

環境庁殿

最 終 報 告 書

2-プロパノールのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

(試験番号：91918)

1998 年 4 月 24 日作成

財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター 大宮研究所

陳 述 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 2-プロパノールのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する
繁殖阻害試験

試験番号： 91918

上記試験は契約書別添 2「生態影響試験実施に関する基準」(平成 7 年 9 月 26 日)に
準拠したものである。

1998 年 4 月 24 日

運営管理者



信 頼 性 保 証 書

財団法人 化 学 品 検 査 協 会
化学品安全センター 久留米研究所

試験委託者： 環境庁

表 題： 2-プロパノールのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する
繁殖阻害試験

試験番号： 91918

本試験は試験計画書及び標準操作手順書に従って実施され、本報告書には試験に使用した方法、手順が正確に記載されており、試験結果は生データを正確に反映していることを下記の通り確認した。

監査又は査察内容	実施日	報告日(運営管理者)	報告日(試験責任者)
試験計画書監査	1997年12月22日	1997年12月22日	1997年12月22日
試験計画書の変更監査	1998年 3月31日	1998年 3月31日	1998年 3月31日
試験実施状況査察	1998年 1月26日	1998年 1月29日	1998年 1月29日
試験実施状況査察	1998年 2月12日	1998年 2月17日	1998年 2月17日
試験実施状況査察	1998年 2月16日	1998年 2月17日	1998年 2月17日
最終報告書監査	1998年 4月24日	1998年 4月24日	1998年 4月24日

1998年 4月24日

信頼性保証部門責任者



試験実施概要

1 表 題

2-プロパノールのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

2 試験目的

2-プロパノールについて、オオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験を21日間行い、繁殖状態に及ぼす最小作用濃度(LOECr)と最大無作用濃度(NOECr)を求め、できる限り産仔数を50%減少させると算定される濃度(50%繁殖阻害濃度：ErC50)を求める。

3 試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年4月採択)の改訂版であるガイドラインNo.211「オオミジンコ繁殖試験」(1997年4月提案)に準拠した。

4 適用GLP

本試験は契約書別添 2「生態影響試験実施に関する基準」(平成 7 年 9 月 26 日)に準拠した。

5 試験委託者

名 称： 環境庁

住 所： (〒100-0013)東京都千代田区霞が関 1-2-2

6 試験受託者

名 称： 財団法人 化学品検査協会

住 所： (〒136-0071)東京都江東区亀戸 5-6-21

7 試験施設

名 称： 化学品安全センター 久留米研究所

住 所： (〒830-0023)福岡県久留米市中央町 19-14

運営管理者： XXXXXXXXXX

8 試験関係者

試験責任者

[REDACTED]

試験担当者

生物試験担当

[REDACTED]

分析担当

[REDACTED]

試験資料管理部門責任者

[REDACTED]

9 最終報告書の作成

1998年 4 月 24 日

試験責任者

氏名

[REDACTED]

10 試験期間

試験開始日

1997 年 12 月 22 日

試験終了日

1998 年 4 月 24 日

暴露期間

1998 年 1 月 26 日 ～ 1998 年 2 月 16 日

11 保管

試験計画書、生データ、記録文書、最終報告書及び被験物質は、最終報告書作成後10年間、財団法人 化学品検査協会 化学品安全センター 久留米研究所の保管施設に保管する。その後の保管については試験委託者と協議のうえ決定する。

目 次

要 旨	頁
1 被 験 物 質	2
1.1 名称、構造式及び物理化学的性状	2
1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性	3
2 試 験 生 物	3
3 試 験 方 法	4
3.1 試 験 条 件	4
3.2 希 釈 水	4
3.3 試験容器及び恒温槽等	4
3.4 試験濃度の設定	4
3.5 試験液の調製	5
3.6 試験液の分析	5
3.7 試 験 操 作	5
3.8 数値の取扱い	5
4 結果の算出	6
4.1 親ミジンコの半数致死濃度(LC50)の算出	6
4.2 50%繁殖阻害濃度(ErC50)の算出	6
4.3 最大無作用濃度(NOECr)及び最小作用濃度(LOECr)	7
5 結果及び考察	7
5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	7
5.2 試験液中の被験物質濃度	7
5.3 ミジンコの観察結果	7
5.4 親ミジンコの50%致死濃度(LC50)	8
5.5 50%繁殖阻害濃度(ErC50)	8
5.6 繁殖に及ぼす最大無作用濃度(NOECr)及び最小作用濃度(LOECr)	9
5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度、pH及び硬度	9
5.8 試験液の状態	9
Table 1～11	10～19
Figure 1, 2	20, 21
付属資料－1 希釈水の水質	
付属資料－2 試験液の分析方法及び分析チャート	
付属資料－3 ミジンコの観察結果	

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題2-プロパノールのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験試験番号

91918

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.202「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験及び繁殖試験」(1984年4月採択)の改訂版であるガイドラインNo.211「オオミジンコ繁殖試験」(1997年4月提案)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： 2-プロパノール
- 2) 試験生物： オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- 3) 生物数： 20頭/1試験区(1連に付き5頭で1試験区20頭)
- 4) 暴露期間： 21日間
- 5) 暴露方式： 半止水式(1日1回、試験液を交換)
- 6) 試験濃度： 100、31.6及び10.0 mg/L(公比： $\sqrt{10}$)及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区に付き4連
- 8) 試験液量： 1容器(1連)に付き約730 mL
- 9) 試験水温： 20±1℃
- 10) 照 明： 16時間明(1,200 lux以下)/8時間暗
- 11) 試験液中の被験物質の分析： ガスクロマトグラフィー (GC)
(0、1、8、9、17及び18日目)

結 果

- 1) 21日間の親ミジンコの50%致死濃度(LC50)
>100 mg/L
- 2) 21日間の50%繁殖阻害濃度(ErC50)
>100 mg/L
- 3) 最大無作用濃度(NOECr)
≥100 mg/L
- 4) 最小作用濃度(LOECr)
>100 mg/L
(上記濃度は、全て設定値に基づく値)

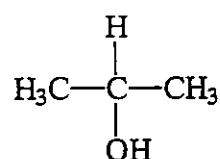
1 被 験 物 質

本報告書において2-プロパノールは、次の名称及び品質等を有するものとする。
被験物質に関する情報については供給者提供の添付資料等によった。

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

- 1) 名 称： 2-プロパノール
(CAS番号 67-63-0)

- 2) 構 造 式：



- 3) 分 子 式： $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$
 4) 分 子 量： 60.10
 5) 外 観： 無色澄明の液体^{*1}
 6) 安 定 性： 不明
 7) 1-オクタノール／水分配係数(logP)： 0.05^{*2}
 8) pKa： 不明
 9) 水への溶解度： 10%以上^{*3}
 10) 蒸 気 圧： 33 mmHg (20℃)^{*2}
 11) 純度及び不純物： 100.0% (GC)^{*1}
 水分 0.01%^{*1}
 不揮発物 0.001%以下^{*1}
 酸 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ として) 0.002%以下^{*1}
 12) ロット番号： TPL7310
 13) 供 給 者： XXXXXXXXXX

情 報 源

- *1： 供給者提供の添付資料
 *2： 化学物質安全情報研究会編「化学物質安全性データブック」(オーム社)
 1994.
 *3： Hazardous Substances Data Bank(HSDB), U.S. National Library of Medicine
 (1995).

