

環境庁殿

## 試 験 報 告 書

3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オ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：NMMP/E98/3030)

平成11年8月25日作成

株式会社 東レリサーチセンター

# 陳 述 書

株式会社 東レリサーチセンター  
名古屋研究部

試験委託者 : 環境庁

表題 : 3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オ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 : NMMP/E98/3030

上記試験は環境庁のGLP規則に従って実施したものである。

平成 11 年 8 月 25 日

運営管理者

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

# 信頼性保証証明

株式会社 東レリサーチセンター  
名古屋研究部

試験委託者：環境庁

表題：3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オ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：NMMP/E98/3030

本試験は試験計画書およ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。

## 記

	実施日	運営管理者および 試験責任者への報告日
試験実施状況査察	平成 11 年 3 月 17 日	平成 11 年 3 月 19 日
試験報告書監査	平成 11 年 8 月 10 日	平成 11 年 8 月 10 日

平成 11 年 8 月 25 日

信頼性保証担当者

： 

## 試験実施概要

1. 表題 : 3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オールのおオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験
2. 試験目的 : 3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オールについて、おオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験を 21 日間行い、最小作用濃度 (LOEC) と最大無作用濃度 (NOEC) を求め、可能な限り 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) も求める。
3. 適用ガイドライン : 本試験は、OECD 化学品テストガイドライン No. 202 「ミジンコ類、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」 (1984 年 4 月採択) の改訂版であるガイドライン No. 211 「おオミジンコ繁殖試験」 (1997 年 4 月提案) に準拠して実施した。
4. 適用 G L P : 本試験は環境庁の G L P 規則に準拠した。
5. 試験委託者  
名称 : 環境庁  
住所 : (〒100-8975) 東京都千代田区霞が関 1-2-2  
委託責任者 : 企画調整局環境保健部環境安全課環境リスク評価室 室長補佐 XXXXXXXXXX
6. 試験受託者  
名称 : 株式会社 東レリサーチセンター  
所在地 : (〒103-0022) 東京都中央区日本橋室町 3-1-8 都ビル内
7. 試験施設  
名称 : 株式会社 東レリサーチセンター 名古屋研究部  
所在地 : (〒455-8502) 愛知県名古屋市港区大江町 9-1

8. 試験関係者：

試験責任者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 25 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)
試験担当者	[Redacted]	[Redacted]	(平成 11 年 8 月 23 日)

9. 試験期間： 試験開始日 平成 10 年 12 月 18 日  
暴露期間 平成 11 年 2 月 24 日 ~ 平成 11 年 3 月 17 日  
試験終了日 平成 11 年 8 月 25 日

10. 保管：

試験計画書、生データ、記録文書および試験報告書は、試験報告書作成後 10 年間、株式会社 東レリサーチセンター名古屋研究部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

	頁
要 旨 .....	7
1 被験物質 .....	9
1.1 名称、構造式および物理化学的性状 .....	9
1.2 供試試料 .....	9
1.3 被験物質の確認、保管方法および保管条件下での安定性 .....	9
2 供試生物 .....	10
3 試験方法 .....	10
3.1 試験条件 .....	10
3.2 希釈水 .....	11
3.3 試験容器および恒温槽等 .....	11
3.4 試験濃度の設定 .....	11
3.5 試験液の調製 .....	11
3.6 試験液の分析 .....	12
3.7 試験操作 .....	12
4 結果の算出 .....	13
4.1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出 .....	13
4.2 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) の算出 .....	13
4.3 最大無作用濃度 (NOECr) および最小作用濃度 (LOECr) .....	13
5 結果および考察 .....	14
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 .....	14
5.2 試験液中の被験物質濃度 .....	14
5.3 ミジンコの観察結果 .....	14
5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) .....	15
5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) .....	15
5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOECr) および最小作用濃度 (LOECr) .....	15
5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度および pH .....	15
Table 1-1~11 .....	16~29
Figure 1,2 .....	20, 23
付属資料-1 希釈水 (M4 調製水) .....	30
付属資料-2 試験液の分析方法 .....	32
付属資料-3 ミジンコの観察結果 .....	41

## 要 旨

### 試験委託者

環境庁

### 表 題

3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オ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

NMMP/E98/3030

### 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、急性遊泳阻害試験および繁殖試験」 (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 : 3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オール
- 2) 暴露方法 : 半止水式 (週に3回、試験液の全量を交換)
- 3) 供試生物 : オオミジンコ (*Daphnia magna*)
- 4) 暴露期間 : 21 日間
- 5) 試験濃度 : 対照区、助剤対照区、2.7mg/L、4.8mg/L、8.6mg/L、15.4mg/L、27.8mg/L および50.0mg/L (設定濃度)  
(公比1.8、助剤 HCO-50、100mg/L)
- 6) 試験液量 : 1 容器 (連) につき 80 mL
- 7) 連数 : 10 容器 (連) / 濃度区
- 8) 供試生物数 : 10 頭 / 濃度区 (1 連につき 1 頭)
- 9) 試験水温 : 20±1°C
- 10) 照明 : 室内光、16 時間明 / 8 時間暗
- 11) 被験物質の分析 : GC 法

## 結 果

### 1) 試験液中の被験物質濃度

実測濃度が設定濃度の±20%を外れたので結果の算出には実測濃度の時間加重平均値を用いた。

### 2) 21日間の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

= 33.9mg/L (95%信頼区間 : 21.6mg/L~162.5mg/L)

### 3) 21日間の50%繁殖阻害濃度 (ErC50)

= 16.5mg/L (95%信頼区間 : 14.7mg/L~18.7mg/L)

### 4) 21日間の最大無作用濃度 (NOECr) = 9.5mg/L

### 5) 21日間の最小作用濃度 (LOECr) = 18.2mg/L

(上記濃度は、実測濃度の時間加重平均値に基づく値)



## 2 供試生物

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

本種は、平成7年11月15日に国立環境研究所より入手したものを、当研究部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）による48時間の半数遊泳阻害濃度 (EiC50) は 0.84mg/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

継代中のものから幼体を抱えた肉眼的に健康かつ十分な大きさの雌成体を選別して、別に用意したビーカーに移し、翌日に産出された幼体を別のビーカーに分けた。この幼体(平成11年2月9日生まれ)を供試ミジンコの親とし、以下の条件で飼育した。成熟し幼体を産むようになったら、1週間に少なくとも2回以上幼体を除去した。3週目に入り暴露開始前日に、その前15日間の死亡率が0.0%で休眠卵や雄が発生しなかったバッチから、育房内に幼体を持つ雌成体を選別し、翌日(24時間以内)産出された幼体を試験に用いた(平成11年2月24日暴露開始)。

- 飼育水 : 希釈水 (3.2参照)
- 飼育密度 : 20~40 頭/L 飼育水 (但し、成熟個体の場合は、20頭以下/Lとした)
- 水温 : 20±1℃
- 照明 : 室内光、16時間明/8時間暗
- 餌 : *Chlorella regularis*
- 給餌量 : ミジンコ 1頭当たり 0.1~0.2 mgC (有機炭素含量) /日

## 3 試験方法

### 3.1 試験条件

- 1) 暴露方法 : 暴露は半止水式で行い、週に3回、試験液を全量交換した。
- 2) 暴露期間 : 21日間
- 3) 試験液量 : 1容器につき 80 mL
- 4) 連数 : 10容器 (連) /濃度区
- 5) 生物数 : 10頭/濃度区 (1連につき1頭)
- 6) 試験温度 : 20±1℃
- 7) 照明 : 室内光、16時間明(1200 lux以下)/8時間暗
- 8) 餌 : *Chlorella regularis*
- 9) 給餌量 : ミジンコ 1頭当たり 0.1~0.2 mgC(有機炭素含量)/日

### 3.2 希釈水

OECD改訂ガイドライン No. 211の付表 (ANNEX 2) に記載してある Elendt M4を用いた。希釈水の全硬度は223mg/L (CaCO<sub>3</sub>換算)、pHは 7.3であった。

[付属資料-1 (p. 30)]

### 3.3 試験容器および恒温槽等

試験容器	: 100mL 容、ガラス容器
恒温槽	: 恒温水槽および水循環装置 (ヤマト科学 クールライン CL100)
水温計	: pH計内蔵温度計 (堀場製作所 カスター-LAB pHメーター F-22)
pH計	: 堀場製作所 カスター-LAB pHメーター F-22
溶存酸素計	: 堀場製作所 DOメーター OM-14
電気伝導率計	: 全硬度測定 (東亜電波 ホータブル電気伝導率計 CM-14P)

### 3.4 試験濃度の設定

オオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害試験の結果 (48hr-EiC50値 : 51.9mg/L) から、それ以下の濃度を公比 1.8で6段階設定した。各濃度区は以下のとおりである。

