

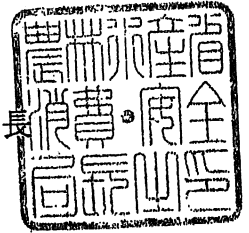


16消安第9260号

平成17年3月16日

独立行政法人農薬検査所理事長 殿

農林水産省 消費・安全局長



「農薬の登録申請に係る試験成績について」の一部改正について

「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の一部を別紙新旧対照表のとおり改正したので、農薬の登録検査の円滑な実施方お願いします。



改正後	現行
<p>(別紙)</p> <p>第1 試験成績の具体的内容について 農薬取締法（昭和23年法律第82号。以下「法」という。）第2条第2項（法第15条の2第6項において準用する場合を含む。）及び第6条の2第1項（法第15条の2第6項において準用する場合を含む。以下同じ。）の規定に基づき農薬の登録を申請する者（以下「申請者」という。）が提出すべき農薬（微生物を有効成分とするものを除く。以下同じ。）の薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績の具体的内容は、次に掲げるものとする。 (1)・(2) (略)</p> <p>(3) 毒性に関する試験成績 ア～ヒ (略) フ <u>環境中予測濃度算定に関する試験成績</u></p> <p>(4) (略)</p> <p>第2 試験成績の作成に係る条件について 第1に掲げる試験成績は、別表1の「試験項目」の欄に掲げる試験について、それぞれ同表の「試験を実施するに当たって必要とされる条件」の欄に掲げる条件に基づき実施し、得られたものでなければならない。なお、それぞれの試験の実施方法は、別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」において定めるものとするが、<u>環境中予測濃度算定に関する試験成績のうち「河川における農薬濃度のモニタリング」については、現に登録を受けている農薬のみ適用するものとする。</u></p> <p>第3～第7 (略)</p> <p>第8 農薬の毒性上の知見の取扱いについて 申請者は、第1の(3)のアからテまで及びネに掲げる農薬の毒性に関する試験により得られた知見について、その登録後原則として3年以内に専門の学会、学術雑誌等に公表するよう努めるものとする。</p> <p>第9 本通知は、<u>平成17年4月1日以降に提出された農薬の薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績について適用する。ただし、別表1に掲げる水産動植物への影響に関する試験成績のうち、(2)、(4)、(6)、(7)、(8)及び(9)の試験に係る「試験施設の基準」について、平成17年3月31日以前に開始された試験は、この限りではない。</u></p>	<p>(別紙)</p> <p>第1 試験成績の具体的内容について 農薬取締法（昭和23年法律第82号。以下「法」という。）第2条第2項（法第15条の2第6項において準用する場合を含む。）及び第6条の2第1項（法第15条の2第6項において準用する場合を含む。以下同じ。）の規定に基づき農薬の登録を申請する者以下「申請者」という。）が提出すべき農薬（微生物を有効成分とするものを除く。以下同じ。）の薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績の具体的内容は、次に掲げるものとする。 (1)・(2) (略)</p> <p>(3) 毒性に関する試験成績 ア～ヒ (略)</p> <p>(4) (略)</p> <p>第2 試験成績の作成に係る条件について 第1に掲げる試験成績は、別表1の「試験項目」の欄に掲げる試験について、それぞれ同表の「試験を実施するに当たって必要とされる条件」の欄に掲げる条件に基づき実施し、得られたものでなければならない。なお、それぞれの試験の実施方法は、別添「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」において定めるものとする。</p> <p>第3～第7 (略)</p> <p>第8 農薬の毒性上の知見の取扱いについて 申請者は、第1の(3)のアからテまでに掲げる農薬の毒性に関する試験により得られた知見について、その登録後原則として3年以内に専門の学会、学術雑誌等に公表するよう努めるものとする。</p> <p>第9 本通知は、<u>平成13年2月1日以降に提出された農薬の薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績について適用する。ただし、現に登録を受けている農薬及び現に登録を受けている農薬と同一の有効成分を含有する農薬についての法第2条第1項若しくは法第15条の2第1項の登録の申請又は法第6条の2第1項の変更の登録の申請に係る試験成績については、この限りではない。</u></p>

(別記様式) (略)
(別表 1)

試験成績	試験項目	試験を実施するに当たって必要とされる条件			
		被験物質の種類	試験例数/供試農作物・供試動物等の種類等	試験施設の基準	実施方法の番号
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
水産動植物への影響に関する試験成績	(1)魚類急性毒性試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例 (原体についてはコイ又はヒメダカを用いて実施)	(略)	2 - 7 - 1 - 1
		原体	任意 (ブルーギル、ニジマス、グッピー、ゼブラダニオ、ファットヘッドミノーのうち任意の種を用いて実施)		
	(2)魚類(ふ化仔魚)急性毒性試験	原体	1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 1 - 2
	(3)ミジンコ類急性遊泳阻害試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例 (原体についてはオオミジンコを用いて実施)	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 2 - 1
(4)ミジンコ類(成体)急性	原体	1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 2 -	

(別記様式) (略)
(別表 1)

試験成績	試験項目	試験を実施するに当たって必要とされる条件			
		被験物質の種類	試験例数/供試農作物・供試動物等の種類等	試験施設の基準	実施方法の番号
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
水産動植物への影響に関する試験成績	(1)魚類急性毒性試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例 (原体についてはコイ又はヒメダカを用いて実施。)	(略)	2 - 7 - 1
	(2)ミジンコ類急性遊泳阻害試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 2 - 1

遊泳阻害試験				2					
(5)ミジンコ類繁殖試験	(略)	(略)	(略)	2 - 7 - 2 - 3	(略)	(略)	(略)	(略)	2 - 7 - 2 - 2
(6)魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物質影響試験	原体	1例 (ヒメダカ又はオオミジンコについて実施)	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 3					
(7)ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験	原体	1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 4					
(8)ヨコエビ急性毒性試験	原体	1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 5					
(9)ユスリカ幼虫急性毒性試験	原体	1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 6					
(10)藻類生長阻害試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例 (原体については緑藻(<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> (旧学名: <i>Selenastrum capricornutum</i>))を用いて実施)	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 7	(4)藻類生長阻害試験	原体及び製剤	被験物質ごとに1例	農業GLP基準に適合した試験施設	2 - 7 - 3
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

水質汚濁性に関する試験成績	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
環境中予測濃度算定に関する試験成績	(1)模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	製剤	2例	公的試験研究施設又はこれに準じた施設	2 - 11 - 1
	(2)実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	製剤	2例	公的試験研究施設又はこれに準じた施設	2 - 11 - 2
	(3)模擬圃場を用いた地表流出試験	製剤	1例	公的試験研究施設又はこれに準じた施設	2 - 11 - 3
	(4)ドリフト試験	製剤	3例	公的試験研究施設又はこれに準じた施設	2 - 11 - 4
	(5)河川における農薬濃度のモニタリング	製剤	2例	公的試験研究施設又はこれに準じた施設	2 - 11 - 5