1.2 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管した。

入手した被験物質について赤外吸収スペクトルを測定し、被験物質の特性と矛盾が認められないことを確認した。暴露終了後にも同様にスペクトルを測定し、暴露開始前に測定したスペクトルと比較した結果、スペクトルに変化は無かったことより被験物質は当研究所の冷蔵庫に保管中は安定であったと判断された。

2 試験生物

試験には生後24時間令以内のオオミジンコ(*Daphnia magna*)の幼体を用いた。

本種は、英国Sheffield大学(所在地；Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)より分譲されたもののものを、当研究所において継代飼育しているものである。また、基準物質(重クロム酸カリウム、試薬特級、和光純薬工業株式会社)の48時間EiC50は0.141 mg/Lであった。

供試する幼体を得るためのミジンコの飼育方法

継代飼育している2～4週令のミジンコを試験生物の親とした。成熟し幼体を生むようになったら少なくとも、試験前日に幼体を除去した。但し、死亡個体の多いバッチ、休眠卵や雄が生じたバッチのミジンコは使用しなかった。

- 1) 飼育水： 希釈水(3.2参照)
- 2) 飼育密度： 10～30頭／800 mL飼育水
- 3) 水温： 20±1℃
- 4) 照明： 室内光、16時間明／8時間暗
- 5) 餌： 単細胞緑藻類(*Chlorella vulgaris*)
藻類培養液を遠心操作により、希釈水に置換して給餌した。
- 6) 給餌量： ミジンコ1頭当たり*Chlorella vulgaris*を0.1～0.2 mgC(有機炭素含量)／日の割合で与えた。この範囲でミジンコの成育段階に応じて段階的に餌の量を変えて与えた。

3 試験方法

3.1 試験条件

- 1) 暴露方式： 被験物質を含む試験液へ試験生物を暴露する薬浴方式を用いた。試験は密閉式で、1日に1回試験液を交換する半止水式で行った。
- 2) 暴露期間： 21日間
- 3) 連 数： 1試験区に付き4連
- 4) 生物数： 20頭／1試験区(1連に付き5頭で1試験区20頭)
- 5) 試験液量： 1容器(1連)に付き約730 mL
- 6) 試験水温： $20\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 7) 照 明： 室内光、16時間明(1,200 lux以下)／8時間暗
- 8) 給 餌 量： ミジンコ1頭当たり *Chlorella vulgaris* を0.1～0.2 mgC(有機炭素含量)／日の割合で与えた。

3.2 希 釈 水

脱塩素水道水(久留米市水道水を活性炭処理し、残留塩素等を除去したもので、充分通気した)を使用した。希釈水使用時にはオルトトリジン法によって残留塩素濃度が0.02 mg/L以下であることを確認した。

[付属資料-1]

3.3 試験容器及び恒温槽等

- 1) 試 験 容 器： 1,000 mL容のガラス製容器(外径10.0 cm、高さ12.0 cm)に時計皿を用いて密閉容器とした。
- 2) 恒 温 槽： 加温冷却機によって試験容器内の水温を $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ に維持する恒温槽を用いた。
- 3) 水 温 計： 検定済ガラス製棒状温度計
- 4) pH 計： ガラス電極式水素イオン濃度計 HM-14P 型(東亜電波工業)
- 5) 溶存酸素計： 溶存酸素計58型(Yellow Springs Instrument Co., Inc.)
- 6) 硬 度： EDTA滴定法

3.4 試験濃度の設定

急性遊泳阻害試験の結果である48時間 EiC_{50} ($>1,000$ mg/L)及び本試験に先立ち行った予備試験の結果から、試験濃度は100 mg/Lを最高濃度として公比 $\sqrt{10}$ で3濃度区(100、31.6及び10.0 mg/L)を決定した。対照には希釈水のみの対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

各濃度区毎に必要な量の被験物質を希釈水に添加し〔密度(0.786 g/mL)換算し、容量で添加〕、マグネティックスターラーを用いて攪拌を行い、希釈水に溶解して各試験容器に分割した。

3.6 試験液の分析

全試験区(但し、各1試験容器)について、暴露期間中に6回(換水前後のものを3回繰り返し)の頻度で採取し、換水前のものについては遠心分離(3,000 rpmで10分間)をして餌を除いた後、そのまま若しくは希釈してGCにより分析した。試験液の分析に際しては、標準溶液(濃度49.9 mg/L)の測定を行い、そのピーク面積比から定量した。詳細は付属資料-2に示した。

3.7 試験操作

試験液の水溫、溶存酸素濃度、pH及び硬度を測定後、試験生物を投入し、その時点を暴露開始時とした。先端が比較的広口のガラスピペットを用いて試験生物を投入した。その際、試験液量に対して、ピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21日目まで飼育した。暴露期間中は毎日一定量の給餌を行った(3.1参照)。

・ミジンコの観察：

(親ミジンコ) 毎日、生存数、遊泳障害数、大きさと状態を対照区と比較して観察した。死亡した親ミジンコは計数後に取り除いた。

(産出幼体) 毎日、幼体の生死の数及び休眠卵の発生等について観察した。計数後の幼体は取り除いた。最初の幼体産出日を記録した。

・水質測定：水溫、溶存酸素濃度、pH及び硬度を全試験区(但し、各1試験容器)について、暴露期間中に6回(換水前後のものを3回繰り返し)の頻度で測定した。

3.8 数値の取扱い

数値の丸め方は、JIS Z 8202-1985 参考 3 規則 B によった。

4 結果の算出

得られたデータを基に以下3項目の結果を算出した。結果の算出には、被験物質の測定濃度が設定値の±20%以内であったので設定濃度を用いた。

4.1 親ミジンコの半数致死濃度(LC50)の算出

各濃度区での親ミジンコの死亡数と供試個体数(20頭)を用いて、14及び21日目の半数致死濃度(LC50)を算出した。

4.2 50%繁殖阻害濃度(ErC50)の算出

累積産仔数の算出

各試験容器の親1頭当たりの暴露期間中の累積産仔数(TF)及び平均累積産仔数(\overline{TF})を以下の式より求めた。

$$TF = \sum_{n=1}^{ne} \frac{2 \times Fn}{P_{n-1} + P_n}$$

ここで、

n : 幼体観察回数

Fn : n 回目の幼体数(但し、生存幼体)

P_n : 暴露開始後 n 回目の観察時の親の数

P_{n-1} : $n-1$ 回目の親の数

P_0 : 最初に幼体を観察した日の前日の親の数

ne : 最終観察回

(但し、 $P_{n-1} + P_n$ が0の場合は、無視した。)

$$\overline{TF} = \frac{\sum_{n=1}^m TF_n}{m}$$

ここで、

n : 試験容器数

TF_n : 各試験容器の累積産仔数

m : 試験区当たりの系列数(4)

ErC50の算出

14及び21日目の50%繁殖阻害濃度(ErC50)を算出した。但し、供試個体数に対照区の平均累積産仔数を、生存数に各濃度区での平均累積産仔数を適用して計算した。

4.3 最大無作用濃度(NOECr)及び最小作用濃度(LOECr)

4.2に示した方法で算出した各試験容器毎の親1頭当たりの累積産仔数について、Bartlett法による等分散検定を行った後、各濃度区と対照区との有意差の有無を一元配置分散分析により求めた。この結果に初産日の検定結果及び観察された親並びに産出幼体の状態等も含めて、最大無作用濃度(NOECr)及び最小作用濃度(LOECr)を決定した。

