

環境庁殿

最 終 報 告 書

Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

(試験番号：92178)

2000 年 4 月 21 日作成

環境庁
化学物質環境研究機構
残留事業所

陳 述 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者： 環境庁

表 題： Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害
試験

試験番号： 92178

本試験は環境庁のGLP規則に従って実施したものである。

2000年 4月 21日

運営管理者

A large black rectangular redaction box covering the signature area of the document.

信 頼 性 保 証 書

財団法人 化学物質評価研究機構
久留米事業所

試験委託者： 環境庁

表 題： Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

試験番号： 92178

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、本最終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(試験責任者)	報告日(運営管理者)
試験計画書監査	1999年12月7日	1999年12月7日	1999年12月7日
試験計画書の変更監査	2000年4月7日	2000年4月7日	2000年4月7日
試験実施状況査察	2000年3月22日	2000年3月22日	2000年3月22日
試験実施状況査察	2000年4月5日	2000年4月14日	2000年4月17日
試験実施状況査察	2000年4月12日	2000年4月14日	2000年4月17日
最終報告書監査	2000年4月21日	2000年4月21日	2000年4月21日

2000年4月21日

信頼性保証業務担当者

_____ 

試験実施概要

1 表 題

Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

2 試験目的

Di- α -cumyl peroxide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(LOEC)と最大無作用濃度(NOEC)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：EC50)を求める。

3 試験方法

OECD化学品テストガイドラインNo.211「オオミジンコ繁殖試験」(1998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： (〒100-8975)東京都千代田区霞が関 1-2-2

試験委託責任者： 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 [REDACTED]

6 試験受託者

名 称： 財団法人 化学物質評価研究機構

住 所： (〒112-0004)東京都文京区後楽 1-4-25

7 試験施設

名 称： 財団法人 化学物質評価研究機構

実施施設名： 久留米事業所

住 所： (〒830-0023)福岡県久留米市中央町 19-14

運営管理者： [REDACTED]

目 次

	頁
要 旨	1
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 供 試 試 料	2
1.3 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 被験物質の分析	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(EC50)の算出	6
4.3 最大無作用濃度(NOEC)及び最小作用濃度(LOEC)	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(EC50)	8
5.6 繁殖に及ぼす最大無作用濃度(NOEC)及び最小作用濃度(LOEC)	9
5.7 試験液の水溫、溶存酸素濃度(DO)、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Di- α -cumyl peroxideのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験試験番号

92178

試験方法

本試験は、OECD化学品テストガイドライン No.211「オオミジンコ繁殖試験」(1998年)に準拠して実施した。

- 1) 被験物質： Di- α -cumyl peroxide
- 2) 試験生物： オオミジンコ(*Daphnia magna*)
- 3) 生物数： 10頭/1試験区(1連につき1頭で1試験区10頭)
- 4) 暴露期間： 21日間
- 5) 暴露方式： 半止水式(1日に1回、試験液を交換)
- 6) 試験濃度： 0.400、0.200、0.100、0.0500及び0.0250 mg/L(公比：2.0)、助剤対照区及び対照区
- 7) 連 数： 1試験区につき10連
- 8) 試験液量： 1試験容器(1連)につき80.0 mL
- 9) 試験水温： 20 \pm 1 $^{\circ}$ C
- 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： 高速液体クロマトグラフィー (HPLC)
(0、1、8、9、15及び16日目)

結 果

- 1) 試験液中の被験物質濃度
被験物質の測定濃度が設定の \pm 20%を超えたため、各影響濃度の算出には測定濃度(時間加重平均値)を採用した。
- 2) 21日間暴露の各影響濃度結果を以下に示す。
親ミジンコの半数致死濃度(LC50)： 0.195 mg/L
50%繁殖阻害濃度(EC50)： 0.231 mg/L(95%信頼限界：0.209~0.265 mg/L)
最大無作用濃度(NOEC)： 0.117 mg/L
最小作用濃度(LOEC)： 0.247 mg/L

1.3 被験物質の確認及び保管条件下での安定性

被験物質は久留米事業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、被験物質の特性が認められることを確認した。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。

以上の結果から、被験物質は暴露終了時まで安定であったと確認された。

2 試験生物

- 1) 和名： オオミジンコ
- 2) 学名： *Daphnia magna* (Clone A)
- 3) 入手先： 英国Sheffield大学(所在地；Sheffield S10 2UQ, United Kingdom)
- 4) 入手日： 1990年7月9日
- 5) 入手後の管理： 継代飼育(最大飼育期間；31日間)
- 6) 感受性の確認： 基準物質(二クロム酸カリウム、試薬特級、和光純薬工業株式会社)による48時間の半数遊泳阻害濃度(EiC50)=0.141 mg/L[久留米事業所における1998年1月以降のEiC50：0.128～0.234 mg/L(n=5)の範囲にある。]
- 7) 親の順化： 順化期間；2000年3月1日～2000年3月31日
暴露開始前2週間の親の死亡率は5%以下で休眠卵及び雄の発生は認められなかった。(順化条件は以下に示す。)
- 8) 供試令： 生後24時間令以内の幼体

順化条件

- 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： *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

- 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、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試験区につき10連
- 4) 生物数： 10頭/1試験区(1連につき1頭で1試験区10頭)
- 5) 試験液量： 1試験容器(1連)につき80.0 mL
- 6) 試験水温： 20±1℃
- 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(久留米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、温度調節したもの)を使用した。希釈水使用時には、オルトトリジン法により、残留塩素濃度が0.02 mg/L以下であることを確認した。希釈水の水質は付属資料-1に示した。

3.3 試験容器及び恒温槽等

- 1) 試験容器： 100 mLビーカー
- 2) 恒温槽： 加温冷却機によって試験容器内の水温が20±1℃に維持可能な恒温槽を用いた。
- 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.)

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EiC50(0.262 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0.400 mg/Lを最高濃度として公比2.0で5濃度区(0.400、0.200、0.100、0.0500及び0.0250 mg/L)を設定した。また、濃度区と同一濃度(100 µL/L)のジメチルスルホキシド(DMSO)を含む助剤対照区及び希釈水のみ対照区を設けた。

3.5 試験液の調製

必要量の被験物質にDMSOを加え溶解し、10,000 mg/Lの試験原液を調製した。試験液は、調製容器に入れた希釈水を攪拌しながら必要量の試験原液を添加し、調製した。この試験液を各試験容器に分割した。

3.6 被験物質の分析

全試験区(ただし、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回繰り返す)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、HPLCにより分析した。試験液中の被験物質の分析に際しては、標準溶液(濃度0.0200 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(DO)、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日目まで暴露した。暴露期間中は毎日給餌を行った(3.1参照)。

・ミジンコの観察：

(親ミジンコ) 毎日、生存数、遊泳阻害数、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、墮胎卵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、DO、pH及び硬度を全試験区(ただし、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回繰り返す)の頻度で測定した。硬度はEDTA滴定法により測定した。