(別添表1) 略
(別添表2) 略

水質汚濁性に関する試験成績	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(別添表1) 略
(別添表2) 略

(別表2)

第4中「別表2に掲げる場合」とは、下表の左欄のそれぞれの試験成績ごとに同表の右欄に示す場合のことをいう。

試験成績	試験成績の提出を要しない場合
(略)	(略)
水産動植物への影響に関する試験成績	(略)
(1) (略)	(略)
	<u>当該農薬に係る魚類急性毒性試験成績、ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績及び藻類生長阻害試験成績の結果等から、追加の魚類の魚類急性毒性試験の必要性がないと認められる場合</u>
(2) <u>魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績</u>	<u>当該農薬に係る魚類急性毒性試験成績、ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績及び藻類生長阻害試験成績の結果等から、より実環境を考慮した水産動植物への影響に関する試験の必要性がないと認められる場合</u>
(3) <u>ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績</u>	(略)
(4) <u>ミジンコ類（成体）急性遊泳阻害試験成績</u>	<u>「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ</u>
(5) <u>ミジンコ類繁殖試験成績</u>	(略)
(6) <u>魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物質影響試験成績</u>	<u>「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ</u>
(7) <u>ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験成績</u>	<u>「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ</u>

(別表2)

第4中「別表2に掲げる場合」とは、下表の左欄のそれぞれの試験成績ごとに同表の右欄に示す場合のことをいう。

試験成績	試験成績の提出を要しない場合
(略)	(略)
水産動植物への影響に関する試験成績	(略)
(1) (略)	(略)
	(略)
(2) <u>ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績</u>	(略)
	(略)
(3) <u>ミジンコ類繁殖試験成績</u>	(略)

(8) ヨコエビ急性毒性試験成績	「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ
(9) ユスリカ幼虫急性毒性試験成績	「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ
(10) 藻類生長阻害試験成績	「魚類急性毒性試験成績」の場合に同じ。
(略)	(略)
水質汚濁性に関する試験成績	(略) ③ 模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験の結果から、当該試験が目的とする結果が得られると認められる場合
環境中予測濃度算定に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合又は下記左欄に掲げる(1)～(5)の試験成績について、それぞれ右欄に掲げる場合 ① 当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬の成分物質等がその使用に係る農地に混入し、又は河川等の水系に流出するおそれがないと認められる場合 ② 当該農薬の成分物質等の種類等からみて、その毒性がきわめて弱いこと等の理由により、安全と認められる場合
(1) 模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 水田において使用されない場合 ② 本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用し

(4) 藻類生長阻害試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 原体での実施に関し、当該農薬の成分物質等の種類等からみて、その毒性がきわめて弱いこと等の理由により、有害でないとして認められる場合 ② 製剤での実施に関し、当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬の成分物質等が河川等の水系に流出するおそれがないと認められる場合
(略)	(略)
水質汚濁性に関する試験成績	(略)

	<p>ない場合</p> <p>③ <u>水質汚濁性に関する試験の結果から、当該試験が目的とする結果が得られると認められる場合</u></p>
(2)実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験成績	<p>次に掲げる区分のいずれかに該当する場合</p> <p>① <u>水田において使用されない場合</u></p> <p>② <u>本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用しない場合</u></p>
(3)模擬圃場を用いた地表流出試験成績	<p>次に掲げる区分のいずれかに該当する場合</p> <p>① <u>水田においてのみ使用される場合</u></p> <p>② <u>本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用しない場合</u></p>
(4)ドリフト試験成績	<p>次に掲げる区分のいずれかに該当する場合</p> <p>① <u>当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬がドリフトし、河川等の水系に混入するおそれがないと認められる場合</u></p> <p>② <u>本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用しない場合</u></p>
(5)河川における農薬濃度のモニタリング成績	<p><u>環境中予測濃度の代替として本試験を用いない場合</u></p>

(別添)「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」

1及び2 (略)
3. 毒性に関する試験

(略)

○水産動植物への影響に関する試験

- ・魚類急性毒性試験 2-7-1-1
- ・魚類(ふ化仔魚)急性毒性試験 2-7-1-2

(別添)「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針」

1及び2 (略)
3. 毒性に関する試験

(略)

○水産動植物への影響に関する試験

- ・魚類急性毒性試験 2-7-1

・ミジンコ類急性遊泳阻害試験	2-7-2-1
・ミジンコ類(成体)急性遊泳阻害試験	2-7-2-2
・ミジンコ類繁殖試験	2-7-2-3
・魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物質影響試験	2-7-3
・ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験	2-7-4
・ヨコエビ急性毒性試験	2-7-5
・ユスリカ幼虫急性毒性試験	2-7-6
・藻類生長阻害試験	2-7-7
○水質汚濁性に関する試験	
・水質汚濁性試験	2-10-1
○環境中予測濃度算定に関する試験	
・模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	2-11-1
・実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	2-11-2
・模擬圃場を用いた地表流出試験	2-11-3
・ドリフト試験	2-11-4
・河川における農薬濃度のモニタリング	2-11-5

(略)

水産動植物への影響に関する試験(2-7-1~7)

魚類急性毒性試験(2-7-1-1)

(略)

魚類(ふ化仔魚)急性毒性試験(2-7-1-2)

1. 目的

魚類急性毒性試験に準ずる。

2. 定義

魚類急性毒性試験に準ずる。

3. 供試生物

(1) 生物種

① 供試魚はヒメダカ(*Oryzias latipes*)のふ化仔魚(24時間以内齢)を用いる。

② 基準物質でのLC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 順化

① 成熟した雌雄の親メダカを産卵に適した条件下(温度は25℃程度で、照明は1日

・ミジンコ類急性遊泳阻害試験	2-7-2-1
・ミジンコ類繁殖試験	2-7-2-2
・藻類生長阻害試験	2-7-3
○水質汚濁性に関する試験	
・水質汚濁性試験	2-10-1

(略)

水産動植物への影響に関する試験(2-7-1~3)

魚類急性毒性試験(2-7-1)

(略)

当り 13 時間以上の長日周期とし、餌を十分に与える)で飼育する。外部から入手した場合には、魚類急性毒性試験と同様の順化を行う。継代飼育されているメダカを用いる場合には、特段の順化期間は不要とする。

- ② 産卵された受精卵を採集し、付着糸を除去した後、清水（試験に用いる希釈水と同じ水質の水）中でふ化させる。
- ③ ふ化後、水中を遊泳している仔魚をガラス管等を用いて採集する。

4. 暴露方法

魚類急性毒性試験に準ずる。

5. 暴露期間

魚類急性毒性試験に準ずる。

6. 供試魚数及び試験区の設定

魚類急性毒性試験に準ずる。

7. 試験液の調製

魚類急性毒性試験に準ずる。

8. 環境条件

魚類急性毒性試験に準ずる。

9. 観察及び測定

魚類急性毒性試験に準ずる。

10. 結果の処理法

魚類急性毒性試験に準ずる。

11. 報告事項

魚類急性毒性試験に準ずる。

12. 試験の妥当性

魚類急性毒性試験に準ずる。

ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)

