

環境庁殿

試 験 報 告 書

アセトニトリルのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

(試験番号：5 B 4 7 5 G)

1996年3月29日作成

株式会社三菱化学安全科学研究所

陳 述 書

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： アセトニトリルのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号： 5 B 4 7 5 G

本試験は環境庁の G L P 規則に従って実施したものである。

1 9 9 6 年 3 月 2 9 日

運営管理者

[Redacted Signature]

[Redacted Stamp]

信頼性保証証明

株式会社三菱化学安全科学研究所
横浜研究所

試験委託者： 環境庁

表題： アセトニトリルのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号： 5 B 4 7 5 G

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 | 1996年 3月 8日 | 1996年 3月 8日 |
| | 1996年 3月 29日 | 1996年 3月 29日 |
| 試験報告書監査 | 1996年 3月 29日 | 1996年 3月 29日 |

1996年 3月 29日

信頼性保証担当者：

[Redacted]

[Redacted]


[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]

試験実施概要

1. 表題： アセトニトリルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験
2. 試験目的： アセトニトリルについて、オオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験を21日間行い、繁殖状態に対照区と有意差の認められない最高濃度 (NOECr) 及び産仔数を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. 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)に準拠した。
4. 適用GLP： 本試験は環境庁のGLP規則に準拠した。
5. 試験委託者
名称： 環境庁
住所： 〒100 東京都千代田区霞ヶ関一丁目2-2
委託担当者： 環境庁企画調整局環境保健部環境安全課保健専門官 
6. 試験受託者：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所
所在地： 〒105 東京都港区芝二丁目1-30
7. 試験施設：
名称： 株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜研究所
所在地： 〒227 神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

8. 試験関係者：

試験責任者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

試験担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

分析担当者

[REDACTED]

[REDACTED]

(1996年3月29日)

9. 試験期間： 試験開始日

1995年10月23日

試験終了日

1996年 3月29日

暴露期間

1996年 3月 8日～1996年 3月29日

10. 保管：

試験計画書，生データ，記録文書，試験報告書および被験物質は，試験報告書作成後10年間，株式会社三菱化学安全科学研究所 横浜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

| | 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 被験物質の確認および保管条件下での安定性 | 10 |
| 2 供試生物 | 10 |
| 3 試験方法 | 11 |
| 3.1 試験条件 | 11 |
| 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 | 12 |
| 3.5 試験液の調製 | 12 |
| 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) | 14 |
| 5 結果および考察 | 15 |
| 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 | 15 |
| 5.2 試験液中の被験物質濃度 | 15 |
| 5.3 ミジンコの観察結果 | 15 |
| 5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) | 16 |
| 5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) | 16 |
| 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) | 17 |
| 5.7 試験液の水温, 溶存酸素濃度および pH | 17 |
| Table 1~10 | 18~28 |
| Figure 1, 2 | 21, 23 |
| 付属資料-1 希釈水の水質 | 29~30 |
| 付属資料-2 試験液の分析方法 | 31~37 |
| 付属資料-3 ミジンコの観察結果 | 38~42 |

要 旨

試験委託者

環境庁

表 題

アセトニトリルのオオミジンコ (*Daphnia magna*) に対する繁殖阻害試験

試験番号

5 B 4 7 5 G

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)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： アセトニトリル
- 2) 暴露方式： 半止水式 (開始初期は 0, 3, 5, 7, 9 日目に, 9 日目以降は毎日, 試験液の全量を交換した。密閉容器使用)
- 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 (設定値) : 対照区, 100, 320, 1000 mg/L (公比 3.2)
- 6) 試験液量： 850 mL
- 7) 連数： 4 容器/濃度区
- 8) 供試生物数： 40 頭/濃度区 (1 連に付き 10 頭で 1 濃度区 40 頭)
- 9) 試験温度： 20±1℃
- 10) 照明： 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

暴露期間中に測定した試験液の調製時および換水前の被験物質実測濃度が、設定値の±20%を超えたため、各影響濃度の算出には実測値（時間加重平均値）を採用した。

2) 21 日間の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) : > 960 mg/L

3) 21 日間の 50% 繁殖阻害濃度 (ErC50) : > 960 mg/L

4) 21 日間の最大無作用濃度 (NOECr) : > 960 mg/L

(但し、親ミジンコの生存影響への 21 日間最大無作用濃度は、300 mg/L)

5) 21 日間の最小作用濃度 (LOECr) : > 960 mg/L

(但し、親ミジンコの生存影響への 21 日間最小作用濃度は、960 mg/L)

1 被験物質

1.1 名称，構造式および物理化学的性状

名称： アセトニトリル
構造式： CH_3CN
分子式： $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$
分子量*1： 41.05
log Pow*2： -0.34
水への溶解度*2： 可溶
蒸気圧*2： 88.81 mmHg (25 °C)
比重*1： 0.783
融点*2： -45 °C
沸点*2： 81.6 °C (760mmHg)

*1:供給者提供資料

*2:昭和63年度環境庁委託「化学物質要覧作成調査(1)」，日本環境協会
(平成元年)

1.2 供試試料

純度*1： 99.99 % (GC)
ロット番号*1： 5L5051
供給者： XXXXXXXXXX
供給量*1： 500 mL
入手日： 1996年3月8日
外観*1： 無色澄明液体
水溶状： 澄明
水分*1： 0.007 %
不揮発物*1： 0.0001 %

*1:供給者提供資料

1.3 被験物質の確認およ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、被験物質の構造と矛盾が認められないことを確認した。試験終了時にも同様にスペクトルを測定し、試験開始前に測定したスペクトルと比較した。その結果、スペクトルに変化は無かったことより被験物質は保管中は安定であったと判断された。

2 供試生物

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、1995年7月18日に国立環境研究所より入手したものを、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）による48時間の半数遊泳阻害濃度 (EiC50) は 0.14 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、別を用意したビーカーに移し、翌日、産出された幼体を別のビーカーに分けた。この幼体を供試ミジンコの親とし、以下の条件で3または4週間飼育した。成熟し幼体を産むようになったら1週間に2回幼体を除去した。暴露開始前日に、その前2週間の死亡率が5%以下で休眠卵や雄が発生しなかったバッチから、育苗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。

1) 飼育水: 希釈水 (3.2参照)

2) 飼育密度: 幼体時 100 頭/3L 飼育水
成熟個体 50 頭/3L 飼育水

3) 水温: $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$

4) 照明: 室内光, 16時間明/8時間暗

5) 餌: *Chlorella vulgaris*

6) 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

予備試験において、暴露開始 12 日目頃から被験物質の生分解に起因すると思われる被験物質濃度および溶存酸素濃度の減少が確認された。したがって、本試験では暴露開始初期は 0, 3, 5, 7, 9 日目に、9 日目以降は毎日換水することとした。

- 1) 暴露方式： 半止水式（暴露開始初期 3 回／週，その後 1 回／日 試験液を全量交換， 密閉容器使用）
- 2) 暴露期間： 21 日間
- 3) 試験液量： 850 mL（溶存酸素濃度を維持するため，試験液量を増やした。また，密閉容器内を試験液で満たした。）
- 4) 連数： 4 容器／濃度区
- 5) 供試生物数： 40 頭／濃度区（1 連につき 10 頭で 1 濃度区 40 頭）
- 6) 試験温度： 20±1℃
- 7) 照明： 室内光，16 時間明／8 時間暗
- 8) 餌： *Chlorella vulgaris*
- 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

脱塩素水（横浜市水道水を活性炭処理し，残留塩素等を除去した後，充分通気したもの）を使用した。希釈水の硬度は 50 mg／L（CaCO₃換算），pH は 7.9 であった。

[付属資料－1]

3.3 試験容器および恒温槽等

- 1) 試験容器： 850 mL 容ガラス製 密閉深型シャーレ
- 2) 恒温槽： PVC 製水槽（恒温装置 TAITEC 製 COOLNIT CL-80F 型）
- 3) 水温計： 横河電機製 2455 02 型
- 4) pH 計： 東亜電波工業製 HM-40V 型
- 5) 溶存酸素計： 電気化学計器製 DOL-10 型

3.4 試験濃度の設定

オオミジンコに対する48時間急性遊泳阻害濃度(48hr-EiC50値: > 1000mg/L)の結果から、本試験は公比 3.2で3段階を設定した。各濃度区は以下の通りである。

(対照区, 100, 320および 1000 mg/L)

3.5 試験液の調製

被験物質を 20000mg 採取し、純水で希釈し 500 mL に定容とし、被験物質濃度 40000 mg/L の原液を調製した。

5.0 L 容の密閉ガラス容器に 4.0 L の希釈水を入れ、上記被験物質原液を各濃度に応じて添加、混合し、被験物質濃度 100, 320, 1000 mg/L の各試験液を調製した。

対照区には、希釈水のみを用いた。

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2回(調製時および2または3日後の換水前で1回) 5.0 mLずつ採取し、各試料を直接GCに注入する方法により分析した。試験液の分析に際しては、試料測定毎に標準液(濃度 500 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

