



Projet de décision réglementaire

PRDD2002-01

Chondrostereum purpureum (HQ1)

(Ceci est une mise à jour du document PRDD2002-01 auquel on a apporté une correction terminologique. Cette modification du document original n'altère pas de façon significative son contenu. -- le 17 avril 2002)

En vertu de l'article 13 du Règlement sur les produits antiparasitaires, il est proposé d'homologuer la matière active de qualité technique (MAQT) *Chondrostereum purpureum* (HQ1) et sa préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}, qui contiennent le champignon d'occurrence naturelle *Chondrostereum purpureum*, souche HQ1, servant à l'inhibition de la formation de rejets de souche et du recrû sur les souches de certains feuillus laissées par l'abattage à l'intérieur des priorités de passage et dans les secteurs de dégagement des conifères.

Le présent document donne un résumé des données évaluées et la démarche logique derrière l'octroi proposé de l'homologation de ces produits, en vertu de l'article 13 du Règlement sur les produits antiparasitaires. L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire prendra connaissance des commentaires écrits, relatifs à cette proposition, jusque 45 jours après la date de publication de ce document. Vous êtes invités à transmettre vos commentaires à la coordonnatrice des publications, à l'adresse suivante.

(also available in English)

Le 4 janvier 2002

Ce document est publié par la Division de la documentation et de la coordination des demandes d'homologation, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

**Coordonnatrice des publications
Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Santé Canada
I.A. 6605C
2720, promenade Riverside
Ottawa (Ontario)
K1A 0K9**

**Internet : pmra_publications@hc-sc.gc.ca
www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou (613) 736-3799
Télécopieur : (613) 736-3798**

ISBN : 0-662-86617-7

Numéro de catalogue : H113-9/2001-7F-IN

© Sa Majesté la Reine du Chef du Canada, représenté par le Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2002

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa, Ontario K1A 0S5.

Avant-propos

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA), Santé Canada, a évalué la demande d'homologation de la pâte Myco-Tech^{MC} et de *Chondrostereum purpureum* (HQ1), fabriqués par la société Myco-Forestis.

La pâte Myco-Tech^{MC} est un produit utilisé pour l'aménagement de la végétation. Elle contient 9,1 % de *Chondrostereum purpureum* (HQ1), destiné à inhiber le recrû et la formation de rejets de souches de certains feuillus laissées par l'abattage à l'intérieur des priorités de passage et dans les secteurs de dégagement des conifères. L'agent microbien actif, soit la souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum*, est un champignon d'occurrence naturelle. Il s'agit d'un nouvel herbicide microbien à usage forestier au Canada.

On étudie de plus en plus les agents microbiens de lutte antiparasitaire comme moyens de remplacement des pesticides classiques puisqu'on les croit à l'origine d'un moindre risque, sur le plan de la santé humaine comme sur celui de l'environnement, que celui présenté par les pesticides classiques. La pâte Myco-Tech^{MC} est un produit présentant moins de risques que les pesticides chimiques utilisés pour l'aménagement de la végétation.

L'ARLA a procédé à l'examen des renseignements disponibles conformément à l'article 9 du Règlement sur les produits antiparasitaires et juge qu'ils permettent, aux termes du paragraphe 18b, de déterminer la sûreté, les qualités et la valeur de la matière active de qualité technique, *Chondrostereum purpureum*, souche HQ1, et de la préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}. L'Agence parvient à la conclusion que l'emploi conforme à l'étiquette du microorganisme entrant dans la composition de ces produits présente des qualités et une valeur répondant aux exigences du paragraphe 18c, et que ce microorganisme n'est pas à l'origine d'un risque inacceptable aux termes du paragraphe 18d du Règlement. À la lumière de ce qui précède, l'Agence propose d'accorder une homologation complète de l'emploi de la matière active de qualité technique, *Chondrostereum purpureum*, souche HQ1, et de la préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}, pour inhiber le recrû et la formation de rejets de souches de certains feuillus laissées par l'abattage à l'intérieur des priorités de passage et dans les secteurs de dégagement des conifères, conformément à l'alinéa 13c du Règlement sur les produits antiparasitaires.

Ces produits obtiennent de l'ARLA une homologation pour une période limitée d'un an afin que les éventuels utilisateurs aient accès à ce produit à moindre risque et que les personnes concernées aient l'occasion de participer à la décision finale d'homologation complète suite à la parution du présent document.

Table des matières

1.0	La matière active (m. a.), ses propriétés et ses usages	1
1.1	Description de la matière active et de ses impuretés	1
1.2	Propriétés physico-chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale	2
1.3	Détails relatifs aux utilisations	2
2.0	Méthodes d'analyse	4
2.1	Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'obtenu	4
2.1.1	Méthodes d'identification du microorganisme	4
2.1.2	Méthodes de détermination de la pureté des souches	5
2.1.3	Méthodes de définition du contenu du microorganisme dans le produit obtenu en vue de la préparation de la formulation	5
2.1.4	Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit préparé	6
2.1.5	Méthodes prouvant l'inexistence de pathogènes pour l'humain ou les mammifères	7
2.1.6	Méthodes pour déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du microorganisme	7
2.2	Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et de ses métabolites pertinents	7
3.0	Effets sur la santé humaine et animale	8
3.1	Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectivité	8
3.2	Hypersensibilité	9
3.3	Effets d'importance sanitaire pour les humains et pour les animaux, issus de leur exposition à la matière active ou à ses impuretés	9
3.3.1	Estimation de l'exposition professionnelle et occasionnelle	9
4.0	Résidus	10
4.1	Sommaire sur les résidus	10
5.0	Comportement et devenir dans le milieu	10
5.1	Sommaire du comportement et du devenir en milieu terrestre	10
5.1.1	Modélisation environnementale	10
5.1.2	Analyse génétique	12
5.1.3	Études sur l'hybridation	13
5.1.4	Conclusions	13
6.0	Effets sur les espèces non visées	14
6.1	Oiseaux	14
6.1.1	Exposition orale	14
6.1.2	Exposition pulmonaire, par inhalation, par injection	14

6.2	Poissons	15
6.2.1	Poissons d'eau douce	15
6.3	Arthropodes	15
6.3.1	Arthropodes terrestres	15
6.3.2	Arthropodes aquatiques	16
6.4	Invertébrés autres que les arthropodes	16
6.5	Végétaux	17
6.5.1	Végétaux aquatiques	17
6.5.2	Végétaux terrestres	18
6.6	Sommaire intégré de l'écotoxicité	18
6.7	Évaluation environnementale	19
7.0	Efficacité	20
7.1	Efficacité contre des espèces précises	20
7.2	Toxicité pour les plantes visées (à l'inclusion de différents cultivars) ou les produits dérivés de ces plantes (OCDE 7.4)	27
7.3	Compatibilité avec les pratiques d'aménagement en vigueur, à l'inclusion de la LAI	28
7.4	Contribution à l'atténuation des risques	28
7.5	Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle de la résistance	29
7.6	Conclusions	29
8.0	Considérations liées à la politique de gestion des substances toxiques	29
9.0	Décision réglementaire proposée	30
	Abréviations	31
	Références	33
Annexe 1	Tableau récapitulatif	35
	Tableau 1 Sommaire des études sur la toxicité et l'infectivité de Myco-Tech ^{MC} (<i>C. purpureum</i> HQ1)	35

1.0 La matière active (m. a.), ses propriétés et ses usages

1.1 Description de la matière active et de ses impuretés

Tableau 1.1-1 Détermination de la MAQT

Microorganisme actif	<i>Chondrostereum purpureum</i> , souche HQ1
Utilité	Mycoherbicide
Nom scientifique Rang taxonomique règne phylum embranchement classe ordre famille genre espèce souche	<i>Chondrostereum purpureum</i> souche Pouzar HQ1 <i>Eumycota</i> <i>Dikaryomycota</i> <i>Basidiomycotina</i> <i>Holobasidiomycetes</i> <i>Aphylliphorales</i> <i>Corticaceae</i> <i>Chondrostereum</i> <i>purpureum</i> HQ1
Renseignements relatifs à un brevet canadien :	En cours
Pureté nominale de la m. a. :	24,8 %
Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre :	Le produit de qualité technique ne contient aucune impureté ni aucun microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la PGST. Aucun contaminant microbiologique n'est acceptable dans la préparation commerciale et ni <i>C. purpureum</i> ni ses proches parents de la famille des <i>Corticaceae</i> ne sont réputés produire de toxines actives contre les mammifères.

1.2 Propriétés physico-chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale

Tableau 1.2-1 **Produit de qualité technique : *Chondrostereum purpureum* (HQ1) — Suspension mycélienne**

Propriétés	Résultats
État physique	suspension liquide
Densité	1,025 g/ml
Viscosité	pas encore mesurée
Pouvoir corrosif	non corrosif
Mouillabilité	S. O.
Suspension / teneur en eau	suspension totale / 98 %

Tableau 1.2-2 **Préparation commerciale : Pâte Myco-Tech^{MC}**

Propriétés	Résultats
État physique	solide/gel
Densité	1,09 g/ml
Viscosité	pâte ou gel épais (semblable à la mayonnaise)
Pouvoir corrosif	Pas de pouvoir d'oxydation ou de réduction
Mouillabilité	S. O.
Teneur en humidité	environ 72 %

1.3 Détails relatifs aux utilisations

La pâte Myco-Tech^{MC} est une formulation contenant des fragments viables de mycélium du champignon *Chondrostereum purpureum*, souche HQ1. Elle est destinée à être appliquée aux souches de végétaux nuisibles à feuilles caduques coupés depuis peu dans les priorités de passage (catégorie d'utilisation 16 et dans les secteurs de dégagement des conifères (catégorie d'utilisation 4). Ce produit est conçu pour une dose minimale de 10⁵ colonies/ml à raison de 0,5 à 2 ml de la pâte par souche, selon le diamètre des souches. Le Myco-Tech^{MC} est appliqué en couche mince sur la surface coupée des souches dans les 30 minutes suivant la coupe. Ce produit est offert à titre d'inhibiteur du recrû et de la formation de rejets sur les souches d'espèces tels que le bouleau, le cerisier de Pennsylvanie, le peuplier, l'érable rouge, l'érable à sucre et l'aulne rugueux dans les régions de forêt mixte et de forêt boréale du Canada, à l'est des Rocheuses. Ce produit

sera mis en marché en contenants de plastique de 0,5 à 4 L. La souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum* a été isolée sur une souche infectée naturellement de bouleau à papier (*Betula papyrifera*) près de Ste-Agathe au Québec en 1992. Cet organisme est trouvé à l'état sauvage et il n'a pas été génétiquement modifié.

Chondrostereum purpureum est un basidiomycète lignicole communément trouvé dans les forêts de feuillus des régions tempérées. C'est un pathogène trouvé sur différents arbres à feuilles caduques comme *Acer*, *Aesculus*, *Alnus*, *Betula*, *Crataegus*, *Fagus*, *Larix*, *Malus*, *Ostrya*, *Picea*, *Populus*, *Prunus*, *Salix* et *Sorbus*. *Chondrostereum purpureum* est l'agent responsable de ce qui est désigné sous le nom de la maladie du plomb parasitaire (coloration plombée ou argentée des jeunes feuilles). À l'occasion, il est aussi un saprophyte du conifère *Abies balsamea*. Toutefois, personne n'a jamais signalé qu'il causait des maladies chez les conifères. Il est ubiquiste au Canada et il est commun aux E.-U., vers le sud, jusqu'au Delaware du côté est et jusqu'en Oregon du côté ouest. Au Canada, des carpophores ont été prélevés dans différents types de couvert forestier ainsi que dans des secteurs urbains et des régions agricoles où sont représentées toutes les écozones microbiennes sauf une (l'écozone 3). On trouve également ce champignon dans les empilements de bois, les secteurs d'éclaircies sylvicoles et les arbres morts depuis peu. C'est un colonisateur primaire des tissus nouvellement exposés par l'élagage ou par des dommages causés par le vent, la foudre et les gélivures. En outre, les arbres soumis à un stress sont beaucoup plus susceptibles à la maladie du plomb parasitaire que les arbres vigoureux et en bonne santé. Il existe de considérables différences de susceptibilité à cette maladie entre les espèces et les variétés.

