



Maisons-Alfort, le 11 mai 2009

## AVIS

**de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments  
relatif à une demande d'autorisation de mise sur le marché de la préparation  
TRIANUM P, à base de *Trichoderma harzianum*, souche T22,  
de la société KOPPERT BV**

Dans le cadre de la convention-cadre relative au transfert par le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche à l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) des demandes antérieures à la date d'entrée en vigueur du décret n° 2006-1177 du 22 septembre 2006, l'Afssa a pris en compte un dossier, déposé initialement à la Direction Générale de l'Alimentation par Koppert BV d'une demande d'autorisation de mise sur le marché pour la préparation Trianum P, pour laquelle l'avis de l'Afssa relatif à l'évaluation des risques sanitaires et de l'efficacité de cette préparation est requis.

Le présent avis porte sur la préparation Trianum P à base de *Trichoderma harzianum*, souche T22, destinée à la stimulation de la vitalité des plantes des cultures légumières, des zones non agricoles et des espaces verts, des plantes à parfum, aromatiques, médicinales et condimentaires (PPAMC) et des cultures légumières.

Il est fondé sur l'examen du dossier déposé pour cette préparation, en conformité avec les exigences de la directive 91/414/CEE<sup>1</sup>.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé "Produits phytosanitaires : microorganismes", réuni le 4 mars 2009, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

### **CONSIDERANT L'IDENTITE DE LA PREPARATION**

La préparation Trianum P est un stimulateur de la vitalité des plantes se présentant sous la forme d'une poudre mouillable (WP) contenant  $1,5 \cdot 10^9$  UFC<sup>2</sup>/g de *Trichoderma harzianum*, souche T22 (pureté minimale de 99 %) appliquée en pulvérisation sur le substrat ou dans l'eau d'irrigation. Les usages demandés (cultures et doses d'emploi annuelles) sont mentionnés à l'annexe 1. Ces usages étant considérés comme imprécis, seuls les usages pour lesquels des données biologiques étaient disponibles ont été évalués (annexe 2).

Le *Trichoderma harzianum*, souche T22 est une substance active inscrite à l'annexe I de la directive 91/414/CEE (directive 2008/113/CE<sup>3</sup>).

Les conclusions du présent avis pourront être revues en fonction des conclusions de l'évaluation européenne des microorganismes.

### **CONSIDERANT LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET LES METHODES D'ANALYSES**

Les spécifications de la substance active entrant dans la composition de la préparation Trianum P permettent de caractériser cette substance active et sont conformes aux exigences réglementaires.

<sup>1</sup> Directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991, transposée en droit français par l'arrêté du 6 septembre 1994 portant application du décret 94/359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques.

<sup>2</sup> Unité formant colonie.

<sup>3</sup> Directive 2008/113/CE de la Commission du 8 décembre 2008 modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil en vue d'y inscrire plusieurs micro-organismes en tant que substances actives.

La préparation Trianum P ne présente pas de propriétés explosive ou comburante. Elle n'est pas hautement inflammable. Le pH est de 7,05. Les études de stabilité au stockage semblent montrer que la préparation Trianum P est stable durant 6 mois à 8°C. Néanmoins, une forte diminution du nombre d'UFC est observée après 1 mois. De plus, aucune donnée sur les propriétés physico-chimiques et techniques ainsi que sur le pourcentage d'humidité n'a été fournie sous ces conditions avant et après stockage.

En conséquence, il conviendra de stocker la préparation Trianum P à une température inférieure à 10°C pendant une durée n'excédant pas 1 mois. De plus, les conditions de stockage (durée, température et humidité) devront être clairement définies et mentionnées sur l'étiquette.

Pour modifier ces conditions de stockage, il conviendra de fournir des informations supplémentaires, et notamment des études concernant le nombre d'UFC pendant toute la durée du stockage et les propriétés physico-chimiques et techniques avant et après la période de stockage.

Les caractéristiques techniques de la préparation permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans les conditions d'emploi préconisées. Les études ont montré que l'emballage était compatible avec la préparation.

La substance active est identifiable et quantifiable dans la substance active technique et dans la préparation.

La méthode d'analyse de la substance active dans la préparation est conforme aux exigences réglementaires. Les méthodes d'analyse pour la détermination des résidus dans les différents substrats (végétaux, animaux, sol, eau et air) ont été fournies et sont jugées acceptables.

#### **CONSIDERANT LES PROPRIETES TOXICOLOGIQUES**

Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons saprophytes, ubiquitaires, qui se retrouvent couramment dans le sol, sur le bois mort et les débris végétaux. La substance active *Trichoderma harzianum*, souche T22 résulte de la fusion de protoplastes entre 2 souches mères de *Trichoderma harzianum*.

*Trichoderma harzianum* n'a jamais été relié à aucune pathologie humaine ou animale. Seuls deux cas létaux d'infection à *Trichoderma harzianum* ont été rapportés chez des personnes immunodéprimées. Toutefois, la souche à l'origine de ces effets n'a pas été clairement identifiée.

Considérant que les co-formulants présents dans la préparation Trianum P ne sont pas de nature à modifier les propriétés toxicologiques de la substance active, il a été considéré que les études réalisées dans le cadre de l'inscription à l'annexe I de *Trichoderma harzianum*, souche T22 sont également valables pour les préparations contenant cette substance active.