試験液の水温、溶存酸素濃度(D.O.)、pHを測定後、ガラスピペット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、ピペット内の飼育水が、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) 観察は生存数、遊泳阻害数、育房内に卵を持つ個体数および大きさと状態を対照区と比較し、毎日記録した。計数後の親ミジンコの死亡個体は取り除いた。

(産出幼体) 幼体の生死の数および大きさ、休眠卵の発生等について、換水時に観察し、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。

・水温: 全濃度区(但し、各1試験容器)について、少なくとも週に3回(換水前後)

- ・ 溶存酸素濃度(D. O.) : 全ての試験液について、少なくとも週に3回(換水前後)測定した。
- ・ pH : 全濃度区(但し、各1試験容器)について、少なくとも週に3回(換水前後)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

通常は各濃度区での親ミジンコの死亡数と供試個体数(40頭)から、Probit法、Moving average 法または Binomial法により各暴露期間の半数致死濃度(LC50)およびその95%信頼限界を算出するが、本試験では21日間の暴露期間中、親ミジンコの死亡数が50%未満であったため、LC50の算出は不可能であった。

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。

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

ここで、

- n: 幼体観察回数
 - Fn: 暴露開始後n回目の幼体数(但し、生存幼体)
 - Pn: 暴露開始後n回目の観察時の親の数
 - Pn-1: 暴露開始後n-1回目の親の数
 - P0: 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、Pn-1+Pnが0の場合は、無視した。)

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

ここで、

- TFn: 各試験容器の累積産仔数
- m: 濃度区当たりの連数(試験容器数: 4)

ErC50 値の算出

各濃度区での累積産仔数と対照区での累積産仔数の比から、各濃度区での累積産仔数に及ぼす阻害率を求めた。通常はその値を用いて、Probit 法により14および21日目の50%繁殖阻害濃度 (ErC50) およびその95%信頼限界を算出するが、本試験では最大濃度区においても阻害率が50%未満であったため、ErC50の算出は不可能であった。

4.3 最大無作用濃度 (NOECr) および最小作用濃度 (LOECr)

各試験容器毎の親1頭当たりの累積産仔数を算出し、各濃度区と対照区との有意差の有無をDunnettの多重比較検定 (Yukms 統計ライブラリー I 統計解析編 ver.3.0, 両側検定) 法により求め、対照区と比較して有意差 (5%水準) が認められない最高濃度 (最大無作用濃度: NOECr) および有意差が認められる最低濃度 (最小作用濃度: LOECr) を決定した。尚、参考までに親ミジンコの生存数についても、各濃度区と対照区との有意差の有無を上記方法により求めた。

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

該当する事象はなかった。

5.2 試験液中の被験物質濃度

暴露開始時，5，10 および 17 日目の試験液調製時の分析結果を下記に示した。

(設定値 100, 320, 1000 mg/L)

暴露開始 0 日目 (設定値に対する割合 95～103 %)

暴露開始 5 日目 (設定値に対する割合 97 %)

暴露開始 10 日目 (設定値に対する割合 94～97 %)

暴露開始 17 日目 (設定値に対する割合 94～101 %)

また，それらの 1，2 または 3 日後 (換水前) の分析結果を下記に示した。

暴露開始 3 日目 (設定値に対する割合 96～104 %)

暴露開始 7 日目 (設定値に対する割合 71～95 %)

暴露開始 11 日目 (設定値に対する割合 88～90 %)

暴露開始 18 日目 (設定値に対する割合 91～98 %)

最低濃度区 (100mg/L) において暴露開始 7 日目 (換水前) の被験物質実測濃度が，設定値の±20%を超えたため，実測値を用いて各濃度の 21 日間の時間加重平均値 (92, 300, 960 mg/L) を算出し，各影響濃度の算出に用いた。

[Table 1 (p.18,19), 付属資料－2]

5.3 ミジンの観察結果

親ミジンの死亡数および死亡率

対照区での親ミジンの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。

暴露終了時の親ミジンの死亡率は，92 mg/L 区で 2.5%，300 mg/L 区で 5%，960 mg/L 区で 37.5%であった。

[Table 2-1, 2-2 (p.20), Figure 1 (p.21) 付属資料－3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日は全容器とも暴露開始8日目であり、試験成立条件である9日以内の基準を満たした。

各濃度区における親ミジンコの初産日は、92 および 300 mg/L区で暴露開始8日目、960 mg/L区で8または9日目であった。

[Table 3 (p. 22), 付属資料-3]

平均累積産仔数

対照区での親ミジンコは全容器とも3腹以上産出し、1頭当たりの平均累積産仔数は41頭であった。試験成立条件である3腹以上を産出し、平均累積産仔数20頭の基準を満たした。

各濃度区における親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は、92 mg/L区で43頭、300 mg/L区で35頭、960mg/L区で32頭であった。

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

親ミジンコの大きさと状態

何れの濃度区においても、全暴露期間を通して対照区と比較して親ミジンコの大きさに差は認められなかった。

休眠卵の発生等

全暴露期間を通して、対照区および全濃度区において休眠卵の発生は認められなかった。

5.4 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50)

21日間の親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) は >960 mg/Lであった。

その他の観察日(1, 2, 4, 7および14日目)の半数致死濃度も、>960 mg/Lであった。

[Table 5 (p. 24)]

5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)

14日間および21日間の50%繁殖阻害濃度 (ErC50) は、何れも >960 mg/L であった。

[Table 6 (p. 24)]

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 日間の最大無作用濃度 (NOECr) は >960 mg/L で、最小作用濃度 (LOECr) も >960 mg/L であった。

尚、親ミジンコの生存影響への 21 日間最大無作用濃度は、300 mg/L であり、最小作用濃度は 960 mg/L であった。

[Table 7 (p. 25)]

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 20.0~20.8 °C であり、設定範囲内であった。

溶存酸素濃度は 7.0~10.4 mg/L であり、すべての試験水槽で飽和溶存酸素濃度の 60% 以上が維持された (20.0°C 水中の飽和溶存酸素濃度: 8.8 mg/L)。

pH は 7.6~8.1 であり、変動は 1 以下であった。

以上のことから、水温、溶存酸素濃度および pH は、ミジンコの成育条件として適切な範囲内であったと思われる。

[Table 8 (p. 26), Table 9 (p. 27), Table 10 (p. 28)]

以 上

Table 1 Measured Concentrations of the Test Substance 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 | 3 day old | 0 day new | 3 day old |
| Control | < 10 | < 10 | ---- | ---- |
| 100 | 102 | 98 | 102 | 98 |
| 320 | 304 | 307 | 95 | 96 |
| 1000 | 1027 | 1043 | 103 | 104 |

| Nominal Concentration mg/L | Measured Concentration (mg/L) | | Percent of Nominal | |
|----------------------------------|----------------------------------|--------------|--------------------|--------------|
| | 5 day new | 7 day old | 5 day new | 7 day old |
| Control | < 10 | < 10 | ---- | ---- |
| 100 | 97 | 71 | 97 | 71 |
| 320 | 311 | 292 | 97 | 91 |
| 1000 | 966 | 948 | 97 | 95 |

new: freshly prepared test solution

old: test solutions 2days or 3days after freshly prepared

Table 1 Continued

| Nominal | Measured Concentration (mg/L) | | Percent of Nominal | |
|-----------------------|----------------------------------|---------------|--------------------|---------------|
| Concentration mg/L | 10 day new | 11 day old | 10 day new | 11 day old |
| Control | < 10 | < 10 | ---- | ---- |
| 100 | 97 | 90 | 97 | 90 |
| 320 | 305 | 283 | 95 | 88 |
| 1000 | 940 | 885 | 94 | 89 |

| Nominal | Measured Concentration (mg/L) | | Percent of Nominal | | Time-weighted Mean during 21 days (mg/L) |
|-----------------------|----------------------------------|---------------|--------------------|---------------|---|
| Concentration mg/L | 17 day new | 18 day old | 17 day new | 18 day old | |
| Control | < 10 | < 10 | ---- | ---- | ---- |
| 100 | 100 | 92 | 100 | 92 | 92 |
| 320 | 323 | 290 | 101 | 91 | 300 |
| 1000 | 944 | 975 | 94 | 98 | 960 |

new: freshly prepared test solution

old: test solutions 2days or 3days after freshly prepared

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

| Measured Conc. (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 | 2 | 4 |
| 92 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 300 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 960 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 9 | 15 |

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

| Measured Conc. (mg/L) | Days | | | | | |
|-----------------------------|------|-----|-----|-----|-----|------|
| | 1 | 2 | 4 | 7 | 14 | 21 |
| control | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 10.0 |
| 92 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.5 |
| 300 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.5 | 5.0 |
| 960 | 0.0 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 7.5 | 37.5 |

Figure 1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*

(Based on measured concentration)