5 結果及び考察

5.1 試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

該当する要因はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

試験液調製時の被験物質の測定濃度の設定値に対する割合は90.1～103%、1日後(換水前)で84.2～101%であった。いずれの測定値もほぼ設定どおりであった。

[Table 1 (p.10), 付属資料-2]

5.3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数及び死亡率

対照区での親ミジンコの累積死亡率は暴露終了時で10%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。

死亡は全濃度区でみられ、暴露終了時の累積死亡率は5～20%であり、対照区と統計的に有意差はみられなかった。

(統計的方法：Kruskal-Wallisの順位和検定)

[Table 2 (p.11), Figure 1 (p.20), 付属資料-3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日は平均8.5日であった。

10.0 mg/L区での初産日は平均8.8日、31.6及び100 mg/Lでの初産日は平均9日であり、対照区と有意差はなかった。

(統計的方法：Kruskal-Wallisの順位和検定)

[Table 3 (p.12)]

平均累積産仔数

対照区での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は92頭であり、試験成立条件である60頭の基準を満たした。

10.0、31.6及び100 mg/L区での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数はそれぞれ100、96及び101頭であり、対照区と有意差はみられなかった。

(統計的方法：一元配置分散分析)

[Table 4 (p.13), Figure 2 (p.21), 付属資料-3]

親ミジンコの大きさや状態

すべての濃度区において、死亡に至る個体を除き対照区と比較して大きさや状態に違いはみられなかった。

休眠卵の発生等

暴露期間中、休眠卵の発生はいずれの試験区でもみられなかった。

落下卵はいずれの試験区でも観察され、試験区間で差はほとんどなかった。

5.4 親ミジンコの50%致死濃度(LC50)

設定濃度に基づいて算出した14及び21日間の親ミジンコの50%致死濃度(LC50)は共に>100 mg/Lであった。

[Table 5 (p.14)]

5.5 50%繁殖阻害濃度(ErC50)

設定濃度に基づいて算出した14及び21日間の50%繁殖阻害濃度(ErC50)は共に>100 mg/Lであった。

[Table 6 (p.14)]

5.6 繁殖に及ぼす最大無作用濃度(NOECr)及び最小作用濃度(LOECr)

親ミジンコの繁殖に及ぼす21日間の最大無作用濃度(NOECr)は ≥ 100 mg/Lであり、最小作用濃度(LOECr)は > 100 mg/Lであった。

(上記濃度は、全て設定濃度を示す)

(統計的方法：一元配置分散分析)

[Table 7 (p.15)]

5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度、pH及び硬度

暴露期間中に測定した水温は $20.1 \sim 20.6^{\circ}\text{C}$ であり、 $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の範囲であった。

溶存酸素濃度は $7.6 \sim 9.0$ mg/Lであり、飽和溶存酸素濃度の60%以上であった(20.0°C の飽和溶存酸素濃度： 8.84 mg/L)。pHは $7.3 \sim 8.0$ であり、変動は1以下であった。硬度は $36.4 \sim 41.6$ mgCaCO₃/Lであった。

以上のことから、水温、溶存酸素濃度、pH及び硬度については、ミジンコの生育条件としては適切な範囲であったと思われる。

[Table 8～11 (p.16～19)]

5.8 試験液の状態

試験液調製時には無色透明であり、換水前ではクロレラを給餌したことにより淡緑色を呈していた。

以 上

Table 1. Concentrations of 2-propanol in reproduction test using *Daphnia magna* under semi-static conditions

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)			
	0-day ^{a)}	1-day ^{b)}	8-day ^{a)}	9-day ^{b)}
Control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10.0	9.58 (95.8)	9.62 (96.2)	9.01 (90.1)	8.42 (84.2)
31.6	30.4 (96.2)	30.0 (94.9)	29.8 (94.3)	29.7 (94.0)
100	103 (103)	101 (101)	96.8 (96.8)	98.3 (98.3)

Table 1. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)		Time-weighted mean ^{c)} (mg/L)
	17-day ^{a)}	18-day ^{b)}	
Control	n.d.	n.d.	-
10.0	9.89 (98.9)	9.19 (91.9)	9.28 (92.8)
31.6	30.8 (97.4)	29.8 (94.2)	30.1 (95.2)
100	99.0 (99.0)	98.2 (98.2)	99.5 (99.5)

n.d. : < 6.24 mg/L

a) fresh solutions

b) expired solutions

c) The values are expressed as time-weighted means calculated by the following equation:

$$\{1(C_0-C_1)/(\ln C_0-\ln C_1)+1(C_8-C_9)/(\ln C_8-\ln C_9)+1(C_{17}-C_{18})/(\ln C_{17}-\ln C_{18})\}/3$$

where

C_x : the measured concentration at x-day

$\ln C_x$: the natural logarithm of C_x .

Table 2. Cumulative number of dead parental *Daphnia* during exposure to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Exposure time (day)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
10.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
31.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
100	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)

Table 2. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Exposure time (day)										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(5.0)	(5.0)	(10.0)
10.0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)
31.6	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	4
	(0)	(0)	(0)	(0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(10.0)	(10.0)	(20.0)
100	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2
	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(5.0)	(10.0)	(10.0)

The values in parentheses express mortality (%) of *Daphnia*.

Table 3. Time (days) required to first brood production during exposure to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Vessel No.				Mean
	1	2	3	4	
Control	8	9	9	8	8.5
10.0	9	9	8	9	8.8
31.6	9	9	9	9	9.0
100	9	9	9	9	9.0

Table 4. Mean cumulative number of juveniles produced per adult ($\Sigma F_1/P$) during exposure to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Exposure time (day)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	1.7	10.7	16.1
10.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.8	14.6	16.5
31.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13.2	16.3
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.1	15.9

Table 4. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Exposure time (day)										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	18.0	32.2	40.0	44.0	48.9	69.5	73.3	75.7	89.2	91.4	92.2
10.0	17.6	41.5	43.7	45.4	69.0	76.7	76.7	80.4	99.8	99.8	100
31.6	16.3	39.5	44.5	44.5	64.5	71.0	71.0	73.8	95.8	95.8	95.9
100	15.9	42.9	44.9	44.9	66.7	79.1	79.1	83.8	101	101	101

Table 5. Calculated LC50 values of 2-propanol for parental *Daphnia* based on nominal concentrations

Exposure time (day)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
14	>100	-	-
21	>100	-	-

Table 6. Calculated ErC50 values of 2-propanol for inhibition of reproduction based on nominal concentrations

Exposure time (day)	ErC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
14	>100	-	-
21	>100	-	-

Table 7. Significance test of difference between the mean cumulative numbers of juveniles produced per adult in control and test vessels after 21days exposure to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)	Vessel No.				Mean	S.D.	Significant difference
	1	2	3	4			
Control	100	80	87	102	92	10.4	
10.0	89	101	104	108	100	8.4	
31.6	102	105	76	101	96	13.6	
100	101	107	102	94	101	5.4	

Table 8. Temperature of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)		Temperature (°C)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	17-day	18-day
Control	new	20.6		20.1		20.5	
	old		20.3		20.5		20.6
10.0	new	20.6		20.1		20.5	
	old		20.3		20.5		20.6
31.6	new	20.6		20.1		20.5	
	old		20.3		20.5		20.6
100	new	20.6		20.1		20.5	
	old		20.3		20.5		20.6