Chondrostereum purpureum se propage au moyen de basidiospores transportées dans l'air. Elles sont émises en grande quantité après des pluies importantes. Cela constitue une stratégie efficace pour envahir tôt du bois d'aubier exposé. Il envahit le xylème des hôtes susceptibles en pénétrant par des blessures récentes. À l'intérieur de l'hôte, il déjoue ses mécanismes de défense en se propageant rapidement dans tout le xylème. Il arrive souvent que le mycélium obstrue les vaisseaux et qu'il soit ainsi à l'origine d'un stress hydrique. À son tour, celui-ci est à l'origine de nombreux symptômes apparaissant en cascade. Une perte d'alimentation en eau conduit à une perte de turgescence cellulaire. À son tour, cet effet peut provoquer une fermeture des stomates, inhiber la croissance et ralentir la photosynthèse. Ces changements métaboliques peuvent accélérer la respiration et donner lieu à la destruction des membranes cellulaires, à la dénaturation de protéines, à des changements ultrastructuraux et à la mort de cellules.

Ce champignon excrète aussi divers composés phytotoxiques à l'origine de la maladie du plomb parasitaire. Ce sont notamment des sterpurènes (sesquiterpènes) et un groupe d'isozymes exerçant une activité du type endopolygalacturonase. Les sterpurènes, à l'inclusion de l'acide sterpurique, du stérépolide et du dihydrostérépolide, sont transportés jusqu'aux feuilles où ils provoquent l'apparition de symptômes de toxicité tel que leur jaunissement. Beaucoup d'autres sterpurènes ont été isolés chez *C. purpureum*; cependant ils n'ont pas été testés individuellement quant à leur phytotoxicité. Les enzymes de type endopolygalacturonase sont responsables de la coloration plombée ou

argentée des feuilles atteintes. Elles sont transportées jusqu'aux feuilles et y dégradent apparemment des constituants des membranes cellulaires. Cela a pour effet que le parenchyme palissadique se détache de l'épiderme. Sur les feuilles malades, l'espace laissé entre ces deux tissus se remplit d'air. La structure cellulaire altérée est à l'origine d'une réflexion irrégulière de la lumière qui donne la coloration plombée caractéristique. Lorsque l'infection est grave, les feuilles meurent sous l'effet du stress hydrique et sous l'action des toxines.

Normalement, les carpophores sont produits entre un et trois ans suivant l'infection. Chacun d'eux peut produire un grand nombre de basidiospores qui peuvent être transportées sur de grandes distances par le vent. Ces spores peuvent infecter des feuillus situés à proximité ou des arbres poussant dans des vergers. La pluie et l'humidité relative agissent de manière importante sur le développement des carpophores et sur l'émission des spores. Il n'y aura pas de formation de carpophores sur tous les arbres infectés. Les carpophores peuvent survivre à la dessiccation pendant 12 à 14 mois sans que leur viabilité ou leur capacité de production de spores soient affectées.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'obtenu

2.1.1 Méthodes d'identification du microorganisme

Afin de distinguer la souche HQ1 d'autres souches étroitement apparentées de *C. purpureum*, le demandeur d'homologation fait appel à un certain nombre de méthodes différentes. L'analyse des régions polymorphes amplifiées de l'ADN à l'aide de séquences aléatoires (RAPD) est la méthode qui fait autorité pour identifier la matière active microbienne. Elle détecte directement les polymorphismes de l'ADN en générant au hasard des fragments d'ADN comportant des codons d'initiation spécifiques de 10 paires de bases (10-mères) qui sont ensuite séparés par électrophorèse sur gel d'agarose. Les deux codons d'initiation suivants produisent des amplicons (fragments d'ADN) spécifiques à la souche HQ1 : il s'agit de l'OPJ15 et de l'OPS13. L'amplification à partir de ceux-ci produit deux fragments de 540 (OPJ15₅₄₀) et de 700 (OPS13₇₀₀) paires de bases. Un troisième fragment de 580 paires de bases, obtenu à partir du codon d'initiation OPJ15 et désigné par le sigle OPJ15₅₈₀, est aussi spécifique à cette souche, mais il n'est pas constamment détecté sur les gels d'agarose.

De plus, le demandeur d'homologation procède à une caractérisation phénotypique qui lui permet de vérifier des traits morphologiques caractéristiques des colonies, notamment la pigmentation, les caractéristiques optiques, la hauteur, la croissance, la texture, la consistance et le mode de croissance sur la gélose dextrosée à la pomme de terre en boîte de Pétri.

2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des souches

La souche mère est conservée dans des ampoules stériles placées dans l'azote liquide. Les stocks de travail sont préparés à partir de la souche mère en repiquant chacun des trois blocs mycéliens sur de la gélose dextrosée à la pomme de terre (à laquelle on ajoute de la streptomycine et de la chlortétracycline afin d'inhiber la prolifération bactérienne) en boîtes de Pétri distinctes. La période d'incubation est de 5 à 7 jours avant que le mycélium de l'une des trois boîtes soit coupé en blocs et transféré dans des ampoules placées dans l'azote liquide (souches de travail). Ensuite, une souche de travail est utilisée pour chaque lot de production. Avant de passer à l'étape de la conservation, les cultures dérivées des souches de travail sont soumises à un grand nombre d'épreuves de contrôle de qualité, pour vérifier notamment la viabilité, la pureté microbiologique, les caractéristiques phénotypiques et, périodiquement, l'intégrité génotypique par RAPD portant sur les deux codons d'initiation de 10-mères dont il a été question en 2.1.1. La RAPD est effectuée sur une culture par lot de 50 cultures du stock de travail et elle est effectuée sur des échantillons prélevés au cours de deux étapes du procédé d'obtention du produit. À cette fréquence d'essai, l'analyse de l'ADN est effectuée sur 2 % de tous les lots de production.

2.1.3 Méthodes de définition du contenu du microorganisme dans le produit obtenu en vue de la préparation de la formulation

Différentes méthodes sont appliquées pour s'assurer de la pureté de la culture de ce microorganisme lors du procédé d'obtention et de la préparation de la formulation. En premier lieu, on procède à un examen par observation directe de la morphologie des colonies après l'inoculation de la culture de travail sur de la gélose dextrosée à la pomme de terre dans des boîtes de Pétri, pour vérifier si les caractéristiques prises par le mycélium (pigmentation, caractéristiques optiques, hauteur, texture) sont caractéristiques de celles de la souche HQ1. Cet examen se répète à plusieurs autres étapes de l'obtention industrielle du produit, notamment à la préparation des inoculums primaires et secondaires et au dernier stade de croissance du lot de production. Un autre essai sur la viabilité est réalisé sur gélose dextrosée à la pomme de terre. Il sert à évaluer la vitesse de croissance du mycélium. Il est effectué à la fin de chaque étape du procédé d'obtention industrielle du produit, à l'inclusion de la préparation commerciale qui est prête. On détermine s'il y a une contamination bactérienne à différents stades de production, notamment à celle de la préparation commerciale qui est prête, pour s'assurer qu'il n'y a pas de microorganismes bactériens présents. Cet essai est réalisé sur une gélose de numération sur plaque normalisée. La détection de toute bactérie provoque la destruction du lot de production. Cependant, si la moindre modification est apportée au protocole de manière à ce que de faibles degrés de contamination peuvent ne pas résulter en la destruction du lot, le demandeur d'homologation devra mettre en place des méthodes appropriées d'identification et de numération des contaminants. Il faudra avoir recours à des milieux sélectifs pour déceler les contaminants microbiens potentiels, à l'inclusion des mésophiles totaux, des streptocoques fécaux et des entérocoques, des coliformes totaux, des coliformes fécaux, des staphylocoques, des salmonelles ainsi que des levures

et des champignons dans les lots de production de Myco-Tech^{MC}. De plus, il faudra procéder à des essais biochimiques pour identifier les colonies présentant des morphologies différentes sur les géloses sélectives afin d'assurer l'intégrité des cultures de production. Lorsque les essais biochimiques donneront des résultats ambigus, il faudra réaliser d'autres essais (comme l'analyse des acides gras) afin d'obtenir des résultats de confirmation. Des limites d'acceptabilité seront alors définies en fonction de chacun des contaminants identifiés dans la préparation commerciale. Cependant, chaque lot doit être exempt de pathogènes primaires chez l'humain et les mammifères.

Un essai biologique sur de petites tiges d'arbres est aussi réalisé à la fin du procédé d'obtention du produit pour confirmer la viabilité et l'infectivité de *C. purpureum*. La méthode comprend l'inoculation de suspensions mycéliennes ou de la préparation finale dans la face tranchée depuis peu de petites tiges ou de segments de branches de bouleau (de 8–10 cm de diam. et de 15 cm de long). Ensuite, on contrôle la progression des symptômes de la maladie. Cinq jours après l'inoculation, on aperçoit une décoloration distincte et le brunissement du xylème chez les cas positifs d'infection, symptômes qui progressent vers l'intérieur avec le temps. À cause de différences dans le bois (pourcentage d'humidité et stade de croissance), les comparaisons entre les essais réalisés à différentes dates sont moins fiables que celles d'essais effectués au cours d'une même journée. Il s'agit donc d'une mesure subjective de la capacité d'infection de bouts de bois que présente la substance à l'essai. La vitesse de propagation chez les cas positifs d'infection varie ordinairement entre 0,3 et 1,0 cm par jour.

L'activité de la suspension de la matière active de qualité technique est aussi exprimée en colonies (cfu) par unité de volume ou en masse de la préparation commerciale en pâte après l'inoculation sur des géloses de malt. Cette méthode permet de mesurer la viabilité de la souche HQ1, et la préparation commerciale doit contenir au moins $1,0 \times 10^5$ cfu/ml pour pouvoir être commercialisée.

2.1.4 Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit préparé

Ni *C. purpureum* ni ses proches taxonomiques de la famille des *Corticaceae* n'ont été impliqués à titre de producteurs potentiels de toxines pour les mammifères. Le mode d'action de *C. purpureum* comme agent phytopathogène est en partie attribué à sa capacité d'excréter des toxines pour les végétaux qu'on appelle des sesquiterpénoïdes ou leurs dérivés. Personne n'a jamais signalé que l'un des composés susceptibles d'être produits dans les bouillons de culture de *C. purpureum* peut être toxique pour les mammifères. Par conséquent, on juge qu'il n'est pas nécessaire d'appliquer des méthodes d'analyse pour la détection et le dosage de ces composés dans les préparations contenant la souche HQ1. En outre, il n'a jamais été question que *C. purpureum* puisse produire des génotoxines.

Les sections 2.1.1 et 2.1.3 décrivent les méthodes de détermination de la présence de contaminants bactériens et de variants génétiques au sein de la souche HQ1.

2.1.5 Méthodes prouvant l'inexistence de pathogènes pour l'humain ou les mammifères

Il en a été question plus tôt, le programme d'assurance de la qualité de la MAQT et de la préparation commerciale qui est mis en application par le demandeur d'homologation prévoit la destruction de tout lot de production s'il décèle de la contamination pendant la fabrication. Si des changements étaient prévus en vue de faire accepter un faible degré de contamination, il faudrait que le demandeur se conforme aux mesures de contrôle de la qualité exigées par l'ARLA, notamment l'emploi de milieux sélectifs pour déceler et dénombrer les mésophiles totaux, les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les entérocoques, les staphylocoques, les salmonelles ainsi que les levures et les champignons, au moyen de méthodes et de critères conformes à des normes internationales telles que celles décrites par la Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments (ICMSF).