(略)

ミジンコ類(成体)急性遊泳阻害試験(2-7-2-2)

ミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)

(略)

1. 目的及び

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

2. 定義

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

3. 供試生物

(1) 生物種

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

(2) 生育段階

給餌して飼育した生後7日齢のミジンコを用いる。

(3) 親ミジンコの飼育

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

4. 暴露方法

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

5. 暴露期間

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

6. 供試生物数及び試験区の設定

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

7. 試験液の調製

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

8. 環境条件

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

9. 観察及び測定

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

10. 結果の処理法

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

11. 報告事項

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

12. 試験の妥当性

ミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

ミジンコ類繁殖試験(2-7-2-3)

(略)

魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物質影響試験(2-7-3)

ミジンコ類繁殖試験(2-7-2-2)

(略)

1. 目的

本試験は、魚類又は甲殻類に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取扱方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡：軽い刺激に対して試験生物の反応がないことをいう。
- (2) 遊泳阻害：試験容器を軽く振とうした後、15秒間全く水中を遊泳しない場合、遊泳阻害されたとみなす。
- (3) LC₅₀ (Median Lethal Concentration：半数致死濃度)：暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (4) EC₅₀ (Median Effect Concentration：半数遊泳阻害濃度)：暴露期間中に供試生物の50%を遊泳阻害する被験物質の濃度をいう。
- (5) L(E)C₅₀：LC₅₀又はEC₅₀であることを示す。
- (6) NOEC (No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度)：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (7) 被験物質：試験に用いる農薬の原体をいう。
- (8) 助剤：被験物質を溶解するために用いられる溶剤をいう。
- (9) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (10) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (11) 溶存有機炭素(DOC)：流水あるいは静水生態系で生じる種々の有機分子類をいい、この試験においては不均質なフミン物質群に限定することとする。
- (12) 全有機炭素(TOC)：試験用水中に存在する微粒子、溶存及び懸濁した全ての有機炭素分子類の総和をいう。
- (13) フミン物質：フミン酸類(HAs)、フルボ酸類、フミン画分及びそれらの各種塩類であって不均質な条件で発生する有機物質の化学的分別から生じるものをいう。なお、この試験においてはフミン酸(HA)ナトリウム塩をDOC源として用いることを妨げない。

3. 供試生物

(1) 選択

試験生物種はヒメダカ(*Oryzias latipes*)又はオオミジンコ(*Daphnia magna*)を用いる。

(2) 生物の齢と状態

魚類では稚魚を用いる。試験に用いる魚は同一齢で、その齢に対して正常な大きさと外観を備えた個体とする。最も大きな魚の全長は最短のもの2倍を超えてはいけない。

ミジンコでは生後 24 時間以内齢の個体を用いる。

供試生物は、経歴（入手源、飼育方法等）の明らかなものを用いる。

(3) 順化又は親ミジンコの飼育

魚類急性毒性試験又はミジンコ類急性遊泳阻害試験に準ずる。

4. 暴露方法

止水式又は半止水式により試験を行う。

5. 暴露期間

メダカでは 9 6 時間、ミジンコでは 4 8 時間とする。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 予備試験

① HA 存在下での試験物質の毒性が分かっていない場合、予備試験を行って本試験で用いる試験濃度範囲を決定する。

② 最初に、約 5 尾の魚または約 10 頭のミジンコを用いた予備試験を HA 濃度 10 mg/L で行う。10 mg/L の HA 濃度で、粘性、コロイド状の複合体の形成が生じる場合、HA 濃度は 10 mg/L 以下の適切な濃度に下げてもよい。

③ 10 mg/L の HA 濃度で行った予備試験において、HA 非存在下で得られた急性毒性値よりも毒性が緩和する可能性がある場合には本試験を行う。

(2) 本試験

① 供試生物数

試験区ごとに、少なくともメダカでは 7 尾、ミジンコでは 20 頭を供試し、必要に応じて観察が可能な個体数に分割する。この場合、各試験容器の試験生物数は、同じでなければならない。

② 試験区の設定

ア 試験濃度区の設定

a. HA 濃度は、2.5、5 及び 10mg/L とし、各 HA 濃度ごとに等比級数的に少なくとも 5 試験濃度区を設定する。また、HA を含まない試験区も同様に設定する。

b. 試験濃度及び濃度公比は予備試験の結果から定める。

c. 濃度範囲には、供試魚（又は供試ミジンコ）全てを死亡（又は遊泳阻害）させる濃度と全く死亡（又は遊泳阻害）させない濃度が少なくともそれぞれ 1 濃度、一部を死亡（又は遊泳阻害）させる濃度については、少なくとも 2 濃度含まれることが望ましい。

イ 対照区の設定

a. 全ての試験は被験物質が加えられていないことを除いて、同じ希釈水、条件、手法及び試験で用いた同一群の試験生物からなる対照区を設ける。

b. また、全ての試験は HA のみを含む希釈水からなる陰性対照区を設ける。

7. 試験液の調製

被験物質の原液調製には希釈水のみを用いるようにする。有機助剤は原則としてこの試験に用いない。ただし、難水溶性農薬に関して有機助剤を使用しなければ試験の成立が困難な場合には、必要最小限の量を使用することができる。

8. 環境条件

(1) 試験材料

① 構成材料

原液、試験液、又は希釈水に接触する構成材料と装置は、試験結果を変えるほどの量で水溶液に浸出又は溶解する物質を含まないようにする。原液や試験液に接触する材料や装置は被験物質の吸着を最小限にするように選択する。また、その材質としてできるだけ、ガラス、ステンレス鋼及びフッ素系プラスチックを用いるようにする。

② 試験系の洗浄

試験水槽は各試験前に十分洗浄する。

③ 希釈水

ア 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、魚が良好に生存又は成長できる、又は、ミジンコが良好に生存し、繁殖できる水質であることが確認されているものを用いる。

イ 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。

ウ 使用前には十分に曝気するとともに、温度調節を行う。

(2) 収容密度

① 魚類

試験水槽に入れる魚の数は試験結果に影響するほど多くしてはならない。収容量はいかなる時でも試験容器の試験液量当りの魚重量が 0.5g/L を超えてはならない。これらの収容密度の目安は (3) の溶存酸素濃度を維持するのに十分なものとする。

② ミジンコ類

ミジンコ 1 頭当たり少なくとも 10ml 以上とする。

(3) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の 60% 以上を保つようにする。

(4) 水温

設定温度は、メダカでは 23℃、ミジンコでは 20℃とする。試験期間中の変動範囲はメダカでは ±2℃、ミジンコでは ±1℃より大きくならないようにする。

(5) 照明

12～16時間明期とする。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後少なくとも 24 時間ごとに死亡あるいは遊泳阻害及びその他の異常を観察し、記録する。死亡魚は速やかに取り除く。