対照区、助剤対照区、2.7mg/L、4.8mg/L、8.6mg/L、15.4mg/L、27.8mg/Lおよび50.0mg/L

### 3.5 試験液の調製

- 1) 試験開始前に調製した被験物質 2000mg/L原液 (助剤HCO-50 4000mg/L) を換水毎に希釈水に添加し、かつ、各濃度区の助剤濃度が100mg/Lとなるように助剤原液 (HCO-50 4000mg/L) を追加して、設定濃度の試験液を必要量調製した。
- 2) 希釈水のみ対照区およびHCO-50を100mg/L加えた助剤対照区を設けた。
- 3) 1濃度区につき10個の試験容器を用意し、各試験容器に試験液を80mLずつ入れた。
- 4) 試験液の状態 (外観等) を記録した。無色透明で沈殿等は見られなかった。

### 3.6 試験液の分析

全濃度区（但し、各1試験容器）について、暴露期間中に3回（調製時および換水前で1回）、即ち試験開始時（0日目）、7日目および14日目の試験液調製時とそれぞれの2日後（換水前）に各ビーカーより試験液 1.0～2.0mLを採取し、GC分析により被験物質濃度を分析した。試験液の分析に際しては、測定日毎に標準溶液（濃度 100mg/L）の測定を行い、検量係数を求めて被験物質濃度を測定した。

詳細は付属資料－2（p. 32）に示した。

### 3.7 試験操作

試験液の水溫、溶存酸素濃度（D.O.）、pHおよび全硬度を測定後、先端を太くしたピペッターを用いて供試ミジンコを投入し、その時点を暴露開始時とした。その際、ピペッター内の飼育水が全量で試験液量に対して、1%以内となるようにした。その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21日後まで飼育した。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） 生死、遊泳状態および外観の異常の有無を毎日観察して、記録した。計数後の死亡個体は取り除いた。

（産出幼体） 最初の産仔から毎日幼体の生存数を計数し、計数後の幼体は取り除いた。死亡幼体、墮胎卵および休眠卵の発生等については、その有無を毎日観察し記録した。最初の幼体産出日を、初産日として記録した。

・水質測定：水溫、溶存酸素濃度（D.O.）、pHおよび全硬度を、全濃度区（但し、各1試験容器）について、暴露期間中に3回（調製時および換水前で1回）、換水前後に測定した。

## 4 結果の算出

### 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 (10頭) から、Probit法により、21日間暴露の半数致死濃度 (LC50) およびその 95%信頼限界を算出した。

### 4.2 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) の算出

各濃度区での生存親 1 頭当たりの平均累積産仔数 (生存幼体) を用いて、Logit 法により、21 日間暴露の 50% 繁殖阻害濃度 (ErC50) およびその 95%信頼区間を算出した。但し、供試個体数に助剤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) および最小作用濃度 (LOECr)

各試験容器毎の21日間の生存親 1 頭当たりの累積産仔数 (生存幼体) を算出した。対照区と助剤対照区に有意な差が認められたので、濃度区と助剤対照区を比較した。Dunnnett の多重比較検定ではNOECrがErC50より高い濃度になったため、各濃度区と対照区の有意差の有無をF&t-testにより検定した。

助剤対照区と有意差の認められない最高濃度 (最大無作用濃度: NOECr) および有意差の認められる最低濃度 (最小作用濃度: LOECr) を決定した。

統計解析には吉岡義正 大分大学教育学部教授により生態影響試験のEC50, LC50, NOECを計算するために開発されたプログラム [EcoTox-Statics (Version 1.1)] を用いた。

F&t-testは Yukms社作成 Excelアドインソフト StatLight#3「2群の比較」を用いた。

## 5 結果および考察

### 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

なし。

### 5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時(0日目)、7日目および14日目の試験液調製時の被験物質濃度は2.3～50.8mg/L(設定濃度2.7～50.0mg/L)であり、設定濃度に対する割合は83.7～101.6%であった。また、それらの2日後の換水前の濃度は0.4～33.5mg/Lであり、設定濃度に対する割合は14.8～67.0%であった。

[Table 1-1(p. 16, 17), Table 1-2(p. 18), 付属資料-2(p. 32)]

実測濃度が設定濃度の±20%を外れたので結果の算出には実測濃度の時間加重平均値を用いた。

### 5.3 ミジンコの観察結果

#### 親ミジンコの死亡数および死亡率

対照区および助剤対照区での親ミジンコの死亡率は、暴露終了時で対照区が0.0%、助剤対照区が0.0%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。

濃度区における暴露終了時の親ミジンコの死亡は、最低濃度区(1.6mg/L)では観察されず、死亡率は0.0%であった。最高濃度区(34.1mg/L)では7頭が死亡し、死亡率は70.0%であった。

[Table 2-1, 2-2(p. 19), Figure 1(p. 20), 付属資料-3(p. 41)]

#### 初産日

対照区での親ミジンコの初産日は暴露開始7～10日後であり、助剤対照区での親ミジンコの初産日は7～9日後であった。最低濃度区(1.6mg/L)では、親ミジンコの初産日は8～10日後であり、最高濃度区(34.1mg/L)では、親ミジンコの産仔は見られなかった。

[Table 3(p. 20)]

#### 平均累積産仔数

対照区および助剤対照区の21日間暴露での生存親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は140.4頭および97.3頭であり、試験成立条件である平均累積産仔数60頭以上の基準を満たした。

21日間暴露での生存親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は最低濃度区(1.6mg/L)で

は107.1頭、最高濃度区(34.1mg/L)では産仔は観察されなかった。

[Table 4(p.22), Figure 2(p.23), 付属資料-3(p.41)]

#### 休眠卵の発生等

対照区、助剤対照区および全濃度区において、休眠卵等は全く生じなかった。

#### 5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

21日間暴露の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) は33.9mg/Lであり、その95%信頼区間は21.6~162.5mg/Lであった。 [Table 2-1, 2-2 (p.19), Table 5 (p.23)]

#### 5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)

21日間暴露の50%繁殖阻害濃度 (ErC50)は16.5mg/Lであり、その95%信頼区間は14.7~18.7mg/Lであった。 [Table 6 (p.23)]

#### 5.6 累積産仔数に及ぼす最大無作用濃度 (NOECr)および最小作用濃度 (LOECr)

親ミジンコ1頭あたりの累積産仔数に及ぼす21日間暴露の最大無作用濃度 (NOECr)は9.5mg/Lであり、最小作用濃度 (LOECr)は18.2mg/Lであった。 [Table 7 (p.24)]

#### 5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度およびpH

21日間の暴露期間中の水温は19.2~20.8℃であり、設定範囲内(20℃±1℃)であった。

溶存酸素濃度は6.6~8.9mg/Lであり、すべての濃度区で飽和溶存酸素濃度の60%以上が維持された(20.0℃の飽和溶存酸素濃度:8.84mg/L)。

pHは7.1~7.8であり、変動は1.5以内であった。

全硬度は219~233mg/L(CaCO<sub>3</sub>換算)であり、設定範囲内(140mg/L(CaCO<sub>3</sub>換算)以上)であった。 [Table 8(p.26), Table 9(p.27), Table 10(p.28), [Table 11(p.29)]

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

以上

Table 1-1 Measured Concentrations of 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol during a 21-day Exposure of *Daphnia magna* under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	0 day new	2 day old	0 day new	2 day old
Control	<0.3	<0.3	-	-
Dispersant Control	<0.3	<0.3	-	-
2.7	2.3	1.4	85.2	51.9
4.8	4.2	2.1	87.5	43.8
8.6	7.2	3.3	83.7	38.4
15.4	13.4	6.3	87.0	40.9
27.8	25.0	13.7	89.9	49.3
50.0	45.8	21.0	91.6	42.0

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	7 day new	9 day old	7 day new	9 day old
Control	<0.3	<0.3	-	-
Dispersant Control	<0.3	<0.3	-	-
2.7	2.3	1.6	85.2	59.3
4.8	4.1	1.2	85.4	25.0
8.6	7.4	3.4	86.0	39.5
15.4	13.8	5.6	89.6	36.4
27.8	25.8	10.7	92.8	38.5
50.0	47.9	16.0	95.8	32.0

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

Table 1-1 Continued

Nominal Concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L)		Percent of Nominal	
	14 day new	16 day old	14 day new	16 day old
Control	<0.3	<0.3	-	-
Dispersant Control	<0.3	<0.3	-	-
2.7	2.4	0.4	88.9	14.8
4.8	4.7	2.4	97.9	50.0
8.6	7.7	3.9	89.5	45.3
15.4	14.4	6.6	93.5	42.9
27.8	27.7	11.8	99.6	42.4
50.0	50.8	33.5	101.6	67.0

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

Table 1-2 Time-weighted Means of Measured Concentrations of 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol during a 21-day Exposure of *Daphnia magna* under Semi-Static Test Conditions

Nominal Concentration (mg/L)	Time-weighted Mean (mg/L)	Percent of Nominal (%)
Control	-	-
Dispersant Control	-	-
2.7	1.6	59.3
4.8	2.9	60.4
8.6	5.2	60.5
15.4	9.5	61.7
27.8	18.2	65.5
50.0	34.1	68.2

$$\text{Time-weighted Mean} = \frac{\text{Total Area}}{\text{Total Days}}$$

$$\text{Area} = \frac{\text{Conc0} - \text{Conc1}}{\text{Ln}(\text{Conc0}) - \text{Ln}(\text{Conc1})} \times \text{Days}$$

*Conc0* is the measured concentration at the start of each renewal period.  
*Conc1* is the measured concentration at the end of each renewal period.  
*Days* is the number of days in the renewal period.