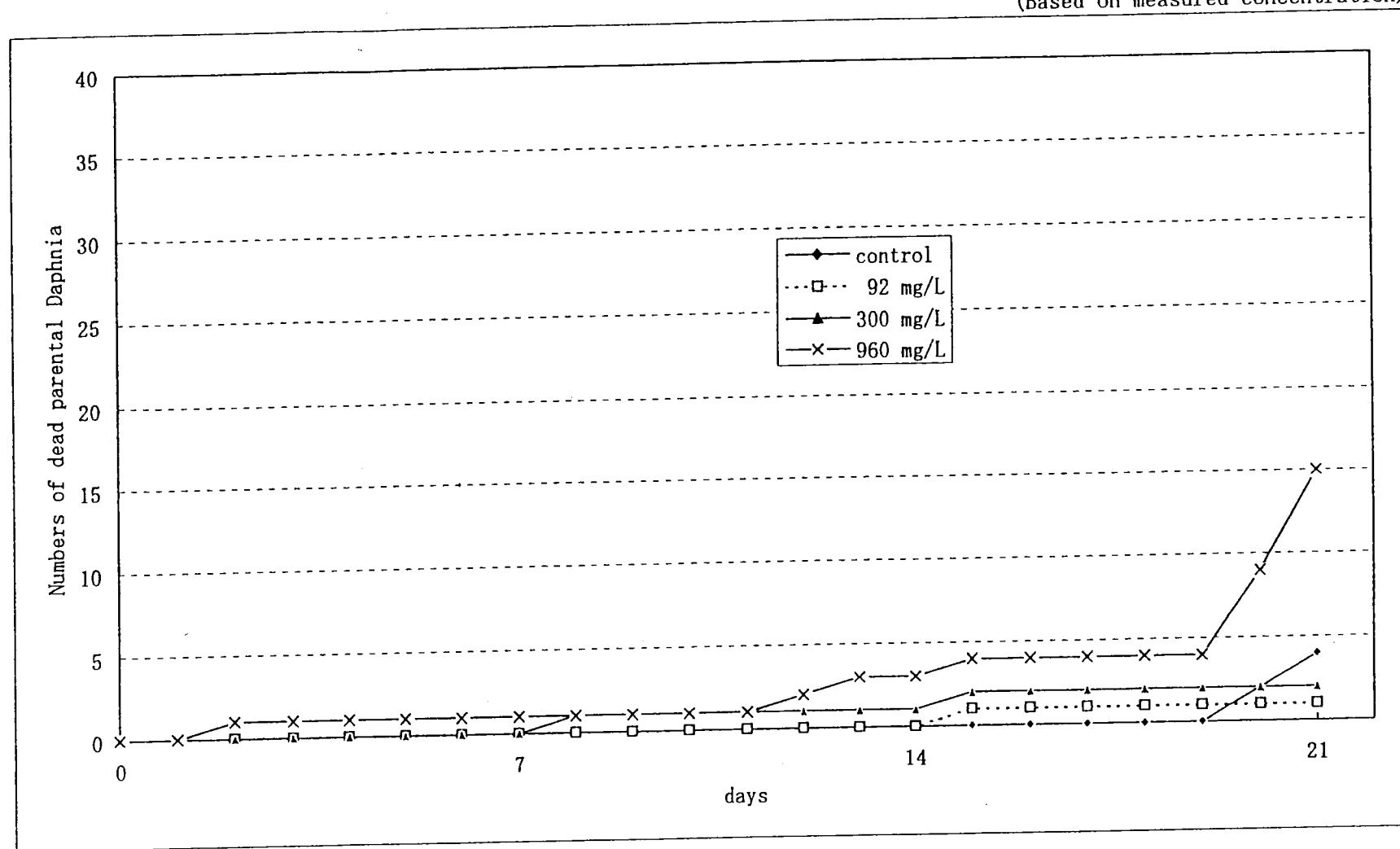


Table 3 Time (day) to First Brood Production

| Vessel No. | Measured Concentration (mg/L) | | | |
|------------|-------------------------------|------|------|------|
| | Control | 92 | 300 | 960 |
| 1 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 2 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 3 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 4 | 8 | 8 | 8 | 9 |
| Mean | 8.00 | 8.00 | 8.00 | 8.25 |

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

| Measured Conc. (mg/L) | Days | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------|---|---|---|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--|--|
| | 0 | 2 | 5 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | | |
| control | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.7 | 6.4 | 8.4 | 10.0 | 13.8 | 17.1 | 18.6 | 22.8 | 24.7 | 27.5 | 31.3 | 36.7 | 39.0 | 41.0 | | |
| 92 mg/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.8 | 3.4 | 5.3 | 11.3 | 12.8 | 14.8 | 21.4 | 24.9 | 26.1 | 31.4 | 33.4 | 37.2 | 41.6 | 42.6 | | |
| 300 mg/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.3 | 4.9 | 6.9 | 11.5 | 13.5 | 15.7 | 20.4 | 23.1 | 24.7 | 27.5 | 30.2 | 32.3 | 34.9 | 34.9 | | |
| 960 mg/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.5 | 3.7 | 5.3 | 9.3 | 10.5 | 13.1 | 16.4 | 18.5 | 20.4 | 25.5 | 27.0 | 27.6 | 31.6 | 32.2 | | |

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

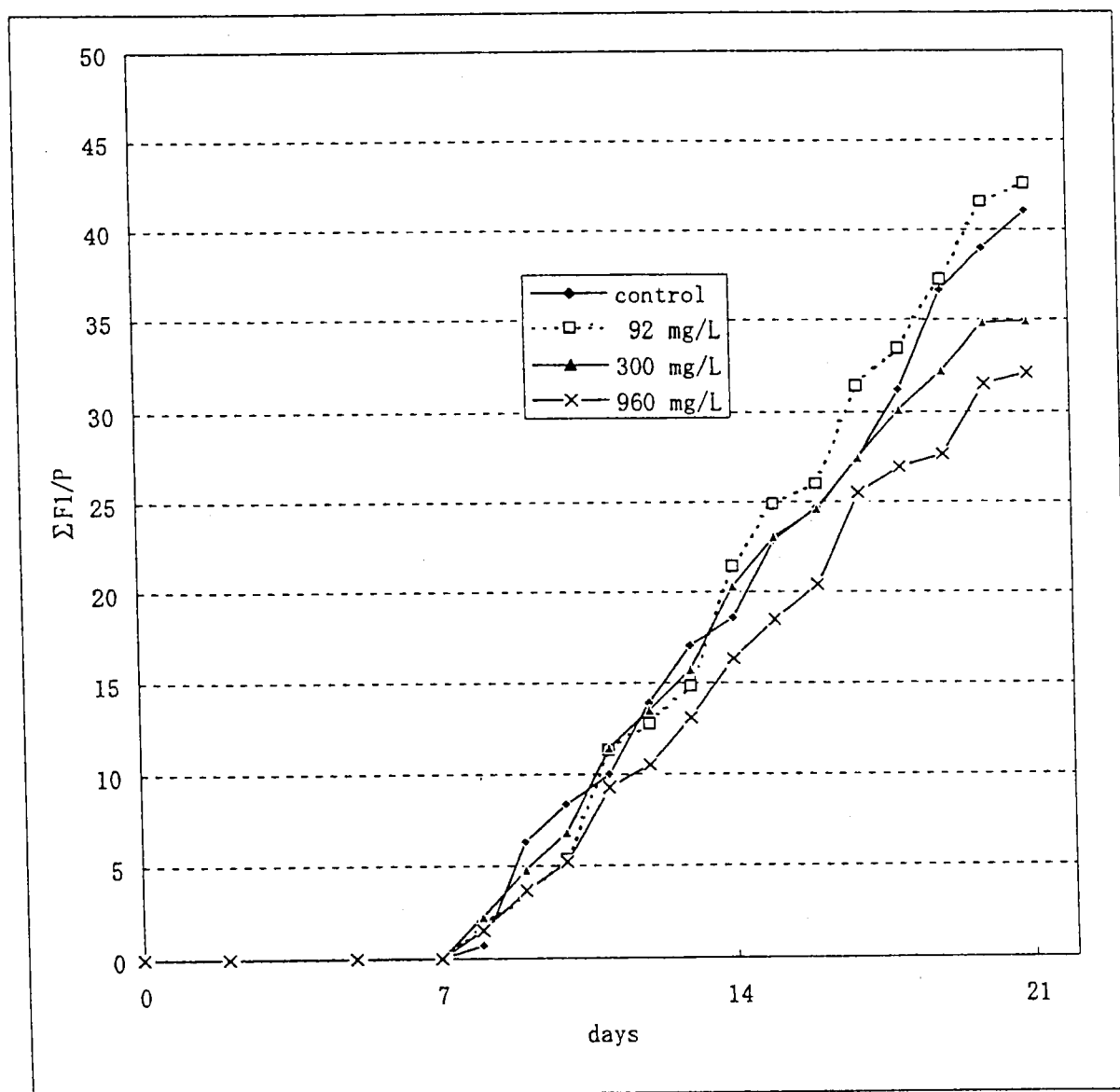


Table 5 Calculated LC50 Values for Parental *Daphnia*

| Exposure period (day) | LC50 (mg/L) | 95 % Confidence limits (mg/L) | Statistical method |
|-----------------------------|----------------|----------------------------------|-----------------------|
| 1 | > 960 | - | - |
| 2 | > 960 | - | - |
| 4 | > 960 | - | - |
| 7 | > 960 | - | - |
| 14 | > 960 | - | - |
| 21 | > 960 | - | - |