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours

Table 9. Dissolved oxygen concentrations of test solutions during 21-day
Daphnia reproduction test to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)		Dissolved oxygen concentration (mg/L)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	17-day	18-day
Control	new	8.8		8.8		8.6	
	old		9.0		8.6		8.0
10.0	new	8.8		8.8		8.6	
	old		9.0		8.1		7.6
31.6	new	8.8		8.8		8.6	
	old		9.0		8.2		7.6
100	new	8.8		8.8		8.6	
	old		9.0		8.1		7.7

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours

Table 10. pH values of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)		pH					
		0-day	1-day	8-day	9-day	17-day	18-day
Control	new	7.4		7.8		8.0	
	old		7.7		7.6		7.4
10.0	new	7.5		7.8		7.8	
	old		7.7		7.5		7.3
31.6	new	7.5		7.8		7.8	
	old		7.7		7.5		7.3
100	new	7.5		7.8		7.8	
	old		7.7		7.5		7.4

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours

Table 11. Total hardness of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to 2-propanol

Nominal concentration (mg/L)		Total hardness (mgCaCO ₃ /L)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	17-day	18-day
Control	new	37.4		40.8		37.4	
	old		37.2		40.4		38.0
10.0	new	37.0		40.2		37.4	
	old		37.0		40.4		38.0
31.6	new	36.4		40.4		38.0	
	old		36.8		41.0		37.8
100	new	36.4		41.2		36.6	
	old		36.8		41.6		37.8

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 24 hours

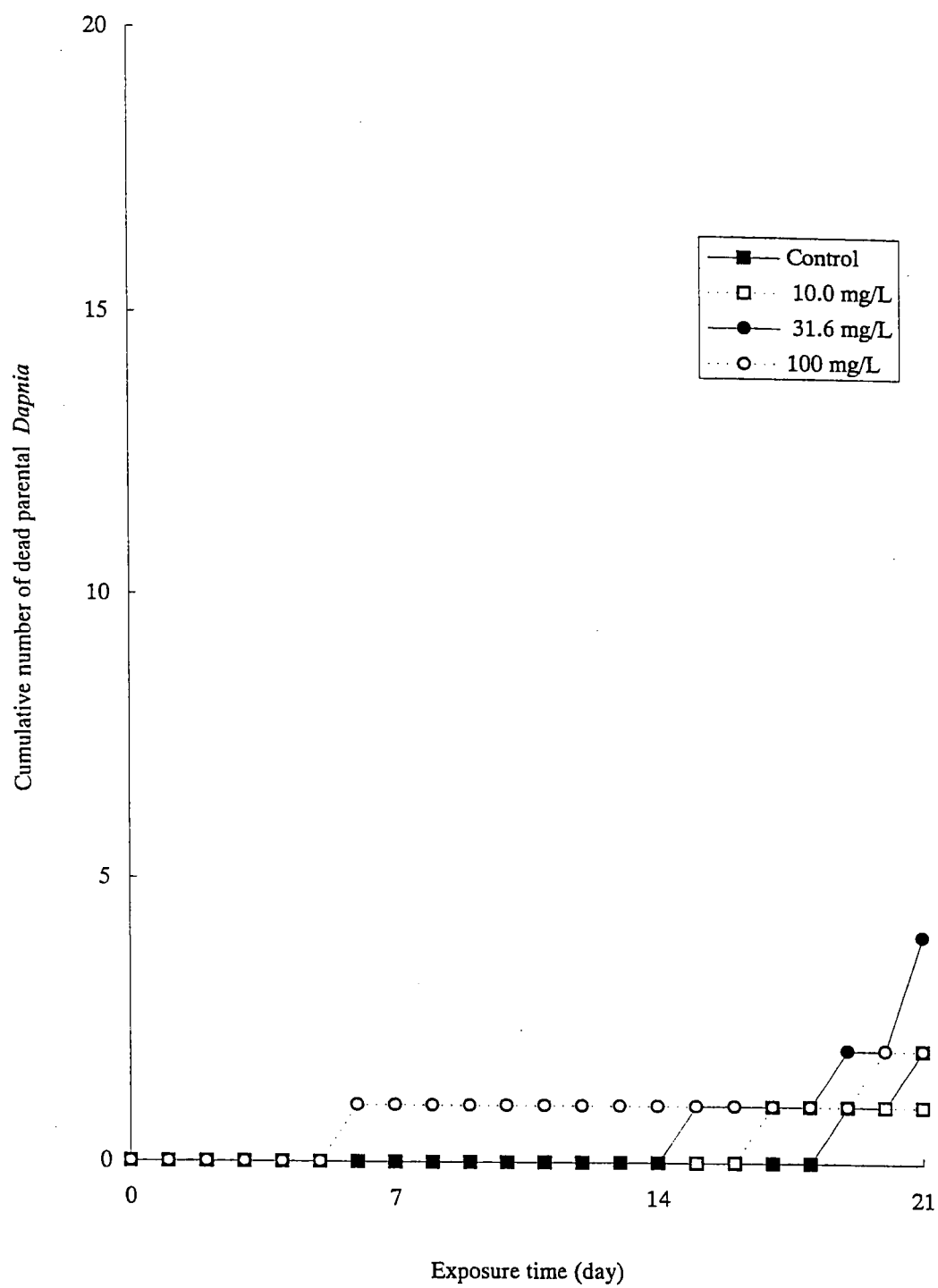


Figure 1. Cumulative number of dead parental *Daphnia*.