Table 2-1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*

Measured Concentration (mg/L)	Days																					
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Disp. Contl.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5.2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
9.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34.1	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	4	4	4	4	4	5	6	6	7	7	7

Table 2-2 Mortality (%) of Parental *Daphnia*

Measured Concentration (mg/L)	Days					
	1	2	4	7	14	21
Control	0	0	0	0	0	0
Disp. Contl.	0	0	0	0	0	0
1.6	0	0	0	0	0	0
2.9	0	0	0	0	0	0
5.2	0	0	0	10	10	10
9.5	0	0	0	0	0	0
18.2	0	0	0	0	0	0
34.1	0	0	10	10	40	70

Figure 1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*

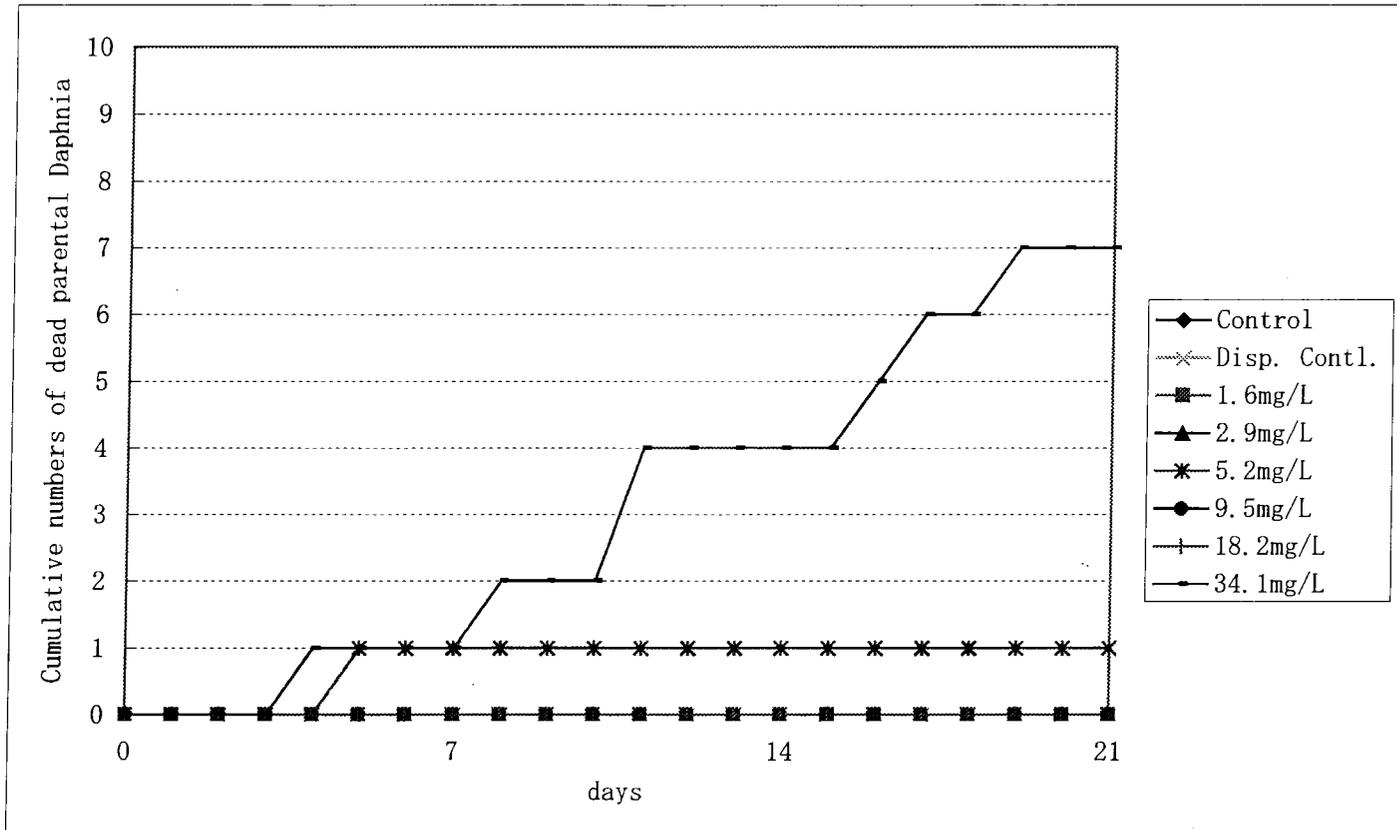


Table 3 Time (day) to First Brood Production

Vessel No.	Control	Dispersant Control	Measured concentration (mg/L)					
			1.6	2.9	5.2	9.5	18.2	34.1
1	7	7	8	8	-	10	11	-
2	9	7	8	10	8	10	11	-
3	7	8	10	9	8	11	11	-
4	7	9	10	10	10	10	11	-
5	8	8	9	8	10	10	11	-
6	7	8	8	8	10	10	14	-
7	7	7	8	11	11	13	13	-
8	10	8	10	8	14	14	14	-
9	7	8	8	10	10	14	15	-
10	9	8	10	8	9	10	11	-
Mean	7.8	7.8	8.9	9.0	10.0	11.2	12.2	-

Table 4 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult ( $\Sigma F1/P$ )

Measured Concentration (mg/L)	Days																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.0	7.5	9.5	24.0	24.0	30.1	55.9	57.0	68.9	88.9	88.9	102.9	124.6	124.6	140.4
Disp. Contl.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8	6.2	7.6	16.4	18.5	20.2	46.6	48.4	52.8	77.5	77.5	79.3	94.1	94.2	97.3
1.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.8	3.2	10.4	12.2	21.3	35.2	42.9	54.6	79.5	79.5	89.2	99.9	99.9	107.1
2.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5	4.3	10.4	15.1	20.7	38.4	40.2	49.4	68.4	68.4	71.3	84.1	84.1	93.2
5.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3	2.3	5.8	10.1	14.2	23.0	27.4	36.6	53.8	54.9	59.3	75.0	75.2	84.3
9.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.4	6.2	6.2	19.4	22.6	22.7	43.0	46.5	50.4	61.4	63.0	74.6
18.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.9	4.9	9.0	16.5	17.0	22.7	37.6	38.6	48.4	62.2	66.7
34.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Figure 2 Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult ( $\Sigma F1/P$ ) during 21 days

