

環境庁殿

試 験 報 告 書

フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

(試験番号：PRO/N03/0201)

平成 8 年 7 月 3 1 日作成

株式会社東レリサーチセンター

最終報告書変更届

(変更届番号:PRO /N03/0202)

(株)東レリサーチセンター 名古屋研究部において作成した最終報告書の内容に変更を生じたので変更届を作成する。

— 記 —

I. 変更する最終報告書

平成7年度生態影響試験 最終報告書

試験番号 :PRO /N03/0201

試験名 :フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ(*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

試験責任者 :株式会社 東レリサーチセンター 名古屋研究部 XXXXXXXXXX

運営管理者 :株式会社 東レリサーチセンター 名古屋研究部 XXXXXXXXXX

試験委託者 :環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室
室長補佐 XXXXXXXXXX

II. 変更項目, 変更時期及び変更理由

2頁に記載.

III. 署名, 承認

3頁に記載.

Ⅱ. 変更項目, 変更時期及び変更理由

頁(行)	変更前	変更後	変更時期	変更理由
p.14 結果および考 察 p.22 Table 5	50%致死濃度(LC50)は、それぞれ 12.23mg/L、13.58 mg/L、8.18 mg/L および 7.67mg/L であった。	50%致死濃度(LC50)は、いずれも最高 濃度区(6.64mg/L)以上であった。	2002 年 6 月	統計計算結果の表示方法ミス
p.17 Table 1-1 8day	0.27	0.49	2002 年 6 月	入力ミス

Ⅲ. 署名, 承認

変更届作成日 : 2002 年 06 月 27 日

試験責任者(変更届作成者)

: [redacted] (2002 年 06 月 27 日)

QAU 担当者 確認 : [redacted] (2002 年 06 月 27 日)

運営管理者 承認 : [redacted] (2002 年 07 月 01 日)

試験委託者: 環境省

委託責任者

総合環境政策局環境保健部環境安全課環境リスク評価室 室長補佐

承認 : [redacted] (2002 年 8 月 5 日)

環境庁殿

試 験 報 告 書

フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

(試験番号：PRO/N03/0201)

平成 8年 7月31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： フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する
繁殖阻害試験

試験番号： PRO/N03/0201

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 8 年 7 月 3 / 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： フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

試験番号： PRO/N03/0201

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 8 年 4 月 25 日	平成 8 年 5 月 2 日
試験報告書監査	平成 8 年 6 月 13 日	平成 8 年 6 月 14 日
	平成 8 年 7 月 31 日	
信頼性保証担当者	[Redacted Signature]	

試験実施概要

1. 表題： フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験
2. 試験目的： フタル酸ジ-*i*-ブチルについて、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 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) 東京都千代田区日本橋室町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) 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]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)
試験担当者	[redacted]	(平成 8 年 7 月 31 日)

9. 試験期間： 試験開始日 平成 8 年 3 月 28 日
試験終了日 平成 8 年 7 月 31 日
曝露期間 平成 8 年 4 月 24 日 ～ 平成 8 年 5 月 15 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、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	8
1.1 名称、構造式および物理化学的性状	8
1.2 供試試料	8
1.3 保管方法および保管条件下の安定性の確認	8
2 供試生物	9
3 試験方法	9
3.1 試験条件	9
3.2 希釈水	10
3.3 試験容器および恒温槽等	10
3.4 試験濃度の設定	10
3.5 試験液の調製	10
3.6 試験液の分析	11
3.7 試験操作	11
4 結果の算出	11
4.1 親ミジンコの半数致死濃度 (LC50) の算出	11
4.2 50%繁殖阻害濃度 (ErC50) の算出	12
4.3 最大無作用濃度 (NOECr)および最小作用濃度 (LOECr)	12
5 結果および考察	13
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	13
5.2 試験水中の被験物質濃度	13
5.3 ミジンコの観察結果	13
5.4 親ミジンコの50%致死濃度 (LC50)	14
5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)	14
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 試験水の水温、溶存酸素濃度およびpH	15
Table 1~10, Figure 1~2	16~26
付属資料-1 希釈水の水質	
付属資料-2 試験液の分析方法	
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

フタル酸ジ-*i*-ブチルのオオミジンコ (*Daphnia magna*)に対する繁殖阻害試験

試験番号

PRO/N03/0201

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： フタル酸ジ-*i*-ブチル
- 2)暴露方法： 半止水式(48時間毎に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)連数： 1濃度区につき4連
- 6)生物数： 40頭/1濃度区(1連につき10頭で1濃度区40頭)
- 7)試験濃度： 対照区、助剤対照区(助剤濃度、7.00mg/L)、0.49、0.84、1.42、2.42、4.12および7.00 mg/L(公比1.7)(設定濃度)
- 8)試験液量： 400 mL
- 9)照明： 16時間明/8時間暗
- 10)試験水温： 20±1℃

結 果

- 1) 21日間の親ミジンコの50%致死濃度(LC50)
= 1.26 mg/L (95%信頼区間：1.01 mg/L~1.56 mg/L)
- 2) 21日間の50%繁殖阻害濃度(ErC50)
= 1.25 mg/L (95%信頼区間：1.05 mg/L~1.48 mg/L)

3) 最大無作用濃度(NOECr) = 0.27 mg/L

4) 対照区と有意差の認められる最低濃度(LOECr) = 0.59 mg/L

[1),2): 有意水準5%、統計的手法：吉岡義正教授 Probit 法]

[3),4): 有意水準5%、統計的手法：F & t-test Yukms 統計ライブラリー I 統計解析編]

(上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

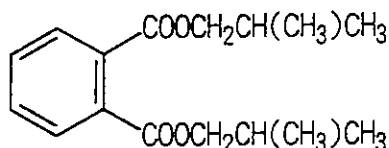
1 被験物質

1.1 名称、構造式及び物理化学的性状

名 称 : フタル酸ジ-*i*-ブチル

識別符号 : IB

構造式 :



分子式 : $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$

分子量 : 278.35

1-オクタノール/水分配係数 ($\log P$) : 4.110

水溶性 : 400 ppm / 25℃

融点 : -64℃

沸点 : 340℃

(上記の数値は、MSDSのフタル酸ジ-*i*-ブチルから引用した)

1.2 供試物質

購入先 :

入手先 :

入手日 : 平成8年3月11日

ロット番号 : GA01

供給量 : 25g入り2本

外観 : 無色透明

純度及び不純物 : 99.0%以上

1.3 被験物質の確認および保管条件下での安定性

1) 保管方法

被験物質は試料保管庫に室温で光を遮断して保管した。

2) 保管方法および保管条件下の安定性の確認

入手した被験物質について赤外吸収スペクトル測定、NMRスペクトル測定およびガスクロマトグラフ分析を行い、被験物質の特性ピークが認められることおよび純度を確認した。

試験終了時にも同様に測定・分析し、試験開始前に測定したスペクトルおよびガスクロマトグラムと比較した結果、変化は無かった。

従って、被験物質は当研究部の試料保管庫に保管中は安定であったと判断した。

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、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）による急性遊泳阻害試験の結果は48時間EC50が 0.16mg/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前日に選別して、別に用意したビーカーに移し、平成8年4月2日および同年4月4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18～20日間馴化した。成熟し幼体を産むようになってから、1週間に少なくとも2回以上幼体を除去した。

暴露開始前日に幼体を除去し、翌日(平成8年4月24日)産出された幼体を試験に用いた。死亡個体は少なく、休眠卵や雄は全く生じなかった。

飼育水： 希釈水（3.2参照）

飼育密度： 20～50 頭/L 飼育水（但し、成熟個体の場合は、25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 vulgaris*

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 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、48時間毎に試験液を全量交換した。
- 2)暴露期間： 21日間
- 3)連数： 1濃度区に付き4連
- 4)生物数： 40頭/1濃度区（1連に付き10頭で1濃度区40頭）
- 5)試験液量： 400 mL
- 6)試験水温： 20±1℃
- 7)照明： 室内光、16時間明/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

愛知用水（河川水を簡単に処理して工業、農業用水として供給されている）を工場内で沈殿・ろ過処理した水を、さらに実験室でトレビーノ（東レ(株)製 浄水器：中空系膜および活性炭）を通して用いた。

試験開始時にオルトトリジン法により、希釈水中残留塩素が0.05mg/L以下であることを確認した。

希釈水の主な水質として、硬度が 16.2mg/L(CaCO₃換算)、pHが 6.95であった。

[付属資料－1]

3.3 試験容器および恒温槽等

試験容器： 500mL容ガラスビーカー

恒温槽： ローテンプインキュベータ（東京理化 EYELA LTI-1000-ED）

水温計： 熱電対温度計 データロガー（ティアンドディ TR-71型）

および pHメーター内蔵温度計

pH計： pHメーター（堀場製作所 カスタニーLAB pHメーター F-22）

溶存酸素計： DO METER（堀場製作所 OM-14）

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= 6.71 mg/L)近辺から始めて、それ以下の濃度を公比 1.7で、6 段階設定した。各濃度区は以下の通りである。

