

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409のコイによる96時間急性毒性試験

試験番号 93508

本最終報告書(写し)は、原本を正確にコピーしたものです。

2005 年 2 月 16 日

試験責任者 穴井真紀子
穴井 真紀子

受理番号	E04-3508
試験番号	93508

最 終 報 告 書

SF0409のコイによる96時間急性毒性試験

2005 年 2 月 16 日



陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409のコイによる96時間急性毒性試験

試験番号 93508

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

- (1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年10月1日)
- (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2005年2月16日

試験責任者 穴井真紀子
穴井 真紀子

信頼性保証書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409 のコイによる 96 時間急性毒性試験

試験番号 93508

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、検閲の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

検閲内容	検閲日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2005 年 1 月 19 日	2005 年 1 月 19 日
試験計画書	2005 年 1 月 19 日	2005 年 1 月 19 日
暴露開始時	2005 年 1 月 24 日	2005 年 1 月 28 日
暴露開始後	2005 年 1 月 28 日	2005 年 1 月 28 日
生データ、最終報告書草案	2005 年 2 月 10 日	2005 年 2 月 16 日
最終報告書	2005 年 2 月 16 日	2005 年 2 月 16 日

2005 年 2 月 16 日

信頼性保証業務担当者

春口寿子

春口寿子

目 次

	頁
要 約	5
1. 表 題	6
2. 試験委託者	6
3. 試験施設	6
4. 試験目的	6
5. 試験法	6
6. 適用GLP	6
7. 試験日程	6
8. 資料の保管	7
9. 試験関係者	7
10. 最終報告書の承認	7
11. 被験物質	8
12. 試験材料と方法	9
13. 試験結果	12
14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項	12
試験結果の表及び図	
表1 累積死亡率	13
表2 観察された症状	13
表3-1 試験液の溶存酸素濃度	14
表3-2 試験液のpH	14
表3-3 試験液の水温	15
表4 コイに対するLC50	15
図1 96時間における濃度－累積死亡率	16
付属資料 試験用水の水質	
別添資料 予備試験結果	

要 約

SF0409のコイによる96時間急性毒性試験

＜試験条件＞

- ・被験物質：SF0409
- ・試験生物：コイ(*Cyprinus carpio*)
- ・暴露期間：96時間
- ・試験濃度：60.0、42.9、30.6、21.9(公比1.4)及び9.94 mg/L(公比2.2)の5濃度区及び対照区
- ・試験生物数：10尾／試験区
- ・試験用水：脱塩素水道水
- ・試験方式：半止水式(換水頻度；1回／2日)
- ・試験液の調製：被験物質を試験用水に直接添加して調製
- ・試験液量：50 L／試験区
- ・水 温：23±1℃
- ・照 明：室内灯、16時間明／8時間暗
- ・給 餌：無給餌
- ・エアレーション：あり

＜結 果＞

- ・96時間LC50(半数致死濃度)：32.5 mg/L(95%信頼限界；27.7～37.8 mg/L)
- ・96時間100%死亡最低濃度：60.0 mg/L
- ・96時間0%死亡最高濃度：9.94 mg/L
- ・NOEC(最大無影響濃度)：9.94 mg/L
(上記濃度は、設定濃度に基づく値)

1. 表 題
SF0409のコイによる96時間急性毒性試験
2. 試験委託者
名 称 住友林業株式会社
所 在 地 (〒100-8270)東京都千代田区丸の内 1-8-1
3. 試験施設
名 称 財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所
所 在 地 (〒839-0801)福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
TEL (0942) 34-1500
4. 試験目的
被験物質の魚類に対する短期的影響を調べる。
5. 試験法
本試験は以下の試験法に従って行った。
 - (1) 「農薬の登録申請に係る試験成績について(別添)農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 水産動植物への影響に関する試験魚類急性毒性試験(2-7-1)(平成12年11月24日付け 12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)」
 - (2) 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める “Fish, Acute Toxicity Test (Guideline 203, 1992)”
6. 適用GLP
本試験は以下の基準を適用した。
 - (1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年10月1日)
 - (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)
7. 試験日程
 - 1) 試験開始日 2005年1月19日
 - 2) 実験開始日 2005年1月24日
 - 3) 実験完了日 2005年1月28日
 - 4) 試験完了日 2005年2月16日

8. 資料の保管

1) 被験物質

被験物質*を保管用容器に入れ密栓後、農薬登録取得後5年間、久留米事業所
試料保管室に保管する。保管期間経過後の処置は試験委託者と協議の上決定す
る。ただし、保管中に品質が著しく変化する物質の保管期間は、その品質が保
管に耐えうる期間とし、廃棄に際しては試験委託者の承認を得る。

* 試験番号93506、93507及び93508についての共用保管試料とする。

2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、農薬登録
取得後15年間、久留米事業所資料保管室に保管する。保管期間終了後の取扱い
については、保管期間終了前に試験委託者と協議する。

9. 試験関係者

試験責任者 穴 井 真紀子
所属 試験第四課

試験担当者 穴 井 真紀子、楢 崎 みゆき、井 上 仁 美

10. 最終報告書の承認

試験責任者

2005年2月16日
氏名 穴井真紀子
穴 井 真紀子

11. 被験物質

試験委託者提供資料による被験物質情報を以下に示す。

- 1) 名称
ヒノキ防草材
- 2) 略称
SF0409
- 3) ロット番号
SF040901
- 4) 外観
粗粉末状、緑色
- 5) 成分及び含有量
不明 (ヒノキ葉の乾燥粉末)
- 6) 安定性
水、その他の溶媒、熱、光等に対して安定
- 7) 提供者
住友林業株式会社
- 8) 被験物質の確認
受領した被験物質の貼付ラベル及び送付案内の記載内容等が、試験委託者提供の被験物質情報と一致することを確認した。
- 9) 保管条件
試験中の被験物質は室温暗所で保管した。