(2) 被験物質濃度測定

原則として、試験液の被験物質濃度を測定する必要はない。ただし、試験液の調製時

に、原液の被験物質濃度測定を必要に応じて行う。

(3) 環境条件の測定

① 希釈水及び試験液

ア 試験に先立って希釈水の水質を確認する。

イ 各試験区における試験液の水温、溶存酸素及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

② 溶存有機炭素

この試験において選択する天然由来のDOCはHAとする。

③ TOC測定のための試料採取

TOCを分析するための試料は水槽の上部、底部及び側部の間の中央部で各試験区及び対照区の水槽から採取する。これらの試料には表層スカム(表層浮きかす又は表層薄膜)あるいは底部や側部から除去された物質を含めてはならない。

④ TOCの測定

止水式試験に対し、DOCは試験の開始時(被験物質及び試験生物を入れる前)に各HA濃度ごとに(TOCとして)測定する。

半止水式試験では、換水時にも、予め調製した試験液(被験物質を入れる前)について同様にTOCを測定する。

10. 結果の処理

(1) 100%活性成分(AI)に基づく被験物質の設定濃度を全ての $L(E)C_{50}$ の計算と用量反応曲線のプロットに用いる。

(2) 各HA濃度ごとに、試験期間中に得られた死亡率又は遊泳阻害率の結果から、一般的に用いられる手法を用いて用量反応曲線と $L(E)C_{50}$ を求める。

(3) 各HA濃度ごとに測定したTOCの平均濃度と $L(E)C_{50}$ との関係を回帰分析し、TOC濃度1.5 mg/Lにおける $L(E)C_{50}$ を算出する。

(4) TOC濃度1.5 mg/Lの時の $L(E)C_{50}$ 値を、HA濃度0mg/Lのときの $L(E)C_{50}$ で除し、TOC濃度1.5 mg/Lにおける毒性緩和係数を求める。

11. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 供試生物について

種名、経歴(入手源、飼育方法等)、順化等

(3) 試験方法について

HA(化学的特徴及び供給源)、TOCの化学的分析方法(検証方法と試薬ブランクを含む)、暴露条件、環境条件(DO、pH、温度及び照明の方法等)、観察、測定項目等

なお、試験に有機助剤を用いた場合は次の事項、①有機溶剤を用いる必要性に関する考察、②有機溶剤の種類及び使用量の妥当性に関する考察、③有機溶剤が試験結果に及ぼした影響に関する考察及び④被験物質の類似物質における試験結果の概要等、当該試験結果の考察の参考となる情報

(4) 試験結果について

- ① 各HA濃度及びTOC1.5mg/Lの時のL(E)C₅₀並びにその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)、毒性緩和係数
- ② L(E)C₅₀の算定方法
- ③ TOCとL(E)C₅₀との回帰分析結果と用いた手法
- ④ NOEC (NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記す。)
- ⑤ 各観察時間における各試験区での累積死亡率又は累積遊泳阻害率
- ⑥ 暴露終了時における濃度-死亡率(又は遊泳阻害率)曲線のグラフ
- ⑦ 観察された影響
- ⑧ TOC測定結果
- ⑨ HA濃度10 mg/Lで行った予備試験の結果
- ⑩ 環境条件の測定結果(水質、溶存酸素濃度、pH等)
- ⑪ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の死亡率(又は遊泳阻害率)が10%を超えてはならない。
ただし、10尾より少ない数を用いた場合は死亡が1尾を超えてはならない。
- (2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。
- (3) 暴露開始時において対照区のみジンコが水面に浮いていてはならない。

ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験(2-7-4)

1. 目的

本試験は、甲殻類(エビ類)に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農業使用時における安全な取り扱い方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡: 軽い刺激に対する試験生物の反応がないことをいう。
- (2) LC₅₀ (Median Lethal Concentration: 半数致死濃度): 暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration: 最大無影響濃度): 対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質: 試験に用いる農薬の原体をいう。
- (5) 基準物質: 試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質: 試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験: 暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験: 一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験: 連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① 淡水産のエビを用いる。ミナミヌマエビ (*Neocaridina denticulata*) 又はヌカエビ (*Paratya compressa improvisa*) を用いることが望ましい。
- ② 供試生物は、経歴 (入手源、飼育方法等) の明らかなものを用いる。
- ③ 基準物質でのLC₅₀を確認することが望ましい。

(2) 生育段階

成体と形態的に異なる段階のもので未抱卵の個体を用いる。

(3) 順化

- ① 供試生物は、試験に供する12日前までには入手し、維持しなければならない。
- ② 供試生物は、試験に供する前の少なくとも9日間は、試験時における環境条件 (水質・温度等) と同様の条件下で順化しなければならない。
- ③ 餌は供試生物に適したものを少なくとも週5日、適量与え、供試前24時間は給餌を行ってはならない。
- ④ 以下に掲げる基準により順化を行い、死亡率を記録する。
 - ア 順化開始後2日間の安定期間に続く7日間の死亡率が群の個体数の10%を超える場合には、当該群は廃棄する。
 - イ 群の死亡率が5~10%の場合、さらに7日間順化を継続し、群の死亡率が5%以上の場合には、当該群を廃棄するか、死亡率が5%未満になるまで順化を継続する。
 - ウ 群の死亡率が5%未満の場合において当該群の供試生物を試験に供するものとする。
- ⑤ 継代飼育されているエビを用いる場合には、特段の順化期間は不要とする。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

96時間とする。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 供試生物数

試験区ごとに、少なくとも10匹以上使用する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

- ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。
- イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。
- ウ 濃度範囲には、供試生物のすべてが死亡する濃度と全く死亡しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部が死亡する濃度については、少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

- ア 対照として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。
- イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設

ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

- (1) 易水溶性物質の場合には、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。
- (2) 難水溶性物質の場合には、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶媒、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は供試生物に対して毒性が弱く、使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いる。
- (3) 助剤の試験液中濃度は、100mg/L (又は0.1ml) を超えないことが望ましい。

8. 環境条件

(1) 収容密度

供試生物の大きさ及び数に応じた試験液量が必要である。収容密度は、溶存酸素濃度が飽和濃度の60%を下回らないように設定する。

(2) 水温

20～24℃の範囲で22℃を標準とする。試験期間中の変動範囲は設定温度の±1℃以内とすることが望ましい。

(3) 照明

12～16時間明期が望ましい。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

- ① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、供試生物が良好に生存又は成育ができる水質であることが確認されているものを用いる。
- ② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。
- ③ 使用前には十分に暴気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上を保つようにする。必要に応じてゆるやかな暴気を行う。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後、少なくとも24、48、72及び96時間目に供試生物の一般状態を観察し、記録する。死亡個体は速やかに試験液系から取り除く。また、観察時に脱皮が確認された場合は記録するとともに殻を試験液系から取り除く。

(2) 被験物質濃度の測定

- ① 各試験濃度区における被験物質濃度は少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。
- ② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

- ① 試験に先立って、希釈水の水質を確認する。
- ② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