（対照区、助剤対照区、0.49、0.84、1.42、2.42、4.12 および 7.00 mg/L）

3.5 試験液の調製

- 1) 被験物質 0.1wt%溶液を希釈水に添加し、設定濃度の試験液を必要量調製した。
- 2) 被験物質 0.1wt%溶液の調製は、供試ミジンコに対して毒性の低い分散剤である硬化ヒマシ油 HCO-50を用い、ホモジナイザーで蒸留水に分散させて調製した。
- 3) 試験液中の助剤濃度は、各濃度区共に被験物質濃度の 4.0 倍の濃度になった。
- 4) 希釈水のみ対照区に加え、最高試験濃度区に添加されている量（28.0mg/L）と同濃度の助剤を添加した助剤対照区を設けた。
- 5) 1 濃度区につき 4 個の試験容器を用意し、各試験容器に試験液を 400mL ずつ入れた。

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（換水前後で計6回）、即ち試験開始時および48時間後、4日後およびその48時間後、さらに6日後およびその48時間後に各ビーカーより試験水1.5mLを採取し、HPLCにより被験物質濃度を分析した。試験水の分析に際しては、測定日毎に標準溶液（濃度1.0, 10.0mg/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、供試ミジンコを投入し、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供試ミジンコを投入した。その際、試験液量に対して、ピペット内の飼育水は全量で1%以内を目安とした。

その後、換水毎にミジンコを新しい試験液に移しかえ、21日目まで飼育した。暴露期間中は毎日一定量の給餌を行った(3.1参照)。

・ミジンコの観察：

（親ミジンコ）毎日、生存数、遊泳障害数、大きさと状態を対照区と比較、育房内に卵を持つ個体数について観察した。計数後の親ミジンコの死亡個体は取り除いた。

（産出幼体）48時間毎に、幼体の生死の数および大きさ、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。

・水温： 全濃度区（但し、各1試験容器）について、48時間毎に換水前後で測定した。

・溶存酸素濃度(D.O.)：全ての試験液について、48時間毎に換水前後で測定した。

・pH： 全濃度区（但し、各1試験容器）について、48時間毎に換水前後で測定した。

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(40頭)を用いて、Probit法により7、14、21日間の半数致死濃度(LC50)およびその95%信頼限界を算出した。

4.2 50%繁殖障害濃度 (ErC50) の算出

累積産仔数の算出

各試験容器の親 1 頭当たりの試験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

F_n: n回目の幼体数 (但し、生存幼体)

P_n: 暴露開始後n回目の観察時の親の数

P_{n-1}: n-1回目の親の数

ne: 最終観察回

(但し、P_{n-1} + P_nが 0 の場合は、無視した。)

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

ここで、

TF_n: 各試験容器の累積産仔数

m: 濃度区当たりの系列数 (試験容器数: 4)

ErC50値の算出

Probit法により50% 繁殖障害濃度 (ErC50) を算出した。但し、供試個体数に对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。14および21日目の ErC50 値を算出し、可能ならばそれらの95%信頼限界も算出した。

4.3 最大無作用濃度 (NOECr) および最小作用濃度 (LOECr)

4.2に示したように各試験容器毎の親 1 頭当たりの累積産仔数を算出し、各濃度区と对照区との有意差の有無を F 検定および t 検定、(統計的手法: F & t-test Yukms 統計ライブラリー I 統計解析編) により求め、对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。

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

21 日間の試験期間中、2 日毎に計 10 回の換水を行った。換水時における新試験液の被験物質濃度は、全濃度区とも設定値に対して 94%以上の濃度であったが、2 日後には 0.49 mg/L、0.84mg/L、1.42mg/L および 2.42mg/L の濃度区（全て設定濃度）で、被験物質濃度が設定値の 80%を下回る場合が生じた。これは、低濃度区で、被験物質の分解の影響を大きく受けたためと考えられる。

尚、半数致死濃度（LC50）等の計算は、フタル酸ジ-*i*-ブチル濃度の実測値を時間加重平均した値を用いた。

5.2 試験水中の被験物質濃度

48時間換水で1回目、3回目および4回目の換水後の被験物質濃度は 0.47~6.88 mg/L、（設定値 0.49~7.00 mg/L）であり、設定値に対する割合は 94.9~101.7 %と、ほぼ設定通りであった。また、それらの2日後（換水前）の濃度は 0.02mg/L未満~6.63mg/Lであり、設定値に対する割合は 4.1%未満~94.7%であった。

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

5.3 ミジンコの観察結果

親ミジンコの死亡数および死亡率

対照区と助剤対照区での親ミジンコの死亡率は、それぞれ暴露終了時で 7.5%と 10.0%であり、試験成立条件である20%以下の基準を満たした。

被験物質濃度が 0.27mg/L、2.19mg/L および 6.64mg/L の各濃度区では、暴露終了時の親ミジンコの死亡率は、12.5%、55.0% および 100% であった。

（上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値）。

[Table 2-1, 2-2 (p.18), Figure 1 (p.19) 付属資料-3]

初産日

対照区での親ミジンコの初産日はいずれも8日であり、試験成立条件である9日以内の基準を満たした。

助剤対照区、0.27mg/L、0.59mg/L、1.06mg/L、2.19mg/L および 3.76mg/L（実測濃度の時間加重平均値）の各濃度区においても、親ミジンコの初産日はいずれも8日であった。

6.64mg/L（実測濃度の時間加重平均値）では、親ミジンコの産仔は全く観察されなかった。

[Table 3 (p.20), 付属資料-3]

平均累積産仔数

対照区での親ミジンコの平均累積産仔数は 72.8 頭であり、試験成立条件である20頭の基準を満たした。助剤対照区の平均累積産仔数は 49.0 頭であり、対照区と有意な差が認められた。従って、各濃度区との比較は助剤対照と行った。各濃度区における平均累積産仔数は被験物質濃度が高くなるとともに暫時減少した。

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

親ミジンコの大きさ

助剤対照区と被験物質濃度 0.27mg/L、0.59mg/L、1.06mg/L および 2.19mg/Lについては、21日間を通していずれも対照区の親ミジンコと同程度の大きさであった。

6.64mg/Lでは、試験開始2日目から対照区の親ミジンコよりも小さいことが認められ、3.76mg/Lでは、試験開始12日目から対照区の親ミジンコよりも小さいことが認められた。

(上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

休眠卵の発生等

対照区、助剤対照区および全試験濃度区において、休眠卵は全く生じなかった。

5.4 親ミジンコの50%致死濃度 (LC50)

訂正

1日間、2日間、4日間および7日間の親ミジンコの50%致死濃度 (LC50) は、それぞれ ~~12.23mg/L、13.58mg/L、8.18mg/L および 7.67mg/L であった。~~ いずれも最高濃度区(6.64mg/L)以上であった。

14日間および21日間の親ミジンコの50%致死濃度 (LC50) は、それぞれ 2.10mg/Lと 1.26mg/Lであり、その95%信頼区間は 1.76mg/L~2.52mg/L、1.01 mg/L~1.56 mg/Lであった。

(有意水準 5 %、統計的手法：吉岡義正教授 Probit法)

(上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

[Table 5 (p.22)]

5.5 50%繁殖阻害濃度 (ErC50)

14日間の50%繁殖阻害濃度 (ErC50) は、0.49 mg/Lであり、その95%信頼区間は 0.25 mg/L~0.73 mg/Lであった。また、21日間の ErC50は、1.25 mg/Lであり、その95%信頼区間は 1.05 mg/L~1.48 mg/Lであった。

(有意水準 5 %、統計的手法：吉岡義正教授 Probit法)

(上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

[Table 6 (p.22)]

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 0.27 mg/L であり、最小作用濃度 (LOECr) は 0.59 mg/L であった。

(有意水準 5%、統計的手法: F & t-test Yukms 統計ライブラリー I 統計解析編)

(上記濃度は、全て実測濃度の時間加重平均値に基づく値)

[Table 7 (p.23)]

5.7 試験水の水温、溶存酸素濃度および pH

21 日間の試験期間中の水温は 19.1~20.9 °C であり、20°C ± 1 °C の範囲内であった。

溶存酸素濃度は 5.8~9.5 mg/L であり、すべての試験水槽で飽和溶存酸素濃度の 60% 以上であった (20.0°C の飽和溶存酸素濃度: 8.84 mg/L)。pH は 6.6~7.4 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 については、ミジンコの生育条件としては適切な範囲であったと思われる。

[Table 8 (p.24)]

[Table 9 (p.25)]

[Table 10 (p.26)]

以 上

Table 1-1 Measured Concentrations of Di-i-butyl Phthalate 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	Mean	0 day new	2 day old
Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
Dispersant Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
0.49	0.48	0.37	0.42	95.9	75.5
0.84	0.81	0.69	0.75	96.4	82.1
1.42	1.39	1.15	1.27	97.9	81.0
2.42	2.46	2.22	2.34	102	91.7
4.12	3.91	3.74	3.82	94.9	90.8
7.00	6.84	6.63	6.73	97.7	94.7

Nominal Concentration (mg/L)	Measured Concentration(mg/L)			Percent of Nominal	
	6 day new	8 day old	Mean	6 day new	8 day old
Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
Dispersant Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
0.49	0.50	< 0.02	0	102	< 4.1
0.84	0.83	0.09	0.33	98.8	10.7
1.42	1.40	0.33	0.74	98.6	23.2
2.42	2.36	1.63	1.97	97.5	67.4
4.12	4.01	3.35	3.67	97.3	81.3
7.00	6.88	6.18	6.52	98.3	88.3

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2-days exposure

$$\text{Mean: } \frac{\text{Conc0} - \text{Conc1}}{\ln(\text{Conc0}) - \ln(\text{Conc1})}$$

Conc0 is the measured concentration at the start of each renewal period.

