



Ophiostoma piliferum souche D97

Sylvanex technique (MAQT) Sylvanex (PC)

L'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA), en vertu de l'article 17 du *Règlement sur les produits antiparasitaires* (RPA), a accordé des homologations temporaires à la matière active microbienne *Ophiostoma piliferum* (souche D97) (Sylvanex technique) et à sa préparation commerciale connexe, le Sylvanex, pour usage au point de chute sur le bois fraîchement abattu (le pin tordu et le pin rouge) comme produit biologique antitache colorée de l'aubier afin de supprimer les champignons causant le bleuissement.

Cette note réglementaire présente un sommaire des données examinées et expose les raisons qui justifient la décision réglementaire touchant ces produits.

(also available in English)

Le 30 mars 2004

Ce document est publié par la Division des nouvelles stratégies et des affaires réglementaires, Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec la :

**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 : 0-662-76503-6 (0-662-76504-4)

Numéro de catalogue : H113-7/2004-5F (H113-7/2004-5F-PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada 2004

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'ARLA de Santé Canada a examiné les demandes d'homologation de la matière active de qualité technique (MAQT) *Ophiostoma piliferum* souche D97, SYLVANEX TECHNIQUE, et de sa préparation commerciale (PC) connexe, SYLVANEX, fabriquées par la société AgraSol Inc. pour la suppression des champignons causant le bleuissement sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus, au point de chute.

Le SYLVANEX est un produit microbien antitache colorée de l'aubier qui contient 76 % (p/p) de la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* pour lutter contre les champignons causant le bleuissement sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus, au point de chute. Le microorganisme actif, la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum*, est un champignon d'origine naturelle; il n'est présentement pas homologué aux États-Unis en tant que produit antitache colorée de l'aubier. À l'heure actuelle, il n'y a pas de produit antitache colorée de l'aubier qui possède une homologation pour le profil d'emploi proposé pour Sylvanex.

À titre de condition à cette homologation temporaire, la société AgraSol Inc. devra effectuer des études supplémentaires. Après l'examen de ces nouveaux renseignements, l'ARLA publiera un projet de décision d'homologation (PRDD) et sollicitera les commentaires des parties intéressées avant de rendre une décision d'homologation finale.

Table des matières

1.0	La matière active, ses propriétés et ses utilisations	1
1.1	Description de la matière active et de ses impuretés	1
1.2	Propriétés physiques et chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale	2
1.3	Détails relatifs aux utilisations et renseignements supplémentaires	3
2.0	Méthodes d'analyse	5
2.1	Méthode d'analyse de la matière active telle que fabriquée	5
2.1.1	Méthodes d'identification des microorganismes	5
2.1.2	Méthodes de détermination de la pureté des cultures d'ensemencement	6
2.1.3	Méthodes de détermination du contenu en microorganismes dans le produit obtenu en vue de la fabrication de la formulation	7
2.1.4	Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué	7
2.1.5	Méthodes utilisées pour montrer l'absence de pathogènes humains ou mammifères	8
2.1.6	Méthodes utilisées pour déterminer la stabilité à l'entreposage et la durée de vie du microorganisme	8
2.2	Méthode d'analyse de la formulation	9
3.0	Effets sur la santé humaine ou animale	9
3.1	Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectiosité	9
3.2	Incidence d'hypersensibilité	10
3.3	Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient	10
3.3.1	Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle	10
4.0	Résidus	11
4.1	Sommaire des résidus	11
5.0	Comportement et devenir dans l'environnement	11
6.0	Effets sur les organismes non visés	12
6.1	Sommaire intégré de la toxicologie environnementale	12
7.0	Efficacité	13
7.1	Efficacité	13
7.1.1	Utilisation proposée	13
7.1.2	Mode d'action	13
7.1.3	Nature du problème parasitaire	14
7.1.4	Efficacité contre les organismes nuisibles	14
7.2	Phytotoxicité pour les plantes cibles (y compris divers cultivars) ou les produits végétaux cibles (OCDE 7.4)	18

7.3	Observations d'effets secondaires indésirables ou non voulus	18
7.4	Aspects économiques	18
7.5	Pérennité	18
7.5.1	Recensement des solutions de rechange	18
7.5.2	Compatibilité avec les pratiques actuelles de gestion, y compris la lutte intégrée	19
7.5.3	Contribution à la réduction des risques	19
7.5.4	Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle d'une résistance	19
7.6	Conclusions	19
8.0	Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques	21
9.0	Décision réglementaire	21
	Liste des abréviations	22
Annexe I	Toxicologie	24
Tableau 1	Sommaire des études de toxicité et d'infectiosité avec la souche C-1 det 5 d' <i>Ophiostoma piliferum</i>	24
Annexe II	Évaluation environnementale	26
Tableau 1	Risques de la souche D97 d' <i>Ophiostoma piliferum</i> pour les organismes terrestres non visés	26
Tableau 2	Risques de la souche D97 d' <i>Ophiostoma piliferum</i> pour les organismes aquatiques non visés	28
	Références	30

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description de la matière active et de ses impuretés

Description de la MAQT

Microorganisme actif	<i>Ophiostoma piliferum</i> souche D97
Utilité	Produit biologique antitache colorée de l'aubier
Nom scientifique	<i>Ophiostoma piliferum</i>
Ordre taxonomique	
Règne :	Eumycètes
Phylum :	Dikaryomycota
Subphylum :	Ascomycotina
Classe :	Ascomycètes
Ordre :	Ophiostomatales
Famille :	Ophiostomataceae
Genre :	<i>Ophiostoma</i>
Espèce :	<i>piliferum</i>
Souche:	WZ5803D97 (abréviation – D97)
Renseignements relatifs à des brevets canadiens	<p>Le fabricant a obtenu un brevet (Demande de brevet canadien n° 2009622), émis le 30 novembre 1999 sous l'ancien nom commercial Cartapip 97, pour réduire la teneur en poix dans la pâte de bois.</p> <p>Le fabricant a aussi fait une demande de brevet (Demande de brevet canadien n° 2149808) pour le Cartapip 97 en tant qu'agent de lutte biologique destiné aux produits forestiers et à l'écorçage et en tant que champignon pour réduire la teneur en poix (Demande de brevet canadien n° 2047900).</p>
Pureté nominale de la matière active	<p>Le Sylvanex technique (MAQT) se compose de 57 % de matière active dans un milieu de fermentation épuisé de 1,5 % correspondant à 20 – 50 unité actives (UA)/kg [où 1 UA équivaut à 1×10^{12} cellules souches unipotentes (CFU) de la souche D97 du champignon <i>Ophiostoma piliferum</i>].</p> <p>La PC Sylvanex contient 76 % de m.a. p/p (équivalent à 30 – 50 UA/kg).</p>

Nature des impuretés d'importance toxicologique, environnementale ou autre

La substance de qualité technique ne contient aucune impureté ou microcontaminant figurant sur la liste des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques (PGST).

Lors de la production des cultures, on vérifie le taux de croissance microbienne et l'albinisme avant de les utiliser comme inoculum. Le produit final est aussi soumis à des analyses de contamination microbienne (*Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, coliformes totaux, coliformes fécaux, nombre de levure et de moisissures, streptocoques fécaux). Les lots qui dépassent les limites établies en ce qui concerne les contaminants microbiens doivent être détruits. La souche D97 ne produit pas de substance toxique connue pour les mammifères.

1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active et de sa préparation commerciale

Produit de qualité technique : Sylvanex technique

Propriété	Résultat
État physique	Suspension
pH dans l'eau distillée	6 – 7
Densité	1000 kg/m ³
Viscosité	400 centipoises

Préparation commerciale : Sylvanex

Propriété	Résultat
Couleur	Brun tan
État physique	Flocon
Garantie	76 % p/p (équivalent à 30 – 50 UA/kg)

Propriété	Résultat
Produits de formulation	Tous les produits de formulation du Sylvanex sont considérés comme étant relativement non toxiques (c.-à-d. qu'ils figurent aux listes 4A ou 4B des matières inertes de la United States Environmental Protection Agency [EPA]). Le produit ne contient aucun produit de formulation figurant sur la liste 1 des matières inertes de l'EPA et aucun produit connu comme étant une substance de la voie 1 de la PGST.
Densité	180 kg/m ³
pH dans l'eau distillée	6 – 7
Corrosivité	Non irritant pour la peau; légèrement irritant pour les yeux
Mouillabilité	Suspension facile lorsqu'agité par vortex
Teneur en eau	1 - 3 %

1.3 Détails relatifs aux utilisations et renseignements supplémentaires

Le Sylvanex est une PC qui se présente sous forme de poudre mouillable et qui contient la matière active, soit la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum*, que le demandeur propose d'utiliser comme produit biologique antitache colorée de l'aubier sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus, au point de chute seulement. Le Sylvanex doit être dilué dans l'eau et pulvérisé pendant la coupe du bois, en se servant d'un système hydraulique de pulvérisation attaché au matériel d'abattage. Il n'existe présentement pas de produit antitache colorée de l'aubier homologué pour le profil d'emploi proposé par le demandeur.