2.1.6 Méthodes pour déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du microorganisme

Beaucoup de méthodes servent à évaluer la stabilité du microorganisme à l'entreposage. Les études portant sur l'entreposage comprennent l'essai sur la croissance sur une gélose dextrosée à la pomme de terre, le contrôle de contaminants bactériens sur une gélose de numération sur plaque normalisée, l'essai biologique sur de petites tiges de bois pour déterminer la viabilité et l'infectivité et l'essai sur l'activité exprimée en colonies par inoculation sur des géloses de malt. Les normes minimales d'efficacité ont été atteintes avec cinq lots de production de pâte Myco-Tech^{MC} conservés à 2– 6 °C pendant onze semaines.

2.2 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables ou non) du microorganisme actif et de ses métabolites pertinents

Aucune méthode de quantification des résidus de microorganismes appartenant à la souche HQ1 dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale n'est requise. Les résultats des essais sur les effets sur la santé et sur la sûreté du produit révèlent que le produit est à l'origine de peu de toxicité aiguë par la voie orale. Les renseignements sur la caractérisation du produit indiquent peu de potentiel de production de toxines pour les mammifères. Bref, la souche HQ1 n'atteint pas les critères stipulant l'établissement de limites maximales de résidus (LMR). En outre, l'emploi de ce produit exclusivement sur des feuillus rend inutile l'exigence de méthodes d'analyse des résidus de microorganismes de la souche HQ1 dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale.

Les méthodes d'analyse appliquées à la détection de résidus viables des organismes de la souche HQ1 dans des tissus de personnes ou d'animaux comprennent une étape d'homogénéisation de tissus et d'extraction sur des géloses non sélectives. La gélose de malt est un milieu adéquat d'isolement à partir de tissus « stériles » de rat (p. ex., poumons) alors que la gélose Martin convient très bien à l'isolement et à la numération des organismes de la souche HQ1 à partir de l'estomac, du caecum et du tractus intestinal.

Aucune méthode d'analyse n'est requise pour les toxines et les métabolites dans les aliments destinés à la consommation humaine ou animale ou dans d'autres substrats, même s'il existe des articles décrivant de telles méthodes.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

3.1 Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectivité

L'ARLA a examiné les études sur la toxicité aiguë et sur l'infectivité qui ont été présentées en vue de l'homologation de la souche HQ1 de *C. purpureum* et de la pâte Myco-Tech^{MC}, et elle a déterminé que ces études sont complètes et acceptables. La souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum* exerce peu de toxicité aiguë chez des sujets du rat exposés par gavage. Elle n'exerce pas d'effet pathogène chez le rat par injection intrapéritonéale. La pâte Myco-Tech^{MC} exerce peu de toxicité aiguë chez des lapins exposés par la voie cutanée pendant 24 h. Elle n'est pas irritante pour la peau des lapins exposés pendant 4 h. Il n'est pas nécessaire de présenter d'études sur l'irritation aiguë des yeux pour les préparations commerciales microbiennes puisqu'on prévoit que ce sont toutes des substances irritantes bénignes et aux effets réversibles pour les yeux. Les préoccupations relatives aux risques d'irritation des yeux trouvent leur réponse dans des avertissements adéquats sur les étiquettes et dans l'obligation de porter des lunettes de protection pour les personnes qui appliquent ces produits. Le demandeur a été exempté de présenter une étude sur la toxicité aiguë par inhalation à cause des faibles risques d'exposition par cette voie au moment de l'application du produit (voir en 3.3).

Quant aux effets possibles sur le système endocrinien, il n'existe ni rapport ni indication dans la littérature scientifique susceptible de laisser penser que la souche HQ1 de *C. purpureum* contenue dans la pâte Myco-Tech^{MC} ait exercé, ou puisse exercer, des effets nocifs sur le système endocrinien animal. En outre, rien n'indique dans les ouvrages scientifiques répertoriés que *C. purpureum* pourrait produire des génotoxines.

Les produits de formulation de la pâte Myco-Tech^{MC} ne sont à l'origine d'aucune préoccupation toxicologique.

3.2 Hypersensibilité

La recherche portant sur l'évaluation de la souche HQ1 de *C. purpureum* et sur la mise au point de la pâte Myco-Tech^{MC} à utiliser comme produit d'aménagement de la végétation a été lancée en 1992. Depuis cette date, aucune des 45 personnes qui ont pu être exposées à cette souche par contact cutané direct ou par inhalation n'a signalé de réactions d'hypersensibilité.

Dans les ouvrages scientifiques répertoriés, il n'existe aucune mention d'effets nocifs attribuables à l'exposition de personnes à *C. purpureum*. Cependant, il existe de nombreuses références à l'induction de réactions d'allergie consécutive à l'exposition à des spores fongiques d'autres espèces. Dans la plupart des cas, il s'agit de spores d'ascomycètes et de champignons imparfaits. Quoiqu'il en soit, on a identifié au moins 25 espèces de basidiomycètes produisant des spores à l'origine de réactions allergiques. Mais la pâte Myco-Tech^{MC} contient le mycélium de la souche HQ1 de *C. purpureum* et, selon les ouvrages scientifiques répertoriés, le mycélium produit ordinairement des réactions cutanées plus atténuées que les spores. En prenant pour hypothèse que la plupart des microorganismes contiennent des substances à l'origine de réactions d'hypersensibilité chez les personnes, on peut supposer que la souche HQ1 de *C. purpureum* est un agent de sensibilisation potentiel.

3.3 Effets d'importance sanitaire pour les humains et pour les animaux, issus de leur exposition à la matière active ou à ses impuretés

3.3.1 Estimation de l'exposition professionnelle et occasionnelle

Tel que mentionné en 1.3, la souche HQ1 de *C. purpureum* est proposée comme produit d'application topique en pâte sur des souches de feuillus coupées peu de temps auparavant. Selon le projet d'étiquette, le traitement d'une superficie d'un hectare où la densité moyenne des souches serait comprise entre 20 000 et 30 000 souches/ha, prendrait 20 à 30 l de produit, soit environ 1 ml par souche, selon le diamètre de la souche. Lorsque la superficie à traiter serait limitée, la pâte pourrait être appliquée à la main au moyen d'une lame (p. ex., une spatule) pour traiter complètement les souches. Sur de grandes superficies, la pâte devrait être appliquée au moyen d'un applicateur à basse pression conçu pour l'application directe du produit par extrusion sur la surface coupée des souches. Le demandeur d'homologation signale en outre que d'autres dispositifs d'application de la pâte (à la consistance d'une gelée) sont étudiés. Il signale aussi que tous ces dispositifs sont axés sur une forme ou sur une autre d'application topique. Lorsqu'il manipule le produit conformément au mode d'emploi figurant sur l'étiquette, l'utilisateur risque seulement d'être exposé par la voie cutanée. Un à trois ans après l'infection des souches avec le produit, les risques d'exposition (occasionnelle) s'élèvent de manière importante au moment de la fructification. Ces risques sont attribuables à la possibilité d'inhaler des basidiospores émises dans l'air. Cependant, l'introduction délibérée de la matière active dans le milieu risque peu d'augmenter de façon sensible la concentration naturelle de basidiospores produites par cette espèce puisqu'elle est

abondante partout au Canada. De plus, on pense que la plupart des applications commerciales à grande échelle se feront dans des régions forestières éloignées. Même en contexte résidentiel et à petite échelle (p. ex. en zone urbaine), où cette espèce est peut-être moins abondante, la concentration des basidiospores de *C. purpureum* produites ne devrait pas s'élever beaucoup au-dessus de la concentration naturelle locale.

L'exposition par la voie orale, c.-à-d. par ingestion, est improbable. Bien que *C. purpureum* soit un basidiomycète, on considère généralement qu'il n'est pas comestible à cause de sa chair rare et de sa texture coriace et raide, plutôt qu'à cause de raisons d'ordre toxicologique. Il est cependant étroitement apparenté aux espèces appartenant au genre *Stereum* et à d'autres membres de la famille des *Corticaceae*, qui sont utilisés dans certaines cultures à des fins médicinales.

Même s'il est improbable que l'exposition directe, professionnelle ou occasionnelle, à la pâte Myco-Tech^{MC} puisse exercer des effets nocifs, il est recommandé que les personnes qui appliquent ce produit se conforment aux mesures de protection standard en portant le matériel de protection personnelle approprié, notamment des gants et des lunettes de protection, pour la manutention de ce produit.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire sur les résidus

Le produit Myco-Tech^{MC} sera administré en pâte par application topique sur la surface coupée depuis peu des souches de bouleau (spp.), de cerisier de Pennsylvanie, de peuplier, d'érable rouge, d'érable à sucre et d'aulne rugueux dans les priorités de passage et dans les plantations de conifères. La souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum* ne sera pas appliquée à des cultures vivrières (aliments destinés à la consommation humaine ou animale). On estime donc que l'exposition par cette voie est improbable.

5.0 Comportement et devenir dans le milieu

5.1 Sommaire du comportement et du devenir en milieu terrestre

5.1.1 Modélisation environnementale

Le demandeur d'homologation a présenté différentes études décrivant en détail des modèles environnementaux appliqués à l'estimation des risques associés à l'utilisation de *C. purpureum* comme herbicide biologique. Ces études sont fondées sur une combinaison de données empiriques et de résultats de calculs. Tous les modèles reposent sur certaines hypothèses tels que l'incidence des cas d'infection réussie de souches traitées par inoculation, ou le degré de risque acceptable, afin de parvenir à diverses conclusions.

Quant au degré de risque acceptable, des articles soumis conformément à la partie M2, *Caractérisation et analyse du produit*, tentent d'établir un lien entre la concentration de l'inoculum et l'infection des hôtes. (Il n'y a pas eu d'examen critique de ces articles). Dans une étude initiale (1969), Grosclaude a observé une incidence des cas d'infection d'environ 80 % sur des pruniers auxquels il avait inoculé 22–44 ou 438 spores au niveau de blessures, tandis que l'inoculation de 4 380, 43 800 ou 392 000 spores avait donné lieu à un taux d'infection inférieur à 10 %. Cependant, dans une étude postérieure, Spiers et Hopcroft (1988) signalent qu'un taux d'infection de 100 % est possible à toutes les concentrations d'inoculation. La dose infectieuse n'a donc pu être établie.

Dans l'étude de Goulet (1998), les profils d'émission et de dispersion des spores étaient prédits tous deux par un modèle épidémiologique opérationnel (MEO). L'auteur de l'article parvient à la conclusion que des arbres blessés qui pouvaient être situés jusqu'à 2 km sous le vent de l'emplacement d'un traitement pouvaient être à risque. Cependant, les prédictions du MEO n'ont pas été validées par des données empiriques et la prédiction à l'effet que la concentration moyenne quotidienne la plus élevée de spores ne serait pas observée dans la direction du vent dominant remet en cause la pertinence du modèle. De plus, le seuil maximal de densité des spores et les valeurs attribuées à la concentration moyenne quotidienne la plus élevée de spores ont été choisies de manière extrêmement prudente, au point que l'estimation des risques constitue sans doute une surestimation.

De Jong *et al.* (1990) ont estimé les risques d'une manière plus empirique. Dans leur étude, ils ont mesuré l'émission de spores en s'appuyant sur un modèle gaussien des panaches (MGP) de dispersion des spores. En se fondant sur des données de dispersion des spores applicables à seulement 9 % des jours et sur un risque limite d'infection de seulement 19 %, ils ont trouvé que les arbres non visés et situés dans un rayon de 500 m de l'emplacement d'un traitement seraient exposés à un risque réel tandis que ceux situés à 5 000 m seraient exposés à un risque négligeable. Un examen attentif des données montre que le modèle prédit une densité de spores à 500 comme à 5 000 m de $< 1 \text{ spore/m}^3$ pour la majorité des jours. On considère que cette densité ne suffit pas pour causer l'infection. Une fois encore, la manière dont les risques ont été estimés conduit probablement à une surestimation. De plus, les données d'intrant environnementales du MGP sont caractéristiques des conditions observées aux Pays-Bas, qui devraient donner lieu à un taux de sporulation plus élevé que celui obtenu dans les conditions observées au Canada.

