coriander essential oils on potato sprouting during storage. *IIOABJ* **7**:558-562 (2016).
99. Jia B, Xu L, Guan W, Lin Q, Brennan C, Yan R and Zhao H, Effect of citronella essential oil fumigation on sprout suppression and quality of potato tubers during storage. *Food Chem* **284**:254-258 (2019).
100. Vokou D, Vareltzidou S and Katinakis P, Effects of aromatic plants on potato storage; sprout suppression and antimicrobial activity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **47**:223-235 (1993).
101. Mehta A and Kaul HN, Evaluation of menthol and menthe oil as potato sprout inhibitors. *Journal Indian Potato Association* **29**:107-112 (2002).
102. Elbashir HA, Ahmed, Ahmed AHR and Yousif KS, Efficacy of Different Applications of Spearmint Oil on Storability and Processing Quality of two Potato Varieties. *Journal of Agri-Food and Applied Sciences* **2**:124-133 (2014).
103. Eshel D, Orenstein J, Tsror L and Hazanovsky M, Environmentally Friendly Methode for the Control of Sprouting and Tuber-Borne Diseases in Stored Potato.363-368 (2009).
104. Frazier M, Kleinkopf G and Brandt T, Effects of spearmint and peppermint oil used as alternative sprout and disease suppressants. *American Journal of Potato Research* **75**:276 (1998).
105. Frazier M, Kleikopf G and Brandt T, Spearmit oil and peppermint oil used as alternative sprout suppressants. *American Journal of Potato Research* **72**:737-747 (2000).
106. Chauhan SS, Prakash O, Padalia RC, Vivekanand, Pant AK and Mathela CS, Chemical Diversity in *Mentha spicata*: Antioxidant and Potato Sprout Inhibition Activity of its Essential Oils. *Natural Product Communications* **6**:1373-1378 (2011).
107. Manrique Klinge K and Palomino RE, Muña (sp. *Minthostachis mollis*) essential oil, as a natural alternative to control potato sprouting tested under different storage conditions., in *15th Triennial ISTRC Symposium*, Ed, pp 126-130 (2009).
108. Raut JS and Karuppayil SM, A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products* **62**:250-264 (2014).

109. Martin M, Le choix des inhibiteurs de germination s'étoffe! *Perspectives agricoles* **403** (2013).
110. Delisle J-F, *Ressources et industries forestières du Québec, Portrait statistique 2018*. Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (2019).
111. Royer M, Houde R, Viano Y and Stevanovic T, Non-wood Forest Products Based on Extractives - A New Opportunity for the Canadian Forest Industry Part 1: Hardwood Forest Species. *Journal of Food Research* **1**:8-45 (2012).
112. Rezaee M, Almassi M, Minaei S and Paknejad F, Impact of post-harvest radiation treatment timing on shelf life and quality characteristics of potatoes. *J Food Sci Technol* **50**:339-345 (2013).
113. Pristijono P, Bowyer MC, Scarlett CJ, Vuong QV, Stathopoulos CE and Golding JB, Effect of UV-C irradiation on sprouting of potatoes in storage. *Acta Horticulturae*:475-478 (2018).
114. Saraiva JA and Rodrigues IM, Inhibition of potato tuber sprouting by pressure treatments. *International Journal of Food Science & Technology* **46**:61-66 (2011).
115. Slininger PJ, Burkhead KD, Schisler DA and Bothast RJ, Biological Control of Sprouting in Potatoes. United States Patent 6107247 (2000).
116. Munger A, Simon MA, Khalf M, Goulet MC and Michaud D, Cereal cystatins delay sprouting and nutrient loss in tubers of potato, *Solanum tuberosum*. *BMC Plant Biol* **15**:296 (2015).

ANNEXE B

REVUE DE PRESSE SUR LES SORTIES MÉDIATIQUES IMPLIQUANT CE PROJET DE RECHERCHE

Le contenu de cette annexe contient la liste chronologique de toutes les sorties médiatiques (articles, entrevues radio, reportages télévisés) ainsi que toutes les reconnaissances obtenues au fil de mon parcours.

« Antigerminatif : l'épinette noire pourrait remplacer le CIPC ». Article paru dans *Fresh Plaza* le 3 mai 2021. <https://www.freshplaza.fr/article/9317337/antigerminatif-l-epinette-noire-pourrait-remplacer-le-cipc/>

« De l'épinette contre la germination des pommes de terre ». Reportage télévisé paru dans *La Semaine Verte* à Radio-Canada le 1^{er} mai 2021. <https://ici.radio-canada.ca/tele/la-semaine-verte/site/segments/reportage/353480/recherche-antigermination-patates-ecorce>

« De l'épinette contre la germination des pommes de terre ». Article paru dans les nouvelles à Radio-Canada le 1^{er} mai 2021. <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/1789274/germination-foret-boreale-epinette-noire-germination-pommes-terre>