Le champignon *Ophiostoma piliferum* a été isolé en Europe, en Australie, aux États-Unis et au Canada. Aux États-Unis, *Ophiostoma piliferum* est ubiquiste sur les bois résineux (Hunt, 1956) et on mentionne qu'il est un des plus importants champignons colorant le bois dans les États du Sud (Verrall, 1939). Au Canada, *Ophiostoma piliferum* est indigène à un certain nombre d'écozones : on l'a retrouvé sur le bois et les billes de pin tordu, d'épinette blanche, de pin gris et d'épinette noire en Colombie-Britannique, en Alberta, en Saskatchewan, en Ontario et au Québec (Uzunovic et coll., 1999).

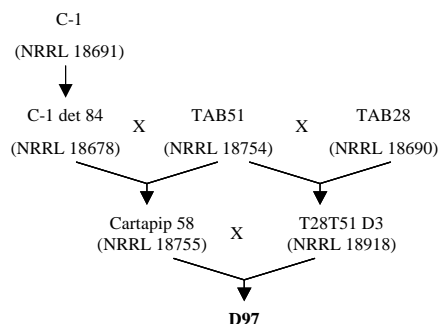
Ophiostoma piliferum est un champignon saprophyte, colonisateur primaire de l'aubier frais des arbres coupés et des billes. Le champignon colonise seulement les matières ligneuses mortes et il préfère les bois mous aux bois durs. Les souches pigmentées de type sauvage de ce champignon causent la décoloration de l'aubier.

On a obtenu la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* par croisement de souches de type sauvage d'*Ophiostoma piliferum* (figure 1.3.1), notamment de la souche de type sauvage C-1 gris pâle d'*Ophiostoma piliferum*. On a obtenu les homocaryons à partir de la souche C-1 en isolant les ascospores à spore unique. Les ascospores ont germé, donnant lieu à des colonies de cellules fongiques individuelles que l'on a triées à vue. De ces cellules, on a choisi l'isolat blanc ou incolore, C-1 det 84, pour les croisements ultérieurs.

Les souches à pigments foncés (noirs) comme les souches TAB51 et TAB28 sont associées à une colonisation rapide de l'aubier et on les utilise dans les croisements avec des souches incolores pour produire des cellules fongiques qui sont incolores tout en étant de croissance rapide. On a donc croisé l'isolat C-1 det 84 avec la souche pigmentée de type sauvage TAB51. Des colonies obtenues, on a sélectionné le Cartapip 58 en vue de croisements ultérieurs, d'après son absence de couleur et ses caractéristiques de croissance.

De façon similaire, on a obtenu une variante brun pâle, le T28T51 D3, un isolat d'ascospores uniques résultant du croisement de deux souches de type sauvage, TAB28 et TAB51. Le croisement final entre le T28T51 D3 et le Cartapip 58 a donné la souche d'ascospores uniques incolores D97, utilisée dans le Sylvanex. On a choisi la souche D97 comme matière active du Sylvanex en fonction de sa croissance sur les essences forestières telles que le pin, de sa couleur blanche ou son absence de couleur et de sa capacité à dégrader la poix.

Figure 1.3.1 Arbre généalogique de la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum*



La souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* diffère de la plupart des autres souches de cette espèce car les parois cellulaires ne contiennent pas de mélanine; c'est ce qui lui confère sa qualité incolore. Le demandeur propose d'utiliser le Sylvanex pour lutter contre les champignons causant le bleuissement et prévenir la coloration de l'aubier. La souche blanche ou incolore dans le Sylvanex entre en compétition avec les champignons pigmentés pour l'accès aux sources limitées de substances nutritives dans le bois fraîchement coupé. Le niveau naturel de champignons causant le bleuissement ne peut s'accroître et dominer la concentration élevée de la souche albinos pulvérisée sur le bois.

Dans toutes les études sur l'innocuité et les effets sur la santé humaine, on a utilisé le C-1 det 5, un autre isolat d'ascospore uniques incolores de la souche C-1 d'*Ophiostoma piliferum*, tandis que le Cartapip 58 s'est avéré la substance à l'essai dans la plupart des études de toxicologie environnementale. Comme il ne semble pas y avoir de sous-espèces ou de variétés au sein de cette espèce, on peut considérer le C-1 det 5, le Cartapip 58 et le Cartapip 97 comme biologiquement équivalents.

Environnement Canada et Santé Canada ont évalué cet agent de lutte en 1988 et l'ont jugé acceptable, non comme pesticide mais comme agent de contrôle de la poix dans les copeaux de bois, pour l'industrie des pâtes et papiers. (Déclaration de substance nouvelle n° 6858).

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthode d'analyse de la matière active telle que fabriquée

2.1.1 Méthodes d'identification des microorganismes

Il est possible de distinguer le genre *Ophiostoma* des organismes apparentés du genre *Ceratocystis* d'après leur morphologie (p. ex., les ascocarpes, les hyphes, les conidiophores). La sensibilité à l'antibiotique cycloheximide peut aussi permettre de distinguer le genre *Ceratocystis* du genre *Ophiostoma* : on a constaté une croissance linéaire blanche d'*Ophiostoma piliferum* sur de la gélose extrait de malt à laquelle on a ajouté des concentrations de cycloheximide allant jusqu'à 1000 ppm, tandis qu'aucune espèce de *Ceratocystis* ne s'est développée sur de la gélose extrait de malt avec > 50 ppm de cycloheximide (Harrington, 1981).

Les patrons de polymorphisme de restriction (RFLP) produits par la digestion du gène 26S rARN par des enzymes de restriction de l'ADN de type *HaeIII* peuvent aussi servir à distinguer *Ophiostoma piliferum* des autres espèces d'*Ophiostoma* colorant le bois.

L'amplification du gène de la β -tubuline avec une paire d'amorces spécifiquement désignées (Cat1–Cat2) permet de distinguer la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* de la plupart des autres souches d'*Ophiostoma piliferum*. La souche D97, outre les souches en provenance du Québec, de la Saskatchewan et des États-Unis, donne un fragment d'ADN de 180 paires de base, tandis que les souches provenant d'Europe, de Nouvelle-Zélande, de Colombie-Britannique et d'Alberta ne produisent pas ce fragment. Le recours à une culture mère d'ensemencement permanente pour tous les lots de production de Sylvanex, ainsi que d'autres propriétés spécifiques à la souche D97 (comme son absence de couleur), atténue les préoccupations associées à la distinction de la souche D97 des souches naturelles ou de type sauvage d'*Ophiostoma piliferum*.

2.1.2 Méthodes de détermination de la pureté des cultures d'ensemencement

La société AgraSol Inc. entrepose la culture mère d'ensemencement de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* utilisée dans la production du Sylvanex dans des flacons à -70 °C, gardés dans ses laboratoires de Raleigh (État de la Caroline du Nord). La culture mère est également déposée dans la collection de cultures du Northern Regional Research Laboratory (NRRL) du United States Department of Agriculture (USDA) (NRRL n° 18917).

La préparation des flacons de production débute par l'inoculation, sous conditions aseptiques, d'une fiole de 250 mL contenant 100 mL d'extrait de levure et de malt (20 g/L extrait de malt, 2 g/L extrait de levure) avec 1 mL de souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* congelée, provenant de la culture mère. On procède ensuite à l'incubation de ce flacon sur un agitateur réglé à 120 tours par minute, à 28 °C pendant 24 heures. On transfère ensuite le contenu de la fiole dans une fiole de 2 L contenant 900 mL d'extrait de levure et de malt et on l'incube à nouveau sur l'agitateur pour une période de 24 à 48 heures. On met fin à l'incubation lorsqu'il y a sporulation, confirmée par microscopie optique. Cultivé de cette manière, le produit de fermentation contient de 60 à 70 % de blastospores.

On ajoute du glycérol stérilisé au produit de fermentation jusqu'à une concentration finale de 20 % v/v et on transfère le mélange de façon aseptique dans des flacons stériles de cryoconservation de 1 mL que l'on entrepose à -70 °C. On assigne un code à chaque lot de production pour des fins de traçage pendant les étapes d'assurance de la qualité et de la production de l'inoculum.

On examine les cultures de production pour vérifier la présence d'albinisme et de croissance microbienne avant de les utiliser comme inoculum pour la production de Sylvanex. Pour la vérification de l'albinisme, on prend des échantillons d'au moins deux flacons que l'on dilue et étale sur des plaques de gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA) que l'on incube ensuite à 28 °C pendant 96 heures. Le lot des flacons de production passe le test d'albinisme uniquement si, sur 1000 colonies examinées, on ne retrouve aucune colonie pigmentée. On ne procède à aucun autre test pour vérifier l'intégrité ou la constance de la souche.

Pour vérifier la présence de microbes indésirables, on prend un échantillon d'au moins 10^8 CFU de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* que l'on fait croître sur des plaques de gélose de PDA ou de gélose de Luria. Ces plaques sont incubées à 37 °C, température qui ne permet pas la croissance d'*Ophiostoma piliferum*. Après 24, 48, 72 et 96 heures, on examine les plaques pour y vérifier la présence de colonies de bactéries, champignons ou levures. Le lot de flacons de production passe le test de microbes indésirables si l'on n'observe aucune colonie sur aucune des plaques de gélose de PDA ou de Luria.