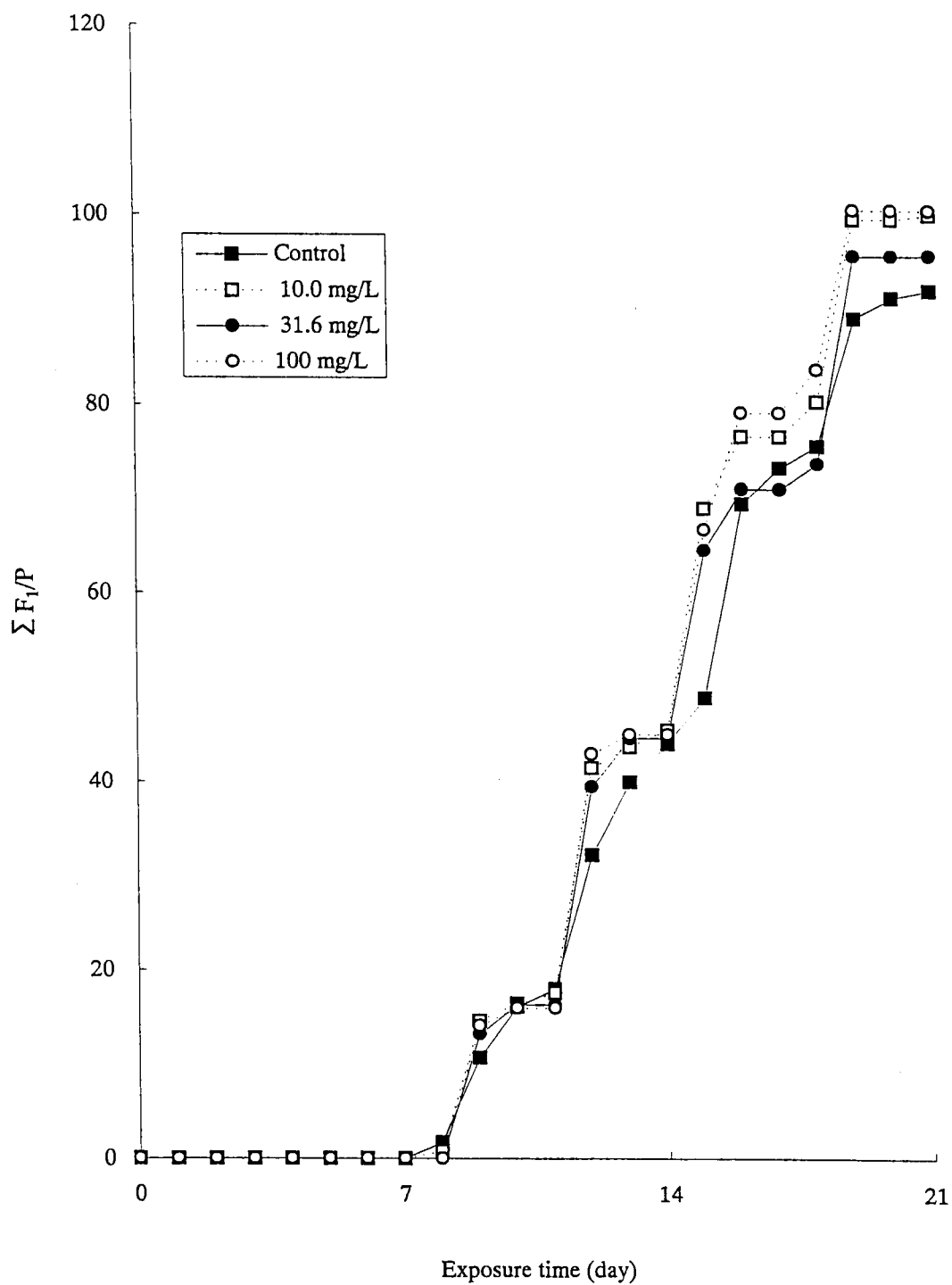


Figure 2. Mean cumulative number of juveniles produced per adult ($\Sigma F_1/P$).

付属資料－1

希釈水の水質

(全 2 頁)

Appendix 1. Water quality of dilution water

Parameter	Concentration	Lower limit
	1997.Aug.21	of detection
pH	7.6	
COD (mg/L)	<0.5	
Coliform group bacteria (MPN/100mL)	0	
Total phosphorus (mg/L)	0.004	
Total mercury (mg/L)	n.d.	0.0005
Copper (mg/L)	n.d.	0.005
Cadmium (mg/L)	n.d.	0.005
Zinc (mg/L)	n.d.	0.01
Lead (mg/L)	n.d.	0.005
Aluminium (mg/L)	n.d.	0.1
Nickel (mg/L)	n.d.	0.01
Total chromium (mg/L)	n.d.	0.02
Manganese (mg/L)	n.d.	0.01
Tin (mg/L)	n.d.	0.5
Iron (mg/L)	0.03	0.01
Cyanide (mg/L)	n.d.	0.1
Free chlorine (mg/L)	n.d.	0.01
Bromide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Fluoride (mg/L)	n.d.	0.15
Sulfide ion (mg/L)	n.d.	0.1
Ammonia nitrogen (mg/L)	n.d.	0.01
Arsenic (mg/L)	n.d.	0.002
Selenium (mg/L)	n.d.	0.002
Evaporation residue (mg/L)	116	
Electric conductivity (μs/cm)	148	
Total hardness (as CaCO ₃) (mg/L)	40.5	
Alkalinity (mg/L)	29.0	
Sodium (mg/L)	10.2	
Potassium (mg/L)	2.92	
Calcium (mg/L)	10.4	
Magnesium (mg/L)	3.52	

Appendix 1. (continued)

Parameter		Concentration	Lower limit of detection
		1997.Aug.21	
1,2-Dichloropropane	(mg/L)	n.d.	0.006
Diazinon	(mg/L)	n.d.	0.0005
Isoxathion	(mg/L)	n.d.	0.0008
Fenitrothion (MEP)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Isoprothiolane	(mg/L)	n.d.	0.004
Oxine cupper	(mg/L)	n.d.	0.004
Chlorothalonil (TPN)	(mg/L)	n.d.	0.004
Propyzamide	(mg/L)	n.d.	0.0008
EPN	(mg/L)	n.d.	0.0006
Dichlorvos (DDVP)	(mg/L)	n.d.	0.001
Fenobucarb (BPMC)	(mg/L)	n.d.	0.002
Iprobenfos (IBP)	(mg/L)	n.d.	0.0008
Chlornitrofen (CNP)	(mg/L)	n.d.	0.0005
Thiram	(mg/L)	n.d.	0.0006
Simazine (CAT)	(mg/L)	n.d.	0.0003
Thiobencarb	(mg/L)	n.d.	0.002
PCB	(mg/L)	n.d.	0.0005

n.d. : not detected

付属資料－2

試験液の分析方法及び分析チャート

(全 6 頁)

試 験 名 : ミジンコ繁殖阻害試験

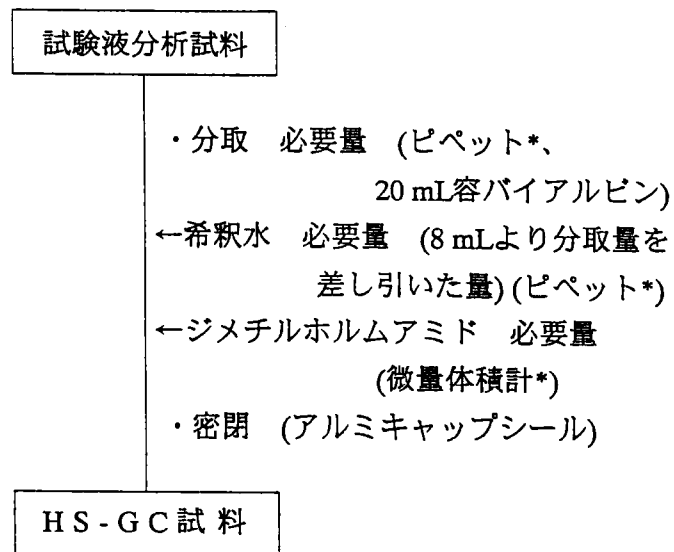
被験物質物質名 : 2-プロパノール

1) 試験液の分析方法

(1) 試験液の前処理操作

採水した溶液は、以下のフロースキームに従いヘッドスペース-ガスクロマトグラフィー(HS-GC)によって分析した。

フロースキーム



* エッペンドルフ社製

HS-GC試料中の被験物質濃度は、クロマトグラム上の被験物質のピーク面積を濃度既知の標準溶液のピーク面積と比較し、比例計算して求めた。

(2) 被験物質溶液の調製

被験物質127 μL [99.8 mg=127 μL ×0.786 g/mL(密度)]をマイクロシリンジで分取し、ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解して3,990 mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをDMFで希釈して998 mg/Lの被験物質溶液を調製した。

(3) 標準溶液の調製

分析試料中の被験物質濃度を求めるための標準溶液の調製は次のようにして行った。20 mL容バイアルビンに希釈水8 mLを添加し、これに3,990 mg/Lの被験物質溶液を100 μL 、更にDMF含有量が2.5%になるようにDMFを添加した後、直ちにアルミキャップシールを行い、49.9 mg/Lの標準溶液とした。

2) 定量条件

ヘッドスペース オートサンプラー条件

機 器	PERKIN ELMER Head Space Sampler HS40 PERKIN ELMER製
サンプル加熱温度	90℃
ニードル温度	140℃
トランスファー温度	150℃
注 入 時 間	0.08分
加 熱 時 間	30分