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の±20%を超えたため、測定濃度(時間加重平均値)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(10頭)を用いて、Binomial法により21日目のLC50を算出した。

4.2 50%繁殖阻害濃度(EC50)の算出

累積産仔数の算出

各試験容器(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。

$$TF = \sum_{n=1}^{ne} F_n$$

ここで、

n : 幼体観察回数

F_n : n 回目の幼体数(ただし、生存幼体)

ne : 最終観察回

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

ここで、

n : 試験容器数

TF_n : 各試験容器(親1頭当たり)の累積産仔数

m : 試験区当たりの系列数(最大10)

EC50の算出

Moving average法によりEC50を算出した。ただし、供試個体数に全試験区における最大平均累積産仔数(小数点以下切上げ)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。14及び21日目のEC50を算出し、それらの95%信頼限界も示した。

4.3. 最大無作用濃度(NOEC)及び最小作用濃度(LOEC)

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、各濃度区と助剤対照区との有意差の有無を一元配置分散分析及びDunnnettの多重比較法により求めた。また、親ミジンコの死亡数についてはKruskal-Wallisの順位和検定及びノンパラメトリックの多重比較法(Dunnnett)、初産日についてはKruskal-Wallisの順位和検定及びノンパラメトリックの多重比較法(Scheffé)により各濃度区と対照区との有意差の有無を求めた。この結果に観察された親並びに産出幼体の状態等も含めて、NOEC及びLOEC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

暴露期間中の試験液中の被験物質濃度を測定した結果をTable 1に示した。

被験物質の測定濃度の設定に対する割合は、調製時で66.9～94.0%、換水前で41.6～64.4%であった。

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

暴露期間中の各濃度区における親ミジンコの累積死亡数及び死亡率の結果をTable 2及びFigure 1に示した。

0.247 mg/L区では暴露終了時に80%の累積死亡率であり、統計的に有意差($p=0.01$)がみられた。それ以外の濃度区では死亡はみられなかった。

助剤対照区及び対照区での親ミジンコの累積死亡率は暴露終了時で0%であり、試験成立条件である20%を超えないという基準を満たした。

初産日

各濃度区における親ミジンコの初産日をTable 3に示した。

0.247 mg/L区での親ミジンコの初産日は平均8.7日であり、統計的に有意差($p=0.01$)がみられた。それ以外の濃度区の親ミジンコの初産日は平均8.0日であり、有意差はみられなかった。

対照区での親ミジンコの初産日は暴露開始8日後であり、正常な範囲内と判断した。

平均累積産仔数

暴露期間中の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の結果をTable 4及びFigure 2に示した。

0.247 mg/L区での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は60頭であり助剤対照区と比較し、有意差がみられた。0.117～0.0187 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120、133、131及び134頭であり、助剤対照区及び対照区とほぼ同じであった。

助剤対照区の21日間での親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数は129頭であり、試験成立条件である60頭の基準を満たした。

親ミジンコの大きさと状態

暴露期間中、0.247 mg/L区では対照区と比較して体色明化及び成長阻害が観察され、その他に嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下がみられた。その他の濃度区では、何等症状はみられなかった。

休眠卵の発生等

全暴露期間を通して、全試験区において休眠卵の発生は認められなかった。死亡仔虫は全試験区でみられ、0.247 mg/L区では対照区よりやや多かった。落下卵についても全試験区で観察され、0.117 mg/L区では統計的に有意差がみられた。

5.4 親ミジンコの50%致死濃度(LC50)

14及び21日間暴露の親ミジンコのLC50をTable 5及び以下に示した。

14日間LC50： 0.208 mg/L

21日間LC50： 0.195 mg/L

5.5 50%繁殖阻害濃度(EC50)

14及び21日間暴露のEC50をTable 6及び以下に示した。

14日間EC50： 0.195 mg/L(95%信頼限界；0.177～0.221 mg/L)

21日間EC50： 0.231 mg/L(95%信頼限界；0.209～0.265 mg/L)

5.6 繁殖に及ぼす最大無作用濃度(NOEC)及び最小作用濃度(LOEC)

親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数の有意差検定結果をTable 7に示す。

4.3の結果の算出をもとに、繁殖に及ぼすNOEC及びLOECに関して以下の結論を得た。

21日間NOEC： 0.117 mg/L

21日間LOEC： 0.247 mg/L

5.7 試験液の水温、溶存酸素濃度(DO)、pH及び硬度

暴露期間中における試験液の水温をTable 8、溶存酸素濃度をTable 9、pHをTable 10、硬度をTable 11に示した。

暴露期間中に測定した水温は20.0～20.5℃であり、 20 ± 1 ℃の範囲であった。DOは8.3～8.8 mg/Lであり、飽和溶存酸素濃度の60%以上であった(20.0℃の飽和溶存酸素濃度：8.84 mg/L)。pHは7.4～7.9であり、変動は1.5以下であった。硬度は37.0～48.4 mgCaCO₃/Lであり、10～250 mgCaCO₃/Lの範囲であった。

以上のことから、水温、DO、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。

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 di- α -cumyl peroxide 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.
Solvent control	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
0.0250	0.0203 (81.1)	0.0159 (63.8)	0.0227 (90.8)	0.0151 (60.3)
0.0500	0.0370 (74.0)	0.0301 (60.3)	0.0364 (72.8)	0.0299 (59.8)
0.100	0.0701 (70.1)	0.0475 (47.5)	0.0760 (76.0)	0.0496 (49.6)
0.200	0.134 (66.9)	0.0995 (49.7)	0.138 (69.2)	0.0905 (45.3)
0.400	0.297 (74.4)	0.180 (44.9)	0.374 (93.4)	0.168 (42.0)

Table 1. (continued)

Nominal concentration (mg/L)	Measured concentration (mg/L) (Percentage of nominal)		Time-weighted mean ^{c)} (mg/L)
	15-day ^{a)}	16-day ^{b)}	
Control	n.d.	n.d.	-
Solvent control	n.d.	n.d.	-
0.0250	0.0235 (94.0)	0.0161 (64.4)	0.0187 (75.0)
0.0500	0.0380 (75.9)	0.0279 (55.8)	0.0331 (66.1)
0.100	0.0734 (73.4)	0.0483 (48.3)	0.0600 (60.0)
0.200	0.152 (76.2)	0.0959 (48.0)	0.117 (58.4)
0.400	0.362 (90.5)	0.166 (41.6)	0.247 (61.9)

n.d. : < 0.00625 mg/L

a) fresh solutions

b) expired solutions

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

$$\{1(C_0-C_1)/(\ln C_0-\ln C_1)+1(C_8-C_9)/(\ln C_8-\ln C_9)+1(C_{15}-C_{16})/(\ln C_{15}-\ln C_{16})\}/3$$

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 di- α -cumyl peroxide

Measured 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)
Solvent control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0331	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.247	0	0	0	0	7	7	7	7	7	7	7
	(0)	(0)	(0)	(0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)

Table 2. (continued)