2.1.3 Méthodes de détermination du contenu en microorganismes dans le produit obtenu en vue de la fabrication de la formulation

Deux méthodes servent à vérifier la viabilité de la bouillie intermédiaire de spores. La première méthode met en jeu un distributeur de plaques giratoire spécialisé qui distribue 50 µL d'échantillon dilué (quatre dilutions) sur la surface d'une plaque rotative de PDA de 10 cm, du centre vers la bordure en quantité décroissante, de façon telle que le volume d'échantillon dans chaque portion de la plaque est connu. On incube ces plaques à 32 °C pendant 60 – 65 heures et on effectue ensuite les numérations totales. On prend trois lectures de numérations totales pour chaque plaque. On fait ensuite la moyenne des 12 résultats des numérations totales en vue de déterminer l'indice final. On peut également choisir la méthode normalisée d'étalement sur plaques. Pour ce faire, on étale les dilutions de la bouillie sur des plaques de gélose de PDA en répliqués de cinq plaques par dilution, et on les incube à l'envers, à 25 °C, pendant trois ou quatre jours. Seules les plaques comptant de 25 – 200 colonies sont incluses dans la détermination de l'indice total. La bouillie intermédiaire est jugée acceptable si le nombre des cellules par plaque est d'au moins 5×10^9 CFU/g. La bouillie intermédiaire contient généralement près de 2×10^{10} CFU/g.

Après le séchage, on procède à nouveau à la vérification de la viabilité du produit à l'aide de la méthode normalisée d'étalement sur plaques. On prépare l'échantillon en hydratant 5 g de Sylvanex dans 100 mL d'eau à 25 °C et à pH 5 – 6, en brassant ou agitant pendant 30 minutes. On prépare cinq répliqués du Sylvanex hydraté, on les dilue en série et on applique 100 µL de chaque dilution (habituellement les dilutions 10^5 , 10^6 , 10^7 et 10^8) sur une plaque de gélose de PDA. Les plaques sont mise en incubation, à l'envers, à 25 °C, pendant trois ou quatre jours. Les plaques contenant de 25 à 200 colonies sont prises en compte et les résultats sont exprimés en termes de CFU/mL et d'UA/kg. On définit une UA comme étant équivalente à 10^{12} CFU. Les données d'efficacité suggèrent que l'on peut accroître les limites d'activité à 30 – 50 UA/kg. La nature du procédé de fabrication peut donner lieu à une gamme étendue d'activité d'un lot à un autre. Le demandeur propose de fournir au consommateur le nombre total d'UA par carton d'expédition avec le poids net de chaque carton. L'utilisateur peut alors calculer les UA/kg du contenu de chaque carton d'expédition et déterminer la quantité de produit à pulvériser. Cette proposition est acceptable. Le demandeur devra remplir un nouveau formulaire des spécifications du produit indiquant les limites imposées sur la garantie pour la PC.

2.1.4 Méthodes de détermination des impuretés pertinentes dans le produit fabriqué

Pour s'assurer qu'aucune colonie n'est pigmentée, on incube les plaques provenant des essais d'activité du Sylvanex pendant six à sept jours additionnels.

Le demandeur a procédé aux essais de vérification de la présence de salmonelles, de *Staphylococcus aureus*, de coliformes totaux, de coliformes fécaux, de levures et de moisissures, et de streptocoques fécaux selon des lignes directrices reconnues (AOAC, FDA, American Public Health Association). Il a présenté les données de contrôle de

qualité provenant de cinq lots de Sylvanex. Tous ces lots ont eu des résultats négatifs en ce qui concerne les salmonelles (/10 g) et *Staphylococcus aureus* (/1g). L'indice le plus élevé, pour tous les genres de microorganismes indésirables, concernait les streptocoques fécaux : on en a retrouvé $1,15 \times 10^4$ CFU/g dans un lot mais cette valeur se situe sous la limite établie de 10^5 CFU/g pour d'autres produits antiparasitaires microbiens. Des indices totaux de coliformes pour deux lots se situaient entre 2,2 et $6,6 \times 10^3$ CFU/g, excédant ainsi la limite de 10^3 CFU/g établie pour d'autres produits antiparasitaires microbiens. Les colonies représentatives des coliformes fécaux isolées à partir de ces deux lots ont été identifiées comme étant *Enterobacter* sp., *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae*. Il est essentiel de poursuivre la surveillance des microcontaminants microbiens dans tous les lots de production de Sylvanex et tout lot qui excède les limites établies en ce qui a trait aux contaminants microbiens doit être détruit.

Le Sylvanex est fabriqué dans une installation où l'on produit également un certain nombre de produits à base de sous-espèces de *Bacillus*, principalement les produits contenant du *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* (Btk). Le Btk est un agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA) homologué très spécifique pour la lutte contre les lépidoptères nuisibles. Le risque que présente le Btk pour les humains et les animaux est minime. Dans l'usine de fabrication, il existe toutefois une possibilité de contamination du Sylvanex par les spores du Btk. Le demandeur d'homologation allègue que la plage des résidus prévus de spores de Btk dans le Sylvanex est de 1×10^3 CFU/g.

Le champignon *Ophiostoma piliferum*, à ce que l'on sache, ne produit pas de substance toxique pour les mammifères. Cette absence de toxicité pour les mammifères est appuyée par l'absence de rapports sur des effets nocifs chez les humains ou les animaux, malgré la nature ubiquiste d'*Ophiostoma piliferum* dans un certain nombre d'écozones au Canada.

2.1.5 Méthodes utilisées pour montrer l'absence de pathogènes humains ou mammifères

Tel que mentionné à la section 2.1.4, le programme d'assurance de la qualité de la production du Sylvanex doit inclure la destruction des lots qui excèdent les limites établies pour certains contaminants microbiens.

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

Le demandeur a déterminé la stabilité du produit à différents moments après son entreposage à -20 °C. Pour ce faire, il s'est servi de la méthode normalisée d'étalement sur plaques pour les essais de viabilité, décrite à la section 2.1.3. Les données de stabilité à l'entreposage soumises pour le Sylvanex avaient peu de valeur parce que la fabrication et les essais ont eu lieu dans un certain nombre d'endroits différents et parce que seuls deux lots ont été testés dans le temps. Les causes de la variabilité de l'activité résiduelle n'étaient pas claires, à savoir la nature de l'essai, l'endroit de fabrication du lot, l'endroit de l'essai (dans certains cas l'activité initiale était évaluée dans un endroit et la deuxième évaluation se faisait dans un autre endroit) ou encore les différences dans la stabilité entre

divers lots. D'après les données limitées soumises par le demandeur, l'ARLA ne peut seulement soutenir la période d'entreposage de 18 mois à -20 °C. Le demandeur devra retirer de l'étiquette la mention d'un entreposage à température ambiante pour une période de quelques semaines. Il devra soumettre des données additionnelles sur la stabilité s'il souhaite modifier l'étiquette et y ajouter des températures supérieures d'entreposage. De telles données doivent inclure des échantillons analysés périodiquement sur une période de temps appropriée et provenant de lots entreposés sous les conditions d'exploitation prévues (p. ex., 25 °C). Le demandeur devrait également envisager d'évaluer la stabilité à d'autres températures d'entreposage. Afin de minimiser la variabilité, on recommande d'ajouter au protocole une étape d'homogénéisation visant à déterminer l'efficacité du produit.

2.2 Méthode d'analyse de la formulation

Le Sylvanex n'est pas destiné à être utilisé sur les aliments destinés aux humains ou aux animaux. Il n'est donc pas nécessaire de déterminer une limite maximale de résidus (LMR) pour la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum*. Par conséquent, l'ARLA n'exige pas la présentation d'une méthode pour quantifier les résidus de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* dans les aliments destinés aux humains ou aux animaux.

3.0 Effets sur la santé humaine ou animale

Voir le tableau sommaire au tableau 1 de l'annexe I.

3.1 Sommaire intégré de la toxicité et de l'infectiosité

En ce qui a trait à l'innocuité et à la santé humaine, l'ARLA a examiné les renseignements et les données soumises par AgraSol Inc. en appui à la demande d'homologation de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* et du Sylvanex et les a jugés suffisamment complets pour permettre une décision relative à l'homologation. Les renseignements fournis pour caractériser la matière active, le procédé de fabrication et le contrôle de la qualité ont bien cerné les préoccupations potentielles relatives à l'innocuité et à la santé humaine associées à la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* et aux contaminants bactériens et fongiques introduits pendant la production.

L'Agence a examiné les études de toxicité aiguë et d'infectiosité soumises en appui à l'homologation de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* (Sylvanex technique) et du Sylvanex. La série de données comprenait des études effectuées sur une souche très apparentée, la C-1 det 5 (voir la section 1.3); des études acceptables sur la pathogénicité/toxicité pulmonaire et orale; une étude supplémentaire sur la toxicité/pathogénicité cutanée contenant suffisamment de données pour prendre une décision relative à l'irritation cutanée primaire; et une étude additionnelle sur l'irritation oculaire.