Les conditions au Canada ont été estimées dans le cadre d'une deuxième étude par De Jong *et al.* (1996), qui a été réalisée en Colombie-Britannique. Ils n'ont pas tenu compte des profils d'émission et de dispersion des spores, ce qui a permis d'éliminer une composante de l'estimation des risques couramment fondée sur des modèles environnementaux. Ils ont plutôt considéré uniquement la fructification, présumément en prenant comme hypothèse que s'il se produit une hausse de la fructification, la densité des spores va aussi augmenter. Ils ont relevé la fructification naturelle dans des parcelles à fructification aléatoire (c.-à-d. des peuplements sains) et dans des parcelles à fructification non aléatoire (composées d'arbres portant un nombre élevé de blessures).

La fréquence significativement plus élevée de la fructification naturelle dans des parcelles à fructification non aléatoire (73 - 100 %), à comparer aux autres parcelles, montre que les blessures, et non pas la densité des spores, constituent le principal facteur d'infection. Ces chercheurs ont estimé que le degré ajouté de fructification attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* est du même ordre de grandeur ou moins que celui de la fructification naturelle.

5.1.2 Analyse génétique

L'analyse des régions polymorphes amplifiées de l'ADN (RAPD) et celle du polymorphisme de restriction (RFLP) ont servi à déceler les variations génétiques entre des isolats de *C. purpureum* et à étudier le devenir de souches employées de *C. purpureum* à mesure qu'elles entrent en interaction avec des populations locales.

À partir de variations au niveau de la grande région d'ADN espaceur non transcrit (NTS-L) de l'unité de répétition de l'ADN ribosomal, détectées par analyse RFLP, Ramsfield *et al.* (1996) ont déterminé l'existence de deux types géographiquement distincts d'ADN nucléaire en Amérique du Nord. L'analyse RFLP décèle des variations dans une petite région du génome et c'est pourquoi elle est moins sensible aux variations que l'analyse RAPD, celle-ci pouvant déceler des variations dans l'ensemble du génome. En réalité, les sous-populations de *C. purpureum* (c.-à-d. de l'Est, de l'Ouest et de la partie centrale) pourraient être davantage hétérogènes que ce qui est présenté dans ce rapport.

Dans deux études, Gosselin *et al.* (1995 et 1999a) ont appliqué l'analyse RAPD à l'évaluation de la variation génétique entre des isolats de *C. purpureum* provenant du Québec et d'autres provenant d'écozones canadiennes (écozones 1, 2, 4 et 5). Ils n'ont identifié aucun marqueur RAPD spécifique à des espèces hôtes ou ayant une origine régionale. Ces chercheurs ont constaté une plus grande diversité à l'intérieur des écozones et de petites régions qu'entre les écozones et à l'intérieur de grandes régions. Contrairement à l'analyse RFLP, ces études montrent que les populations de *C. purpureum* sont fortement hétérogènes.

Gosselin *et al.* (1999b) ont ensuite examiné le devenir des souches utilisées de *C. purpureum*. Comme l'avaient constaté De Jong *et al.* (1996), ces chercheurs ont observé une incidence beaucoup plus grande de la maladie (environ 15 %) dans les parcelles d'étude où des arbres étaient endommagés, que dans les parcelles abritant des peuplements sains (0,3 %). Cela nous apprend que l'endommagement des arbres est le principal facteur d'infection. Même si l'analyse RAPD a déterminé qu'au moins 85 % des infections ne sont pas attribuable aux souches utilisées de *C. purpureum*, leur impact a pu être sous-estimé puisque les arbres des régions aménagées avaient été coupés, selon toute logique, avant l'émission des spores.

Becker *et al.* (1999) ont eux aussi étudié le devenir d'une souche utilisée de *C. purpureum*. Malgré le fait que l'inexistence d'infections secondaires par la souche utilisée pointe vers le très faible risque d'une infection des arbres non visés, il demeure que les résultats de l'étude ne sont pas non plus concluants puisque le potentiel d'infections secondaires a été testé avant la période théorique d'apparition des carpophores et d'émission des spores de la souche utilisée.

5.1.3 Études sur l'hybridation

Des isolats à spore unique de *C. purpureum* s'hybrident facilement (Gosselin *et al.*, 1995; Wall *et al.*, 1996). Compte tenu des nombreuses variations génétiques entre les isolats de *C. purpureum*, l'utilisation d'un seul isolat, celui du Myco-Tech^{MC}, verra cet isolat intégré à la population locale et ses gènes être dilués dans le pool génétique de cette population.

5.1.4 Conclusions

La matière active, *C. purpureum*, est un organisme ubiquiste dont la population est distribuée uniformément d'un bout à l'autre du Canada. La très grande diversité génétique et la tendance à l'exogamie des isolats de *C. purpureum* signifient que l'utilisation d'un seul isolat au Canada aura très peu d'effet sur les populations locales.

C. purpureum a été utilisé aux Pays-Bas pendant de nombreuses années et n'a jamais fait l'objet de rapports évoquant des effets nocifs exercés par cet organisme sur l'environnement. Les Pays-Bas ont interdit son application dans un rayon de 500 m autour des vergers, cependant un examen critique des ouvrages scientifiques répertoriés dans la demande montre qu'il n'est pas nécessaire d'établir une zone tampon. La décision des Pays-Bas est sans doute fondée sur une étude réalisée par De Jong *et al.* (1990) dont les hypothèses de travail penchaient considérablement vers une surestimation des risques et dont les méthodes de travail faisaient une large part à la modélisation environnementale. Les études davantage fondées sur des données empiriques (De Jong *et al.*, 1996; Gosselin *et al.*, 1999b) montrent en premier lieu que le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à *C. purpureum* sera du même ordre de grandeur ou moindre que celui de l'abondance naturelle de spores. Deuxièmement, elles montrent que l'endommagement des arbres, plutôt que l'abondance des spores, est le principal facteur d'infection. Par conséquent, il est inutile d'établir des zones tampons puisque les arbres non visés en bonne santé sont peu susceptibles tandis que les arbres en mauvaise santé sont susceptibles d'être infectés de toute manière par les populations locales de *C. purpureum*.

6.0 Effets sur les espèces non visées

6.1 Oiseaux

6.1.1 Exposition orale

6.1.2 Exposition pulmonaire, par inhalation, par injection

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des oiseaux par la voie orale et par la voie pulmonaire, par inhalation ou par injection. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable aux applications de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}. L'utilisation proposée sera limitée aux forêts et aux boisés et consistera en des traitements servant à inhiber le recrû et la formation de rejets sur les souches d'arbres coupés mécaniquement. La superficie totale qui sera traitée, est assez réduite en comparaison de la superficie totale des forêts au Canada. De plus, le Myco-Tech^{MC} sera appliqué seulement une ou deux fois aux dix ans dans les priorités de passage. Le produit Myco-Tech^{MC} sera administré en pâte ou en gel par application topique afin de réduire le plus possible sa dispersion. L'étiquette stipulera que la pulvérisation du produit et que le recours à d'autres méthodes d'application non prévues seront interdits. Par conséquent, l'exposition des oiseaux à *C. purpureum* sera très limitée au moment de l'application.

Les modèles de devenir environnemental traitant de la sporulation de *C. purpureum* et de la dispersion de ses spores indiquent que le degré additionnel de densité des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* comme herbicide biologique sera égal en importance ou inférieur à la densité naturelle des spores.

Chez les sujets d'expérience ou les oiseaux, il n'existe aucun signe d'infectivité ou de toxicité de *C. purpureum* ou de substances actives associées, connues strictement pour leurs propriétés phytotoxiques. De plus, *C. purpureum* ne tolère pas la chaleur. Il ne croît pas et ne survit pas à plus de 37 °C.

Puisque l'emploi de *C. purpureum* comme agent biologique ne devrait pas être à l'origine d'effets nocifs sur des organismes non visés ou d'une exposition accrue, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les oiseaux. La demande d'exemption est accordée.

6.2 Poissons

6.2.1 Poissons d'eau douce

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des poissons d'eau douce. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}. Un examen des ouvrages scientifiques répertoriés permet de conclure que toute spore ou toute partie régénérative de *C. purpureum* qui pourrait se poser dans un habitat aquatique ne pourrait pas donner lieu à l'implantation de cet organisme.

Les ouvrages scientifiques répertoriés ne signalent aucun cas de maladie ou d'infection causées par *C. purpureum* chez les poissons d'eau douce.

Puisque l'emploi de *C. purpureum* comme agent biologique ne devrait pas être à l'origine d'effets nocifs sur des organismes non visés ou d'une exposition accrue et que *C. purpureum* n'a pas la capacité de croître et de s'établir dans un habitat aquatique, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les poissons d'eau douce. La demande d'exemption est accordée.

6.3 Arthropodes

6.3.1 Arthropodes terrestres

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des arthropodes terrestres. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}.

C. purpureum est un organisme ubiquiste qui fait naturellement partie des écosystèmes forestiers. Aucun effet nocif sur les arthropodes terrestres, attribuable aux populations naturelles de *C. purpureum*, n'a été signalé. On ne prévoit pas que le degré ajouté d'abondance des spores fasse augmenter la probabilité d'effets nocifs sur les arthropodes terrestres. Par conséquent, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les arthropodes terrestres. La demande d'exemption est accordée.

6.3.2 Arthropodes aquatiques

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des arthropodes aquatiques. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}. Un examen des ouvrages scientifiques répertoriés permet de conclure que toute spore ou toute partie régénérative de *C. purpureum* qui pourrait se poser dans un habitat aquatique ne pourrait pas donner lieu à l'implantation de cet organisme.

Les ouvrages scientifiques répertoriés ne signalent aucun cas de maladie ou d'infection causées par *C. purpureum* chez les arthropodes ou les plantes aquatiques.

Puisque l'emploi de *C. purpureum* comme agent biologique ne devrait pas être à l'origine d'effets nocifs sur des organismes non visés ou d'une exposition accrue et que *C. purpureum* n'a pas la capacité de croître et de s'établir dans un habitat aquatique, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les poissons d'eau douce, les arthropodes aquatiques et les larves d'insectes aquatiques. La demande d'exemption est accordée.

6.4 Invertébrés autres que les arthropodes

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des invertébrés autres que des arthropodes. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}.

C. purpureum est un organisme ubiquiste. Aucun effet nocif sur les invertébrés autres que les arthropodes, attribuable aux populations naturelles de *C. purpureum*, n'a été signalé. On ne prévoit pas que le degré ajouté d'abondance des spores fasse augmenter la probabilité d'effets nocifs sur ces organismes. Par conséquent, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour ceux-ci. On estime que l'utilisation de *C. purpureum* aura des effets bénéfiques sur les habitats de ces organismes. Ce champignon lance le processus de décomposition du bois, qui contribue à alimenter la litière, à retenir l'humidité et à nourrir le sol en matières organiques que les invertébrés terrestres autres que les arthropodes utilisent le mieux. Par conséquent, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour ces organismes. La demande d'exemption est accordée.

6.5 Végétaux

6.5.1 Végétaux aquatiques

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des végétaux aquatiques. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}. Un examen des ouvrages scientifiques répertoriés permet de conclure que toute spore ou toute partie régénérative de *C. purpureum* qui pourrait se poser dans un habitat aquatique ne pourrait pas donner lieu à l'implantation de cet organisme.

Les ouvrages scientifiques répertoriés ne signalent aucun cas de maladie ou d'infection causées par *C. purpureum* chez les plantes aquatiques.