Measured 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	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Solvent control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0331	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.0600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
0.247	7	7	7	7	7	7	8	8	8	8	8
	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(70.0)	(80.0)	(80.0)	(80.0)	(80.0)	(80.0)

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

Table 3. Time (days) required to first brood production during exposure to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)	Vessel No.						
	1	2	3	4	5	6	7
Control	8	8	8	8	8	8	8
Solvent control	8	8	8	8	8	8	8
0.0187	8	8	8	8	8	8	8
0.0331	8	8	8	8	8	8	8
0.0600	8	8	8	8	8	8	8
0.117	8	8	8	8	8	8	8
0.247	8	9	-	-	9	-	-

Table 3. (continued)

Measured concentration (mg/L)	Vessel No.			Mean
	8	9	10	
Control	8	8	8	8.0
Solvent control	8	8	8	8.0
0.0187	8	8	8	8.0
0.0331	8	8	8	8.0
0.0600	8	8	8	8.0
0.117	8	8	8	8.0
0.247	-	-	-	8.7

Table 4. Mean cumulative number of juveniles produced per adult ($\Sigma F_1/P$) during exposure to di- α -cumyl peroxide

Measured 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	13.9	13.9	13.9
Solvent control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13.5	13.5	13.5
0.0187	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.5	14.5	14.5
0.0331	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14.4	14.4	14.4
0.0600	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13.3	13.3	13.3
0.117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11.2	11.2	11.2
0.247	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	4.5	4.5

Table 4. (continued)

Measured concentration (mg/L)	Exposure time (day)										
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Control	40.3	40.3	40.3	71.2	74.1	74.1	74.1	103	103	103	128
Solvent control	35.9	37.1	37.1	69.4	72.6	72.6	72.6	104	104	104	129
0.0187	42.2	42.2	42.2	75.0	75.6	75.6	75.6	108	108	108	134
0.0331	36.9	37.6	37.6	69.8	72.0	72.0	72.0	107	107	107	131
0.0600	38.3	38.3	38.3	72.3	72.6	72.6	75.8	106	106	106	133
0.117	35.2	35.2	35.2	65.9	66.1	66.1	68.3	96.4	96.4	96.4	120
0.247	14.0	23.5	23.5	23.5	39.0	39.0	39.0	52.0	53.0	53.0	60.0

Table 5. Calculated LC50 values of di- α -cumyl peroxide for parental *Daphnia* based on measured concentrations

Exposure time (day)	LC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
14	0.208	—	Binomial
21	0.195	—	Binomial

Table 6. Calculated EC50 values of di- α -cumyl peroxide for inhibition of reproduction based on measured concentrations

Exposure time (day)	EC50 (mg/L)	95-Percent confidence limits (mg/L)	Statistical method
14	0.195	0.177 – 0.221	Moving average
21	0.231	0.209 – 0.265	Moving average

Table 7. Significance test of difference between the mean cumulative number of juveniles produced per adult in control and test vessels after 21 days exposure to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)	Vessel No.						
	1	2	3	4	5	6	7
Control	122	130	134	128	119	119	129
Solvent control	139	124	137	136	112	124	130
0.0187	144	121	143	144	136	134	132
0.0331	129	149	124	127	138	101	124
0.0600	131	151	124	144	134	124	110
0.117	127	119	118	119	121	112	109
0.247	66	-	-	-	54	-	-

Table 7. (continued)

Measured concentration (mg/L)	Vessel No.			Mean	S.D.	Significant difference
	8	9	10			
Control	138	124	137	128	7.0	
Solvent control	123	137	130	129	8.5	
0.0187	121	137	126	134	8.8	
0.0331	136	147	139	131	13.9	
0.0600	132	137	139	133	11.5	
0.117	122	129	124	120	6.2	
0.247	-	-	-	60	8.5	-

The data of 0.247 mg/L was omitted from statistical analysis.

Table 8. Temperature of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		Temperature (°C)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	15-day	16-day
Control	New	20.0		20.1		20.5	
	Old		20.2		20.1		20.4
Solvent control	New	20.1		20.1		20.5	
	Old		20.3		20.1		20.3
0.0187	New	20.1		20.1		20.5	
	Old		20.3		20.1		20.2
0.0331	New	20.1		20.1		20.5	
	Old		20.3		20.1		20.2
0.0600	New	20.1		20.1		20.5	
	Old		20.3		20.1		20.2
0.117	New	20.1		20.1		20.5	
	Old		20.3		20.2		20.2
0.247	New	20.1		20.2		20.5	
	Old		20.3		20.2		20.2

New : freshly prepared test solutions

Old : test solutions after 24 hours exposure

Table 9. Dissolved oxygen concentrations of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		Dissolved oxygen concentration (mg/L)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	15-day	16-day
Control	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.3		8.3
Solvent control	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.3		8.4
0.0187	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.4		8.5
0.0331	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.4		8.4
0.0600	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.4		8.4
0.117	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.7		8.4		8.4
0.247	New	8.8		8.8		8.8	
	Old		8.8		8.5		8.6

New : freshly prepared test solutions

Old : test solutions after 24 hours exposure

Table 10. pH values of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		pH					
		0-day	1-day	8-day	9-day	15-day	16-day
Control	New	7.7		7.8		7.5	
	Old		7.9		7.8		7.4
Solvent control	New	7.7		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.7		7.5
0.0187	New	7.7		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.7		7.4
0.0331	New	7.7		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.7		7.5
0.0600	New	7.7		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.7		7.5
0.117	New	7.7		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.7		7.5
0.247	New	7.8		7.8		7.6	
	Old		7.9		7.8		7.5

New : freshly prepared test solutions

Old : test solutions after 24 hours exposure

Table 11. Total hardness values of test solutions during 21-day *Daphnia* reproduction test to di- α -cumyl peroxide

Measured concentration (mg/L)		Total hardness (mgCaCO ₃ /L)					
		0-day	1-day	8-day	9-day	15-day	16-day
Control	New	37.6		46.6		40.0	
	Old		37.6		47.0		39.8
Solvent control	New	37.6		46.8		39.6	
	Old		37.6		47.0		39.4
0.0187	New	37.8		47.8		39.8	
	Old		37.4		47.6		40.0
0.0331	New	37.0		47.2		40.0	
	Old		37.2		47.2		40.0
0.0600	New	37.4		47.0		39.4	
	Old		37.8		47.4		40.0
0.117	New	37.2		46.6		39.8	
	Old		37.4		47.2		39.6
0.247	New	37.4		47.6		39.4	
	Old		37.8		48.4		39.6