Les études toxicologiques réalisées avec la substance active chez l'animal ne montrent pas d'effets néfastes. Aucune toxicité ou pathogénicité n'a été observée après administration orale, intra-veineuse et intra-trachéale de substance active à des rats et la clairance du microorganisme est quasiment complète dans les 21 jours suivant administration<sup>4</sup>. Aucune étude d'irritation cutanée ou de toxicité aiguë par voie cutanée n'a été réalisée. Toutefois, la soumission de ces études n'a pas été jugée nécessaire. Par ailleurs, il a été montré que la substance active est faiblement irritante pour les yeux chez le lapin. Les essais mis en œuvre pour évaluer la sensibilisation, respiratoire et cutanée, n'étant pas adaptés à l'analyse des microorganismes, la préparation Trianum P est considérée par défaut comme sensibilisante par inhalation et par contact avec la peau, bien que le notifiant indique qu'aucun cas n'a été rapporté chez les travailleurs des usines de production du microorganisme depuis 1996. De plus, l'utilisation de certaines préparations à base de microorganismes, notamment *Trichoderma harzianum*, a été reliée à la présence de toux et de difficultés respiratoires chez des travailleurs sous serres. Bien qu'il n'ait pas été possible de savoir si ces travailleurs portaient des équipements de protection

<sup>4</sup> Toutefois, l'état membre rapporteur pour *Trichoderma harzianum* (Suède) ayant considéré que la clairance du microorganisme était complète, ce point sera soulevé lors de l'évaluation européenne.

individuels et qu'un effet additif de différentes préparations à base de microorganismes ne puisse pas être exclu, ces effets ont été pris en considération dans l'évaluation de la préparation Trianum P. C'est la raison pour laquelle il est proposé de classer la préparation Trianum P comme étant irritante pour les voies respiratoires.

La classification de la préparation déterminée au regard de ces résultats expérimentaux, de la classification de la substance active et des formulants ainsi que de leur teneur dans la préparation, figure à la fin de l'avis.

Certains *Trichoderma* sont connus pour produire des métabolites tels que des mycotoxines (trichothécènes) ou des antibiotiques (peptaibols). Aucune analyse n'a été réalisée afin de déterminer la production potentielle de peptaibols ou autres métabolites secondaires par la souche T-22. Néanmoins, d'une part, le notifiant a fourni une synthèse bibliographique permettant de montrer que *Trichoderma harzianum*, souche T22 est capable de produire *in vitro* quatre peptaibols (sur milieu salé, pauvre en carbone et en azote, et en présence des parois cellulaires de *Botrytis* et *Rhizoctonia*) : harzianine HB, harzianine HCXIII, et les trichorazines HA II et HA V. Aucune donnée publiée n'indique que ces composés sont toxiques vis-à-vis de l'Homme et des organismes non-cibles. D'autre part, il a été montré que *Trichoderma harzianum*, souche T22 est capable, *in vitro* en milieu liquide, de produire un certain nombre de métabolites secondaires [T22 azaphilone et deux anthraquinones (1-hydroxy-3-méthyl-anthraquinone & 1,8-dihydroxy-3-méthyl-anthraquinone)]. L'anthraquinone et le 1-hydroxy-anthraquinone ont été évalués par le NTP (National Toxicology Program) ou par le CIRC (Centre International de Recherche sur le Cancer) qui ont estimé qu'il s'agit de cancérogènes suspectés chez l'homme. Les anthraquinones produites par *Trichoderma harzianum* T22 en milieu liquide sont donc susceptibles d'être cancérogènes pour l'homme. Toutefois, aucune information n'est disponible sur la production *in vivo* de ces métabolites.

**CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES A L'EXPOSITION DE L'OPERATEUR, DES PERSONNES PRESENTES ET DES TRAVAILLEURS**

**Estimation de l'exposition des applicateurs**

Il n'est pas possible de modéliser l'exposition de l'opérateur pour les préparations à base de microorganismes. Cependant, compte tenu du profil toxicologique de la substance active, l'exposition de l'opérateur est considérée comme négligeable lorsque celui-ci porte des équipements de protection individuels (gants, vêtements de protection et masque anti-poussière).

En conséquence, les risques pour l'opérateur, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P, sont considérés comme acceptables avec port d'équipements de protection individuels (gants, vêtements de protection et masque anti-poussière) lors des étapes de manipulation et d'application du produit.

**Estimation de l'exposition des personnes présentes**

Les personnes présentes peuvent être exposées lors de la manipulation du substrat traité par les travailleurs ou lors de l'application de la préparation sur les espaces verts.

Considérant que la pathogénicité et le pouvoir infectieux de *Trichoderma harzianum*, souche T22 sont faibles, les risques pour les personnes présentes lors de l'application de la préparation Trianum P sur les espaces verts sont considérés comme acceptables.

En conséquence, les risques pour les personnes présentes lors de la manipulation de la préparation Trianum P ou du substrat traité et lors de l'application de cette préparation sur les espaces verts, sont considérés comme acceptables. Toutefois, il convient de prendre les mesures nécessaires afin de rendre l'exposition des personnes présentes négligeable.