On n'a observé aucun signe de toxicité ou de pathogénicité lors de l'administration de la souche C-1 det 5 d'*Ophiostoma piliferum* à des rats par voie orale ou par voie intratrachéale. La souche C-1 det 5 n'a pas causé d'irritation lors de l'application cutanée sur des lapins mais les résultats sur la toxicité ne sont pas déterminants, car les doses utilisées n'étaient pas conformes à celles exigées dans les lignes directrices pour les essais de toxicité cutanée. Compte tenu de cette incertitude, les utilisateurs du produit devront utiliser de l'équipement de protection individuelle (EPI) pour se protéger de l'exposition cutanée et le demandeur devra soumettre une nouvelle étude de toxicité cutanée à l'aide de la PC, à la dose requise, pour compléter l'évaluation relative à la santé et à l'innocuité. On a constaté une légère rougeur de la conjonctive après administration de la souche C-1 det5 dans les yeux de lapins. On s'attend à ce que le potentiel irritant du Sylvanex soit supérieur à celui de la substance utilisée dans cet essai compte tenu des propriétés physiques de la formulation en poudre. Des énoncés d'étiquette normalisés seront requis pour atténuer les risques pour les yeux. Le champignon *Ophiostoma piliferum* ne produit aucune toxine connue pour les mammifères. Cette constatation a été confirmée par une lettre d'un chercheur expert dans le domaine des champignons ophiostomatoïdes qui, après avoir effectué des recherches de documentation extensives sur le champignon *Ophiostoma piliferum* et ses métabolites, déclare qu'à sa connaissance, *Ophiostoma piliferum* ne produit pas de toxines ou d'antibiotiques.

3.2 Incidence d'hypersensibilité

L'industrie canadienne des pâtes et papiers utilise le Sylvanex depuis 1995 comme agent réducteur de poix. On ne signale aucun incident d'hypersensibilité associé à la fabrication, la formulation et l'application du Sylvanex à cette fin. Toutefois, et il en est de même pour tous les microorganismes, on considère qu'*Ophiostoma piliferum* est un agent potentiellement sensibilisant.

3.3 Effets sur la santé humaine ou animale découlant de l'exposition à la matière active ou aux impuretés qu'elle contient

3.3.1 Évaluation de l'exposition professionnelle et occasionnelle

L'examen des études sur l'innocuité et la santé humaine révèle que le Sylvanex (souche D97 d'*Ophiostoma piliferum*) est de faible toxicité aiguë, n'est pas pathogène par gavage oral et par instillation intratrachéale. Comme tous les pesticides microbiens, on considère qu'*Ophiostoma piliferum* est un sensibilisant potentiel, bien qu'il n'y ait pas de rapport d'hypersensibilité. Une étude d'irritation oculaire aiguë a montré qu'*Ophiostoma piliferum* était minimalement irritant pour les yeux sous forme de suspension mais son potentiel d'irritation sous forme de poudre demeure inconnu. En outre, l'industrie des pâtes et papiers utilise ce produit comme agent de contrôle de la poix depuis 1995 et depuis, aucune préoccupation relative à la santé humaine ou à l'innocuité n'a été soulevée.

Le demandeur propose d'utiliser la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* comme produit antitache colorée de l'aubier sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus; le produit serait pulvérisé au taux de 10^{11} CFU (100 – 300 g) par m^3 à l'aide d'un pulvérisateur attaché à la pièce coupante de l'abatteuse-empileuse, de l'ébrancheuse ou de l'abatteuse-tronçonneuse. L'exposition professionnelle pourrait survenir pendant le mélange du produit, lors du chargement dans la cuve de pulvérisation et lors de la dérive de pulvérisation issue de l'abatteuse. Cependant, les opérateurs de machinerie sont protégés de la dérive dans une cabine fermée. D'après les propriétés biologiques, l'absence de toxicité et de pathogénicité du produit ainsi que le mode d'emploi proposé, l'Agence recommande d'ajouter à l'étiquette du produit l'utilisation d'un EPI normalisé.

4.0 Résidus

4.1 Sommaire des résidus

Le Sylvanex ne sera pas utilisé sur les aliments destinés aux humains ou aux animaux. Il n'est donc pas nécessaire d'établir de LMR pour la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* en vertu de l'article 4(d) de la *Loi sur les aliments et drogues* (adultération des aliments) et tel que défini à l'alinéa 15, section B.15.002 du *Règlement sur les aliments et drogues*. Le champignon *Ophiostoma piliferum* est un microorganisme ubiquiste, largement répandu dans l'environnement. On n'en connaît pas l'existence en tant que champignon aquatique et on ne s'attend donc pas à ce qu'il prolifère dans les milieux aquatiques. En outre, on estime que le risque découlant de l'exposition occasionnelle au produit est minime, car il n'y a pas de preuve d'effet nocif résultant de l'exposition orale, cutanée ou respiratoire. Ainsi, la surveillance d'*Ophiostoma piliferum* dans l'eau potable comme indicateur d'une contamination microbienne ou en tant que contaminant pathogène direct n'est pas nécessaire. La percolation dans le sol et le traitement municipal de l'eau potable réduisent la possibilité d'exposition à la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* dans l'eau potable. Par conséquent, le potentiel de transfert significatif dans l'eau potable est de minime à nul et le risque de consommation d'eau potable contenant la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* est minime puisqu'il n'y a pas de signe d'effet nocif des suites de l'exposition orale à cette matière.

5.0 Comportement et devenir dans l'environnement

Il n'a pas été nécessaire d'obtenir des données sur le devenir dans l'environnement (niveau II) car on ne prévoit pas que l'utilisation proposée de la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* ait des effets nocifs sur les organismes non visés.

6.0 Effets sur les organismes non visés

Voir les sommaires aux tableaux 1 et 2 de l'annexe II.

6.1 Sommaire intégré de la toxicologie environnementale

Le champignon *Ophiostoma piliferum* est un des plus importants champignons colorant le bois résineux dans les États du Sud (Verrall, 1939) et on le dit largement répandu dans les bois résineux d'Europe. Au Canada, on a retrouvé *Ophiostoma piliferum* sur le bois et les billes de diverses espèces de pin et d'épinette provenant de nombreuses écozones. La documentation publiée concernant ce champignon indique qu'il s'agit d'un saprophyte du bois mort ou du bois dont les mécanismes de résistance sont gravement affaiblis. Il peut coloniser les bois durs comme les bois mous, mais ces derniers sont considérés comme son substrat préféré. *Ophiostoma piliferum* et d'autres champignons colorant l'aubier sont intimement liés à la présence des scolytes. En effet, ces insectes sont vecteurs de ces pathogènes; ils transportent les spores des champignons colorant l'aubier tant sur la surface extérieure de leur corps qu'à l'intérieur, dans leur tractus intestinal. Certaines espèces de scolytes possèdent un organe spécialisé appelé mycangium qui sert à transporter les spores fongiques.

Le champignon *Ophiostoma piliferum* est capable de métaboliser les composants de la poix, soit des triglycérides, des acides gras et des acides résiniques diterpénoïdes, des stérols et des cires. Selon la documentation publiée, il ne produit pas d'enzymes cellulolytiques ou ligninolytiques. Habituellement, la croissance des champignons provoque une coloration superficielle du bois. Cette coloration est causée par les hyphes à pigments foncés du champignon colorant l'aubier. Dans la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum*, aucune coloration n'a lieu car les pigments qui tachent le bois ne sont pas produits, c.-à-d. qu'il s'agit d'une souche sans pigment ou albinos. La synthèse des pigments est bloquée dans la voie de synthèse de la 1,8-dihydroxynaphthalène mélanine. La souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* ne détruit pas les autres champignons colorant l'aubier. Elle entre plutôt en compétition avec les autres champignons en ce qui a trait à l'accès aux sucres rapidement métabolisés associés à l'aubier frais. Une fois la niche occupée et les substances nutritives monopolisées, il n'y a pas de colonisation ultérieure par d'autres champignons colorant l'aubier. On ne considère pas *Ophiostoma piliferum* comme un pathogène et le champignon n'est pas capable de parasiter ni les végétaux ni les animaux. On ne signale aucun effet nocif chez les oiseaux, les mammifères sauvages, les poissons, les arthropodes, les invertébrés non-arthropodes, les microorganismes et les plantes dans la documentation publiée. En outre, on n'a relevé aucun effet manifeste de toxicité ou de pathogénicité dans aucune des études de toxicité environnementale soumises à l'examen.

Selon le mode d'emploi proposé, le Sylvanex sera pulvérisé sur le pin tordu et le pin rouge au point de chute, à l'aide d'un système hydraulique de pulvérisation attaché aux divers équipements servant à couper et débrancher. Il s'ensuit un potentiel élevé d'exposition des organismes terrestres non visés. Cependant, on s'attend à ce que le

risque encouru par ces espèces non visées soit faible d'après les résultats des études soumises et à cause de l'absence d'effet nocif dont on fait état dans la documentation publiée. Conséquemment, la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* devrait poser peu de risque à l'environnement lorsqu'utilisé selon le mode d'emploi prescrit par l'étiquette. De plus, les produits de formulation dans la PC ne posent pas de risque environnemental lorsque la PC est utilisée aux doses d'application prescrites.