New : freshly prepared test solutions

Old : test solutions after 24 hours exposure

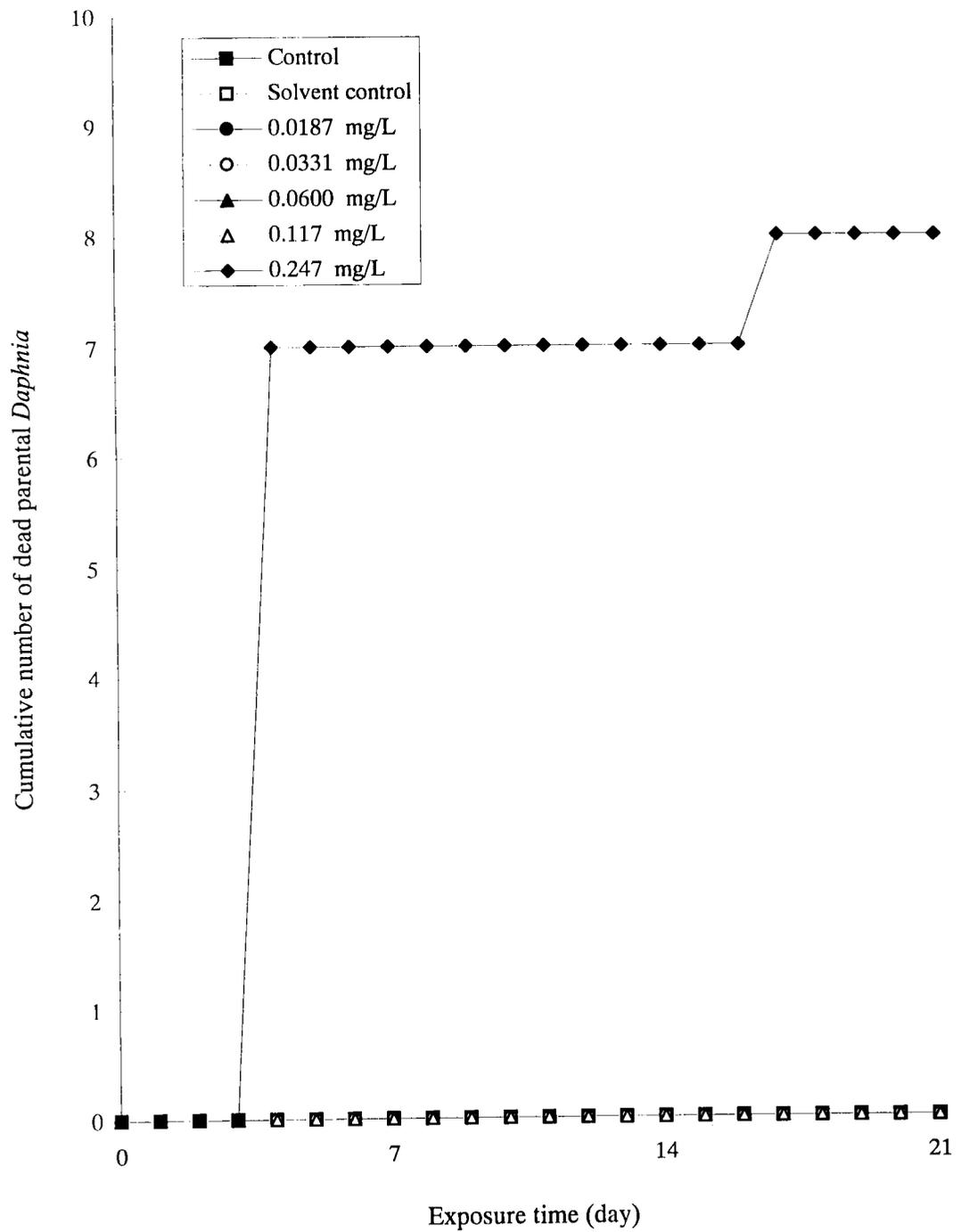


Figure 1. Cumulative number of dead parental *Daphnia*.

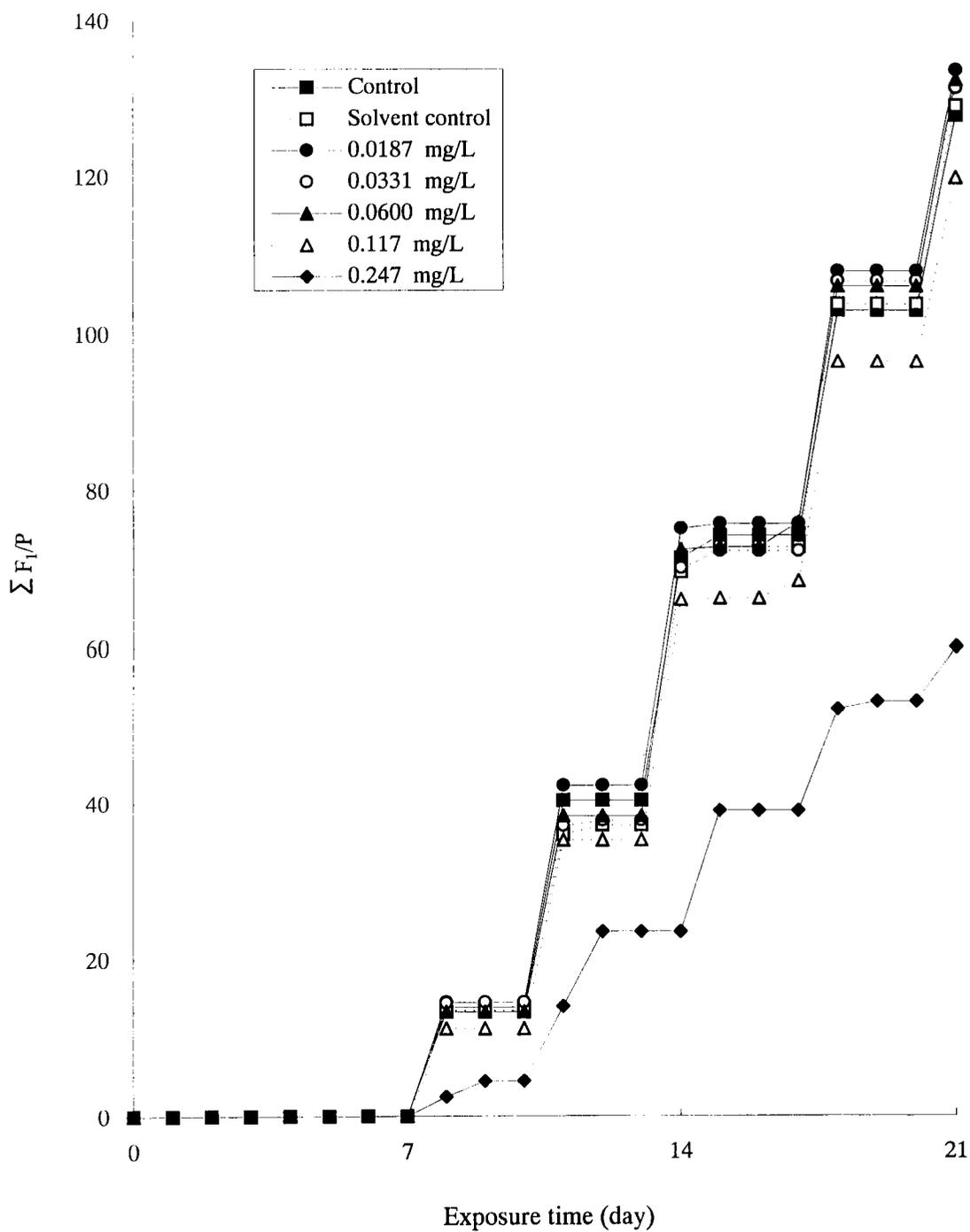


Figure 2. Mean cumulative number of juveniles produced per adult ($\Sigma F_1/P$).