Conc1 is the measured concentration at the end of each renewal period.

Table 1-1 Continued

IT	IE
----	----

Nominal Concentration mg/L	Measured Concentration(mg/L)			Percent of Nominal	
	8 day new	10 day old	Mean	8 day new	10 day old
Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
Dispersant Control	< 0.02	< 0.02	----	----	----
0.49	0.27 0.49	0.29	0.38	100	59.2
0.84	0.81	0.57	0.68	96.4	67.9
1.42	1.37	1.00	1.18	96.5	70.4
2.42	2.33	2.19	2.26	96.3	90.5
4.12	3.95	3.66	3.80	95.9	88.8
7.00	6.76	6.57	6.66	96.6	93.9

new : freshly prepared test solutions

old : test solutions after 2-days exposure

$$\text{Mean: } \frac{\text{Conc0} - \text{Conc1}}{\ln(\text{Conc0}) - \ln(\text{Conc1})}$$

Conc0 is the measured concentration at the start of each renewal period.

Conc1 is the measured concentration at the end of each renewal period.

Table 1-2 Time-weighted Means of Measured Concentrations of Di-i-butyl Phthalate 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	----	----
0.49	0.27	55.1
0.59	0.59	70.2
1.42	1.06	74.6
2.42	2.19	90.5
4.12	3.76	91.3
7.00	6.64	94.9

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	1	1	1	1	3	3	3	3
Disp. cont.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	3	3	3	4	4
0.27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	4	4	4	5	5
0.59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	5	5	7	7	9	9
1.06	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	8	8	9	9	12	12	19	19
2.19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	12	12	13	14	19	19	21	22
3.76	0	0	2	2	2	2	3	3	7	7	13	21	27	29	33	33	33	33	33	33	33	33
6.64	0	3	6	8	13	13	15	15	20	25	27	28	35	38	39	39	39	39	39	40	40	40

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	2.5	7.5
Disp. cont.	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	10.0
0.27	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	12.5
0.59	0.0	0.0	0.0	0.0	7.5	22.5
1.06	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	47.5
2.19	0.0	0.0	0.0	0.0	30.0	55.0
3.76	0.0	5.0	5.0	7.5	82.5	82.5
6.64	7.5	15.0	32.5	37.5	97.5	100.0

Figure 1 Cumulative Numbers of Dead Parental *Daphnia*

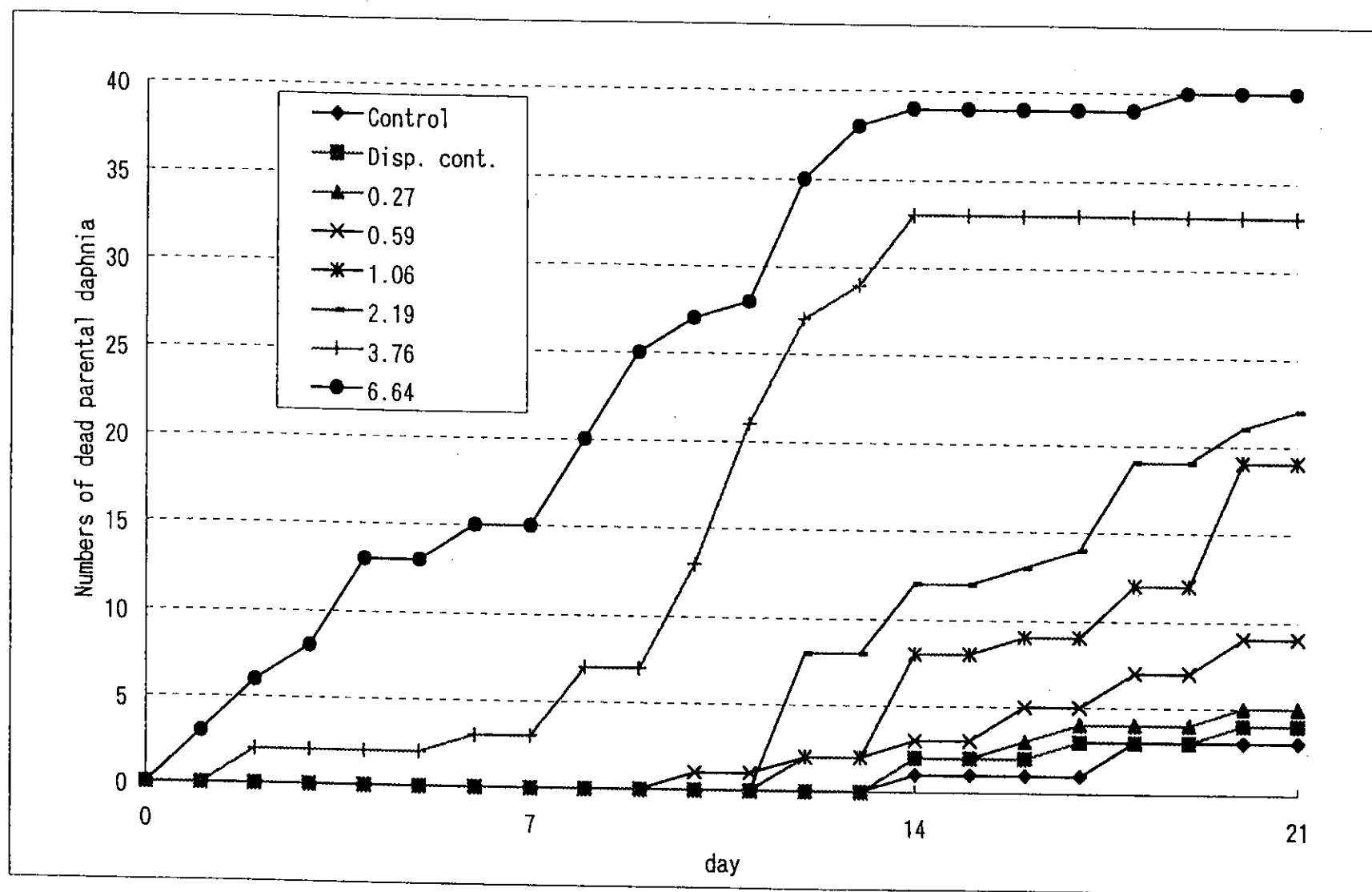


Table 3 Time (days) to First Brood Production

Vessel No.	Control	Disp. control	Measured Concentration(mg/L)					
			0.27	0.59	1.06	2.19	3.76	6.64
1	8	8	8	8	8	8	8	-
2	8	8	8	8	8	8	8	-
3	8	8	8	8	8	8	8	-
4	8	8	8	8	8	8	8	-
Mean	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	-

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

Measured conc.	Days											
(mg/L)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	21
Control	0.00	0.00	0.00	0.00	2.30	13.18	18.50	37.52	49.45	56.69	71.14	72.77
Disp. cont.	0.00	0.00	0.00	0.00	1.38	6.18	6.58	12.37	22.73	29.53	47.76	49.04
0.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.73	2.60	2.80	8.23	18.91	24.52	40.26	46.54
0.59	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	1.77	1.82	6.26	13.55	18.81	33.31	37.84
1.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.78	0.78	2.59	5.42	9.08	22.19	25.54
2.19	0.00	0.00	0.00	0.00	0.38	0.48	0.48	1.21	2.61	4.75	14.40	15.47
3.76	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.18	0.18	0.43	1.26	5.01	7.93	9.30
6.64	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