7.0 Efficacité

7.1 Efficacité

7.1.1 Utilisation proposée

Le Sylvanex est une PC sous forme de flocons contenant la matière active, la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum*. Le demandeur en propose l'utilisation en tant que produit biologique antitache colorée de l'aubier sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus, au point de chute seulement. Le Sylvanex doit être dilué dans l'eau et pulvérisé pendant la récolte du bois à l'aide d'un système de pulvérisation hydraulique attaché à l'équipement de récolte du bois. Il n'existe aucun produit antitache colorée de l'aubier actuellement homologué pour ce profil d'emploi.

7.1.2 Mode d'action

Le Sylvanex contient des blastospores d'une souche albinos (non pigmentée) du champignon colorant de l'aubier *Ophiostoma piliferum*. Les isolats incolores se retrouvent naturellement dans les forêts ou les produits du bois mais ils passent inaperçus, car on ne les retrouve pas en abondance, leur manque de mélanine les rendant inaptes à la survie en nature à long terme. La mélanine s'avère essentielle pour la protection contre les rayons ultraviolets de la lumière, le développement des périthèces et la protection contre les acariens et insectes prédateurs. La coloration du bois typiquement associée avec la croissance d'*Ophiostoma piliferum* n'a pas lieu avec le Sylvanex, car la souche D97 est bloquée dans la voie de synthèse de la 1,8-dihydroxynaphthalène mélanine.

Le principe en jeu dans l'utilisation du Sylvanex est la compétition entre la souche albinos et les champignons pigmentés de type sauvage pour les ressources nutritives limitées présentes dans le bois mort ou presque mort. Comme on pulvérise le Sylvanex à des concentrations élevées tout de suite après l'abattage, la souche albinos est la première à coloniser l'aubier frais. Elle peut facilement assimiler les substances nutritives de l'aubier avant que les autres champignons causant le bleuissement de l'aubier et présents à des niveaux naturels faibles aient la possibilité de s'établir. Une fois les ressources nutritives capturées et la niche occupée, la colonisation subséquente par les champignons de type sauvage n'a pas lieu.

7.1.3 Nature du problème parasitaire

La tache colorée de l'aubier est une coloration grise, noire ou bleuâtre de l'aubier causée par la présence de levures noires, de moisissures foncées et de champignons causant le bleuissement. Cette coloration du bois réduit de façon importante la qualité esthétique et la valeur commerciale du bois, mais n'a pas d'effet sur la résistance du bois. La coloration superficielle du bois par ces champignons est attribuable aux hyphes contenant des pigments foncés. Il n'y a pas de vraie tache des parois des cellules du bois.

Les champignons causant le bleuissement qui sont ubiquistes au Canada sont : *Aureobasidium pullulans*, *Ceratocystis adiposa*, *Ceratocystis coerulescens*, *Ophiostoma flexuosum*, *Ophiostoma floccosum*, *Ophiostoma ips*, *Ophiostoma minus*, *Ophiostoma piceae*, *Ophiostoma piceaperdum*, *Ophiostoma piliferum* et *Phacidium coniferarum*.

Les spores des champignons colorant l'aubier sont distribués principalement par les insectes, mais peuvent également l'être par le vent et la pluie et par les opérations forestières pendant la récolte et le façonnage du bois. Les scolytes peuvent introduire les champignons causant le bleuissement à travers l'écorce des billes. L'air sec n'est pas propice à la dispersion des conidies, mais l'air empreint de bruine et l'éclaboussement des gouttelettes d'eau pourraient déloger et disséminer les conidies plutôt facilement.

7.1.4 Efficacité contre les organismes nuisibles

Le demandeur a procédé à des essais d'efficacité en 2000 dans la vallée de la rivière Skookumchuck en Colombie-Britannique de même qu'en 2000 et 2001 dans la vallée des rivières Elk et Brazeau en Alberta.

Les chercheurs ont procédé à l'abattage des pins tordus à ces sites et à l'ébranchage à l'aide d'équipement mécanique. L'opération a causé un niveau modéré de dommages à l'écorce. Ils ont choisi des billes d'essai d'une longueur de trois à cinq mètres, libres de champignons causant le bleuissement et libres de dommages causés par les scolytes.

Ils ont pulvérisé la surface entière de chaque bille à saturation avec la suspension de Sylvanex (540 mL de suspension de Sylvanex par mètre carré de surface de bois) à l'aide d'un pulvérisateur dorsal muni d'une buse à jet plat. De la même manière, ils ont pulvérisé de l'eau sur les billes témoins, non traitées. Après la pulvérisation, ils ont empilé les billes de l'essai sur des traverses et les ont recouverts d'une couche de billes. Ces billes sont utilisées pour compenser la petite taille des piles expérimentales. Les températures à l'intérieur de ces piles de billets sont inférieures à la température de l'air ambiant pendant les journées chaudes à cause de l'effet refroidissant de l'humidité s'évaporant du bois qui sèche. L'effet de refroidissement étant limité par la petite taille des piles, les chercheurs ont ajouté des billes en couverture. En 2000, ils ont procédé à chaque traitement sur trois piles de 10 billes et en 2001 sur deux piles de 20 billes.

Six semaines après le traitement, ils ont retiré les billes de couverture et ont choisi, aléatoirement, les billes d'essai de chacune des piles. Ils ont recouvert les autres billes avec les billes protectrices et ont procédé à un autre échantillonnage après six autres semaines d'entreposage. Ils ont prélevé des disques de cinquante millimètres d'épaisseur le long de chaque bille. Ils ont aussi prélevé des disques additionnels afin de déterminer la teneur en humidité. Ils ont évalué l'étendue de la colonisation des champignons causant le bleuissement en estimant la surface du disque ayant une coloration visible, à l'aide d'un gabarit transparent (grille avec des unités de 2,5 × 2,5 mm). Ils ont mesuré le diamètre de l'aubier et du bois de coeur et ont exprimé la quantité de tache en terme de pourcentage de surface d'aubier de chaque disque.

Résultats des taches — Essais de 2000 effectués en Alberta

Traitement	Surface moyenne de l'aubier affectée par la tache colorée de l'aubier (%)	
	1 ^{er} échantillonnage (10 août 2000)	2 ^e échantillonnage (19 sept. 2000)
Contrôle (eau)	Négligeable	11,41 ± 15,47
5 × 10 ⁷ CFU/mL de Sylvanex	Négligeable	1,54 ± 3,28*
1,5 × 10 ⁷ CFU/mL de Sylvanex	Négligeable	10,62 ± 12,18

* Statistiquement différent du contrôle (p < 0,05)

Le niveau négligeable constaté de tache colorée de l'aubier lors des premiers échantillonnages faits en Alberta et en Colombie-Britannique (six semaines après traitement) était négligeable. La température sèche aurait fait sécher les billes rapidement, prévenant la croissance fongique. Le rapport mentionne que la teneur en humidité de l'aubier des billes était trop faible pour soutenir la croissance des champignons causant le bleuissement. L'analyse statistique (ANOVA) a démontré qu'il n'y avait pas de différence statistique entre les billes traitées et non traitées.

Les chercheurs ont observé la présence de tache colorée de l'aubier lors du deuxième échantillonnage effectué en Alberta (13 semaines après traitement). Le deuxième échantillonnage en Colombie-Britannique n'a pas eu lieu, pour des raisons inconnues. L'analyse statistique (ANOVA) des données a révélé qu'il y avait significativement moins de tache sur l'aubier des billes traitées avec la concentration maximale de Sylvanex que sur celui des billes témoins (p < 0,05). À la dose minimale de Sylvanex, les taches de l'aubier du bois traité n'étaient pas différentes de celles de l'aubier du bois non traité.

Les résultats de ces essais ne démontrent pas clairement l'efficacité du Sylvanex, peut-être à cause de l'absence de pression du pathogène. Comme le Sylvanex requiert les mêmes conditions que les champignons de type sauvage pour croître, on ne s'attend pas à ce qu'il donne de bons résultats dans des conditions qui ne sont pas favorables au développement de l'organisme nuisible.

Résultats des taches — Essais de 2001 effectués en Alberta

Traitement	Surface moyenne de l'aubier affectée par la tache colorée de l'aubier (%)	
	6 semaines	13 semaines
Contrôle (eau)	32,4 ± 17,7	64,4 ± 19,75
Sylvanex (5×10^7 CFU/mL)	0,9 ± 2,1	27,39 ± 23,8

L'essai de 2001 comportait des piles de billes plus grosses que celles des premiers essais, ce qui représente mieux les conditions normales de récolte du bois, où les billes sont moins susceptibles de sécher rapidement. Seule la suspension à la concentration maximale a fait l'objet d'essais (5×10^7 CFU/mL). La pression du pathogène était supérieure en 2001 qu'en 2000, car les disques provenant des billes témoins avaient un pourcentage supérieur de leur surface tachée. L'analyse statistique des données de 2001 a indiqué que les billes traitées avec le Sylvanex avaient significativement moins de taches que les billes témoins. Les billes traitées étaient essentiellement sans tache après les six premières semaines et avaient moins de la moitié de taches que les billes non traitées après 13 semaines.

