

HBCDを用いる鳥類繁殖毒性試験報告書

		試験期間	試験番号
1	有害性の調査結果	20 週間	10-114
2	予備的な毒性評価結果 (有害性調査指示の根拠：1 回目)	6 週間	08-013
3	予備的な毒性評価結果 (有害性調査指示の根拠：2 回目)	6 週間	08-016
4	予備的な毒性評価結果 (有害性調査と同じ被験物質、 α -HBCD)	6 週間	11-001

試 験 報 告 書

1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカンのウズラ
を用いる鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験

(試験番号：10-114)

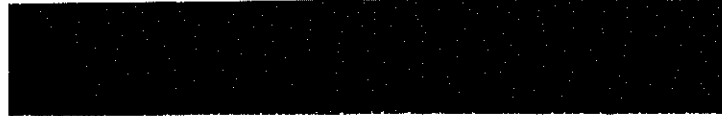
財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験の表題 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験（試験番号：10-114）

試験委託者

名 称 HBCD試験調査コンソーシアム
事務委託 日本難燃剤協会

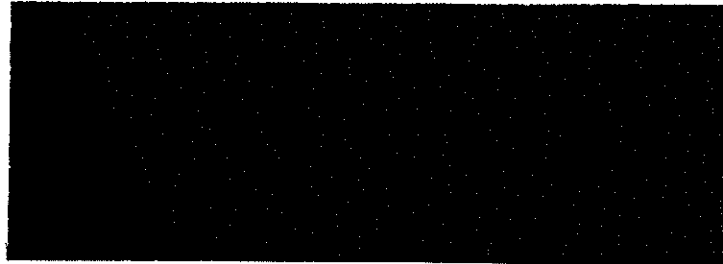
所在地
委託責任者



試験実施施設

名 称 財団法人 畜産生物科学安全研究所

所在地
運営管理者
試験責任者
信頼性保証
責任者



試験期間

試験開始 平成23年 3月14日
供試ウズラ選別のための観察開始
平成23年 3月18日
群分け・馴化開始
平成23年 3月31日
親鳥投与開始 平成23年 4月14日（実験開始）
親鳥投与終了 平成23年 9月 1日
雄親鳥の剖検 平成23年 9月 1日
雌親鳥の剖検 平成23年 9月 2日
若鳥観察終了 平成23年10月 5日（実験終了）
試験終了 平成24年 3月19日

試験成績の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書からの逸脱

本試験に関し、予見することのできなかつた試験成績の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書からの逸脱はなかつた。

試資料の保管

次に示す本試験に関する一連の関連試資料は、試験終了後10年間、財団法人 畜産生物科学安全研究所において保管する。その後の保管については、試験委託者と協議して決定する。

- 1) 試験計画書
- 2) 被験物質に関する記録およびそのサンプル
- 3) 供試生物に関する記録
- 4) 試験結果に関する記録（親鳥、卵、若鳥等に由来する生データ）
- 5) 信頼性保証に関する記録
- 6) 最終報告書

試験担当者および業務分担

検疫

被験物質の分析

試験飼料の調製

生物飼育・飼料給与・測定・臨床観察・剖検

試験責任者の署名

財団法人 畜産生物科学安全研究所

平成 24 年 3 月 19 日

要 約

1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD) は、接着剤の硬化促進剤、繊維のコーティング用、発泡ポリスチレン等の難燃剤として広く用いられている化学物質である。このHBCDの鳥類に対する有害性を調べるため、OECDおよび化審法の試験法ガイドラインに準拠した方法で、鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験を実施した。

試験では、繁殖状態にあるウズラを1群12ペアとして用い、事業者より提供された工業レベルのHBCDを0 (対照)、1、5、25、125および625ppmの濃度での飼料添加により、非繁殖とするための短日照明条件下で8週間、その後は繁殖状態となるように長日照明条件下で12週間の計20週間にわたって投与した。産卵した卵は採取して人工的に孵卵し、孵化した若鳥はHBCD無添加の飼料を給与して14日齢まで飼育した。

親鳥の健康に及ぼす影響について、625ppm群で摂餌量の低値傾向および雌親鳥の2羽の死亡が認められた。125ppm群においても雌親鳥1羽の死亡が認められたが事故死であった。125ppm以下の群では、一般状態、生存率、体重、体重増加量および投与終了時の剖検で、HBCDの投与による変化は認められなかった。

親鳥の繁殖能および若鳥に対する影響について、非繁殖状態から繁殖状態にするため照明を長日条件に切り換えてからの産卵の立ち上がりが、125ppmおよび625ppm群でやや遅延する傾向が認められ、また625ppm群では雌親鳥の死亡も加わり、両群の雌親鳥当たりの産卵数および14日齢若鳥の生存総数は減少傾向を示した。卵重量、卵殻にひびのある卵の発生率、卵殻の厚さ、胚の発生率および孵化率に変化は認められなかった。また、若鳥について、孵化した数に対する14日間生存率、体重、摂餌量、性比、一般状態および外形にも、HBCDの投与による変化は認められなかった。

以上の結果、625ppm (78mg/kg/日) 群および125ppm (16mg/kg/日) 群で変化が認められたものの、いずれも対照群と比べて統計学的有意差の認められない軽度なものであった。1ppm (0.13mg/kg/日) 群、5ppm (0.67mg/kg/日) 群および25ppm (3.3mg/kg/日) 群では、変化は認められなかった。

したがって、事業者から提供されたHBCDのウズラへの20週間投与による鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験において、各観察および検査項目に有意な変化は認められず、無影響濃度 (NOEC) は625ppm (78mg/kg/日) 以上であると結論された。

試験目的

本試験は、化学物質の審査および製造等の規制に関する法律（昭和48年法律第117号、以下「化審法」という。）第5条の4第1項の規定に基づき、第一種監視化学物質である1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン（以下「HBCD」という。）について国から事業者に対して有害性調査の指示がなされた。本試験はこの有害性を調査する一環として、事業者から委託を受けて鳥類の繁殖に及ぼす影響について調べた。

被験物質

1. 被験物質

名称（略称）： 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン（HBCD）

英 名： 1,2,5,6,9,10-Hexabromocyclododecane

適用法令（化審法）： 第一種監視化学物質、第三種監視化学物質

官報公示整理番号： 3-2254

CAS No.： 3194-55-6

提 供 者： 試験委託者（提供責任者 XXXXXXXXXX）

入手日・量： 平成23年 3月10日、1042g（風袋込み）

ロット番号： TECH4112

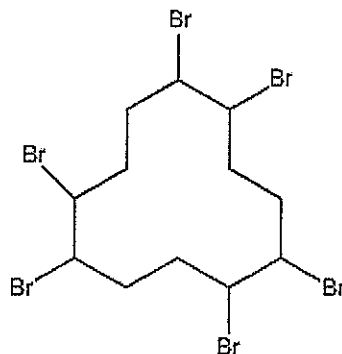
純 度： 98.94%（HPLC）

異性体構成比率： α -HBCD 9.4%、 β -HBCD 7.6%、 γ -HBCD 82.1%、 ε -HBCD（推定）0.9%

（純度および異性体構成比率については、試験委託者が一般財団法人化学物質評価研究機構に委託して実施した分析結果に基づく）

外 観： 白色結晶性粉末

構 造 式：



分子式 : $C_{12}H_{18}Br_6$
分子量 : 641.70
融点 : 177°C
蒸気圧 : $6.3 \times 10^{-9} \text{Pa} / 21^\circ\text{C}$
溶解性 : ケトン、トルエン等の有機溶剤に可溶、水に不溶 $8.6 \times 10^{-3} \text{mg/L}$ (25°C)
n-オクタノール/水分配係数 : $\log P_o/w : 7.74$

2. 同一性の確認

提供された被験物質の赤外吸収スペクトルをHBCD試薬 (Lot No.KLF0973、和光純薬工業株式会社) と比較し、同一波長に概ね同様の強度吸収が認められたことから、本被験物質がHBCDであることを確認した。

3. 安定性の確認

投与期間終了後に被験物質の純度を液体クロマトグラフで分析し、試験開始前の分析値と比較した結果、HBCDの濃度は投与開始前が98.94% (試験委託者調べ) であったのに対して投与期間終了後では98.41%で、ほとんど変化が認められなかったことから、試験に用いた被験物質は保管条件下で安定であったことが確認された。

	投与開始前	投与期間終了後
HBCD純度	98.94%	98.41%

4. 保管条件

冷暗所 (2~6°C) ・密栓

5. 残余物の処置

残余の被験物質は投与終了後に提供者に返還した。

なお、被験物質受領後、その残余物を返還するまでの間に、被験物質の環境中への排出を防ぐため、次の処置を講じた。提供された被験物質は、試験物質管理責任者の管理の下、試験物質保管庫 (2~6°C) で厳重に保管・管理した。被験物質添加試験飼料の残余物、試験ウズラの排泄物、屠体等は一般の汚物とは区別して保管し、当研究所の焼却設備で焼却 (800°C以上) した。被験物質に汚染された器具等の洗浄および飼育管理により発生した汚水は、当研究所の下水浄化プラントで浄化処理を行った。上記処置によって生じた焼却炉内の灰はエコマックス株式会社 [REDACTED]、また下水浄化処理プラントの底質部分の汚泥の乾燥物は株式会社クリーンテック [REDACTED] にそれぞれ処理を委託した。

試 験 報 告 書 (I)

1,2,5,6,9,10- ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる
鳥類の繁殖照明条件下 6 週間投与試験

(試験番号 : 08-013)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験の表題 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下 6 週間投与試験 (試験番号 : 08-013)

試験委託者

名 称 環境省
所在地 東京都千代田区霞が関 1 丁目 2 番 2 号
委託責任者 環境保健部企画課化学物質審査室

試験実施施設

名 称 財団法人 畜産生物科学安全研究所
所在地 

調査期間

平成 20 年 7 月～平成 21 年 3 月

被 験 物 質

名 称 : 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン (略称: HBCD)
CAS No. : 3194-55-6
ロット番号 : KLF0973
純 度 : 100%
異性体構成比 : α -12-1327%、 β -9-1130%、 γ -76-7843%
外 観 : 白色結晶性粉末
分 子 式 : $C_{12}H_{18}Br_6$
分 子 量 : 641.70
入 手 先 : 和光純薬工業株式会社から試薬として入手
入手日・量 : 平成 16 年 11 月 11 日、500 g
保管条件 : 冷暗所 (2~6°C) ・密栓
安 定 性 : 安定

試 験 方 法

1. 供試生物

日生研株式会社小淵沢支社 () から中雛 (35 日齢) で導入 (平成 20 年 4 月 7 日) し、ケージにペアで収容して維持飼育していた WE 系のウズラ (*Coturnix coturnix japonica*) を 10 週 (70 日) 齢で試験に用いた。導入後試験に供するまでの期間において、死亡や衰弱する例は認められず、また闘争等により共存できないペアも認められなかった。試験開始 14 日前の 57 日齢からは産卵状況を観察し、産卵が良好で確実に繁殖状態にあることが確認された 60 ペアを試験に用い、完全無作為抽出法により 12 ペアずつ 5 群に振り分けた。個体識別は、一連の数字 (若鳥の場合は孵化日ごとに) が刻印された脚帯の装着により行い、ケージには試験番号、群、ケージ番号及び個体番号 (若鳥では産卵週) を表示した。

2. 被験物質の投与濃度設定及び試験群の構成

OECD 試験法ガイドライン 205 の方法に準拠して実施された、HBCD のウズラを用いた 5 日間投与の鳥類摂餌毒性試験では、上限濃度の 5000 ppm においても毒性徴候が認められていない (平成 16 年度難分解性・高濃縮性化学物質に係る鳥類毒性試験検討調査業務報告書、環境省)。そこで、本試験における HBCD の飼料中濃度は、化審法の鳥類の繁殖に及

ばす影響に関する試験（OECD 試験法ガイドライン 206 に準拠）で規定されている上限濃度の 1000 ppmを最高濃度とし、以下、公比 2 で、500、250 及び 125 ppmの 4 濃度を設定した。また、被験物質無添加飼料を与える対照を設けた。試験群の構成は、次表のとおりである。

群	ケージ番号	♂：羽数（個体番号）	♀：羽数（個体番号）
無添加対照	1～12	12 (001～012)	12 (501～512)
125 ppm	13～24	12 (013～024)	12 (513～524)
250 ppm	25～36	12 (025～036)	12 (525～536)
500 ppm	37～48	12 (037～048)	12 (537～548)
1000 ppm	49～60	12 (049～060)	12 (549～560)

3. 飼育管理

親鳥は、温度 20±3℃、湿度 50～75%、換気回数 10 回以上/時に設定された研究別館飼育室（第 13 室）で、繁殖用ケージ（25W×60D×17H mm）にペアで収容し、これを 6 段のラックに配置した。照明時間は、親鳥では 17 時間/日（午前 1 時点灯、午後 6 時消灯）の長時日条件とした。若鳥は、同様の温度、湿度条件で照明時間を 14 時間/日（午前 5 時点灯、午後 7 時消灯）に設定した飼育室（第 15 室）で、育雛用ケージ（60W×80D×20H cm、床敷：ホワイトフレック、日本チャールス・リバー株式会社）に、群別、産卵週別に収容し、これを 6 段のラックに配置した。育雛用ケージ内保温室熱源直下の温度は、生後第 1 週は 37℃（35～38℃）、第 2 週は 31℃（30～32℃）に設定した。照明には昼光色の蛍光灯を用い、照度はケージ内が概ね 10～20 Lxになるように調節した。また、照明の点灯及び消灯時には、自然界に近い状態を再現するために発/減光に約 30 分間の時間勾配を設けた。飼料は、7 週齢以降の親鳥については成鶏用粉末飼料 NQ-1（日生研株式会社、被験物質添加の基礎飼料としても使用）、導入後 6 週まで及び孵化した若鳥は幼鶏用粉末飼料 NQ-2（日生研株式会社）を用い、食いこぼし防止のための中目皿を入れた給餌器により自由に摂取させた。給餌器内の飼料は、週 1 回新たなものと交換した。飲料水には水道水（神奈川県相模原市営）を給水器により与えた。水は毎日、新鮮なものと交換した。

本試験は、財団法人畜産生物科学安全研究所が、「動物の愛護及び管理に関する法律（昭和 48 年法律第 105 号）」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年環境省告示第 88 号）、「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実

験等の実施に関する基本指針」及び「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」(2006年6月1日、日本学術会議)に基づいて定めた「動物実験倫理規定(平成18年9月以前)」、さらに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準(平成18年環境省告示第88号)」等を基に動物実験を科学的観点及び倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項等を定めた「動物実験実施規定(平成18年10月以降)」に従って行った。

4. 被験物質添加飼料の調製及び給与期間

被験物質のHBCDは基礎飼料に添加し、6週間にわたってウズラに給与した。被験物質添加飼料の調製は、各濃度別に行った。まず、HBCDを大型乳鉢で約100gの基礎飼料と混合し高濃度添加プレミックスを調製し、次いで小型混合攪拌機(5DM-r型、㈱ダルトン製)で約2000gのプレミックスを作製した。その後、このプレミックスを所定の濃度になるように、中型混合攪拌機(25AM-Qr型、㈱ダルトン製)で基礎飼料と混合し試験飼料に調製した。調製した飼料は、使用まで密栓し、冷暗所(2~6℃)で保管した。飼料中の被験物質は、調製した試験飼料について、混合器の上、中、下層部の3箇所から採取して分析し、均一、かつ所定濃度で調製されていることを確認した。

5. 観察及び検査

1) 親鳥の観察

(1) 臨床観察

投与期間中、少なくとも1日1回、生死、外観、羽毛や翼の状態、姿勢、行動、呼吸、意識、神経症状、排泄物等について観察した。

(2) 体重、飼料摂取量及び被験物質摂取量

体重は投与開始時及び最終投与日に測定し、さらに屠殺時或いは死亡発見時にも測定した。飼料摂取量は、毎週、ケージごとの飼料消費量を測定した。被験物質摂取量は、ケージごとの飼料摂取量、被験物質添加濃度及びケージ内の鳥の総体重を基に算出した。

(3) 産卵確認及び貯卵

毎日、産卵の有無を観察した。また、産卵数に加えて卵重の測定及び傷のある卵や軟卵等の異常卵について記録した後、正常卵についてはオスバン(塩化ベンザルコニウム)の2000倍液を浸したガーゼを用いて手早く洗浄し、同液に5分間浸漬消毒した後、孵卵に供するまで12℃に設定した貯卵庫に保存した。卵の識別は、鉛筆で殻に親鳥の個体番号と採取日を記入することにより行った。

(4) 孵卵

保存した卵は、それぞれ週単位でまとめて孵卵器に移して孵化させた。孵卵器に移す前には、3~4 時間室温に置くとともに、肉眼で卵殻に傷のないことを確認し、傷が認められた卵は孵卵器に入卵せず、記録した後廃棄した。種卵の孵卵には温度 37.6 °C、湿度 63% に設定した立体孵卵器 (P-001 型、昭和フランキ株式会社) を用いた。入卵 14 日 (入卵日を入卵 0 日とする) までは卵盤にのせて 1 日 12 回転卵し、その後はハッチャー部 (孵化棚) に移して孵化させ、孵化日別に記録した。

(5) 胚の生存確認

孵卵中の全ての卵について、入卵 7 日に卵殻を検卵器 (ナイツ製) で透視し、心臓部や気室から放射状に伸びる血管の走行状態を肉眼で確認することにより、胚の発育状態を観察した。胚の生存並びに血管の走行が確認されない卵及び血管の走行状態から明らかな胚死亡と断定された卵については卵殻を切開し、胚の発育が認められない卵か発育停止卵 (発育途中死亡) かの判別を行い記録した。

(6) 卵殻検査

投与 13、27 及び 40 日に採取した全ての卵 (傷のある卵等異常卵は除く) について、中身を出して水洗後室温で 48 時間自然乾燥させ、卵殻厚計 (富士平工業株式会社) を用いて、卵の赤道部分で概ね等間隔に 4 箇所 of 殻の厚さを測定した。

(7) 病理学検査、精子検査並びに卵巢の最大卵胞径及び器官重量測定

試験中死亡した親鳥は発見後速やかに、それぞれの投与期間終了時生存例は二酸化炭素ガスの吸入により安楽死させ、剖検した。また、生存例について、脳、肝臓、脾臓並びに雄では精巣、雌では卵巢及び卵管を採取して重量 (絶対重量) を測定し、最終体重との比体重 (相対重量) を算出した。さらに、雄は精管 (原則として右側精巣上部) から精液を採取し、顕微鏡下で精子数 (血球計算盤) 及び精子の運動性を観察した。また、一部の例については精巣の病理組織学検査を行った。雌は卵巢の最大卵胞の長径を測定した。

2) 若鳥の観察

(1) 臨床観察

孵化した若鳥は 14 日齢まで飼育した。その間毎日、一般症状や死亡を観察し、変化を親鳥別に記録した。

(2) 体重及び飼料摂取量

体重は、14 日齢時に個体別に測定した。飼料摂取量はケージ単位で、孵化後 1 週及び 2 週における消費量を測定した。

3) 繁殖能に関する指数

次の指数を週単位で算出し、群ごとの平均値を算出した。

$$\text{産卵率 (\%)} = \text{産卵数} / (\text{雌数} \times \text{日数}) \times 100$$

$$\text{産卵抑制率 (\%)} = (\text{対照群の産卵率} - \text{試験群の産卵率}) / \text{対照群の産卵率} \times 100$$

$$\text{正常卵率 (\%)} = \text{正常卵数} / \text{産卵数} \times 100$$

$$\text{正常卵抑制率 (\%)} = (\text{対照群の正常卵率} - \text{試験群の正常卵率}) / \text{対照群の正常卵率} \times 100$$

$$\text{胚の発生率 (\%)} = \text{入卵 7日発育卵数} / \text{入卵数} \times 100$$

$$\text{発生抑制率 (\%)} = (\text{対照群の発生率} - \text{試験群の発生率}) / \text{対照群の発生率} \times 100$$

$$\text{孵化率 (\%)} = \text{孵化した卵の数} / \text{入卵数} \times 100$$

$$\text{孵化抑制率 (\%)} = (\text{対照群の孵化率} - \text{試験群の孵化率}) / \text{対照群の孵化率} \times 100$$

$$\text{若鶏の育成率 (\%)} = 14 \text{日齢生存数} / \text{孵化数} \times 100$$

$$\text{育成抑制率 (\%)} = (\text{対照群の育成率} - \text{試験群の育成率}) / \text{対照群の育成率} \times 100$$

$$\text{繁殖能指数 (羽/ペア/日)} = (\text{産卵率} \times \text{正常卵率} \times \text{孵化率} \times \text{育成率}) / 10^8$$

$$\text{繁殖能抑制率 (\%)} = (\text{対照群の繁殖能指数} - \text{試験群の繁殖能指数}) / \text{対照群の繁殖能指数} \times 100$$

4) 統計解析

得られた平均値或いは頻度について、対照群との有意差（危険率 5 %以下）を次の方法で検定した。パラメトリックデータ（体重・飼料摂取量・卵殻の厚さ等）については、Bartlett の分散検定を行った。その結果各群の分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行い、有意差を認めた場合は Dunnett の検定を行った。分散が一樣でない場合及びノンパラメトリックデータ（産卵率・発生率・孵化率・異常卵の発生率等）については Kruskal-Wallis の順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合は順位を利用した Dunnett 型の検定を行った。カテゴリカルデータ（死亡率・臨床観察等における異常例の発現率）には、Fisher の直接確率法あるいは χ^2 検定を用いた。

試験結果

1. 親鳥に対する影響

1) 一般状態の変化及び死亡（表 1～3）

対照群では一過性の翼下垂が雌雄各 1 羽にみられたが、死亡は認められなかった。HB CD 投与群では雌に、うずくまり、翼下垂、元氣消失及び削瘦が認められ、これらの

症状の発現率を対照群と比較すると、うずくまりは 250 ppm以上の群、翼下垂は 500 ppm以上の群及び元気消失は 1000 ppm群に有意差が認められた。死亡も雌に、125 ppm群で投与 4 及び 6 週に計 3 羽、1000 ppm群で投与 2~6 週にかけて計 6 羽認められ、1000 ppm群の死亡率には対照群と比べて有意差が認められた。死亡例は多くの場合、うずくまり、翼下垂及び元気消失が重度化して死に至った。後述の剖検所見を含めて、HBCD 投与群の雌の死亡の少なくとも一部は、放卵困難による衰弱が死因である可能性が考えられた。雄では 500 ppm群の 1 羽で翼下垂が認められた以外、一般状態の変化や死亡は認められなかった。