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

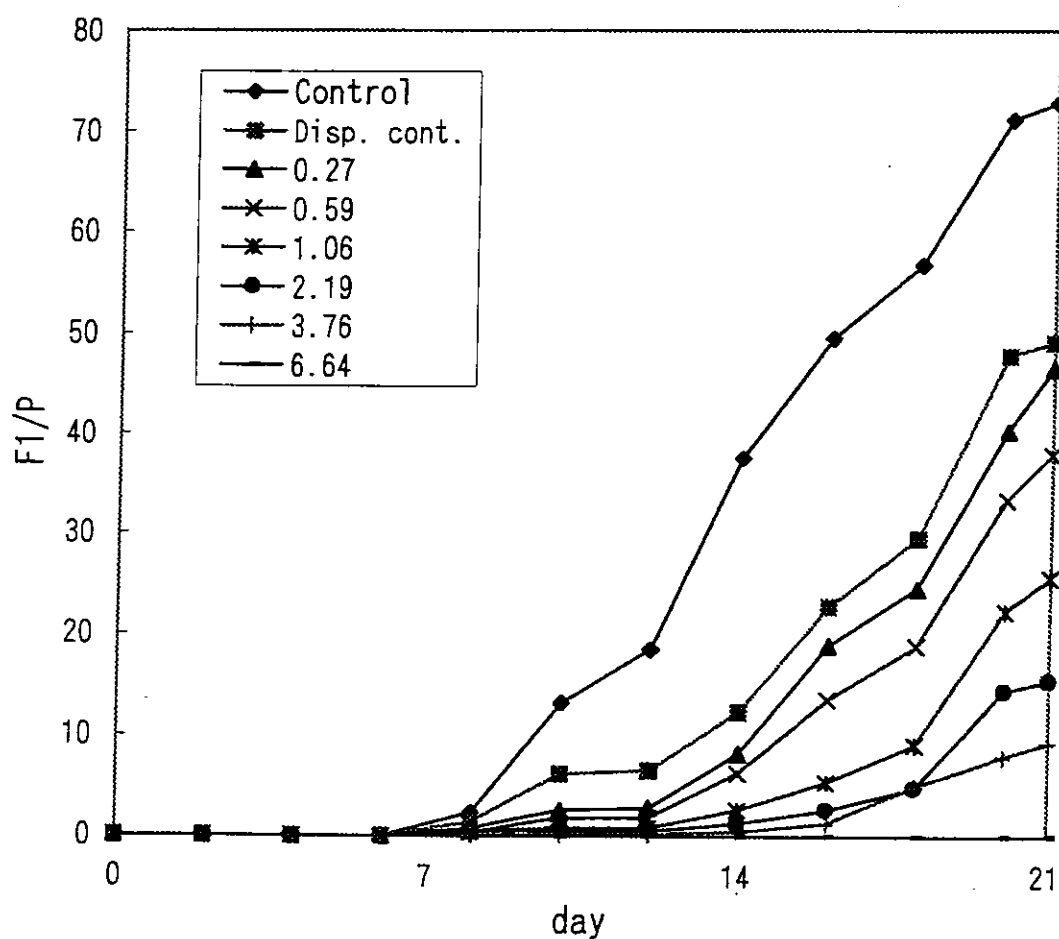


Table 5 Calculated LC50 Values for Parental *Daphnia*

附 註

Exposure period (day)	LC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
1	12.23 >6.64	-	Probit
2	13.58 >6.64	-	Probit
4	8.18 >6.64	-	Probit
7	7.07 >6.64	-	Probit
14	2.10	1.76 - 2.52	Probit
21	1.26	1.01 - 1.56	Probit

These are based on mean values of measured concentrations.

Table 6 Calculated ErC50 Values for Inhibition of Reproduction

Exposure period (day)	ErC50 (mg/L)	95 % Confidence limits (mg/L)	Statistical method
14	0.49	0.25 - 0.73	Probit
21	1.25	1.05 - 1.48	Probit

These are based on mean values of measured concentrations.

Table 7-1 Significance Test of Difference between the Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult in Control and Dispersant control after 21 Days
(Two-sided test of F-test and t-test)

Vessel No.	Control	Dispersant control
1	71.67	49.53
2	86.05	46.89
3	61.96	51.32
4	71.40	48.41
Mean	72.77	49.04
Variance	98.767	3.486
S.D.	9.938	1.867
F-test(Probability)		0.011
Equality		No
t-test (Probability)		0.020
Significant difference(95%)		Yes

Table 7-2 Significance Test of Difference between the Mean Cumulative Numbers of Juveniles Produced per Adult in Dispersant control and Test Vessels after 21 Days
(Two-sided test of F-test and t-test)

Vessel No.	Dispersant control	Measured Concentration (mg/L)					
		0.27	0.59	1.06	2.19	3.76	6.64
1	49.53	61.52	39.30	25.56	9.38	12.00	0.00
2	46.89	41.34	38.67	40.13	11.25	17.50	0.00
3	51.32	41.62	41.48	15.88	22.26	0.71	0.00
4	48.41	41.66	31.91	20.61	18.98	7.00	0.00
Mean	49.04	46.54	37.84	25.54	15.47	9.30	0.00
Variance	3.486	99.820	17.078	110.163	37.774	51.203	0.000
S.D.	1.867	9.991	4.133	10.496	6.146	7.156	0.000
F-test (Probability)		0.010	0.112	0.009	0.041	0.027	0.000
Equality		No	Yes	No	No	No	No
t-test (Probability)		0.667	0.008	0.024	0.002	0.002	0.000
Significant difference(95%)		No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

No observed effect concentration (NOECr) = 0.27 mg/L

Lowest effect concentration (LOECr) = 0.59 mg/L

(These are based on mean values of measured concentrations.)

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

days	Temperature (°C)							
	Control	Disp.Cont	Measured Concentration (mg/L)					
			0.27	0.59	1.06	2.19	3.76	6.64
0 new	19.8	20.1	20.2	20.3	20.4	20.5	20.5	20.5
2 old	20.1	19.9	19.8	19.8	19.9	19.8	19.9	20.0
2 new	20.6	20.5	20.5	20.4	20.5	20.6	20.3	20.5
4 old	20.8	20.3	20.1	20.5	20.3	20.3	20.5	20.4
4 new	20.9	20.8	20.6	20.8	20.9	20.9	20.9	20.9
6 old	20.3	19.9	19.8	19.9	19.9	19.8	19.9	20.1
6 new	20.3	20.2	20.2	20.0	20.0	20.3	19.9	20.4
8 old	20.6	20.3	20.2	20.2	20.2	20.1	19.9	20.1
8 new	20.3	20.1	19.7	19.6	19.7	19.7	19.4	19.7
10 old	20.4	20.1	20.0	19.5	19.9	19.8	19.6	19.8
10 new	19.5	19.8	20.2	19.9	19.5	19.8	19.8	19.9
12 old	20.6	20.0	19.7	19.7	19.6	19.7	19.6	19.8
12 new	19.2	19.4	19.5	19.5	19.9	19.9	19.9	19.9
14 old	20.1	19.9	19.9	19.8	19.7	19.8	19.6	19.6
14 new	20.5	20.1	20.2	20.1	20.2	20.3	20.2	20.1
16 old	19.5	19.3	19.3	19.3	19.2	19.2	19.1	19.2
16 new	19.9	19.5	19.8	20.2	19.9	19.7	19.9	19.8
18 old	19.6	19.3	19.2	19.3	19.3	19.3	19.6	19.5
18 new	20.5	20.7	20.1	20.7	20.3	20.7	20.2	20.4
20 old	20.2	19.9	20.0	19.8	20.1	19.8	19.6	n
20 new	20.0	19.7	19.8	19.5	19.7	19.6	19.9	n
21 old	20.3	20.3	20.2	20.1	19.8	19.8	19.8	n

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 2-days exposure

n: No measurement was made because all *Daphnia* were dead at this observation time.

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

days	D.O. (mg/L)							
	Control	Disp.cont	Measured Concentration (mg/L)					
			0.27	0.59	1.06	2.19	3.76	6.64
0 new	8.9-9.4	9.0-9.4	9.1-9.4	9.2-9.3	9.2-9.4	9.2-9.5	9.2-9.4	9.2-9.3
2 old	7.8-8.2	8.0-8.2	8.1-8.2	7.6-7.9	7.6-8.0	7.8-7.9	7.9-8.0	7.7-7.9
2 new	8.9-9.3	8.9-9.2	9.0	8.9-9.1	9.0-9.1	8.9-9.0	8.8-9.1	9.0-9.1
4 old	7.9-8.3	7.8-8.1	8.1-8.2	7.8-8.0	7.6-8.1	7.5-7.9	7.7-8.1	8.1-8.2
4 new	9.2-9.4	9.0-9.1	9.2-9.3	9.1-9.2	9.1-9.2	9.1-9.2	9.1	9.1-9.2
6 old	8.1-8.3	8.0-8.3	7.8-8.2	7.9-8.1	7.8-8.0	7.9-8.2	7.8-8.0	7.9-8.1
6 new	8.7-9.2	8.9-9.1	8.8-9.0	8.9-9.0	8.9-9.1	8.9-9.0	8.9-9.1	9.0-9.1
8 old	7.6-7.8	7.2-7.5	7.4-8.2	7.5-8.0	7.2-8.1	7.3-8.2	7.6-8.0	8.0-8.2
8 new	8.9-9.2	8.8	8.6-8.8	8.5-9.2	8.7-8.9	8.5-8.8	8.9-9.2	8.9-9.1
10 old	7.8-8.0	6.9-7.9	7.4-8.0	6.9-8.0	6.8-8.0	6.8-7.9	7.2-7.5	7.7-8.3
10 new	8.3-9.0	8.7-9.0	8.8-9.0	8.4-8.9	8.4-8.9	8.7-9.0	8.8-9.0	8.8-9.0
12 old	6.3-6.9	6.0-6.2	5.8-6.2	5.9-6.1	6.0-6.6	5.9-6.1	6.1-6.8	6.8-7.8
12 new	8.0-8.5	8.9-9.2	8.8-9.0	8.8-9.0	8.7-8.9	8.9-9.0	8.7-8.9	8.8-8.9
14 old	7.1-7.6	6.0-7.0	6.6-7.7	6.8-7.8	6.5-7.7	6.2-6.6	7.7-8.2	8.1
14 new	9.1-9.4	9.2	9.1-9.3	9.0-9.3	9.0-9.3	9.0-9.1	9.0-9.1	9.1
16 old	7.2-7.6	6.7-7.0	6.9-7.5	7.0-7.5	7.4-7.7	6.6-7.6	7.1-7.9	8.1
16 new	8.9-9.0	9.1-9.3	9.0-9.1	8.9-9.0	8.9-9.1	9.0-9.1	8.9-9.0	9.0
18 old	6.4-7.0	6.5-6.8	6.4-7.1	6.3-6.7	6.6-6.8	6.3-6.9	6.8-8.2	7.6
18 new	8.5-8.6	8.5	8.5-8.6	8.5	8.5-8.6	8.4-8.5	8.5-8.6	8.5
20 old	7.2-7.4	6.5-7.1	7.1-7.3	6.8-7.5	6.9-7.9	7.2-7.8	7.3-7.9	n
20 new	9.2-9.4	9.3-9.4	9.2-9.4	9.4	9.2-9.3	9.3-9.4	9.2-9.4	n
21 old	6.5-6.9	6.7-7.0	6.8-7.6	7.0-7.1	7.2-8.2	7.6-8.3	7.7-8.3	n

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 2-days exposure

n: No measurement was made because all *Daphnia* were dead at this observation time.