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 of detection
pH	7.4	
COD (mg/L)	0.8	
Coliform group bacteria (MPN/100 mL)	0	
Total phosphorus (mg/L)	0.003	
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)	0.02	
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)	86.4	
Electric conductivity ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	146	
Total hardness (as CaCO_3) (mg/L)	44.0	
Alkalinity (mg/L)	27.5	
Sodium (mg/L)	12.1	
Potassium (mg/L)	2.98	
Calcium (mg/L)	10.8	
Magnesium (mg/L)	4.13	

Appendix 1. (continued)

Parameter	Concentration	Lower limit of detection
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 copper (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

Date of measurement : February 8, 2000

付属資料－2

試験液の分析方法及び分析チャート

(全5頁)

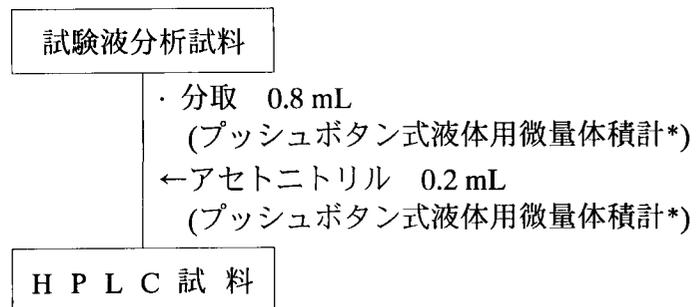
試験名 : ミジンコ繁殖阻害試験
被験物質名 : Di- α -cumyl peroxide

1) 試験液の分析方法

(1) 試験液の前処理操作

採取した溶液はそのまま若しくは脱塩素水で希釈して試験液分析試料とし、以下のフロースキームに従い高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって分析した。

フロースキーム



* エッペンドルフ社製

HPLC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100 mgを電子分析天びんで正確にはかりとり、アセトニトリルに溶解して1,000 mg/Lの被験物質溶液を調製した。これをアセトニトリルで希釈して1.00 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。1.00 mg/Lの被験物質溶液をアセトニトリル/脱塩素水 2/8(v/v)になるように希釈して0.0200 mg/Lの標準溶液とした。

2) 定量条件

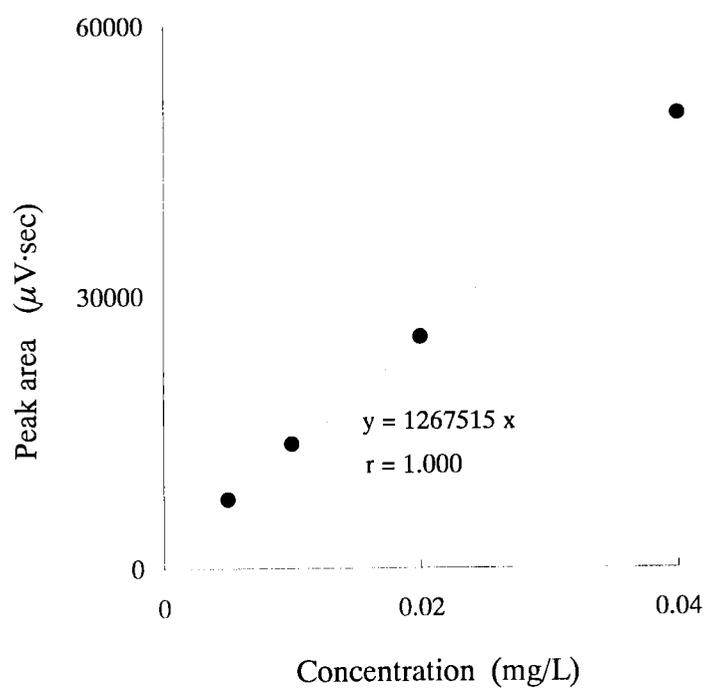
機 器	高速液体クロマトグラフ
ポンプ	島津製作所製 LC-10AD
検出器	島津製作所製 SPD-10AV
オートインジェクター	島津製作所製 SIL-10A _{XL}
カラム	L-column ODS 15 cm×4.6 mmφ ステンレス製
カラム温度	40℃
グラジエント条件	
溶離液	(A液：アセトニトリル/B液：蒸留水 v/v)
	(0/100 v/v) → (100/0 v/v) → (100/0 v/v) → (0/100 v/v) → (0/100 v/v)
	(15 min) (5 min) (5 min) (5 min)
総流量	1.0 mL/min
測定波長	210 nm
注入量	400 μL
感 度	
検出器	1 AU/1 V
記録計	ATTEN 2 ⁵

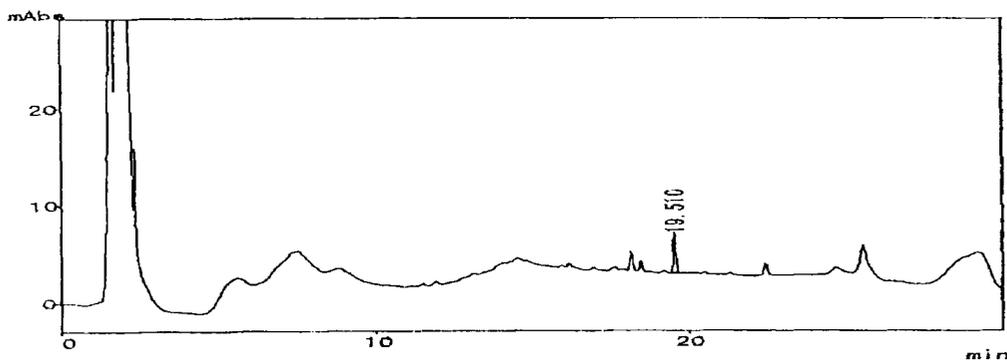
3) 検量線の作成

1)(3)の標準溶液の調製と同様にして0.00500、0.0100、0.0200及び0.0400 mg/Lの標準溶液を調製した。これらを2)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。

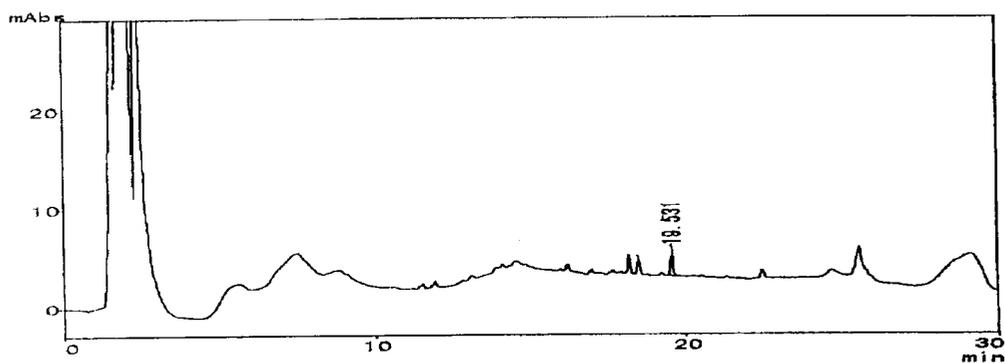
Input data

Run	Concentration (mg/L)	Peak area ($\mu\text{V}\cdot\text{sec}$)
1	0.00500	7530
2	0.0100	13686
3	0.0200	25532
4	0.0400	50208