2) 体重 (表 4、5)

HBCD 投与による体重への影響は認められなかった。

3) 飼料摂取量 (図 1、表 6) 及び被験物質摂取量 (表 7)

500 及び 1000 ppm群において、投与 2 週以降の飼料摂取量は対照群と比べ、全般的にやや低値傾向にあり、投与 4 週では対照群と比べて有意に低値であった。しかしながら、投与 2~6 週の飼料摂取量推移では、濃度相関的な変化は明らかでなかった。

体重あたりの平均 HBCD 摂取量は、125 ppm群で 18 mg/kg/日、250 ppm群で 33 mg/kg/日、500 ppm群で 62 mg/kg/日及び 1000 ppm群で 130 mg/kg/日であった。

4) 繁殖能に係る指標 (図 2)

(1) 産卵数、産卵率及び卵重 (表 8)

125 ppm以上の全ての HBCD 群で、投与 3 週以降 (1000 ppm群では投与 1 週から) に、濃度相関的な産卵数及び産卵率の低下傾向が認められ、250 ppm群は投与 6 週、500 及び1000 ppm群は 3 週以降に有意差が認められた。卵重も投与 3 週以降、全ての HBCD群で減少傾向にあったが、有意差の認められたのは 500 ppm群の投与 6 週のみであった。

(2) 正常卵及び異常卵の発生率 (表 9)

125 ppm以上の全ての HBCD 群で、傷のある卵の発生率が投与濃度に相関して増加する傾向が認められ、500 及び 1000 ppm群の投与 3 週以降は有意差が認められ、正常卵率は有意な減少を示した。軟卵の発生率は HBCD 投与群でやや増加する傾向にあったものの、濃度相関的な変化傾向は明らかではなかった。

(3) 卵殻検査 (表 10)

125 ppm以上の全ての HBCD 群の卵殻厚は、投与濃度に相関した有意、かつ 250 ppm以上の群では顕著な減少がみられた。この結果は、傷のある卵の発生率の増加と関連しているものと考えられ、HBCD の卵殻性状に及ぼす影響が明らかとなった。

(4) 無精卵の発生率、胚の発生率、孵化率及び孵化日数 (表 11)

125 ppm以上の全ての HBCD 群で無精卵の発生率の増加、胚の発生率の低下及び孵化率の低下がみられ、いずれも濃度相関的、かつ有意な変化であった。1000 ppm群における投与 3 週以降の孵化率は 0%であり、HBCD が次世代の発生に対する顕著な影響が認められた。

(5) 精子検査／卵巢の最大卵胞径 (表 12)

精子数及びその運動性については対照群と比べて差は認められなかった。卵巢の最大卵胞径は、500 及び 1000 ppmで低値傾向にあったが、有意差は認められなかった。

5) 病理学検査

(1) 剖検所見 (表 13、14) 及び精巢の病理組織学検査

肝臓の黄緑色化、卵巢の黒色卵胞・萎縮、脾臓の退色、精巢の小型化・褐色化及び精巢上体の小型化が散発的に認められたが、HBCD 投与との関連性は認められなかった。精巢の病理組織学検査では、精子形成に対する影響は認められなかった。

(2) 器官重量 (表 15、16)

HBCD 投与群の雌の卵管重量 (内容物を含む) は概ね投与濃度に相関的な減少傾向が認められ、250 ppm以上の群の相対重量及び 500 ppm以上の群の絶対重量に有意差が認められた。雌で腎臓や脾臓重量にも有意差が付いたが、変化に濃度相関性は認められなかった。また、精巢を含む雄の器官重量には変化は認められなかった。

2. 若鳥に対する影響 (表 17、18)

HBCD 投与群では、若鳥の育成率が投与 3 週以降において低値傾向にあったものの、孵化数が少ないため、HBCD の若鳥の育成に及ぼす影響を確認することはできなかった。

3. 繁殖能指数及び繁殖抑制率 (図 3、表 19)

投与 1、3、5 及び 6 週における対照群の繁殖能指数 (1つがいの親鳥が1日に生産する若鳥の数) は 0.48~0.61 の範囲であった。一方、投与 3、5 及び 6 週における HBCD 投与各群では 125 ppm群の繁殖能指数は 0.13~0.23、対照群の繁殖能指数を基準値として算出した繁殖抑制率は 57.4~77.2%、250 ppm群の繁殖能指数は 0.14~0.29、繁殖抑制率は 52.5~75.4%、500 ppm群の繁殖能指数は 0.00~0.01、繁殖抑制率は 98.4~100.0%及び 1000 ppm群の繁殖能指数は 0.00、繁殖抑制率は 100.0%で、全ての群において対照群と比べて有意な差が認められ、鳥類の次世代の生産に及ぼす影響が明らかとなった。

考 察

試験条件の妥当性について、試験の結果、対照群の親鳥の死亡率が 10% を越えていないこと、対照群の親雌鳥あたりの 14 日齢若鳥の平均生存数が 24 羽以上であること、及び対照群における卵殻の厚さの平均が 0.19mm以上であること、の条件を満たしていることから、本試験は有効と判断した。

HBCDの繁殖に及ぼす影響については、最低濃度の125 ppmから産卵数、卵殻質及び胚の発生に対する影響が認められ、孵化した若鳥の数が少なく、500 ppm以上では次世代の生産がほとんど認められず、雌親鳥の繁殖能に対する顕著な影響が確認された。雄の繁殖能に対する指標には、変化は認められなかった。若鶏の生存性に対する影響については、孵化した雛の数が少なかったため、十分な評価はできなかった。

したがって、無影響濃度を明らかにするためには、さらに低濃度での追加試験が必要と考えられた。

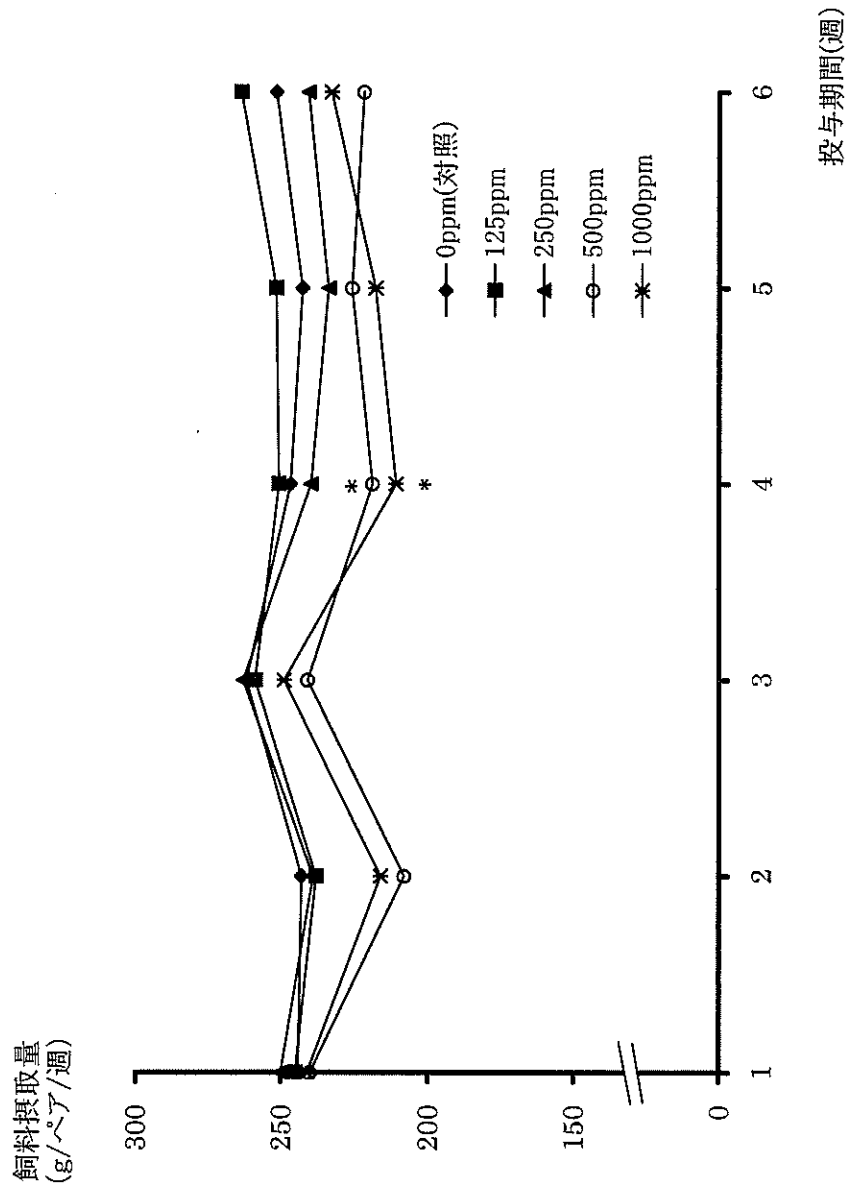


図 1 1,2,5,6,9,10-ヘキサブプロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験
—親鳥の群別飼料摂取量—

有意差 (* : $p \leq 0.05$)

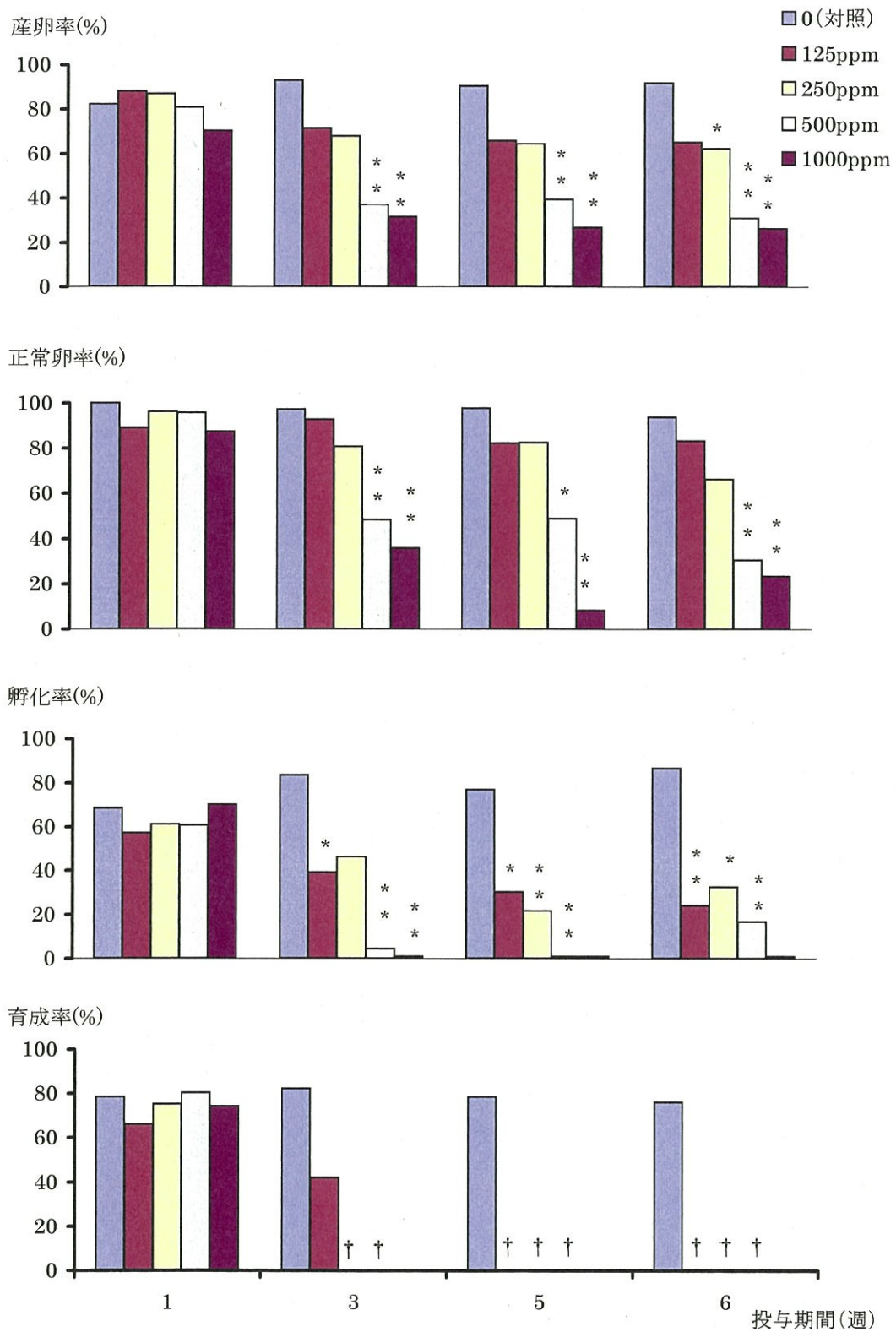


図2 1,2,5,6,9,10-ヘキサプロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験
-繁殖指標のまとめ-

有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)

† : 孵化数少なく、有用なデータが得られなかった。

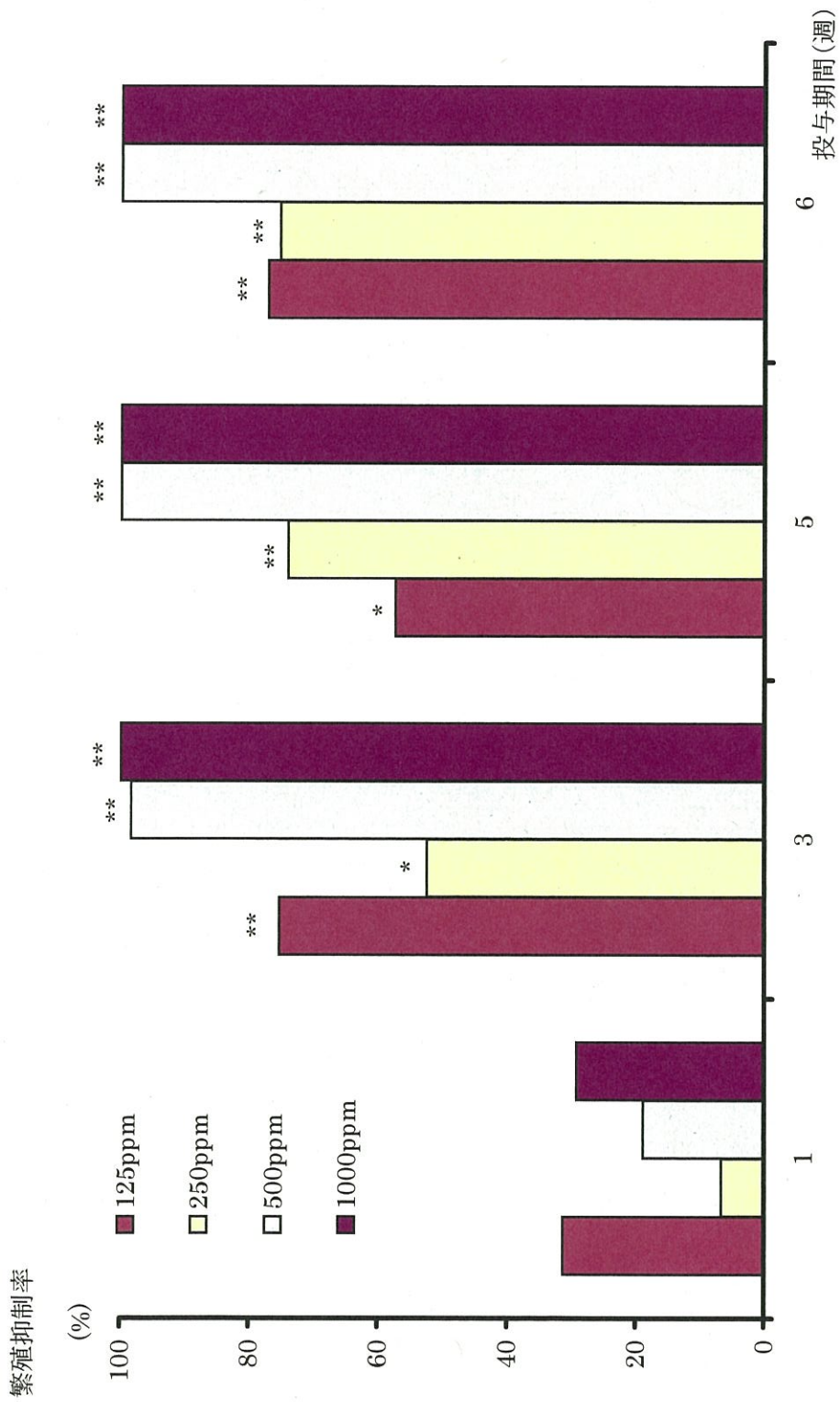


図3 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖阻害条件下6週間投与試験

—繁殖抑制率—

有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

表 1 1,2,5,6,9,10-ヘキサブROMシクロドデカンのウズラを用いる
鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験

— 親鳥の死亡率 —

用量 (ppm)	性別	羽数	投与						死亡経過 (週)		死亡率 (%)		
			1	2	3	4	5	6	雄	雌	雄	雌	
0(対照)	雄	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
125	雄	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	2	0	0	1	0	0	25.0	12.5
250	雄	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
500	雄	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
1000	雄	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	2	0	1	1	1	2	0	0	50.0	25.0 *

有意差 (* : $p \leq 0.05$)

試 験 報 告 書 (Ⅱ)

1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる
鳥類の繁殖照明条件下 6 週間投与試験

－ 追加試験 －

(試験番号 : 08-016)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験の表題 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖
照明条件下 6 週間投与試験 - 追加試験 - (試験番号 : 08-016)

試験委託者

名 称 環境省
所 在 地 東京都千代田区霞が関 1 丁目 2 番 2 号
委託責任者 環境保健部企画課化学物質審査室

試験実施施設

名 称 財団法人 畜産生物科学安全研究所
所 在 地 

調査期間

平成 20 年 9 月～平成 21 年 3 月

被 験 物 質

名 称 : 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン (略称: HBCD)
CAS No. : 3194-55-6
ロット番号 : KLF0973
純 度 : 100%
異性体構成比 : α - 12-1327%、 β - 9-1130%、 γ - 76-7843%
外 観 : 白色結晶性粉末
分 子 式 : $C_{12}H_{18}Br_6$
分 子 量 : 641.70
入 手 先 : 和光純薬工業株式会社から試薬として入手
入手日・量 : 平成 16 年 11 月 11 日、500 g
保管条件 : 冷暗所 (2~6°C) ・密栓
安 定 性 : 安定

試 験 方 法

1. 供試生物

日生研株式会社小淵沢支社 () から中雛 (35 日齢) で導入 (平成 20 年 9 月 8 日) し、ケージにペアで収容して維持飼育していた WE 系のウズラ (*Coturnix coturnix japonica*) を 11 週 (80 日) 齢で試験に用いた。導入後試験に供するまでの期間において、死亡や衰弱する例は認められず、また闘争等により共存できないペアも認められなかった。試験開始 14 日前の 66 日齢からは産卵状況を観察し、産卵が良好で確実に繁殖状態にあることが確認された 60 ペアを試験に用い、完全無作為抽出法により 12 ペアずつ 5 群に振り分けた。個体識別は、一連の数字 (若鳥の場合は孵化日ごと) が刻印された脚帯の装着により行い、ケージには試験番号、群、ケージ番号及び個体番号 (若鳥では産卵週) を表示した。試験群の構成は、次表のとおりである。

群	ケージ番号	♂：羽数（個体番号）	♀：羽数（個体番号）
無添加対照	1～12	12（001～012）	12（501～512）
5ppm	13～24	12（013～024）	12（513～524）
15ppm	25～36	12（025～036）	12（525～536）
45ppm	37～48	12（037～048）	12（537～548）
125ppm	49～60	12（049～060）	12（549～560）

2. 飼育管理

親鳥は、温度 20±3℃、湿度 50～75%、換気回数 10 回以上／時に設定された研究別館飼育室（第 13 室）で、繁殖用ケージ（25W×60D×17H mm）にペアで収容し、これを 6 段のラックに配置した。照明時間は、親鳥では 17 時間／日（午前 1 時点灯、午後 6 時消灯）の長時日条件とした。若鳥は、同様の温度、湿度条件で照明時間を 14 時間／日（午前 5 時点灯、午後 7 時消灯）に設定した飼育室（第 15 室）で、育雛用ケージ（60W×80D×20H cm、床敷：ホワイトフレーク、日本チャールス・リバー株式会社）に、群別、産卵週別に収容し、これを 6 段のラックに配置した。育雛用ケージ内保温室熱源直下の温度は、生後第 1 週は 37℃（35～38℃）、第 2 週は 31℃（30～32℃）に設定した。照明には昼光色の蛍光灯を用い、照度はケージ内が概ね 10～20 Lx になるように調節した。また、照明の点灯及び消灯時には、自然界に近い状態を再現するために発／減光に約 30 分間の時間勾配を設けた。飼料は、7 週齢以降の親鳥については成鶏用粉末飼料 NQ-1（日生研株式会社、被験物質添加の基礎飼料としても使用）、導入後 6 週まで及び孵化した若鳥は幼鶏用粉末飼料 NQ-2（日生研株式会社）を用い、食いこぼし防止のための中目皿を入れた給餌器により自由に摂取させた。給餌器内の飼料は、週 1 回新たなものと交換した。飲料水には水道水（神奈川県相模原市営）を給水器により与えた。水は毎日、新鮮なものと交換した。

本試験は、財団法人畜産生物科学安全研究所が、「動物の愛護及び管理に関する法律（昭和 48 年法律第 105 号）」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年環境省告示第 88 号）、「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」及び「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（2006 年 6 月 1 日、日本学術会議）に基づいて定めた「動物実験倫理規定（平成 18 年 9 月以前）」、さらに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成 18 年環境省告示第 88 号）」等を基に動物実験を科学的観点及び倫理的な配慮の下に実施するために遵守すべき事項等を定めた「動物実験実施規定（平成 18 年 10 月以

降)」に従って行った。

3. 被験物質添加飼料の調製及び給与期間

被験物質のHBCD は基礎飼料に添加し、6 週間にわたってウズラに給与した。被験物質添加飼料の調製は、各濃度別に行った。まず、HBCD を大型乳鉢で約 100g の基礎飼料と混合し高濃度添加プレミックスを調製し、次いで小型混合攪拌機（5DM-r 型、㈱ダルトン製）で約 2000g のプレミックスを作製した。その後、このプレミックスを所定の濃度になるように、中型混合攪拌機（25AM-Q r 型、㈱ダルトン製）で基礎飼料と混合し試験飼料に調製した。調製した飼料は、使用まで密栓し、冷暗所（2～6℃）で保管した。飼料中の被験物質は、調製した試験飼料について、混合器の上、中、下層部の 3 箇所から採取して分析し、均一、かつ所定濃度で調製されていることを確認した。