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

days	pH							
	Control	Disp.cont	Measured Concentration (mg/L)					
			0.27	0.59	1.06	2.19	3.76	6.64
0 new	7.0	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9
2 old	6.8	6.9	7.0	7.1	7.2	7.2	7.2	7.3
2 new	6.9	6.8	6.8	6.9	6.8	6.9	6.9	6.9
4 old	7.0	7.1	7.2	7.2	7.2	7.2	7.3	7.4
4 new	7.0	6.9	6.8	6.8	6.9	6.7	6.8	6.9
6 old	6.8	6.8	6.9	7.0	7.0	7.0	7.0	7.1
6 new	6.8	6.9	6.9	7.0	7.0	6.9	7.0	6.7
8 old	7.0	6.9	6.9	6.7	6.7	6.8	6.7	6.8
8 new	7.1	6.9	7.0	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9
10 old	6.6	6.7	6.7	6.7	6.8	6.8	6.8	6.8
10 new	6.6	6.6	6.6	6.8	6.7	6.7	6.7	6.7
12 old	6.9	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.1	7.1
12 new	7.1	7.1	7.0	7.0	7.0	7.0	7.1	7.0
14 old	7.0	7.1	7.1	7.0	7.1	7.0	7.1	7.1
14 new	6.6	6.8	6.8	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9
16 old	7.1	7.1	7.0	7.2	7.2	7.1	7.1	7.2
16 new	6.7	6.7	6.8	6.8	6.8	6.8	6.7	6.9
18 old	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.8
18 new	6.8	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.8
20 old	6.8	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	n
20 new	6.7	6.8	6.8	6.7	6.7	6.7	6.7	n
21 old	6.6	6.7	6.7	6.7	6.8	6.9	6.9	n

new: freshly prepared test solutions

old: test solutions after 2-days exposure

n: No measurement was made because all *Daphnia* were dead at this observation time.

付属資料－ 1

希釈水の水質

(全 1 頁)

Water Quality of Dilution Water

Parameter	Concentration
BOD	0.8 mg/L
COD	<0.6 mg/L
pH	6.95
Coliform group bacteria	N.D.
Mercury	<0.00005mg/L
Copper	<0.001 mg/L
Cadmium	<0.001 mg/L
Zinc	0.006 mg/L
Lead	<0.005 mg/L
Chromium	<0.01 mg/L
Iron	0.005 mg/L
Free chlorine	<0.0 mg/L
Fluoride	<0.05 mg/L
Ammonium ion	<0.1 mg/L
Arsenic	<0.01 mg/L
Evaporation residue	52.0 mg/L
Electric conductivity	4.23 mS/m
Total hardness (as CaCO ₃)	16.2 mg/L
Alkalinity	18.8 mg/L
Total organophosphorus compounds	<0.1 mg/L
Herbicide Simazin	<0.0003 mg/L
Herbicide Thiobencarb	<0.002 mg/L
Fungicide Thiuram	<0.0006 mg/L

付属資料－ 2

試験液の分析方法

(全 6 頁)

試験液の分析方法

1 試験液の分析方法

各試験水槽より試験水 0.5～1.5 mL をバイアル瓶に採取する。

実測濃度が20 mg/L を越える場合は予め移動相で希釈する。

HPLC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 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 測定条件

カラム : C18 5 μ m ϕ , 4.6 mm ϕ × 150 mm

カラム温度 : 40℃

注入量 : 20 μ L

移動相 : 水/アセトニトリル=13/87

流量 : 1.0 mL/min

3 検量線

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

[Figure 1(p.31)]

測定日毎に標準溶液（2ポイント以上）の測定を行い、この検量線により定量する。

4 添加回収試験

助剤対照液に標準液の一定量を添加して、回収率を求めた。

フタル酸ジ-*i*-ブチル 1.004mg/L標準液の回収率は103.3%であり、10.04mg/L標準液の回収率は100.3%であった。

Appendix 2

Figure 1 Calibration Curve of Di-i-butyl phthalate by HPLC Analysis

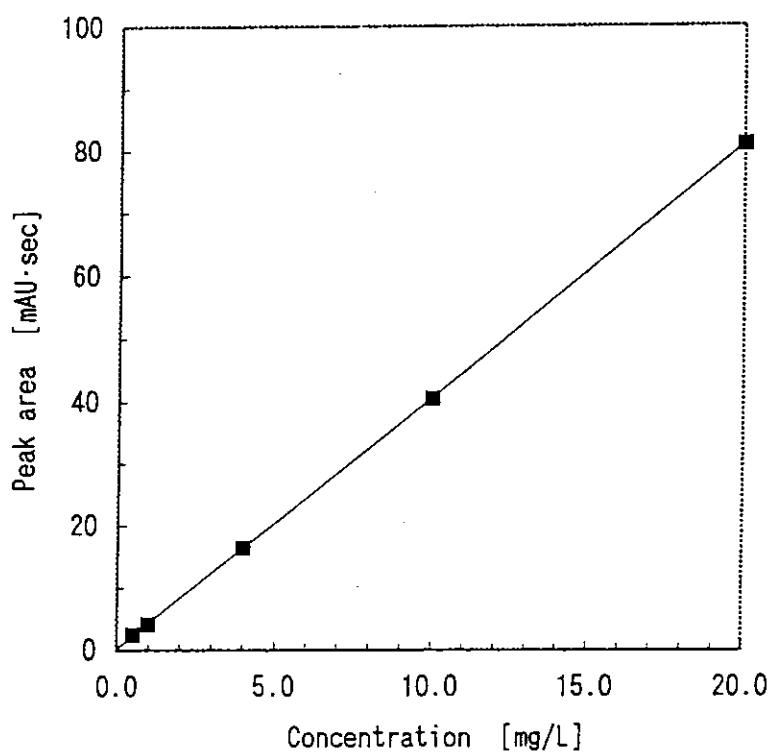
Input Data

No	Concentration (mg/L)	Peak Area (mAU·sec)
1	0.5	2.42073
2	1.0	4.07918
3	4.0	16.40690
4	10.0	40.44434
5	20.0	80.95576