Table 6 Calculated ErC50 Values for Inhibition of Reproduction

| Exposure period (day) | ErC50 (mg/L) | 95 % Confidence limits (mg/L) | Statistical method |
|-----------------------------|-----------------|----------------------------------|-----------------------|
| 14 | > 960 | - | - |
| 21 | > 960 | - | - |

Table 7-1 Mean cumulative numbers of juveniles produced per adult in control and test vessels after 21 days, and significance test result by Dunnett multiple comparison procedure (two-sided test)

| Vessel No. | Measured Concentration(mg/L) | | | |
|------------------------|------------------------------|-------|-------|-------|
| | Control | 92 | 300 | 960 |
| 1 | 41.90 | 33.86 | 31.00 | 36.86 |
| 2 | 39.82 | 39.90 | 28.60 | 38.91 |
| 3 | 45.70 | 46.10 | 28.23 | 23.10 |
| 4 | 36.63 | 50.50 | 51.89 | 29.91 |
| Mean | 41.01 | 42.59 | 34.93 | 32.19 |
| S.D. | 3.80 | 7.27 | 11.37 | 7.18 |
| Inhibition rate(%) | | -3.8 | 14.8 | 21.5 |
| Significant difference | | - | - | - |

-: No significant difference , *: 5%, **: 1% Significant Level

Table 7-2 The numbers of alive parental *Daphnia* in control and test vessels after 21 days, and significance test result by Dunnett multiple comparison procedure (two-sided test)

| Vessel No. | Measured Concentration(mg/L) | | | |
|------------------------|------------------------------|------|------|------|
| | Control | 92 | 300 | 960 |
| 1 | 10 | 9 | 10 | 6 |
| 2 | 8 | 10 | 10 | 6 |
| 3 | 9 | 10 | 9 | 6 |
| 4 | 9 | 10 | 9 | 7 |
| Mean | 9.00 | 9.75 | 9.50 | 6.25 |
| S.D. | 0.82 | 0.50 | 0.58 | 0.50 |
| Significant difference | | - | - | ** |

-: No significant difference , *: 5%, **: 1% Significant Level

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

| | | Temperature, °C | | | |
|------|-----|-------------------------------|------|------|------|
| | | Measured Concentration (mg/L) | | | |
| days | | Control | 92 | 300 | 960 |
| 0 | new | 20.1 | 20.6 | 20.1 | 20.4 |
| 3 | old | 20.5 | 20.5 | 20.5 | 20.5 |
| 3 | new | 20.8 | 20.8 | 20.8 | 20.8 |
| 5 | old | 20.3 | 20.3 | 20.3 | 20.3 |
| 5 | new | 20.3 | 20.2 | 20.8 | 20.7 |
| 7 | old | 20.1 | 20.1 | 20.1 | 20.1 |
| 10 | new | 20.1 | 20.3 | 20.3 | 20.3 |
| 11 | old | 20.1 | 20.1 | 20.2 | 20.2 |
| 12 | new | 20.1 | 20.3 | 20.4 | 20.6 |
| 13 | old | 20.2 | 20.2 | 20.2 | 20.2 |
| 13 | new | 20.2 | 20.2 | 20.2 | 20.2 |
| 14 | old | 20.3 | 20.3 | 20.3 | 20.3 |
| 17 | new | 20.3 | 20.2 | 20.2 | 20.2 |
| 18 | old | 20.0 | 20.1 | 20.1 | 20.1 |
| 18 | new | 20.2 | 20.2 | 20.2 | 20.2 |
| 19 | old | 20.1 | 20.2 | 20.1 | 20.1 |
| 20 | new | 20.3 | 20.3 | 20.3 | 20.3 |
| 21 | old | 20.1 | 20.1 | 20.1 | 20.1 |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 1-3 days exposure

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

| | | D. O. (mg/L) | | | |
|------|-----|-------------------------------|----------|-----------|---------|
| days | | Measured Concentration (mg/L) | | | |
| | | Control | 92 | 300 | 960 |
| 0 | new | 8.3 | 8.3 | 8.3 | 8.3 |
| 3 | old | 9.7-10.4 | 9.7-10.3 | 10.1-10.4 | 9.7-9.9 |
| 3 | new | 8.4 | 8.6 | 8.5 | 8.7 |
| 5 | old | 8.0-8.1 | 8.0-8.1 | 8.0-8.1 | 8.1-8.6 |
| 5 | new | 8.2 | 8.1 | 8.3 | 8.2 |
| 7 | old | 7.4-7.5 | 7.2-7.4 | 7.0-7.5 | 7.7-8.2 |
| 10 | new | 8.3 | 8.3 | 8.4 | 8.3 |
| 11 | old | 7.5-7.9 | 7.5-8.0 | 7.6-7.9 | 7.7-8.1 |
| 12 | new | 8.6 | 8.5 | 8.5 | 8.7 |
| 13 | old | 7.8-8.1 | 7.7-8.2 | 7.7-8.1 | 8.1-8.4 |
| 13 | new | 8.3 | 8.4 | 8.5 | 8.6 |
| 14 | old | 7.8-8.1 | 7.7-8.3 | 7.9-8.1 | 7.9-8.4 |
| 17 | new | 8.6 | 8.6 | 8.6 | 8.7 |
| 18 | old | 8.0-8.3 | 8.0-8.4 | 7.9-8.3 | 8.3-8.6 |
| 18 | new | 8.2 | 8.7 | 8.8 | 8.8 |
| 19 | old | 8.6-8.8 | 8.6-8.8 | 8.4-8.9 | 8.7-8.9 |
| 20 | new | 8.3 | 8.6 | 8.5 | 8.5 |
| 21 | old | 8.0-8.6 | 8.3-8.5 | 8.0-8.4 | 8.3-8.5 |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 1-3 days exposure

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

| pH | | Measured Concentration (mg/L) | | | |
|------|-----|-------------------------------|-----|-----|-----|
| days | | Control | 92 | 300 | 960 |
| 0 | new | 7.9 | 7.9 | 7.9 | 7.9 |
| 3 | old | 8.0 | 8.0 | 8.1 | 8.1 |
| 3 | new | 7.6 | 7.7 | 7.7 | 7.7 |
| 5 | old | 7.8 | 7.8 | 7.8 | 7.8 |
| 5 | new | 7.9 | 7.9 | 7.9 | 7.9 |
| 7 | old | 7.3 | 7.4 | 7.4 | 7.2 |
| 10 | new | 7.9 | 7.9 | 7.9 | 7.9 |
| 11 | old | 7.7 | 7.8 | 7.7 | 7.8 |
| 12 | new | 7.9 | 7.9 | 7.9 | 7.9 |
| 13 | old | 7.7 | 7.7 | 7.8 | 7.8 |
| 13 | new | 7.9 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| 14 | old | 7.7 | 7.7 | 7.7 | 7.8 |
| 17 | new | 7.9 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| 18 | old | 7.6 | 7.7 | 7.7 | 7.8 |
| 18 | new | 7.7 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| 19 | old | 7.7 | 7.8 | 7.8 | 7.9 |
| 20 | new | 7.9 | 8.0 | 8.0 | 7.9 |
| 21 | old | 7.8 | 7.9 | 8.0 | 7.9 |

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 1-3 days exposure

付属資料一 1

希釈水の水質

Water Quality of Dilution Water

| Parameter | Concentration |
|--|----------------|
| COD | <1 mg/L |
| Total phosphorus | <0.01 mg/L |
| pH | 7.9 (22°C) |
| Coliform group bacteria | N. D. |
| Mercury | <0.0001 mg/L |
| Copper | <0.001 mg/L |
| Cadmium | <0.001 mg/L |
| Zinc | 0.02 mg/L |
| Lead | <0.01 mg/L |
| Aluminium | 0.05 mg/L |
| Nickel | <0.01 mg/L |
| Chromium | <0.01 mg/L |
| Manganese | <0.1 mg/L |
| Tin | <0.1 mg/L |
| Iron | <0.1 mg/L |
| Cyanide | <0.001 mg/L |
| Free chlorine | 0.01 mg/L |
| Bromide ion | <0.1 mg/L |
| Fluoride | <0.1 mg/L |
| Sulfide ion | <0.03 mg/L |
| Ammonium ion | <0.1 mg/L |
| Arsenic | <0.01 mg/L |
| Selenium | <0.01 mg/L |
| Evaporation residue | 110 mg/L |
| Electric conductivity | 140 μ S/cm |
| Total hardness (as CaCO ₃) | 50 mg/L |
| Alkalinity | 40 mg/L |
| Sodium | 6.6 mg/L |
| Potassium | 1.2 mg/L |
| Calcium | 7.8 mg/L |
| Magnesium | 3.6 mg/L |

measured date: November 24, 1995

付属資料－ 2

試験液の分析方法

試験液の分析方法

1 試験液の分析方法

各分析試料を直接GCに注入する方法により分析した。各試験液の被験物質濃度は標準溶液のピーク面積との比から定量した。

2 ガスクロマトグラフィー (GC) 測定条件

(装置)

| | |
|------------|--|
| ガスクロマトグラフ: | HEWLETT PACKARD製 5890A SERIES II型 |
| オートサンプラ: | HEWLETT PACKARD製 7673型 |
| 検出器: | FID (Flame Ionization Detector) |
| データ処理装置: | HEWLETT PACKARD製 GC-AED-MS ChemStation |