4. 観察及び検査

1) 親鳥の観察

(1) 臨床観察

投与期間中、少なくとも 1 日 1 回、生死、外観、羽毛や翼の状態、姿勢、行動、呼吸、意識、神経症状、排泄物等について観察した。

(2) 体重、飼料摂取量及び被験物質摂取量

体重は投与開始時及び最終投与日に測定し、さらに屠殺時或いは死亡発見時にも測定した。飼料摂取量は、毎週、ケージごとの飼料消費量を測定した。被験物質摂取量は、ケージごとの飼料摂取量、被験物質添加濃度及びケージ内の鳥の総体重を基に算出した。

(3) 産卵確認及び貯卵

毎日、産卵の有無を観察した。また、産卵数に加えて卵重の測定及び傷のある卵や軟卵等の異常卵について記録した後、正常卵についてはオスバン(塩化ベンザルコニウム)の 2000 倍液を浸したガーゼを用いて手早く洗浄し、同液に 5 分間浸漬消毒した後、孵卵に供するまで 12℃に設定した貯卵庫に保存した。卵の識別は、鉛筆で殻に親鳥の個体番号と採取日を記入することにより行った。

(4) 孵卵

保存した卵は、それぞれ週単位でまとめて孵卵器に移して孵化させた。孵卵器に移す前には、3～4 時間室温に置くとともに、肉眼で卵殻に傷のないことを確認し、傷が認められた卵は孵卵器に入卵せず、記録した後廃棄した。種卵の孵卵には温度 37.6℃、湿度 63% に設定した立体孵卵器（P-001 型、昭和フランキ株式会社）を用いた。入卵 14 日（入卵日を入卵 0 日とする）までは卵盤にのせて 1 日 12 回転卵し、その

後はハッチャー部（孵化棚）に移して孵化させ、孵化日別に記録した。

(5) 胚の生存確認

孵卵中の全ての卵について、入卵 7 日に卵殻を検卵器（ナイツ製）で透視し、心臓部や気室から放射状に伸びる血管の走行状態を肉眼で確認することにより、胚の発育状態を観察した。胚の生存並びに血管の走行が確認されない卵及び血管の走行状態から明らかな胚死亡と断定された卵については卵殻を切開し、胚の発育が認められない卵か発育停止卵（発育途中死亡）かの判別を行い記録した。

(6) 卵殻検査

投与 4、18、32 及び 39 日に採取した全ての卵（傷のある卵等異常卵は除く）について、中身を出して水洗後室温で 48 時間自然乾燥させ、卵殻厚計（富士平工業株式会社）を用いて、卵の赤道部分で概ね等間隔に 4 箇所 of 殻の厚さを測定した。

(7) 病理学検査、精子検査並びに卵巣の最大卵胞径及び器官重量測定

試験中死亡した親鳥は発見後速やかに、それぞれの投与期間終了時生存例は二酸化炭素ガスの吸入により安楽死させ、剖検した。また、生存例について、脳、肝臓、脾臓並びに雄では精巣、雌では卵巣及び卵管を採取して重量（絶対重量）を測定し、最終体重との比体重（相対重量）を算出した。さらに、雄は精管（原則として右側精巣上部）から精液を採取し、顕微鏡下で精子の運動性を観察した。また、一部の例については精巣の病理組織学検査を行った。雌は卵巣の最大卵胞の長径を測定した。

2) 若鳥の観察

(1) 臨床観察

孵化した若鳥は 14 日齢まで飼育した。その間毎日、一般症状や死亡を観察し、変化を親鳥別に記録した。

(2) 体重及び飼料摂取量

体重は、14 日齢時に個体別に測定した。飼料摂取量はケージ単位で、孵化後 1 週及び 2 週における消費量を測定した。

3) 繁殖能に関する指数

次の指数を週単位で算出し、群ごとの平均値を算出した。

$$\text{産卵率 (\%)} = \text{産卵数} / (\text{雌数} \times \text{日数}) \times 100$$

$$\text{産卵抑制率 (\%)} = (\text{対照群の産卵率} - \text{試験群の産卵率}) / \text{対照群の産卵率} \times 100$$

$$\text{正常卵率 (\%)} = \text{正常卵数} / \text{産卵数} \times 100$$

$$\text{正常卵抑制率 (\%)} = (\text{対照群の正常卵率} - \text{試験群の正常卵率})$$

$$\begin{aligned} \text{胚の発生率 (\%)} &= \text{入卵 7日発育卵数} / \text{入卵数} \times 100 \\ \text{発生抑制率 (\%)} &= (\text{対照群の発生率} - \text{試験群の発生率}) / \text{対照群の発生率} \times 100 \\ \text{孵化率 (\%)} &= \text{孵化した卵の数} / \text{入卵数} \times 100 \\ \text{孵化抑制率 (\%)} &= (\text{対照群の孵化率} - \text{試験群の孵化率}) / \text{対照群の孵化率} \times 100 \\ \text{若鶏の育成率 (\%)} &= \text{14日齢生存数} / \text{孵化数} \times 100 \\ \text{育成抑制率 (\%)} &= (\text{対照群の育成率} - \text{試験群の育成率}) / \text{対照群の育成率} \times 100 \\ \text{繁殖能指数 (羽/ペア/日)} &= (\text{産卵率} \times \text{正常卵率} \times \text{孵化率} \times \text{育成率}) / 10^8 \\ \text{繁殖能抑制率 (\%)} &= (\text{対照群の繁殖能指数} - \text{試験群の繁殖能指数}) / \text{対照群の繁殖能指数} \times 100 \end{aligned}$$

4) 統計解析

得られた平均値或いは頻度について、対照群との有意差（危険率 5%以下）を次の方法で検定した。パラメトリックデータ（体重・飼料摂取量・卵殻の厚さ等）については、Bartlett の分散検定を行った。その結果各群の分散が一樣な場合は一元配置の分散分析を行い、有意差を認めめた場合は Dunnett の検定を行った。分散が一樣でない場合及びノンパラメトリックデータ（産卵率・発生率・孵化率・異常卵の発生率等）については Kruskal-Wallis の順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合は順位を利用した Dunnett 型の検定を行った。カテゴリカルデータ（死亡率・臨床観察等における異常例の発現率）には、Fisher の直接確率法或いは χ^2 検定を用いた。

試験結果

1. 親鳥に対する影響

1) 一般状態の変化及び死亡（表 1~3）

一般状態の変化及び死亡の発現率において、対照群と比べて有意な変化は認められなかった。うずくまり、翼下垂及び元気消失が 45ppm以上の群で認められたが、発現率に有意差は認められなかった。また、死亡は 125ppm群の雌で投与 6 週に 1 羽認められ、うずくまり、翼下垂及び元気消失を伴って死亡した。また、15ppm群の雌の 1 羽は投与 6 週に死亡し、この例は一般状態の変化を伴わないで、死後発見された。

2) 体重 (表 4、5)

HBCDの投与による体重への影響は認められなかった。

3) 飼料摂取量 (図 1、表 6) 及び被験物質摂取量 (表 7)

飼料摂取量に対する HBCDの投与による影響は認められなかった。5、45 及び 125 ppm群の投与 6 週の飼料摂取量は対照群と比べて有意に低値であった。しかしながら、投与 2~6 週の飼料摂取量の推移では、濃度相関的な変化は明らかでなかった。

体重あたりの平均 HBCD 摂取量は、5 ppm群で 0.7 mg/kg/日、15 ppm群で 2.1 mg/kg/日、45 ppm群で 6.3 mg/kg/日及び 125 ppm群で 17 mg/kg/日であった。

4) 繁殖能に係る指標 (図 2)

(1) 産卵数、産卵率及び卵重 (表 8)

HBCD の投与による影響は認められなかった。45 ppm群の投与 3 週で産卵率の有意な低下が認められたが、偶発的と思われる変化であった。

(2) 正常卵及び異常卵の発生率 (表 9)

異常卵の発生は殆ど認められず、いずれの群も高い正常卵率を示した。

(3) 卵殻検査 (表 10)

投与 4 日の検査では卵殻厚の変化は認められなかった。8 日以降の検査では 125ppm群で卵殻厚の減少が認められ、投与 8 日の平均値並びに 8 日以降に検査した全ての卵の平均値に有意差が認められた。しかしながら、その変化は軽度なものであった。

(4) 無精卵の発生率、胚の発生率、孵化率及び孵化日数 (表 11)

HBCD 投与群の胚の発生率は対照群と比べてやや低値で、投与 3 週以降、概ね投与濃度と相関した孵化率の低下傾向が認められたが、有意差は認められなかった。

(5) 精子検査/卵巢の最大卵胞径 (表 12)

雄の精子の運動性及び雌の卵巢の最大卵胞径に、有意な変化は認められなかった。

5) 病理学検査

(1) 剖検 (表 13、14) 及び精巢の病理組織学検査

HBCD 投与群で雄に精巢の小型化及び腎臓の退色、雌に卵巢の黒色卵胞が散発的に

みられたが濃度相関性は認められなかった。また、精巢の病理組織学検査においても、HBCD 投与による変化は認められなかった。なお、HBCD 投与とは無関係に、対照群を含む各群の雌雄の肝臓に黄色化が認められた。

(2) 器官重量 (表 15、16)

生殖器官を含む各器官の重量に、有意な変化は認められなかった。

2. 若鳥に対する影響 (表 17、18)

15 ppm以上の群で、投与 3~5 週以降に若鳥の死亡の増加及びそれに伴う育成率の低下が認められ、投与 6 週には 15、45 及び 125 ppmとも有意差が認められた。若鳥の体重及び飼料摂取量には、変化は認められなかった。

3. 繁殖能指数及び繁殖抑制率 (図 3、表 19)

投与 1 週における繁殖能指数 (1 つがいの親鳥が 1 日に生産する若鳥の数) は、対照群の 0.44 を含め各群とも全般的に低値であったが、HBCD の投与による影響は明らかでなかった。しかしながら、3、5 及び 6 週の対照群の繁殖能指数は 0.52~0.63 の範囲で推移した一方、HBCD 15 ppm群は 0.21~0.39、45ppm群は 0.22~0.30 及び 125ppmは 0.16~0.22 の範囲にあり、15 ppm群は投与 6 週、45ppm群は投与 3 及び 6 週、さらに 125ppm群は投与 3、5 及び 6 週の全ての週で有意差が認められた。また、対照群の繁殖能指数を 100%として算出した投与 3 週以降の繁殖抑制率は、15 ppmで 37.1~66.7%、45 ppmで 42.3~65.1%及び 125 ppmで 64.5~74.6%の範囲となり、15 ppm以上の群で次世代の生産に及ぼす影響が認められた。

考察及び結論

試験条件の妥当性について、試験の結果、対照群の親鳥の死亡率が 10% を越えていないこと、対照群の親雌鳥あたりの 14 日齢若鳥の平均生存数が 24 羽以上であること、及び対照群における卵殻の厚さの平均が 0.19mm以上であること、の条件を満たしていることから、本試験は有効と判断した。

HBCDの繁殖に及ぼす影響について、125~1000 ppmの範囲で実施した前回の試験では、最低濃度の125 ppmから産卵数、卵殻質及び胚の発生に対する影響が認められ、孵化した若鳥の数が少なく、500 ppm以上では次世代の生産がほとんど認められなくなった。雄の繁殖能に対する指標には、変化は認められなかった。若鶏の生存性に対する影響については、孵化した雛の数が少なかったため、十分な評価はできなかった。

5、15、45 及び125 ppmで実施した今回の試験では、15 ppm (2.1 mg/kg/日) 以上の群で若鳥の育成率の有意な低下が認められ、若鳥の生存性に対する影響が最も低濃度から発現することが明らかとなった。

若鳥は被験物質の無添加飼料を摂取しているにもかかわらず、生存性に対する影響が認められたのは、親鳥の体内に残留する物質、特に脂溶性の高い物質は卵黄に移行しやすいこと、胚の形成に必要な栄養は卵黄嚢に蓄えられた卵の成分により供給され、孵化後も卵黄嚢は体内に残存し、そこから栄養摂取している²⁾こと、孵化後は器官・組織の高次機能が急速に発達することから化学物質の有害影響を受けやすい等が関連するものと推察される。

また、投与濃度に相関した孵化率への影響も確認され、繁殖能指数は、15 ppm以上の群で有意、かつ対照群と比べて 65%を超える抑制を示した。HBCDの本試験条件下における無影響濃度（無影響量）は、5 ppm (0.7 mg/kg/日) と結論された。

文 献

- 1) 環境省、「平成18年度難分解性・高濃縮性化学物質に係る鳥類毒性試験検討調査報告書」
- 2) Starch, J.M.(1998): Structural variants and invariants in avian embryonic and postnatal development. In the Avian Growth and Development (Starck, J.M., Ricklefs, R.E., eds.), Oxford University Press, pp.59-88.

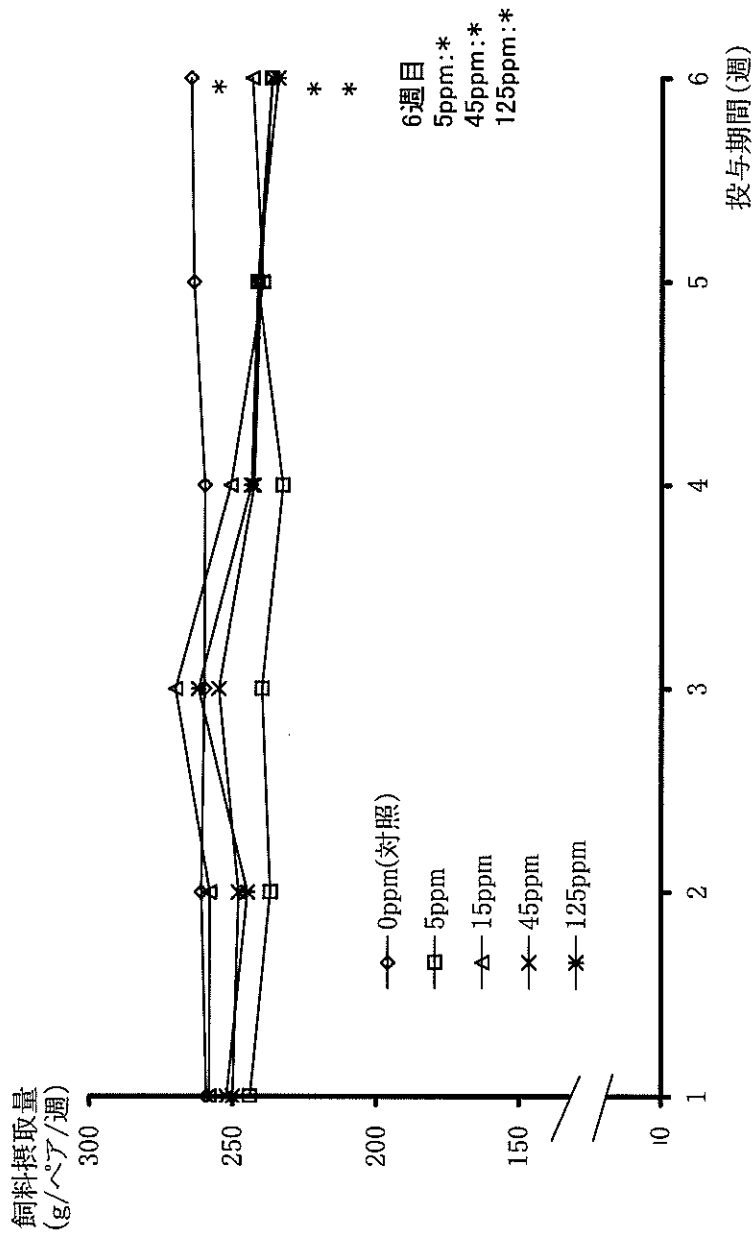


図1 1,2,5,6,9,10-ヘキサブROMシクロデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験
 — 親鳥の群別飼料摂取量 —

有意差 (*: $p \leq 0.05$)

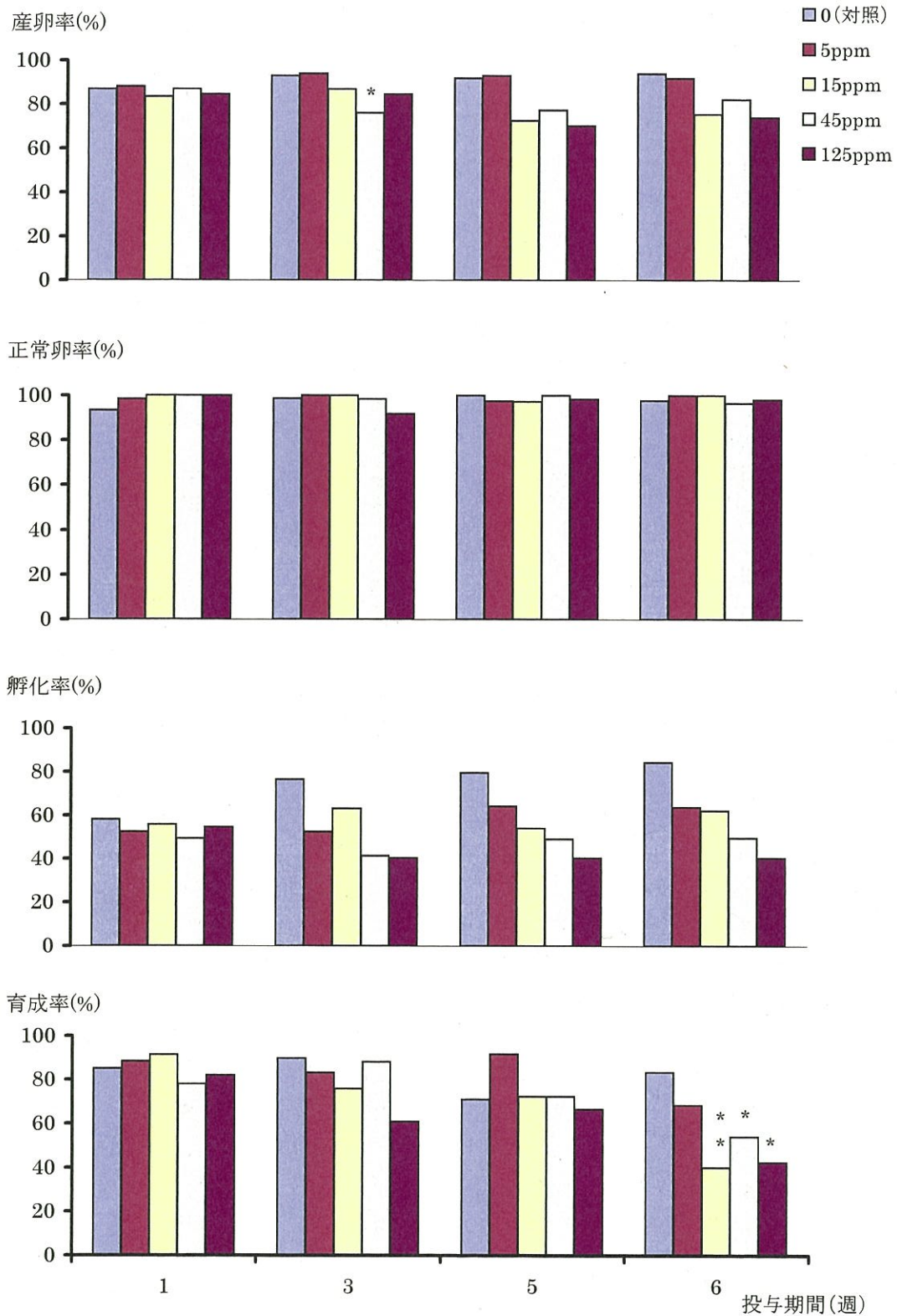


図2 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験
—繁殖指標のまとめ—

有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

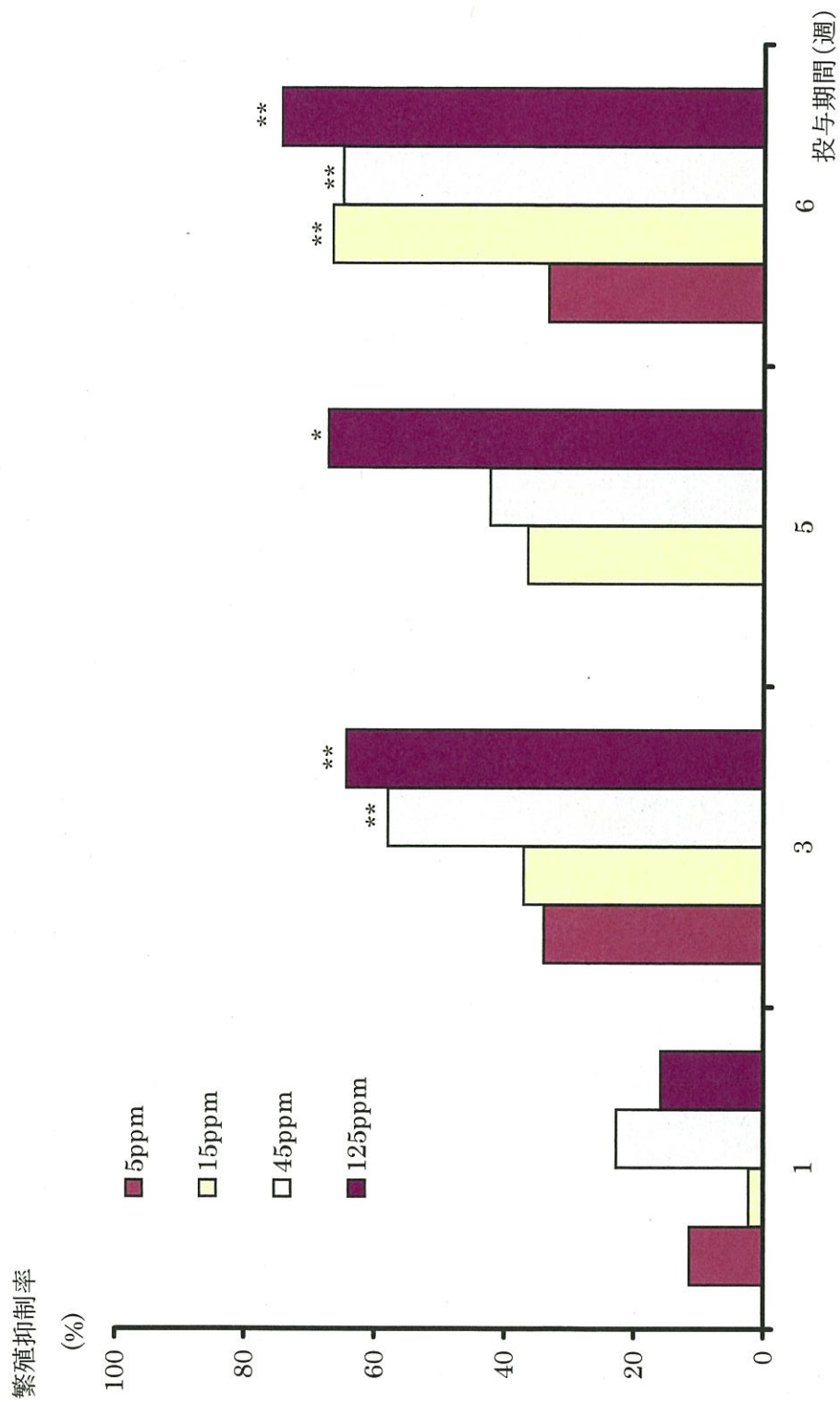


図3 1,2,5,6,9,10-ヘキサブプロモシクロドデカンのウズラを用いる鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験