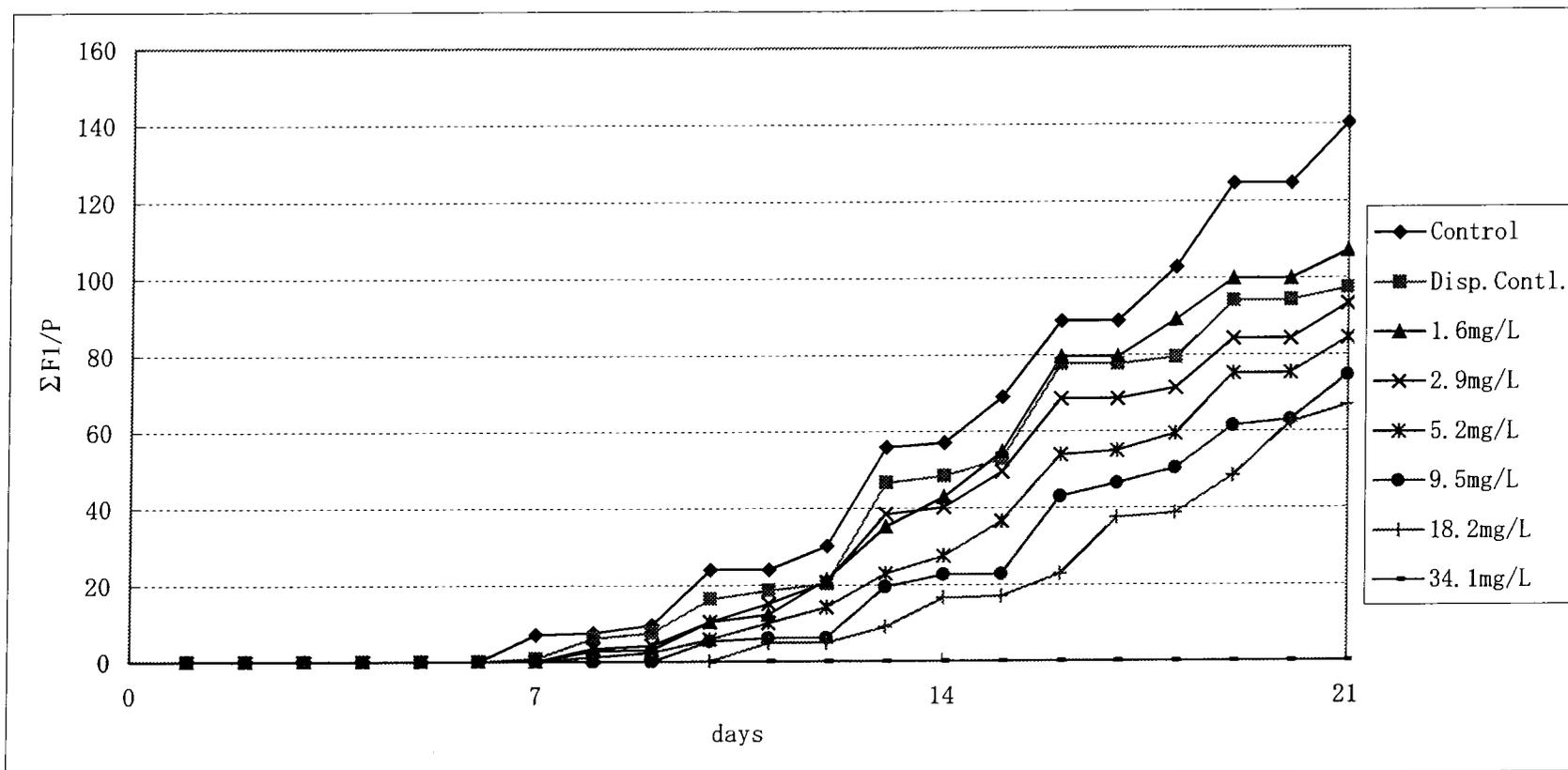


Table 5. Calculated LC50 Value for Parental *Daphnia*

Exposure period (day)	LC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	33.9	21.6 ~ 162.5	Probit

Table 6. Calculated ErC50 Value for Inhibition of Reproduction

Exposure period (day)	ErC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
21	16.5	14.7 ~ 18.7	Logit

Table 7 Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult Alive for 21 Days

Vessel No.	Dispersant		Measured Concentration (mg/L)					
	Control	Control	1.6	2.9	5.2	9.5	18.2	34.1
1	136	81	92	91	—	58	58	0
2	115	89	154	75	64	124	71	—
3	197	101	121	127	91	78	55	—
4	136	73	96	151	52	77	74	—
5	181	147	97	80	126	98	82	—
6	122	57	110	122	89	33	74	0
7	120	91	85	90	93	87	75	0
8	117	106	88	72	56	62	64	—
9	127	91	85	54	83	59	34	—
10	153	137	143	70	105	70	80	—
Mean	140.4	97.3	107.1	93.2	84.3	74.6	66.7	0.0
S.D.	28.2	27.4	24.7	30.5	23.9	24.9	14.5	0.0
Inhibition rate(%)		30.7						
Significant difference*1		**						
Inhibition rate(%)			-10.1	4.2	13.3	23.3	31.4	100.0
Significant difference*2							**	**

— : Were not calculated because the parental *Daphnia* was dead during a 21-days testing period.

\*1 : Indicates a significant difference by F&t-test procedure, Two-sided test.

\*2 : Indicates a significant difference by Dunnett multiple comparison procedure, Two-sided test.

\* : Indicates a significant difference ( $\alpha=0.05$ ) from the control.

\*\* : Indicates a significant difference ( $\alpha=0.01$ ) from the control.

Table 8 Temperature Values during a 21-day *Daphnia* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Measured Concentration (mg/L)	Temperature(°C)					
	0 day new	2 day old	7 day new	9 day old	14 day new	16 day old
Control	19.7	19.3	20.8	19.4	20.5	19.9
Dispersant Control	19.6	19.2	20.7	19.3	20.3	19.5
1.6	19.5	19.3	20.7	19.2	20.4	19.3
2.9	19.5	19.2	20.7	19.3	20.4	19.4
5.2	19.5	19.3	20.7	19.3	20.3	19.4
9.5	19.3	19.4	20.8	19.4	20.3	19.6
18.2	19.4	19.4	20.8	19.4	20.4	19.6
34.1	19.3	19.4	20.8	19.3	20.6	19.5

new :freshly prepared test solutions

old :test solutions after 2 days exposure

Table 9 Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) during a 21-day *Daphnia* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Measured Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)					
	0 day new	2 day old	7 day new	9 day old	14 day new	16 day old
Control	8.9	8.0	8.9	8.1	8.6	8.1
Dispersant Control	8.8	6.9	8.8	7.5	8.4	7.4
1.6	8.7	7.1	8.6	7.6	8.6	7.3
2.9	8.6	6.7	8.7	7.5	8.6	7.0
5.2	8.6	6.8	8.7	7.6	8.7	7.6
9.5	8.6	6.9	8.6	7.9	8.7	7.3
18.2	8.6	6.8	8.7	7.7	8.7	6.9
34.1	8.7	6.6	8.6	8.1	8.7	7.2

new :freshly prepared test solutions

old :test solutions after 2 days exposure

Table 10 pH during a 21-day *Daphnia* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Measured Concentration (mg/L)	pH					
	0 day new	2 day old	7 day new	9 day old	14 day new	16 day old
Control	7.3	7.8	7.3	7.6	7.1	7.6
Dispersant Control	7.3	7.8	7.4	7.6	7.1	7.5
1.6	7.3	7.7	7.5	7.5	7.1	7.5
2.9	7.3	7.6	7.5	7.5	7.1	7.5
5.2	7.3	7.6	7.5	7.5	7.1	7.5
9.5	7.4	7.6	7.5	7.5	7.1	7.5
18.2	7.4	7.6	7.5	7.5	7.1	7.4
34.1	7.4	7.6	7.5	7.5	7.1	7.5

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2 days exposure

Table 11 · Total Hardness(as CaCO<sub>3</sub>) during a 21-day *Daphnia* Reproduction Inhibition Test (Semi-Static Test)

Measured Concentration (mg/L)	Total Hardness (as CaCO <sub>3</sub> , mg/L)					
	0 day new	2 day old	7 day new	9 day old	14 day new	16 day old
Control	223	230	228	225	231	233
Dispersant Control	222	226	223	222	226	229
1.6	220	230	224	223	227	225
2.9	220	220	224	225	227	225
5.2	219	220	224	226	227	228
9.5	219	227	224	224	227	230
18.2	219	221	223	226	226	230
34.1	219	222	223	231	227	226

new :freshly prepared test solutions

old :test solutions after 2 days exposure

## 付 属 資 料 - 1

希 积 水 (M4 調 製 水)

(全 1 頁)

## Appendix 1 M4 medium

Salts and Vitamines	Concentration (mg/L)
$H_3BO_3$	2.860
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.361
LiCl	0.306
RbCl	0.071
$SrCl_2 \cdot 6H_2O$	0.152
NaBr	0.016
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.063
$CuCl_2 \cdot 2H_2O$	0.017
$ZnCl_2$	0.013
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.010
KI	0.00325
$Na_2SeO_3$	0.00219
$NH_4VO_3$	0.00058
$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	2.5
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.996
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	123.3
KCl	5.8
$NaHCO_3$	64.8
$NaNO_3$	0.274
$KH_2PO_4$	0.143
$K_2HPO_4$	0.184
Thiamine hydrochloride	0.075
Cyanocobalamine (V. B <sub>12</sub> )	0.001
D(+)Biotin (V. H)	0.00075
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	293.8
$Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$	10.0

## 付 属 資 料 - 2

試験液の分析方法

(全8頁)

試験液の分析方法

## 1 試験液の分析方法

各試験容器より試験液 1.0～2.0mL をバイアル瓶に採取する。

GCのオートサンプラーにセットして一定量を自動注入する。

検量線から被験物質濃度を求める。

## 2 ガスクロマトグラフィー (GC) 測定条件

カラム : TC-17、0.53mm ID×15m

カラム温度 : 70℃

検出器 : FID

検出器温度 : 260℃

注入口温度 : 260℃

注入量 : 1μL

キャリアガス : He

流量 : 20mL/min (室温)

## 3 検量線

標準原液を希釈して、定量限界付近から予想測定濃度が含まれる5ポイントの標準液を測定し、直線性を確認した。

[ Figure 1(p.34) ]

測定日毎に標準溶液(1ポイント)の測定を行い、この検量線により定量した。

## 4 添加回収試験

希釈水に標準液の一定量を添加して、回収率を求めた。

3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オール 50.0mg/Lの回収率は99.6%であった。

## 5 クロマトグラム

代表的ないくつかのクロマトグラムを示した。

[ Figure 2(p.34～p.40) ]