- (1) 各濃度における死亡率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてLC₅₀を算出する。
- (2) 原則として測定有効成分濃度の平均値に基づきLC₅₀を算出するが、測定値の変動が設定濃度の±20%以内の場合には、設定濃度に基づきLC₅₀を算出してもよい。

11. 報告事項

- (1) 試験物質について
- (2) 供試生物について
種名、供給源、飼育方法、順化条件、供試数、全長、体重、基準物質のLC₅₀等
- (3) 試験方法について
暴露条件、環境条件、観察及び測定項目、被験物質濃度測定等
- (4) 試験結果について
 - ① 有効成分濃度に基づくLC₅₀及びその信頼限界（可能であれば各観察時間のもの）
 - ② LC₅₀の算出方法
 - ③ NOEC（NOECが得られなかった場合は、その理由を記すこと。）
 - ④ 各観察時間における各試験区での累積死亡率
 - ⑤ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ
 - ⑥ 供試生物に観察された異常及び反応
 - ⑦ 被験物質濃度の測定値
 - ⑧ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
 - ⑨ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼす可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の死亡率が10%を超えてはならない。
- (2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

ヨコエビ急性毒性試験(2-7-5)

1. 目的

本試験は、甲殻類（端脚目）に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取り扱い方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡：軽い刺激に対して試験生物の反応がないことをいう。
- (2) LC_{50} (Median Lethal Concentration：半数致死濃度)：暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC (No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度)：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質：試験に用いる農薬の原体をいう。
- (5) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験：連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物

(1) 生物種

- ① 淡水産の端脚目を用いる。*Gammarus fasciatus*, *G. pseudolimnaeus*, *G. lacustris* 及び *Hyaella azteca* が望ましいが、他の端脚目を用いることができる。
- ② 供試生物は、経歴（入手源、飼育方法等）の明らかなものを用いる。
- ③ ヨコエビは実験室で繁殖したり、野外から採集したものを試験に使用することができる。
- ④ 試験に用いるヨコエビは同様の年齢及び大きさで構成し、同一の供給源や繁殖源からのものとする。
- ⑤ 基準物質での LC_{50} を確認することが望ましい。

(2) 生育段階

成体と形態的に異なる段階のもので未抱卵の個体を用いる。

(3) 順化

- ① 供試生物は、試験に供する12日前までに入手し、維持しなければならない。
- ② 供試生物は、試験に供する前の少なくとも9日間は、試験時における環境条件（水質・温度等）と同様の条件下で順化しなければならない。
- ③ 餌は供試生物に適したものを、適量与える。
- ④ 以下に掲げる基準により順化を行い、死亡率を記録する。
ア 順化開始後2日間の安定期間に続く7日間の死亡率が群の個体数の10%を超える場合には、当該群は廃棄する。
イ 群の死亡率が5～10%の場合、さらに7日間順化を継続し、群の死亡率が5%以上の場合には、当該群を廃棄するか、死亡率が5%未満になるまで順化を継続する。
ウ 群の死亡率が5%未満の場合において当該群の供試生物を試験に供するものとする。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

96時間とする。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 供試生物数

試験区ごとに、少なくとも20匹以上使用する。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。

イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。

ウ 濃度範囲には、供試生物のすべてが死亡する濃度と全く死亡しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部が死亡する濃度については、少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

ア 対照として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 易水溶性物質の場合には、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。

(2) 難水溶性物質の場合には、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶媒、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は供試生物に対して毒性が弱く、使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いる。

(3) 助剤の試験液中濃度は、100mg/L(又は0.1ml)を超えないことが望ましい。

8. 環境条件

(1) 収容密度

供試生物の大きさに応じた試験液量が必要である。

止水式による試験では、供試生物10匹当たり1リットル以上の試験液量が必要であるが、流水式試験では、さらに高い収容密度で試験を行うことができる。

(2) 水温

18～23℃を標準とするが、供試生物種に応じてその生育適温とすることができる。試験期間中の変動範囲は設定温度の±1℃以内とすることが望ましい。

(3) 照明

16時間明期が望ましい。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

- ① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、供試生物が良好に生存又は成育ができる水質であることが確認されているものを用いる。
- ② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。
- ③ 使用前には十分に暴気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上を保つようにする。必要に応じてゆるやかな暴気を行う。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後、少なくとも24、48、72及び96時間目に供試生物の一般状態を観察し、記録する。死亡個体は速やかに試験液から取り除く。また、観察時に脱皮が確認された場合は記録するとともに殻を試験液から取り除く。

(2) 被験物質濃度の測定

- ① 各試験濃度区における被験物質濃度は少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。
- ② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

- ① 試験に先立って、希釈水の水質を確認する。
- ② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時、換水前及び換水後に測定する。

10. 結果の処理法

- (1) 各濃度における死亡率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてLC₅₀を算出する。
- (2) 原則として測定有効成分濃度の平均値に基づきLC₅₀を算出するが、測定値の変動が設定濃度の±20%以内の場合には、設定濃度に基づきLC₅₀を算出してもよい。

11. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 供試生物について

種名、供給源、飼育方法、順化条件、供試数、全長、体重、基準物質のLC₅₀等

(3) 試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目、被験物質濃度測定等

(4) 試験結果について

- ① 有効成分濃度に基づくLC₅₀及びその信頼限界（可能であれば各観察時間のもの）
- ② LC₅₀の算出方法
- ③ NOEC（NOECが得られなかった場合は、その理由を記すこと。）
- ④ 各観察時間における各試験区での累積死亡率
- ⑤ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ
- ⑥ 供試生物に観察された異常及び反応
- ⑦ 被験物質濃度の測定値
- ⑧ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
- ⑨ その他の事項
試験液の状態、試験結果に影響を及ぼす可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

- (1) 暴露終了時において対照区の死亡率が10%を超えてはならない。
- (2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

ユスリカ幼虫急性毒性試験(2-7-6)

1. 目的

本試験は、ユスリカ幼虫に対する被験物質の短期的影響に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時における安全な取り扱い方法を確立することを目的とする。

2. 定義

- (1) 死亡：軽い刺激に対して試験生物の反応がないこと又は付属肢等をわずかに動かす程度の活動低下をいう。
- (2) LC₅₀（Median Lethal Concentration：半数致死濃度）：暴露期間中に供試生物の50%が死亡する被験物質の濃度をいう。
- (3) NOEC（No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度）：対照区と比べて、何ら影響が認められない試験最高濃度をいう。
- (4) 被験物質：試験に用いる農薬の原体をいう。
- (5) 基準物質：試験条件の再現性等を確認するために用いる物質をいう。
- (6) 試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
- (7) 止水式試験：暴露期間中試験液を交換しない方式で行う試験をいう。
- (8) 半止水式試験：一定期間ごと試験液を容器ごとに交換する方式で行う試験をいう。
- (9) 流水式試験：連続的に試験液を供給する方式で行う試験をいう。