—繁殖抑制率—

有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

表 1 1,2,5,6,9,10-ヘキサブプロモシクロドデカンのウズラを用いる
鳥類の繁殖照明条件下6週間投与試験

—親鳥の死亡率—

用量 (ppm)	性別	羽数	投与						死亡率 (%)	
			1	2	3	4	5	6	死亡経過 (週)	雄+雌
0(対照)	雄	12	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0.0	
5	雄	12	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0.0	
15	雄	12	0	0	0	0	0	0	0.0	4.2
	雌	12	0	0	0	0	0	1	8.3	
45	雄	12	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0
	雌	12	0	0	0	0	0	0	0.0	
125	雄	12	0	0	0	0	0	0	0.0	4.2
	雌	12	0	0	0	0	0	1	8.3	

試験報告書

ヘキサブロモシクロドデカンのウズラを用いる
鳥類6週間投与繁殖毒性試験

(試験番号：11-001)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験目的

本業務では、ヘキサブロモシクロドデカン（以下「HBCD」という。）の有害性調査「鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験」で用いられた事業者提供の工業レベルのHBCD（異性体構成比率： α -体9.4%、 β -体7.6%、 γ -体82.1%、 ϵ -体（推定）0.9%）と、試薬として購入した α -HBCDの2種類のHBCDを被験物質とした6週間投与の繁殖毒性試験を実施して、HBCDの鳥類繁殖能に対する毒性の構造異性体構成比率の違いによる影響を調べることを目的とする。

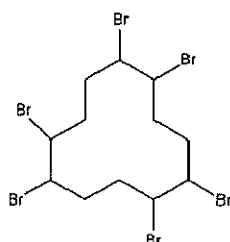
動物愛護

この試験は、「動物の愛護及び管理に関する法律」（昭和48年法律第105号）、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年環境省告示第88号）、「農林水産省の所管する研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」、「厚生労働省の所管する実施機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」及び「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」（2006年6月1日日本学術会議）に基づき、実験動物を科学的観点及び倫理的な配慮の下に実施するべき事項を定めた、「財団法人 畜産生物科学安全研究所の動物実験実施規定」に従い、実験動物委員会の承認（承認番号：倫110803-1）を得て、実施した。

被験物質

名称（略称）： 1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン（HBCD）
英 名： 1,2,5,6,9,10-Hexabromocyclododecane
官報公示整理番号： (3) -2254（化審法）
適用法令（化審法）： 第一種・第三種監視化学物質
CAS No.： 3194-55-6

構造式 :



分子式 : C₁₂H₁₈Br₆

分子量 : 641.70

融点 : 177°C

蒸気圧 : 6.3×10⁻⁹Pa/21°C

溶解性 : ケトン、トルエン等の有機溶剤に可溶、水に不溶

安定性 : 投与期間終了後に純度を分析し、試験開始前の純度と比較することにより、保管条件下での安定性を確認した。

保管条件 : 冷暗所 (2~6°C) ・密栓

取扱上の注意 : ゴム手袋及びマスクを着用し、直接の接触を避ける。

残余物の処置 : 被験物質の残余物は被験物質保管庫 (2~6°C) で厳重に保管・管理した。被験物質添加飼料給与後の残余物、試験ウズラの排泄物、屠体等は一般の汚物とは区別して保管し、当研究所の焼却設備で800°C以上の高熱下で焼却した。器具等の洗浄及び飼育管理により発生した汚水は、当研究所の下水浄化プラントで浄化処理を行った。上記処置によって生じた焼却炉内の灰はエコマックス株式会社、下水浄化処理プラントの底質部分の汚泥の乾燥物は株式会社クリーンテック、また調製飼料を大量廃棄する場合は三友プラントサービス株式会社に委託して廃棄処分した。

1. 事業者提供HBCD

ロット番号 : TECH4112

純度 : 98.94% (HPLC)

異性体構成比 : α-HBCD 9.4%、β-HBCD 7.6%、γ-HBCD 82.1%、
ε-HBCD (推定) 0.9%

外観 : 白色結晶性粉末

入手先 : HBCD試験調査コンソーシアム

2. α -HBCD

ロット番号 : NCT-110921
純度 : 99.13% (HPLC)
外観 : 白色粉末
入手先 : 東京化成工業株式会社を通じて、WuXi AppTec (Shanghai) Co.,Ltd.で合成

試験方法

1. 適用ガイドライン

本試験は、「新規化学物質に係る試験並びに第一種監視化学物質及び第二種監視化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令」（平成15年11月21日厚生労働省・経済産業省・環境省令第三号）に定める基準に準拠して「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日薬食発第1121002号厚生労働省医薬食品局長、平成15・11・13製局第2号経済産業省製造産業局長、環境企発第031121002号環境省総合環境政策局長連名通知）及びOECD Draft Guideline “Avian reproduction toxicity test in the Japanese Quail or Northern Bobwhite”（April 2000）を参考にして実施した。

2. 供試生物

生物は、WE系のニホンウズラ (*Coturnix japonica*) を用いた。ウズラは、日生研株式会社小淵沢支社 [REDACTED] から7週（49日）齢時に研究別館の第12/13飼育室に導入（雌雄各170羽）して検疫を行い、30日間馴化・維持飼育したものを用いた。供試例は、群分け前14日間（80日齢～93日齢）の健康状態（外観、行動等）及び産卵状況の観察並びに7日間（80日齢～86日齢）の卵をまとめて孵卵器（P-2型、株式会社昭和フランキ）に移して胚の発生状況の観察を行い、外観・行動等に異常が認められず、かつ有精卵を産むことが確認されたペアの中から、群分け前7日間の産卵数が多い108ペアを選別し、13週齢で供試した。

群分けは、選別した108ケージを、投与開始前に、完全無作為抽出法により、12ケージずつ9群に振り分けた。群分け後、一元配置の分散分析法により各群の投与開始前体重及び投与開始前7日間における産卵率に有意差（ $p > 0.05$ ）のないことを確認した。

個体識別は、一連の数字（若鳥の場合は孵化日ごとに）が刻印された脚帯の装着により行い、ケージには試験番号、群、ケージ番号及び個体番号（若鳥では産卵週）を表示

した。

3. 被験物質の投与濃度設定及び試験群の構成

被験物質の投与濃度は、「平成23年度ヘキサブロモシクロドデカンに係る鳥類繁殖毒性試験検討調査業務」の仕様書に従い、事業者提供HBCD及び α -HBCDともに125ppmを最高濃度として以下公比5で25、5及び1ppmのそれぞれ計4濃度を設定した。また、被験物質無添加飼料を与える対照を設けた。試験群の構成は、次表のとおりである。

被験物質	試験群の構成			
	用量 (ppm)	ケージ 番号	羽数 (個体番号)	
			雄	雌
無添加	0 (対照) ¹⁾	1~12	12 (001~012)	12 (501~512)
事業者提供HBCD	1	13~24	12 (013~024)	12 (513~524)
	5	25~36	12 (025~036)	12 (525~536)
	25	37~48	12 (037~048)	12 (537~548)
	125	49~60	12 (049~060)	12 (549~560)
α -HBCD	1	61~72	12 (061~072)	12 (561~572)
	5	73~84	12 (073~084)	12 (573~584)
	25	85~96	12 (085~096)	12 (585~596)
	125	97~108	12 (097~108)	12 (597~608)

¹⁾: 対照は事業者提供HBCD及び α -HBCDで共通

4. 飼育管理

親鳥は、温度許容範囲20±3℃、湿度許容範囲50~75%、換気回数10回以上/時に設定された研究別館飼育室（飼育12/13室）で、繁殖用ケージ（25W×60D×17Hcm）にペアで收容し、これを6段のラックに配置した。照明時間は、親鳥では17時間/日（午前1時点灯、午後6時消灯）の長日条件とした。若鳥は、同様の温度、湿度条件で照明時間を14時間/日（午前5時点灯、午後7時消灯）に設定した飼育室（第11室）で、育雛用ケージ（60W×80D×20Hcm、床敷：ホワイトフレーク（原材料：トウヒ、日本チャールス・リバー株式会社））に、群別、産卵週別に收容し、これを6段のラックに配置した。育雛用ケージ内保温室熱源直下の温度は、生後第1週は37℃（35~38℃）、第2週は31℃（30~32℃）に設定した。照明には昼光色の蛍光灯を用い、照度はケージ内が概ね20~30Lxになるように調節した。また、照明の点灯及び消灯時には、自然界に近い状態を再現するた

めに発／減光時に約30分間の時間勾配を設けた。飼料は、親鳥については成鶏用粉末飼料NQ-1（日生研株式会社、被験物質添加の基礎飼料としても使用）、孵化した若鳥は幼鶏用粉末飼料NQ-2（日生研株式会社）を用い、食いこぼし防止のための中目皿を入れた給餌器により自由に摂取させた。給餌器内の飼料は、週1回新たなものと交換した。飲料水には水道水（神奈川県営）を給水器により与えた。水は毎日、新鮮なものと交換した。なお、ウズラの飼育期間中における飼育室の温度、湿度が規定範囲内であったこと、並びに飼料、飲料水及び床敷きの汚染分析結果では、基準値を上回る数値が認められていないことから、本試験成績の信頼性に影響を及ぼすと考えられる環境要因の変化は、なかったものと判断された。

5. 被験物質添加飼料の調製及び給与期間

被験物質のHBCDは基礎飼料に添加し、6週間にわたってウズラに給与した。被験物質添加飼料の調製は、各濃度別に行った。まず、濃度ごとに必要量の被験物質を秤量し、これを乳鉢で約200gの基礎飼料と混合し高濃度のプレミックスを調製した。次いで、このプレミックスを3種類の混合器（DALTON社製5DM-03-r、25MA-02-Qr及びDOM-150-2GS-E）を用いて段階的に希釈し、事業者提供HBCD及び α -HBCDのそれぞれ4濃度の試験飼料を、各濃度30kgずつ調製した。調製した飼料は、使用まで冷暗所（2～6℃）で保管した。飼料中の被験物質は、調製した試験飼料について、混合器の上、中、下層部の3箇所から採取して分析し、均一、かつ所定濃度で調製されていることを確認した。

6. 観察及び検査

1) 親鳥の観察

(1) 臨床観察

給与期間中、少なくとも1日1回は、生死及び中毒症状について観察した。

(2) 体重、摂餌量及び被験物質摂取量

体重は給与開始時及び最終給与日に測定した。摂餌量は、毎週、ケージごとの飼料消費量を測定した。被験物質摂取量は、ケージごとの摂餌量、被験物質添加濃度及びケージ内の鳥の総体重を基に算出した。

(3) 産卵確認及び貯卵

毎日、産卵の有無を観察した。また、産卵数に加えて卵重の測定及び卵殻にひびのある卵等の異常卵について記録した後、正常卵について、卵殻表面に付着した有機物をガーゼで手早く拭き取り、オスバン（塩化ベンザルコニウム）の2000倍液に約5秒間浸漬後、速やかに水洗し、卵殻に付着したオスバン液を除去し、ペーパータオルで卵

の外郭の水分を拭き取り、孵卵に供するまで12℃に設定した貯卵庫（MPR-312D、三洋電機株式会社）に保存した。卵の識別は、鉛筆で殻に親鳥の個体番号と採取日を記入することにより行った。

(4) 孵卵

保存した卵は、それぞれ週単位でまとめて孵卵器に移して孵化させた。孵卵器に移す前には、3～4時間室温に置くとともに、検卵器（株式会社昭和フランキ）で卵殻にひびのないことを確認し、ひびが認められた卵は孵卵器に入れず、記録した後廃棄した。種卵の孵卵には温度37.6℃、湿度63%に設定した立体孵卵器（P-001型、株式会社昭和フランキ）を用いた。入卵16日（入卵日を入卵0日とする）までは卵盤にのせて1時間に3回転卵し、その後はハッチャー部（SH-1型、株式会社昭和フランキ）に移して孵化させ、孵化日別に記録した。

(5) 胚の生存確認

孵卵中の全ての卵について、入卵6日に卵殻を検卵器で透視し、心臓部や気室から放射状に伸びる血管の走行状態を肉眼で確認することにより、胚の発育状態を観察した。胚の生存並びに血管の走行が確認されない卵及び血管の走行状態から明らかな胚死亡と断定された卵については卵殻を切開し、胚の発育が認められない卵か発育停止卵（発育途中死亡）かの判別を行い記録した。

(6) 卵殻検査

投与4、18、32及び39日に採取した全ての卵（ひびのある卵等の異常卵は除く）について、中身を出して水洗後室温で48時間自然乾燥させ、卵殻厚計（富士平工業株式会社）を用いて、卵の赤道部分で概ね等間隔に4箇所（4箇所）の殻の厚さを測定した。

(7) 剖検

試験中死亡した親鳥は発見後速やかに、投与期間終了時生存例は投与期間終了後短日以内に二酸化炭素で安楽死させ、剖検した。雄については精巣の大きさや形態、また雌については、卵胞の成熟度や形態について注意して観察するほか、雄では総排泄腔隆起の重量並びに長径、また雌では卵巣の最大卵胞長径を測定した。なお、投与期間終了後から剖検までの飼育には、それぞれ投与期間と同様の飼料を給与した。

(8) 器官重量

対照群及び被験物質投与各群ともに個体番号の小さいものから6例について、脳、心臓、肝臓、腎臓及び脾臓並びに雄で精巣、雌で卵巣及び卵管の重量を測定し、最終体重との比体重（相対重量）を算出した。

2) 若鳥の観察

(1) 臨床観察

孵化した若鳥は14日齢まで飼育した。その間毎日、一般症状や死亡を観察し、変化を親鳥別に記録した。

(2) 体重及び摂餌量

体重は、14日齢時に個体別に測定した。摂餌量はケージ単位で、孵化後1週及び2週における消費量を測定した。

(3) 性の判別

14日齢生存例では、飼育期間終了後に二酸化炭素で安楽死させて、また飼育途中での死亡例については可能な限り、開腹して性の判別を行った。

3) 繁殖能に関する指数

次の指数を週単位で算出し、群ごとの平均値を求めた。

$$\text{産卵率 (\%)} = \text{産卵数} / (\text{雌数} \times \text{日数}) \times 100$$

$$\text{正常卵率 (\%)} = \text{正常卵数} / \text{産卵数} \times 100$$

$$\text{胚の発生率 (\%)} = \text{入卵7日発育卵数} / \text{入卵数} \times 100$$

$$\text{孵化率 (\%)} = \text{孵化した卵の数} / \text{入卵数} \times 100$$

$$\text{若鳥の14日間生存率 (\%)} = \text{若鳥の14日齢生存数} / \text{孵化数} \times 100$$

なお、繁殖に及ぼす影響を総合的に評価する指標として、1ペアの親鳥が1日に生産する若鳥の数を示す繁殖能指数^{a)}を算出した。

$$^a) \text{繁殖能指数} = (\text{産卵率} \times \text{正常卵率} \times \text{孵化率} \times \text{若鳥の14日間生存率}) / 10^8$$

4) 統計解析

パラメトリックデータ（親鳥の体重・摂餌量・産卵数・卵重量・卵殻の厚さ・若鳥の14日齢生存数・若鳥の14日齢体重・親鳥の器官重量、雄親鳥の総排泄腔隆起の長径並びに雌親鳥の卵巣の最大卵胞長径）についてはBartlettの分散検定を行った。その結果各群の分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、有意差を認めた場合はDunnnettの多重比較検定を行った。分散が一様でない場合及びノンパラメトリックデータ（卵殻にひびのある卵の発生率・胚の発生率・孵化率・若鳥の14日間生存率、繁殖能指数）についてはKruskal-Wallisの順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合はDunnnett型の多重比較法を用いて検定した。カテゴリカルデータ（親鳥の死亡率、臨床観察等における中毒症状等の発生頻度・親鳥及び若鳥の剖検所見・若鳥の性比）には

Fisherの直接確率法（片側検定、 $n=20$ 未満）及び χ^2 乗検定（ $n=20$ 以上）を用いた。有意差の判定については、パラメトリックデータ、分散が一様でない場合及びノンパラメトリックデータについてはSPSS（Ver.11.5.1J、2002年11月16日リリース、有意差判定： $p \leq 0.05$ 及び $p \leq 0.01$ ）、またカテゴリカルデータについてはエクセル統計2006（株式会社社会情報サービス、有意差判定： $p < 0.05$ 及び $p < 0.01$ ）を用いた。

結 果

1. 事業者提供HBCD

1) 親鳥の健康に及ぼす影響

(1) 一般状態 (表 1) 及び死亡

○ 被験物質の投与に起因する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

表 1 親鳥の一般状態

		(羽)											
症 状	程 度 性 質	群 (ppm)		0(対照)		1		5		25		125	
		羽数	羽数	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
				12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
うずくまり	+	0	3	0	0	0	2	0	1	1	1		
食滞	+	0] (0)	0] (3)	0] (0)	0] (3)	0] (0)	0] (3)	0] (0)	1] (2)	1] (1)	0] (3)		
	++	0] (0)	3] (3)	0] (0)	3] (3)	0] (0)	3] (3)	0] (0)	1] (2)	1] (1)	0] (3)		
翼下垂	+	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		

+ : 軽度、 ++ : 中等度

(2) 体重 (表 2)

○ 投与期間中の体重増加量に変化は認められなかった。

表 2 親鳥の体重

		(g)					
群 (ppm)		雄親鳥			雌親鳥		
		投与開始直前	投与終了時	投与期間中体重増加量	投与開始直前	投与終了時	投与期間中体重増加量
0 (対照)	±	111 (12)	115 (12)	4 (12)	142 (12)	143 (12)	2 (12)
1	±	110 (12)	113 (12)	3 (12)	142 (12)	146 (12)	4 (12)
5	±	119 (12)	122 (12)	3 (12)	144 (12)	148 (12)	4 (12)
25	±	111 (12)	117 (12)	6 (12)	136 (12)	141 (12)	6 (12)
125	±	106 (12)	112 (12)	5 (12)	144 (12)	148 (12)	4 (12)

平均±標準偏差 (羽数)

(3) 摂餌量 (図 1、表 3)

○ 投与期間中の摂餌量に変化は認められなかった。

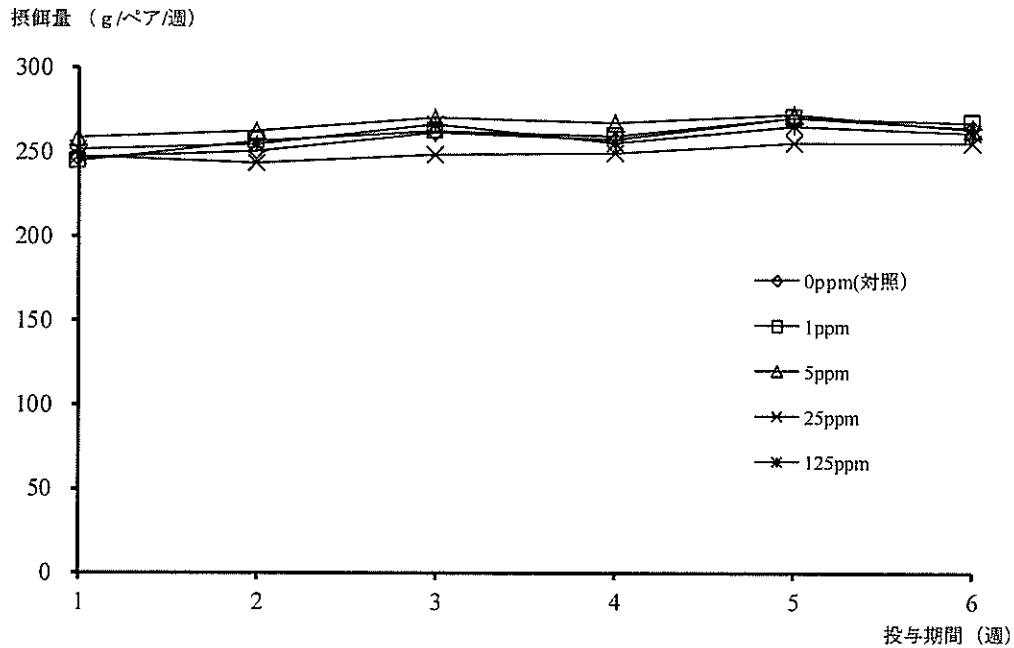


図 1 親鳥の摂餌量の推移

表 3 親鳥の摂餌量

群 (ppm)	投与期間 (週)					
	1	2	3	4	5	6
0 (対照)	246 ± 26 (12)	250 ± 25 (12)	261 ± 20 (12)	257 ± 21 (12)	270 ± 23 (12)	264 ± 29 (12)
1	244 ± 22 (12)	256 ± 26 (12)	262 ± 22 (12)	259 ± 30 (12)	270 ± 24 (12)	267 ± 25 (12)
5	258 ± 13 (12)	262 ± 19 (12)	270 ± 20 (12)	267 ± 14 (12)	272 ± 16 (12)	263 ± 23 (12)
25	247 ± 21 (12)	243 ± 17 (12)	248 ± 23 (12)	249 ± 20 (12)	255 ± 30 (12)	255 ± 17 (12)
125	251 ± 14 (12)	254 ± 17 (12)	266 ± 26 (12)	255 ± 24 (12)	265 ± 23 (12)	261 ± 25 (12)

平均±標準偏差 (羽数)

(4) 被験物質摂取量 (表 4)

体重あたりの平均HBCD摂取量は、125ppm群で18mg/kg/日、25ppm群で3.5mg/kg/日、5ppm群で0.71mg/kg/日及び1ppm群で0.14mg/kg/日であった。

表 4 被験物質摂取量

群 (ppm)	平均被験物質摂取量 (mg/kg/day)
1	0.14
5	0.71
25	3.5
125	18

(5) 剖検所見 (表 5)