(条件)

| | |
|---------|--|
| カラム: | HP FFAP 25mx0.20mmx0.33 μ m |
| キャリアガス: | ヘリウム 1.0 mL/min |
| オーブン温度: | Initial temp. 50°C Initial time 2.0 min Rate 10°C/min Final temp. 110°C Final time 0 min |
| 注入口温度: | 150°C |
| 検出器温度: | 220°C |
| 検出器条件: | 水素 30 mL/min 空気 400 mL/min メイクアップガス 窒素 30 mL/min |
| 注入方法: | Split (Split Ratio; 30:1) |
| 注入量: | 1.0 μ L |

3 検量線

被験物質の10000mg/L 水溶液を調製し、順次、水で希釈し 50, 100, 200, 500, 1000 mg/Lの標準溶液を調製した。この標準溶液を直接GCに注入することにより測定した。横軸に濃度を (mg/L) , 縦軸にピーク面積 (count表示) をとり、検量線を作成した。検量線はほぼ原点を通る直線となり、最小二乗法による直線回帰式の相関係数は0.99996と良好であった。

4 定量限界

最小検出ピーク面積を 20 countに設定し、これに相当する試験液中の被験物質濃度 10 mg/Lを定量限界とした。

5 添加回収試験

GC直接注入法のため添加回収試験は実施しなかった。

Figure A-2-1 Calibration Curve by HPLC Analysis

| Input Data | | |
|------------|-------------------------|----------------------|
| No. | Concentration (mg/L) | Peak Area (count) |
| 0 | 0 | 0 |
| 1 | 50.0 | 120.81 |
| 2 | 100.0 | 240.45 |
| 3 | 200.0 | 482.79 |
| 4 | 500.0 | 1200.70 |
| 5 | 1000.0 | 2357.60 |

$$Y = 6.275 + 2.359 X$$

$$r = 0.99996$$

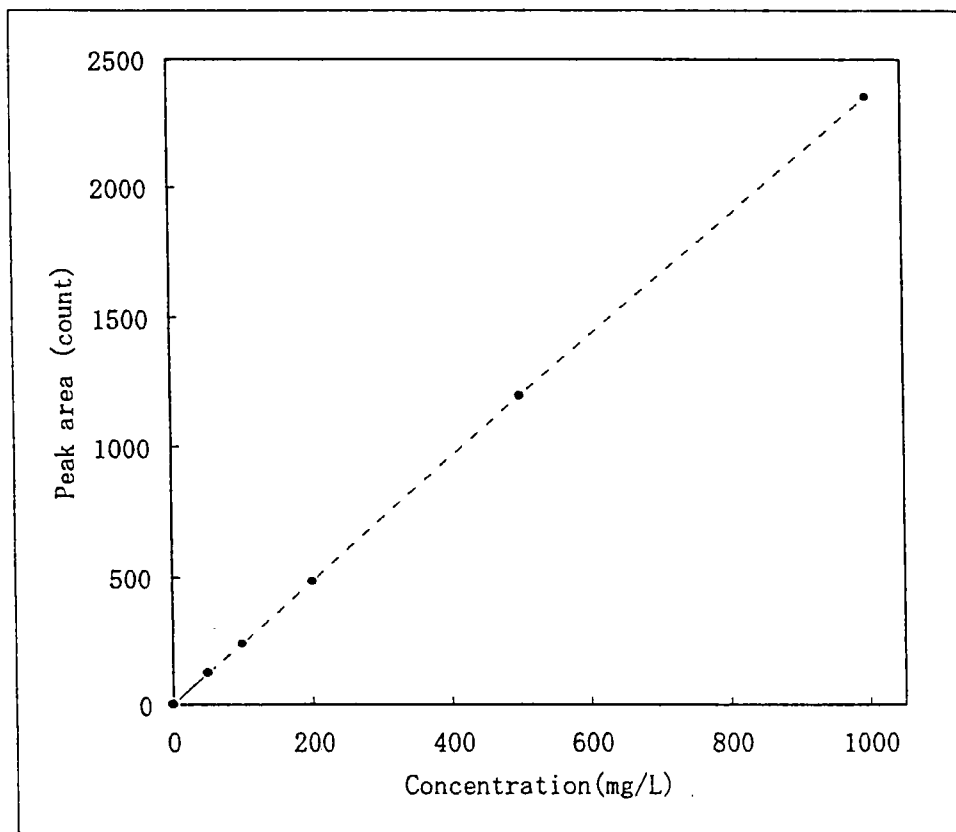
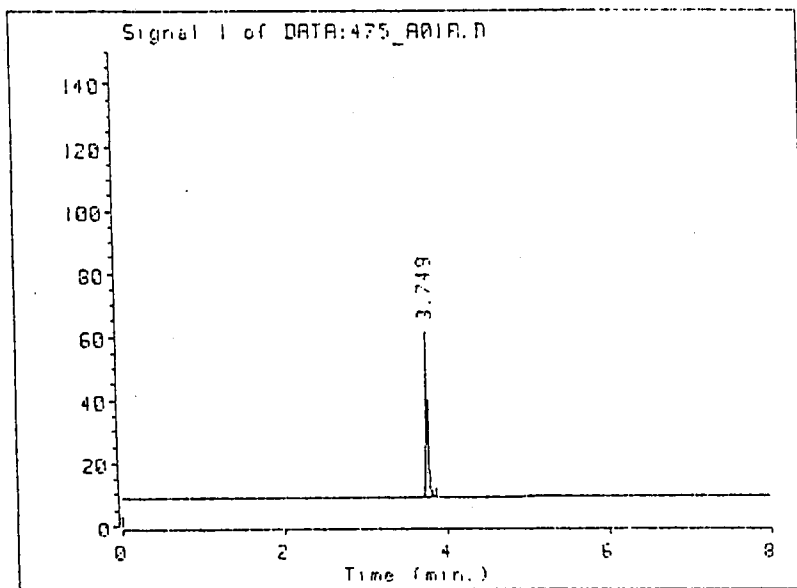


Figure A-2-2 Representative Chromatograms

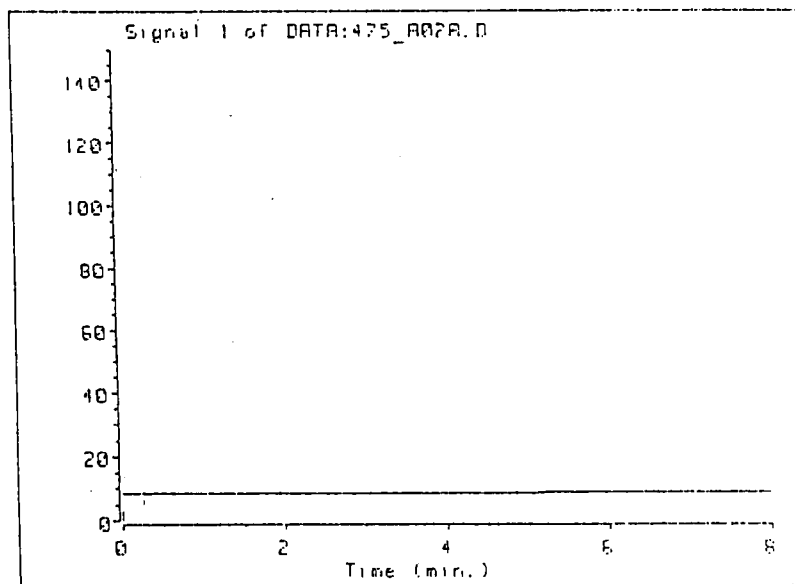
(1) Standard 500 mg/L; Day 0



Signal 1 of DATA:475_A01A.D
DATA:475_A01A.D

| PK# | RT | Type | Width | Area | StartTime | EndTime | Symmetry | Height |
|-----|-------|------|-------|--------|-----------|---------|----------|--------|
| 1 | 3.749 | BB | 0.030 | 1034.1 | 3.703 | 3.860 | 0.7026 | 53.01 |

(2) Control ; Day 0 (new)