$$Y(\text{Peak Area}) = 0.175396 + 4.02162 X(\text{Concentration})$$

$$r = 0.99999$$

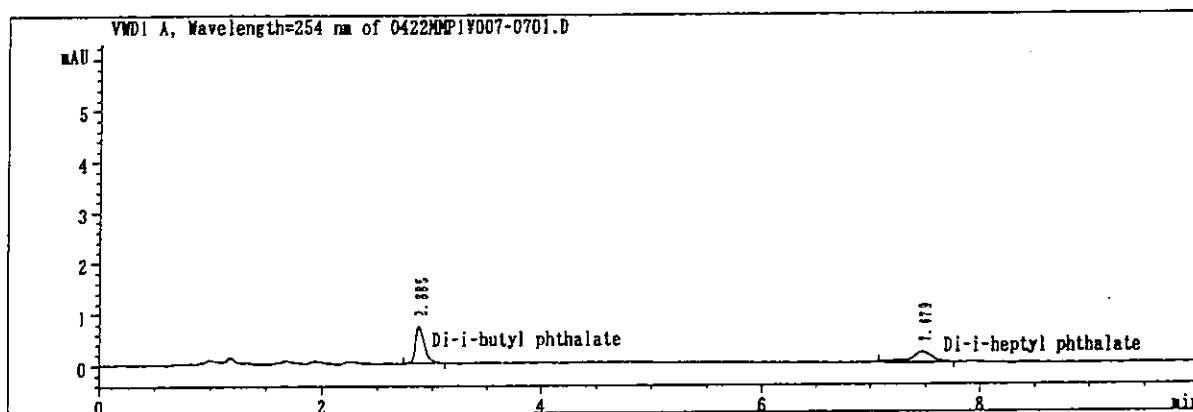
r : coefficient of correlation



Appendix 2

Figure 2 Representative Chromatograms

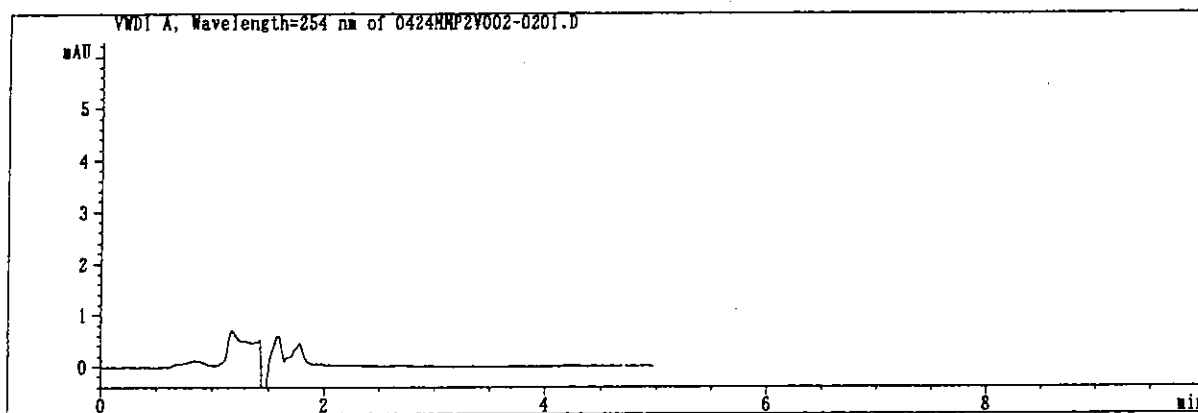
(1) Standard 1.0 mg/L; Day 0



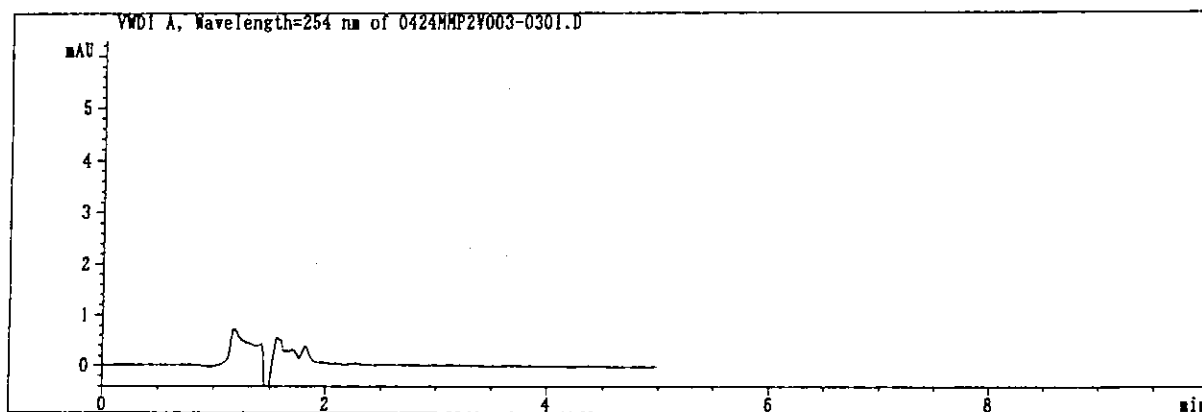
Appendix 2

Figure 2 Continued

(2) Control ; Day 0 (new)



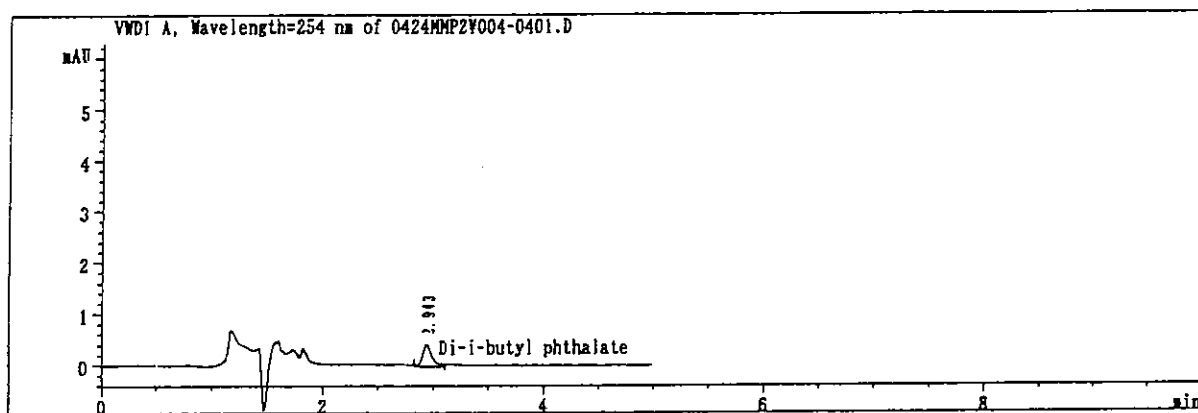
(3) Dispersant control ; Day 0 (new)



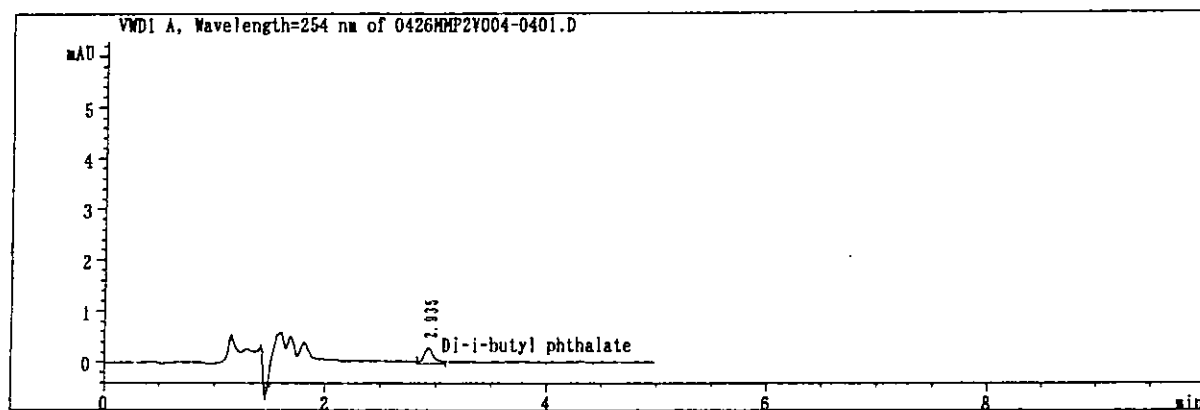
Appendix 2

Figure 2 Continued

(4) 0.49 mg/L nominal; Day 0 (new)



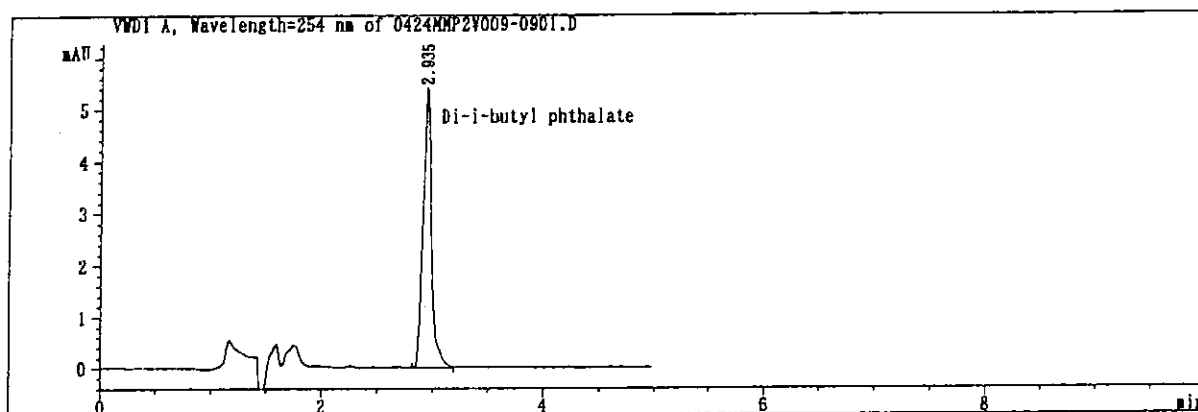
(5) 0.49 mg/L nominal; Day 2 (old)



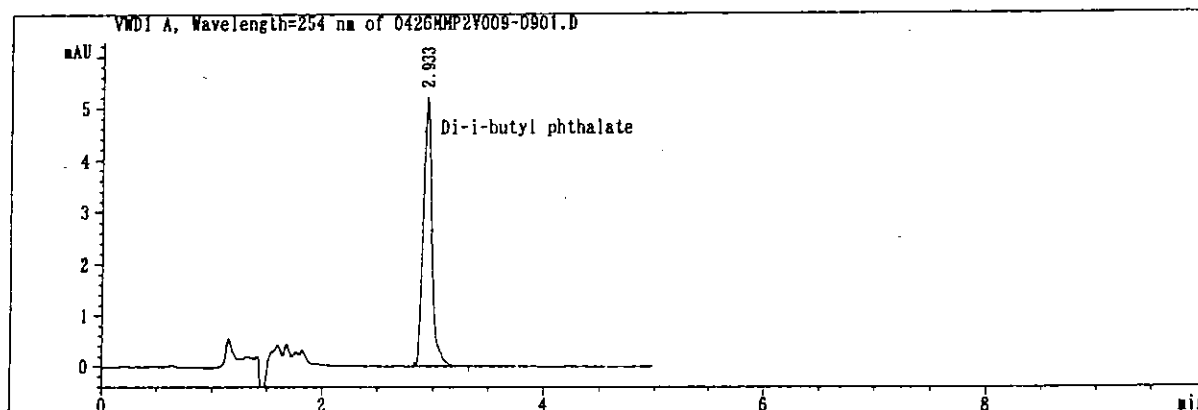
Appendix 2

Figure 2 Continued

(6) 7.00 mg/L nominal; Day 0 (new)



(7) 7.00 mg/L nominal; Day 2 (old)



付属資料－3

ミジンコの観察結果

(全8頁)

Appendix 3-1 Result of Reproduction Test

(Nominal conc.: 0mg/L, Dispersant conc.: 0mg/L)