○ 肝臓の黄色化及び精巣の小型化が認められ、精巣の小型化の発現数は25及び125ppm群でやや多い傾向にあったが、その発現率に有意差は認められなかった。

表 5 親鳥の剖検所見

		(羽)												
		雄					雌							
臓器	: 所見	程度	性群 (ppm)		0(対照)					0(対照)				
			0(対照)	1	5	25	125	0(対照)	1	5	25	125		
		転帰	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	
		羽数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
肝臓	: 黄色化	-	12	11	11	12	11	6	3	5	8	7		
		+	0	1	1	0	1	6	6	5	2	5		
		++	0	0	0	0	0	0	3	2	2	0		
精巣	: 小型化	-	12	11	12	7	8							
		+	0	1	0	1	2							
		++	0	0	0	3	1							
		+++	0	0	0	1	1							

KD: 観察期間終了時解剖

-: 変化なし、+: 軽度、++: 中等度、+++ : 重度

(6) 雄親鳥の生殖系器官重量及び総排泄腔隆起径 (表 6)

○ 25及び125ppm群の精巣重量は低値傾向にあったが、有意な変化ではなかった。

○ 総排泄腔隆起重量及び総排泄腔隆起径に変化は認められなかった。

表 6 雄親鳥の生殖系器官重量及び総排泄腔隆起径

群 (ppm)	精巣重量		総排泄腔隆起		長径 (mm)
	絶対重量 (g)	相対重量 ^a (g)	絶対重量 (g)	相対重量 ^a (g)	
0 (対照)	2.58 ± 0.55 (12)	2.26 ± 0.48 (12)	1.25 ± 0.58 (6)	1.05 ± 0.50 (6)	15.2 ± 2.3 (6)
1	2.65 ± 0.43 (12)	2.34 ± 0.42 (12)	1.62 ± 0.39 (6)	1.42 ± 0.38 (6)	17.0 ± 1.2 (6)
5	2.92 ± 0.54 (12)	2.39 ± 0.40 (12)	1.49 ± 0.17 (6)	1.21 ± 0.11 (6)	17.1 ± 1.3 (6)
25	2.15 ± 1.31 (12)	1.82 ± 1.07 (12)	1.24 ± 0.45 (6)	1.08 ± 0.38 (6)	16.2 ± 1.9 (6)
125	2.22 ± 0.99 (12)	2.00 ± 0.88 (12)	1.34 ± 0.52 (6)	1.20 ± 0.46 (6)	15.5 ± 1.5 (6)

平均=標準偏差 (羽数)、^a: 体重100gあたりの対体重比

(7) 雌親鳥の生殖系器官重量及び卵巣の最大卵胞径 (表 7)

○ 卵巣重量、卵管重量及び卵巣の最大卵胞径に変化は認められなかった。

表 7 雌親鳥の生殖系器官重量及び卵巣の最大卵胞径

群 (ppm)	卵巣重量(g)		卵管重量(g)		最大卵胞 長径(mm)
	絶対重量	相対重量 ^a	絶対重量	相対重量 ^a	
0 (対照)	4.30 ± 0.35 (6)	2.96 ± 0.20 (6)	16.8 ± 1.0 (6)	11.6 ± 0.6 (6)	16.7 ± 1.7 (12)
1	4.88 ± 1.12 (6)	3.43 ± 0.83 (6)	13.5 ± 3.7 (6)	9.5 ± 2.7 (6)	17.1 ± 2.0 (12)
5	4.20 ± 0.88 (6)	2.85 ± 0.47 (6)	16.0 ± 3.1 (6)	10.9 ± 1.5 (6)	16.3 ± 4.3 (12)
25	4.10 ± 0.89 (6)	2.87 ± 0.58 (6)	16.0 ± 2.0 (6)	11.3 ± 1.3 (6)	16.6 ± 3.1 (12)
125	3.89 ± 1.01 (6)	2.57 ± 0.57 (6)	15.6 ± 3.0 (6)	10.4 ± 2.2 (6)	17.0 ± 1.6 (12)

平均=標準偏差 (羽数)、^a: 体重100gあたりの対体重比

(8) 主要器官の重量 (表 8)

○ 被験物質の投与に起因する変化は認められなかった。

表 8 親鳥の器官重量

性別	群 (ppm)	羽数	体重 (g)	脳 (g)	心臓 (g)	肝臓 (g)	腎臓 (g)	脾臓 (mg)		
雄	絶対重量	0 (対照)	6	119 ± 6	0.74 ± 0.07	1.22 ± 0.06	1.76 ± 0.29	0.66 ± 0.15	47.3 ± 22.2	
		1	6	115 ± 5	0.67 ± 0.06	1.14 ± 0.12	2.08 ± 0.27	0.74 ± 0.08	51.8 ± 21.6	
		5	6	123 ± 8	0.71 ± 0.09	1.20 ± 0.08	1.77 ± 0.22	0.81 ± 0.10	60.9 ± 16.8	
		25	6	114 ± 3	0.73 ± 0.03	1.09 ± 0.12	2.17 ± 0.26	0.77 ± 0.10	51.1 ± 10.5	
		125	6	112 ± 7	0.72 ± 0.08	1.22 ± 0.12	2.10 ± 0.46	0.83 ± 0.15	48.6 ± 14.0	
	相対重量 ^{a)}	0 (対照)	6	119 ± 6	0.62 ± 0.05	1.02 ± 0.06	1.48 ± 0.25	0.55 ± 0.12	40.0 ± 19.7	
		1	6	115 ± 5	0.59 ± 0.04	1.00 ± 0.11	1.81 ± 0.22	0.64 ± 0.05	45.1 ± 18.0	
		5	6	123 ± 8	0.58 ± 0.09	0.98 ± 0.05	1.45 ± 0.20	0.66 ± 0.09	49.6 ± 12.4	
		25	6	114 ± 3	0.64 ± 0.02	0.96 ± 0.11	1.90 ± 0.24	0.67 ± 0.09	44.9 ± 9.6	
		125	6	112 ± 7	0.65 ± 0.07	1.09 ± 0.12	1.87 ± 0.44	0.74 ± 0.14	43.8 ± 14.0	
	雌	絶対重量	0 (対照)	6	145 ± 8	0.73 ± 0.07	1.33 ± 0.13	3.90 ± 0.59	1.27 ± 0.07	55.9 ± 13.0
			1	6	143 ± 16	0.73 ± 0.03	1.37 ± 0.15	4.54 ± 0.51	1.37 ± 0.17	60.9 ± 15.9
		5	6	146 ± 10	0.74 ± 0.06	1.27 ± 0.18	4.82 ± 0.77	1.33 ± 0.13	70.6 ± 25.3	
		25	6	142 ± 7	0.74 ± 0.05	1.20 ± 0.06	4.58 ± 1.13	1.19 ± 0.10	63.0 ± 28.9	
		125	6	151 ± 13	0.73 ± 0.03	1.32 ± 0.15	4.33 ± 0.98	1.21 ± 0.10	77.5 ± 14.9	
相対重量 ^{a)}		0 (対照)	6	145 ± 8	0.50 ± 0.03	0.92 ± 0.10	2.69 ± 0.38	0.87 ± 0.05	38.6 ± 9.4	
		1	6	143 ± 16	0.52 ± 0.05	0.94 ± 0.14	3.19 ± 0.34	0.97 ± 0.15	43.4 ± 12.9	
		5	6	146 ± 10	0.51 ± 0.05	0.87 ± 0.10	3.28 ± 0.35	0.91 ± 0.03	48.0 ± 15.9	
		25	6	142 ± 7	0.52 ± 0.03	0.84 ± 0.05	3.24 ± 0.88	0.84 ± 0.08	44.9 ± 22.0	
		125	6	151 ± 13	0.49 ± 0.05	0.88 ± 0.11	2.84 ± 0.42	0.81 ± 0.10	51.4 ± 8.7	

^{a)}: 体重 100g あたりの対体重比
 平均値±標準偏差

2) 繁殖能に及ぼす影響

(1) 産卵に及ぼす影響

① 産卵数、産卵率及び卵重 (図 2、表 9)

○ 産卵数、産卵率及び卵重に変化は認められなかった。

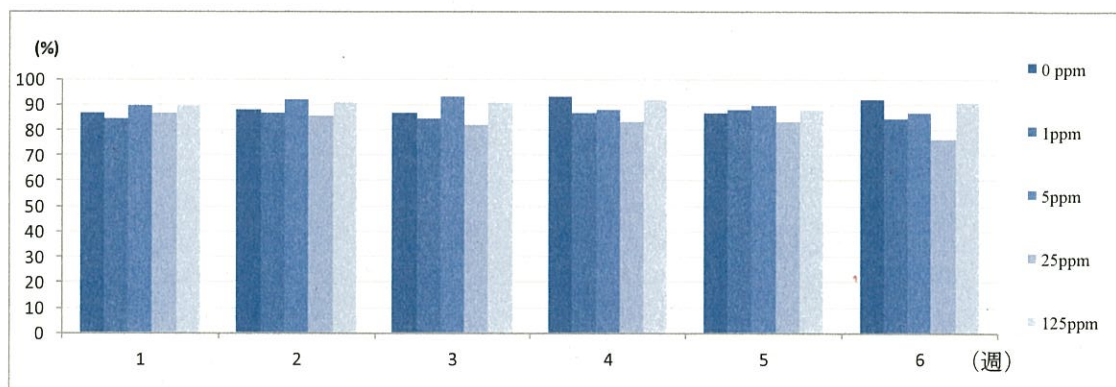


図 2 産卵率

表 9 産卵数、産卵率及び卵重

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	産卵数 (個/週/羽)	6.1±0.9 (12)	6.2±1.4 (12)	6.1±0.8 (12)	6.5±0.5 (12)	6.1±0.9 (12)	6.4±0.7 (12)
	産卵率 (%)	86.9±12.9 (12)	88.1±20.0 (12)	86.9±11.3 (12)	92.9±7.5 (12)	86.9±12.9 (12)	91.7±9.6 (12)
	卵重 (g/個)	10.3±0.5	10.6±0.6	10.6±0.7	10.7±0.5	10.7±0.5	10.7±0.5
1	産卵数 (個/週/羽)	5.9±0.9 (12)	6.1±1.0 (12)	5.9±1.2 (12)	6.1±1.1 (12)	6.2±0.7 (12)	5.9±1.0 (12)
	産卵率 (%)	84.5±12.9 (12)	86.9±14.2 (12)	84.5±16.6 (12)	86.9±15.5 (12)	88.1±10.3 (12)	84.5±14.2 (12)
	卵重 (g/個)	10.2±0.5	10.4±0.6	10.5±0.7	10.4±0.7	10.6±0.7	10.6±0.7
5	産卵数 (個/週/羽)	6.3±0.9 (12)	6.4±0.7 (12)	6.5±0.9 (12)	6.2±0.7 (12)	6.3±1.0 (12)	6.1±1.4 (12)
	産卵率 (%)	89.3±12.4 (12)	91.7±9.6 (12)	92.9±12.9 (12)	88.1±10.3 (12)	89.3±13.8 (12)	86.9±20.6 (12)
	卵重 (g/個)	10.4±0.9	10.6±0.8	10.6±0.7	10.6±0.7	10.7±0.8	10.7±0.7
25	産卵数 (個/週/羽)	6.1±0.5 (12)	6.0±1.0 (12)	5.8±1.9 (12)	5.8±1.9 (12)	5.8±2.0 (12)	5.3±1.7 (12)
	産卵率 (%)	86.9±7.4 (12)	85.7±13.6 (12)	82.1±27.3 (12)	83.3±27.1 (12)	83.3±28.5 (12)	76.2±23.8 (12)
	卵重 (g/個)	9.8±0.6	10.0±0.7	10.0±0.9	10.2±1.0	9.8±0.5	10.1±0.9
125	産卵数 (個/週/羽)	6.3±0.9 (12)	6.3±0.8 (12)	6.3±0.5 (12)	6.4±0.8 (12)	6.2±0.8 (12)	6.3±0.5 (12)
	産卵率 (%)	89.3±12.4 (12)	90.5±11.1 (12)	90.5±7.0 (12)	91.7±11.3 (12)	88.1±11.9 (12)	90.5±7.0 (12)
	卵重 (g/個)	10.2±0.8	10.3±0.8	10.3±0.7	10.3±0.9	10.2±0.8	10.1±0.9

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

(2) 卵殻質に及ぼす影響

① 卵殻の厚さ (図 3、表 10)

○ 卵殻の厚さに変化は認められなかった。

表 10 卵殻の厚さ

群 (ppm)	投与日数 (日)				投与4、18、32、 39日の累計
	4	18	32	39	
0 (対照)	0.21 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (12)	0.19 ± 0.01 (40)
1	0.20 ± 0.01 (11)	0.20 ± 0.02 (11)	0.19 ± 0.01 (9)	0.18 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.02 (40)
5	0.20 ± 0.02 (11)	0.20 ± 0.02 (12)	0.19 ± 0.02 (11)	0.18 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.02 (44)
25	0.20 ± 0.01 (12)	0.19 ± 0.01 (8)	0.18 ± 0.01 (10)	0.17 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.02 (39)
125	0.19 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (9)	0.18 ± 0.01 (8)	0.18 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (37)

平均±標準偏差 (羽数)

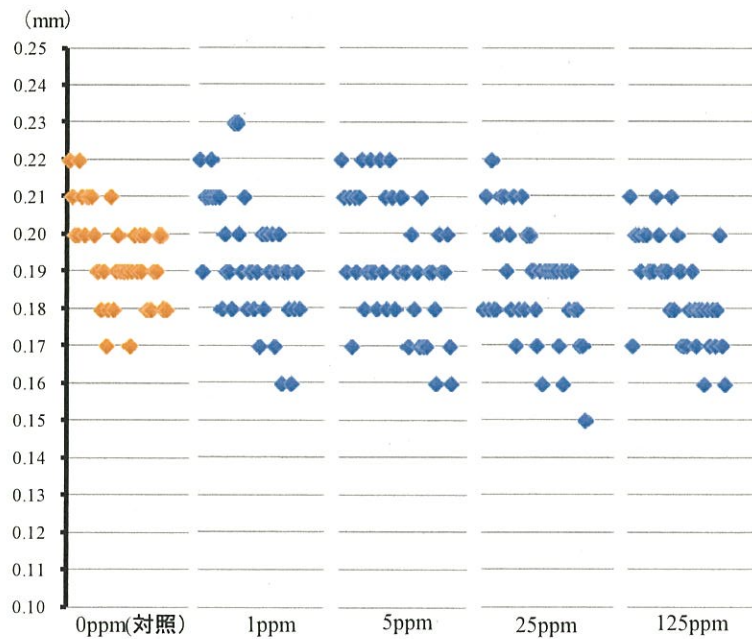


図 3 卵殻の厚さ 一分布図

② 卵殻にひびのある卵及び軟卵の発現率 (図 4、表 11)

○ 卵殻にひびのある卵及び軟卵の発現率に変化は認められなかった。

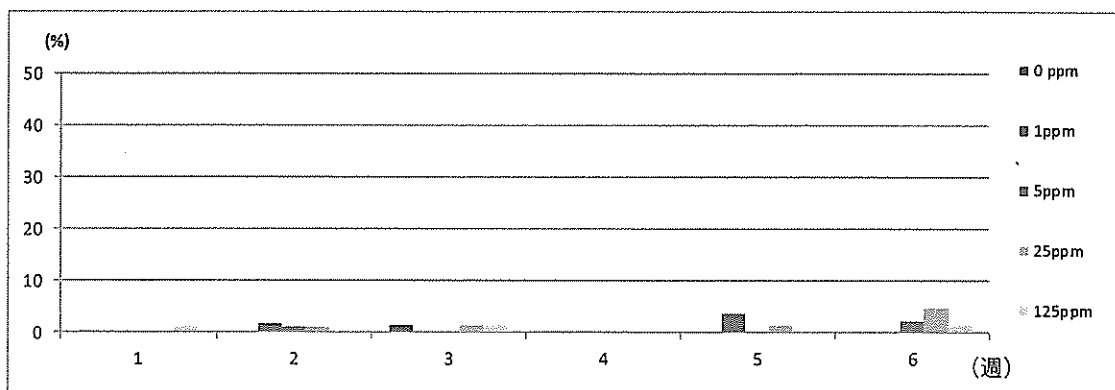


図 4 卵殻にひびのある卵の発現率

表 11 卵殻にひびのある卵の発現率及び軟卵の発現率並びに正常卵率

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)	98.6±4.8 (12)	98.6±4.8 (12)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)
1	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	1.7±5.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	3.6±8.9 (12)	0.0±0.0 (12)
	軟卵の発現率 (%)	1.7±5.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.7±5.8 (12)
	正常卵率 (%)	98.3±5.8 (12)	98.3±5.8 (12)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	96.4±8.9 (12)	98.3±5.8 (12)
5	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	2.1±7.2 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	97.9±7.2 (12)
25	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	1.5±5.0 (11)	4.9±11.5 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (11)	2.8±9.6 (12)
	正常卵率 (%)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	98.6±4.8 (12)	100.0±0.0 (12)	98.5±5.0 (11)	92.4±19.9 (12)
125	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	98.6±4.8 (12)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)	98.6±4.8 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

③ 正常卵率 (図 5、表 11)

○ 正常卵率に変化は認められなかった。

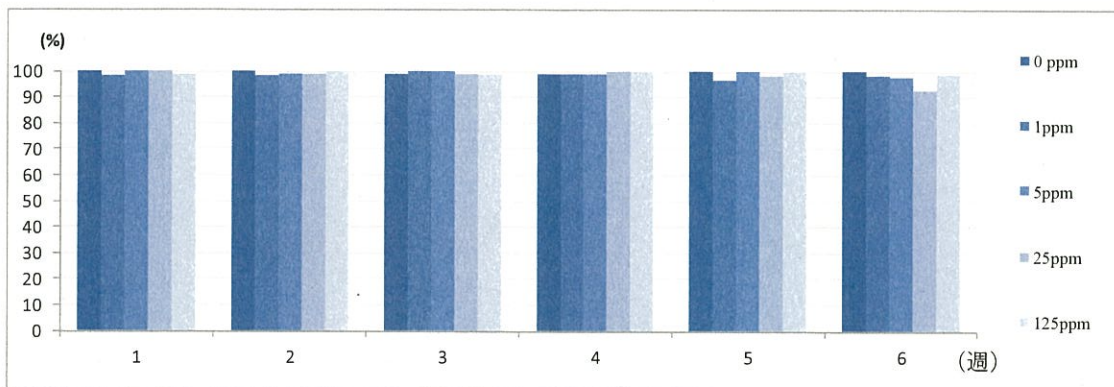
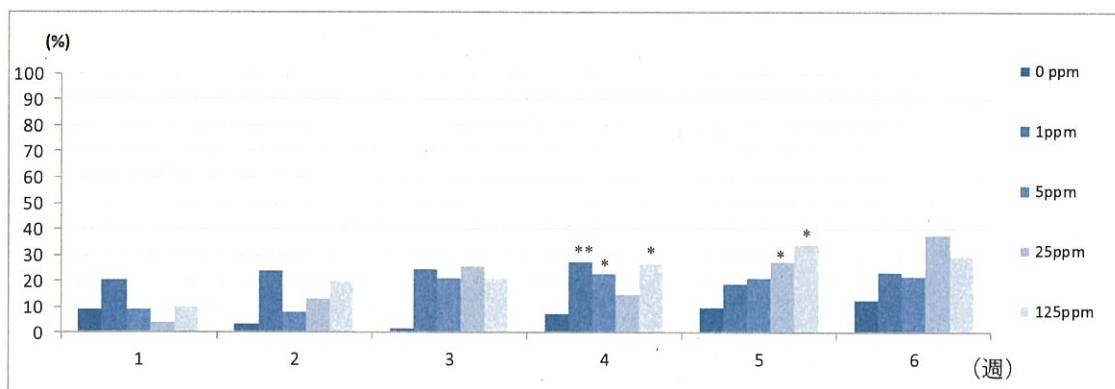


図 5 正常卵率

(3) 胚の発生及び孵化に及ぼす影響

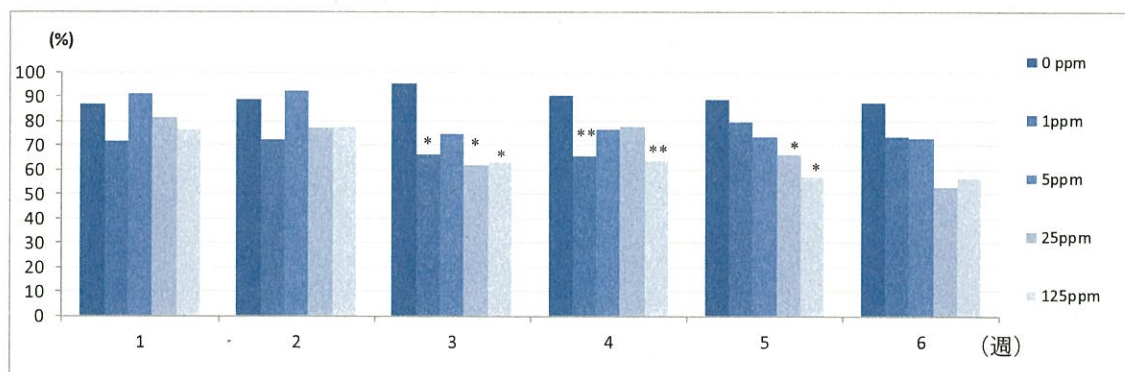
① 胚の発生に対する影響 (図 6~8、表 12)

- 被験物質投与各群の無精卵の発生率は全般的にやや高い傾向にあり、投与4週目の1、5及び125ppm群並びに5週目の25及び125ppm群に有意差が認められた。
- 胚の発生率の低下傾向が被験物質投与各群で認められ、投与3週目の1、25及び125ppm群、4週目の1及び125ppm群並びに5週目の25ppm以上の群で有意差が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