Il n'est pas possible de comparer l'efficacité du Sylvanex par rapport à une norme de rendement établie, car ces normes n'ont pas été élaborées pour les produits antitache colorée de l'aubier utilisés sur les billes. On ne s'attend pas à ce que le Sylvanex réponde aux normes commerciales sévères pour les produits antitache colorée de l'aubier utilisés sur le bois pour une durée de protection de six mois, car les données montrent un niveau trop élevé de taches sur les billes traitées. Il n'est pas possible de comparer le Sylvanex à un autre produit homologué, car il n'y a actuellement pas de produit de remplacement pour utilisation sur les billes. Bien que le traitement au Sylvanex n'ait pas fourni le même degré d'efficacité dans tous les essais soumis, les résultats ont montré une amélioration par rapport aux billes non traitées. On ne s'attend pas à ce que l'efficacité du Sylvanex contre la tache colorée de l'aubier soit constante, car le dommage varie d'une année à l'autre et la croissance fongique est dépendante des conditions environnementales. Les résultats ont montré une réduction statistiquement significative de la tache sur une période de 13 semaines. Comme les billes sont traitées dès que possible pour éviter la coloration de l'aubier, la période de protection de 13 semaines conférée par le Sylvanex devrait s'avérer adéquate dans la majorité des cas. Il faut souligner qu'on ne prévoit pas

qu'un traitement additionnel après la période de 13 semaines fasse une différence, car à ce moment là, les champignons auront consommé la plupart des substances nutritives.

Les données d'efficacité ne portaient que sur le pin tordu. Le demandeur a cependant fourni des articles publiés indiquant que le Sylvanex réduisait la colonisation des champignons colorant de l'aubier sur le tremble (*Populus tremuloides*) et le pin rouge (*Pinus resinosa*), mais ces articles ne faisaient pas état du pourcentage de réduction de la surface tachée. Bien que l'article de Uzunovic et coll. (1999) mentionne que *Ophiostoma piliferum* a été isolé chez quatre des cinq espèces de bois échantillonnées, on l'a retrouvé seulement dans 50 billes sur un nombre total de 878 billes échantillonnées (6 %). Comme on ne retrouve pas très fréquemment le champignon, il se peut qu'il ne s'agisse pas du plus compétitif des champignons colorant de l'aubier et on ne peut pas prédire s'il poussera assez bien sur d'autres espèces d'arbres pour leur conférer une protection contre la tache colorée de l'aubier. Par conséquent, les données sur l'efficacité soutiennent la pulvérisation de Sylvanex sur le pin tordu seulement. Sylvanex peut également être utilisé sur le pin rouge étant donné qu'un article publié a démontré son potentiel de croissance sur cette essence forestière, mais des données pour confirmer ce résultat seront nécessaires. Le rapport d'une étude sur le pin rouge menée en 2002 lors de l'octroi d'un permis de recherche doit être soumis afin d'appuyer l'homologation complète de l'utilisation du Sylvanex sur le pin rouge. L'énoncé suivant devra être ajouté sur l'étiquette : « Le Sylvanex s'utilise sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus en tant que traitement préventif contre la tache colorée de l'aubier. »

Afin d'être efficace, le Sylvanex doit s'établir sur les billes dès que possible afin d'éviter la colonisation par des champignons de type sauvage colorant l'aubier. Pour ce faire, il est nécessaire de pulvériser un grand nombre de spores par mètre carré. Les doses d'essai ne semblent pas être excessives puisque la dose la plus faible utilisée dans le premier essai n'a pas donné de résultats statistiquement différents des témoins sans traitement. Par conséquent, la dose d'application de l'essai de 540 mL de suspension de 5×10^7 CFU/mL (0,05 UA/L) par mètre carré de surface de bois testé est acceptable. Cependant, la dose proposée sur l'étiquette est exprimée en unités d'activité par tonne de bois au lieu d'en volume de suspension par mètre carré de surface. Comme la quantité de Sylvanex utilisée dépendra de la surface à traiter et non du poids du bois, la dose sur l'étiquette devra être exprimée de la même façon que celle des essais. Il faudra donner sur l'étiquette une garantie spécifique indiquant le nombre actuel de UA de chaque lot afin de calculer la dilution requise pour obtenir une concentration de 0,05 UA/L de suspension de Sylvanex. On ne s'attend pas à ce que le Sylvanex prévienne la croissance des champignons colorant l'aubier une fois que ceux-ci sont installés.

Les documents soumis indiquent qu'un système hydraulique de pulvérisation, attaché à divers équipements d'abattage et d'ébranchage, devra être utilisé pour la pulvérisation aux sites d'abattage. Cette méthode de traitement devrait garantir la couverture complète des billes et s'avère acceptable du point de vue de l'efficacité du produit.

Il faut souligner qu'il n'y a aucune raison de croire que le Sylvanex pourrait effectuer une réversion vers le phénotype coloré, car il a fait l'objet d'études et a été utilisé comme agent de contrôle de la poix depuis bon nombre d'années. Toute instabilité du phénotype aurait depuis été identifiée.

7.2 Phytotoxicité pour les plantes cibles (y compris divers cultivars) ou les produits végétaux cibles (OCDE 7.4)

Cette section n'est pas pertinente, car le Sylvanex est pulvérisé une fois l'arbre coupé.

7.3 Observations d'effets secondaires indésirables ou non voulus

La tache colorée de l'aubier est causée par des champignons pigmentés qui envahissent les cellules du bois et consomment certaines des composantes de l'arbre pour soutenir leur croissance. Même s'il est généralement reconnu que ces champignons colorant l'aubier n'affectent pas les propriétés fonctionnelles du bois, certaines espèces peuvent produire des enzymes qui peuvent endommager le bois. Le demandeur a soumis un rapport sur les effets du Sylvanex et d'autres champignons causant le bleuissement sur la solidité et la résistance à la flexion du pin tordu. Il a aussi soumis une étude publiée sur les effets des champignons causant le bleuissement sur la solidité et le poids du bois. Ces études n'ont pas permis de constater d'effet significatif des champignons causant le bleuissement sur la solidité, la résistance à la flexion et le poids du bois taché ou traité. Par conséquent, l'utilisation du Sylvanex sur du bois fraîchement abattu ne devrait pas causer d'effet nocif à ce bois.

7.4 Aspects économiques

Il n'y a pas eu d'évaluation des aspects économiques. Toutefois, il est généralement reconnu qu'un pourcentage significatif du bois peut être taché par les champignons causant la tache colorée de l'aubier et que le bois taché a une valeur marchande significativement moindre que le bois non taché.

7.5 Pérennité

7.5.1 Recensement des solutions de rechange

7.5.1.1 Méthodes de suppression non chimiques

Le demandeur a indiqué que la suppression des champignons causant le bleuissement se faisait auparavant en arrosant les billes avec de l'eau dont la teneur en oxygène était réduite, ce qui inhibait la colonisation fongique. Cependant, pour ce faire il fallait employer un grand volume d'eau, ce qui soulevait des préoccupations environnementales. Les billes récoltées sont parfois envoyées aux scieries par les rivières ou encore stockées dans des bassins de flottage, ce qui permet aussi d'inhiber la colonisation fongique. Les

arbres peuvent aussi être récoltés en hiver, si cela s'avère possible, lorsque les niveaux d'inoculum fongique et d'activité des insectes sont les plus faibles.

7.5.1.2 Méthodes de suppression chimiques

Il n'existe actuellement aucun produit antiparasitaire homologué pour la suppression des champignons causant la tache colorée de l'aubier sur le bois fraîchement abattu. Les produits antitache colorée de l'aubier présentement homologués peuvent seulement être utilisés sur le bois d'œuvre fraîchement débité.

7.5.2 Compatibilité avec les pratiques actuelles de gestion, y compris la lutte intégrée

Il n'existe actuellement pas de pratiques de lutte intégrée pour la suppression de la tache colorée de l'aubier sur le bois fraîchement abattu, autres que celles décrites à la section 7.5.1.1.

7.5.3 Contribution à la réduction des risques

Il n'existe actuellement aucun produit antiparasitaire homologué pour la suppression de la tache colorée de l'aubier sur le bois fraîchement abattu.

7.5.4 Renseignements sur l'acquisition réelle ou potentielle d'une résistance

Le Sylvanex contient des champignons vivants qui sont appliqués en forte concentration pour limiter le développement de la tache colorée de l'aubier sur le bois fraîchement abattu. Ils agissent en consommant les substances nutritives disponibles dans les billes et en prévenant ainsi l'établissement des champignons de type sauvage colorant l'aubier. Puisque le Sylvanex a un mode d'action compétitif plutôt que toxique envers les souches sauvages de champignons causant la tache colorée de l'aubier, on ne prévoit pas d'acquisition de résistance.