ガスクロマトグラフ条件

機 器	ガスクロマトグラフ HEWLETT PACKARD製 HP 5890 Series- II
検 出 器	水素炎イオン化検出器 (FID)
カ ラ ム	50 m×0.25 mm
液 相	NeutraBond-1 膜厚 1.5 μm
カラム温度	40℃ (1 min)→170℃ (1 min)
昇 温 速 度	10℃/min
試料導入部温度	200℃
検 出 器 温 度	250℃
スプリット比	1 : 75
キャリアーガス	ヘリウム 150 kpa
水 素	2.2 Kg/cm ²
空 気	2.8 Kg/cm ²
感 度	
検 出 器	レンジ 2 ⁰ 、1 V/FS
記 録 計	ATTEN 2 ⁶

3) 検量線の作成

(3)の標準溶液の調製と同様にして25.0、49.9及び99.8 mg/Lの標準溶液を調製した。また、998 mg/Lの被験物質溶液より6.24 mg/Lの標準溶液を調製した。これらを分析機器の定量条件に従って分析し、得られたそれぞれのクロマトグラム上のピーク面積と濃度により、検量線を作成した。

Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area (μ V·sec)
1	6.24	8141
2	25.0	33749
3	49.9	66923
4	99.8	138540

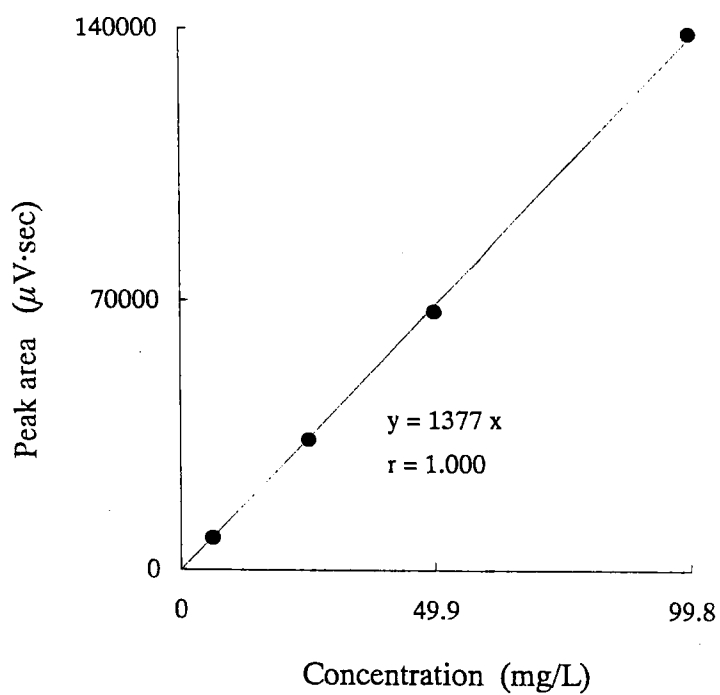


Figure 1. Calibration curve of 2-propanol by GC analysis.

Content of figure

- Figure 1. Calibration curve of 2-propanol by GC analysis.
- Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 0-day)
- Figure 2-2. Example of chromatogram.
(fresh test solution of 31.6 mg/L as nominal concentration,
0-day)
- Figure 2-3. Example of chromatogram.
(fresh test solution of control, 0-day)
- Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 1-day)
- Figure 2-5. Example of chromatogram.
(expired test solution of 31.6 mg/L as nominal concentration,
1-day)
- Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 1-day)

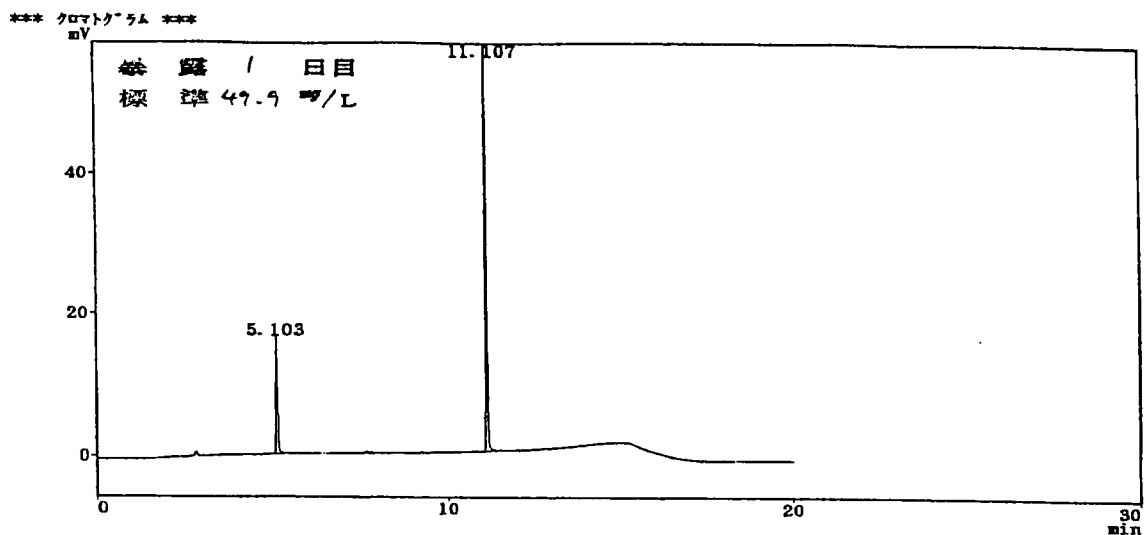


Figure 2-4. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 1-day)

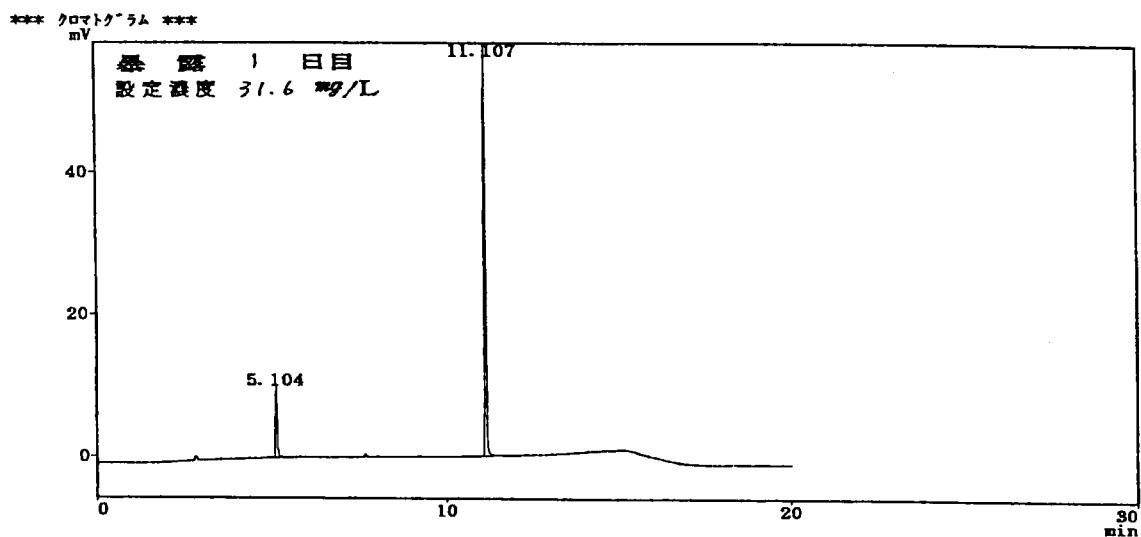


Figure 2-5. Example of chromatogram.
(expired test solution of 31.6 mg/L as nominal concentration, 1-day)