図 6 無精卵の発生率



有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

図 7 胚の発生率

表 12 無精卵の発生率、胚の発生率及び孵化率並びに孵化期間

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	無精卵の発生率 (%)	8.8±18.4 (12)	3.6±6.5 (12)	1.4±4.8 (12)	7.1±24.7 (12)	9.7±28.8 (12)	12.6±19.9 (12)
	胚の発生率 (%)	86.5±19.8 (12)	88.5±17.7 (12)	95.1±9.0 (12)	90.3±24.7 (12)	88.6±28.8 (12)	87.4±19.9 (12)
	孵化率 (%)	85.1±19.4 (12)	88.5±17.7 (12)	93.8±11.8 (12)	87.7±25.0 (12)	83.9±29.3 (12)	80.4±25.6 (12)
	孵化日数 (日)	17.9±0.3 (12)	17.9±0.1 (12)	17.8±0.2 (12)	18.0±0.2 (12)	17.9±0.1 (11)	17.9±0.2 (12)
1	無精卵の発生率 (%)	20.4±28.1 (12)	23.8±23.9 (12)	24.4±31.5 (12)	27.5±29.6 (12) **	18.8±30.2 (12)	23.2±29.2 (12)
	胚の発生率 (%)	71.7±30.0 (12)	72.2±24.5 (12)	66.0±36.6 (12) *	65.3±26.2 (12) **	79.6±29.6 (12)	73.7±32.4 (12)
	孵化率 (%)	56.4±29.6 (12) *	66.0±26.2 (12)	58.8±32.2 (12) **	57.7±26.6 (12) *	73.2±28.7 (12)	58.3±26.8 (12)
	孵化日数 (日)	18.2±0.2 (10)	18.1±0.1 (11) **	17.8±0.3 (10)	18.1±0.3 (11)	18.1±0.2 (11)	18.1±0.3 (12)
5	無精卵の発生率 (%)	9.2±14.7 (12)	7.7±10.8 (12)	21.1±21.4 (12)	22.4±28.7 (12) *	21.0±27.7 (12)	21.3±31.9 (12)
	胚の発生率 (%)	90.8±14.7 (12)	92.3±10.8 (12)	74.4±20.5 (12)	76.2±30.5 (12)	73.6±28.4 (12)	72.8±29.5 (12)
	孵化率 (%)	73.1±16.2 (12)	75.9±15.6 (12)	66.7±20.7 (12) *	69.4±28.5 (12)	61.8±26.9 (12)	63.0±25.5 (12)
	孵化日数 (日)	18.0±0.2 (12)	17.9±0.4 (12)	18.0±0.2 (12)	18.0±0.1 (11)	18.1±0.3 (11)	18.1±0.3 (11)
25	無精卵の発生率 (%)	3.8±8.8 (12)	12.9±25.3 (12)	25.6±38.8 (12)	14.7±28.6 (12)	27.4±27.2 (11) *	37.4±39.8 (12)
	胚の発生率 (%)	81.1±21.1 (12)	77.2±25.0 (12)	61.9±34.9 (12) *	77.6±28.2 (12)	66.2±26.6 (11) *	52.9±45.6 (12)
	孵化率 (%)	66.3±25.1 (12)	59.0±27.1 (12)	49.6±34.3 (12) **	48.0±31.4 (12) **	54.6±25.2 (11) *	46.4±40.8 (12)
	孵化日数 (日)	18.0±0.0 (12)	18.0±0.1 (12)	18.1±0.3 (10)	18.1±0.3 (10)	18.1±0.1 (10)	18.0±0.2 (8)
125	無精卵の発生率 (%)	10.0±28.9 (12)	19.6±30.4 (12)	20.7±27.4 (12)	26.8±31.0 (12) *	34.2±34.7 (12) *	29.7±35.7 (12)
	胚の発生率 (%)	76.5±30.6 (12)	77.6±34.7 (12)	62.9±36.6 (12) *	63.7±33.5 (12) **	56.9±37.6 (12) *	56.4±41.6 (12)
	孵化率 (%)	55.7±31.7 (12) *	66.4±37.4 (12)	53.8±32.3 (12) **	48.5±31.5 (12) **	47.2±34.1 (12) **	44.7±40.0 (12)
	孵化日数 (日)	18.2±0.4 (10)	18.1±0.2 (11) *	18.1±0.2 (10) *	18.2±0.4 (10)	18.0±0.2 (9)	18.0±0.1 (8)

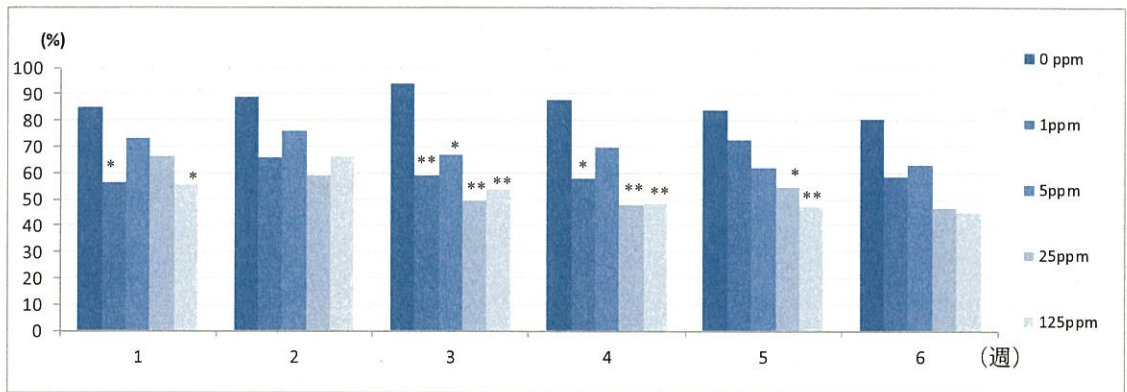
平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

無精卵の発生率、胚の発生率、孵化率: 有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

孵化日数: 有意差 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

② 孵化率 (図8、9、表 12)

- 被験物質投与各群の孵化率が全般的にやや低い傾向にあり、投与1週の1及び125ppm群、3週の1ppm以上の群、4週の1、25及び125ppm群並びに5週の25ppm以上の群で有意差が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)

図 8 孵化率

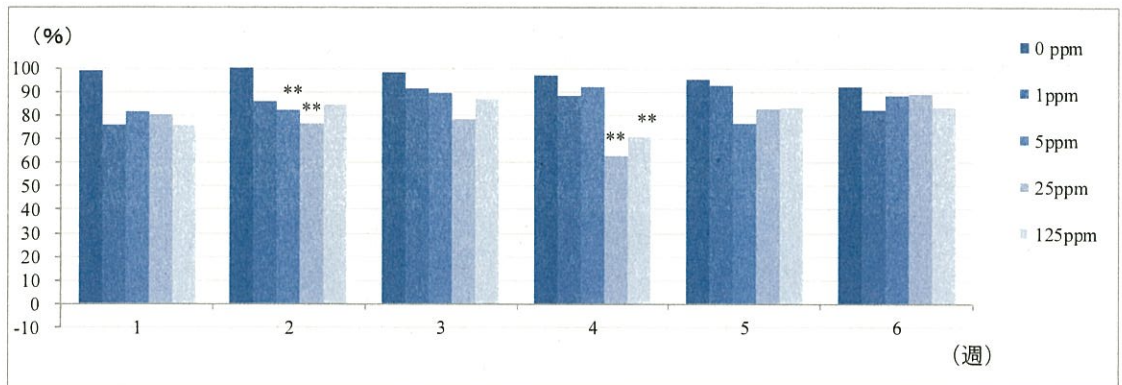


図 9 発生した胚に対する孵化率

③ 孵化日数 (表 12)

○ 孵化日数に変化は認められなかった。

(4) 若鳥に対する影響

① 若鳥の体重、摂餌量及び性比 (表 13)

○ 若鳥の体重、摂餌量及び性比に変化は認められなかった。

表 13 若鳥の体重、摂餌量及び性比

群 (ppm)	項目	投 与 期 間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	41.4±2.9 (12)	41.9±3.5 (12)	41.5±3.8 (12)	40.6±2.7 (12)	42.2±2.0 (11)	42.4±3.2 (12)
	飼料摂取量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.5	2.8	2.4	2.3	2.7	2.6
	孵化後2週	7.3	7.2	6.7	6.8	7.4	8.0
	性比 (雄/雌)	1.08(27/25)	0.71(27/38)	1.07(30/28)	1.09(35/32)	1.39(32/23)	0.83(24/29)
1	孵化数	34	48	36	40	46	36
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	43.0±3.0 (9)	44.9±2.8 (11)	43.7±3.7 (10)	41.7±3.6 (11)	42.4±3.9 (11)	43.9±3.2 (12)
	飼料摂取量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.7	2.7	2.3	2.1	2.5	2.6
	孵化後2週	7.3	7.7	7.4	7.7	7.5	8.3
	性比 (雄/雌)	1.29(18/14)	1.05(22/21)	1.69(22/13)	0.67(16/24)	0.64(18/28)	0.94(17/18)
5	孵化数	47	57	43	51	40	40
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	42.2±3.1 (12)	43.3±3.0 (12)	43.0±4.0 (12)	41.3±3.7 (11)	42.4±3.7 (11)	41.7±3.5 (11)
	飼料摂取量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.4	2.9	2.7	2.1	2.4	2.3
	孵化後2週	6.3	7.3	7.4	6.2	7.9	7.8
	性比 (雄/雌)	0.81(21/26)	0.83(25/30)	1.39(25/18)	1.00(24/24)	1.22(22/18)	1.44(23/16)
25	孵化数	41	42	33	37	33	30
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	40.9±3.3 (12)	41.5±3.5 (12)	41.8±3.9 (10)	38.7±3.8 (10)	41.9±4.3 (9)	39.4±3.0 (7)
	飼料摂取量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.5	2.7	2.6	2.1	2.5	2.6
	孵化後2週	7.0	6.9	7.5	6.4	8.3	7.8
	性比 (雄/雌)	0.95(18/19)	0.30(9/30)	1.54(20/13)	0.89(17/19)	0.39(9/23)**	1.90(19/10)
125	孵化数	35	52	35	38	31	29
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	42.7±3.4 (9)	42.0±4.2 (10)	40.9±4.3 (9)	41.5±3.3 (9)	40.6±3.2 (9)	41.6±3.8 (8)
	飼料摂取量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.4	3.3	2.5	2.3	2.5	2.7
	孵化後2週	7.3	7.0	7.2	7.1	7.7	8.5
	性比 (雄/雌)	1.19(19/16)	0.92(23/25)	1.38(18/13)	1.31(21/16)	0.88(14/16)	0.65(11/17)

平均±標準偏差(ケージ数)

性比:有意差(**:p<0.01)

② 若鳥の一般状態、死亡及び外表所見 (表 14、15)

- 若鳥の一般状態、死亡及び外表所見において、親鳥への被験物質投与の影響は認められなかった。
- 投与5週の1、5及び25ppm群で、若鳥死亡数の有意な増加が認められた。

表 14 若鳥の一般状態及び死亡

(羽数)

群 (ppm)	症 状	投 与 期 間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	うずくまり	1	0	0	0	0	0
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	0
	横臥	0	0	0	0	0	0
	開脚	0	1	0	1	1	2
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	1	0	0	0	0	0
	食滞	0	0	0	0	0	0
	死亡	5	3	2	4	0	2
1	孵化数	34	48	36	40	46	36
	うずくまり	0	0	1	0	1	1
	元気消失	1	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	1
	横臥	0	1	1	0	0	0
	開脚	1	0	0	0	0	1
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	1	1	1	0	0	0
	食滞	0	0	0	0	0	0
	死亡	7	7	2	5	6*	2
5	孵化数	47	57	43	51	40	40
	うずくまり	0	1	1	0	0	0
	元気消失	0	1	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	0
	横臥	1	0	0	0	3	0
	開脚	2	0	0	3	1	1
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	0	0	0	0	0	0
	食滞	0	0	0	1	0	0
	死亡	5	6	4	8	7**	5
25	孵化数	41	42	33	37	33	30
	うずくまり	1	0	1	0	1	0
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	1	0
	横臥	0	0	0	0	0	0
	開脚	0	1	1	0	1	0
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	0	1	0	0	0	0
	食滞	0	0	0	0	0	0
	死亡	6	6	0	4	4*	1
125	孵化数	35	52	35	38	31	29
	うずくまり	0	2	1	1	0	0
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	0
	横臥	0	0	0	0	1	0
	開脚	0	0	0	0	1	0
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	0	0	0	0	0	0
	食滞	0	0	0	0	0	0
	死亡	6	6	5	6	2	2

有意差 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

表 15 若鳥の外表所見

		(羽)					
群 (ppm)	所見	投 与 期 間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	外表異常						
	臍ヘルニア	1	1	1	0	2	1
	内反足	0	0	0	1	0	1
	斜頸	0	0	0	0	0	0
	矮小	0	0	0	0	0	0
1	孵化数	34	48	36	40	46	36
	外表異常						
	臍ヘルニア	1	3	2	2	0	0
	内反足	1	2	1	1	0	0
	斜頸	0	0	0	0	0	0
	矮小	0	0	0	0	0	0
5	孵化数	47	57	43	51	40	40
	外表異常						
	臍ヘルニア	2	1	1	2	0	1
	内反足	0	1	1	0	3	0
	斜頸	0	0	0	0	0	0
	矮小	0	0	0	1	0	0
25	孵化数	41	42	33	37	33	30
	外表異常						
	臍ヘルニア	2	1	1	2	2	1
	内反足	1	0	0	2	1	0
	斜頸	0	0	0	0	0	0
	矮小	0	0	0	0	0	0
125	孵化数	35	52	35	38	31	29
	外表異常						
	臍ヘルニア	0	2	2	3	1	2
	内反足	0	1	1	0	0	0
	斜頸	0	1	0	0	0	0
	矮小	0	0	0	0	0	0

③ 若鳥の14日齢生存数及び若鳥の14日間生存率（育成率、図 10、表 16）

- 5週の1、5及び25ppm群で、若鳥の14日齢生存数の有意な減少が認められ、14日間生存率は低値を示した。

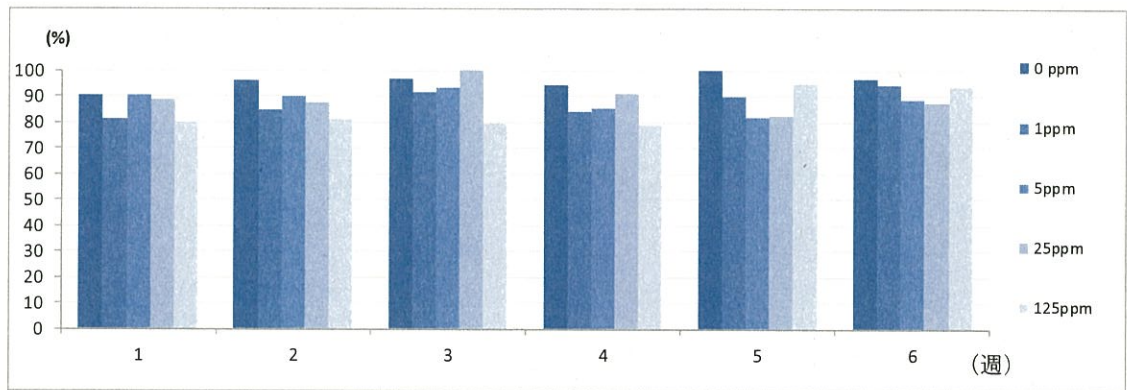


図 10 若鳥の14日間生存率（育成率）

表 16 孵化数、若鳥の14日齢生存数及び若鳥の14日間生存率（育成率）

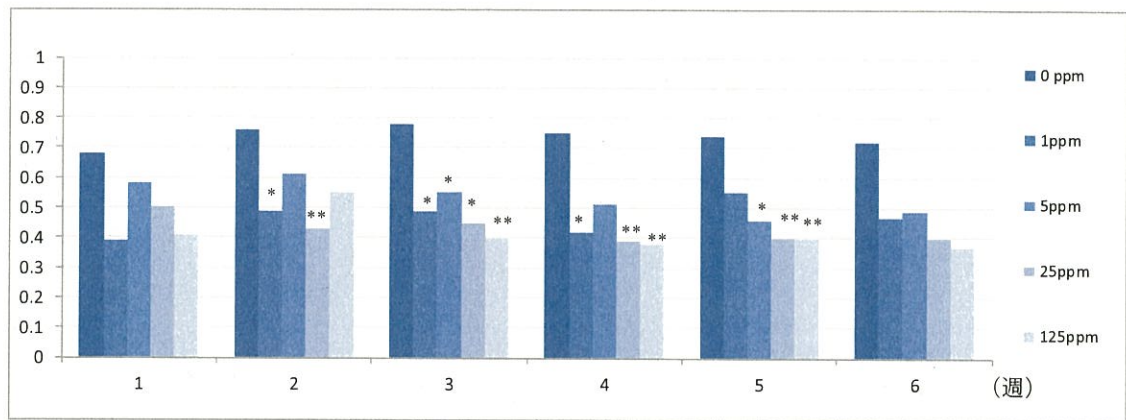
用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	若鳥の14日齢生存数	49	64	56	63	55	51
	若鳥の14日間生存率(%)	90.1±15.3 (12)	96.0±7.2 (12)	96.3±8.8 (12)	94.4±11.0 (12)	100.0±0.0 (11)	96.3±8.8 (12)
1	孵化数	34	48	36	40	46	36
	若鳥の14日齢生存数	27	41	34	35	40*	34
	若鳥の14日間生存率(%)	81.0±32.8 (10)	84.7±21.9 (11)	91.7±18.0 (10)	84.1±24.3 (11)	90.0±12.2 (11)	94.2±15.1 (12)
5	孵化数	47	57	43	51	40	40
	若鳥の14日齢生存数	42	51	39	43	33**	35
	若鳥の14日間生存率(%)	90.4±12.5 (12)	89.6±16.3 (12)	93.3±13.0 (12)	84.9±15.3 (11)	81.7±19.1 (11)	88.6±20.5 (11)
25	孵化数	41	42	33	37	33	30
	若鳥の14日齢生存数	35	36	33	33	29*	29
	若鳥の14日間生存率(%)	88.8±11.9 (12)	87.6±16.2 (12)	100.0±0.0 (10)	91.1±12.6 (10)	82.5±33.4 (10)	87.5±35.4 (8)
125	孵化数	35	52	35	38	31	29
	若鳥の14日齢生存数	29	46	30	32	29	27
	若鳥の14日間生存率(%)	80.0±33.1 (10)	81.2±29.4 (11)	79.2±31.2 (10)	78.8±31.2 (10)	95.0±10.0 (9)	93.8±11.6 (8)

平均値±標準偏差（親鳥のペア数）

有意差（*：p<0.05、**：p<0.01）

(5) 繁殖能指数（図 11、表 17）

- 被験物質投与各群の繁殖能指数は、対照群と比べると全般的に低い傾向にあり、投与2週の1及び25ppm群、投与3週の1ppm以上の群、投与4週の1、25及び125ppm群並びに投与5週の5ppm以上の群で有意な低値が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)

図 11 繁殖能指数

表 17 繁殖能指数

用量 (ppm)	投与期間(週)					
	1	2	3	4	5	6
0	0.68±0.26 (12)	0.76±0.23 (12)	0.78±0.17 (12)	0.75±0.25 (12)	0.74±0.28 (12)	0.72±0.26 (12)
1	0.39±0.27 (12)	0.49±0.27 (12) *	0.49±0.32 (12) *	0.42±0.25 (12) *	0.55±0.21 (12)	0.47±0.28 (12)
5	0.58±0.16 (12)	0.61±0.19 (12)	0.55±0.13 (12) *	0.51±0.24 (12)	0.46±0.28 (12) *	0.49±0.29 (12)
25	0.50±0.17 (12)	0.43±0.23 (12) **	0.45±0.35 (12) *	0.39±0.28 (12) **	0.40±0.30 (12) **	0.40±0.39 (12)
125	0.41±0.33 (12)	0.55±0.38 (12)	0.40±0.29 (12) **	0.38±0.29 (12) **	0.40±0.29 (12) **	0.37±0.35 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

繁殖能指数 : (産卵率×正常卵率×孵化率×若鳥の14日間生存率) / 10^8

有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)

2. α -HBCD

1) 親鳥の健康に及ぼす影響

(1) 一般状態 (表 18) 及び死亡

○ 被験物質の投与に起因する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

表 18 親鳥の一般状態

		(羽)									
症 状	程 度 性 羽数	0(対照)		1		5		25		125	
		♂ 12	♀ 12	♂ 12	♀ 12	♂ 12	♀ 12	♂ 12	♀ 12	♂ 12	♀ 12
うずくまり	+	0	3	0	0	0	2	0	1	0	1
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
食滞	++	0	3	0	2	0	2	0	3	0	2
	+++	0	0	0	0	0	1	0	1	0	2
翼下垂	+	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1
元気消失	+	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

+ : 軽度、 ++ : 中等度、 +++ : 重度

(2) 体重 (表 19)

○ 125ppm群の雌の投与期間中体重増加量は、対照群と比べて有意に大きかった。

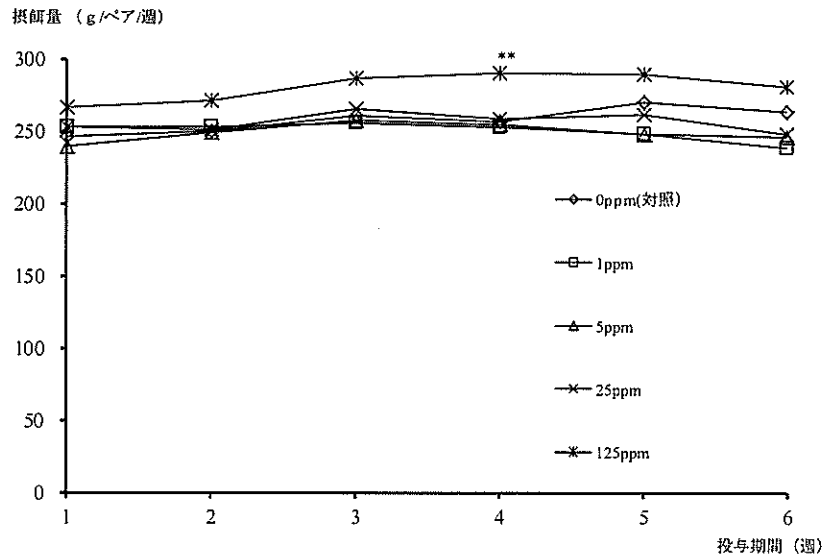
表 19 親鳥の体重

群 (ppm)	雄親鳥			雌親鳥		
	投与開始直前	投与終了時	投与期間中体重増加量	投与開始直前	投与終了時	投与期間中体重増加量
0 (対照)	111 ± 8 (12)	115 ± 9 (12)	4 ± 4 (12)	142 ± 8 (12)	143 ± 8 (12)	2 ± 5 (12)
1	110 ± 11 (12)	114 ± 12 (12)	4 ± 8 (12)	141 ± 11 (12)	143 ± 12 (12)	2 ± 6 (12)
5	113 ± 7 (12)	116 ± 8 (12)	3 ± 7 (12)	145 ± 8 (12)	147 ± 11 (12)	2 ± 7 (12)
25	113 ± 6 (12)	117 ± 7 (12)	4 ± 4 (12)	145 ± 11 (12)	146 ± 14 (12)	2 ± 6 (12)
125	111 ± 10 (12)	113 ± 11 (12)	3 ± 4 (12)	139 ± 9 (12)	151 ± 10 (12)	13 ± 9 ** (12)