Appendix 2

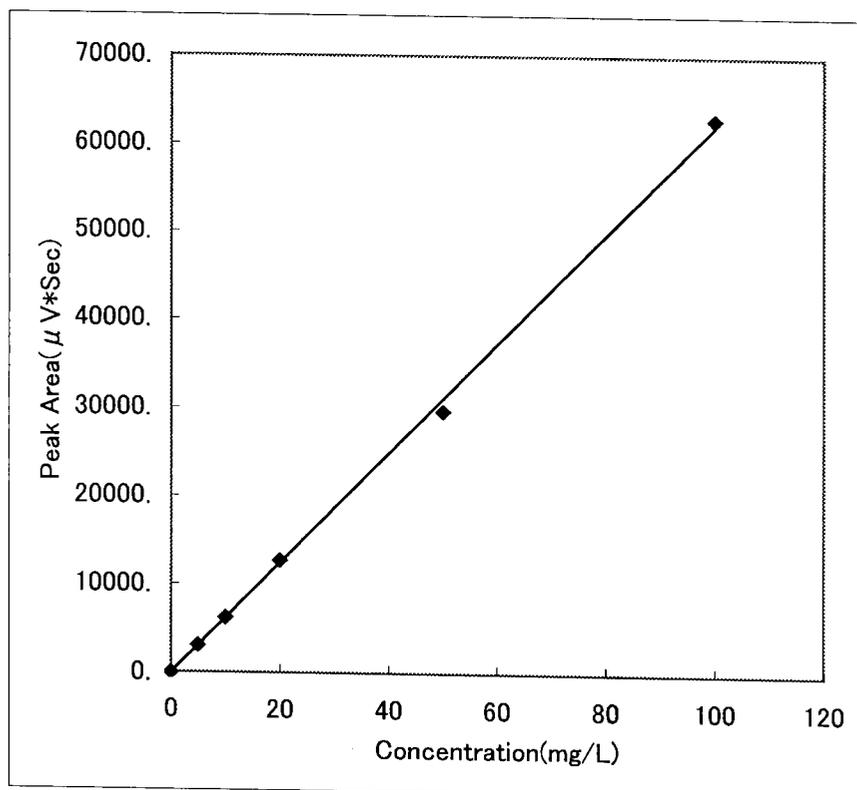
Figure 1 Calibration Curve of 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol by GC Analysis

Input Data		
No.	Concentration (mg/L)	Peak Area $\mu V \cdot sec$
1	5	3121
2	10	6245
3	20	12700
4	50	29666
5	100	62938

$$X(\text{Concentration}) = Y(\text{Peak Area}) / 0.001605$$

$$r^2 = 0.9991$$

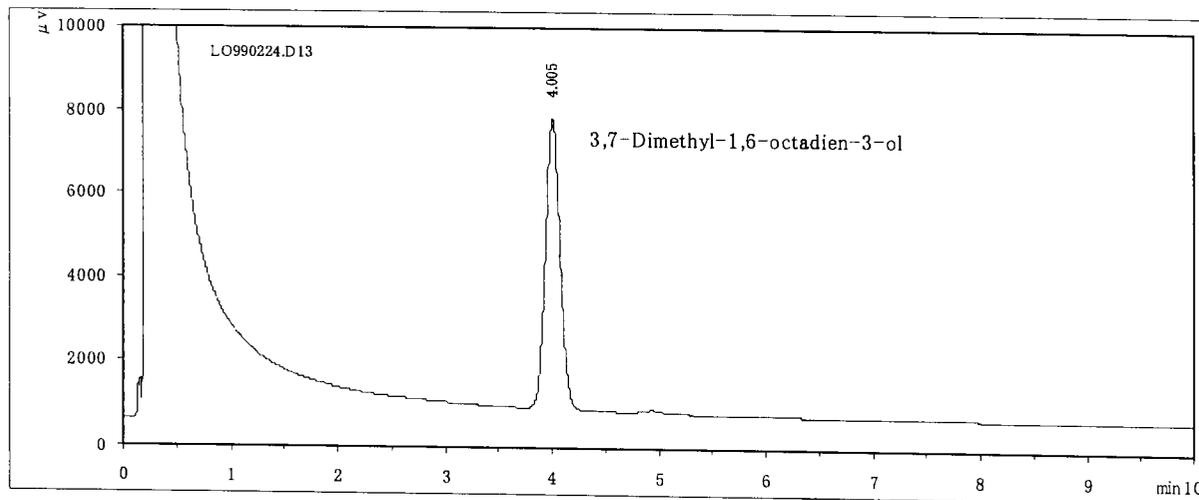
$r^2$ : coefficient of correlation



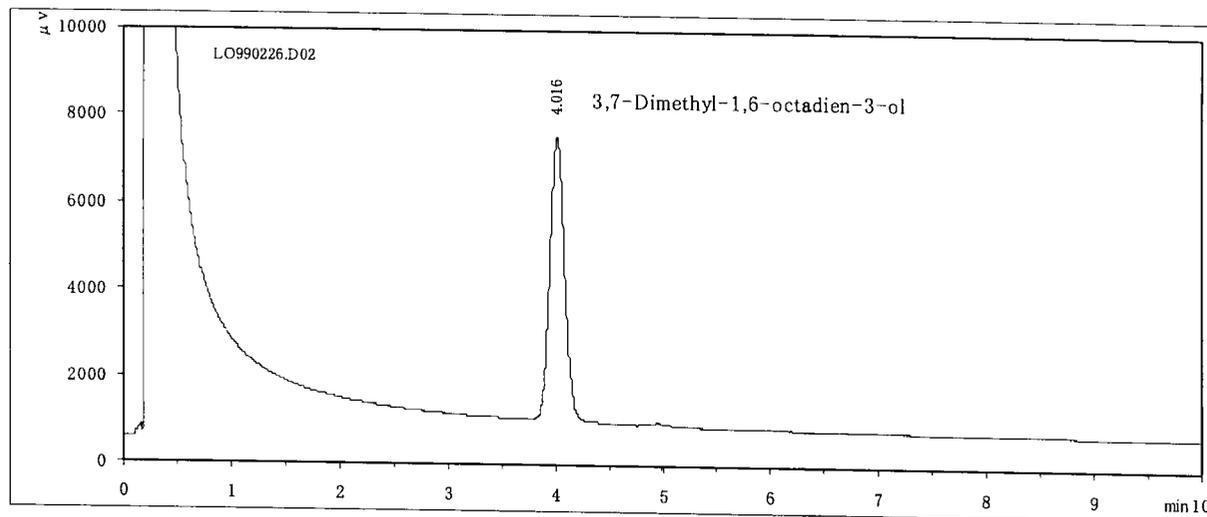
Appendix 2

Figure 2 Representative Chromatograms

(1) Standard 100mg/L Day 0



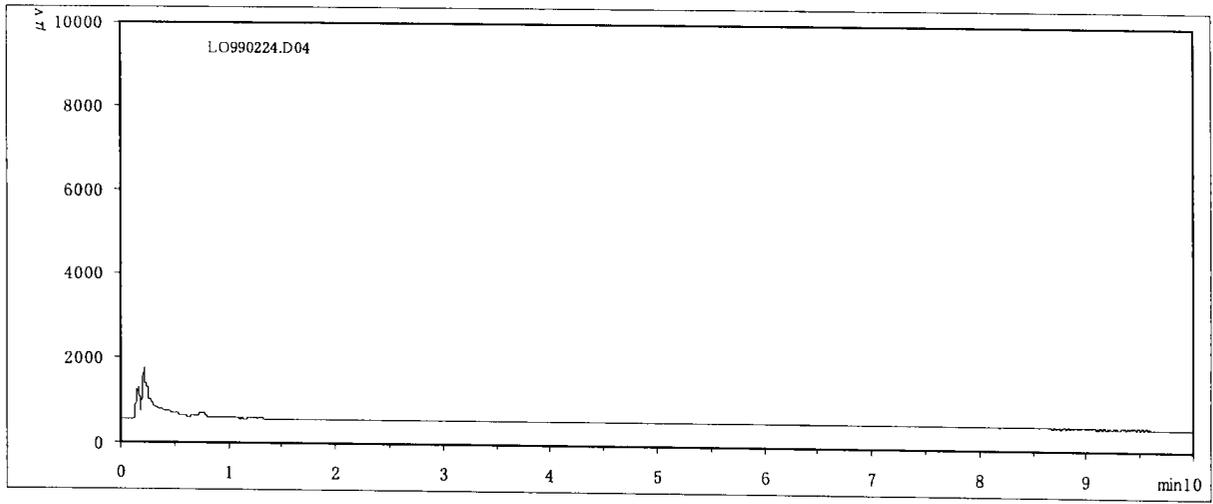
(2) Standard 100 mg/L Day 2



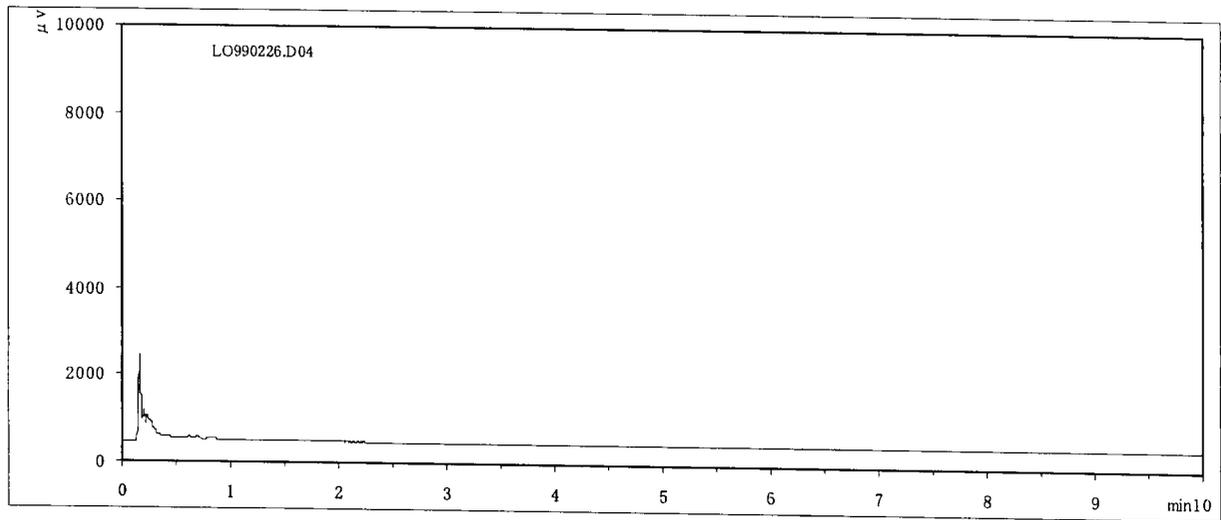
Appendix 2

Figure 2 Continued

(3) Control ; Day 0 (new)