3. 供試生物について

(1) 生物種

- ① セスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*, *C. tentans* 及び *C. riparius*) が推奨されるが、他のユスリカ属 (*Chironomus sp.*) の淡水産の種を用いても良い。

② 供試生物は、経歴(入手源、飼育方法等)の明らかなものを用いる。

③ 基準物質でのLC₅₀を確認するのが望ましい。

(2) 生育段階

試験には2～3虫齢の幼生を用いる。

(3) 順化

ユスリカ幼虫は、少なくとも試験開始前24時間以上は試験と同じ環境条件(水温、照明)で順化を行う。この間に10%以上の死亡が見られた場合は試験には用いない。

4. 暴露方法

止水式、半止水式又は流水式により試験を行う。

5. 暴露期間

48時間とする。

6. 供試生物数及び試験区の設定

(1) 供試生物数

試験区ごとに少なくとも10個体の幼虫を用いる。必要に応じて容器に分割しても良い。

(2) 試験区の設定

① 試験濃度区の設定

ア 等比級数的に少なくとも5濃度区を設ける。

イ 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。

ウ 濃度範囲には、供試生物のすべてを死亡する濃度と全く死亡しない濃度が少なくともそれぞれ1濃度、一部を死亡させる濃度が少なくとも2濃度含まれることが望ましい。

② 対照区の設定

ア 被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

イ 試験原液の調製に助剤を使用した場合は、使用最高濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

7. 試験液の調製について

試験液の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験液及び試験原液は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

(1) 易水溶性原体の場合は、被験物質を希釈水に溶解して試験液又は試験原液を調製する。

(2) 難水溶性原体の場合は、被験物質を機械的な手法により分散して試験液又は試験原液を調製するか、有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いて試験原液を調製する。助剤は、供試生物に対して毒性が弱く、使用濃度で供試生物に対して有害性が認められず、かつ、被験物質の性質を変えないものを用いること。

(3) 助剤の試験液中濃度は、100 mg/l (又は0.1 ml/l)を超えないことが望ましい。

8. 環境条件

(1) 試験液量

幼虫1個体当たり5ml以上とする。

(2) 水温

設定温度はセスジユスリカでは20～25℃とし、試験期間中の変動範囲は±1℃以内とする。他の生物種ではその生物種への最適温度で行っても良い。

(3) 照明

12～16時間明期が望ましい。

(4) 給餌

暴露期間中は給餌を行わない。

(5) 希釈水

① 試験に用いる水は、有害物質等試験の妨げになるものを含まず、飼育に用いた水と同じ供給源のもので、ユスリカが良好に生存できる水質であることが確認されているものを用いる。

② 脱塩素水道水、天然水又は人工調製水を用いる。

③ 使用前には十分に暴気するとともに、温度調節を行う。

(6) 溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して飽和濃度の60%以上に保つようにする。

(7) pH

試験液のpH調整は行わない。

9. 観察及び測定

(1) 供試生物の一般状態の観察

暴露開始後24時間目及び48時間目における死亡の有無について観察し記録する。また、対照区と比較して有意な活動度の低下、体色変化及び体の萎縮等の症状が観察された場合には記録するのが望ましい。

(2) 被験物質濃度の測定

① 各試験濃度区における被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時、暴露終了時又は換水前に測定する。

② 被験物質濃度は、暴露期間中、設定濃度の80%以上であることが望ましい。

(3) 環境条件の測定

① 試験に先立って希釈水の水質を確認する。

② 各試験区における試験液の水温、溶存酸素濃度及びpHを少なくとも暴露開始時、暴露終了時又は換水前に測定する。

10. 結果の処理法

(1) 各濃度における死亡率の結果から、一般的に用いられる手法を用いてLC₅₀を算定する。

(2) 被験物質濃度の測定値が設定濃度から±20%以上変動している場合は、測定濃度の平均値に基づきLC₅₀を算定する。

11. 報告事項

(1) 試験物質について

(2) 供試生物について

種名、経歴(入手源、飼育方法等)、基準物質のLC₅₀等

(3) 試験方法について

暴露条件、環境条件、観察、測定項目等

(4) 試験結果について

① LC₅₀及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② LC₅₀の算定方法

③ NOEC(NOECの値が求められなかった場合は、その理由を記す。)

④ 各観察時間における各試験区での累積死亡率

⑤ 暴露終了時における濃度-死亡率曲線のグラフ

⑥ 観察された影響

⑦ 被験物質濃度の測定値

⑧ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑨ その他の事項

試験液の状態、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項等

12. 試験の妥当性

(1) 暴露終了時において対照区の累積死亡率が10%を超えてはならない。

(2) 溶存酸素濃度は暴露期間中、飽和濃度の60%以上でなければならない。

藻類生長阻害試験(2-7-7)

1及び2(略)

3. 供試生物

(1) 生物種

① *Pseudokirchneriella subcapitata* (旧学名: *Selenastrum capricornutum*) を用いることが望ましい。ただし、培養及び試験に都合がよく、生長が速いものであれば、下記に掲げる種その他の種及び株を用いてもよい。

ア *Pseudokirchneriella subcapitata* (ATCC 22662株)

イ *Scenedesmus subspicatus* (86.81 SAG株)

ウ *Chlorella vulgaris* (CCAP 211/11b株)

② 基準物質でのEC₅₀を確認することが望ましい。

(略)

4~13(略)

環境中予測濃度算定に関する試験(2-11-1~5)

模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験(2-11-1)

藻類生長阻害試験(2-7-3)

1及び2(略)

3. 供試生物

(1) 生物種

① *Selenastrum capricornutum*を用いることが望ましい。ただし、培養及び試験に都合がよく、生長が速いものであれば、下記に掲げる種その他の種及び株を用いてもよい。

ア *Selenastrum capricornutum* (ATCC 22662株)

イ *Scenedesmus subspicatus* (86.81 SAG株)

ウ *Chlorella vulgaris* (CCAP 211/11b株)

② 基準物質でのEC₅₀を確認することが望ましい。

(略)

4~13(略)

1. 目的

本試験は、環境中予測濃度を算出するため、模擬水田を用いて、水田に使用された農薬の水田水中での消長に関する科学的知見を得ることを目的とする。

2. 試験区（試験水田）の設定

水質汚濁性試験に準ずる。

3. 被験物質の取り扱い及び施用

水質汚濁性試験に準ずる。

4. 試料（水田水）の採取

(1) 採取方法

水質汚濁性試験に準ずる。

(2) 採取時期及び回数

① 採取は、被験物質の施用直前、直後（施用後1～3時間）及び評価期間（14日間）の間できるだけ短い日数間隔で行う。

② 各採取日における採取は同一時間帯に行う。

③ 被験物質の登録申請に係る使用方法に止水期間が設けられている場合には、止水期間終了日にも採取する。

5. 試料の取り扱い

水質汚濁性試験に準ずる。

6. 試料の分析

(1) 分析対象物質

水産動植物に対する毒性試験において評価の対象となる物質とする。

(2) 分析方法

水質汚濁性試験に準ずる。

7. 報告事項

水質汚濁性試験に準ずる。

実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験(2-11-2)