12. 試験材料と方法

1) 試験生物

(1) 種

コイ (*Cyprinus carpio*)

(2) 生物種選択の理由

テストガイドラインに推奨されている種類である。

(3) 大きさ

全長 5.0 ± 1.0 cm

生物の大きさについては5.(1)に定める規定値を適用した。

(4) 購入先

杉島養魚場(〒866-0024 熊本県八代市郡築一番町 123-2)

(5) 試験生物の順化

生物は供試12日前までに入手した。その後試験条件と同じ水質(脱塩素水道水)、水温(23 ± 1 °C)及び明暗周期(16時間明/8時間暗)下で9日間以上順化した。餌はコイ用配合餌料(2C)を1日当たり平均魚体重の約2%量与え、供試24時間前から給餌は行わなかった。供試前7日間の死亡率は5%未満であった。また、試験系の再現性を確認するために実施(2005年1月11日~1月15日に実施)した試験生物による基準物質[硫酸銅(II)五水和物、試薬特級、和光純薬工業株式会社]の96時間LC50は 0.0778 mg/Lであった。この値は久留米事業所におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差： $0.0687 \sim 0.318$ mg/L)であった[平均 \pm 標準偏差は 0.194 ± 0.062 mg/L(n=27)]。

(6) 群分け

無作為に抽出を行った。

2) 試験用水

十分にエアレーションし、温度調節した脱塩素水道水を用いた。使用時に、残留塩素濃度が 0.02 mg/L以下であることを確認した。定期的に測定した試験用水の水質測定結果を付属資料に示す。

3) 試験器具及び装置

(1) 試験器具

50L容ガラス製水槽(縦60.0 cm、横29.5 cm、深さ36.0 cm)

また、ゴミの進入や試験液の蒸散を防ぐため蓋をした。

(2) 試験装置

恒温槽：プラスチック製水槽(加熱冷却装置、佐藤工業株式会社製 加温冷却ユニット HCA250型)

4) 試験条件

(1) 暴露条件

①方 式

被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露した。

試験は暴露開始48時間後に試験液の全量を交換する半止水式で行った。

②期 間
96時間

③試験濃度
試験は5濃度区[60.0、42.9、30.6、21.9(公比1.4)及び9.94 mg/L(公比2.2)]で行った。試験濃度及び公比は予備試験結果から決定した。予備試験結果を別添資料に示す。

④対 照 群
被験物質を含まない試験用水のみの対照区を設けた。

⑤試験生物数
10尾／試験区

⑥試験液量
50 L／試験区

(2) 環境条件

①水 温
23±1℃

②溶存酸素濃度(DO)
暴露期間中、試験水温での飽和溶存酸素濃度の60%以上で行った。また、暴露期間中、緩やかなエアレーションを行った。

③pH
試験はpHを調整せずに行った。

④照 明
室内灯による16時間明／8時間暗

⑤給 餌
暴露期間中、給餌を行わなかった。

5) 試験液の調製法

試験容器に入れた試験用水に必要な量の被験物質を添加後、攪拌して調製した。各試験区の調製量に対する被験物質添加量を以下に示す。

試験区(mg/L)	被験物質添加量(g/50 L)
対照区	—
9.94	0.497
21.9	1.095
30.6	1.53
42.9	2.145
60.0	3.00

6) 観察と測定

(1) 試験生物の状態

死亡と症状を暴露開始3、24、48、72及び96時間後に観察した。観察可能な動き(吻、鰓蓋の動き等)がなく、ガラス棒で尾柄部に軽く触れ反応がない個体を死亡とみなした。死亡した個体は確認した時点で、速やかにとり除いた。

(2) 試験生物の全長、体重

暴露終了後、対照区の試験生物について全長、体重を測定した。

(3) 試験液の状態

試験液の状態を暴露開始時及び換水前(48時間後)に観察した。

(4) 水質

試験液の溶存酸素濃度、pH及び水温を暴露開始時、換水前後及び暴露終了時に測定した。24及び72時間後の水質も測定した。また、全個体が死亡した濃度区については、全個体死亡を確認した時点で測定した。溶存酸素濃度は溶存酸素計58型(Yellow Springs Instruments Co., Inc.)、pHはガラス電極式水素イオン濃度計HM-21P型(東亜ディーケーケー)、水温は検定済ガラス製棒状温度計で測定した。

7) 結果の処理

結果の算出には設定濃度を用いた。

(1) LC50*の算出法

72及び96時間についてはProbit法により算出した。また、それらの95%信頼限界も算出した。なお、24及び48時間については、本試験濃度範囲で50%以上の累積死亡率が得られなかったため、LC50は「>試験最高濃度」と表示した。

*LC50 (Median Lethal Concentration) : 暴露期間において試験生物の50%を死亡させる被験物質濃度を示す。

(2) NOEC(最大無影響濃度)の評価

暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区をNOEC(No Observed Effect Concentration)とした。

8) 有効性基準

(1) 暴露期間中、対照群における死亡率は10%を超えてはならない。

(2) 暴露期間中の溶存酸素濃度は、試験水温での飽和溶存酸素濃度の60%以上でなければならない。

9) 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 規則Bによった。

13. 試験結果

1) 死亡率

96時間における100%死亡最低濃度は60.0 mg/Lであった。0%死亡最高濃度は9.94 mg/Lであった。各時間での累積死亡率を表1、96時間における濃度－累積死亡率曲線を図1に示す。なお、暴露終了時における対照群の死亡率は0%であり、有効性基準(10%を超えない)を満たしていた。

2) 症状等の観察結果

以下の観察結果は全て対照群との比較に基づくものである。暴露期間中に観察された症状は出血及び活動度の低下であった。対照群では症状は認められなかった。暴露期間中における症状の観察結果を表2に示す。

3) 大きさ[平均値±標準偏差(n=10)]