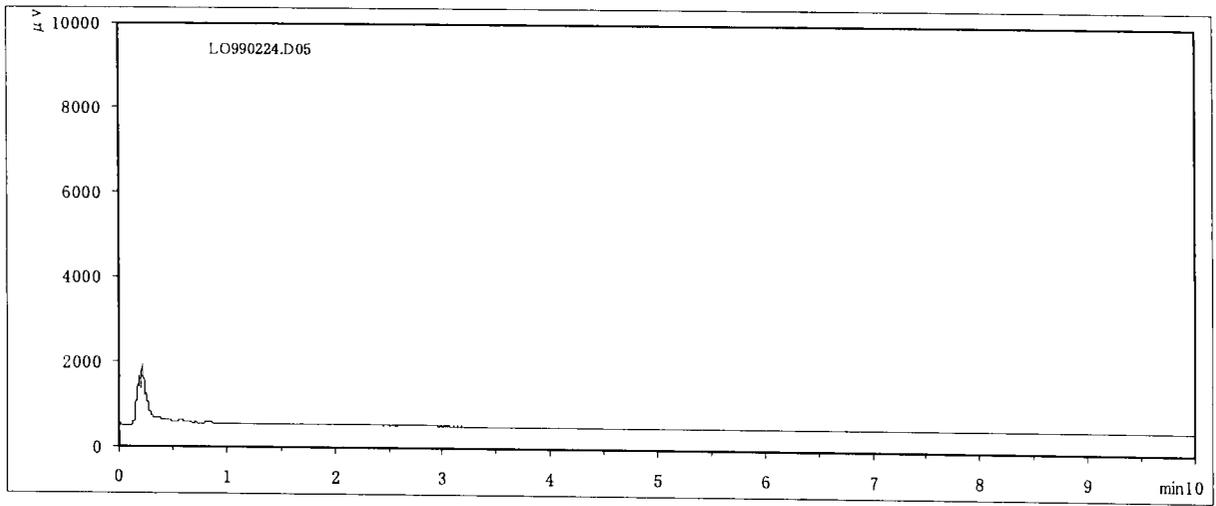
(4) Control ; Day 2 (old)



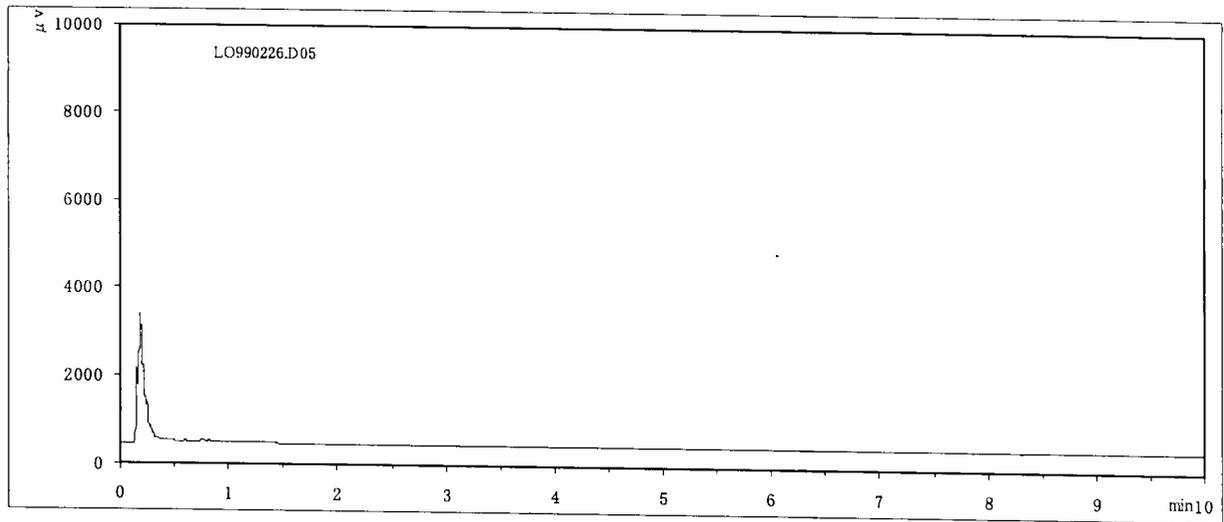
Appendix 2

Figure 2 Continued

(5) Dispersant Control ; Day 0 (new)



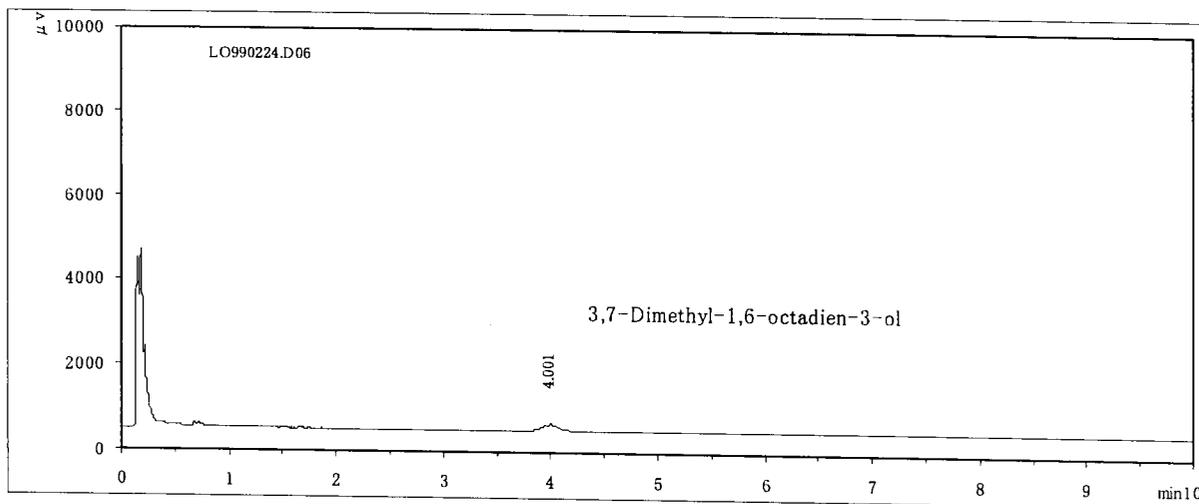
(6) Dispersant Control ; Day 2 (old)



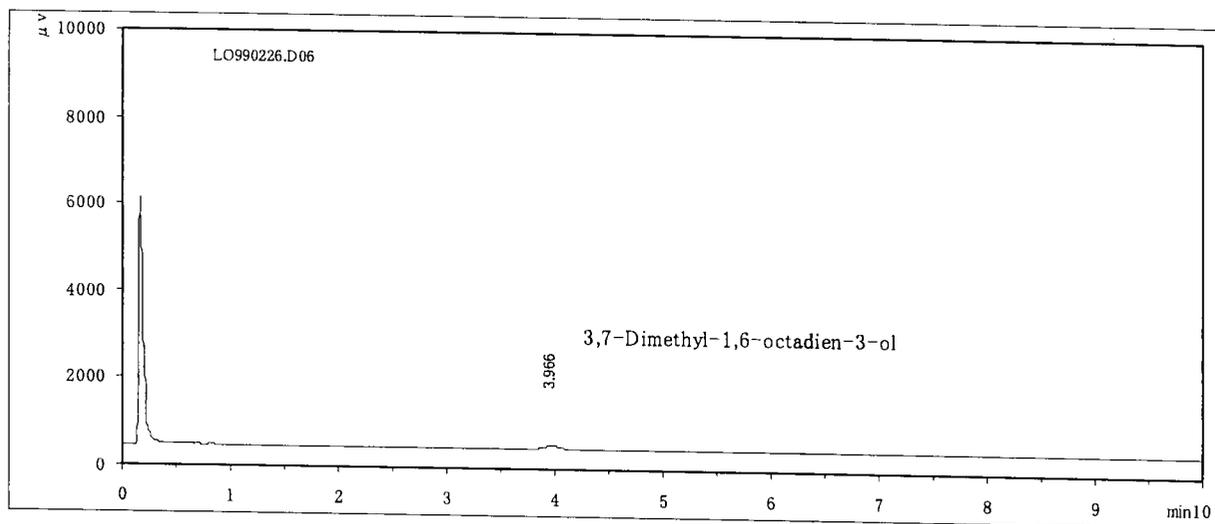
Appendix 2

Figure 2 Continued

(7) 2.7mg/L Nominal; Day 0 (new)