平均±標準偏差 (羽数)
有意差(** p ≤ 0.01)

(3) 摂餌量 (図 12、表 20)

○ 125ppm群の摂餌量は投与1週から対照群を上回って推移し、投与4週の摂餌量に有意差が認められた。



有意差 (** : $p \leq 0.01$)

図 12 親鳥の摂餌量推移

表 20 親鳥の摂餌量

群 (ppm)	摂餌量 (g/ペア/週)					
	投与期間 (週)					
	1	2	3	4	5	6
0 (対照)	246 ± 26 (12)	250 ± 25 (12)	261 ± 20 (12)	257 ± 21 (12)	270 ± 23 (12)	264 ± 29 (12)
1	253 ± 15 (12)	253 ± 20 (12)	256 ± 23 (12)	253 ± 27 (12)	248 ± 38 (12)	239 ± 36 (12)
5	240 ± 32 (12)	249 ± 16 (12)	258 ± 23 (12)	255 ± 27 (12)	248 ± 17 (12)	246 ± 20 (12)
25	253 ± 14 (12)	251 ± 17 (12)	266 ± 23 (12)	259 ± 17 (12)	262 ± 28 (12)	248 ± 29 (12)
125	267 ± 31 (12)	271 ± 25 (12)	287 ± 36 (12)	291** ± 36 (12)	290 ± 39 (12)	281 ± 38 (12)

平均±標準偏差 (羽数)

有意差 (** : $p \leq 0.01$)

(4) 被験物質摂取量 (表 21)

体重あたりの平均HBCD摂取量は、125ppm群で20mg/kg/日、25ppm群で3.5mg/kg/日、5ppm群で0.68mg/kg/日及び1ppm群で0.14mg/kg/日であった。

表 21 被験物質摂取量

群 (ppm)	平均被験物質摂取量 (mg/kg/日)
1	0.14
5	0.68
25	3.5
125	20

(5) 剖検所見 (表 22)

○ 精巣の小型化が被験物質投与群で投与濃度とは無関係に発現したが、その発現率に有意差は認められなかった。

表 22 親鳥の剖検所見

			(羽)									
臓器	: 所見	性群 (ppm) 転帰 羽数	雄					雌				
			0(対照)	1	5	25	125	0(対照)	1	5	25	125
			KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD	KD
肝臓	: 黄色化	-	12	12	12	12	11	6	10	5	8	8
		+	0	0	0	0	1	6	2	5	3	1
		+++	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
脾臓	: 退色	-	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12
		++	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
精巣	: 小型化	-	12	7	8	8	10					
		+	0	1	0	2	1					
		+++	0	2	2	2	0					
卵巢	: 小型化	-						12	11	12	12	12
		+						0	1	0	0	0

KD: 観察期間終了時解剖

-: 変化なし、+: 軽度、++: 中等度、+++: 重度

(6) 雄親鳥の生殖系器官重量及び総排泄腔隆起径 (表 23)

○ 1、5及び25ppm群の精巣重量は低値傾向にあったが、有意な変化ではなかった。

表 23 雄親鳥の生殖系器官重量及び総排泄腔隆起径

群 (ppm)	精巣重量		総排泄腔隆起		長径 (mm)
	絶対重量 (g)	相対重量 ^a (g)	絶対重量 (g)	相対重量 ^a (g)	
0 (対照)	2.58 ± 0.55 (12)	2.26 ± 0.48 (12)	1.25 ± 0.58 (6)	1.05 ± 0.50 (6)	15.2 ± 2.3 (6)
1	2.02 ± 1.19 (12)	1.77 ± 1.07 (12)	1.40 ± 0.51 (6)	1.17 ± 0.44 (6)	15.2 ± 2.2 (6)
5	1.96 ± 1.18 (12)	1.67 ± 0.98 (12)	1.83 ± 1.02 (6)	1.60 ± 0.89 (6)	15.1 ± 1.4 (6)
25	2.14 ± 1.05 (12)	1.85 ± 0.92 (12)	1.10 ± 0.71 (6)	0.95 ± 0.64 (6)	12.1 ± 3.2 (6)
125	2.65 ± 0.91 (12)	2.34 ± 0.77 (12)	1.50 ± 0.52 (6)	1.36 ± 0.48 (6)	16.0 ± 2.5 (6)

平均±標準偏差 (羽数)、^a: 体重100gあたりの対体重比

(7) 雌親鳥の生殖系器官重量及び卵巣の最大卵胞径 (表 24)

○ 雌親鳥の生殖系器官重量及び卵巣の最大卵胞径に変化は認められなかった。

表 24 雌親鳥の生殖系器官重量及び卵巣の最大卵胞径

群 (ppm)	卵巣重量(g)		卵管重量(g)		最大卵胞 長径(mm)
	絶対重量	相対重量 ^a	絶対重量	相対重量 ^a	
0 (対照)	4.30 ± 0.35 (6)	2.96 ± 0.20 (6)	16.8 ± 1.0 (6)	11.6 ± 0.6 (6)	16.7 ± 1.7 (12)
1	2.86 ± 2.15 (6)	1.99 ± 1.43 (6)	10.0 ± 8.6 (6)	7.0 ± 5.9 (6)	14.7 ± 5.6 (12)
5	3.32 ± 0.77 (6)	2.19 ± 0.40 (6)	15.1 ± 2.8 (6)	10.0 ± 1.5 (6)	16.0 ± 1.7 (12)
25	3.27 ± 1.41 (6)	2.14 ± 0.94 (6)	10.9 ± 6.3 (6)	7.1 ± 4.2 (6)	14.8 ± 6.0 (12)
125	3.08 ± 2.02 (6)	2.07 ± 1.39 (6)	13.0 ± 6.8 (6)	8.7 ± 4.6 (6)	13.9 ± 4.5 (12)

平均±標準偏差 (羽数)、^a: 体重100gあたりの対体重比

(8) 主要器官の重量 (表 25)

○ 絶対重量及び相対重量に、有意な変化は認められなかった。

表 25 親鳥の器官重量

性別	群 (ppm)	羽数	体重 (g)	脳 (g)	心臓 (g)	肝臓 (g)	腎臓 (g)	脾臓 (mg)		
雄	絶対重量 (対照)	0	6	119 ± 6	0.74 ± 0.07	1.22 ± 0.06	1.76 ± 0.29	0.66 ± 0.15	47.3 ± 22.2	
		1	6	120 ± 11	0.73 ± 0.04	1.11 ± 0.13	2.10 ± 0.24	0.79 ± 0.17	57.9 ± 12.5	
		5	6	114 ± 9	0.75 ± 0.05	1.19 ± 0.10	1.72 ± 0.14	0.67 ± 0.14	44.6 ± 13.7	
		25	6	117 ± 4	0.76 ± 0.05	1.13 ± 0.04	2.47**	0.75 ± 0.11	57.4 ± 14.4	
		125	6	113 ± 11	0.72 ± 0.08	1.04*	1.93 ± 0.39	0.74 ± 0.10	41.5 ± 19.7	
	相対重量 ^{a)} (対照)	0	6	119 ± 6	0.62 ± 0.05	1.02 ± 0.06	1.48 ± 0.25	0.55 ± 0.12	40.0 ± 19.7	
		1	6	120 ± 11	0.61 ± 0.05	0.94 ± 0.18	1.75 ± 0.17	0.66 ± 0.10	48.9 ± 13.5	
		5	6	114 ± 9	0.65 ± 0.02	1.04 ± 0.08	1.51 ± 0.08	0.59 ± 0.11	39.0 ± 11.0	
		25	6	117 ± 4	0.65 ± 0.05	0.97 ± 0.04	2.11**	0.64 ± 0.09	48.9 ± 11.5	
		125	6	113 ± 11	0.64 ± 0.05	0.92 ± 0.13	1.70 ± 0.32	0.65 ± 0.09	35.8 ± 14.1	
	雌	絶対重量 (対照)	0	6	145 ± 8	0.73 ± 0.07	1.33 ± 0.13	3.90 ± 0.59	1.27 ± 0.07	55.9 ± 13.0
			1	6	140 ± 8	0.72 ± 0.03	1.42 ± 0.31	3.93 ± 1.17	1.20 ± 0.24	55.7 ± 20.4
		5	6	151 ± 9	0.73 ± 0.02	1.26 ± 0.13	3.98 ± 1.23	1.19 ± 0.14	51.4 ± 19.8	
		25	6	154 ± 10	0.77 ± 0.02	1.35 ± 0.20	4.28 ± 1.26	1.22 ± 0.17	61.3 ± 15.6	
		125	6	150 ± 9	0.74 ± 0.04	1.24 ± 0.13	4.64 ± 1.03	1.35 ± 0.12	71.9 ± 23.7	
相対重量 ^{a)} (対照)		0	6	145 ± 8	0.50 ± 0.03	0.92 ± 0.10	2.69 ± 0.38	0.87 ± 0.05	38.6 ± 9.4	
		1	6	140 ± 8	0.52 ± 0.04	1.01 ± 0.18	2.79 ± 0.72	0.86 ± 0.19	39.7 ± 12.8	
		5	6	151 ± 9	0.48 ± 0.03	0.84 ± 0.11	2.64 ± 0.75	0.79 ± 0.10	34.0 ± 12.5	
		25	6	154 ± 10	0.50 ± 0.02	0.88 ± 0.11	2.82 ± 0.93	0.80 ± 0.13	40.0 ± 10.2	
		125	6	150 ± 9	0.50 ± 0.04	0.83 ± 0.09	3.10 ± 0.72	0.90 ± 0.10	47.6 ± 13.5	

^{a)}: 体重 100g あたりの対体重比
 平均値±標準偏差
 有意差 (* : p≤0.05, ** : p≤0.01)

2) 繁殖能に及ぼす影響

(1) 産卵に及ぼす影響

① 産卵数、産卵率及び卵重 (図 13、表 26)

○ 産卵数、産卵率及び卵重に変化は認められなかった。

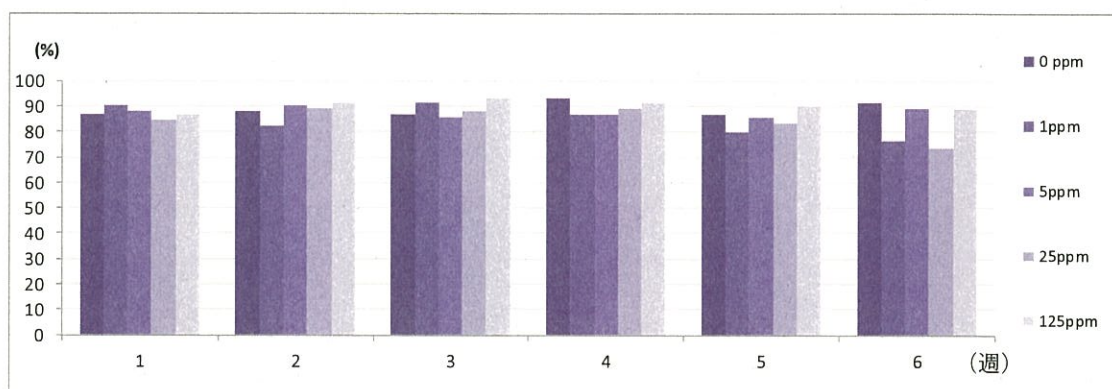


図 13 産卵率

表 26 産卵数、産卵率及び卵重

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	産卵数 (個/週/羽)	6.1±0.9 (12)	6.2±1.4 (12)	6.1±0.8 (12)	6.5±0.5 (12)	6.1±0.9 (12)	6.4±0.7 (12)
	産卵率 (%)	86.9±12.9 (12)	88.1±20.0 (12)	86.9±11.3 (12)	92.9±7.5 (12)	86.9±12.9 (12)	91.7±9.6 (12)
	卵重 (g/個)	10.3±0.5	10.6±0.6	10.6±0.7	10.7±0.5	10.7±0.5	10.7±0.5
1	産卵数 (個/週/羽)	6.3±1.1 (12)	5.8±1.1 (12)	6.4±1.0 (12)	6.1±1.1 (12)	5.6±2.0 (12)	5.3±2.5 (12)
	産卵率 (%)	90.5±15.3 (12)	82.1±15.1 (12)	91.7±14.2 (12)	86.9±15.5 (12)	79.8±28.2 (12)	76.2±35.7 (12)
	卵重 (g/個)	10.2±0.8	10.5±0.7	10.3±0.7	10.4±0.7	10.4±0.8	10.3±0.8
5	産卵数 (個/週/羽)	6.2±0.9 (12)	6.3±0.9 (12)	6.0±0.9 (12)	6.1±1.1 (12)	6.0±1.0 (12)	6.3±1.1 (12)
	産卵率 (%)	88.1±13.4 (12)	90.5±12.7 (12)	85.7±12.2 (12)	86.9±15.5 (12)	85.7±13.6 (12)	89.3±16.3 (12)
	卵重 (g/個)	10.3±0.8	10.3±0.8	10.3±0.8	10.5±1.0	10.3±0.9	10.3±0.8
25	産卵数 (個/週/羽)	5.9±0.8 (12)	6.3±1.0 (12)	6.2±0.9 (12)	6.3±0.8 (12)	5.8±1.2 (12)	5.2±2.4 (12)
	産卵率 (%)	84.5±11.3 (12)	89.3±13.8 (12)	88.1±13.4 (12)	89.3±10.8 (12)	83.3±17.1 (12)	73.8±33.8 (12)
	卵重 (g/個)	10.3±0.5	10.4±0.3	10.4±0.3	10.4±0.5	10.3±0.5	10.4±0.5
125	産卵数 (個/週/羽)	6.1±0.7 (12)	6.4±0.7 (12)	6.5±0.5 (12)	6.4±0.5 (12)	6.3±0.7 (12)	6.3±0.6 (12)
	産卵率 (%)	86.9±9.6 (12)	91.7±9.6 (12)	92.9±7.5 (12)	91.7±7.4 (12)	90.5±9.3 (12)	89.3±8.9 (12)
	卵重 (g/個)	9.9±0.4	10.4±0.7	10.3±0.6	10.6±0.6	10.5±0.5	10.6±0.6

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

(2) 卵殻質に及ぼす影響

① 卵殻の厚さ (図 14、表 27)

○ 卵殻の厚さに変化は認められなかった。

表 27 卵殻の厚さ

群 (ppm)	投与日数 (日)				投与4、18、32、 39日の累計
	4	18	32	39	
0 (対照)	0.21 ± 0.01 (10)	0.19 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (12)	0.19 ± 0.01 (40)
1	0.21 ± 0.01 (10)	0.20 ± 0.01 (11)	0.19 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (8)	0.20 ± 0.01 (38)
5	0.21 ± 0.02 (10)	0.19 ± 0.03 (9)	0.18 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.02 (10)	0.19 ± 0.02 (38)
25	0.21 ± 0.01 (12)	0.21 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (9)	0.20 ± 0.01 (9)	0.20 ± 0.01 (39)
125	0.20 ± 0.01 (8)	0.20 ± 0.01 (9)	0.19 ± 0.01 (11)	0.20 ± 0.01 (12)	0.20 ± 0.01 (40)

平均±標準偏差 (羽数)

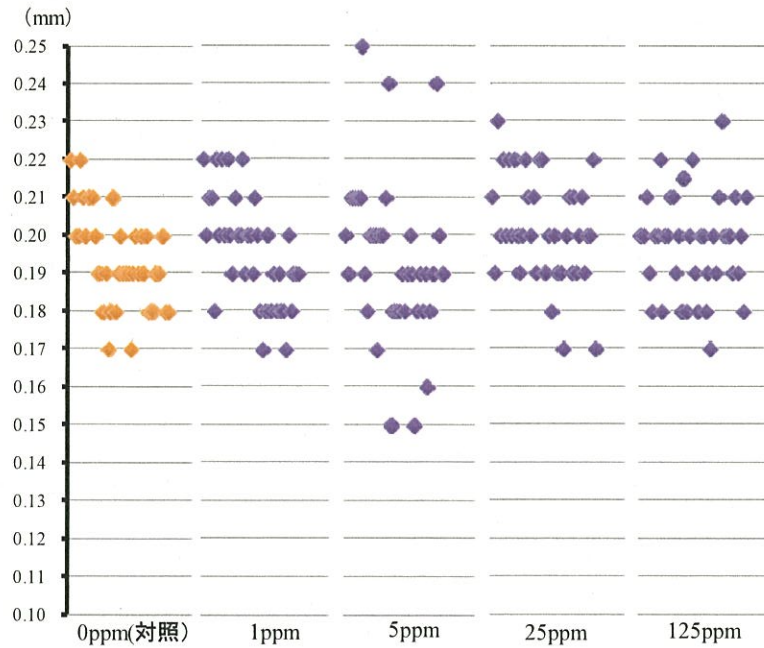


図 14 卵殻の厚さ 一分布図一

② 卵殻にひびのある卵及び軟卵の発現率 (図 15、表 28)

○ 卵殻にひびのある卵及び軟卵の発現率に変化は認められなかった。

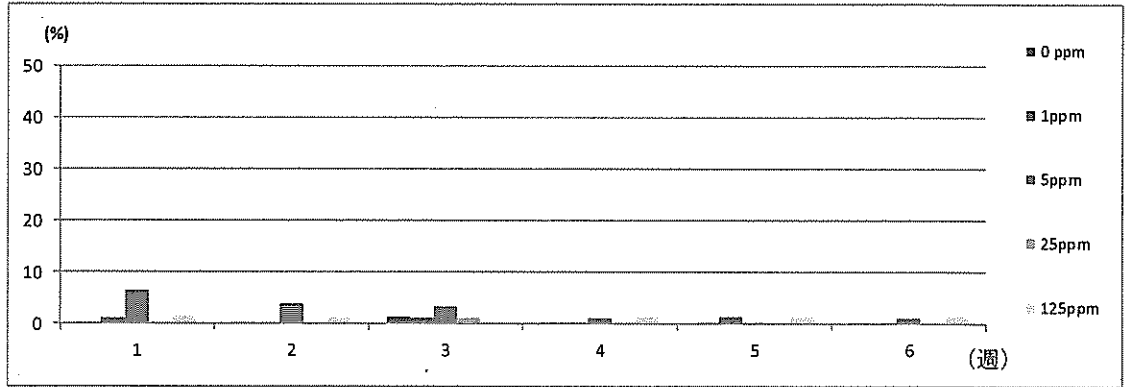


図 15 卵殻にひびのある卵の発現率

表 28 卵殻にひびのある卵の発現率及び軟卵の発現率並びに正常卵率

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)	98.6±4.8 (12)	98.6±4.8 (12)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)
1	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.3±4.3 (11)	0.0±0.0 (11)
	軟卵の発現率 (%)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (11)	0.0±0.0 (11)
	正常卵率 (%)	97.6±5.6 (12)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	98.7±4.3 (11)	100.0±0.0 (11)
5	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	6.4±13.3 (12)	4.0±10.1 (12)	3.3±7.8 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.0±3.6 (12)	0.0±0.0 (12)	2.1±7.2 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	93.6±13.3 (12)	96.0±10.1 (12)	95.6±8.1 (12)	98.8±4.1 (12)	97.9±7.2 (12)	98.8±4.1 (12)
25	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (11)
	軟卵の発現率 (%)	1.4±4.8 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (11)
	正常卵率 (%)	98.6±4.8 (12)	100.0±0.0 (12)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (12)	100.0±0.0 (11)
125	卵殻にひびのある卵の発現率 (%)	1.4±4.8 (12)	1.2±4.1 (12)	0.0±0.0 (12)	1.4±4.8 (12)	1.4±4.8 (12)	1.4±4.8 (12)
	軟卵の発現率 (%)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)	0.0±0.0 (12)
	正常卵率 (%)	98.6±4.8 (12)	98.8±4.1 (12)	100.0±0.0 (12)	98.6±4.8 (12)	98.6±4.8 (12)	98.6±4.8 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

③ 正常卵率 (図 16、表 28)

○ 正常卵率に変化は認められなかった。

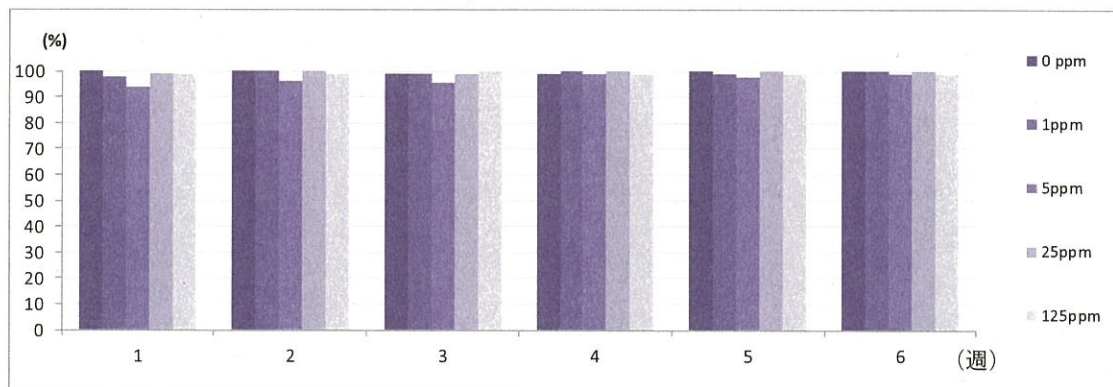
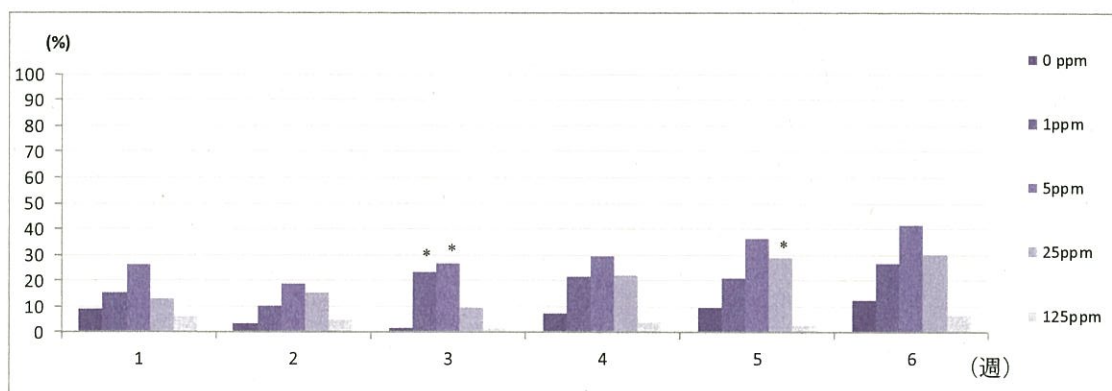