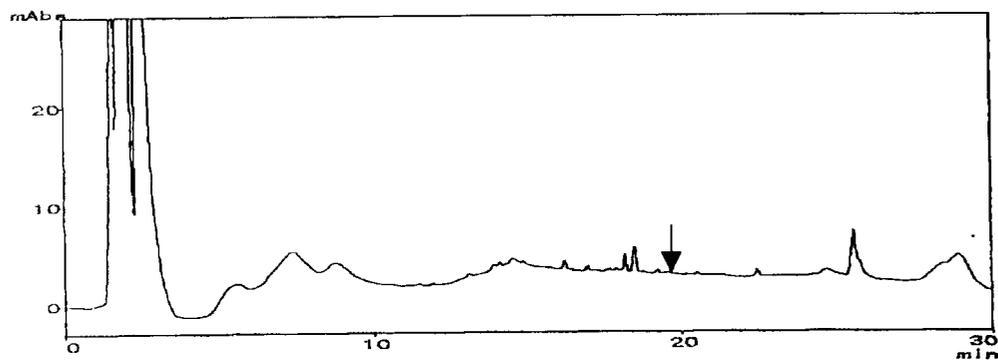
Appendix 2-1. Calibration curve of di- α -cumyl peroxide by HPLC analysis.



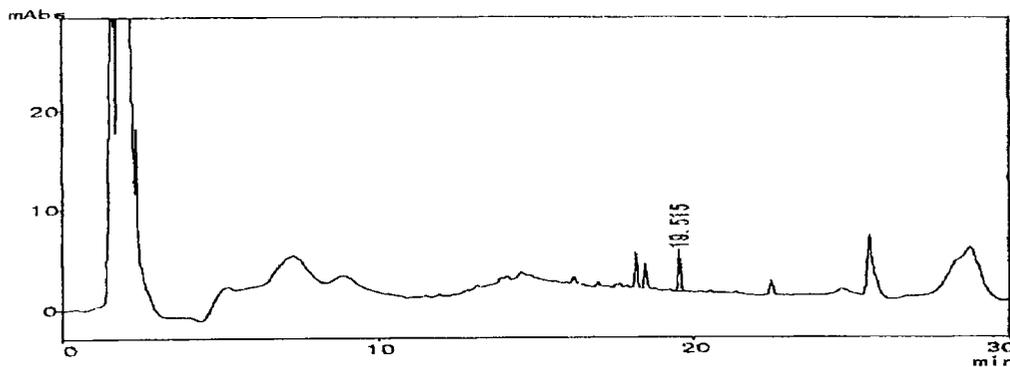
Appendix 2-2. Representative HPLC chromatogram of 0.0200 mg/L di- α -cumyl peroxide standard at 0-hour.



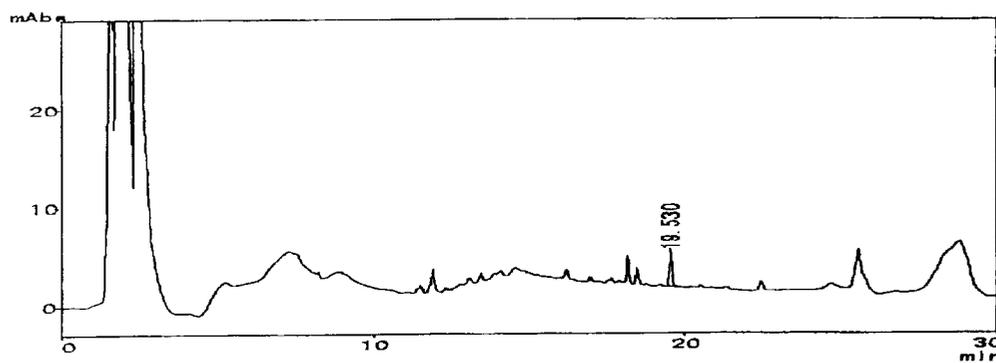
Appendix 2-3. Representative HPLC chromatogram of di- α -cumyl peroxide in 0.100 mg/L test solution at 0-hour.



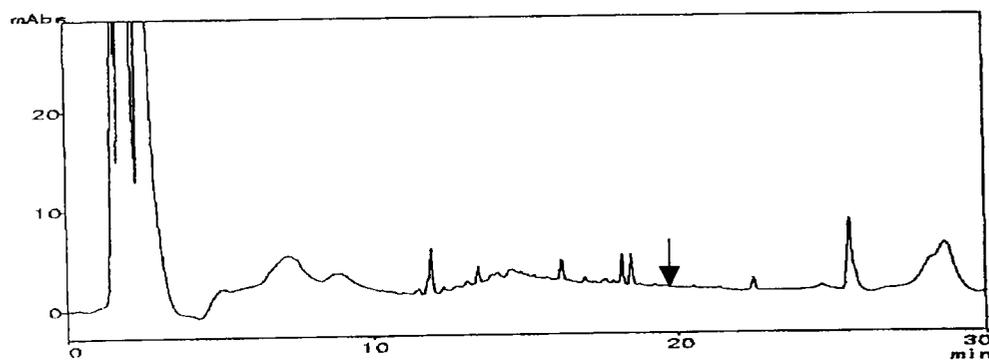
Appendix 2-4. Representative HPLC chromatogram of solvent control solution at 0-hour.



Appendix 2-5. Representative HPLC chromatogram of 0.200 mg/L di- α -cumyl peroxide standard at 1-day.



Appendix 2-6. Representative HPLC chromatogram of di- α -cumyl peroxide in 0.100 mg/L test solution at 1-day.



Appendix 2-7. Representative HPLC chromatogram of solvent control solution at 1-day.