« La Semaine verte- De l'épinette contre la germination ». Entrevue radio parue dans *Bonjour la Côte* les nouvelles à Radio-Canada le 30 avril 2021. <https://ici.radio-canada.ca/ohdio/premiere/emissions/bonjour-la-cote/segments/entrevue/353454/semaine-verte-epinette-noire-germination-patates-carine-monat>

« Un extrait d'épinette pour traiter les pommes de terre contre la pourriture ». Entrevue radio parue dans *Les Années Lumières* à Radio-Canada le 18 avril 2021. <https://ici.radio-canada.ca/ohdio/premiere/emissions/les-annees-lumiere/segments/reportage/351777/patate-epinette-pomme-terre-moisissure-pourriture-germination-entreposage>

« L'épinette noire à la rescousse des pommes de terre ». Article paru dans *La Terre de chez nous* le 12 avril 2021. <https://www.laterre.ca/utiliterre/technique/lepinette-noire-a-la-rescousse-des-pommes-de-terre>

« Recourir à la forêt pour protéger les pommes de terre ». Article paru dans *L'Échos de la forêt* de l'Association forestière de la Vallée du Saint-Maurice en avril 2021. <https://afvsm.qc.ca/echos/>

« La forêt à la rescousse des pommes de terre ». Article paru dans *le Devoir* le 27 février 2021. <https://www.ledevoir.com/societe/science/595822/la-foret-a-la-rescousse-des-pommes-de-terre>

« L'épinette noire pour aider les producteurs de patates ». Article paru dans *L'Hebdo Journal* le 22 février 2021. <https://www.lhebdojournal.com/lepinette-noire-pour-aider-les-producteurs-de-patates/>

« Des composés du bois pour conserver les patates plus longtemps ». Article paru dans *Opérations forestières et scierie* le 4 février 2021. <https://www.operationsforestieres.ca/des-composes-du-bois-pour-conserver-les-patates-plus-longtemps/>

Reportage télévisé paru dans *Noovo NVL Mauricie* le 2 février 2021. <https://noovo.ca/videos/nvl/nvl-mauricie-2-fevrier-2021>

« Des résidus forestiers contre la pourriture de la patate : Michelle Boivin ». Entrevue radio paru dans *En direct* le 29 janvier 2021. <https://ici.radio-canada.ca/ohdio/premiere/emissions/en-direct/episodes/509394/rattrapage-du-vendredi-29-janvier-2021/23>

« Des résidus forestiers pour combattre la germination et la pourriture de la pomme de terre ». Article paru dans *le Nouvelliste*, *le Soleil*, *la Tribune* et *le Droit* le 29 janvier 2021.

<https://www.lenouvelliste.ca/actualites/des-residus-forestiers-pour-combattre-la-germination-et-la-pourriture-de-la-pomme-de-terre-4589687dbcb6922a239941bf801845c8>,

<https://www.lesoleil.com/actualite/le-fil-groupe-capitales-medias/des-residus-forestiers-pour-combattre-la-germination-et-la-pourriture-de-la-pomme-de-terre-4589687dbcb6922a239941bf801845c8>

<https://www.latribune.ca/actualites/le-fil-groupe-capitales-medias/des-residus-forestiers-pour-combattre-la-germination-et-la-pourriture-de-la-pomme-de-terre-4589687dbcb6922a239941bf801845c8>

https://www.ledroit.com/actualites/le-fil-groupe-capitales-medias/des-residus-forestiers-pour-combattre-la-germination-et-la-pourriture-de-la-pomme-de-terre-4589687dbcb6922a239941bf801845c8?utm_medium=facebook&utm_source=dvr.it,

« Découverte québécoise pour conserver les patates plus longtemps ». Reportage télévisé paru à *TVA Nouvelles* le 28 janvier 2021. <https://www.tvanouvelles.ca/2021/01/28/decouverte-quebecoise-pour-conserver-les-patates-plus-longtemps>

« Résidus forestiers : l'épinette noire pour éviter la germination des patates ». Article paru dans le *Journal de Montréal* le 28 janvier 2021. <https://www.journaldemontreal.com/2021/01/28/residus-forestiers-lepinette-noire-pour-eviter-la-germination-des-patates>

« Un élixir de jouvence naturel pour les patates ». Article paru dans *Néo UQTR* le 26 janvier 2021. <https://neo.uqtr.ca/2021/01/26/un-elixir-de-jouvence-naturel-pour-les-patates/>

Prix de présentation du Décanat des études (volet Maîtrise) lors de la finale institutionnelle de Ma Thèse en 180 secondes à l'Université du Québec à Trois-Rivières en octobre 2020. <https://neo.uqtr.ca/2020/10/28/justine-cinq-mars-representera-luqtr-a-la-finale-nationale-de-ma-these-en-180-secondes/>

Prix de collaboration et d'innovation du réseau Matériaux Renouvelables Québec en avril 2020. <https://www.reseaumrq.com/post/les-bourses-d-innovations-et-de-collaboration>

Prix de l'engagement étudiant remis par l'Université du Québec à Trois-Rivières en février 2020. <https://neo.uqtr.ca/2020/06/18/la-ceremonie-distinction-uqtr-en-mode-virtuel/>