**Estimation de l'exposition des travailleurs**

Les travailleurs peuvent être exposés par contact avec les espaces verts traités. L'exposition des travailleurs est considérée comme négligeable.

Compte tenu des propriétés sensibilisantes de la préparation Trianum P, le délai de rentrée est fixé à 48 heures.

**CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AUX RESIDUS ET A L'EXPOSITION DU CONSOMMATEUR**

Les données résidus fournies dans le cadre de ce dossier sont identiques à celles soumises pour l'inscription de *Trichoderma harzianum*, souche T22 à l'annexe I de la directive 91/414/CEE.

**Définition du résidu**

Aucune définition du résidu n'a été jugée nécessaire par l'Etat membre rapporteur dans son rapport d'évaluation européen de *Trichoderma harzianum*, souche T22. De ce fait, les études d'essais résidus, d'alimentation animale, de rotations culturelles et de transformations industrielles ne sont pas nécessaires.

**Evaluation du risque pour le consommateur**

Aucune ARfD et aucune DJA n'ayant été définies pour *Trichoderma harzianum*, souche T22, l'évaluation des risques pour le consommateur à court-terme et à long-terme n'est donc pas nécessaire.

Cependant, étant donné que l'évaluation européenne n'a porté que sur un usage sur tomate, que des métabolites toxiques pourraient s'accumuler dans les racines des plantes traitées et que le dossier ne contient aucune information permettant d'évaluer cette accumulation, le risque pour le consommateur ne peut pas être exclu pour les plantes racines. En revanche, les risques pour le consommateur sont considérés comme acceptables pour les autres usages revendiqués.

Les usages évalués (pour lesquels des données biologiques ont été fournies) ne comportant pas de cultures de type "racines", tous les usages mentionnés à l'annexe 2 sont considérés comme acceptables du point de vue des risques pour le consommateur.

**CONSIDERANT LES DONNEES RELATIVES AU DEVENIR ET AU COMPORTEMENT DANS L'ENVIRONNEMENT ET LES DONNEES D'ECOTOXICITE**

Conformément aux exigences de la directive 91/414/CEE relatives au dossier annexe III, les données relatives au devenir et au comportement dans l'environnement concernent la substance active. Les données ci-dessous concernant *Trichoderma harzianum*, souche T22 ont été générées dans le cadre du ré-examen communautaire de *Trichoderma harzianum rifai* regroupant 4 souches<sup>5</sup> de *Trichoderma harzianum* dont la souche T22. Des études spécifiques ont été réalisées avec la souche T22 pour compléter les données générales fournies par la littérature scientifique.

*Trichoderma* spp. est un champignon ubiquiste naturellement présent dans les sols cultivés. La survie du champignon est assurée par les conidies. Le transport par l'eau et l'air est le mode de dissémination du champignon. Les résidus viables de la préparation Trianum P sont les spores et hyphes de la souche T22 de *Trichoderma harzianum*. Les coformulants de la préparation ne sont pas préoccupants pour l'environnement.

**Devenir et comportement dans le sol**

La persistance et la multiplication de *Trichoderma harzianum* dans le sol et sur les racines après application de la préparation Trianum P a été déterminée. L'apport de *Trichoderma* par traitement des semences de soja ou de maïs n'a pas d'effet néfaste sur la population totale de *Trichoderma* spp. présente dans les sols après la période hivernale. Après application sur l'agrostide stolonifère (espèce herbacée des pelouses), *Trichoderma harzianum*, souche T22 peut survivre jusqu'à 8 mois avec un niveau de population de 10 à 100 fois supérieur au niveau de population normal. En l'absence de racine non-lignifiée, *Trichoderma harzianum*, souche T22 ne se développe pas et peut rester en dormance pour une durée limitée. La mobilité de *Trichoderma harzianum*, souche T22 vers les couches profondes du sol et le risque de contamination des eaux souterraines sont faibles.

<sup>5</sup> Deux des 4 souches ne sont plus identifiées comme *T. harzianum* mais comme *T. atroviride* et *T. asperellum*. La souche T22 est confirmée être une souche de *T. harzianum*.

### Devenir et comportement dans les eaux de surface

La croissance mycélienne et la germination des spores de *Trichoderma harzianum*, souche T22 est limitée dans l'eau stérile (période de demi-vie de 5,5 jours). Le risque de contamination des eaux de surface est faible pour les applications en traitement de sol.

### Comportement dans l'air

Les spores de *Trichoderma harzianum* sont occasionnellement isolées dans les échantillons d'air. Il n'est pas attendu de contamination significative de l'air suite à l'emploi de la préparation Trianum P.

### Effets sur les oiseaux

Les oiseaux sont exposés naturellement au *Trichoderma*. Après application de la préparation Trianum P par arrosage du substrat de croissance, l'exposition des oiseaux est négligeable pour les usages revendiqués. Après application de Trianum P sur gazon (30 kg/ha équivalent à 30.10<sup>12</sup> UFC/ha/application), l'exposition des oiseaux par la voie alimentaire est possible mais limitée dans le temps. Le gavage pendant 5 jours à la dose de 2222 mg/kg p.c./j de *Trichoderma harzianum*, souche T22 (9 x 10<sup>8</sup> UFC/kg p.c./j) est sans effet sur le colin de Virginie. Cette dose sans effet correspond à la plus forte dose appliquée sur 0,3 m<sup>2</sup>. Comme le champignon ne peut pas survivre au delà de 35°C, il n'est pas attendu de développement du champignon chez les oiseaux en raison de leur température corporelle supérieure (40-42°C).