(Nominal conc.: 0mg/L, Dispersant conc.: 0mg/L)																								
Counts		Time																						
		4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	5/4	5/5	5/6	5/7	5/8	5/9	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	5/15	Total	
No.		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d		
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	--	124	--	44	--	165	--	128	--	68	--	127	27	696
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	5	--	9	--	18	--	2	--	0	--	4	--	0	0	38
		Total	0	0	0	0	0	0	0	18	--	133	--	62	--	167	--	128	--	72	--	127	27	734
		Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.30	--	12.40	--	4.40	--	16.50	--	12.80	--	7.16	--	14.11	3.00	71.67
2		Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.30	--	13.70	--	18.10	--	34.60	--	47.40	--	54.56	--	68.67	71.67	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	36	--	106	--	115	--	203	--	121	--	103	--	152	2	838
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	12	--	11	--	18	--	3	--	0	--	3	--	0	0	47
		Total	0	0	0	0	0	0	0	48	--	117	--	133	--	206	--	121	--	106	--	152	2	885
3		Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.60	--	10.60	--	11.50	--	20.30	--	12.10	--	10.84	--	16.89	0.22	86.05
		Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.60	--	14.20	--	25.70	--	46.00	--	58.10	--	68.94	--	85.83	86.05	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	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	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	--	134	--	10	--	185	--	85	--	41	--	89	27	583
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	4	--	30	--	9	--	1	--	0	--	5	--	0	0	49
4		Total	0	0	0	0	0	0	0	16	--	164	--	19	--	186	--	85	--	46	--	89	27	632
		Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	--	13.40	--	1.00	--	19.47	--	9.44	--	4.56	--	9.89	3.00	61.96
		Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	--	14.60	--	15.60	--	35.07	--	44.52	--	49.07	--	58.96	61.96	--
	P generation	Live	10	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	0	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	31	--	71	--	44	--	198	--	134	--	64	--	169	3	714
		Dead	0	0	0	0	0	0	11	--	16	--	11	--	0	--	0	--	4	--	0	0	0	42
		Total	0	0	0	0	0	0	0	42	--	87	--	55	--	198	--	134	--	68	--	169	3	756
		Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.10	--	7.10	--	4.40	--	19.80	--	13.40	--	6.40	--	16.90	0.30	71.40
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.10	--	10.20	--	14.60	--	34.40	--	47.80	--	54.20	--	71.10	71.40	--	

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

(Nominal conc.: 0mg/L, Dispersant conc.: 28.0mg/L)

No.	Counts		Time																					Total
			4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	5/4	5/5	5/6	5/7	5/8	5/9	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	5/15	
			1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	2	--	65	--	10	--	68	--	107	--	61	--	152	6	471
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	2	--	20	--	9	--	3	--	0	--	0	--	2	0	36
		Total	0	0	0	0	0	0	0	4	--	85	--	19	--	71	--	107	--	61	--	154	6	507
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	--	6.50	--	1.00	--	6.80	--	10.70	--	6.78	--	16.89	0.67	49.53
2	Cumulative reproducti		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	--	6.70	--	7.70	--	14.50	--	25.20	--	31.98	--	48.87	49.53	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	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	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	30	--	40	--	0	--	37	--	51	--	85	--	183	5	431
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	7	--	5	--	0	--	1	--	2	--	0	--	0	0	15
	Total		0	0	0	0	0	0	0	37	--	45	--	0	--	38	--	53	--	85	--	183	5	446
3	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	--	4.00	--	0.00	--	3.89	--	5.67	--	9.44	--	20.33	0.56	46.89
	Cumulative reproducti		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.00	--	7.00	--	7.00	--	10.89	--	16.56	--	26.01	--	46.34	46.89	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	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	1	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	9	--	34	--	0	--	54	--	113	--	46	--	181	32	469
	Total		0	0	0	0	0	0	0	9	--	48	--	0	--	54	--	115	--	48	--	186	32	492
4	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.90	--	3.40	--	0.00	--	5.68	--	12.56	--	5.11	--	20.11	3.56	51.32
	Cumulative reproducti		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.90	--	4.30	--	4.30	--	9.98	--	22.54	--	27.65	--	47.76	51.32	--
	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	0	0	0	0	14	--	53	--	6	--	68	--	125	--	59	--	148	3	476
	Total		0	0	0	0	0	0	0	19	--	53	--	24	--	70	--	128	--	59	--	154	3	510
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.40	--	5.30	--	0.60	--	6.80	--	12.50	--	5.90	--	15.58	0.33	48.41
	Cumulative reproducti		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.40	--	6.70	--	7.30	--	14.10	--	26.60	--	32.50	--	48.08	48.41	--

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

Appendix 3-3 Result of Reproduction Test

(Measured conc.: 0.27mg/L, Dispersant conc.: 1.96mg/L)

(Measured conc.: 0.27mg/L, Dispersant conc.: 1.96mg/L)																								
No.	Counts	Time																					Total	
		4/25 1d	4/26 2d	4/27 3d	4/28 4d	4/29 5d	4/30 6d	5/1 7d	5/2 8d	5/3 9d	5/4 10d	5/5 11d	5/6 12d	5/7 13d	5/8 14d	5/9 15d	5/10 16d	5/11 17d	5/12 18d	5/13 19d	5/14 20d	5/15 21d		
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	1	--	34	--	0	--	72	--	74	--	81	--	185	114	561
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	4	--	18	--	0	--	0	--	0	--	0	--	3	3	28
		Total	0	0	0	0	0	0	0	5	--	52	--	0	--	72	--	74	--	81	--	188	117	589
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	3.40	--	0.00	--	7.58	--	8.22	--	9.00	--	20.56	12.67	61.52	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	3.50	--	3.50	--	11.08	--	19.30	--	28.30	--	48.86	61.52	--	
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	13	--	15	--	8	--	35	--	98	--	35	--	128	57	389
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	20	--	22	--	20	--	0	--	0	--	4	--	8	5	79
		Total	0	0	0	0	0	0	0	33	--	37	--	28	--	35	--	98	--	39	--	136	62	468
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.30	--	1.50	--	0.80	--	3.50	--	9.80	--	3.89	--	14.22	6.33	41.34	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.30	--	2.80	--	3.60	--	7.10	--	16.90	--	20.79	--	35.01	41.34	--	
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	3	--	5	--	0	--	58	--	130	--	32	--	131	29	388
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	--	6	--	0	--	1	--	0	--	3	--	18	4	32
		Total	0	0	0	0	0	0	0	3	--	11	--	0	--	59	--	130	--	35	--	149	33	420
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	--	0.50	--	0.00	--	5.80	--	13.68	--	3.56	--	14.56	3.22	41.62	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	--	0.80	--	0.80	--	6.60	--	20.28	--	23.84	--	38.40	41.62	--	
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	8	8	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	12	--	21	--	0	--	46	--	99	--	54	--	116	23	371
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	9	--	10	--	0	--	1	--	0	--	3	--	11	6	40
		Total	0	0	0	0	0	0	0	21	--	31	--	0	--	47	--	99	--	57	--	127	29	411
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	--	2.10	--	0.00	--	4.84	--	11.00	--	6.00	--	13.65	2.88	41.66	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.20	--	3.30	--	3.30	--	8.14	--	19.14	--	25.14	--	38.79	41.66	--	

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

(Measured conc.: 0.59mg/L, Dispersant conc.: 3.36mg/L)

(Measured conc.: 0.59mg/L, Dispersant conc.: 3.36mg/L)																								
Counts		Time																						
		4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	5/4	5/5	5/6	5/7	5/8	5/9	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	5/15	Total	
No.		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d		
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	8	8	8	8	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	0	--	20	--	1	--	40	--	81	--	53	--	100	42	337
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	4	--	19	--	10	--	1	--	0	--	0	--	5	0	39
		Total	0	0	0	0	0	0	0	4	--	39	--	11	--	41	--	81	--	53	--	105	42	376
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	2.00	--	0.10	--	4.21	--	9.00	--	6.24	--	12.50	5.25	39.30	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	2.00	--	2.10	--	6.31	--	15.31	--	21.55	--	34.05	39.30	--	
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	8	8	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	7	--	18	--	0	--	32	--	62	--	41	--	144	29	333
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	6	--	20	--	0	--	2	--	0	--	0	--	0	4	32
		Total	0	0	0	0	0	0	0	13	--	38	--	0	--	34	--	62	--	41	--	144	33	365
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.70	--	1.80	--	0.00	--	3.20	--	6.53	--	4.82	--	18.00	3.63	38.67	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.70	--	2.50	--	2.50	--	5.70	--	12.23	--	17.05	--	35.05	38.67	--	
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	8	8	8	8	6	6	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	2	2	4	4	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	1	--	16	--	0	--	43	--	49	--	29	--	139	34	311
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	4	--	19	--	0	--	1	--	0	--	5	--	0	0	29
		Total	0	0	0	0	0	0	0	5	--	35	--	0	--	44	--	49	--	34	--	139	34	340
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	1.68	--	0.00	--	4.78	--	5.76	--	3.63	--	19.86	5.67	41.48	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	1.78	--	1.78	--	6.56	--	12.33	--	15.95	--	35.81	41.48	--	
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	--	
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	--	
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	4	--	4	--	1	--	50	--	71	--	57	--	69	32	288
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	5	--	10	--	4	--	2	--	0	--	5	--	0	12	38
		Total	0	0	0	0	0	0	0	9	--	14	--	5	--	52	--	71	--	62	--	69	44	326
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	--	0.40	--	0.11	--	5.56	--	7.89	--	6.33	--	7.67	3.56	31.91	
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	--	0.80	--	0.91	--	6.46	--	14.35	--	20.68	--	28.35	31.91	--	