Puisque l'emploi de *C. purpureum* comme agent biologique ne devrait pas être à l'origine d'effets nocifs sur des organismes non visés ou d'une exposition accrue et que *C. purpureum* n'a pas la capacité de croître et de s'établir dans un habitat aquatique, on juge qu'il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les végétaux aquatiques. La demande d'exemption est accordée.

6.5.2 Végétaux terrestres

Le demandeur d'homologation a présenté des raisons pour demander d'être exempté de déposer des études sur l'exposition des végétaux terrestres. La demande d'exemption fait référence aux membres de l'équation de détermination des risques, c.-à-d. l'exposition et la toxicité.

La présence à l'état naturel, la méthode d'application, le degré ajouté d'abondance des spores attribuable à l'utilisation de *C. purpureum* et le profil de dispersion de cet organisme indiquent tous que l'exposition à celui-ci n'augmentera pas de façon importante avec l'utilisation du produit Myco-Tech^{MC}. De surcroît, toute augmentation du degré d'abondance des spores ne devrait pas donner lieu à une hausse de l'incidence des cas d'infection et de mortalité chez les organismes non visés s'il ne se produit pas simultanément une hausse du nombre de blessures sur les végétaux non visés. Beaucoup d'études qui ont déterminé la susceptibilité d'espèces arborescentes non visées (feuillus et conifères) à différents isolats de *C. purpureum* ont été passées en revue. Dans les scénarios du pire des cas possibles, le taux de mortalité se situait entre 1,4 et 7 %, et entre 2,5 et 76,7 % pour les conifères et pour les feuillus, respectivement. Dans des conditions normales du milieu naturel, où la conjoncture totale de ces conditions idéales se produit rarement, le taux de mortalité observé devrait être inférieur au taux mesuré dans les conditions expérimentales.

C. purpureum infecte seulement les végétaux terrestres à tige ligneuse (Chamuris, 1988). Par conséquent, les végétaux terrestres à tige herbacée ne sont pas à risque et il n'est pas nécessaire de procéder à l'estimation des risques présentés par le produit Myco-Tech^{MC} pour les végétaux terrestres non visés. La demande d'exemption est accordée.

6.6 Sommaire intégré de l'écotoxicité

Le demandeur d'homologation a présenté une justification acceptable pour demander d'être exempté des exigences en matière d'écotoxicité dans le cas des oiseaux, des poissons d'eau douce, des arthropodes terrestres, des arthropodes aquatiques, des invertébrés autres que les arthropodes, des végétaux aquatiques et des végétaux terrestres non visés. Cette justification porte sur le fait que l'exposition additionnelle sera minimale, sur la nature ubiquiste de *C. purpureum*, sur l'inexistence de rapports faisant état d'effets nocifs et, dans le cas des organismes aquatiques, sur l'incapacité de *C. purpureum* de s'implanter dans des environnements aquatiques.

Les produits de formulation contenus dans la préparation commerciale ne sont à l'origine d'aucun risque environnemental lorsqu'ils sont utilisés aux concentrations dans le produit et à la dose recommandée pour lutter contre la formation de rejets sur les souches.

6.7 Évaluation environnementale

Les articles sur le devenir dans le milieu qui ont été présentés, montrent que les populations de *C. purpureum* sont fortement hétérogènes et que les isolats à spore unique de *C. purpureum* s'hybrident sans difficulté dans toutes les combinaisons possibles. On pense donc que l'utilisation d'un seul isolat, le HQ1 contenu dans le Myco-Tech^{MC}, devrait exercer un effet minime. Cet isolat sera intégré à la population locale et ses gènes seront dilués dans le pool génétique de cette population.

C. purpureum nous confronte à un cas rare où l'espèce ciblée dans des conditions données (p. ex., à l'intérieur des priorités de passage) est aussi l'espèce non ciblée qu'on veut protéger hors de la zone traitée. Toutefois, l'examen critique des études présentées conduit à la conclusion que la création d'une zone tampon n'est pas nécessaire. Le degré d'abondance des spores ou la proximité à une source de spores ne suffisent pas pour causer l'infection d'arbres hors de la zone à traiter. Les blessures récentes constituent le principal facteur d'infection. On ne considère pas que *C. purpureum* est une menace pour les feuillus d'une forêt en bon état. On croit toutefois qu'il pourrait contribuer au déclin des arbres gravement stressés. La susceptibilité à cette maladie des arbres dépend de leur état, lui-même étant dépendant des pratiques d'aménagement et de la saison (c.-à-d. des conditions météorologiques). Le risque additionnel pour les arbres blessés et susceptibles que fait courir le Myco-Tech^{MC} est négligeable puisque le degré additionnel d'abondance des spores ne sera pas beaucoup plus important que la densité naturelle de spores.

En s'appuyant largement sur les résultats des études du devenir dans le milieu, le demandeur d'homologation a demandé d'être exempté des études sur l'écotoxicité. L'intensification de l'exposition à *C. purpureum* des organismes non visés à cause de l'utilisation du Myco-Tech^{MC} sera minime. *C. purpureum* peut bien être ubiquiste, aucun cas d'effet nocif sur les oiseaux, les poissons d'eau douce, les arthropodes terrestres ou aquatiques, les invertébrés autres que des arthropodes ou les plantes aquatiques n'a été signalé.

Les produits de formulation de la préparation commerciale Myco-Tech^{MC} ne présentent aucun risque environnemental aux concentrations proposées et à la dose recommandée d'application du produit pour lutter contre la formation de rejets sur les souches. Par conséquent, on pense que le Myco-Tech^{MC} est à la source de peu de risques environnementaux s'il est utilisé conformément à l'étiquette. De plus, aucun énoncé particulier de précaution ou de danger environnemental n'est requis sur l'étiquette. Même si le demandeur d'homologation prévoit que son produit doit être utilisé seulement à l'est des Rocheuses, on ne pense pas que son utilisation à la grandeur du pays comporterait des risques additionnels.

7.0 Efficacité

7.1 Efficacité contre des espèces précises

Bouleau (*Betula spp.*)

Six essais ont été réalisés au cours de 5 années (1992, 1995, 1996, 1997 et 1998) aux endroits suivants : St-Michel, L'Ascension, Ste-Agathe et au Saguenay, Québec. Dans 3 des 5 essais, les chercheurs ont vérifié l'efficacité de l'isolat CQP1 (sur grain de seigle ou en pâte 95) de *Chondrostereum purpureum*, et dans 4 des essais, ils ont vérifié l'efficacité de l'isolat HQ1 (en pâte 96 ou Myco-Tech^{MC}). Les essais portant sur l'isolat CQP1 et l'un de ceux portant sur l'isolat HQ1 étaient des essais réalisés à petite échelle alors que les trois portant sur le Myco-Tech^{MC} étaient des essais à grande échelle. Les secteurs d'essai étaient peuplés en bonne partie par des bouleaux à papier et des bouleaux jaunes.

La fréquence de la formation de rejets de souche (% des souches d'arbres coupés avec rejets) a été calculée dans le cadre de 2 essais sur de petites parcelles traitées avec le CQP1 (sur grain de seigle ou pâte 95). Cette fréquence sur les souches traitées avec *C. purpureum* était inférieure à celle mesurée sur des souches témoins au cours de chacune des deux premières années suivant le traitement (40 % à 100 % de moins la première année, 85 % à 100 % la seconde). L'un des essais a été poursuivi pour une troisième année. Les résultats indiquent une augmentation de la formation de rejets de souche sur les souches traitées avec *C. purpureum*, à comparer aux témoins (10 % contre 2,5 % chez les témoins). Cette tendance a été observée sur les souches traitées au commencement (juin) ou à la fin (août-septembre) de la saison.

Dans les deux essais où la fréquence de la formation de rejets de souche était mesurée, les chercheurs ont aussi mesuré la production des rejets de souche (en cm), l'essai correspondant à l'inhibition totale de la formation de rejets de souche pendant les deux premières années de l'essai donnant 0 cm de croissance. La troisième année, les chercheurs signalent une production de rejets de souche de 1,1 cm sur les souches traitées, contre une valeur moyenne de 5,0 cm chez les témoins. Dans le deuxième essai, les chercheurs ne font état d'aucune différence entre les souches traitées et les témoins un an après le traitement (56 cm dans les deux cas). Les chercheurs ont observé une baisse de 38 % dans la production de rejets de souche (à comparer aux témoins) au cours de la deuxième année suivant le traitement.

Le troisième essai sur une parcelle réduite a été réalisé à L'Ascension en 1995. Les chercheurs ont examiné la suppression de la formation de rejets de souche en dénombrant les tiges à l'hectare avant le traitement et 1, 2 et 3 ans après le traitement. Le traitement au moyen de l'isolat CQP1 appliqué à des souches d'arbres coupés a réduit le nombre de tiges/ha de 73 %, de 72 % et de 95 % au cours de la première, de la deuxième et de la troisième année, respectivement. Chez les témoins, le nombre de souches a augmenté de 6,7 ×, 5,4 × et 3,1 ×, respectivement.

Les trois essais à l'échelle pilote ont porté sur l'examen de la répression des bouleaux (spp.) traités avec la souche HQ1 dans la formulation de Myco-Tech^{MC}. Le premier de ces essais a servi à examiner différentes périodes d'application (l'essai chronologique, les applications s'étant faites entre juin et octobre). Il conduit à penser que les applications de Myco-Tech^{MC} le plus tôt dans la saison seraient plus efficaces, en termes d'inhibition de la formation de rejets de souche chez les bouleaux, les applications de juin, juillet et août ayant complètement supprimé la formation de rejets de souche (au cours de la première et de la deuxième année suivant le traitement). Les applications effectuées vers la fin de la saison (données disponibles pour le traitement en octobre uniquement) suggèrent que la fréquence de formation de rejets de souche serait plus élevée (chez les témoins comme sur les souches traitées).

Dans les trois autres essais à l'échelle pilote, les résultats ont été exprimés en termes d'un ratio d'efficacité (densité de tiges à l'évaluation, divisée par la densité au moment de la coupe). Ce ratio a joué entre 0 et 0,24 sur les parcelles traitées au Myco-Tech^{MC}, à comparer à des valeurs comprises entre 0,63 et 1,58 sur les parcelles témoins. Cela indique que le traitement est efficace pour réduire le taux de formation de rejets de souche à comparer à ce qu'il est sur les souches non traitées. En même temps, les chercheurs ont mesuré dans l'un des essais la hauteur moyenne du plus haut des rejets de souche par talle, la moyenne obtenue sur les souches traitées avec le Myco-Tech^{MC} étant considérablement inférieure à ce qu'elle était chez les témoins au cours de la première et de la deuxième années suivant le traitement (22 et 0 cm pour les années 1 et 2 contre 44 et 109 cm pour les années 1 et 2, dans le cas du traitement avec le Myco-Tech^{MC} et des témoins, respectivement).

Cerisier de Pennsylvanie (*Prunus pensylvanica*)

Huit essais ont été réalisés sur un intervalle de 7 ans (de 1992 à 1998) aux endroits suivants : Ste-Agathe (4 essais), Hunterstown, Causapscal et L'Ascension. Les chercheurs ont vérifié l'efficacité de l'isolat CQP1 (sur grain de seigle ou en pâte 95 ou 96) dans 5 de ces essais, celle de l'isolat IB en pâte 95 dans un essai et celle de l'isolat HQ1 (en pâte 95 ou Myco-Tech^{MC}) dans trois essais. Six d'entre eux étaient des essais de recherche à petite échelle (tous les essais avec le CQP1, le IB ou le HQ1 en pâte 95), les deux autres étant des essais à l'échelle pilote (dans les deux cas, avec l'isolat HQ1 sous forme de Myco-Tech^{MC}).