付属資料－3

ミジンコの観察結果

(全 14 頁)

Appendix 3-1. Result of reproduction test

(Measured concentration : Control)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	28	0	0	31	1	0	0	30	0	0	19	122
		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	13	0	0	28	0	0	31	1	0	0	30	0	0	19	122
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	13	13	13	41	41	41	72	73	73	73	103	103	103	122		
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	24	0	0	30	2	0	0	33	0	0	24	130
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	24	1	0	30	2	0	0	33	0	0	24	131
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	17	17	17	41	41	41	71	73	73	73	106	106	106	130		
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	26	0	0	34	0	0	0	32	0	0	26	134
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	26	0	0	35	0	0	0	32	0	0	26	135
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	16	16	16	42	42	42	76	76	76	76	108	108	108	134		
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	29	0	0	37	0	0	0	33	0	0	17	128
		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	12	0	0	29	0	0	37	0	0	0	33	0	0	17	128
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	12	12	12	41	41	41	78	78	78	78	111	111	111	128		
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	27	0	0	29	0	0	0	28	0	0	19	119
		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	16	0	0	27	0	0	29	0	0	0	28	0	0	19	119
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	16	16	16	43	43	43	72	72	72	72	100	100	100	119		
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	18	0	0	3	26	0	0	33	0	0	25	119
		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	14	0	0	18	0	0	3	26	0	0	33	0	0	25	119
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	14	14	14	32	32	32	35	61	61	61	94	94	94	119		
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	27	0	0	36	0	0	0	26	0	0	29	129
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	27	0	0	36	0	0	0	27	0	0	29	130
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	38	38	38	74	74	74	74	100	100	100	129		

Appendix 3-1. Continued

(Measured concentration : Control)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	28	0	0	39	0	0	0	27	0	0	31	138
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Total	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	28	0	0	40	0	0	0	27	0	0	31	139	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	41	41	41	80	80	80	80	107	107	107	138		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	29	0	0	34	0	0	0	22	0	0	26	124
		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	13	0	0	29	0	0	34	0	0	0	22	0	0	26	124	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	42	42	42	76	76	76	76	98	98	98	124		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	28	0	0	36	0	0	0	25	0	0	34	137
		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	14	0	0	28	0	0	36	0	0	0	25	0	0	34	137	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	42	42	42	78	78	78	78	103	103	103	137		

Appendix 3-2. Result of reproduction test

(Measured concentration : Solvent control)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	29	0	0	38	0	0	0	32	0	0	25	139
		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	15	0	0	29	0	0	38	0	0	0	32	0	0	25
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	44	44	44	82	82	82	82	114	114	114	139	
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	28	0	0	34	0	0	0	29	0	0	21	124
		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	12	0	0	28	0	0	34	0	0	0	29	0	0	21
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	40	40	40	74	74	74	74	103	103	103	124	
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	18	0	0	39	0	0	0	35	0	0	28	137
		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	17	0	0	18	0	0	39	0	0	0	35	0	0	28
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	35	35	35	74	74	74	74	109	109	109	137	
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	19	0	0	39	0	0	0	33	0	0	29	136
		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	16	0	0	19	0	0	39	0	0	0	33	0	0	29
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	35	35	35	74	74	74	74	107	107	107	136	
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	1	12	0	0	32	0	0	31	0	0	24	112
		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	12	0	0	1	12	0	0	32	0	0	31	0	0	24
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	13	25	25	25	57	57	57	88	88	88	112	
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	25	0	0	33	0	0	0	29	0	0	22	124
		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	15	0	0	25	0	0	33	0	0	0	29	0	0	22
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	40	40	40	73	73	73	73	102	102	102	124	
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	29	0	0	38	0	0	0	28	0	0	22	130
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	29	0	0	38	0	0	0	28	0	0	23
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	42	42	42	80	80	80	80	108	108	108	130	

Appendix 3-2. Continued

(Measured concentration : Solvent control)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	24	0	0	32	0	0	0	30	0	0	29	123
		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	8	0	0	24	0	0	32	0	0	0	30	0	0	29	123
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	32	32	32	64	64	64	64	94	94	94	123		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	30	0	0	35	0	0	0	33	0	0	25	137
		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	14	0	0	30	0	0	35	0	0	0	33	0	0	25	137
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	44	44	44	79	79	79	79	112	112	112	137		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	21	0	0	35	0	0	0	32	0	0	29	130
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	21	0	0	36	0	0	0	32	0	0	29	131
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	34	34	34	69	69	69	69	101	101	101	130		

Appendix 3-3. Result of reproduction test

(Measured concentration : 0.0187 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	31	0	0	36	0	0	0	36	0	0	27	144
		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	14	0	0	31	0	0	36	0	0	0	36	0	0	27
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	45	45	45	81	81	81	81	117	117	117	144	
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	19	0	0	27	6	0	0	29	0	0	26	121
		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	14	0	0	19	0	0	27	6	0	0	29	0	0	26
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	33	33	33	60	66	66	66	95	95	95	121	
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	30	0	0	36	0	0	0	35	0	0	28	143
		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	14	0	0	30	0	0	36	0	0	0	35	0	0	28
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	44	44	44	80	80	80	80	115	115	115	143	
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	32	0	0	37	0	0	0	31	0	0	26	144
		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	18	0	0	32	0	0	37	0	0	0	31	0	0	26
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	18	18	18	50	50	50	87	87	87	87	118	118	118	144	
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	28	0	0	36	0	0	0	32	0	0	25	136
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	28	0	0	36	0	0	0	32	0	0	26
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	43	43	43	79	79	79	79	111	111	111	136	
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	25	0	0	33	0	0	0	31	0	0	29	134
		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	16	0	0	25	0	0	33	0	0	0	31	0	0	29
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	41	41	41	74	74	74	74	105	105	105	134	
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	28	0	0	31	0	0	0	35	0	0	25	132
		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	13	0	0	28	0	0	31	0	0	0	35	0	0	25
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	41	41	41	72	72	72	72	107	107	107	132	

Appendix 3-3. Continued

(Measured concentration : 0.0187 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	29	0	0	33	0	0	0	30	0	0	17	121
	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	12	0	0	29	0	0	33	0	0	0	30	0	0	17	121
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	41	41	41	74	74	74	74	104	104	104	121		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	29	0	0	31	0	0	0	34	0	0	30	137
	Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	Total	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	29	0	0	31	0	0	0	34	0	0	31	138	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	42	42	42	73	73	73	73	107	107	107	137		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	26	0	0	28	0	0	0	31	0	0	25	126
	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	16	0	0	26	0	0	28	0	0	0	31	0	0	25	126	
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	16	16	16	42	42	42	70	70	70	70	101	101	101	126		

Appendix 3-4. Result of reproduction test

(Measured concentration : 0.0331 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total	
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	22	0	0	39	0	0	0	32	0	0	23
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	22	0	0	39	0	0	0	32	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	35	35	35	74	74	74	74	106	106	106	129
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	29	0	0	35	0	0	0	38	0	0	30
		Dead	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	17	0	0	29	0	0	35	0	0	0	38	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	46	46	46	81	81	81	81	119	119	119	149
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	22	0	0	28	0	0	0	35	0	0	22
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	22	0	0	29	1	0	0	35	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	39	39	39	67	67	67	67	102	102	102	124
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	26	0	0	31	0	0	0	34	0	0	24
		Dead	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	12	0	0	26	0	0	31	0	0	0	34	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	38	38	38	69	69	69	69	103	103	103	127
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	25	0	0	33	0	0	0	35	0	0	28
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0	0	25	0	0	33	0	0	0	35	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	17	17	17	42	42	42	75	75	75	75	110	110	110	138
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	6	7	0	7	22	0	0	28	0	0	19
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	6	7	0	7	22	0	0	28	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	18	25	25	32	54	54	54	82	82	82	101
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	23	0	0	31	0	0	0	35	0	0	23
		Dead	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	12	0	0	23	0	0	31	0	0	0	35	0	0
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	35	35	35	66	66	66	66	101	101	101	124