全長 5.3±0.18 cm

体重 1.6±0.19 g

4) 試験液の観察と測定結果

(1) 試験液の状態

暴露開始時は無色透明で浮遊物及び沈殿物がみられた。その状態は換水前まで変わらなかった。

(2) 試験液の水質

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は6.6～8.8 mg/L、pHは7.3～7.9、水温は22.7～22.9℃であった。試験液の水質を表3-1、3-2及び3-3に示す。なお、溶存酸素濃度は有効性基準(試験水温での飽和濃度の60%以上*)を満たしていた。

* 22～24℃の飽和溶存酸素濃度：8.53～8.25 mg/L(JIS K 0102)

5) LC50

SF0409のコイに対する48時間LC50は>60.0 mg/Lであった。96時間LC50は32.5 mg/L(95%信頼限界：27.7～37.8 mg/L)であった。24時間毎のLC50、95%信頼限界及びLC50算出法を表4に示す。

6) NOEC

暴露期間中に観察された症状及び死亡の結果から、SF0409のコイに対するNOECは9.94 mg/Lであった。

14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項

当該事項はなかった。

表1 累積死亡率

設定濃度 (mg/L)	累積死亡率 (%)				
	3時間	24時間	48時間	72時間	96時間
対照区	0	0	0	0	0
9.94	0	0	0	0	0
21.9	0	0	0	0	10
30.6	0	0	10	10	30
42.9	0	0	0	30	90
60.0	0	0	10	50	100

表2 観察された症状

設定濃度 (mg/L)	観 察 結 果				
	3時間	24時間	48時間	72時間	96時間
対照区	—	—	—	—	—
9.94	—	—	—	—	—
21.9	—	—	—	RA	HEM
30.6	—	—	—	RA	HEM RA
42.9	—	—	RA	RA	HEM RA
60.0	—	—	RA	RA	

—は症状が認められなかったことを示す。

空欄は全個体が死亡したことを示す。

症状の略称

HEM(Hemorrhage) : 出血

RA(Reduced activity) : 活動度の低下

表3-1 試験液の溶存酸素濃度

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間
	開始時		換水前	換水後		終了時
対照区	8.8	7.8	7.4	8.8	8.0	8.2
9.94	8.8	7.9	7.4	8.7	7.9	7.5
21.9	8.8	8.2	7.1	8.7	7.9	7.2
30.6	8.8	8.1	7.3	8.7	7.9	7.3
42.9	8.8	8.2	7.6	8.7	7.7	7.2
60.0	8.8	8.1	7.0	8.7	7.3	6.6*

単位：mg/L

*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。

表3-2 試験液のpH

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間
	開始時		換水前	換水後		終了時
対照区	7.9	7.5	7.6	7.8	7.4	7.3
9.94	7.8	7.5	7.7	7.7	7.4	7.4
21.9	7.7	7.6	7.5	7.6	7.5	7.4
30.6	7.7	7.6	7.5	7.6	7.5	7.3
42.9	7.6	7.6	7.5	7.6	7.5	7.3
60.0	7.6	7.6	7.4	7.6	7.4	7.3*

*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。

表3-3 試験液の水温

設定濃度 (mg/L)	0時間	24時間	48時間		72時間	96時間 終了時
	開始時		換水前	換水後		
対照区	22.7	22.8	22.8	22.7	22.8	22.7
9.94	22.8	22.8	22.8	22.7	22.8	22.7
21.9	22.8	22.9	22.8	22.7	22.8	22.7
30.6	22.9	22.9	22.8	22.7	22.8	22.7
42.9	22.9	22.8	22.8	22.7	22.8	22.7
60.0	22.9	22.8	22.8	22.7	22.8	22.7*

単位：℃

*全個体の死亡を確認した時点で測定した値を示す。

表4 コイに対するLC50

暴露時間	LC50 (mg/L)	95%信頼限界(mg/L)	LC50算出法
24時間	>60.0	—	—
48時間	>60.0	—	—
72時間	57.8	46.0~121	Probit法
96時間	32.5	27.7~37.8	Probit法