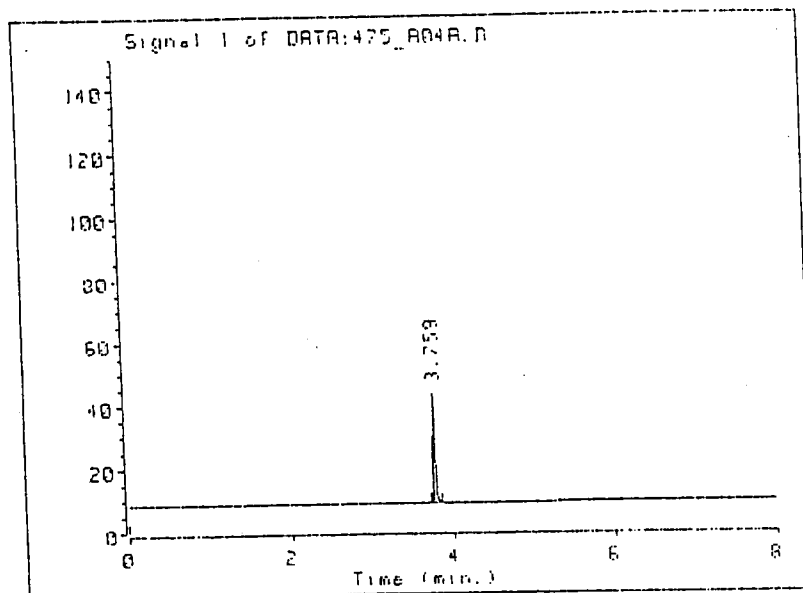


Signal 1 of DATA:475_A02A.D
DATA:475_A02A.D

No peaks detected

Figure A-2-2 Continued

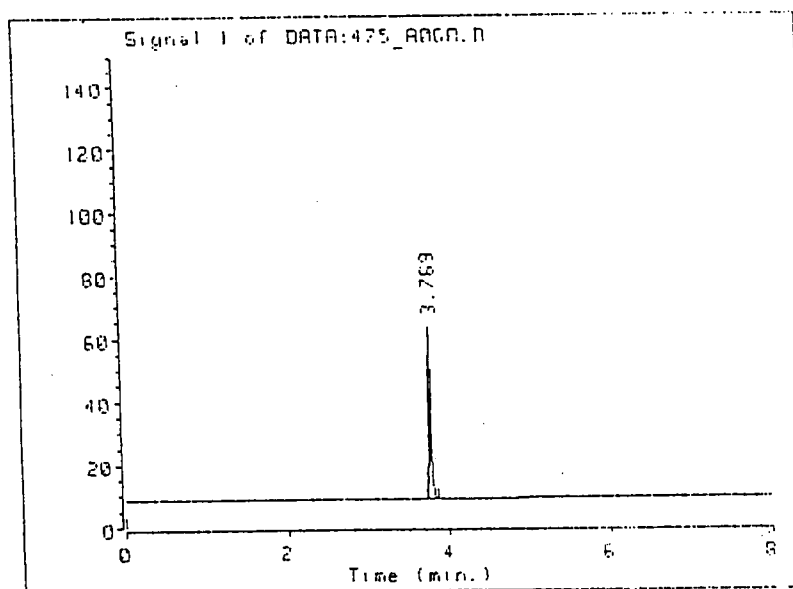
(3) 320 mg/L nominal; Day 0 (new)



Signal 1 of DATA:475_A04A.D
DATA:475_A04A.D

| PK | RT | Type | Width | Area | StartTime | EndTime | Symmetry | Height |
|----|-------|------|-------|--------|-----------|---------|----------|--------|
| 1 | 3.759 | BB | 0.028 | 627.96 | 3.707 | 3.843 | 0.7859 | 34.77 |

(4) Standard 500 mg/L; Day 3

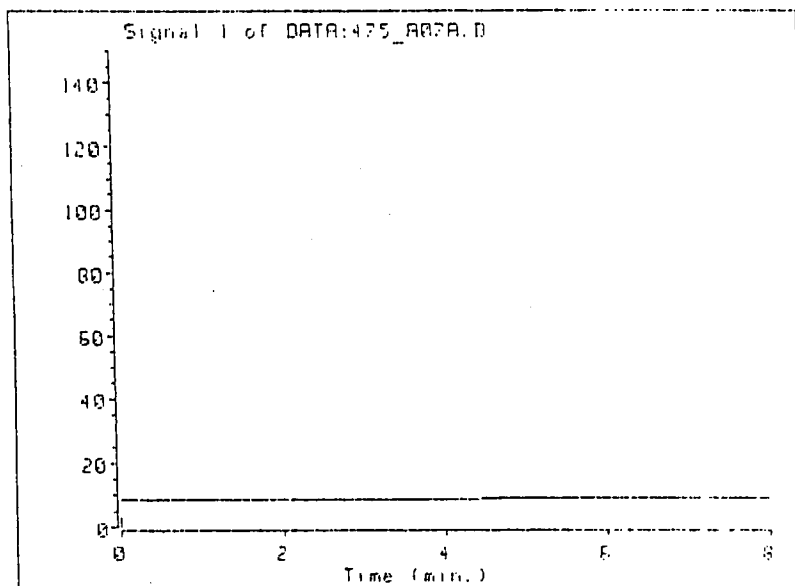


Signal 1 of DATA:475_A06A.D
DATA:475_A06A.D

| PK | RT | Type | Width | Area | StartTime | EndTime | Symmetry | Height |
|----|-------|------|-------|--------|-----------|---------|----------|--------|
| 1 | 3.769 | BB | 0.030 | 1869.3 | 3.720 | 3.867 | 0.7385 | 54.79 |

Figure A-2-2 Continued

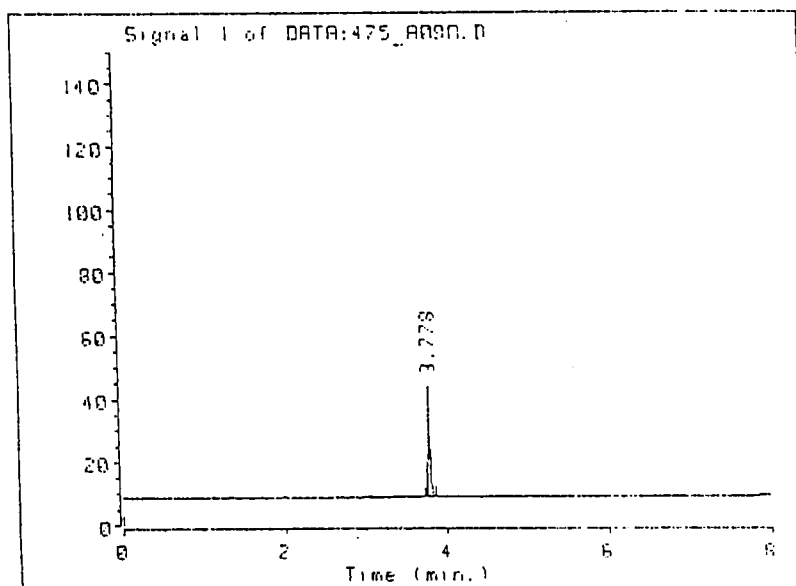
(5) Control ; Day 3 (old)



Signal 1 of DATA:475_A07A.D
DATA:475_A07A.D

No peaks detected

(6) 320 mg/L nominal; Day 3 (old)



Signal 1 of DATA:475_A08A.D
DATA:475_A08A.D

| PL1 | RI | Time | Type | Width | Area | StartTime | EndTime | Symmetry | Height |
|-----|-------|------|------|-------|--------|-----------|---------|----------|--------|
| 1 | 3.778 | BB | | 0.028 | 855.57 | 3.727 | 3.863 | 0.7855 | 35.53 |

付属資料－3

ミジンコの観察結果

Appendix 3-1 Result of repropduction test

(Test chemical: Acetonitrile)

(Nominal conc.: 0 mg/L,

Dispersant conc.: 0 mg/L)