1. 目的

本試験は、環境中予測濃度を算出するため、実水田を用いて、水田に使用された農薬の水田水中での消長に関する科学的知見を得ることを目的とする。

2. 試験区（試験水田）の設定

(1) 試験水田

十分な面積（5～30a）を有する漏水が少ない管理水田において実施する。

(2) 試験水田の管理

- ① 試験水田の用水は、被験物質の分解、分析等に著しい影響を及ぼすおそれのある物質を含まないものとする。
- ② 試験水田で栽培する農作物は、登録申請に係る適用農作物とし、原則として慣行の方法により栽培する。
- ③ 試験水田では、農薬処理後においては止水条件とし、平均水深を一定（5cm程度）に保つよう注水管理に配慮する。
- ④ 供試農薬以外の農薬を使用する場合には分析妨害にならないことが明らかな農薬とする。

3. 被験物質の取扱い及び施用

- (1) 被験物質は、調製後、速やかに施用する。
- (2) 被験物質は、適切な管理条件下で保管するものとし、開封後、長期間保管する場合には、保管中の安定性を確認する。
- (3) 被験物質は、登録申請に係る剤型、使用方法（時期、量等）等に基づき、通常用いられる器具を用いて、適切に1回施用する。ただし、試験水田において当該器具を使用することが困難な場合には、他の同等な方法で代替することができるものとする。
- (4) 雨天時又は被験物質の施用後に降雨が予想される場合には、施用は行わない。

4. 試料（水田水）の採取

(1) 採取方法

- ① 粗大有機物や土壌粒子が極力混入しないようステンレス又はガラス製のひしゃく若しくは注射器等を用いて必要量をガラス瓶等に採取し、十分に混和する。
- ② 採取は、採取位置の偏りがないようにできるだけ多くの地点（1回の採取において10aにつき10か所以上）を選び、概ね等量ずつ採取し、よく混合する。

(2) 採取時期及び回数

- ① 採取は、被験物質の施用直前、直後（施用後3～6時間）及び14日後までの間でできるだけ短い日数間隔で行う。
- ② 各採取日における採取は同一時間帯に行う。
- ③ 被験物質の登録申請に係る使用方法に止水期間が設けられている場合には、止水期間終了日にも採取する。

5. 試料の取扱い

模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

6. 試料の分析

模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

7. その他の調査項目

試験期間中の気象（天候、気温、降水量、可能な蒸発量）、水温、pH及び水深を調査する。また、試験水田からのオーバーフローの有無等についても観察する。

8. 報告事項

模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

模擬圃場を用いた地表流出試験(2-11-3)

1. 目的

本試験は、環境中予測濃度を算定するため、模擬圃場を用いて水田以外に使用された農薬の地表流出に関する科学的知見を得ることを目的とする。

2. 試験装置等

本試験には、人工降雨装置、土壌を充填するコンテナ及び表流水採取装置を用い、それぞれ以下の要件を満たすものを使用する。

(1) 人工降雨装置

土壌表面からの高さが2m以上確保でき、かつ小規模圃場全体に均一に任意の降水量の人工降雨が正確に行える装置を用いる。

(2) コンテナ

面積0.7㎡以上、正方形又は長方形、土壌充填後の土壌厚が20cm確保できる大型容器とし、浸透水を土壌底面から排水できる構造を有するものを用いる。容器は人工降雨装置下で傾斜角5度で設置する。

(3) 表流水採取装置

土壌を充填した小規模圃場の一辺に設置する表流水採取装置は、人工降水の直接混入を防止し、表流水を確実に捕集できる構造であること。

3. 試験区（模擬圃場）

(1) 供試土壌

供試土壌は、黒ボクに相当する農耕地土壌を用いる。

(2) 土壌の充填

供試土壌は、壁面浸透流出が生じないように適切な密度で充填し、容器最上面よりも約5cm高くなるように充填する。次に自然または人工降雨に曝して、雨水を土壌底面まで浸透させたのち、土壌表層が乾燥するまで風乾する。なお、この段階で土壌表層面が容器最上面より下回った場合には、土壌を補充して約5cm高くなるようにする。次に、壁面から2～3cm内側の表層土壌を深さ約1.5cmまで十分に耕起する。

(3) 土壌水分計の設置

土壌容器には、深さ約1.5cmの土壌水分が測定できるよう、土壌水分計を設置しておく。

(4) 作物栽培

作物は栽培しないものとする。

(5) 反復

3反復とする。

4. 表流水の発生状態の確認

農薬処理前に各区に 30mm/hr の人工降雨を何回か行い、土壌水分が pF1.8 ~ 2.0 の状態から土壌面積 1 m²あたり 1.5L の表流水を得るまで時間が 30 ~ 120 分の範囲にあり、かつその時間の区間差が 30 %以内となることを確認する。その際得られた任意の表流水試料を添加回収及び保存安定性試験用試料（無処理区の試料）とする。

5. 被験物質の取扱い及び施用

(1) 被験物質は、調製後、速やかに施用する。

(2) 被験物質は、適切な管理条件下で保管するものとし、開封後、長期間保管する場合には、保管中の安定性を確認する。

(3) 被験物質は、登録申請に係る剤型、使用方法（時期、量等）等に基づき、通常用いられる器具を用いて、適切に 1 回施用する。ただし、試験区において当該器具を使用することが困難な場合には、他の同等な方法で代替することができるものとする。

(4) 農薬処理は pF2.0 ~ 2.2 の範囲にある状態で行うものとし、処理直前に試験区を充分耕起し表面を整地し、採取装置が農薬により汚染しないよう注意して行う。

6. 人工降雨処理と試料（表流水）の採取

(1) 農薬処理 1 日後、3 日後、7 日後及び 14 日後に各区に人工降雨を行い、土壌面積 1 m²あたり 1.5L の表流水を得る。

(2) 表流水は、採取目標量を 5 程度に分割し、分割量ごとの採取時間をごと記録する。

(3) 農薬処理 1 日後の人工降雨強度は 30mm/hr とし、処理 3 日後以降の人工降雨は、処理 1 日後の人工降雨による分画ごとの採取時間とできるだけ同等となるよう、10 ~ 30mm/hr の範囲で降雨強度を適宜調節して行う。