—は得られなかったことを示す。

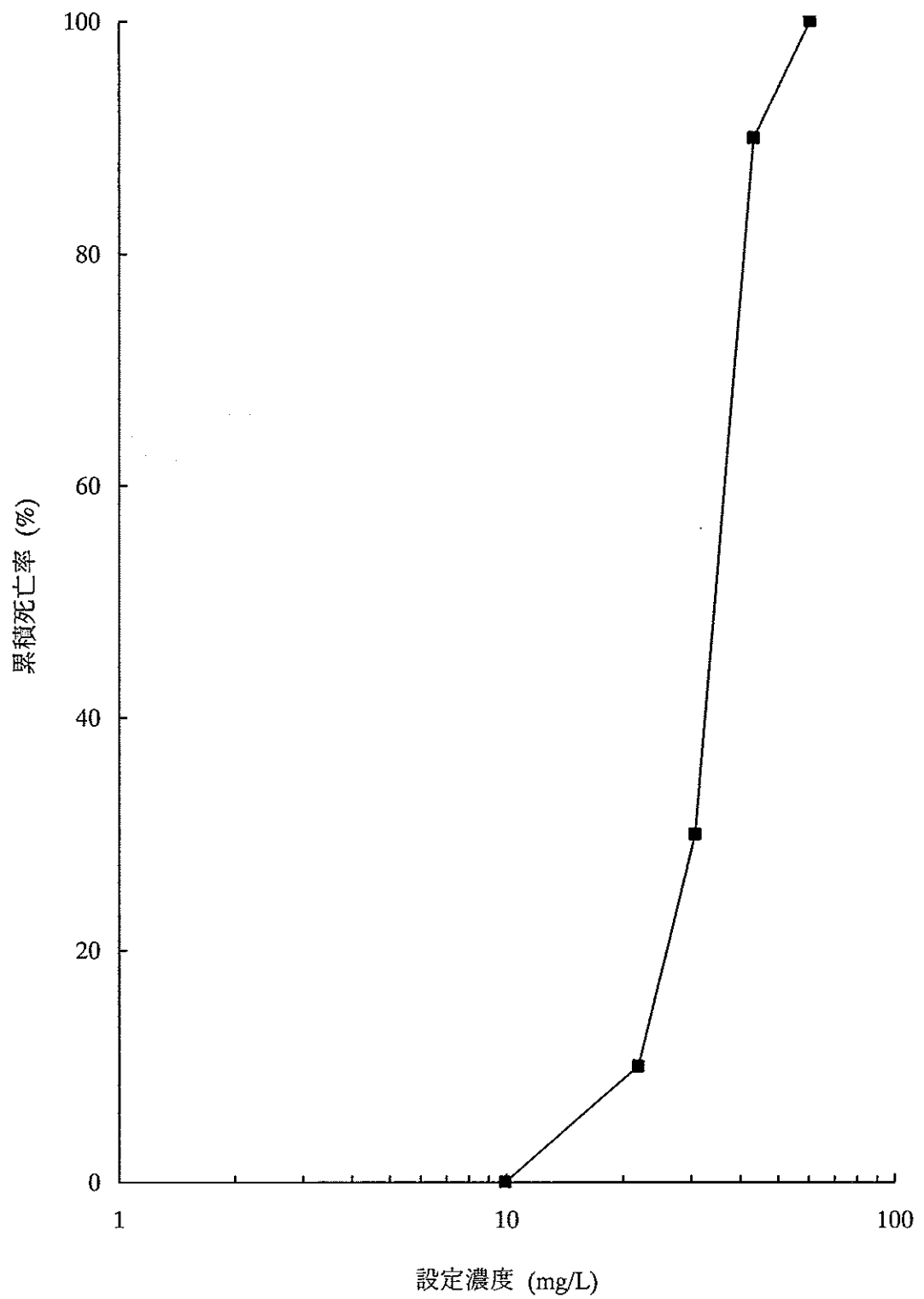


図1 96時間における濃度－累積死亡率

付属資料

試験用水の水質

試験用水の水質(採水日：2005年1月5日)

項目	単位	検査結果	定量下限
カルシウム、マグネシウム等(硬度)	mg/L	38.8	0.1
浮遊物質	mg/L	1未満	1
pH	—	7.3(22℃)	—
有機体炭素	mg/L	0.3	0.1
化学的酸素要求量	mg/L	0.9	0.5
遊離塩素	mg/L	不検出	0.01
アンモニウム態窒素	mg/L	不検出	0.01
シアン	mg/L	不検出	0.01
アルカリ度	mg/L	36	1
電気伝導率	mS/m	15.8	—
有機りん	mg/L	不検出	0.1
アルキル水銀	mg/L	不検出	0.0005
水銀	mg/L	不検出	0.0005
カドミウム	mg/L	不検出	0.001
六価クロム	mg/L	不検出	0.02
鉛	mg/L	不検出	0.005
ヒ素	mg/L	不検出	0.001
ホウ素	mg/L	不検出	0.02
フッ素	mg/L	不検出	0.1
鉄	mg/L	不検出	0.01
銅	mg/L	不検出	0.005
コバルト	mg/L	不検出	0.001
マンガン	mg/L	不検出	0.01
亜鉛	mg/L	不検出	0.01
アルミニウム	mg/L	不検出	0.001
ニッケル	mg/L	不検出	0.001
銀	mg/L	不検出	0.0001
硫酸イオン	mg/L	17.7	0.1
塩化物イオン	mg/L	15	1
ナトリウム	mg/L	13.5	0.01
カリウム	mg/L	3.3	0.01
カルシウム	mg/L	11.0	0.01
マグネシウム	mg/L	2.8	0.01
1,2-ジクロロプロパン	mg/L	不検出	0.0001
クロロタロニル	mg/L	不検出	0.0001
プロピザミド	mg/L	不検出	0.0001
クロルニトロフェン	mg/L	不検出	0.0001
シマジン	mg/L	不検出	0.001
チオベンカルブ	mg/L	不検出	0.0001
ダイアジノン	mg/L	不検出	0.0001
イソキサチオン	mg/L	不検出	0.0001
フェニトロチオン	mg/L	不検出	0.0001
EPN	mg/L	不検出	0.0001
ジクロロボス	mg/L	不検出	0.0001
イプロベンホス	mg/L	不検出	0.0001
PCB	mg/L	不検出	0.0005

別添資料

予備試験結果

予備試験結果

<生物への影響>

濃度区 (mg/L)	左：累積死亡率(%)					右：症状の有無(有：*、無：-)				
	3 時間		24 時間		48 時間		72 時間		96 時間	
10.0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
30.0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	*
60.0	0	-	0	-	0	*	100		100	
100	0	-	0	-	100		100		100	

空欄は全個体が死亡したことを示す。

暴露方式：半止水式(換水 1 回/2 日)

生物数/試験液量：2 尾/10 L

エアレーション：緩やかなエアレーション有り

試験液調製法：試験用水に被験物質を直接添加後攪拌したものを試験液とした。

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

試験番号 93507

本最終報告書(写し)は、原本を正確にコピーしたものです。

2005年2月8日

試験責任者

野坂俊樹

野坂俊樹

受理番号	E04-3507
試験番号	93507

最 終 報 告 書

SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

2005 年 2 月 8 日

化学物質評価研究機構



陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

試験番号 93507

上記試験は以下のGLPに従って実施したものです。

- (1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年10月1日)
- (2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(November 26, 1997)

また、本最終報告書は生データを正確に反映しており、試験データが有効であることを確認しています。

2005年2月8日

試験責任者 野坂俊樹
野坂俊樹

信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409 のオオミジンコによる 48 時間急性遊泳阻害試験