En conséquence, les risques pour les oiseaux, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P pour les usages revendiqués sont acceptables.

### Effets sur les organismes aquatiques

La toxicité de *Trichoderma harzianum*, souche T22 est évaluée à partir des résultats obtenus avec un autre *Trichoderma*, initialement *T. harzianum* ICC 012 puis renommé *T. asperellum* ICC 012 (1,2 x 10<sup>9</sup> UFC/g). Les concentrations sans effet pour la truite (28 jours), la daphnie (21 jours) et une algue verte (3 jours) sont de 50 mg/L (6 x 10<sup>7</sup> UFC/L) et pour *Lemna gibba* (7 jours) de 1000 mg/L (1,2 x 10<sup>9</sup> UFC/L). La préparation Trianum P est appliquée par arrosage du substrat ou du gazon. La contamination des eaux de surface suite à l'application de la préparation Trianum P est considérée comme faible. Comme il n'est pas attendu de développement de *Trichoderma* dans les eaux naturelles, le risque à long-terme pour les organismes aquatiques est considéré comme acceptable.

### Effets sur les abeilles et les autres arthropodes non-cibles

Compte tenu du mode d'application de la préparation Trianum P, l'exposition des abeilles au *Trichoderma harzianum*, souche T22 est très limitée. Lorsque les abeilles ou bourdons sont utilisés pour disséminer les spores de *Trichoderma harzianum*, souche T22 dans la lutte contre le botrytis du fraisier, aucun effet néfaste n'a été observé.

Une préparation contenant deux souches de *Trichoderma* spp. appliquée à 5 kg/ha dans les conditions de laboratoire n'est pas toxique pour la survie et la fécondité de l'acarien prédateur *Typhlodromus pyri*. L'exposition des arthropodes vivant sur le feuillage est faible pour tous les usages sauf le gazon. Pour le gazon, l'exposition des arthropodes vivant dans les herbes est potentiellement élevée au moment de l'application mais le risque est considéré comme acceptable. Les arthropodes du sol sont naturellement exposés au champignon et l'apport supplémentaire de *Trichoderma harzianum*, souche T22 n'augmente pas significativement les concentrations dans le sol.

Ainsi, les risques pour les abeilles et les autres arthropodes non-cibles, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P pour les usages revendiqués, sont considérés comme acceptables.

### Effets sur les vers de terre et autres macro-organismes non-cibles du sol supposés être exposés à un risque

Les vers de terre et autres macro-organismes du sol sont naturellement exposés au *Trichoderma*. L'apport de *Trichoderma harzianum*, souche T22 en application cumulée dans la pelouse n'augmente pas de manière significative la concentration totale en *Trichoderma* spp. Une information fournie avec un *Trichoderma asperellum* ICC 012 montre l'absence de toxicité

pour les vers de terre à une concentration supérieure à celle attendue après l'emploi de la préparation Trianum P.

En conséquence, les risques pour les vers de terre et les autres macro-organismes du sol, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P, sont considérés comme acceptables.

#### **Effets sur les microorganismes non-cibles du sol**

*Trichoderma* est naturellement présent dans les sols. Une information fournie avec un *Trichoderma asperellum* ICC 012 montre l'absence d'effet sur la minéralisation du carbone et de l'azote à une concentration largement supérieure à celle résultant de l'emploi de la préparation Trianum P. Les risques pour les microorganismes du sol sont donc considérés comme acceptables.

#### **Effets sur d'autres organismes non-cibles (flore et faune) supposés être exposés à un risque**

L'exposition des plantes terrestres non-cibles est très limitée. Aucun effet pathogène n'est attendu pour les cultures cultivées dans les substrats traités avec la préparation Trianum P ou pour les pelouses traitées avec cette préparation.

#### **CONSIDERANT LES DONNEES BIOLOGIQUES**

*Trichoderma harzianum* est un champignon appartenant à la famille Moniliaceae. *Trichoderma harzianum*, souche T22 n'est pas présent naturellement et a été obtenu par fusion de protoplastes. Après application de *Trichoderma harzianum*, souche T22 dans le substrat, les spores germent et le mycélium commence à coloniser les parties non lignifiées du système racinaire de la plante hôte.

Selon le notifiant, *Trichoderma harzianum*, souche T22, agit à la fois sur les pathogènes (actions directes et indirectes) et sur la vitalité des plantes par :

- **compétition spatiale** avec d'autres champignons pathogènes ou non,
- **compétition nutritionnelle** : le champignon se nourrit des exsudats et empêche donc leur utilisation par d'autres microorganismes,
- **mycoparasitisme** qui semble jouer un rôle mineur dans le mode d'action de cette souche. Toutefois, *Trichoderma harzianum* souche T22 est capable de parasiter certains champignons pathogènes du sol,
- **aptitude de la souche à solubiliser le phosphate, le zinc et les ions manganèse (Mn4+), fer (Fe3+) et cuivre (Cu2+)** : nutriments utilisés pour diverses fonctions physiologiques des plantes.