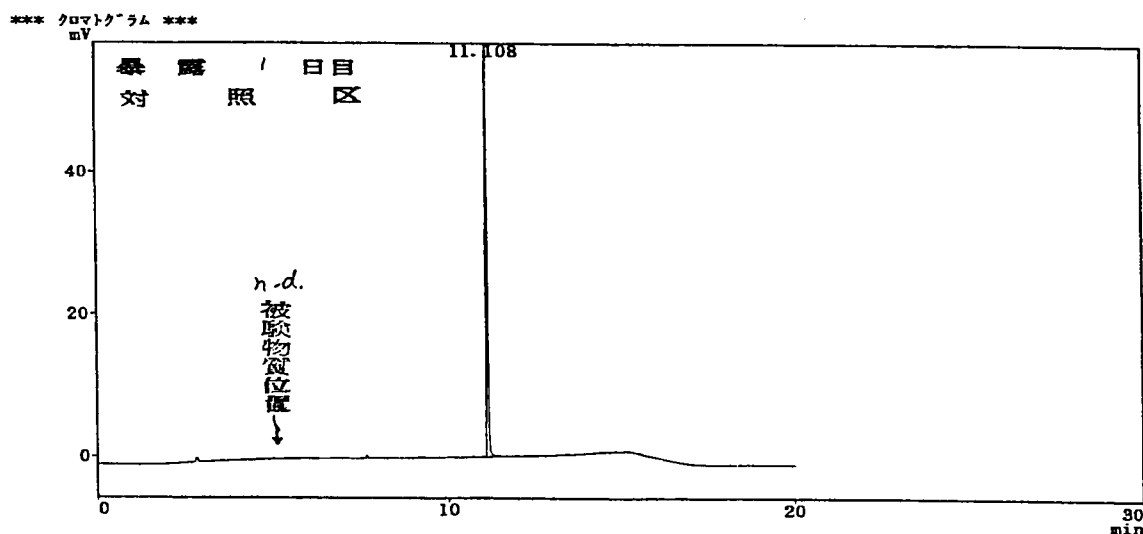


Figure 2-6. Example of chromatogram.
(expired test solution of control, 1-day)

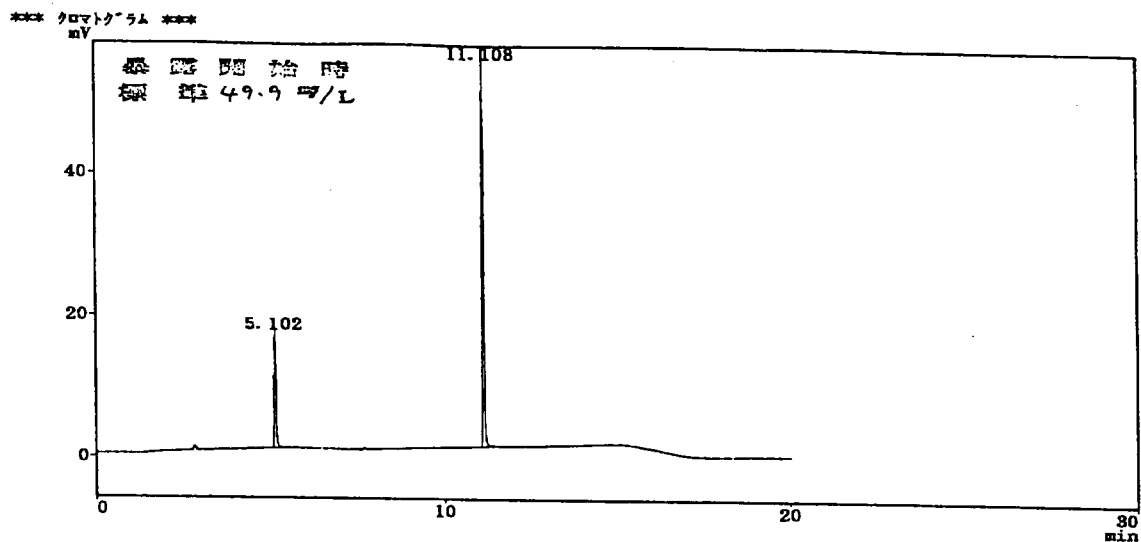


Figure 2-1. Example of chromatogram.
(standard solution of 49.9 mg/L, 0-day)

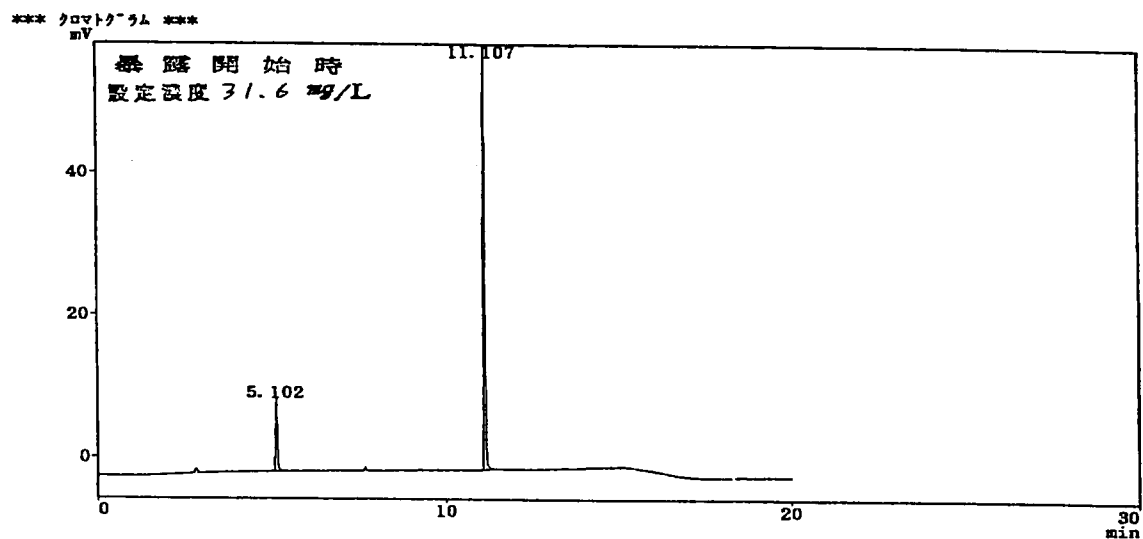


Figure 2-2. Example of chromatogram.
(fresh test solution of 31.6 mg/L as nominal concentration, 0-day)