試験番号 93507

本最終報告書は、試験の方法、手順が正確に記載され、試験結果は生データを正確に反映していることを保証します。

なお、検閲の結果については、下記の通り試験責任者及び運営管理者に報告しました。

検閲内容	検閲日	報告日 (試験責任者及び運営管理者)
試験計画書草案	2005 年 1 月 18 日	2005 年 1 月 18 日
試験計画書	2005 年 1 月 19 日	2005 年 1 月 19 日
試験計画書の修正	2005 年 2 月 1 日	2005 年 2 月 1 日
暴露開始時	2005 年 1 月 24 日	2005 年 1 月 26 日
暴露開始後	2005 年 1 月 26 日	
生データ、最終報告書草案	2005 年 2 月 7 日	2005 年 2 月 7 日
最終報告書	2005 年 2 月 8 日	2005 年 2 月 8 日

2005 年 2 月 8 日

信頼性保証業務担当者 松尾千代香
松尾千代香

目 次

	頁
要 約	5
1. 表 題	6
2. 試験委託者	6
3. 試験施設	6
4. 試験目的	6
5. 試験法	6
6. 適用GLP	6
7. 試験日程	6
8. 資料の保管	7
9. 試験関係者	7
10. 最終報告書の承認	7
11. 被験物質	8
12. 試験材料と方法	9
13. 試験結果	12
14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項	12
試験結果の表及び図	
表1 遊泳阻害率	13
表2 観察された症状	14
表3 試験液の水質	14
表4 オオミジンコに対するEC50	15
図1 48時間における濃度－遊泳阻害率曲線	16
付属資料 試験用水の水質	
別添資料 予備試験結果	

要 約

SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

<試験条件>

- ・被験物質：SF0409
- ・試験生物：オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- ・暴露期間：48時間
- ・試験濃度：5濃度区；320、160、80、40及び20 mg/L(公比2.0)及び対照区
- ・試験生物数：20頭／試験区(5頭×4試験容器)
- ・試験用水：脱塩素水道水
- ・試験方式：止水式
- ・試験液の調製：被験物質を直接添加して調製
- ・試験液量：400 mL／試験区(100 mL×4試験容器)
- ・水 温：20±1℃
- ・照 明：室内灯、16時間明／8時間暗
- ・給 餌：無給餌
- ・エアレーション：なし

<結 果>

- ・48時間EC50(半数遊泳阻害濃度)：102 mg/L(95%信頼限界；80～160 mg/L)
- ・48時間100%遊泳阻害最低濃度：160 mg/L
- ・48時間0%遊泳阻害最高濃度：40 mg/L
- ・NOEC(最大無影響濃度)：40 mg/L
(上記濃度は、設定濃度に基づく値)

1. 表 題
SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験
2. 試験委託者
名 称 住友林業株式会社
所 在 地 (〒100-8270)東京都千代田区丸の内 1-8-1
3. 試験施設
名 称 財団法人 化学物質評価研究機構 久留米事業所
所 在 地 (〒839-0801)福岡県久留米市宮ノ陣三丁目2番7号
TEL (0942) 34-1500
4. 試験目的
被験物質のミジンコ類に対する短期的影響を調べる。
5. 試験法
本試験は以下の試験法に従って行った。
(1) 「農薬の登録申請に係る試験成績について(別添)農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針 水産動植物への影響に関する試験ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)(平成12年11月24日付け 12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)」
(2) 「OECD Guidelines for Testing of Chemicals」に定める “*Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction Test (Guideline 202, April 4, 1984)”
6. 適用GLP
本試験は以下の基準を適用した。
(1) 「農薬の毒性に関する試験の適正実施に係る基準」(11農産第6283号平成11年10月1日)
(2) 「OECD Principles of Good Laboratory Practice」 (November 26, 1997)
7. 試験日程
 - 1) 試験開始日 2005年1月19日
 - 2) 実験開始日 2005年1月24日
 - 3) 実験完了日 2005年1月26日
 - 4) 試験完了日 2005年2月8日

8. 資料の保管

1) 被験物質

被験物質*を保管用容器に入れ密栓後、農薬登録取得後5年間、久留米事業所試験保管室に保管する。保管期間経過後の処置は試験委託者と協議の上決定する。ただし、保管中に品質が著しく変化する物質の保管期間は、その品質が保管に耐えうる期間とし、廃棄に際しては試験委託者の承認を得る。

* 試験番号93506、93507及び93508についての共用保管試料とする。

2) 生データ、資料等

生データ、試験計画書、その他必要な資料等は最終報告書と共に、農薬登録取得後15年間、久留米事業所資料保管室に保管する。保管期間終了後の取扱いについては、保管期間終了前に試験委託者と協議する。

9. 試験関係者

試験責任者 野坂俊樹
所属 試験第四課

試験担当者 田中真里子、廣尾ゆみか、井上仁美

10. 最終報告書の承認

試験責任者

2005年2月8日

氏名 野坂俊樹
野坂俊樹

11. 被験物質

試験委託者提供資料による被験物質情報を以下に示す。

- 1) 名 称
ヒノキ防草材
- 2) 略 称
SF0409
- 3) ロット番号
SF040901
- 4) 外 観
粗粉末状、緑色
- 5) 成分及び含有量
不明 (ヒノキ葉の乾燥粉末)
- 6) 安 定 性
水、その他の溶媒、熱、光等に対して安定
- 7) 提 供 者
住友林業株式会社
- 8) 被験物質の確認
受領した被験物質の貼付ラベル及び送付案内の記載内容等が、試験委託者提供の被験物質情報と一致することを確認した。
- 9) 保 管 条 件
試験中の被験物質は室温暗所で保管した。

12. 試験材料と方法

1) 試験生物

(1) 種

オオミジンコ (*Daphnia magna* Clone A)