L'effet revendiqué de stimulation de la vitalité des plantes est donc basé sur la tolérance au stress de type biotique et abiotique, sur la compétition entre champignons pour les nutriments ou l'espace, le mycoparasitisme ainsi que sur la solubilisation et la séquestration de nutriments inorganiques.

Les usages revendiqués pour la préparation Trianum P concernent la stimulation de la vitalité des plantes pour quatre groupe de culture : "Toutes cultures ornementales", "Zones non agricoles et espaces verts", "PPAMC (Plantes à Parfum, Aromatiques, Médicinales et Condimentaires)" et "Toutes cultures légumières". Cependant dans le cas des cultures légumières, pour les besoins de l'évaluation de l'efficacité, une analyse culture par culture a été réalisée.

Il convient de noter que ces usages n'existent actuellement pas au catalogue français des usages. L'évaluation de ce dossier conduit donc à proposer de nouveaux critères permettant d'évaluer les effets sur la vitalité des plantes :

- Amélioration de la germination des semences,
- Amélioration de la reprise des boutures,
- Amélioration du développement des racines,
- Amélioration du rendement,
- Amélioration du développement végétatif,
- Amélioration du développement reproductif / génératif.

Par ailleurs, aucun effet fongicide n'ayant été explicitement revendiqué pour la préparation Trianum P, les essais fournis visant à mesurer un tel effet n'ont pas été pris en compte.

### **Essais préliminaires**

Aucune synthèse ni aucune information claire n'ayant été fournie, il n'est pas possible de se prononcer sur la dose revendiquée pour la préparation Trianum P ou sur les conditions d'applications les plus favorables. Il semble cependant que plus l'application est réalisée tôt, plus l'efficacité est marquée.

### **Essais d'efficacité**

#### ❖ Cultures légumières

37 essais sur cultures légumières, ainsi que 4 essais réalisés spécifiquement sur jeunes plants légumiers ont été présentés. Le niveau d'efficacité de la préparation Trianum P a été analysé par culture et par type d'effet. Les usages revendiqués n'existant pas, il n'y a pas de produit de référence. Ainsi, l'analyse de l'efficacité a été faite par comparaison avec le témoin non traité.

#### **Aubergine**

2 essais sur aubergine ont été fournis. Dans ces essais, deux types d'effet ont été évalués : "*amélioration du développement des racines*" et "*amélioration du rendement*". Dans le premier essai, le produit utilisé n'est pas spécifié et dans le second, aucun effet positif n'est constaté. Ainsi, l'efficacité de la préparation Trianum P pour l'usage sur aubergine n'a pas été démontrée.

#### **Concombre**

8 essais sur concombre et un essai sur jeunes plants de concombre ont été fournis. Compte tenu des données fournies, les effets suivants ont pu être évalués : "*amélioration du développement végétatif*", "*amélioration du développement des racines*" et "*amélioration du rendement*". D'après les résultats, l'apport de *Trichoderma harzianum*, souche T22 entraîne des effets plutôt positifs sur les paramètres de développement de la culture étudiée.

Ainsi, une efficacité partielle de la préparation Trianum P pour les usages sur concombre concernant l'amélioration du développement végétatif et l'amélioration du développement des racines a été démontrée. Toutefois, compte tenu de la variabilité des résultats et du manque de méthodologie des essais, il conviendra de fournir dans le cadre d'un suivi post-autorisation des essais d'efficacité sur concombre.

En revanche, l'efficacité de la préparation Trianum P n'a pas été démontrée pour ce qui concerne l'amélioration du rendement.

#### **Poivron**

2 essais sur poivron et un essai sur jeunes plants de poivron ont été soumis. Compte tenu des données fournies, les effets suivants ont pu être évalués : "*amélioration du développement végétatif*", "*amélioration du développement des racines*" et "*amélioration du rendement*". Aucune donnée ne permet de mettre en évidence l'efficacité de la préparation Trianum P.

#### **Tomate**

17 essais sur tomate et 3 essais sur jeunes plants de tomate ont été fournis. Compte tenu des données fournies, les effets suivants ont pu être évalués : "*amélioration du développement végétatif*", "*amélioration du développement des racines*" et "*amélioration du rendement*". Les données fournies permettent de démontrer que la préparation Trianum P a un effet bénéfique sur le développement végétatif des plantes. En revanche, aucun effet significatif n'a été mis en évidence concernant une amélioration du développement racinaire. Par ailleurs, les résultats semblent montrer que la préparation Trianum P a un effet bénéfique sur le rendement. Toutefois, ces résultats devront être confirmés par des essais post-autorisation.

En conséquence, l'efficacité de la préparation Trianum P pour l'usage sur tomate a été démontrée pour l'amélioration du développement végétatif, et partiellement pour

l'amélioration du rendement. En revanche, elle n'a pas été démontrée pour l'usage sur tomates concernant l'amélioration du développement des racines.

#### **Laitue**

3 essais valides sur laitue ainsi qu'un essai sur jeunes plants ont été fournis. Les effets sur "*l'amélioration du rendement*" (2 essais) et sur "*l'amélioration du développement végétatif*" (1 essai) ont été évalués. Des effets intéressants ont été notés mais compte tenu du faible nombre d'essais et de l'absence d'analyse statistique dans les essais sur le rendement, il n'est pas possible de conclure sur le bénéfice apporté par le traitement avec la préparation Trianum P. Ainsi, l'efficacité de la préparation Trianum P pour l'usage sur laitue n'a pas été démontrée.