La fréquence de formation de rejets de souche a été relevée dans 5 des 8 essais. Dans chacun de ces 5 essais, celle de la formation de rejets sur les souches traitées au moyen de *C. purpureum* a été réduite à comparer à celle obtenue sur les souches témoins un an après le traitement, les valeurs se tenant entre 16 % et 84 %. L'essai qui a obtenu 16 % est celui où l'isolat IB a été utilisé. Il est mentionné dans le rapport sur cet essai que la concentration de l'inoculum était faible, soit 10³ cfu (à comparer à la concentration proposée de 10⁵). Dans 4 des mêmes essais, les chercheurs ont consigné la fréquence de formation de rejets de souche deux ans après le traitement. Les résultats variaient entre 0 % et 100 % à comparer à la coupe témoin. Une fois encore, la valeur de 0 % a été obtenue dans l'essai où les chercheurs avaient utilisé l'isolat IB à une faible

concentration. Dans 2 des essais, les chercheurs ont poursuivi leur évaluation de la fréquence de formation de rejets de souche jusqu'à la troisième année. Les résultats ont été similaires à ceux obtenus avec l'isolat IB (réduction de 2 % à comparer à la coupe témoin). Toutefois, dans le deuxième essai, les chercheurs signalent une réduction pouvant atteindre 100 % à comparer au taux de la coupe témoin 3 ans après le traitement avec le Myco-Tech^{MC}.

Les chercheurs ont mesuré la hauteur moyenne (cm) des rejets de souche dans 4 essais (3 sur de petites parcelles, l'autre à l'échelle pilote). La hauteur des rejets de souches traitées a été réduite de 6 % à 42 % à comparer à la hauteur des rejets sur les souches des parcelles témoins au cours de la première année suivant le traitement. Au cours de l'année suivante, les résultats étaient variés, avec une réduction de 20 % dans un essai et une augmentation de 5 % dans le deuxième. Les chercheurs ont examiné les effets du traitement sur ce plan pour la troisième année dans un seul des essais. Ils ont obtenu une réduction de 6 % à comparer aux résultats de la coupe témoin.

Ils ont mesuré la production de rejets de souche (cm) dans deux essais sur de petites parcelles. D'excellents résultats ont été obtenus sur les souches traitées en juin ou en août. À la première comme à la deuxième année après le traitement, l'isolat CQP1 a réduit la production de rejets de souche de plus de 90 % avec le traitement de juin comme celui d'août. Les résultats obtenus au cours de la troisième année proviennent d'un seul des essais. La suppression de la formation de rejets de souche se poursuit, la réduction observée se chiffrant à 86 % et à 100 % à comparer aux résultats obtenus dans la coupe témoin avec les applications de juin et d'août, respectivement.

Les chercheurs ont calculé le nombre moyen de rejets par souche dans trois des essais à petite échelle. Dans deux de ceux-ci, ils signalent une baisse de ce nombre à comparer à celui déterminé sur les souches des parcelles témoins une année après le traitement. L'année suivante, ils signalent une baisse, à comparer aux témoins, de ce nombre sur les parcelles traitées avec *C. purpureum* dans deux des trois essais. Ils ont poursuivi leur évaluation de cette variable pour une troisième année dans un de ces essais. Ils signalent encore une baisse du nombre de rejets par souche en comparaison des témoins.

Dans un seul essai sur une petite parcelle, à L'Ascension en 1995, ils ont relevé le nombre de tiges à l'hectare au moment du traitement et au cours de chacune des trois années subséquentes. Ils ont réalisé cet essai avec l'isolat CQP1 en pâte 95. Ils ont observé une augmentation du nombre de tiges/ha à chacune des trois années suivant le traitement, tant dans la parcelle traitée que dans la parcelle témoin. Les résultats sont comparables entre la parcelle traitée et la parcelle témoin, soit environ 65 % à l'an 1, 67 % à l'an 2 et 60-68 % à l'an 3 (parcelle témoin et parcelle traitée, respectivement).

L'essai « chronologique » de 1997 a donné des résultats variés dans le cas du cerisier de Pennsylvanie. Les valeurs calculées du ratio d'efficacité chez les témoins de la première et de la deuxième année montrent que le traitement avec l'isolat HQ1 sous forme de Myco-Tech^{MC} a conduit à un ratio inférieur à celui obtenu dans la parcelle témoin lorsque le produit a été appliqué en juin, en juillet et en août. Quant aux applications de septembre et d'octobre, les résultats sont inversés, le traitement au Myco-Tech^{MC} donnant un ratio égal ou supérieur à celui obtenu dans la parcelle témoin. Les chercheurs ont aussi calculé ce ratio lors d'un essai qu'ils ont réalisé en 1998 à Ste-Agathe. Lors de cet essai, le ratio obtenu dans la parcelle traitée s'est chiffré à 2,31 alors qu'il s'établissait à 5,08 dans la coupe témoin au cours de la deuxième année suivant le traitement.

Peuplier (*Populus tremuloides*)

Les chercheurs ont réalisé 8 essais en 6 ans (1992-1993, 1995-1998) aux endroits suivants : Ste-Agathe, Hervey Jonction, L'Ascension, Abitibi et Saguenay. Ils ont examiné l'efficacité de l'isolat CQP1 dans 4 de ces essais et ils ont utilisé l'isolat HQ1 dans 5 des essais. Quatre des essais se déroulaient à l'échelle pilote, les autres à petite échelle.

La fréquence de formation de rejets de souche a été relevée dans 3 des essais à petite échelle. Au cours des 2 premières années suivant le traitement, dans ces trois essais, elle était inférieure dans les parcelles traitées à ce qu'elle était dans les parcelles témoins. Cette baisse était comprise entre 32 % et 100 %. Cette baisse a été observée sur les souches traitées en juin, en août ou en septembre. Les chercheurs ont poursuivi leur évaluation de cette variable pour une troisième année dans un seul de ces essais. La tendance se maintenait.

La production de rejets de souche a été mesurée dans deux essais réalisés avec l'isolat CQP1 sur grain de seigle. Les chercheurs ont examiné l'effet du traitement de souches en juin et en août dans ces deux essais. Aux deux périodes de traitement et aux deux emplacements, les souches traitées avec *C. purpureum* ont produit moins de rejets de souche que les témoins, la réduction variant entre 63 % et 100 % à comparer aux valeurs obtenues dans les coupes témoins. La tendance se maintenait toujours au bout de 3 ans.

Les chercheurs ont mesuré la hauteur moyenne des rejets de souche (cm) dans 2 des essais. La réduction de hauteur a été de 32 % et de 28 % au cours de la première et de la deuxième année suivant le traitement dans l'un des essais. Dans le second, les chercheurs ont observé une hausse de la hauteur moyenne des rejets sur les souches traitées avec *C. purpureum* à comparer aux témoins (2 ans après le traitement).

Au cours de la première année suivant le traitement, *C. purpureum* a abaissé le nombre moyen de rejets par souche, relevé dans le cadre d'un seul essai sur une petite parcelle. Mais à la deuxième année, ce nombre était devenu égal ou supérieur à celui observé chez les témoins.

Le nombre de tiges à l'hectare n'a été calculé que dans un seul essai, au moment du traitement et jusqu'à 3 ans après. Les chercheurs ont observé une augmentation du nombre de tiges/ha sur les parcelles où les souches ont été traitées avec *C. purpureum* ainsi que sur les parcelles témoins. Cependant, l'augmentation dans les premières est moins élevée qu'elle ne l'est dans les secondes, le nombre de tiges s'accroissant d'environ 10 à 15 % à comparer à leur nombre au moment du traitement. Cependant, le nombre de tiges sur les parcelles témoins s'est accru de 6,5 à 7,8 fois à comparer à leur nombre initial.

À l'exception du traitement de juillet, l'essai « chronologique » a donné des résultats assez constants en ce sens que le ratio d'efficacité obtenu avec le Myco-Tech^{MC} contre le peuplier est constamment inférieur à celui mesuré dans les parcelles témoins. Les résultats du traitement de juillet révèlent des ratios dans les parcelles témoins similaires à ceux des parcelles traitées. Ces résultats ont été observés à la première et à la deuxième année après le traitement.

Dans les 3 essais restants à l'échelle pilote, la tendance observée est semblable à celle de l'essai « chronologique », le ratio d'efficacité étant inférieur dans les parcelles traitées au Myco-Tech^{MC} à ce qu'il était dans les parcelles témoins. Cela indique que le traitement procure une suppression plus intense.

Érable à sucre (*Acer saccharum*)

Six essais ont été réalisés en 5 ans (1992, 1995–1998) aux emplacements suivants : St-Michel, L'Ascension et Ste-Agathe (4 essais). Les chercheurs signalent dans leur rapport sur deux essais que la population d'érables était composée d'érables à sucre en prédominance et d'érables rouges. C'est pourquoi les résultats de ces essais ont été présentés sous la rubrique des érables à sucre. Seuls les essais spécifiant que l'érable rouge était à l'étude ont été regroupés sous la rubrique des érables rouges.

La fréquence de la formation de rejets de souche a été relevée dans 3 essais sur de petites parcelles. Dans 2 de ces essais, la fréquence observée dans les parcelles traitées avec *C. purpureum* était inférieure à celle relevée dans les parcelles témoins, peu importe que le traitement ait eu lieu en juin ou en août. Dans le troisième essai, les chercheurs ont vu peu de différence entre les parcelles traitées et les parcelles témoins, les fréquences de formation de rejets de souche étant comparables, soit 98 % et 100 %, respectivement (dans cet essai, il s'agissait d'un peuplement mixte d'érables à sucre et d'érables rouges).

Les chercheurs ont relevé la hauteur moyenne des rejets de souche (cm) dans le cadre de 3 essais (2 sur de petites parcelles, l'autre à l'échelle pilote). En moyenne, celle des rejets des souches traitées avec *C. purpureum* était inférieure de 12 % à celle des rejets des souches témoins (pondération des résultats sur 2 ans). Dans 2 de ces essais, les chercheurs ont noté le nombre moyen de rejets par souche. Dans l'un d'eux, les données recueillies au cours de l'an 1 témoignent d'une réduction du nombre moyen de rejets par souche traitée avec *C. purpureum* (2,9 rejets/souche) à comparer aux témoins (4,3 rejets/souche). Les chercheurs n'ont pas consigné ce type de données à la deuxième année. Dans le

second essai, les chercheurs ont recueilli des données la deuxième année et ils n'ont pas observé de différence quant au nombre moyen de rejets par souche entre les deux groupes (en moyenne, 1,5 rejet par souche sur les tiges traitées comme sur les tiges témoins). Toutefois, lorsque ces résultats sont examinés de pair avec les données sur la hauteur moyenne, on voit que *C. purpureum* a exercé un effet inhibiteur sur les rejets en réduisant leur hauteur moyenne dans cet essai.

Les chercheurs ont noté la production de rejets (cm) dans un seul essai. Ils ont constaté que sur les souches traitées avec *C. purpureum*, la production de rejets était très inférieure à celle des témoins. Cela se vérifiait dans le cas des applications de juin ou d'août, et lors des trois premières années suivant le traitement.

Dans un seul essai les chercheurs ont noté la densité des tiges à l'hectare au moment du traitement et jusqu'à 3 ans plus tard. Ils ont observé des hausses substantielles de la densité dans les parcelles expérimentales comme dans les parcelles témoins. De manière précise, ils ont observé sur les parcelles traitées une augmentation de 7, 10 et 11 fois la densité initiale au cours de la première, de la deuxième et de la troisième année, respectivement. Cette augmentation était moins prononcée que dans les parcelles témoins, où l'augmentation de la densité s'est chiffrée à 7, 12 et 15 fois la densité initiale au cours de la première, de la deuxième et de la troisième année, respectivement.