(2) 生物種選択の理由

テストガイドラインに推奨されている種類である。

(3) 供給源

英国Sheffield大学(所在地 Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)より分譲された*Daphnia magna*(Clone A)の子孫で、久留米事業所で継代飼育している成体より産出された幼体を用いた。幼体を産出する成体は、試験条件と同じ水質(脱塩素水道水)、水温($20\pm 1^\circ\text{C}$)及び明暗周期(16時間明/8時間暗)下で飼育したもの(26日齢)で成体の生存率が100%の群(ロット)を使用した。継代飼育中はミジンコ1頭当たり*Chlorella vulgaris*を0.1~0.2 mgC(有機炭素含量)/日の割合で1日に1回給餌した。また、試験系の再現性を確認するために実施(2004年12月15日~12月17日に実施)した基準物質(ニクロム酸カリウム、試薬特級、和光純薬工業株式会社)の急性遊泳阻害試験の48時間EC50は0.283 mg/Lであった。この値は久留米事業所におけるバックグラウンドデータの規定範囲内(平均 $\pm 2 \times$ 標準偏差: 0.110~0.351 mg/L)であった[平均 \pm 標準偏差は 0.231 ± 0.060 mg/L(n=47)]。

(4) 幼体の選別

生後24時間以内の幼体を用いた。

(5) 群分け

無作為に抽出を行った。

2) 試験用水

十分にエアレーションし、温度調節した脱塩素水道水を用いた。使用時に、残留塩素濃度が0.02 mg/L以下であることを確認した。定期的に測定した試験用水の水質測定結果を付属資料に示す。

3) 試験器具及び装置

(1) 試験器具

試験容器: 100 mLガラスビーカー

また、ゴミの進入や試験液の蒸散を防ぐため蓋をした。

(2) 試験装置

恒温槽: プラスチック製水槽(加熱冷却装置、佐藤工芸株式会社製 加温冷却ユニット HCA250型)

4) 試験条件

(1) 暴露条件

① 方式

被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露した。
試験は試験液の交換をしない止水式で行った。

②期 間
48時間

③試験濃度

試験は5濃度区[320、160、80、40及び20 mg/L(公比2.0)]で行った。試験濃度及び公比は予備試験結果から決定した。予備試験結果を別添資料に示す。なお、試験濃度は被験物質秤量操作を考慮し、有効数字2桁での表示とした。

④対 照 群

被験物質を含まない試験用水のみの対照区を設けた。

⑤試験生物数

20頭/試験区(5頭×4試験容器)

⑥試験液量

400 mL/試験区(100 mL×4試験容器)

(2) 環境条件

①水 温

20±1℃

②溶存酸素濃度(DO)

暴露期間中、試験水温での飽和溶存酸素濃度の60%以上を保つ条件で行った。また、暴露期間中、エアレーションは行わなかった。

③pH

試験はpHを調整せずに行った。

④照 明

室内灯による16時間明/8時間暗

⑤給 餌

暴露期間中、給餌を行わなかった。

5) 試験液の調製法

必要量の被験物質と試験用水を試験容器で混合し、攪拌して調製した。各試験区の調製量に対する被験物質添加量を以下に示す。

試験区(mg/L)	被験物質添加量(mg/100 mL)
対照区	—
20	2.0
40	4.0
80	8.0
160	16
320	32

6) 観察と測定

(1) 試験生物の状態

暴露開始24及び48時間後に遊泳阻害及び症状を観察した。試験液を穏やかに動かした後、15秒間泳げない場合を遊泳阻害されたとみなした。

(2) 試験液の状態

試験液の状態を暴露開始時及び終了時に観察した。

(3) 水質

試験液の溶存酸素濃度、pH及び水温を暴露開始時及び終了時に測定した。暴露開始時は別途調製した試験液について測定し、暴露終了時には各試験区につき4試験容器のうち1試験容器について測定した。溶存酸素濃度は溶存酸素計58型(Yellow Springs Instruments Co., Inc.)、pHはガラス電極式水素イオン濃度計HM-14P型(東亜ディーケーケー)、水温は検定済ガラス製棒状温度計で測定した。

7) 結果の処理

結果の算出には設定濃度を用いた。

(1) EC50*の算出法

48時間についてはBinomial法により算出した。また、その95%信頼限界を算出した。なお、24時間については本試験濃度範囲で50%以上の遊泳阻害率が得られなかったため、EC50は「>試験最高濃度」と表示した。

* EC50 (Median Effective Concentration) : 暴露期間において試験生物の50%に影響を与える被験物質濃度を示す。影響の指標は遊泳阻害による。

(2) NOEC(最大無影響濃度)の評価

暴露期間中、対照群と比較して何ら影響が認められない試験最高濃度区をNOEC(No Observed Effect Concentration)とした。

8) 有効性基準

(1) 暴露期間中、対照群のミジンコにおいて、10%を超えて遊泳阻害されたり、水面に浮いたりしてはならない。

(2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、試験水温での飽和溶存酸素濃度の60%以上でなければならない。

9) 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8401 規則Bによった。

13. 試験結果

1) 遊泳阻害率

48時間における100%遊泳阻害最低濃度は160 mg/L、0%遊泳阻害最高濃度は40 mg/Lであった。24及び48時間での遊泳阻害率を表1、48時間における濃度－遊泳阻害率曲線を図1に示す。なお、暴露期間中の対照群において水面に浮いた個体はみられず、遊泳阻害率は0%であり、有効性基準(10%を超えない)を満たしていた。

2) 症状等の観察結果

以下の観察結果は全て対照群との比較に基づくものである。暴露期間中に観察された症状は嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下であった。また、80～320 mg/L区でミジンコの体表に被験物質と思われる物質の付着がみられた。対照群では症状は認められなかった。暴露期間中における症状の観察結果を表2に示す。