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

Appendix 3-5 Result of Reproduction Test

(Measured conc.: 1.06mg/L, Dispersant conc.: 5.68mg/L)

Counts		Time																					Total
		4/25 1d	4/26 2d	4/27 3d	4/28 4d	4/29 5d	4/30 6d	5/1 7d	5/2 8d	5/3 9d	5/4 10d	5/5 11d	5/6 12d	5/7 13d	5/8 14d	5/9 15d	5/10 16d	5/11 17d	5/12 18d	5/13 19d	5/14 20d	5/15 21d	
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	7	7	7	4	4	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3	6	6	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	10	--	4	--	0	--	34	--	42	--	10	--	70	0	170
		Dead	0	0	0	0	0	0	6	--	20	--	0	--	10	--	0	--	7	--	9	0	52
		Total	0	0	0	0	0	0	16	--	24	--	0	--	44	--	42	--	17	--	79	0	222
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	--	0.40	--	0.00	--	4.00	--	6.00	--	1.43	--	12.73	0.00	25.56
2	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	8	8	7	7	6	6	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	4	4	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	3	--	5	--	0	--	12	--	18	--	63	--	109	63	273
		Dead	0	0	0	0	0	0	6	--	6	--	3	--	5	--	0	--	4	--	7	0	31
		Total	0	0	0	0	0	0	9	--	11	--	3	--	17	--	18	--	67	--	116	63	304
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	--	0.50	--	0.00	--	1.41	--	2.25	--	8.40	--	16.77	10.50	40.13
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	7	7	5	5	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	5	5	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	3	--	6	--	0	--	4	--	22	--	8	--	63	2	108
		Dead	0	0	0	0	0	0	10	--	0	--	0	--	0	--	2	--	11	--	0	10	33
		Total	0	0	0	0	0	0	13	--	6	--	0	--	4	--	24	--	19	--	63	12	141
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	--	0.60	--	0.00	--	0.42	--	2.59	--	1.07	--	10.50	0.40	15.88
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	9	9	8	8	8	8	7	7	6	6	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3	4	4	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	12	--	4	--	28	--	81	15	140
		Dead	0	0	0	0	0	0	4	--	0	--	0	--	0	--	0	--	3	--	0	0	7
		Total	0	0	0	0	0	0	4	--	0	--	0	--	12	--	4	--	31	--	81	15	147
	Reproductivity/P		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	1.41	--	0.50	--	3.73	--	12.46	2.50	20.61
		Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	1.41	--	1.91	--	5.65	--	18.11	20.61	--

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

Appendix 3-6 Result of Reproduction Test

(Measured conc.: 2.19mg/L, Dispersant conc.: 9.68mg/L)

Counts		Time																					Total
		4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	5/4	5/5	5/6	5/7	5/8	5/9	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	5/15	
No.		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d	
1	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	7	6	6	6	5	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	4	4	4	5	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	2	--	0	--	0	--	10	--	0	--	3	--	42	3	60
		Dead	0	0	0	0	0	0	5	--	0	--	0	--	8	--	0	--	4	--	10	0	27
	Total	0	0	0	0	0	0	0	7	--	0	--	0	--	18	--	0	--	7	--	52	3	87
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	--	0.00	--	0.00	--	1.18	--	0.00	--	0.46	--	7.00	0.55	9.38
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	--	0.20	--	0.20	--	1.38	--	1.38	--	1.84	--	8.84	9.38	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	7	7	6	6	6	6	6	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	8	--	4	--	0	--	2	--	10	--	1	--	49	0	74
2		Dead	0	0	0	0	0	0	10	--	10	--	0	--	5	--	0	--	5	--	0	0	30
	Total	0	0	0	0	0	0	0	18	--	14	--	0	--	7	--	10	--	6	--	49	0	104
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.80	--	0.40	--	0.00	--	0.29	--	1.43	--	0.17	--	8.17	0.00	11.25
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.80	--	1.20	--	1.20	--	1.49	--	2.91	--	3.08	--	11.25	11.25	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	8	8	7	7	6	6	4	4	3	3	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3	4	4	6	6	7	7	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	4	--	0	--	0	--	11	--	2	--	19	--	57	0	93
		Dead	0	0	0	0	0	0	4	--	0	--	0	--	0	--	5	--	5	--	4	0	18
	Total	0	0	0	0	0	0	0	8	--	0	--	0	--	11	--	7	--	24	--	61	0	111
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	--	0.00	--	0.00	--	1.47	--	0.31	--	3.80	--	16.29	0.00	22.26
3	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	--	0.40	--	0.40	--	1.87	--	2.17	--	5.97	--	22.26	22.26	--
	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	7	7	7	7	7	7	5	5	4	4	--
		Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	3	5	5	6	6	--
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	1	--	0	--	0	--	0	--	27	--	25	--	32	15	100
		Dead	0	0	0	0	0	0	10	--	0	--	0	--	0	--	5	--	9	--	0	8	32
	Total	0	0	0	0	0	0	0	11	--	0	--	0	--	0	--	32	--	34	--	32	23	132
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	3.86	--	4.17	--	7.11	3.75	18.98
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	--	0.10	--	0.10	--	0.10	--	3.96	--	8.12	--	15.23	18.98	--

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

Appendix 3-7 Result of Reproduction Test

(Measured conc.: 3.76mg/L, Dispersant conc.: 16.5mg/L)

(Measured conc.: 3.76mg/L, Dispersant conc.: 16.5mg/L)																						
Counts		Time																				Total
		4/25	4/26	4/27	4/28	4/29	4/30	5/1	5/2	5/3	5/4	5/5	5/6	5/7	5/8	5/9	5/10	5/11	5/12	5/13	5/14	
No.		1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	11d	12d	13d	14d	15d	16d	17d	18d	19d	20d	21d
1	P generation	Live	10	9	9	9	9	8	8	8	6	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Dead	0	1	1	1	1	2	2	2	4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	3	--	1	--	3	--	29	0
		Dead	0	0	0	0	0	0	7	--	0	--	0	--	0	--	2	--	3	--	21	3
		Total	0	0	0	0	0	0	7	--	0	--	0	--	3	--	3	--	6	--	50	3
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	1.00	--	0.33	--	1.00	--	9.67	0.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	1.00	--	1.33	--	2.33	--	12.00	12.00
2	P generation	Live	10	9	9	9	9	9	7	7	6	4	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2
		Dead	0	1	1	1	1	1	3	3	4	6	7	7	8	8	8	8	8	8	8	8
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	6	--	18	--	4	7
		Dead	0	0	0	0	0	0	4	--	7	--	0	--	0	--	3	--	0	--	8	4
		Total	0	0	0	0	0	0	4	--	7	--	0	--	0	--	9	--	18	--	12	11
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	3.00	--	9.00	--	2.00	3.50
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	3.00	--	12.00	--	14.00	17.50
3	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	9	9	8	6	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1
		Dead	0	0	0	0	0	0	1	1	2	4	7	7	9	9	9	9	9	9	9	9
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	6	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0
		Dead	0	0	0	0	0	0	4	--	4	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0
		Total	0	0	0	0	0	0	4	--	10	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.71	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.71	--	0.71	--	0.71	--	0.71	--	0.71	--	0.71	0.71
4	P generation	Live	10	10	10	10	10	10	9	9	7	6	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1
		Dead	0	0	0	0	0	0	1	1	3	4	6	8	9	9	9	9	9	9	9	9
	F1 generation	Live	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	5	--	0	2
		Dead	0	0	0	0	0	0	3	--	0	--	0	--	0	--	0	--	1	--	0	16
		Total	0	0	0	0	0	0	3	--	0	--	0	--	0	--	0	--	6	--	0	18
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	5.00	--	0.00	2.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	5.00	--	5.00	7.00

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

Appendix 3-8 Result of Reproduction Test

(Measured conc.: 6.64mg/L, Dispersant conc.: 28.0mg/L)

No.	Counts	Time																					Total
		4/25 1d	4/26 2d	4/27 3d	4/28 4d	4/29 5d	4/30 6d	5/1 7d	5/2 8d	5/3 9d	5/4 10d	5/5 11d	5/6 12d	5/7 13d	5/8 14d	5/9 15d	5/10 16d	5/11 17d	5/12 18d	5/13 19d	5/14 20d	5/15 21d	
1	P generation Live	10	8	8	8	8	7	7	6	4	4	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--
	P generation Dead	0	2	2	2	2	3	3	4	6	6	6	8	10	10	10	10	10	10	10	10	10	--
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Total	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
2	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	P generation Live	9	8	8	5	5	5	5	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--
	P generation Dead	1	2	2	5	5	5	5	7	7	7	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	--
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Total	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
3	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	P generation Live	8	8	7	7	7	7	7	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	--
	P generation Dead	2	2	3	3	3	3	3	5	7	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	--
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
4	F1 generation Total	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	P generation Live	10	10	9	7	7	6	6	6	5	5	5	3	2	1	1	1	1	1	0	0	0	--
	P generation Dead	0	0	1	3	3	4	4	4	5	5	5	7	8	9	9	9	9	9	10	10	10	--
	F1 generation Live	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Dead	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	F1 generation Total	0	0	0	0	0	0	0	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	--	0	0	0
	Reproductivity/P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00
	Cumulative reproducti	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	--	0.00	0.00	0.00

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