7.6 Conclusions

Les données d'efficacité soumises par le demandeur appuient l'allégation de suppression, par le Sylvanex, des champignons causant le bleuissement et la coloration de l'aubier sur le bois de pin tordu fraîchement abattu. Le demandeur devra soumettre les données de confirmation décrites à la section 9.0 pour appuyer l'homologation complète du produit.

Sommaire de la valeur du produit

Proposition		Recommandation (basée sur l'évaluation de la valeur)	Commentaires
Lieu/ Organisme nuisible	Détails		
Tache colorée de l'aubier sur le bois fraîchement abattu	Habituellement utilisé à la dose de 0,05 – 0,1 UA/tonne de bois, ou environ 1×10^{11} CFU par mètre cube de bois. Pulvériser le bois fraîchement abattu au point de chute ou peu après l'entreposage dans le parc à grumes.	<p>Déterminer tout d'abord le volume en litres de suspension de Sylvanex nécessaire en fonction de l'exploitation quotidienne, en multipliant la surface totale en mètre carrés des billes à traiter par 0,54 L. Ensuite, déterminer la quantité de poudre de Sylvanex à ajouter à l'eau, à l'aide de la formule suivante :</p> <p>Nombre de grammes de Sylvanex requis = [Volume, en litres, de suspension de Sylvanex nécessaire aux opérations quotidiennes] \times 50 \div [garantie de l'étiquette (en UA/kg)]</p> <p>Peser la quantité requise de poudre sèche et réhydrater la poudre en la mélangeant avec de l'eau à 4 – 30 °C et pH 5 – 8. Utiliser un mélangeur pour obtenir un vortex. Prévoir suffisamment de temps pour homogénéiser le mélange avant de l'utiliser. La suspension finale de Sylvanex aura une concentration de 0,05 UA/L ($5,0 \times 10^{10}$ CFU /L). Cette suspension doit être utilisée dans les 24 heures suivant le mélange.</p> <p>La suspension de 0,05 UA/L de Sylvanex doit être pulvérisée sur les billes immédiatement après la récolte du bois et l'ébranchage. Il faut pulvériser la surface entière de chaque bille au taux de 540 mL par mètre carré de surface de bille. Il faut utiliser un système hydraulique de pulvérisation attaché à la machinerie (abatteuse, ébrancheuse), aux sites d'abattage.</p>	<p>a) Utiliser pour lutter contre les champignons causant le bleuissement sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus au site d'abattage seulement. NE PAS utiliser sur le bois d'œuvre ou les billes écorcées.</p> <p>b) Le Sylvanex s'utilise sur le pin tordu et le pin rouge fraîchement abattus en tant que traitement préventif contre la tache colorée de l'aubier.</p> <p>c) Il faut utiliser un système hydraulique de pulvérisation, attaché à divers équipements d'abattage et de d'ébranchage, pour le traitement aux sites d'abattage.</p>

8.0 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

Dans le cadre de l'examen du Sylvanex, l'ARLA a tenu compte de la PGST¹ et a suivi la directive d'homologation DIR99-03². L'Agence a déterminé que ce produit ne satisfait pas les critères de la voie 1 de la PGST, car sa matière active est un organisme biologique et, par conséquent, n'est pas assujettie aux critères utilisés pour définir les propriétés de persistance, de bioaccumulation et de toxicité des produits antiparasitaires chimiques. En outre, la MAQT ne renferme aucun sous-produit ou microcontaminant satisfaisant les critères de la voie 1 de la PGST. Des impuretés d'ordre toxicologique ne devraient pas être présentes dans les matières brutes, ni ne devraient être générées, au cours du processus de fabrication, en quantité suffisante pour présenter un risque pour la santé et la sécurité humaines. D'autre part, il n'y a aucun produit de formulation à la source de préoccupations d'ordre toxicologique présent dans la formulation de la préparation commerciale de Sylvanex.

9.0 Décision réglementaire

L'ARLA a accordé une homologation temporaire à la MAQT, la souche D97 du champignon *Ophiostoma piliferum* (Sylvanex technique) et sa préparation commerciale connexe Sylvanex, en vertu de l'article 17 du RPA, pour utilisation comme produit biologique antitache colorée de l'aubier afin de supprimer les champignons causant le bleuissement sur le bois fraîchement abattu, aux points de chute. Cette homologation est assujettie aux conditions suivantes :

- Soumission d'un nouveau formulaire des spécifications du produit
- Présentation de certificats annuels d'analyse
- Présentation d'un rapport sur les incidents d'hypersensibilité
- Soumission de données additionnelles sur la stabilité à l'entreposage
- Soumission d'une étude de toxicité cutanée
- Soumission de données sur l'efficacité

¹ Les intéressés peuvent consulter La Politique de gestion des substances toxiques sur le site Web d'Environnement Canada, à l'adresse www.ec.gc.ca/toxics

² Les intéressés pourront se renseigner sur la directive 99-03, Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire *Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en oeuvre de la politique de gestion des substances toxiques*, en s'adressant au Service de renseignements sur la lutte antiparasitaire. En voici les coordonnées : téléphone au Canada 1 800 267-6315; téléphone à l'extérieur du Canada 1 (613) 736-3799 (avec frais d'interurbain); télécopieur (613) 736-3798; courriel pmra_infoserv@hc-sc.gc.ca. On peut également passer par le site Web de l'ARLA à www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ANOVA	analyse de variance
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
Btk	<i>Bacillus thuringiensis ssp. kurstaki</i>
°C	degré Celcius
cm	centimètre(s)
CFU	cellule souche unipotente
CL ₅₀	concentration létale à 50 %
CMM	cote moyenne maximale
DL ₅₀	dose létale à 50 %
DMENO	dose minimale entraînant un effet nocif observé
DSENO	dose sans effet nocif observé
DSEO	dose sans effet observé
EPA	United States Environmental Protection Agency
EPI	équipement de protection individuelle
FDA	Food and Drugs Administration
g	gramme(s)
h	heure(s)
IMI	indice maximum d'irritation
kg	kilogramme(s)
L	litre(s)
LMR	limite maximale de résidus
m ³	mètre(s) cube(s)
MAQT	matière active de qualité technique
mg	milligramme(s)
mL	millilitre(s)
mm	millimètre(s)
NRRL	Northern Regional Research Laboratory
NZB	Néo-zélandais blanc
OCDE	Organisation de coopération et de développement économiques
PC	préparation commerciale
PDA	gélose dextrosée à la pomme de terre
PGST	Politique de gestion des substances toxiques
pH	potentiel d'hydrogène
p/p	rapport poids/poids
ppm	partie(s) par million
PRDD	Projet de décision d'homologation
RFLP	polymorphisme de restriction
RPA	Règlement sur les produits antiparasitaires

UA	unités actives
µg	microgramme(s)
µL	microlitre(s)
USDA	United States Department of Agriculture
v/v	rapport volume/volume

Annexe I Toxicologie

Tableau 1 Sommaire des études de toxicité et d'infectiosité avec la souche C-1 det 5 d'*Ophiostoma piliferum*

ÉTUDE	ESPÈCE/SOUCHE ET DOSES	DL ₅₀ DSEO/DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
ÉTUDES DE TOXICITÉ AIGUË			
Toxicité/ pathogénéicité par voie orale	Rat — CrI: CD® (SD) BR VAF PLUS 15/sexe traités avec la souche vivante C-1 det 5, 2 mL/kg p.c., ou ~ 10 ⁹ CFU/kg p.c. 5/sexe traités avec la souche C-1 det 5 tuée par la chaleur, 2 mL/kg p.c.	DL ₅₀ supérieure à 10 ⁹ CFU/kg p.c.	Pas de signe clinique indiquant une toxicité ou une pathogénéicité, pas de mortalité, pas d'anomalie relevée à la nécropsie, aucune récupération d' <i>Ophiostoma piliferum</i> dans les tissus (cerveau, coeur, foie, poumons, rate, reins, ganglions mésentériques), dans le contenu du tractus gastro-intestinal (estomac, petit intestin ou caecum), dans l'urine ou les excréments, sur une gélose de Sabouraud au dextrose ¹ . FAIBLE TOXICITÉ, NON PATHOGÈNE
Toxicité/ pathogénéicité pulmonaire	Rat — CrI: CD® (SD) BR VAF PLUS 18/sexe traités avec la souche vivante C-1 det 5, 1,2 mL/kg p.c., ou ~ 10 ⁹ CFU/kg p.c. 5/sexe traités avec la souche C-1 det 5 tuée par la chaleur, 1,2 mL/kg p.c.	DL ₅₀ supérieure à 10 ⁹ CFU/kg p.c.	Pas de signe clinique indiquant une toxicité ou une pathogénéicité, pas de mortalité, pas d'anomalie relevée à la nécropsie. Récupération passagère d' <i>Ophiostoma piliferum</i> dans les poumons (terminée au jour 4). Pas de récupération d' <i>Ophiostoma piliferum</i> dans les autres tissus (cerveau, coeur, foie, rate, reins, ganglions mésentériques), dans le contenu du tractus gastro intestinal (estomac, petit intestin ou caecum), dans l'urine ou les excréments, sur une gélose de Sabouraud au dextrose ¹ . FAIBLE TOXICITÉ, NON PATHOGÈNE
Toxicité cutanée	Lapin — NZB 5/sexe traités avec 2 mL de souche vivante C-1 det 5 (2,3 × 10 ⁹ CFU) sur une surface de 10 cm ² dans le dos, recouverte d'un pansement pendant 24 heures et lavée ensuite	DL ₅₀ supérieure à 8 × 10 ⁸ CFU/kg p.c.	Aucune mortalité. Pas de signe d'irritation cutanée (voir plus bas). Il n'a pas été possible de tirer des conclusions définitives, car la dose administrée était trop faible. Noter que l'essai a eu lieu avec une suspension de la souche C-1 det 5 d' <i>Ophiostoma piliferum</i> et non avec la PC. Cela s'avère acceptable, car aucun ingrédient additionnel n'est incorporé dans la formulation de la PC et les deux souches sont équivalentes biologiquement. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES
Irritation cutanée	Lapin — NZB Voir l'étude de toxicité cutanée ci-dessus.	IMI ² 0/8 (à tous les temps) CMM ³ 0/8 (24, 48, 72 h)	Pas de signe d'irritation cutanée NON-IRRITANT