#### **Melon**

Un seul essai sur melon a été fourni. Dans cet essai, l'effet du double traitement Trianum G<sup>6</sup> + Trianum P sur "*l'amélioration du rendement*" a été évalué. Cependant, cet essai est considéré comme non valide compte tenu du protocole et de l'absence d'analyse statistique. Ainsi, l'efficacité de la préparation Trianum P pour l'usage sur melon n'a pas été démontrée.

#### **Haricot**

Un seul essai sur haricot a été fourni. Dans cet essai, le "*développement racinaire*", le "*développement végétatif*" ainsi que "*l'amélioration du rendement*" ont été mesurés. Le double traitement Trianum G + Trianum P a montré un effet bénéfique significatif sur tous les paramètres évalués. Ainsi, une efficacité potentielle de la préparation Trianum P pour l'usage sur haricot a été rapportée. Néanmoins, il conviendra de fournir des essais permettant de confirmer cette efficacité.

#### **Fraise**

Aucun essai sur fraise n'a été fourni avec la préparation Trianum P.

#### **Céleri**

Un seul essai sur céleri a été fourni. Cet essai avait pour but de mesurer le "*développement végétatif*". Cependant, compte tenu de son protocole, il est considéré comme non valide.

#### ❖ **Cultures ornementales**

Compte tenu de l'ensemble des données fournies sur les cultures ornementales, il apparaît que plusieurs expérimentations ne peuvent pas être validées et prises en compte pour l'évaluation de l'efficacité de la préparation Trianum P pour les raisons suivantes :

- absence des données brutes,
- absence d'un témoin non traité,
- absence d'analyse statistique (l'effet potentiel dû à l'utilisation de la préparation Trianum P peut seulement être supposé),
- évaluation visuelle des effets recherchés par des photographies qui ne sont pas représentatives de l'ensemble de la parcelle traitée.

Cependant, dans la mesure où les usages revendiqués sont en cours de création, et comme aucune méthode expérimentale officielle permettant d'évaluer l'effet d'une préparation sur la vitalité des plantes n'existe actuellement, l'efficacité de la préparation Trianum P sur différents paramètres représentatifs de la vitalité des plantes est évaluée en considérant globalement l'ensemble des résultats présentés.

Les conclusions de l'évaluation conduisent à considérer que :

- les différentes données apportées dans le dossier ne sont pas suffisantes (nombre d'essais insuffisants et mauvaise qualité des rapports) pour justifier la performance de la préparation Trianum P pour revendiquer certains effets correspondant à l'usage stimulation de la vitalité des plantes ;
- les résultats présentés révèlent une grande instabilité de la performance de la préparation Trianum P. De plus, au vu des résultats apportés, l'efficacité de la préparation ne peut pas être quantifiée.

<sup>6</sup> Préparation identique à la préparation Trianum P, mais se présentant sous la forme de granulés.

Un impact positif de l'utilisation de la préparation Trianum P est observé sur

- 45 % des espèces testées du point de vue de l'amélioration de l'enracinement (5 essais),
- 40 % des espèces testées du point de vue de l'amélioration de la croissance végétative (5 essais),
- 60 % des espèces testées du point de vue de l'amélioration de la floraison (5 essais).

Compte tenu de ces résultats, l'efficacité sur cultures ornementales concernant "*l'amélioration de la floraison*" est considérée comme acceptable. En revanche, l'efficacité sur cultures ornementales concernant l'amélioration du développement des racines et l'amélioration du développement végétatif n'a pas été démontrée.

❖ **Zones non agricoles et espaces verts**

Une publication traitant de l'effet de *Trichoderma harzianum* souche T22 sur les maladies du gazon a été fournie. Compte tenu de l'effet fongicide analysé, cet essai n'est pas recevable. En conséquence, l'utilisation de la préparation Trianum P comme fongicide sur gazon n'est pas acceptable.

❖ **PPAMC**

Aucune donnée sur PPAMC n'ayant été fournie, l'utilisation de la préparation Trianum P n'est pas acceptable sur ces cultures.

**Essais phytotoxicité**

Aucun essai spécifique n'est disponible. Cependant, aucun effet néfaste sur les plantes traitées avec la préparation Trianum P n'a été observé dans les essais d'efficacité.

**Effets sur le rendement, la qualité des plantes et produits transformés**

Aucun essai spécifique n'a été fourni. Les éventuels effets néfastes de l'utilisation de la préparation Trianum P sur la qualité des plantes traitées et sur le rendement ont été observés dans les essais d'efficacité. D'après ces essais, aucun effet néfaste sur le rendement et la qualité des plantes traitées n'est attendu.

Compte tenu des usages revendiqués, l'étude des effets sur les produits transformés n'est pas nécessaire.

**Effets secondaires non recherchés**

Aucun essai spécifique sur les effets d'un traitement avec la préparation Trianum P sur les rotations culturales ou les cultures adjacentes n'a été réalisé. Cependant, *Trichoderma harzianum*, souche T22, ayant été obtenue à partir d'une souche naturellement présente dans le sol, le risque d'effets néfastes sur les rotations culturales est considéré comme faible.