図 16 正常卵率

(3) 胚の発生及び孵化に及ぼす影響

① 胚の発生に対する影響 (図 17、18、表 29)

○ 1、5及び25ppm群の無精卵の発生率は全般的にやや高い傾向にあり、投与3週
の1及び5ppm群並びに投与5週の25ppm群に有意差が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$)

図 17 無精卵の発生率

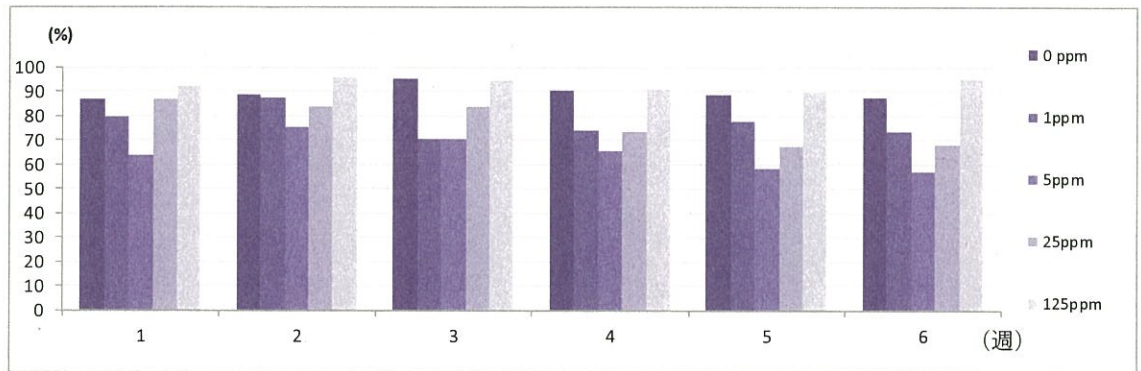


図 18 胚の発生率

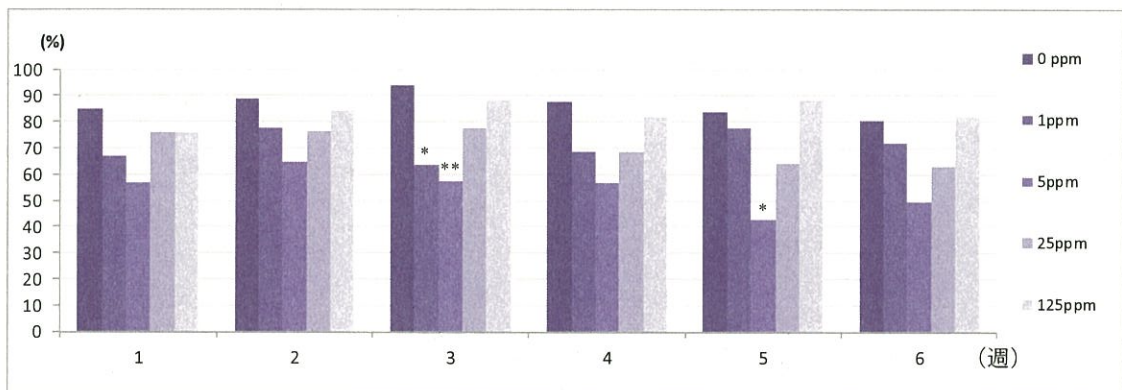
表 29 無精卵の発生率、胚の発生率及び孵化率並びに孵化期間

用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	無精卵の発生率 (%)	8.8±18.4 (12)	3.6±6.5 (12)	1.4±4.8 (12)	7.1±24.7 (12)	9.7±28.8 (12)	12.6±19.9 (12)
	胚の発生率 (%)	86.5±19.8 (12)	88.5±17.7 (12)	95.1±9.0 (12)	90.3±24.7 (12)	88.6±28.8 (12)	87.4±19.9 (12)
	孵化率 (%)	85.1±19.4 (12)	88.5±17.7 (12)	93.8±11.8 (12)	87.7±25.0 (12)	83.9±29.3 (12)	80.4±25.6 (12)
	孵化日数 (日)	17.9±0.3 (12)	17.9±0.1 (12)	17.8±0.2 (12)	18.0±0.2 (12)	17.9±0.1 (11)	17.9±0.2 (12)
1	無精卵の発生率 (%)	15.2±20.8 (12)	10.3±14.4 (12)	23.2±29.9 (12) *	21.8±30.5 (12)	21.1±31.8 (11)	26.4±37.0 (11)
	胚の発生率 (%)	79.1±18.8 (12)	87.0±17.0 (12)	70.6±34.6 (12)	74.0±29.0 (12)	77.4±31.1 (11)	73.6±37.0 (11)
	孵化率 (%)	66.8±23.8 (12)	77.4±18.1 (12)	63.6±34.4 (12) *	68.8±26.3 (12)	77.4±31.1 (11)	72.1±36.9 (11)
	孵化日数 (日)	18.0±0.1 (12)	18.0±0.1 (12) *	18.1±0.3 (11)	18.1±0.2 (11)	18.0±0.1 (10)	18.0±0.1 (10)
5	無精卵の発生率 (%)	26.1±38.3 (12)	18.7±32.8 (12)	26.4±38.5 (12) *	29.7±39.8 (12)	36.1±40.7 (12)	41.7±44.5 (12)
	胚の発生率 (%)	63.9±41.6 (12)	75.4±33.8 (12)	70.3±37.8 (12)	65.5±38.8 (12)	58.1±39.7 (12)	57.0±43.9 (12)
	孵化率 (%)	56.7±39.3 (12)	64.4±34.0 (12)	57.2±29.9 (12) **	56.6±37.9 (12)	49.2±34.3 (12) *	49.3±39.5 (12)
	孵化日数 (日)	17.9±0.3 (9)	18.1±0.5 (11) *	18.1±0.4 (10) *	18.1±0.3 (10)	18.1±0.4 (10)	18.0±0.2 (8)
25	無精卵の発生率 (%)	13.1±29.9 (12)	15.0±28.0 (12)	9.7±28.8 (12)	22.0±28.1 (12)	29.0±30.2 (12) *	30.0±42.3 (11)
	胚の発生率 (%)	86.9±29.9 (12)	83.8±28.2 (12)	83.7±28.1 (12)	73.6±30.6 (12)	67.2±33.1 (12)	67.7±41.2 (11)
	孵化率 (%)	75.7±30.0 (12)	76.2±29.8 (12)	77.6±29.2 (12)	68.4±31.0 (12)	63.9±36.8 (12)	62.9±42.4 (11)
	孵化日数 (日)	18.1±0.3 (11)	18.0±0.1 (11) *	18.0±0.1 (11)	18.0±0.2 (11)	18.1±0.1 (10)	18.2±0.5 (8)
125	無精卵の発生率 (%)	6.1±9.1 (12)	5.2±7.7 (12)	1.4±4.8 (12)	3.8±6.9 (12)	2.8±9.6 (12)	6.8±13.3 (12)
	胚の発生率 (%)	92.5±9.3 (12)	92.1±10.9 (12)	95.8±10.4 (12)	94.8±10.4 (12)	91.1±16.2 (12)	89.9±13.7 (12)
	孵化率 (%)	75.6±27.8 (12)	84.5±13.3 (12)	88.3±14.1 (12)	82.1±18.4 (12)	88.1±18.8 (12)	81.9±12.8 (12)
	孵化日数 (日)	18.1±0.2 (11)	18.1±0.2 (12)	18.0±0.1 (12)	18.0±0.2 (12)	18.0±0.2 (12)	18.0±0.1 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)
 無精卵の発生率、孵化率: 有意差 (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$)
 孵化日数: 有意差 (**: $p < 0.01$)

② 孵化率 (図 19、20、表 29)

○ 1、5及び25ppm群の孵化率はやや低い傾向にあり、投与3週の1及び5ppm群並びに投与5週の5ppm群で有意差が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$, ** : $p \leq 0.01$)

図 19 孵化率

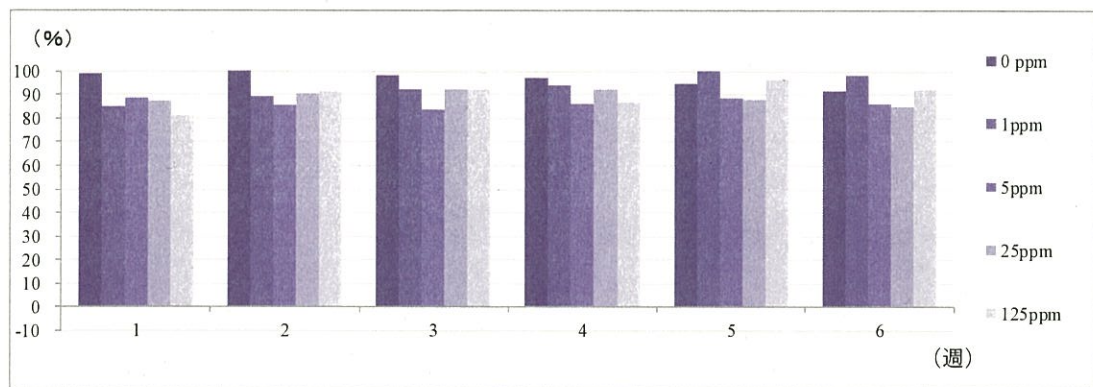


図 20 発生した胚に対する孵化率

③ 孵化日数 (表 29)

- 投与2週の1、5及び25ppm群並びに投与3週の5ppm群で、孵化日数に有意な差が認められた。

(4) 若鳥に対する影響

① 若鳥の体重、摂餌量及び性比 (表 30)

○ 若鳥の体重、摂餌量及び性比に変化は認められなかった。

表 30 若鳥の体重、摂餌量及び性比

群 (ppm)	項目	投 与 期 間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	41.4±2.9 (12)	41.9±3.5 (12)	41.5±3.8 (12)	40.6±2.7 (12)	42.2±2.0 (11)	42.4±3.2 (12)
	飼料摂餌量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.5	2.8	2.4	2.3	2.7	2.6
	孵化後2週	7.3	7.2	6.7	6.8	7.4	8.0
	性比 (雄/雌)	1.08(27/25)	0.71(27/38)	1.07(30/28)	1.09(35/32)	1.39(32/23)	0.83(24/29)
1	孵化数	44	54	42	51	43	38
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	43.0±3.7 (12)	41.8±2.9 (12)	41.4±3.7 (11)	44.0±2.7 (11)	41.1±1.8 (10)	41.9±2.3 (10)
	飼料摂餌量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.6	2.8	2.8	2.3	2.6	2.7
	孵化後2週	7.6	7.2	7.7	7.0	7.6	7.8
	性比 (雄/雌)	0.62(16/26)	1.17(28/24)	0.82(18/22)	0.89(24/27)	1.87(28/15)	1.71(24/14)
5	孵化数	32	46	35	41	29	27
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	42.5±3.1 (8)	42.7±2.2 (11)	41.2±3.2 (10)	41.1±3.5 (10)	38.7±4.9 (9)	40.5±3.4 (8)
	飼料摂餌量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.6	3.0	2.9	2.2	2.4	2.7
	孵化後2週	7.5	7.5	7.9	7.0	8.1	8.0
	性比 (雄/雌)	0.48(10/21)	0.79(19/24)	0.70(14/20)	0.74(17/23)	0.73(11/15)	0.59(10/17)
25	孵化数	44	55	49	51	41	32
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	45.0±3.2 (11)	42.1±1.8 (11)	40.6±3.1 (11)	42.2±2.2 (11)	41.8±2.7 (10)	42.1±2.4 (8)
	飼料摂餌量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	2.8	2.9	2.9	2.3	2.5	2.9
	孵化後2週	7.7	7.4	7.5	6.9	7.4	8.4
	性比 (雄/雌)	1.00(21/21)	0.96(26/27)	1.67(30/18)	1.22(28/23)	1.05(21/20)	0.45(10/22)
125	孵化数	48	64	60	62	55	51
	平均体重 (g)						
	孵化後14日目	40.7±4.5 (11)	41.2±3.0 (12)	38.1±3.5 (12)	40.8±3.2 (12)	39.8±2.9 (12)	40.7±3.9 (12)
	飼料摂餌量 (g/ケージ/週)						
	孵化後1週	3.1	2.8	2.6	2.2	2.4	2.6
	孵化後2週	7.1	7.2	7.0	6.9	7.3	7.7
	性比 (雄/雌)	0.77(20/26)	1.18(33/28)	1.23(32/26)	1.30(35/27)	0.74(23/31)	1.50(30/20)

平均±標準偏差(ケージ数)

② 若鳥の一般状態、死亡及び外表所見 (表 31、32)

- 若鳥の一般状態、死亡及び外表所見において、親鳥への被験物質投与の影響は認められなかった。
- 投与5週の5ppm群で、若鳥死亡数の有意な増加が認められた。

表 31 若鳥の一般状態及び死亡

		(羽数)					
群 (ppm)	症 状	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	うずくまり	1	0	0	0	0	0
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	0
	横臥	0	0	0	0	0	0
	開脚	0	1	0	1	1	2
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	1	0	0	0	0	0
	食帯	0	0	0	0	0	0
	死亡	5	3	2	4	0	2
	1	孵化数	44	54	42	51	43
うずくまり		0	0	0	1	0	0
元気消失		0	0	0	0	0	0
翼下垂		0	0	0	0	0	0
横臥		0	0	0	0	0	0
開脚		0	0	0	0	2	0
歩様異常		0	0	0	0	0	0
起立不能		0	0	0	0	0	0
食帯		0	0	0	0	0	0
死亡		3	5	2	4	1	2
5		孵化数	32	46	35	41	29
	うずくまり	0	2	0	0	0	1
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	0
	横臥	0	0	0	1	1	1
	開脚	0	0	0	2	0	0
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	0	0	0	0	0	0
	食帯	0	0	0	0	0	0
	死亡	1	3	2	5	5**	1
	25	孵化数	44	55	49	51	41
うずくまり		0	0	0	2	0	0
元気消失		0	0	0	2	0	0
翼下垂		0	0	0	1	0	0
横臥		0	1	0	0	0	0
開脚		0	0	0	0	1	0
歩様異常		0	0	0	0	0	0
起立不能		1	0	0	0	0	0
食帯		0	0	0	0	0	0
死亡		6	4	1	4	0	0
125		孵化数	48	64	60	62	55
	うずくまり	0	1	1	0	0	1
	元気消失	0	0	0	0	0	0
	翼下垂	0	0	0	0	0	1
	横臥	0	1	0	0	1	0
	開脚	0	0	0	0	0	0
	歩様異常	0	0	0	0	0	0
	起立不能	0	0	0	0	0	0
	食帯	0	0	0	0	0	0
	死亡	5	5	3	2	3	3

有意差 (** : p<0.01)

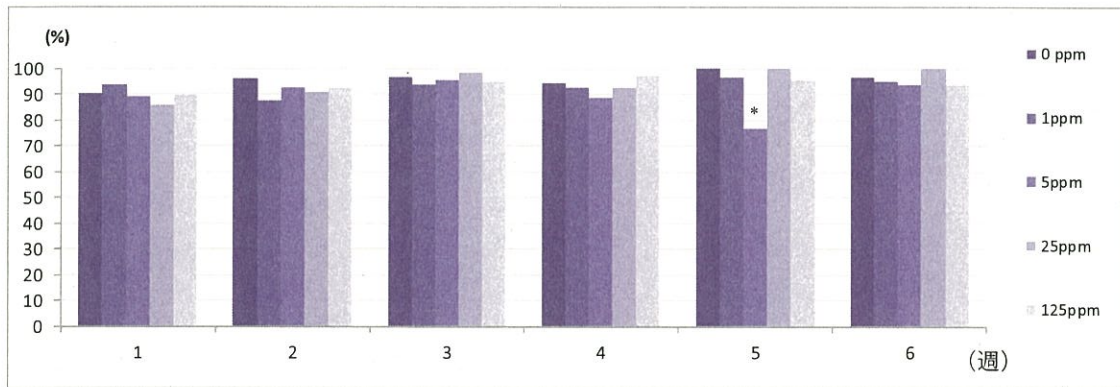
表 32 若鳥の外表所見

(羽)

群 (ppm) 所見	投 与 期 間 (週)					
	1	2	3	4	5	6
0 孵化数	54	67	58	67	55	53
外表異常						
臍ヘルニア	1	1	1	0	2	1
内反足	0	0	0	1	0	1
斜頸	0	0	0	0	0	0
矮小	0	0	0	0	0	0
1 孵化数	44	54	42	51	43	38
外表異常						
臍ヘルニア	0	2	1	2	0	1
内反足	0	0	0	1	0	0
斜頸	0	0	0	0	0	0
矮小	0	0	0	0	0	0
5 孵化数	32	46	35	41	29	27
外表異常						
臍ヘルニア	0	0	1	1	1	0
内反足	0	2	0	1	4	0
斜頸	0	0	0	0	0	0
矮小	0	0	0	0	0	0
25 孵化数	44	55	49	51	41	32
外表異常						
臍ヘルニア	3	2	2	3	0	0
内反足	2	0	0	0	0	0
斜頸	0	0	0	0	0	0
矮小	0	0	0	0	0	0
125 孵化数	48	64	60	62	55	51
外表異常						
臍ヘルニア	0	0	0	1	1	0
内反足	1	1	0	0	1	0
斜頸	0	0	0	0	0	0
矮小	0	1	0	0	0	0

③ 若鳥の14日齢生存数及び若鳥の14日間生存率 (図 21、表 33)

- 投与5週の5ppm群で、若鳥の14日齢生存数及び若鳥の14日間生存率に有意な減少が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$)

図 21 若鳥の14日間生存率

表 33 孵化数、若鳥の14日齢生存数及び若鳥の14日間生存率

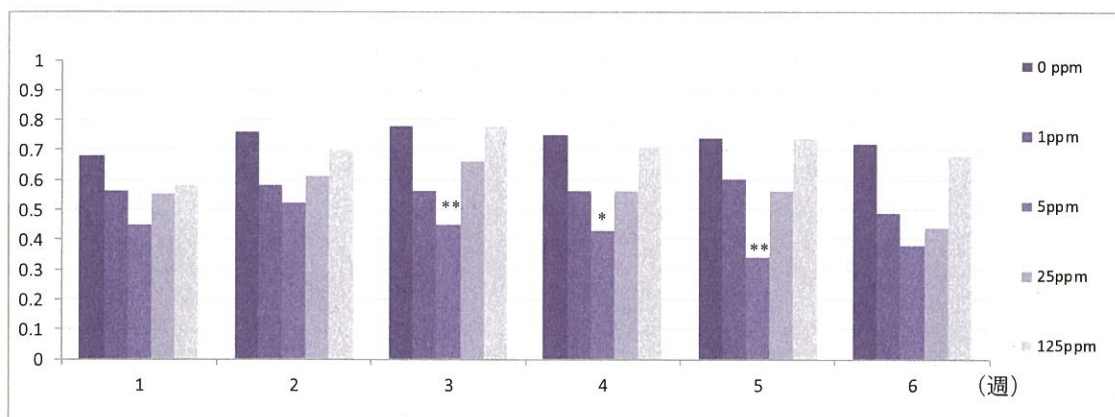
用量 (ppm)	項目	投与期間 (週)					
		1	2	3	4	5	6
0	孵化数	54	67	58	67	55	53
	若鳥の14日齢生存数	49	64	56	63	55	51
	若鳥の14日間生存率(%)	90.1±15.3 (12)	96.0±7.2 (12)	96.3±8.8 (12)	94.4±11.0 (12)	100.0±0.0 (11)	96.3±8.8 (12)
1	孵化数	44	54	42	51	43	38
	若鳥の14日齢生存数	41	49	40	47	42	36
	若鳥の14日間生存率(%)	93.8±11.8 (12)	87.7±20.2 (12)	93.6±15.7 (11)	92.8±10.3 (11)	96.7±10.5 (10)	95.0±11.2 (10)
5	孵化数	32	46	35	41	29	27
	若鳥の14日齢生存数	31	43	33	36	24**	26
	若鳥の14日間生存率(%)	88.9±33.3 (9)	92.6±15.4 (11)	95.5±9.6 (10)	88.8±13.0 (10)	76.7±36.2 (10)	93.8±17.7 (8)
25	孵化数	44	55	49	51	41	32
	若鳥の14日齢生存数	38	51	48	47	41	32
	若鳥の14日間生存率(%)	85.5±21.0 (11)	90.9±20.2 (11)	98.5±5.0 (11)	92.8±13.6 (11)	100.0±0.0 (10)	100.0±0.0 (8)
125	孵化数	48	64	60	62	55	51
	若鳥の14日齢生存数	43	59	57	60	52	48
	若鳥の14日間生存率(%)	89.5±16.5 (11)	92.5±11.7 (12)	95.0±9.0 (12)	97.2±6.5 (12)	95.6±10.8 (12)	93.8±11.8 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

有意差 (** : $p < 0.01$)

(5) 繁殖能指数 (図 22、表 34)

- 1、5及び25ppm群の繁殖能指数は、対照群と比べると全般的に低い傾向にあり、投与3、4及び5週の5ppm群で有意な低値が認められた。



有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)

図 22 繁殖能指数

表 34 繁殖能指数

用量 (ppm)	投与期間(週)					
	1	2	3	4	5	6
0	0.68±0.26 (12)	0.76±0.23 (12)	0.78±0.17 (12)	0.75±0.25 (12)	0.74±0.28 (12)	0.72±0.26 (12)
1	0.56±0.25 (12)	0.58±0.25 (12)	0.56±0.34 (12)	0.56±0.27 (12)	0.60±0.35 (12)	0.49±0.37 (12)
5	0.45±0.38 (12)	0.52±0.31 (12)	0.45±0.24 (12) **	0.43±0.29 (12) *	0.34±0.29 (12) **	0.38±0.34 (12)
25	0.55±0.26 (12)	0.61±0.28 (12)	0.66±0.26 (12)	0.56±0.27 (12)	0.56±0.37 (12)	0.44±0.41 (12)
125	0.58±0.25 (12)	0.70±0.14 (12)	0.78±0.17 (12)	0.71±0.16 (12)	0.74±0.16 (12)	0.68±0.17 (12)

平均値±標準偏差 (親鳥のペア数)

繁殖能指数 : (産卵率×正常卵率×孵化率×若鳥の14日間生存率) / 10^8

有意差 (* : $p \leq 0.05$ 、** : $p \leq 0.01$)