

農薬の登録申請に係る試験成績について

(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)

一部改正 平成13年 6月26日 13生産第1739号

一部改正 平成14年12月10日 14生産第7269号

(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」(抄)

試験項目	識別番号
1. 薬効に関する試験	
○適用病害虫に対する薬効に関する試験	
・薬効・薬害試験	1-1-1
2. 薬害に関する試験	
○適用農作物に対する薬害に関する試験	
・薬効・薬害試験	1-1-1
・限界薬量(又は濃度)薬害試験	1-1-2
・茶の残臭試験	1-1-3
・タバコの喫味試験	1-1-4
○周辺農作物に対する薬害に関する試験	
・漂流飛散による薬害試験	1-2-1
・水田水の流出による薬害試験	1-2-2
・揮散による薬害試験	1-2-3
○後作物に対する薬害に関する試験	
・後作物薬害試験	1-3
3. 毒性に関する試験	
○急性経口毒性試験	2-1-1
○急性経皮毒性試験	2-1-2
○急性吸入毒性試験	2-1-3
○皮膚刺激性試験	2-1-4
○眼刺激性試験	2-1-5
○皮膚感作性試験	2-1-6
○急性神経毒性試験	2-1-7
○急性遅発性神経毒性試験	2-1-8
○90日間反復経口投与毒性試験	2-1-9
○21日間反復経皮投与毒性試験	2-1-10
○90日間反復吸入毒性試験	2-1-11
○反復経口投与神経毒性試験	2-1-12

○28日間反復投与遅発性神経毒性試験	-----	2-1-13
○1年間反復経口投与毒性試験	-----	2-1-14
○発がん性試験	-----	2-1-15
○1年間反復経口投与毒性試験/発がん性併合試験	-----	2-1-16
○繁殖毒性試験	-----	2-1-17
○催奇形性試験	-----	2-1-18
○変異原性試験		
・復帰突然変異試験	-----	2-1-19-1
・染色体異常試験	-----	2-1-19-2
・小核試験	-----	2-1-19-3
○生体機能影響試験	-----	2-2-1
○動物体内運命に関する試験	-----	2-3-1
○植物体内運命に関する試験	-----	2-4-1
○土壌中運命に関する試験		
・好氣的湛水土壌中運命試験	-----	2-5-1
・好氣的土壌中運命試験	-----	2-5-2
・嫌氣的土壌中運命試験	-----	2-5-3
○水中運命に関する試験		
・加水分解運命試験	-----	2-6-1
・水中光分解運命試験	-----	2-6-2
○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
・ミジンコ類急性遊泳阻害試験	-----	2-7-2-1
・ミジンコ類繁殖試験	-----	2-7-2-2
・藻類生長阻害試験	-----	2-7-3
○水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験		
・ミツバチ影響試験	-----	2-8-1
・蚕影響試験	-----	2-8-2
・天敵昆虫等影響試験	-----	2-8-3
・鳥類影響試験		
・鳥類強制経口投与試験	-----	2-8-4-1
・鳥類混餌投与試験	-----	2-8-4-2
○有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験	-----	2-9-1~16
○水質汚濁性に関する試験		
・水質汚濁性試験	-----	2-10-1

4. 残留性に関する試験

○農作物への残留性に関する試験

・作物残留性試験	-----	3-1-1
・乳汁への移行試験	-----	3-1-2

○土壌への残留性に関する試験

・土壌残留性試験		
・容器内試験	-----	3-2-1-1
・ほ場試験	-----	3-2-1-2
・後作物残留性試験	-----	3-2-2

水産動植物への影響に関する試験(2-7-1~3)

魚類急性毒性試験(2-7-1)

1. 目的

本試験は、魚類に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡：観察可能な動き（鰓ぶたの動き等）がなく、尾柄部に触れて反応がない場合魚は死亡しているとみなす。
- (2) LC₅₀ (Median Lethal Concentration：半数致死濃度)：暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度)：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質：試験に用いる農薬の原体又は製剤をいう。
- (5) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験：連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① 供試魚は、別表の魚種の中から選択する。
- ② 基準物質でのLC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 順化