ÉTUDE	ESPÈCE/SOUCHE ET DOSES	DL ₅₀ DSEO/DSENO ET DMENO	ORGANE CIBLE/EFFETS IMPORTANTS/COMMENTAIRES
Irritation oculaire	Lapin — NZB 3/sexe traités avec 0,1 mL souche vivante C-1 det 5 (1,15 × 10 ⁸ CFU)	IMI ² 4,67/110 (1 h) CMM ³ 1,11/110 (24, 48, 72 h)	Aucun dommage observé à la cornée ou à l'iris. Rougeur de la conjonctive résolue au jour 4. Noter que la substance à l'essai était la MAQT et non la PC. Bien qu'aucun ingrédient additionnel ne soit incorporé pendant la formulation de la PC, en tant que poudre, la PC est potentiellement abrasive et par conséquent, irritante pour les yeux. DONNÉES SUPPLÉMENTAIRES

¹ Bien que l'on n'ait pas évalué de façon indépendante la sensibilité de la détection de *Ophiostoma piliferum* sur une gélose de Sabouraud au dextrose, le même milieu de culture a été utilisé de façon efficace pour la titration de l'inoculum et l'on a signalé la récupération d'*Ophiostoma piliferum* dans les poumons dans le cadre de l'étude sur la toxicité pulmonaire aiguë.

² IMI = indice maximum d'irritation

³ CMM = cote moyenne maximale

Annexe II Évaluation environnementale

Tableau 1 Risques de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* pour les organismes terrestres non visés

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Arthropodes	Aiguë	Justification d'exemption soumise au lieu de données	L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque.
Oiseaux	Orale/ pulmonaire/ inhalation/ injection	Justification d'exemption soumise au lieu de données	L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque.
Mammifères sauvages	Aiguë	Non requis	Compte tenu de l'absence d'effet nocif significatif dont fait état la documentation publiée et les études toxicologiques décrites à la section 3, cette exigence n'a pas été formulée.

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Plantes	Aiguë — <i>Pinus resinosa</i> <i>Pinus banksiana</i> <i>Pinus sylvestris</i> <i>Pinus taeda</i> <i>Pinus elliottii</i> <i>Pinus palustris</i>	Souche D97 d' <i>Ophiostoma piliferum</i>	Étude : Aucun des arbres endommagés n'est mort pendant la période d'étude et toutes les blessures s'étaient refermées à l'exception celles de deux arbres. Chez <i>P. taeda</i> , 1/10 des blessures traitées avec la souche D97 d' <i>Ophiostoma piliferum</i> et 1/10 des blessures traitées avec la souche sauvage d' <i>Ophiostoma piliferum</i> avaient du cal de cicatrisation mais l'exsudat de poix avait empêché la fermeture complète de la blessure. D'après ces résultats, la souche D97 d' <i>Ophiostoma piliferum</i> souche D97 n'est pas pathogène pour les six espèces de pin. L'ARLA juge cette étude de pathogénicité acceptable, mais celle-ci ne satisfait pas complètement ses exigences en ce qui concerne l'étude de toxicité/pathogénicité chez les organismes terrestres, car il n'y a pas eu d'observations adéquates permettant d'évaluer la toxicité sub létale (p. ex., croissance, vigueur). Justification d'exemption : L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque
	Aiguë	Justification d'exemption soumise au lieu de données	
Microorganismes du sol	Aiguë	Non requis	Cette exigence en matière de soumission de données n'a pas été formulée.
Invertébrés non arthropodes	Aiguë	Non requis	Cette exigence en matière de soumission de données n'a pas été formulée.

Tableau 2 Risques de la souche D97 d'*Ophiostoma piliferum* pour les organismes aquatiques non visés

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Arthropodes d'eau douce	Aiguë — <i>Daphnia magna</i>	Cartapip 58 1000 mg/L (Nominal)	<p>Étude sur <i>Daphnia magna</i> : Aucun effet nocif observé sur les daphnies pendant toute la durée de l'étude. La CL₅₀ était supérieure à 1000 mg/L. L'ARLA juge cette étude acceptable, mais celle-ci ne satisfait pas complètement ses exigences en ce qui concerne l'étude de toxicité/pathogénicité chez les arthropodes; il n'a pas été possible de tirer des conclusions définitives en ce qui a trait au potentiel d'infectiosité et de pathogénicité de l'AMLA.</p>
	Aiguë — <i>Ceriodaphnia dubia</i>	Effluent provenant de copeaux de bois traités avec le Cartapip à 100, 50, 25, 12,5, 6,2 et 0 %	<p>Étude sur <i>Ceriodaphnia dubia</i> : Après 24 heures, 5 daphnies sur 20 étaient mortes dans le groupe exposé à 100 % de l'effluent provenant de copeaux de bois traité. Après 48 heures, une daphnie (1/20) était morte dans chacun des groupes exposés à 50 % et 100 % de l'effluent provenant de copeaux de bois non traités et 6 daphnies sur 20 étaient mortes dans le groupe exposé à 100 % de l'effluent provenant des copeaux de bois traités avec du Cartapip 58. L'ARLA juge cette étude acceptable, mais celle-ci ne satisfait pas complètement ses exigences en ce qui concerne l'étude de toxicité/pathogénicité chez les arthropodes aquatiques, car la substance à l'essai n'était ni la MAQT ni la PC et il n'a pas été possible de tirer des conclusions définitives en ce qui a trait au potentiel d'infectiosité et de pathogénicité de l'AMLA.</p> <p>Aucune étude de remplacement n'est requise compte tenu des propriétés biologiques d'<i>Ophiostoma piliferum</i> et de l'absence d'effet nocif dont fait état la documentation publiée.</p>

Organisme	Exposition	Substance à l'essai	Conclusions
Poissons d'eau douce	Aiguë	Cartapip 58 1000 mg/L (nominal)	Aucun effet nocif observé sur aucun des poissons pendant toute la durée de l'étude. La CL ₅₀ était supérieure à 1000 mg/L. L'ARLA juge l'étude de toxicité sur la truite arc-en-ciel acceptable, mais celle-ci ne satisfait pas complètement ses exigences en ce qui concerne l'étude de toxicité/pathogénicité chez un poisson d'eau douce et il n'a pas été possible de tirer des conclusions définitives en ce qui a trait au potentiel d'infectiosité et de pathogénicité de l'AMLA. Aucune étude de remplacement n'est requise compte tenu des propriétés biologiques d' <i>Ophiostoma piliferum</i> et de l'absence d'effet nocif dont fait état la documentation publiée.
Plantes d'eau douce	Aiguë	Justification d'exemption soumise au lieu de données	L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque.
Arthropodes marins et estuariens	Aiguë	Justification d'exemption soumise au lieu de données	L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque.
Poissons marins et estuariens	Aiguë	Justification d'exemption soumise au lieu de données	L'ARLA A ACCEPTÉ la justification d'exemption soumise par le demandeur, compte tenu du potentiel limité de risque.

Références

Harrington, T. C. « Cycloheximide sensitivity as a taxonomic character in *Ceratocystis*. » dans *Mycologia*, 1981, vol. 73, p.1123 – 1129.

Hunt, J. « Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. », dans *Lloydia*, 1956, vol. 19, n° 1, p. 1 – 30.

Uzunovic, A., D.-Q. Yang, P. Gagné, C. Breuil, L. Bernier, A. Byrne, M. Gignac et S. H. Kim. « Fungi that cause sapstain in Canadian softwoods. » dans *Canadian Journal of Microbiology*, 1999, vol. 45, p. 914 – 922.

Verrall, A. F. « Relative importance and seasonal prevalence of wood-staining fungi in the southern states. » dans *Phytopathology*, 1939, vol. 29, p.1031 – 1051.