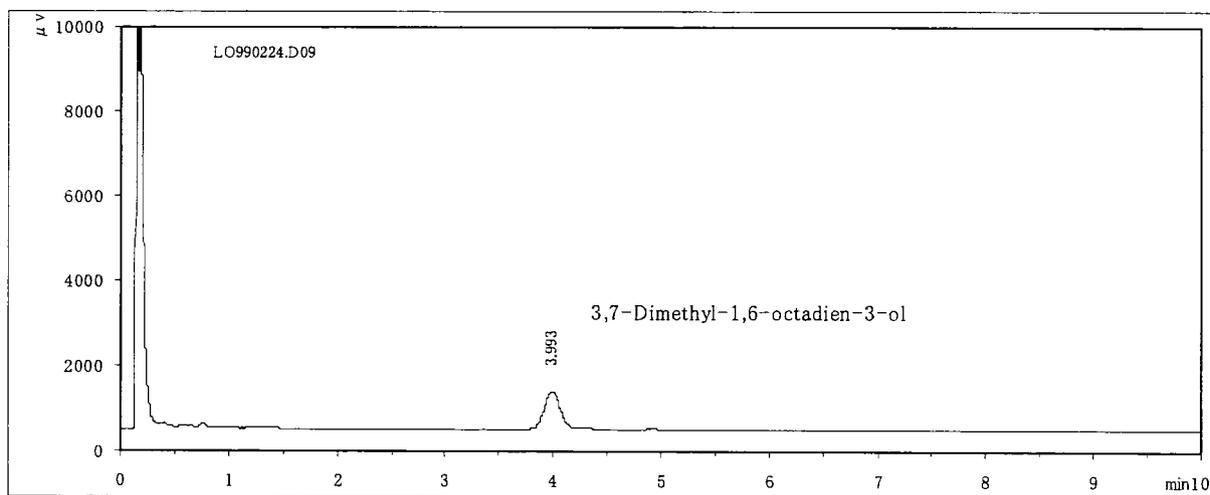
(8) 2.7mg/L Nominal; Day 2 (old)



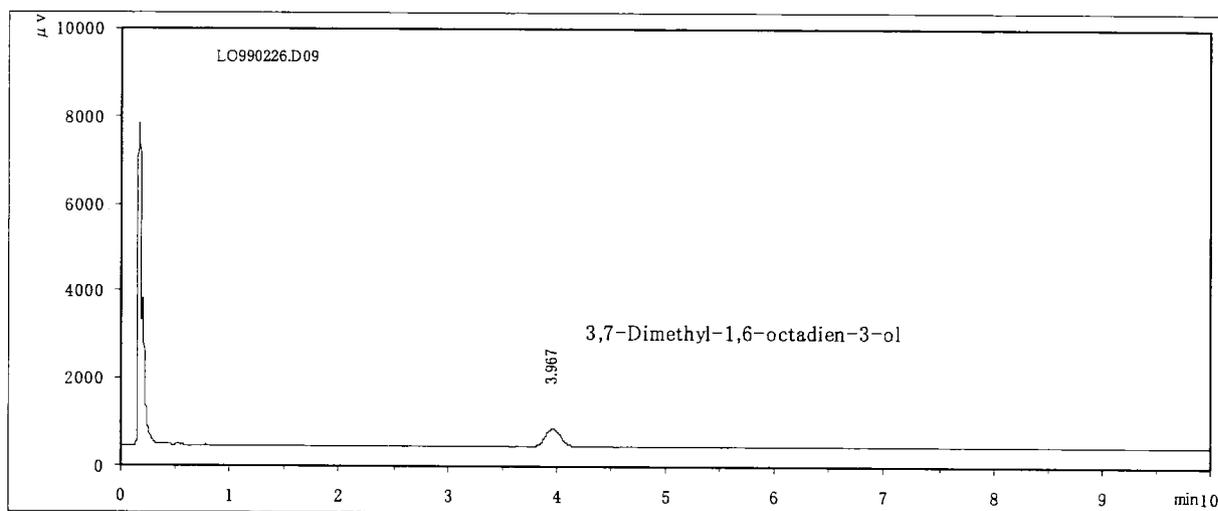
Appendix 2

Figure 2 Continued

(9) 15.4mg/L Nominal; Day 0 (new)



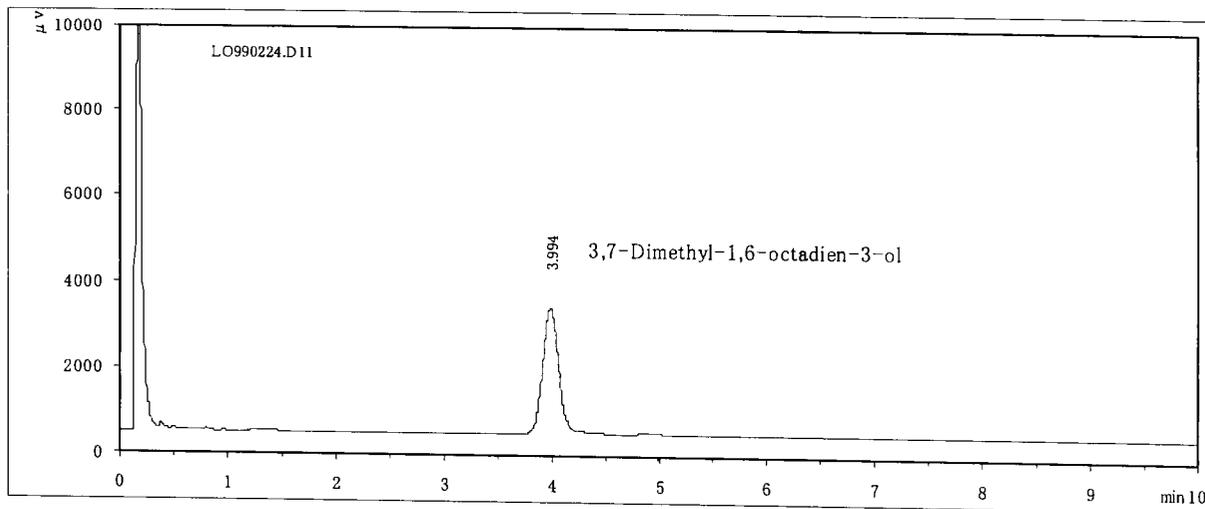
(10) 15.4mg/L Nominal; Day 2 (old)



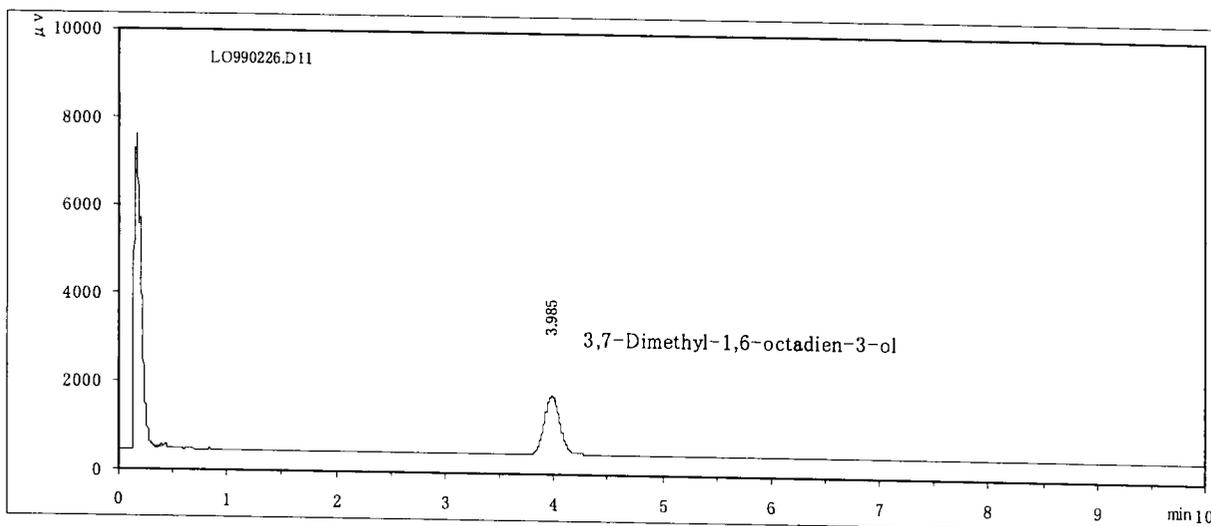
Appendix 2

Figure 2 Continued

(11) 50.0mg/L Nominal; Day 0 (new)