3) 試験液の観察と測定結果

(1) 試験液の状態

暴露開始時は20及び40 mg/Lのみ無色透明で、その他の濃度区は褐色澄明であった。また、全濃度区において沈殿物、浮遊物及び不溶分が観察された。色調、沈殿物、浮遊物及び不溶分の度合いは濃度依存的であった。暴露終了時も同様であった。

(2) 試験液の水質

暴露期間中に測定した溶存酸素濃度は7.6～8.7 mg/L、pHは7.4～7.8、水温は20.0～20.3℃であった。試験液の水質を表3に示す。なお、溶存酸素濃度は有効性基準(試験水温での飽和濃度の60%以上*)を満たしていた。

* 19～21℃の飽和溶存酸素濃度：9.01～8.68 mg/L、JIS K 0102

4) EC50

SF0409のオオミジンコに対する24時間EC50は>320 mg/L、48時間EC50は102 mg/L(95%信頼限界：80～160 mg/L)であった。各時間でのEC50を表4に示す。

5) NOEC

暴露期間中に観察された症状及び遊泳阻害の結果から、SF0409のオオミジンコに対するNOECは40 mg/Lであった。

14. 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる事項

当該事項はなかった。

表1 遊泳阻害率

設定濃度 (mg/L)		遊 泳 阻 害 率 (%)			
		24時間		48時間	
		試験容器毎	試験区毎	試験容器毎	試験区毎
対照区	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
20	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
40	A	0	0	0	0
	B	0		0	
	C	0		0	
	D	0		0	
80	A	0	0	0	15
	B	0		40	
	C	0		20	
	D	0		0	
160	A	0	0	100	100
	B	0		100	
	C	0		100	
	D	0		100	
320	A	20	15	100	100
	B	20		100	
	C	20		100	
	D	0		100	

表2 観察された症状

設定濃度 (mg/L)	観察結果	
	24時間	48時間
対照区	—	—
20	—	—
40	—	—
80	—	IM LETH RA
160	RA	IM LETH
320	IM RA	IM LETH

—は症状が認められなかったことを示す。

症状の略称

IM (Immobilization) : 遊泳阻害

LETH (Lethargic) : 嗜眠状態

RA (Reduced activity) : 活動度の低下

表3 試験液の水質

設定濃度 (mg/L)	DO		pH		水温(℃)	
	開始時	終了時	開始時	終了時	開始時	終了時
対照区	8.7	8.7	7.8	7.7	20.0	20.1
20	8.7	8.7	7.8	7.8	20.0	20.1
40	8.7	8.7	7.8	7.8	20.0	20.1
80	8.7	8.7	7.7	7.8	20.0	20.2
160	8.7	8.2	7.6	7.6	20.0	20.2
320	8.6	7.6	7.4	7.5	20.0	20.3

DO : 溶存酸素濃度(mg/L)