| Rep. No. | Counts | Time | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total | | |
|----------|---------------------------|---------------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| | | 3/9 | 3/10 | 1/0 | 3/12 | 3/13 | 3/14 | 3/15 | 3/16 | 3/17 | 3/18 | 3/19 | 3/20 | 3/21 | 3/22 | 3/23 | 3/24 | 3/25 | 3/26 | 3/27 | 3/28 | 3/29 | | | |
| | | 1 d | 2 d | 3 d | 4 d | 5 d | 6 d | 7 d | 8 d | 9 d | 10 d | 11 d | 12 d | 13 d | 14 d | 15 d | 16 d | 17 d | 18 d | 19 d | 20 d | 21 d | | | |
| 1 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- | | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- | | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 10 | 90 | 37 | 16 | 7 | 38 | 0 | 34 | 14 | 28 | 9 | 101 | 35 | 0 | 419 | |
| | | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 12 |
| | | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 10 | 91 | 37 | 16 | 8 | 38 | 0 | 37 | 14 | 28 | 0 | 106 | 37 | 0 | 431 |
| | | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.00 | 9.00 | 3.70 | 1.60 | 0.70 | 3.80 | 0.00 | 3.40 | 1.40 | 2.80 | 0.90 | 10.10 | 3.50 | 0.00 | 41.90 | |
| 2 | | Cumulative reproductivity | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.00 | 10.00 | 13.70 | 15.30 | 16.00 | 19.80 | 19.80 | 23.20 | 24.60 | 27.40 | 28.30 | 38.40 | 41.90 | 41.90 | | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | -- | | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | -- | | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 2 | 52 | 19 | 10 | 62 | 32 | 8 | 57 | 17 | 16 | 51 | 21 | 9 | 38 | 394 | |
| | | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 0 | 3 | 8 | 2 | 28 | 49 | |
| | | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 2 | 53 | 21 | 10 | 62 | 33 | 8 | 61 | 17 | 16 | 54 | 29 | 11 | 66 | 443 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.20 | 5.20 | 1.90 | 1.00 | 6.20 | 3.20 | 0.80 | 5.70 | 1.70 | 1.60 | 5.10 | 2.10 | 0.90 | 4.22 | 39.82 | | |
| 3 | | Cumulative reproductivity | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.20 | 5.40 | 7.30 | 8.30 | 14.50 | 17.70 | 18.50 | 24.20 | 25.90 | 27.50 | 32.60 | 34.70 | 35.60 | 39.82 | | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | -- | | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | -- | | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 15 | 46 | 16 | 21 | 34 | 47 | 19 | 58 | 30 | 37 | 41 | 48 | 10 | 31 | 453 | |
| | | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 1 | 4 | 3 | 1 | 6 | 21 | |
| | | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 15 | 48 | 16 | 21 | 34 | 47 | 19 | 61 | 31 | 38 | 45 | 51 | 11 | 37 | 474 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.50 | 4.60 | 1.60 | 2.10 | 3.40 | 4.70 | 1.90 | 5.80 | 3.00 | 3.70 | 4.10 | 4.80 | 1.05 | 3.44 | 45.70 | | |
| 4 | | Cumulative reproductivity | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.50 | 6.10 | 7.70 | 9.80 | 13.20 | 17.90 | 19.80 | 25.60 | 28.60 | 32.30 | 36.40 | 41.20 | 42.25 | 45.70 | | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | -- | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | -- | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 2 | 37 | 8 | 18 | 51 | 12 | 34 | 21 | 12 | 31 | 51 | 46 | 38 | 3 | 364 | |
| | | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 1 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 | 3 | 3 | 3 | 9 | 33 |
| | | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 2 | 37 | 14 | 18 | 52 | 12 | 37 | 26 | 12 | 31 | 54 | 49 | 41 | 12 | 397 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.20 | 3.70 | 0.80 | 1.80 | 5.10 | 1.20 | 3.40 | 2.10 | 1.20 | 3.10 | 5.10 | 4.60 | 4.00 | 0.33 | 36.63 | | |
| | Cumulative reproductivity | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.20 | 3.90 | 4.70 | 6.50 | 11.60 | 12.80 | 16.20 | 18.30 | 19.50 | 22.60 | 27.70 | 32.30 | 36.30 | 36.63 | | | |

The time (days) to first brood: 1: 8 days, 2: 8 days, 3: 8 days, 4: 8 days.

Appendix 3-2 Result of reproduction test

(Test chemical: Acetonitrile)
(Nominal conc.: 100 mg/L,

Dispersant conc.: 0 mg/L)

| Rep. No. | Counts | Time | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total |
|----------|---------------------------|-------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 3/9 | 3/10 | 1/0 | 3/12 | 3/13 | 3/14 | 3/15 | 3/16 | 3/17 | 3/18 | 3/19 | 3/20 | 3/21 | 3/22 | 3/23 | 3/24 | 3/25 | 3/26 | 3/27 | 3/28 | 3/29 | |
| | | 1 d | 2 d | 3 d | 4 d | 5 d | 6 d | 7 d | 8 d | 9 d | 10 d | 11 d | 12 d | 13 d | 14 d | 15 d | 16 d | 17 d | 18 d | 19 d | 20 d | 21 d | |
| 1 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -- |
| | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 16 | 25 | 16 | 18 | 3 | 31 | 57 | 32 | 1 | 30 | 34 | 19 | 39 | 2 | 323 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 15 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 16 | 27 | 16 | 18 | 3 | 31 | 59 | 37 | 1 | 30 | 34 | 19 | 45 | 2 | 338 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 1.60 | 2.50 | 1.60 | 1.80 | 0.30 | 3.10 | 5.70 | 3.37 | 0.11 | 3.33 | 3.78 | 2.11 | 4.33 | 0.22 | 33.86 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 1.60 | 4.10 | 5.70 | 7.50 | 7.80 | 10.90 | 16.60 | 19.97 | 20.08 | 23.41 | 27.19 | 29.30 | 33.64 | 33.86 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| 2 | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 49 | 22 | 9 | 55 | 1 | 1 | 37 | 27 | 1 | 74 | 14 | 54 | 49 | 6 | 399 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 6 | 2 | 17 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 49 | 23 | 9 | 57 | 1 | 1 | 39 | 29 | 1 | 76 | 14 | 54 | 55 | 8 | 416 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 4.90 | 2.20 | 0.90 | 5.50 | 0.10 | 0.10 | 3.70 | 2.70 | 0.10 | 7.40 | 1.40 | 5.40 | 4.90 | 0.60 | 39.90 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 4.90 | 7.10 | 8.00 | 13.50 | 13.60 | 13.70 | 17.40 | 20.10 | 20.20 | 27.60 | 29.00 | 34.40 | 39.30 | 39.90 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 5 | 19 | 18 | 62 | 57 | 9 | 57 | 59 | 19 | 41 | 26 | 29 | 29 | 31 | 461 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 5 | 2 | 1 | 0 | 1 | 7 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 23 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 5 | 24 | 20 | 63 | 57 | 10 | 64 | 60 | 19 | 41 | 26 | 29 | 30 | 36 | 484 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.50 | 1.90 | 1.80 | 6.20 | 5.70 | 0.90 | 5.70 | 5.90 | 1.90 | 4.10 | 2.60 | 2.90 | 2.90 | 3.10 | 46.10 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.50 | 2.40 | 4.20 | 10.40 | 16.10 | 17.00 | 22.70 | 28.60 | 30.50 | 34.60 | 37.20 | 40.10 | 43.00 | 46.10 | |
| 3 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 31 | 105 | 0 | 38 | 114 | 19 | 27 | 64 | 4 | 48 | 52 | 2 | 505 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 18 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 1 | 31 | 106 | 4 | 39 | 116 | 19 | 28 | 64 | 4 | 48 | 60 | 2 | 523 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 3.10 | 10.50 | 0.00 | 3.80 | 11.40 | 1.90 | 2.70 | 6.40 | 0.40 | 4.80 | 5.20 | 0.20 | 50.50 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.10 | 3.20 | 13.70 | 13.70 | 17.50 | 28.90 | 30.80 | 33.50 | 39.90 | 40.30 | 45.10 | 50.30 | 50.50 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| 4 | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 31 | 105 | 0 | 38 | 114 | 19 | 27 | 64 | 4 | 48 | 52 | 2 | 505 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 18 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 1 | 31 | 106 | 4 | 39 | 116 | 19 | 28 | 64 | 4 | 48 | 60 | 2 | 523 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 3.10 | 10.50 | 0.00 | 3.80 | 11.40 | 1.90 | 2.70 | 6.40 | 0.40 | 4.80 | 5.20 | 0.20 | 50.50 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.10 | 3.20 | 13.70 | 13.70 | 17.50 | 28.90 | 30.80 | 33.50 | 39.90 | 40.30 | 45.10 | 50.30 | 50.50 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| | F1 generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 31 | 105 | 0 | 38 | 114 | 19 | 27 | 64 | 4 | 48 | 52 | 2 | 505 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 8 | 0 | 18 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 1 | 31 | 106 | 4 | 39 | 116 | 19 | 28 | 64 | 4 | 48 | 60 | 2 | 523 |
| | Reproductivity/P | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.00 | 3.10 | 10.50 | 0.00 | 3.80 | 11.40 | 1.90 | 2.70 | 6.40 | 0.40 | 4.80 | 5.20 | 0.20 | 50.50 |
| | Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | 0.00 | | 0.00 | 0.10 | 0.10 | 3.20 | 13.70 | 13.70 | 17.50 | 28.90 | 30.80 | 33.50 | 39.90 | 40.30 | 45.10 | 50.30 | 50.50 | |

The time (days) to first brood: 1: 8 days, 2: 8 days, 3: 8 days, 4: 8 days.