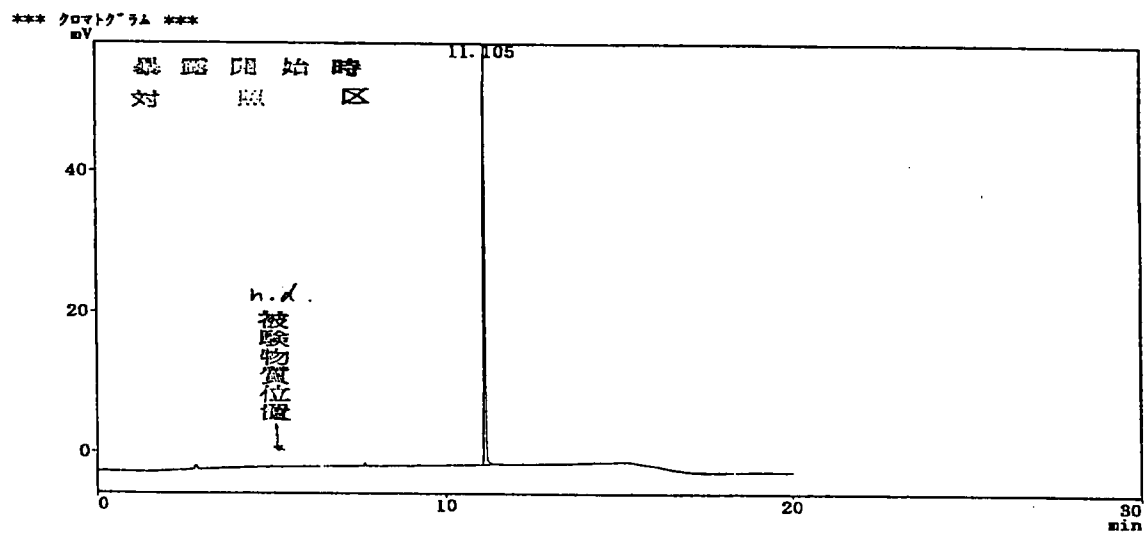


Figure 2-3. Example of chromatogram.
(fresh test solution of control, 0-day)

付属資料－3

ミジンコの観察結果

(全4頁)

Appendix 3-1. Result of reproduction test

(Nominal concentration : Control)

(Nominal concentration : Control)																								
Rep. No.	Counts		Time																					Total
			1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	3	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	65	0	19	103	0	41	80	18	40	47	33	13	11	487
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	17	65	0	19	103	0	41	80	18	40	47	33	13	11	487
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	13.0	0.0	3.8	20.6	0.0	8.2	16.0	3.6	8.0	9.4	7.3	3.3	3.1	100
2	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	33	46	0	22	80	0	0	147	0	0	73	0	0	401
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	33	46	0	22	81	0	0	147	0	0	73	0	0	402
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.6	9.2	0.0	4.4	16.0	0.0	0.0	29.4	0.0	0.0	14.6	0.0	0.0	80
3	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	62	16	0	108	17	0	19	133	0	0	80	0	0	435
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	62	16	0	108	17	0	19	133	0	0	83	0	0	438
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.4	3.2	0.0	21.6	3.4	0.0	3.8	26.6	0.0	0.0	16.0	0.0	0.0	87
4	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	20	45	20	50	59	39	0	114	36	0	82	27	1	510
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	17	20	45	20	50	59	39	0	114	36	0	82	27	1	510
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	4.0	9.0	4.0	10.0	11.8	7.8	0.0	22.8	7.2	0.0	16.4	5.4	0.2	102
		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.4	7.4	16.4	20.4	30.4	42.2	50.0	50.0	72.8	80.0	80.0	96.4	101.8	102.0		

Appendix 3-2. Result of reproduction test

(Nominal concentration : 10.0 mg/L)

(Nominal concentration : 10.0 mg/L)																								
Rep. No.	Counts		Time																					Total
			1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	60	18	0	101	25	0	83	66	0	0	90	0	0	443
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	60	18	0	101	25	0	83	66	0	0	93	0	0	446
			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.0	3.6	0.0	20.2	5.0	0.0	16.6	13.2	0.0	0.0	18.0	0.0	0.0	89
2	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	68	18	0	127	19	0	140	39	0	0	92	0	0	503
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	68	18	0	127	19	0	140	39	0	0	92	0	0	503
			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13.6	3.6	0.0	25.4	3.8	0.0	28.0	7.8	0.0	0.0	18.4	0.0	0.0	101
3	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	67	1	22	107	0	35	90	32	0	56	83	0	10	518
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	4
	Total		0	0	0	0	0	0	0	15	68	1	22	107	0	35	91	32	0	56	83	0	12	522
			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	13.4	0.2	4.4	21.4	0.0	7.0	18.0	6.4	0.0	11.2	16.6	0.0	2.0	104
4	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	82	0	0	143	0	0	159	16	0	15	98	0	0	513
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	82	0	0	143	0	0	159	16	0	15	98	0	0	513
			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.4	0.0	0.0	28.6	0.0	0.0	31.8	3.2	0.0	3.8	24.5	0.0	0.0	108
Cumulative reproductivity			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.4	16.4	16.4	45.0	45.0	45.0	76.8	80.0	80.0	83.8	108.3	108.3	108.3		

Appendix 3-3. Result of reproduction test

(Nominal concentration : 31.6 mg/L)

Appendix 3-3. Result of reproduction test.

(Nominal concentration : 31.6 mg/L)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	67	15	0	140	3	0	102	59	0	0	124	0	0	510
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	67	15	0	140	3	0	102	59	0	0	124	0	0	510
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13.4	3.0	0.0	28.0	0.6	0.0	20.4	11.8	0.0	0.0	24.8	0.0	0.0	102
2	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	71	5	0	145	0	0	140	41	0	37	83	0	1	523
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	71	5	0	145	0	0	140	41	0	37	85	0	1	525
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.2	1.0	0.0	29.0	0.0	0.0	28.0	8.2	0.0	7.4	16.6	0.0	0.2	105
3	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	44	42	0	43	98	0	31	30	0	1	89	0	0	378
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	44	42	0	43	98	0	31	30	0	1	90	0	0	379
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8.8	8.4	0.0	8.6	19.6	0.0	6.2	6.0	0.0	0.2	17.8	0.0	0.0	76
4	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	3	3	3	3	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	82	0	0	135	0	0	115	0	0	13	102	0	0	447
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	83	0	0	135	0	0	115	0	0	13	102	0	0	448
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.4	0.0	0.0	27.0	0.0	0.0	25.6	0.0	0.0	3.3	29.1	0.0	0.0	101
Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.4	16.4	16.4	43.4	43.4	43.4	69.0	69.0	69.0	72.2	101.3	101.3	101.3		

Appendix 3-4. Result of reproduction test

(Nominal concentration : 100 mg/L)

Rep. No.	Counts		Time																					Total
			1/27	1/28	1/29	1/30	1/31	2/1	2/2	2/3	2/4	2/5	2/6	2/7	2/8	2/9	2/10	2/11	2/12	2/13	2/14	2/15	2/16	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	62	18	0	142	4	0	109	62	0	21	85	0	0	503
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	62	18	0	142	4	0	109	62	0	21	85	0	0	503
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.4	3.6	0.0	28.4	0.8	0.0	21.8	12.4	0.0	4.2	17.0	0.0	0.0	101
2	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	85	0	0	150	0	0	143	28	0	71	56	0	0	533
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	85	0	0	150	0	0	143	28	0	71	56	0	0	533
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	17.0	0.0	0.0	30.0	0.0	0.0	28.6	5.6	0.0	14.2	11.2	0.0	0.0	107
3	P generation	Live	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	75	0	0	142	0	0	91	83	0	0	120	0	0	511
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	75	0	0	144	0	0	91	83	0	0	120	0	0	513
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	15.0	0.0	0.0	28.4	0.0	0.0	18.2	16.6	0.0	0.0	24.0	0.0	0.0	102
4	P generation	Live	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	-
		Dead	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	-
	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	48	15	0	84	29	0	75	60	0	1	62	0	0	374
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total		0	0	0	0	0	0	0	0	48	15	0	84	29	0	75	60	0	1	62	0	0	374
	Cumulative reproductivity		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	12.0	3.8	0.0	21.0	7.3	0.0	18.8	15.0	0.0	0.3	15.5	0.0	0.0	94