Par ailleurs, la préparation Trianum P étant appliquée directement sur le substrat, et compte tenu de sa présence dans le milieu naturel, les risques de phytotoxicité pour les cultures adjacentes sont considérés comme faibles.

Aucune donnée spécifique n'a été fournie concernant les effets de la préparation Trianum P sur les organismes auxiliaires et les organismes non-cibles. Cependant, la plupart des organismes auxiliaires étant à mode de vie aérien, aucun effet néfaste n'est attendu puisque *Trichoderma harzianum*, souche T22 se développe uniquement sur les racines des plantes traitées.

**Résistance**

Considérant que les usages revendiqués sont liés à l'amélioration de la vitalité des plantes, l'évaluation du risque d'apparition d'une résistance n'est pas pertinente.

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments estime que :

- A. Les caractéristiques physico-chimiques de la préparation Trianum P ont été décrites. Elles permettent de s'assurer de la sécurité de son utilisation dans les conditions d'emploi préconisées. Toutefois, compte tenu des résultats des études de stabilité au stockage, il

conviendra de stocker la préparation Trianum P à une température inférieure à 10°C pendant une durée n'excédant pas 1 mois. De plus, les conditions de stockage (durée, température et humidité) devront être clairement définies et mentionnées sur l'étiquette.

Les risques pour les applicateurs, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P pour les usages revendiqués, sont considérés comme acceptables uniquement avec port d'équipements individuels de protection (gants, vêtements de protection et masque anti-poussière) pendant les étapes de manipulation et d'application de la préparation. Les risques pour les personnes présentes sont considérés comme acceptables. Les risques pour les travailleurs sont considérés comme acceptables.

Les risques aigus et chroniques pour le consommateur liés à l'utilisation de la préparation Trianum P pour les usages revendiqués mentionnés à l'annexe 2, sont considérés comme acceptables.

Les risques pour l'environnement, liés à l'utilisation de la préparation Trianum P pour les usages revendiqués, sont considérés comme acceptables.

Les risques pour les organismes terrestres et aquatiques sont acceptables pour tous les usages revendiqués pour la préparation Trianum P.

**B.** Les données fournies ont permis de montrer une efficacité partielle de la préparation Trianum P pour les cultures légumières (concombre, tomate et haricot) et les cultures florales.

En l'absence d'essais d'efficacité sur zones non agricoles et espaces verts et PPAMC, l'utilisation de la préparation Trianum P n'est pas acceptable pour ces usages.

Pour tous les autres usages revendiqués, l'efficacité de la préparation Trianum P n'ayant pas été suffisamment démontrée, il conviendra de fournir en post-autorisation des essais en nombre suffisant afin de compléter les données d'efficacité, notamment sur aubergine, tomate, concombre, laitue, melon, haricot et fraise.

Compte tenu du mode d'application de la préparation Trianum P et du fait que *Trichoderma harzianum* est naturellement présent dans le sol, aucun effet néfaste n'est attendu sur les plantes traitées, le rendement, les rotations culturales, les cultures adjacentes et les organismes auxiliaires.

De plus, considérant l'effet revendiqué de la préparation Trianum P comme stimulateur de la vitalité des plantes, l'évaluation du risque de développement d'une résistance n'est pas pertinente.

**Classification<sup>7</sup>, de la préparation Trianum P, phrases de risque et conseils de prudence :**  
**Xn, R37 R42/43**  
**S22 S236/37**

Xn : Nocif

R37 : Irritant pour les voies respiratoires

R42/43 : Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau

S22 : Ne pas respirer les poussières

S36/37 : Porter un vêtement de protection et des gants appropriés

<sup>7</sup> Directive 1995/45/CE du Parlement européen et du Conseil du 31 mai 1999 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relative à la classification, à l'emballage et à l'étiquetage des préparations dangereuses.

### Conditions d'emploi

- Porter des gants, un vêtement de protection et un masque anti-poussière pendant les phases de manipulation du produit.
- Délai de rentrée : 48 heures.
- SP1 : Ne pas polluer l'eau avec le produit ou son emballage. [Ne pas nettoyer le matériel d'application près des eaux de surface. /Eviter la contamination via les systèmes d'évacuation des eaux à partir des cours de ferme ou des routes.].
- Limites maximales de résidus : non nécessaire (*Trichoderma harzianum*, souche T22 est inclus à l'annexe IV du règlement (CE) n° 396/2005<sup>8</sup>).
- Délais avant récolte : non pertinent.
- Stocker la préparation Trianum P à une température inférieure à 10°C pendant une durée n'excédant pas 1 mois.

### Etiquette

Il convient de supprimer les phrases suivantes :

- "Trianum P augmente la résistance des plantes au stress causé par les maladies";
- "...supprimant ou limitant ainsi le développement des champignons pathogènes du sol par une combinaison spatiale et nutritionnelle. Il a donc une action indirecte ou préventive à leur égard".

De plus, il convient de préciser : "une efficacité partielle sur la stimulation de la vitalité des plantes a été démontrée sur tomate, concombre, haricot et cultures florales".