(12) 50.0mg/L Nominal; Day 2 (old)



## 付 属 資 料 - 3

ミジンコの観察結果

(全8頁)



Aooendix 3-2 Result of Reoroduction Test

( Test Chemical: 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol )

( Chemical Conc.: 0.0 mg/L, Disoersant conc.: 100.0 mg/L)

Reo. No.	Counts	Time																				Total					
		2/25 1d	2/26 2d	2/27 3d	2/28 4d	3/1 5d	3/2 6d	3/3 7d	3/4 8d	3/5 9d	3/6 10d	3/7 11d	3/8 12d	3/9 13d	3/9 14d	3/10 15d	3/11 16d	3/12 17d	3/13 18d	3/14 19d	3/15 20d		3/16 21d				
1	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	1	9	0	12	0	0	24	0	0	23	0	0	12	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	1	10	10	22	22	22	46	46	46	69	69	69	81	81	81				
2	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	4	0	0	14	0	0	31	0	0	38	0	0	2	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	4	4	4	18	18	18	49	49	49	87	87	87	89	89	89				
3	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	7	0	9	0	0	33	0	0	38	0	0	14	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	16	16	16	49	49	49	87	87	87	101	101	101				
4	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	17	0	0	0	21	0	0	21	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	31	31	31	31	52	52	52	73	73	73				
5	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	10	4	0	31	0	42	0	0	18	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	11	11	21	25	25	56	56	98	98	98	116	116	116	147				
6	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	19	0	0	25	0	0	0	0	0	1	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	31	31	31	56	56	56	56	56	56	57	57	57				
7	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	3	0	0	9	0	0	34	0	0	35	0	0	10	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	3	3	3	12	12	12	46	46	46	81	81	81	91	91	91				
8	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	36	0	0	36	0	0	21	1	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	12	12	12	48	48	48	84	84	84	105	106	106				
9	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	6	0	9	0	0	28	0	0	26	0	0	22	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	6	6	15	15	15	43	43	43	69	69	69	91	91	91				
10	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	17	0	22	18	2	30	0	0	45	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	20	20	42	60	62	92	92	92	137	137	137				
The time (days) to first brood:			1:	7 dayp,				2:	7 dayp,				3:	8 dayp,				4:	9 dayp,				5:	8 days,			
			6:	8 dayp,				7:	7 dayp,				8:	8 dayp,				9:	8 dayp,				10:	8 days,			





Appendix 3-5 Result of Reoroduction Test

( Test Chemical: 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol )

( Chemical Conc.: 5.2 mg/L, Disoersant conc.: 100.0 mg/L)

Reo. No.	Counts	Time																			Total						
		2/25 1d	2/26 2d	2/27 3d	2/28 4d	3/1 5d	3/2 6d	3/3 7d	3/4 8d	3/5 9d	3/6 10d	3/7 11d	3/8 12d	3/9 13d	3/9 14d	3/10 15d	3/11 16d	3/12 17d	3/13 18d	3/14 19d		3/15 20d	3/16 21d				
1	o generation	Live	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--			
2	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	10	0	13	0	0	20	0	0	16	0	0	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	15	15	28	28	28	48	48	48	64	64	64	64			
3	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	7	0	1	13	0	21	0	0	28	0	0	21	0	0	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	7	7	8	21	21	42	42	42	70	70	70	91	91	91	91			
4	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	8	0	0	20	0	0	19	0	0	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	13	13	13	33	33	33	52	52	52	52			
5	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	23	0	0	37	0	0	35	0	0	23	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	31	31	31	68	68	68	103	103	103	126	126			
6	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	23	0	0	36	0	0	20	0	0	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	33	33	33	69	69	69	89	89	89	89			
7	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	23	0	16	5	0	32	1	0	--	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	39	39	55	60	60	92	93	93	93	93			
8	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	14	5	0	19	1	0	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	31	36	36	55	56	56	56			
9	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	14	0	0	21	0	0	14	0	27	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	21	21	21	42	42	42	56	56	83	83			
10	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--			
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	14	0	0	45	0	0	5	0	0	32	--			
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	23	23	23	68	68	68	73	73	73	105	105	105			
The time (days) to first brood:			1;	- days,				2;	8 days,				3;	8 days,				4;	10 days,				5;	10 days,			
			6;	10 days,				7;	11 days,				8;	14 days,				9;	10 days,				10;	9 days,			

Appendix 3-6 Result of Reoroduction Test

( Test Chemical: 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol )  
 ( Chemical Conc. : 9.5 mg/L, Disoersant conc. : 100.0 mg/L)

No.	Counts		Time																			Total		
			2/25 1d	2/26 2d	2/27 3d	2/28 4d	3/1 5d	3/2 6d	3/3 7d	3/4 8d	3/5 9d	3/6 10d	3/7 11d	3/8 12d	3/9 13d	3/9 14d	3/10 15d	3/11 16d	3/12 17d	3/13 18d	3/14 19d		3/15 20d	3/16 21d
1	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	18	0	0	19	0	0	10	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	29	29	29	48	48	48	58	58	58	58	
2	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	20	0	0	32	0	17	8	0	40	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	27	27	27	59	59	76	84	84	124	124	
3	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	17	0	0	32	0	0	21	0	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	25	25	25	57	57	57	78	78	78	78	78	
4	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	23	0	0	32	0	0	10	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	35	35	35	67	67	67	77	77	77	77	
5	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	16	0	0	25	0	22	3	0	31	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	17	17	17	42	42	64	67	67	98	98	
6	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	9	0	0	6	0	0	8	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	19	19	19	25	25	25	33	33	33	33	
7	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	18	0	0	14	0	45	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	28	28	28	42	42	87	87	
8	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	10	12	0	27	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	23	35	35	62	62	62	62	
9	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	1	0	23	0	0	16	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	20	20	43	43	43	59	59	59	
10	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	19	0	0	29	0	0	9	0	0	--	
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	32	32	32	61	61	61	70	70	70	70	
The time (days) to first brood:			1:	10 days,			2:	10 days,			3:	11 days,			4:	10 days,			5:	10 days,				
			6:	10 days,			7:	13 days,			8:	14 days,			9:	14 days,			10:	10 days,				

Aooendix 3-7 Result of Reoroduction Test

( Test Chemical: 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol )

( Chemical Conc. : 18.2 mg/L, Disoersant conc. : 100.0 mg/L)

No.	Counts	Time																					Total				
		2/25	2/26	2/27	2/28	3/1	3/2	3/3	3/4	3/5	3/6	3/7	3/8	3/9	3/10	3/11	3/12	3/13	3/14	3/15	3/16						
		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d					
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
1	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	13	0	0	19	0	0	17	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	22	22	22	41	41	41	58	58	58	58				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
2	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	14	0	0	22	0	33	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	16	16	16	38	38	71	71	71	71				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
3	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	10	0	0	24	0	0	20	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	11	11	11	35	35	35	55	55	55				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
4	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	12	0	0	23	0	0	28	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	23	23	23	46	46	46	74	74	74				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
5	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	16	0	0	18	0	0	31	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	33	33	33	51	51	51	82	82	82	82				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
6	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	25	0	0	35	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	39	39	39	74	74	74				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
7	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	20	0	0	17	0	26	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	32	32	32	49	49	75	75				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
8	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	26	0	0	27	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	37	37	37	64	64	64				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
9	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	10	0	0	19	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	15	15	15	34	34	34				
	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
10	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	14	0	0	29	0	0	28	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	23	23	23	52	52	52	80	80	80				
The time (days) to first brood:			1:	11 days,				2:	11 days,				3:	11 days,				4:	11 days,				5:	11 days,			
			6:	14 days,				7:	13 days,				8:	14 days,				9:	15 days,				10:	11 days,			

Appendix 3-8 Result of Reoroduction Test

( Test Chemical: 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol )

( Chemical Conc. : 34.1 mg/L, Disoersant conc. : 100.0 mg/L)

No.	Counts	Time																				Total					
		2/25 1d	2/26 2d	2/27 3d	2/28 4d	3/1 5d	3/2 6d	3/3 7d	3/4 8d	3/5 9d	3/6 10d	3/7 11d	3/8 12d	3/9 13d	3/9 14d	3/10 15d	3/11 16d	3/12 17d	3/13 18d	3/14 19d	3/15 20d		3/16 21d				
1	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
2	o generation	Live	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
3	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
4	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--				
5	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--				
6	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
7	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
8	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
9	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--				
10	o generation	Live	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	--	--	--	--	--	--	--				
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--				
	Cumulative reoroductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--	--	--	--	--	--	--				
The time (days) to first brood:			1:	>21 days,				2:	- days,				3:	- days,				4:	- days,				5:	- days,			
			6:	>21 days,				7:	>21 days,				8:	- days,				9:	- days,				10:	- days,			