L'essai « chronologique » de 1997 a donné des ratios d'efficacité pour le Myco-Tech^{MC} qui étaient constamment inférieurs à ceux obtenus dans les coupes témoins (un an comme deux ans après le traitement), peu importe que l'application ait été effectuée en juin, en juillet, en août ou en septembre. La baisse du ratio mesuré dans les parcelles traitées avec le Myco-Tech^{MC} a été de 40 % à 86 %, à comparer au ratio de la coupe témoin, au cours de la première année, et de 70 % à 89 % au cours de la seconde année. Les valeurs prises par le ratio correspondant à l'application du Myco-Tech^{MC} en octobre et par celui obtenu dans les coupes témoins sont pratiquement identiques. Cela porte à penser que les traitements au Myco-Tech^{MC} à la fin de la saison ne sont peut-être pas aussi efficaces chez cette espèce. Les ratios d'efficacité obtenus dans un second essai à l'échelle pilote confirment les résultats auxquels conduit l'essai « chronologique », en ce sens que le ratio d'efficacité du Myco-Tech^{MC} était d'environ la moitié du ratio obtenu dans les parcelles témoins.

Érable rouge (*Acer rubrum*)

Au total, 4 essais ont porté sur l'inhibition des rejets de souche chez les érables rouges traités avec *C. purpureum*. Ils ont été réalisés sur 3 ans (1995, 1997 et 1998) aux endroits suivants : L'Ascension, Ste-Agathe et Saguenay (Québec). L'un de ces essais, à petite échelle, examinait l'efficacité de l'isolat CQP1 formulé en pâte 95. Le Myco-Tech^{MC} a été utilisé dans les autres essais.

Dans l'essai à petite échelle, les chercheurs ont noté le nombre de tiges à l'hectare au moment du traitement et 1, 2 et 3 ans après. Les résultats témoignent d'une augmentation de la densité des tiges à toutes les années, tant dans les parcelles traitées avec le *C. purpureum* que dans les parcelles témoins. L'augmentation de la densité n'était pas aussi prononcée dans les premières (3 fois la densité 3 ans après le traitement) que dans les secondes (7 fois la densité 3 ans après le traitement).

Les chercheurs ont mesuré la hauteur moyenne (cm) des rejets dans l'un des essais à l'échelle pilote et la hauteur moyenne du plus grand rejet par talle dans l'autre. Dans les deux cas, le traitement avec le Myco-Tech^{MC} a réduit la hauteur des rejets à comparer aux témoins. Cette réduction se chiffre à 38 et à 42 % la première année, et à 31 % la seconde.

L'essai « chronologique » a donné des ratios d'efficacité pour le Myco-Tech^{MC} qui étaient constamment inférieurs à ceux obtenus dans les coupes témoins un an après le traitement, alors que l'application a été effectuée en juin, en juillet, en août et en septembre. Les résultats de la deuxième année ont été similaires, à l'exception de ceux correspondant au traitement de juillet, le ratio obtenu avec celui-ci étant supérieur à celui de la coupe témoin (0,59 contre 0,26 avec le Myco-Tech^{MC} et la coupe témoin, respectivement). À la première comme à la deuxième année, les résultats obtenus avec le traitement pratiqué en octobre témoignent d'un manque d'efficacité du Myco-Tech^{MC}, le ratio d'efficacité de celui-ci étant supérieur à celui obtenu avec la coupe témoin. Les ratios déterminés lors de deux autres essais confirment les résultats obtenus dans le cadre de l'essai « chronologique ». À la première comme à la deuxième année, les ratios obtenus avec le Myco-Tech^{MC} sont inférieurs à ceux obtenus dans les coupes témoins.

Aulne rugueux (*Alnus rugosa*)

Les chercheurs ont procédé à un seul essai à l'échelle pilote, en juillet 1997, en Abitibi. Ils ont décrit l'effet inhibiteur de *C. purpureum* sur la formation des rejets de souche d'aulne. Au cours de l'année suivant le traitement, le ratio d'efficacité du traitement fongique s'est chiffré à 0,04, ce qui correspond à une réduction de 90 % à comparer à la valeur obtenue avec la coupe témoin, soit 0,41. De la même façon, à la deuxième année, les ratios d'efficacité se sont chiffrés à 0,06 et 0,29 pour le traitement avec le Myco-Tech^{MC} et pour la coupe témoin, respectivement. Cela correspond à une réduction de 80 % avec le traitement fongique.

En plus des résultats de l'essai au champ susmentionné, le demandeur d'homologation a remis copie de rapports publiés traitant de l'emploi de *C. purpureum* contre l'aulne. Le premier de ces documents (Pitt *et al.*, 1999) étudie la suppression de la formation des rejets de souches d'aulne rugueux au moyen de deux isolats de *C. purpureum*, l'isolat 2139 (de Colombie-Britannique) et l'isolat JAM 6 (d'Ontario) à des emplacements dans l'est de l'Ontario. Les détails relatifs aux formulations n'ont pas été communiqués, à part le fait que deux formulations ont été employées. Les détails relatifs à la dose appliquée (cfu/ml) n'ont pas été communiqués non plus. Les résultats de cet essai montrent que le traitement avec *C. purpureum* a fait baisser légèrement la densité totale de tiges d'aulne (à comparer à la densité mesurée avant le traitement) et entamé la vigueur végétative des

végétaux comme en fait foi la baisse de volume des tiges (baisse de 72 % de l'indice de volume des tiges) et des cimes (57 %) à comparer aux témoins non traités.

Une étude semblable à celle de Pitt *et al.* (1999) a été réalisée en 1995 dans l'ouest du Canada. Les mêmes isolats et les mêmes formulations de *C. purpureum* ont été appliqués à l'étude de la suppression de la formation de rejets de souche et du recrû de l'aulne de Sitka à deux emplacements dans le district Boundary Forest, dans le sud de la Colombie-Britannique. Les résultats de cet essai indiquent que le traitement de souches d'aulne de Sitka au moyen de *C. purpureum* est plus efficace pour freiner la croissance que la coupe non accompagnée d'un traitement (peu importe l'isolat ou la formulation choisis), la mortalité étant statistiquement supérieure à celle obtenue par simple coupe (11.2 %).

Le troisième article présenté par le demandeur avec sa demande d'inscrire l'aulne rugueux sur l'étiquette du Myco-Tech^{MC} vient en complément des travaux de Pitt *et al.* (1999). Becker *et al.* (1999) se sont penchés sur le taux d'infection d'aulnes rugueux par les isolats JAM6 et 2139 de *C. purpureum*. Ils signalent un taux d'infection de 80 % à 87 % des souches traitées (résultats confirmés par récupération d'échantillons du champignon sur les souches). Ces résultats donnent seulement l'incidence de la maladie, mais n'indiquent rien du degré des dommages, s'il en existe, attribuables à l'infection des souches au moyen de ce champignon.

Les articles présentés en faveur de l'inscription de l'aulne rugueux sur l'étiquette de Myco-Tech^{MC} ne comportent pas suffisamment de détails sur la concentration de l'inoculum, sur les formulations, etc. Par conséquent, ils ne sont pas acceptables.

Le demandeur d'homologation a aussi fait valoir qu'*Alnus* et *Betula* sont apparentés sur le plan taxonomique et qu'à ce titre, on peut faire valoir que l'aulne peut être inscrit sur l'étiquette du Myco-Tech^{MC}. Mais ce raisonnement est inacceptable.

7.2 Toxicité pour les plantes visées (à l'inclusion de différents cultivars) ou les produits dérivés de ces plantes (OCDE 7.4)

Au total, trois études ont porté sur les effets nocifs potentiels de *C. purpureum*. Deux des essais étudiaient spécifiquement les effets sur les conifères. Le troisième étudiait les effets de l'enrichissement de la source de *C. purpureum* et les effets sur l'incidence de la maladie. Deux des essais se sont déroulés en serre et ont porté sur différents conifères, notamment le sapin baumier, l'épinette noire, l'épinette de Norvège, l'épinette blanche et le pin gris. Les chercheurs ont délibérément endommagé des pousses et les ont inoculées avec une culture active de *C. purpureum*. Les deux essais comportaient des témoins aux fins de comparaison. Les essais en serre ont été organisés selon une structure en blocs aléatoires complets ou selon une structure en blocs subdivisés. Pour le troisième essai, les chercheurs se sont installés dans l'emprise d'une ligne de transport hydroélectrique au Québec pour étudier les effets de l'enrichissement artificiel d'une source d'inoculum de *C. purpureum*. Les effets sur le bouleau à papier ont été consignés parce que cette espèce est particulièrement susceptible à l'action de ce champignon.

Dans les deux essais en serre, les chercheurs ont créé des conditions leur permettant d'examiner l'effet du champignon dans un scénario du pire des cas possibles, en blessant délibérément les conifères et en plaçant une source d'inoculum directement en contact avec les tissus exposés. En conclusion, il est possible d'infecter différents conifères, mais la mortalité attribuable à cette maladie est généralement faible (c.-à-d. qu'un taux d'infection de 23 % chez l'épinette noire donne un taux de mortalité de 7 %; chez l'épinette de Norvège, ces taux passent à 19 % et seulement 1,4 %). En outre, dans les cas où le taux d'infection pouvait être très élevé, il n'est apparu aucune différence directement observable au plan de l'allongement des pousses, de la décoloration des aiguilles, de la nécrose ou de la chlorose entre les arbres traités et les témoins.

Dans le troisième essai, où ils ont étudié l'effet de l'enrichissement de la source d'inoculum de *C. purpureum* sur le bouleau à papier, les chercheurs ont vu peu d'effet sur le taux d'infection de souches traitées chez cette espèce (dans un rayon de 600 m axé sur la zone traitée). Ils ont observé une hausse du taux d'infection de tiges de bouleaux placées dans le site expérimental, mais ce résultat n'était pas inattendu.

Ces essais paraissent dire que des conifères peuvent être infectés par *C. purpureum*, mais les effets de la maladie ne semblent pas correspondre à ceux observés chez certains feuillus. D'ailleurs, lorsqu'on pense au dégagement de conifères, il importe de signaler que, même si des conifères à protéger étaient endommagés au cours d'opérations de dégagement, la seule source active d'inoculum serait la pâte Myco-Tech^{MC}, et celle-ci ne pourrait infecter les conifères que par contact direct avec les tissus exposés. Toute intensification de la source d'inoculum, c.-à-d. l'émission de spores à partir de souches infectées de feuillus, se produirait seulement quelque temps après la période de traitement, et à ce moment-là, les blessures se seraient cicatrisées, réduisant d'autant les risques d'infection.

7.3 Compatibilité avec les pratiques d'aménagement en vigueur, à l'inclusion de la LAI

Les pratiques répandues d'aménagement des priorités de passage et de dégagement des conifères sont fondées en bonne partie sur l'emploi généralisé d'herbicides (pesticides chimiques). Dans certaines conditions, cependant, l'emploi d'herbicides (pesticides chimiques) n'est plus acceptable, l'emploi d'une scie à broussaille offrant la seule option valable d'élimination de la végétation indésirable. Le Myco-Tech^{MC} est compatible avec les systèmes d'aménagement en vigueur car il accroît l'efficacité de la coupe.

7.4 Contribution à l'atténuation des risques

Du fait qu'il accroît l'efficacité de la coupe et réduit le nombre de coupes subséquentes, le Myco-Tech^{MC} est un produit de remplacement des herbicides classiques. Ce produit peut donc contribuer à l'utilisation en moindre quantité de produits chimiques dans les priorités de passage et dans les secteurs de dégagement des conifères.

7.5 Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle de la résistance

Compte tenu du mode d'action du Myco-Tech^{MC}, l'acquisition de la résistance est improbable.

7.6 Conclusions

Le demandeur d'homologation a présenté des données adéquates sur l'efficacité du Myco-Tech^{MC} dans les priorités de passage et dans les opérations de dégagement des conifères, aux conditions préconisées sur l'étiquette, pour inhiber la formation de rejets de souche sur des espèces du bouleau, le cerisier de Pennsylvanie, le peuplier, l'érable rouge et l'érable à sucre. Les données présentées pour justifier l'emploi du Myco-Tech^{MC} pour le dégagement des conifères permettent d'établir la sûreté du produit en termes de protection des conifères.