En conséquence, considérant l'ensemble des données disponibles, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet un avis **favorable** pour l'autorisation de mise sur le marché de la préparation Trianum P pour les usages mentionnés "favorable" à l'annexe 2 et **défavorable** pour les usages mentionnés "défavorable".

La réflexion sur la définition des nouveaux usages revendiqués pour la préparation Trianum P est en cours dans le cadre d'un groupe de travail de la Commission des Essais Biologiques de l'AFPP<sup>9</sup>. Ce groupe a pour mission de proposer des méthodes expérimentales permettant d'évaluer les préparations phytopharmaceutiques vis-à-vis de leur efficacité sur la stimulation de la vitalité des plantes. Ces méthodes devraient être disponibles au cours de l'année 2009.

Ainsi, ces usages n'ont pas un caractère officiel et sont donc susceptibles d'être modifiés par les différentes instances en charge de l'évaluation et de l'autorisation des préparations phytopharmaceutiques.

**Pascale BRIAND**

**Mots-clés :** TRIANUM P, stimulateur de la vitalité des plantes, *Trichoderma harzianum*, souche T22 , WP, cultures ornementales, zones non agricoles et espaces verts, PPAMC, cultures légumières, PAMM

<sup>8</sup> List of active substances of plant protection products evaluated under Directive 91/414/EEC for which no MRLs are required, referred to in Article 5(1).

Règlement (CE) n°396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005, concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil (JOCE du 16/03/2005) et règlements modifiant ses annexes II, III et IV relatives aux limites maximales applicables aux résidus des produits figurant à son annexe I.

<sup>9</sup> Association française de protection des plantes.

## Annexe 1

## Liste des usages revendiqués pour la préparation Trianum P

Substance	Composition de la préparation	Dose de substance active
<i>Trichoderma harzianum</i> , souche T22	1,5 x 10 <sup>9</sup> UFC/g (11,5 g/kg)	De 2,25.10 <sup>9</sup> à 4,5.10 <sup>9</sup> UFC/m <sup>2</sup> (de 0,017 à 0,034 g/m <sup>2</sup> ) De 2,25.10 <sup>10</sup> à 4,5.10 <sup>10</sup> UFC/1000 plantes (de 0,17 à 0,34 g/1000 plantes)

Usages	Dose d'emploi	Nombre d'applications maximum	Intervalle entre les applications	Stade d'application (stade de croissance et saison)	Délai avant récolte (en jours)
Toutes cultures ornementales * Traitements du sol * stimulateur de la vigueur des plantes	Semis ou stade pépinière : 1,5 g/m <sup>2</sup> Culture : 3 g/m <sup>2</sup> (cultures sur sol plantées en ligne et plantes en pots qui se touchent entre elles) ou 30 g/ 1000 plantes (cultures en sol ou hors sol en ligne ou plantes en pots qui ne se touchent pas entre elles) pour la 1 <sup>ère</sup> application et 1,5 g/m <sup>2</sup> ou 15 g/ 1000 plantes pour les applications suivantes	1	10-12 semaines	Semis, stade pépinière ou pendant la culture Appliquer la PP à chaque rempotage ou transplantation	Non pertinent
Zones non agricoles et espaces verts * Traitement du sol * stimulateur de la vigueur des plantes					Non pertinent
PPAMC * Traitement du sol * stimulateur de la vigueur des plantes					Non pertinent
Toutes cultures légumières * Traitement du sol * stimulateur de la vigueur des plantes					Non pertinent
Toutes cultures légumières * Traitement du sol * Apport dans l'eau d'irrigation * stimulateur de la vigueur des plantes					Non pertinent

## Annexe 2

## Proposition d'avis pour les usages revendiqués pour la préparation Trianum P

Usages	Dose d'emploi	Nombre d'applications maximum	Intervalle entre les applications	Stade d'application (stade de croissance et saison)	Délai avant récolte (en jours)	Proposition d'avis
Toutes cultures ornementales * Traitements du sol * stimulateur de la <b>vitalité</b> des plantes	Semis ou stade pépinière : 1,5 g/m <sup>2</sup>  Culture : 3 g/m <sup>2</sup> (cultures sur sol plantées en ligne et plantes en pots qui se touchent entre elles) ou 30 g/ 1000 plantes (cultures en sol ou hors sol en ligne ou plantes en pots qui ne se touchent pas entre elles) pour la 1 <sup>ère</sup> application et 1,5 g/m <sup>2</sup> ou 15 g/ 1000 plantes pour les applications suivantes				Non pertinent	Favorable sur cultures florales uniquement
Zones non agricoles et espaces verts * Traitement du sol * stimulateur de la <b>vitalité</b> des plantes				Semis, stade pépinière ou pendant la culture	Non pertinent	Défavorable
PPAMC * Traitement du sol * stimulateur de la <b>vitalité</b> des plantes		Semis : 1 application  Culture : 1 à 3 applications (selon la durée de la culture)	10-12 semaines	Appliquer la PP à chaque rempotage ou transplantation	Non pertinent	Défavorable
Toutes cultures légumières * Traitement du sol * stimulateur de la <b>vitalité</b> des plantes					Non pertinent	Favorable sauf cultures racines
Toutes cultures légumières * Traitement du sol * Apport dans l'eau d'irrigation * stimulateur de la <b>vitalité</b> des plantes					Non pertinent	Favorable sauf sur cultures racines