- ① 供試魚は、試験に供する12日前までには入手し、維持しなければならない。
- ② 必要に応じて、入手時に薬浴を行う。
- ③ 供試魚は、試験に供する前の少なくとも9日間は、試験時における環境条件（水質等）と同様の条件下で順化しなければならない。
- ④ 餌は少なくとも週に5回与え、供試前24時間は給餌を行ってはならない。
- ⑤ 以下に掲げる基準により順化を行い、死亡率を記録する。

ア 順化開始後2日間の安定期間に続く7日間の死亡率が群の個体数の10%を超える場合には、当該群は廃棄する。

イ 群の死亡率が5~10%の場合、さらに7日間順化を継続し、群の死亡率が5%以上の場合は、当該群を廃棄するか、死亡率が5%未満になるまで順化を継続する。

ウ 群の死亡率が5%未満の場合において当該群の魚類を試験に供するものとする。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

96時間とする。

6. 供試魚数及び試験区の設定

(1) 供試魚数

試験区ごとに、少なくとも7尾使用する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。

イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。

ウ 濃度範囲には、供試魚のすべてが死亡する濃度と全く死亡しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部が死亡する濃度については、少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

ア 対照として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 原体を被験物質として用いる場合

① 易水溶性原体の場合は、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。

② 難水溶性原体の場合は、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は、供試魚に対して毒性が弱く、使用濃度で供試魚に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いる。

③ 助剤の試験液中濃度は、100mg/l（又は0.1ml/l）を超えないことが望ましい。

(2) 製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え攪拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

8. 環境条件

(1) 収容密度

① 止水式及び半止水式による試験では、供試魚1g当たり1リットル以上の試験液量が必要である。

② 流水式試験では、さらに高い収容密度で試験を行うことができる。

(2) 水温

供試魚種の設定温度は別表のとおりとし、変動範囲は±2℃以内とする。

(3) 照明

12～16時間明期とする。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、魚が良好に生存又は成長ができる水質であることが確認されて

いるものを用いる。

② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。

③ 使用前には十分に暴気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上を保つようにする。必要に応じてゆるやかな暴気を行う。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試魚の一般状態の観察

暴露開始後、少なくとも24、48、72及び96時間目に供試魚の一般状態を観察し、記録する。死亡魚は速かに試験系から取り除く。また、観察された異常は記録する。

(2) 被験物質濃度の測定

① 原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区における被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

① 試験に先立って希釈水の水質を確認する。

② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

(1) 各濃度における死亡率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてLC₅₀を算定する。

(2) 被験物質濃度の測定値が設定濃度から±20%以上変動している場合は、測定濃度の平均値に基づきLC₅₀を算定する。

11. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 試験魚について

種名、供給源、飼育方法、順化、供試魚数、供試魚の全長・体重、基準物質のLC₅₀等

(3) 試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等

(4) 試験結果について

① LC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② LC₅₀の算定方法

③ NOEC (NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記すこと。)

④ 各観察時間における各試験区での累積死亡率

⑤ 暴露終了時における濃度-死亡率曲線のグラフ

⑥ 供試魚の異常な症状及び反応

⑦ 被験物質濃度の測定値(原体を被験物質として用いた場合のみ)

⑧ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑨ その他の事項

試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の死亡率が10%を超えてはならない。ただし、10尾より少ない数を用いた場合は死亡が1尾を超えてはならない。
- (2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

別表 試験生物種の条件及び設定温度

魚種	設定温度 (°C)	試験魚の全長 (cm)
コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	20~24	5.0 ± 1.0
ヒメダカ (<i>Oryzias latipes</i>)	21~25	2.0 ± 1.0
ブルーギル (<i>Lepomis macrochirus</i>)	21~25	3.0 ± 1.0
ニジマス (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	13~17	5.0 ± 1.0
グッピー (<i>Poecilia reticulata</i>)	21~25	2.0 ± 1.0
ゼブラダニオ (<i>Brachydanio rerio</i>)	21~25	2.0 ± 1.0
ファットヘッドミノー (<i>Pimephales promelas</i>)	21~25	2.0 ± 1.0

ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)

1. 目的

本試験は、甲殻類に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 遊泳阻害：試験容器を軽く振とうした後、15秒間全く水中を遊泳しない場合、遊泳阻害されたとみなす。
- (2) EC₅₀ (Median Effect Concentration：半数遊泳阻害濃度)：暴露期間に供試生物の50%を遊泳阻害する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度)：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質：試験に用いる農薬の原体又は製剤をいう。
- (5) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

- (7) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験：連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① オオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いる。ただし、当該種と同等の試験結果が得られるミジンコ類であれば他の種を用いてもよい。
- ② 供試生物は、経歴（入手源、飼育方法等）の明らかなものを用いる。
- ③ 基準物質でのEC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 生育段階

生後24時間以内の個体（以下「幼体」という。）を用いる。

(3) 親ミジンコの飼育

幼体を得るための親ミジンコは、可能な限り試験環境条件（試験に用いる希釈水と同一の水質、水温等）に近い条件で一定期間飼育し、健康で繁殖の盛んな時期（通常2～4週齢）のものを用いる。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

48時間とする。ただし、供試生物の種によっては24時間とすることができる。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 供試生物数

試験区ごとに少なくとも20頭の供試生物を使用し、必要に応じて観察が可能な個体数に分割する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

- ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。
- イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。
- ウ 濃度範囲には、供試生物のすべてを遊泳阻害する濃度と全く遊泳阻害しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部を遊泳阻害する濃度が少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

- ア 被験物質を含まない無処理対照区を設ける。
- イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 原体を被験物質として用いる場合

- ① 易水溶性原体の場合は、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。

② 難水溶性原体の場合は、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は、供試生物に対して毒性が弱く、使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いること。

③ 助剤の試験液中濃度は、100mg/l（又は0.1ml/l）を超えないことが望ましい。

(2) 製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え攪拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

8. 環境条件

(1) 試験液量

ミジンコ1頭当たり5ml以上とする。

(2) 水温

設定温度は20℃とし、試験期間中の変動範囲は±1℃以内とする。

(3) 照明

12～16時間明期が望ましい。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、ミジンコが良好に生存し、繁殖できる水質であることが確認されているものを用いる。

② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。

③ 使用前には十分に暴気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上に保つようにする。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後24時間目及び48時間目における遊泳阻害の有無について観察し記録する。

(2) 被験物質濃度の測定

① 原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区における被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

なお、試験区ごとに複数の容器を設けている場合には、各容器から試験液を等量採取し混和後、測定用試料に供する。

② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

① 試験に先立って希釈水の水質を確認する。

② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

(1) 各濃度における遊泳阻害率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてEC₅₀を算

定する。

- (2) 被験物質濃度の測定値が設定濃度から±20%以上変動している場合は、測定濃度の平均値に基づきEC₅₀を算定する。

11. 報告事項

- (1) 試験物質について
- (2) 供試生物について
種名、経歴（入手源、飼育方法等）、基準物質のEC₅₀等
- (3) 試験方法について
暴露条件、環境条件、観察、測定項目等
- (4) 試験結果について
- ① EC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)
 - ② EC₅₀の算定方法
 - ③ NOEC (NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記す。)
 - ④ 各観察時間における各試験区での累積遊泳阻害率
 - ⑤ 暴露終了時における濃度－遊泳阻害率曲線のグラフ
 - ⑥ 観察された影響
 - ⑦ 被験物質濃度の測定値(原体を被験物質として用いた場合のみ)
 - ⑧ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
 - ⑨ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の遊泳阻害率が10%を超えてはならない。
- (2) 暴露開始時において対照区のみジンコが水面に浮いていてはならない。
- (3) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。