表4 オオミジンコに対するEC50

暴露時間	EC50 (mg/L)	95%信頼限界(mg/L)	EC50算出法
24時間	>320	—	—
48時間	102	80~160	Binomial法

—は得られなかったことを示す。

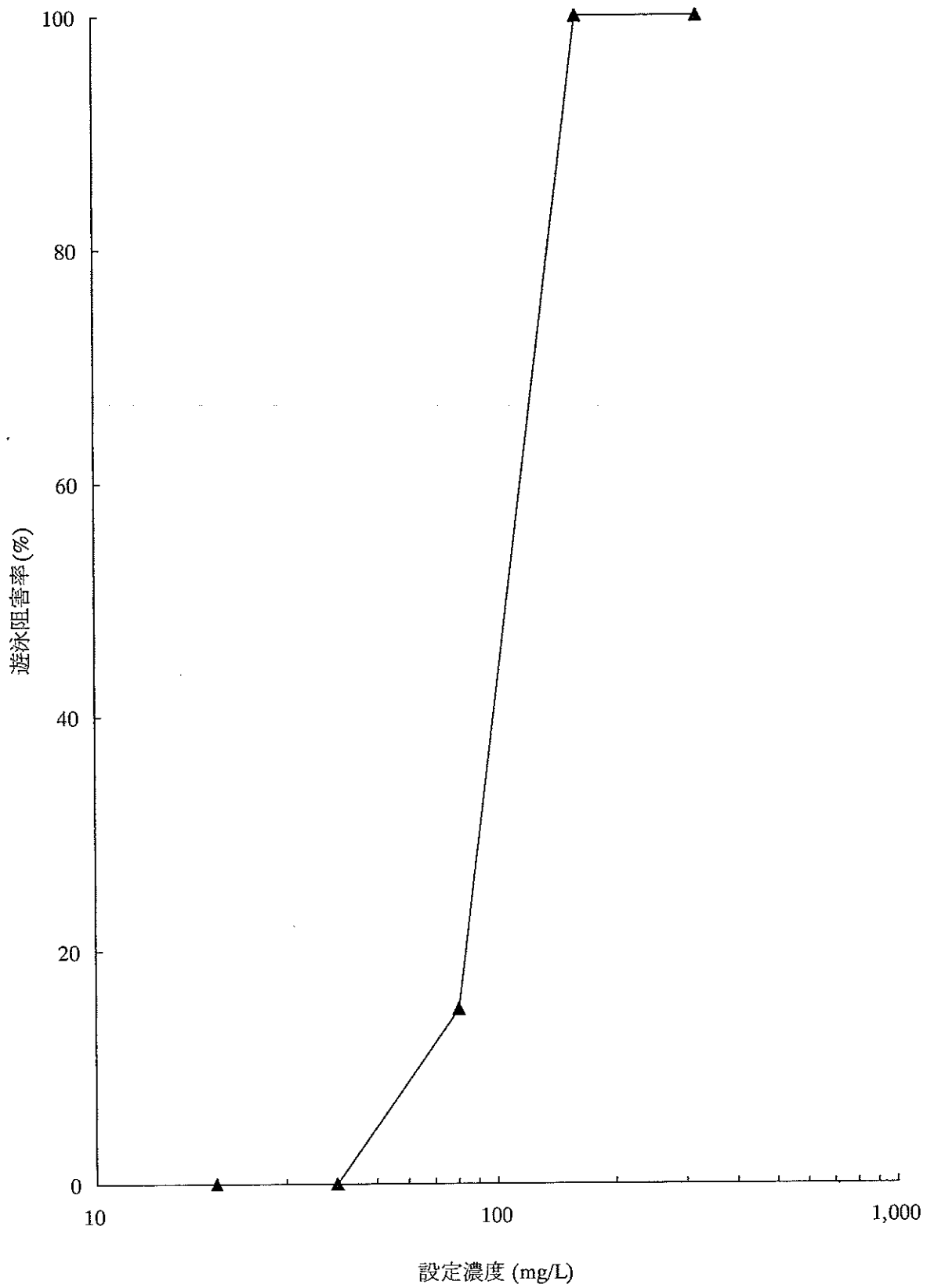


図1 48時間における濃度-遊泳阻害率曲線

付属資料

試験用水の水質

試験用水の水質(採水日:2005年1月5日)

項目	単位	検査結果	定量下限
カルシウム、マグネシウム等(硬度)	mg/L	38.8	0.1
浮遊物質	mg/L	1未満	1
pH	—	7.3(22℃)	—
有機体炭素	mg/L	0.3	0.1
化学的酸素要求量	mg/L	0.9	0.5
遊離塩素	mg/L	不検出	0.01
アンモニウム態窒素	mg/L	不検出	0.01
シアン	mg/L	不検出	0.01
アルカリ度	mg/L	36	1
電気伝導率	mS/m	15.8	—
有機りん	mg/L	不検出	0.1
アルキル水銀	mg/L	不検出	0.0005
水銀	mg/L	不検出	0.0005
カドミウム	mg/L	不検出	0.001
六価クロム	mg/L	不検出	0.02
鉛	mg/L	不検出	0.005
ヒ素	mg/L	不検出	0.001
ホウ素	mg/L	不検出	0.02
フッ素	mg/L	不検出	0.1
鉄	mg/L	不検出	0.01
銅	mg/L	不検出	0.005
コバルト	mg/L	不検出	0.001
マンガン	mg/L	不検出	0.01
亜鉛	mg/L	不検出	0.01
アルミニウム	mg/L	不検出	0.001
ニッケル	mg/L	不検出	0.001
銀	mg/L	不検出	0.0001
硫酸イオン	mg/L	17.7	0.1
塩化物イオン	mg/L	15	1
ナトリウム	mg/L	13.5	0.01
カリウム	mg/L	3.3	0.01
カルシウム	mg/L	11.0	0.01
マグネシウム	mg/L	2.8	0.01
1,2-ジクロロプロパン	mg/L	不検出	0.0001
クロロタロニル	mg/L	不検出	0.0001
プロピザミド	mg/L	不検出	0.0001
クロルニトロフェン	mg/L	不検出	0.0001
シマジン	mg/L	不検出	0.001
チオベンカルブ	mg/L	不検出	0.0001
ダイアジノン	mg/L	不検出	0.0001
イソキサチオン	mg/L	不検出	0.0001
フェニトロチオン	mg/L	不検出	0.0001
EPN	mg/L	不検出	0.0001
ジクロロボス	mg/L	不検出	0.0001
イプロベンホス	mg/L	不検出	0.0001
PCB	mg/L	不検出	0.0005

別添資料

予備試験結果

予備試験結果

<生物への影響>

予備試験-1

濃度区 (mg/L)	24 時間		48 時間	
	遊泳阻害率 (%)	その他の症状	遊泳阻害率 (%)	その他の症状
100	0	—	20	RA
1,000	100	—	100	—

暴露方式：止水式

試験生物：5頭/区(1連/区)

試験液調製法：被験物質と試験用水を試験容器で混合し、攪拌して調製した。

予備試験-2

濃度区 (mg/L)	24 時間		48 時間	
	遊泳阻害率 (%)	その他の症状	遊泳阻害率 (%)	その他の症状
10.0	0	—	0	—
100	0	—	10	RA
500	0	RA	100	—

暴露方式：止水式

試験生物：10頭/区(2連/区)

試験液調製法：被験物質と試験用水を試験容器で混合し、攪拌して調製した。

予備試験-3

濃度区 (mg/L)	24 時間		48 時間	
	遊泳阻害率 (%)	その他の症状	遊泳阻害率 (%)	その他の症状
20	0	—	0	—
50	0	—	0	—
200	30	RA	100	—

暴露方式：止水式

試験生物：10頭/区(2連/区)

試験液調製法：被験物質と試験用水を試験容器で混合し、攪拌して調製した。なお、試験濃度は有効数字2桁での表示とした。

症状の略称

RA (Reduced activity)：活動度の低下

—はその他の症状が観察されなかったことを示す。

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者 住友林業株式会社

試験の表題 SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験

試験番号 93507

本試験計画書の修正(写し)は、原本を正確にコピーしたものです。

2005年2月3日

試験責任者 野坂俊樹
野坂俊樹

試験計画書の修正

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

1. 表 題 SF0409のオオミジンコによる48時間急性遊泳阻害試験
2. 試験番号 93507
3. 修正事項 7頁 14.5) 試験液の調製法
4. 修正理由 記載ミスのため
5. 修正の内容

試験区(mg/L)	被験物質添加量(mg/100 mL)
対照区	—
20	2.0
40	4.0
80	8.0
160	16.0
320	32.0

を

試験区(mg/L)	被験物質添加量(mg/100 mL)
対照区	—
20	2.0
40	4.0
80	8.0
160	16
320	32

に修正する。

6. 承認

2005年2月1日

試験責任者

野坂俊樹