Appendix 3-3 Result of repropduction test

(Test chemical: Acetonitrile)

(Chemical conc.: 320 mg/L,

Dispersant conc.: 0 mg/L)

| Rep. No. | Counts | Time | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total |
|----------|------------------|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 3/9 | 3/10 | 1/0 | 3/12 | 3/13 | 3/14 | 3/15 | 3/16 | 3/17 | 3/18 | 3/19 | 3/20 | 3/21 | 3/22 | 3/23 | 3/24 | 3/25 | 3/26 | 3/27 | 3/28 | 3/29 | |
| | | 1 d | 2 d | 3 d | 4 d | 5 d | 6 d | 7 d | 8 d | 9 d | 10 d | 11 d | 12 d | 13 d | 14 d | 15 d | 16 d | 17 d | 18 d | 19 d | 20 d | 21 d | |
| 1 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| | Fl generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 10 | 15 | 16 | 34 | 19 | 49 | 56 | 32 | 3 | 13 | 21 | 21 | 21 | 0 | 310 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 2 | 0 | 2 | 4 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 13 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 12 | 15 | 18 | 38 | 19 | 51 | 56 | 32 | 3 | 13 | 21 | 21 | 24 | 0 | 323 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.00 | 1.50 | 1.60 | 3.40 | 1.90 | 4.90 | 5.60 | 3.20 | 0.30 | 1.30 | 2.10 | 2.10 | 2.10 | 0.00 | 31.00 |
| 2 | | Cumulative reproductivity | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.00 | 2.50 | 4.10 | 7.50 | 9.40 | 14.30 | 19.90 | 23.10 | 23.40 | 24.70 | 26.80 | 28.90 | 31.00 | 31.00 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | -- |
| | Fl generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 34 | 20 | 20 | 23 | 7 | 17 | 41 | 18 | 23 | 18 | 7 | 30 | 28 | 0 | 286 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 9 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 35 | 21 | 20 | 25 | 7 | 18 | 41 | 18 | 24 | 18 | 7 | 30 | 31 | 0 | 295 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 3.40 | 2.00 | 2.00 | 2.30 | 0.70 | 1.70 | 4.10 | 1.80 | 2.30 | 1.80 | 0.70 | 3.00 | 2.80 | 0.00 | 28.60 |
| 3 | | Cumulative reproductivity | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 3.40 | 5.40 | 7.40 | 9.70 | 10.40 | 12.10 | 16.20 | 18.00 | 20.30 | 22.10 | 22.80 | 25.80 | 28.60 | 28.60 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -- |
| | Fl generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 17 | 41 | 20 | 37 | 35 | 6 | 21 | 23 | 0 | 17 | 40 | 12 | 2 | 2 | 273 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 8 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 18 | 41 | 20 | 38 | 35 | 7 | 21 | 25 | 0 | 17 | 40 | 12 | 5 | 2 | 281 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.70 | 4.10 | 2.00 | 3.70 | 3.50 | 0.60 | 2.10 | 2.42 | 0.00 | 1.89 | 4.44 | 1.33 | 0.22 | 0.22 | 28.23 |
| 4 | | Cumulative reproductivity | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 1.70 | 5.80 | 7.80 | 11.50 | 15.00 | 15.60 | 17.70 | 20.12 | 20.12 | 22.01 | 26.45 | 27.79 | 28.01 | 28.23 | |
| | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | -- |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | -- |
| | Fl generation | Live | | | 0 | 0 | | 0 | 28 | 24 | 23 | 79 | 18 | 16 | 61 | 33 | 32 | 56 | 31 | 20 | 46 | 0 | 467 |
| | | Dead | | | 0 | 0 | | 0 | 4 | 2 | 0 | 3 | 0 | 0 | 15 | 0 | 2 | 2 | 0 | 14 | 4 | 8 | 54 |
| | | Total | | | 0 | 0 | | 0 | 32 | 26 | 23 | 82 | 18 | 16 | 76 | 33 | 34 | 58 | 31 | 34 | 50 | 8 | 521 |
| | Reproductivity/P | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.95 | 2.67 | 2.56 | 8.78 | 2.00 | 1.78 | 6.78 | 3.67 | 3.56 | 6.22 | 3.44 | 2.22 | 5.11 | 0.00 | 51.73 |
| | | Cumulative reproductivity | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.95 | 5.61 | 8.17 | 16.95 | 18.95 | 20.73 | 27.50 | 31.17 | 34.73 | 40.95 | 44.39 | 46.61 | 51.73 | 51.73 | |

The time (days) to first brood: 1: 8 days, 2: 8 days, 3: 8 days, 4: 8 days.

Appendix 3-4 Result of reproduction test

(Test chemical: Acetonitrile)

(Nominal conc.: 1000 µg/L,

Dispersant conc.: 0 mg/L)

| | | Time | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total | | |
|---------------------------|---------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|
| Rep. No. | Counts | 3/9 | 3/10 | 1/0 | 3/12 | 3/13 | 3/14 | 3/15 | 3/16 | 3/17 | 3/18 | 3/19 | 3/20 | 3/21 | 3/22 | 3/23 | 3/24 | 3/25 | 3/26 | 3/27 | 3/28 | 3/29 | | |
| | | 1 d | 2 d | 3 d | 4 d | 5 d | 6 d | 7 d | 8 d | 9 d | 10 d | 11 d | 12 d | 13 d | 14 d | 15 d | 16 d | 17 d | 18 d | 19 d | 20 d | 21 d | | |
| 1 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 8 | 6 | -- | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 4 | -- | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 24 | 35 | 10 | 64 | 14 | 16 | 42 | 17 | 19 | 59 | 8 | 0 | 32 | 3 | 343 |
| | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 4 | 0 | 0 | 6 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 14 | 10 | 0 | 40 |
| | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 28 | 35 | 10 | 70 | 14 | 16 | 43 | 18 | 21 | 61 | 8 | 14 | 42 | 3 | 383 |
| Reproductivity/P | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.40 | 3.50 | 1.00 | 6.40 | 1.47 | 1.78 | 4.67 | 1.89 | 2.11 | 6.56 | 0.89 | 0.00 | 3.76 | 0.43 | 36.86 | |
| Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.40 | 5.90 | 6.90 | 13.30 | 14.77 | 16.55 | 21.22 | 23.11 | 25.22 | 31.77 | 32.66 | 32.66 | 36.43 | 36.86 | | |
| 2 | P generation | Live | 10 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | -- | |
| | | Dead | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | -- | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 8 | 20 | 16 | 46 | 8 | 23 | 47 | 19 | 15 | 43 | 11 | 5 | 39 | 2 | 302 |
| | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 5 | 0 | 15 | 3 | 6 | 1 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 28 | 6 | 0 | 68 |
| | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 13 | 20 | 31 | 49 | 14 | 24 | 47 | 19 | 16 | 46 | 11 | 33 | 45 | 2 | 370 |
| Reproductivity/P | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.89 | 2.22 | 1.78 | 5.11 | 0.89 | 2.71 | 5.88 | 2.53 | 2.14 | 6.14 | 1.57 | 0.71 | 6.00 | 0.33 | 38.91 | |
| Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.89 | 3.11 | 4.89 | 10.00 | 10.89 | 13.59 | 19.47 | 22.00 | 24.15 | 30.29 | 31.86 | 32.57 | 38.57 | 38.91 | | |
| 3 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 8 | 6 | -- | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4 | -- | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 28 | 16 | 4 | 39 | 12 | 3 | 7 | 16 | 5 | 45 | 10 | 0 | 35 | 5 | 225 |
| | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 4 | 4 | 0 | 4 | 9 | 0 | 26 | 4 | 0 | 5 | 0 | 13 | 9 | 0 | 78 |
| | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 32 | 20 | 4 | 43 | 21 | 3 | 33 | 20 | 5 | 50 | 10 | 13 | 44 | 5 | 303 |
| Reproductivity/P | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.80 | 1.60 | 0.40 | 3.90 | 1.20 | 0.30 | 0.70 | 1.60 | 0.50 | 4.50 | 1.00 | 0.00 | 3.89 | 0.71 | 23.10 | |
| Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 2.80 | 4.40 | 4.80 | 8.70 | 9.90 | 10.20 | 10.90 | 12.50 | 13.00 | 17.50 | 18.50 | 18.50 | 22.39 | 23.10 | | |
| 4 | P generation | Live | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 9 | 7 | -- | |
| | | Dead | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | -- | |
| | F1 generation | Live | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 14 | 30 | 9 | 13 | 53 | 19 | 25 | 31 | 30 | 25 | 19 | 20 | 8 | 296 |
| | | Dead | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 12 | 2 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 5 | 7 | 1 | 36 |
| | | Total | | | 0 | | 0 | | 0 | 0 | 17 | 33 | 9 | 25 | 55 | 21 | 25 | 32 | 30 | 25 | 24 | 27 | 9 | 332 |
| Reproductivity/P | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | 1.40 | 3.00 | 0.90 | 1.30 | 5.30 | 1.90 | 2.50 | 3.10 | 3.00 | 2.50 | 1.90 | 2.11 | 1.00 | 29.91 | |
| Cumulative reproductivity | | | | 0.00 | | 0.00 | | 0.00 | 0.00 | 1.40 | 4.40 | 5.30 | 6.60 | 11.90 | 13.80 | 16.30 | 19.40 | 22.40 | 24.90 | 26.80 | 28.91 | 29.91 | | |

The time (days) to first brood: 1: 8 days, 2: 8 days, 3: 8 days, 4: 9 days.