Appendix 3-4. Continued

(Measured concentration : 0.0331 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	21	0	0	39	0	0	0	39	0	0	23	136
		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	14	0	0	21	0	0	39	0	0	0	39	0	0	23	136
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	14	14	14	35	35	35	74	74	74	74	113	113	113	136		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	16	0	0	30	0	0	41	0	0	0	34	0	0	26	147
		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	16	0	0	30	0	0	41	0	0	0	34	0	0	26	147
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	16	16	16	46	46	46	87	87	87	87	121	121	121	147		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	21	0	0	38	0	0	0	36	0	0	30	139
		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	14	0	0	21	0	0	38	0	0	0	36	0	0	30	139
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	14	14	14	35	35	35	73	73	73	73	109	109	109	139		

Appendix 3-5. Result of reproduction test

(Measured concentration : 0.0600 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																			Total			
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10		4/11	4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	20	0	0	34	0	0	32	0	0	0	33	131
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	20	0	0	35	0	0	32	0	0	0	33	132
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	32	32	32	66	66	66	98	98	98	98	131	
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	29	0	0	39	0	0	0	37	0	0	32	151
		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	14	0	0	29	0	0	39	0	0	0	37	0	0	32	151
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14	43	43	43	82	82	82	82	119	119	119	151	
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	26	0	0	35	0	0	0	32	0	0	12	124
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	26	0	0	35	0	0	0	34	0	0	12	126
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	19	19	19	45	45	45	80	80	80	80	112	112	112	124	
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	32	0	0	33	0	0	0	32	0	0	32	144
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	32	0	0	35	0	0	0	32	0	0	32	146
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	47	47	47	80	80	80	80	112	112	112	144	
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	26	0	0	36	0	0	0	32	0	0	29	134
		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	11	0	0	26	0	0	36	0	0	0	32	0	0	29	134
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	37	37	37	73	73	73	73	105	105	105	134	
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	21	0	0	33	3	0	0	32	0	0	20	124
		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	15	0	0	21	0	0	33	3	0	0	32	0	0	20	124
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	15	15	15	36	36	36	69	72	72	72	104	104	104	124	
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	17	0	0	31	0	0	0	30	0	0	22	110
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	17	0	0	31	0	0	0	31	0	0	22	111
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	27	27	27	58	58	58	58	88	88	88	110	

Appendix 3-5. Continued

(Measured concentration : 0.0600 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	23	0	0	30	0	0	0	34	0	0	32	132
		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	13	0	0	23	0	0	30	0	0	0	34	0	0	32	132
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	13	13	13	36	36	36	66	66	66	66	100	100	100	132		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	13	0	0	24	0	0	36	0	0	0	36	0	0	28	137	
		Dead	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	13	0	0	24	0	0	36	0	0	0	36	0	0	28	137	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	13	13	13	37	37	37	73	73	73	73	109	109	109	137		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	11	0	0	32	0	0	33	0	0	0	38	0	0	25	139	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
		Total	0	0	0	0	0	0	11	0	0	32	0	0	33	0	0	0	38	0	0	26	140	
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	43	43	43	76	76	76	76	114	114	114	139		

Appendix 3-6. Result of reproduction test

(Measured concentration : 0.117 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	25	0	0	39	0	0	0	31	0	0	20	127
		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	12	0	0	25	0	0	39	0	0	0	31	0	0	20
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	12	12	12	37	37	37	76	76	76	76	107	107	107	127	
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	22	0	0	32	0	0	0	30	0	0	25	119
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	22	0	0	33	0	0	0	30	0	0	25
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	32	32	32	64	64	64	64	94	94	94	119	
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	23	0	0	33	0	0	22	6	0	0	25	118
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	24	0	0	33	0	0	22	6	0	0	25
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	32	32	32	65	65	65	87	93	93	93	118	
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	27	0	0	26	0	0	0	32	0	0	21	119
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	2	0	0	2	9
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	27	0	0	31	0	0	0	34	0	0	23
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	40	40	40	66	66	66	66	98	98	98	119	
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	26	0	0	28	0	0	0	28	0	0	26	121
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	26	0	0	28	0	0	0	28	0	0	28
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	39	39	39	67	67	67	67	95	95	95	121	
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	16	0	0	33	1	0	0	28	0	0	23	112
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	4
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	16	0	0	33	1	0	0	32	0	0	23
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	27	27	27	60	61	61	61	89	89	89	112	
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	22	0	0	23	1	0	0	30	0	0	23	109
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
		Total	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	22	0	0	23	1	0	0	30	0	0	24
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	10	32	32	32	55	56	56	56	86	86	86	109	

Appendix 3-6. Continued

(Measured concentration : 0.117 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	30	0	0	28	0	0	0	32	0	0	21	122
		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	11	0	0	30	0	0	28	0	0	0	32	0	0	21	122
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	41	41	41	69	69	69	69	101	101	101	122		
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	25	0	0	33	0	0	0	35	0	0	24	129
		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	12	0	0	25	0	0	33	0	0	0	35	0	0	24	129
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	12	12	12	37	37	37	70	70	70	70	105	105	105	129		
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	24	0	0	32	0	0	0	29	0	0	28	124
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	3	
		Total	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	24	0	0	33	0	0	0	31	0	0	28	127
	Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	11	11	11	35	35	35	67	67	67	67	96	96	96	124		

Appendix 3-7. Result of reproduction test

(Measured concentration : 0.247 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
1	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	19	0	0	0	13	0	0	18	0	0	11	66
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	4	0	0	4	16
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	19	0	0	0	21	0	0	22	0	0	15	82
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	24	24	24	24	37	37	37	55	55	55	66	
2	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	20	0	0	0	0	M	-	-	-	-	(31)
		Dead	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	0	11	0	0	20	0	0	0	0	-	-	-	-	-	(31)
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	11	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	
3	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	F ₁ generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	19	0	0	18	0	0	8	2	0	3	54
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	4	4	0	6	16
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	19	0	0	20	0	0	12	6	0	9	70
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	23	23	23	41	41	41	49	51	51	54	
6	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Cumulative reproductivity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

'M' shows mortality of parental *Daphnia*.

Appendix 3-7. Continued

(Measured concentration : 0.247 mg/L)

Rep. No.	Counts	Time																				Total		
		3/23	3/24	3/25	3/26	3/27	3/28	3/29	3/30	3/31	4/1	4/2	4/3	4/4	4/5	4/6	4/7	4/8	4/9	4/10	4/11		4/12	
8	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10	F ₁ generation	Live	0	0	0	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
		Dead	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
	Total	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(0)
Cumulative reproductivity		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

'M' shows mortality of parental *Daphnia*.