8.0 Considérations liées à la politique de gestion des substances toxiques

Dans son examen de la pâte Myco-Tech^{MC}, l'ARLA a tenu compte de la Politique fédérale de gestion des substances toxiques¹ et elle s'est conformée à sa Directive d'homologation DIR99-03². Cette agence a déterminé que le produit étudié échappe aux critères de classement avec les produits de la voie 1 de la PGST puisque la matière active est un organisme vivant et qu'il n'est donc pas sujet aux critères appliqués de persistance, de bioaccumulation et de toxicité des pesticides chimiques. De plus, la matière active (de qualité technique) ne contient aucun sous-produit ni aucun microcontaminant répondant aux critères de la voie 1 de la PGST. On ne s'attend pas à ce qu'il existe des impuretés d'importance toxicologique dans les matières premières, et on ne s'attend pas à ce qu'il s'en forme au cours de la fabrication du produit. En outre, il n'existe aucun produit de formulation d'importance toxicologique dans la formulation en pâte Myco-Tech^{MC}.

¹ On peut prendre connaissance de cette politique en se rendant sur le site Web d'Environnement Canada : www.ec.gc.ca/toxics.

² La stratégie de mise en oeuvre à l'ARLA de la Politique de gestion des substances toxiques, DIR99-03, peut vous être communiquée par le Service de renseignements sur la lutte antiparasitaire en vous adressant au 1-800-267-6315 au Canada ou au 1-613-736-3799 à l'étranger (des frais d'appel interurbain sont exigibles); Fax (613) 736-3798; courriel pminfoserv@hc-sc.gc.ca. On peut aussi consulter le site Web suivant : www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla.

9.0 Décision réglementaire proposée

L'ARLA a procédé à l'examen des renseignements disponibles conformément à l'article 9 du Règlement sur les produits antiparasitaires et juge qu'ils permettent, aux termes du paragraphe 18b, de déterminer la sûreté, les qualités et la valeur de la matière active de qualité technique, la souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum*, et de la préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}. L'Agence parvient à la conclusion que l'emploi conforme à l'étiquette de ce microorganisme à l'état actif, soit la souche HQ1 de *Chondrostereum purpureum*, dans la matière active et dans la préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}, présente des qualités et une valeur répondant aux exigences du paragraphe 18c. L'Agence est d'avis que ce microorganisme n'est pas à l'origine d'un risque inacceptable aux termes du paragraphe 18d du Règlement. À la lumière de ce qui précède, l'Agence propose d'accorder une homologation complète pour l'emploi de la matière active de qualité technique, *Chondrostereum purpureum* (HQ1), et de la préparation commerciale, la pâte Myco-Tech^{MC}, pour inhiber le recrû et la formation de rejets sur les souches de certains feuillus laissées par l'abattage à l'intérieur des priorités de passage et dans les secteurs de dégagement des conifères, conformément à l'article 13 du Règlement sur les produits antiparasitaires.

Ces produits obtiennent de l'ARLA une homologation pour une période limitée afin que les éventuels utilisateurs aient accès à ce produit à moindre risque. L'ARLA prendra connaissance des commentaires écrits, relatifs à cette proposition, jusque 45 jours passé la date de publication de ce document afin que les personnes concernées aient l'occasion de participer à la décision finale d'homologation complète suite à la parution du présent document.

Abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CE ₅₀	concentration efficace 50%
cfu	colonies
CL ₅₀	concentration létale 50%
CMM	cote moyenne maximale
CPE	concentration prévue dans l'environnement
CSENO	concentration sans effet nocif observable
CSEO	concentration sans effet observable
DL ₅₀	dose létale 50%
ICMSF	Commission internationale pour la définition des caractéristiques microbiologiques des aliments
LMR	limites maximales de résidus
m. c.	masse corporelle
m. s.	masse sèche
MAQT	matière active de qualité technique
MEO	modèle épidémiologique opérationnel
MGP	modèle gaussien de panache
NTS-L	grande région d'ADN espaceur non transcrit
PC	préparation commerciale
PGST	politique de gestion des substances toxiques
RAPD	régions polymorphes amplifiées de l'ADN à l'aide de séquences aléatoires
RFLP	polymorphisme de restriction
SEO	seuil d'effets observables

Références

- Becker, E.M., L. A. Ball, M.T. Dumas, D.G. Pitt, R.E. Wall and W.E. Hintz 1999. *Chondrostereum purpureum* as a biological control agent in forest vegetation management. III. Infection survey of a national field trial. *Can. J. For. Res.* **29**:859-865.
- Becker, E.M., L.A. Ball and W.E. Hintz 1999. PCR-based genetic markers for detection and infection frequency analysis of the biocontrol fungus *Chondrostereum purpureum* on sitka alder and trembling aspen. *Biol. Cont.* **15**:71-80.
- De Jong, M.D., P.C. Scheepends and J.C. Zadoks 1990. Risk analysis applied to biological control of a forest weed, using the Gaussian plume model. *Grana* **29**:139-145.
- De Jong, M.D., E. Sela, S.F. Shamoun and R.E. Wall 1996. Natural occurrence of *Chondrostereum purpureum* in relation to its uses as a biological control agent in Canadian forests. *Biol. Cont.* **6b**:347-352.
- Gosselin, L., R. Jobidon and L. Bernier 1995. Assessment of genetic variation within *Chondrostereum purpureum* from Quebec by random amplified polymorphic DNA analysis. *Mycol. Res.* **100(2)**: 151-158.
- Gosselin, L., R. Jobidon, and L. Bernier 1999a. Genetic variability and structure of Canadian populations of *Chondrostereum purpureum*, a potential biophytocide. *Mol. Ecol.* **8**:113-122.
- Gosselin, L., R. Jobidon and L. Bernier 1999b. Biological control of stump sprouting of broadleaf species in rights-of-way with *Chondrostereum purpureum*: incidence of the disease in non-target hosts. *Biol. Cont.* **16**:60-67.
- Goulet, A. 1988. Épidémiologie du champignon *Chondrostereum purpureum*, agent de maîtrise biologique de la reproduction végétative des feuillus de lumière en milieu forestier. Thèse (M.Sc.). Faculté de foresterie et de géomatique. Université Laval. Chapitre 3 - Development of OPEM, a model simulating spore release and dispersal of *Chondrostereum purpureum*.
- Grosclaude, C. 1969. La plomb des arbres fruitiers VII. Observations sur les carpophores et les spores du *Stereum purpureum*. *Ann. Phytopath* **1**:75-85.
- Pitt, D.G., M.T. Dumas, R.E. Wall, D.G. Thompson, L. Lanteigne, W. Hintz, G. Sampson and R.G. Wagner. 1999. *Chondrostereum purpureum* as a biological control agent in forest vegetation management. I. Efficacy on speckled alder, red maple, and aspen in eastern Canada. *Rev. Can. Rech. For.* **29**:841-851.
- Ramsfield, T.D., E.M. Becker, S.M. Rathief, Y. Tang, T.C. Vrain, S.F. Shamoun and W.E. Hintz 1996. Geographic variation of *Chondrostereum purpureum* detected by polymorphisms in ribosomal DNA. *Can. J. Bot.* **74**:1919-1929.

Spiers, A.G. and D.H. Hopcroft 1988. Étude ultrastructurale du développement de la baside et des basidiospores et de la libération des basidiospores *Chondrostereum purpureum*. Journal européen de pathologie forestière **18**:367-381.

Wall, R.E., D.E. Macey and E. Sela 1996. Virulence and infertility of *Chondrostereum purpureum* isolates. Biol. Cont. **7**:205-211.

Annexe 1 Tableau récapitulatif

Tableau 1 Sommaire des études sur la toxicité et l'infectivité de Myco-Tech^{MC} (*C. purpureum* HQ1)

ÉTUDE	ESPÈCE/SOUCHE et DOSES	DL ₅₀ , CSEO/CSENO et SEO	ORGANE ATTEINT/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité orale	Rat — Sprague Dawley CD, exogame, 3 par sexe 5000 mg/kg m. c. ou 5 × 10 ⁶ cfu/kg m. c.	DL ₅₀ > 5 × 10 ⁶ cfu/kg m. c.	Aucun symptôme clinique ni mort. À l'exception d'une ♀ qui a perdu 2 g entre les jours 7 et 14, tous les sujets ont pris du poids. Pas d'observation importante à l'autopsie. PEU TOXIQUE
Infectivité par injection intrapéritonéale	Rat — Sprague Dawley CD, exogame, — 12 par sexe, traités avec la m. a. vivante, 2 ml/100 g m. c. ou 0,04 g (m. s.)/100 g m. c. — 12 par sexe, traités avec la m. a. détruite par la chaleur 2 ml/100 g m. c. ou 0,04 g (m. s.)/100 g m. c.	DL ₅₀ > 2 ml/100 g m. c.	Pas de mortalité. Baisse de la m. c. et du gain de m. c. statistiquement significatives à comparer aux témoins négatifs, au jour 3, chez les sujets traités avec la substance à l'essai vivante ou tuée à la chaleur. Pas d'autre symptôme clinique observé. À l'autopsie, multiples masses et adhérences dans la cavité péritonéale de la plupart des sujets traités avec la substance à l'essai vivante ou tuée à la chaleur. Une masse dans le foie a été observée au jour 7 chez une ♀ traitée avec la substance à l'essai tuée à la chaleur, ainsi que le renflement d'un ganglion lymphatique mésentérique chez une autre ♀ du même groupe le même jour. Au jour 7, la masse relative moyenne de la rate des sujets ♂♂ traités avec la substance à l'essai tuée à la chaleur était supérieure de manière statistiquement significative à celle des témoins négatifs le même jour. L'apparition de masses et adhérences, le renflement des ganglions lymphatiques et l'augmentation de la masse relative de la rate sont des réponses immunologiques normales à l'introduction d'un corps étranger et on ne considère pas qu'il s'agisse d'effets nocifs. Aucune observation importante à l'autopsie chez les témoins négatifs et les témoins shelf (Aucune idée de ce que c'est ni du lapsus si c'en est un). L'agent biologique n'a été récupéré dans aucun des tissus ou des masses examinées à part ce qui avait été recueilli dans le caecum au jour 0 chez un seul ♂ traité avec l'organisme vivant. Au jour 0, une partie de la substance à l'essai vivante a été récupérée dans les liquides de lavage de la cavité péritonéale de tous les sujets traités avec la substance à l'essai vivante. NON PATHOGÈNE

ÉTUDE	ESPÈCE/SOUCHE et DOSES	DL ₅₀ , CSEO/CSENO et SEO	ORGANE ATTEINT/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
Toxicité cutanée	Lapin — NZW, 5 par sexe, 2000 mg/kg m. c., dose unique (environ $2,44 \times 10^5$ CFU/kg m. c.)	DL ₅₀ > $2,44 \times 10^5$ cfu/kg m. c. (DL ₅₀ > 2000 mg/kg m. c.)	Aucune mort. Tous les sujets ont présenté des érythèmes cotés ¹ 1 ou 2 après le retrait des bandages au jour 2. Irritation disparue au jour 3 chez tous les sujets sauf un mâle, guéri au jour 4. Pas de signe apparent de toxicité observé chez aucun des sujets. PEU TOXIQUE
Irritation cutanée	Lapin — NZW, 1 ♂ et 2 ♀♀, Dose unique de 0,5 g (environ $6,1 \times 10^4$ cfu)	CMM ² = 0/8 (24 h, 48 h et 72 h)	Aucune mort et aucun signe d'irritation cutanée. PAS IRRITANT

¹ Érythème: 0 = aucun, 1 = très léger, 2 = bien défini, 3 = modéré à grave, 4 = érythème grave à escarre légère

² CMM = cote moyenne maximale