(4) 表流水はガラス又はステンレス製の容器に捕集し、10 分間静置して沈殿物が混入しないよう別のガラス又はステンレス製の容器に移し、速やかに分析に供する。

7. 試験期間中の管理

試験期間中においては、各試験区は、自然光に十分曝すとともに、自然降雨の影響を受けないように注意して管理する。

8. 試料の分析

(1) 分析対象物質は、水産動植物に対する毒性試験において評価の対象となる物質とする。

(2) 分析法は、分析対象物質を正確に分析できる方法を採用する。

(3) 試料は十分に攪拌したのち一定量を分取し、水中に含まれる浮遊性土壌粒子(SS)を除去することなく、分析に供する。

(4) 分析対象物質の量は mg/l で表す。

- (5) 分析は、各試料ごとに少なくとも2回行い、これらの平均値を測定値とする。
- (6) 分析法の精度は、分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲での変動係数により確認する。
- (7) 分析法の感度は、試料について分析の全操作を行った場合に十分な回収率が得られる最低濃度である定量限界で表すこととし、試験の目的に則した感度とする。
- (8) 分析法の回収率は、定量限界及び分析対象物質の検出が見込まれる範囲濃度で、無処理区から採取した試料に既知量の分析対象物質を添加した試料を用いて確認する。
- (9) 試料は、原則として、採取後速やかに分析に供することとするが、やむを得ず試料を一時保管しなければならない場合には、適切な管理条件下に保管し、保管期間中は、分析対象物質の安定性を確認するため保存安定性試験を実施する。
- (10) 保存安定性試験は、無処理区から採取した試料に既知量の分析対象物質を添加し、分析試料と同一条件で同一期間以上保管した試料を分析する方法により行う。

9. 報告事項

- (1) 試験成績作成機関 (圃場試験実施場所及び分析実施場所)
- (2) 被験物質
- (3) 試験条件 (土壌特性及び試験操作の詳細)
- (4) 分析方法 (概要及び詳細)
- (5) 分析対象ごとの定量限界及び回収率
- (6) 試料調製に係る明細
- (7) 分析結果 (各試料採取時点の分析値)
- (8) 流出率 (期間平均流出率)

ドリフト試験(2-11-4)

1. 目的

本試験は、環境中予測濃度を算出するため、地上散布農薬を圃場において散布し、風下における農薬落下量を距離別に調査し、散布農薬成分量に対するドリフト率を距離別に明らかにすることを目的とする。

2. 試験圃場

圃場は少なくとも 20 m の奥行きを有し、かつ風下側に十分な広さの調査区域が設定できる場所とする。

3. 農薬の散布

農薬の散布は、平均風速が概ね 2.0 m/s 以上の条件下で行う。

- (1) 被験物質は、調製後、速やかに施用する。
- (2) 被験物質は、適切な管理条件下で保管するものとし、開封後、長期間保管する場合には、保管中の安定性を確認する。
- (3) 被験物質は、登録申請に係る剤型、使用方法 (時期、量等) 等に基づき、通常用いら

- れる器具を用いて、適切に1回施用する。
(4) 被験物質の散布時に風速等気象状態を観測し記録する。

4. 落下量調査

(1) トラップ

トラップにはガラスシャーレを用いる。

(2) トラップの設置

調査区域には、主風向きに沿った風下方向に適当な間隔でトラップを設置する。トラップは、地表面にほぼ水平に設置し、同一距離においては数 m 間隔で3個以上を設置する。

(3) トラップの回収

散布終了後、飛散粒子が完全に落下したら、速やかに各トラップに蓋をして回収し、速やかに分析に供する。

5. 分析

(1) 分析対象物質

原則として、農薬の有効成分とする。

(2) 分析方法

- ① 分析対象物質を正確に分析できる方法を採用する。
- ② 分析は、同一距離の複数のトラップをひとまとめにした後、試料ごとに少なくとも2回行い、これらの平均値を測定値とする。
- ③ 分析法の精度は、分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲での変動係数により確認する。
- ④ 分析法の感度は、試験の目的に則した感度とし、定量限界を表示する。
- ⑤ 分析法の回収率は、トラップ容器に既知量の分析対象物質を添加したのちに、試験で用いた一定量の溶媒で溶出した試料を用いて確認する。
- ⑥ 試料は、原則として、速やかに分析に供することとするが、やむを得ず試料を一時保管しなければならない場合には、適切な管理条件下に保管し、保管期間中は、分析対象物質の安定性を確認するため保存安定性試験を実施する。
- ⑦ 保存安定性試験は、⑤と同様な方法で、分析試料と同一条件で同一期間以上保管した試料を分析する方法により行う。

6. 報告事項

- (1) 試験成績作成機関（圃場試験実施場所及び分析実施場所）
- (2) 被験物質
- (3) 試験条件（試験圃場、調査方法及び試験操作の詳細）
- (4) 分析方法（概要及び詳細）
- (5) 分析対象ごとの定量限界及び回収率
- (6) 試料調製に係る明細
- (7) 分析結果

(8) 理論散布量に対する距離別のドリフト率

河川における農業濃度のモニタリング(2-11-5)

1. 目的

本モニタリングは、現に登録を有する農業について、公共用水域の水中における当該農業の濃度に関する知見を得ることを目的とする。

2. 調査地域

(1) 直近における出荷量統計に基づく都道府県別普及率の上位県のなかから、使用状況等を踏まえ、対象農業及び用途分野について河川中農業濃度が最も高くなると考えられる2地域以上を選定する。

(2) 対象河川は、調査対象農業の使用地区からの排水が流入することが明らかで、かつ(3)

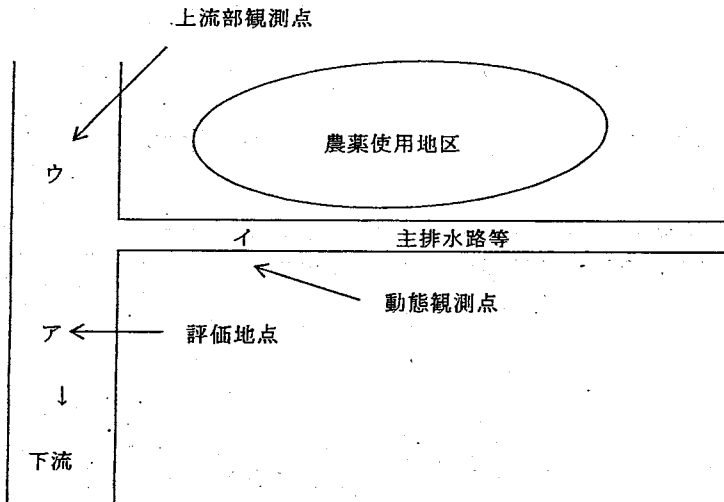
①に掲げる評価地点が設定されている河川を選定する。

(3) 調査地点は、少なくとも以下の地点を選定する。

① 評価地点(ア)：当該地区下流域の最寄りの公共用水域常時監視地点(環境基準点又は補助点)とする。

② 動態観測点(イ)：当該地区からの農業流出動態を的確に把握できる主排水路等。
なお、地域内において農業使用地区が複数まとまって存在する場合は、2地区以上において動態観測点を設置することが望ましい。

③ 上流部観測点(ウ)：当該地区からの排水の調査河川への合流点の上流部。



3. 流量測定及び気象観測

評価地点において1回以上流量 (m^3/s) を測定する。さらに、期間中の気象について記録を行う。

4. 試料 (河川水) の採取

(1) 採取方法

① 採取器具はステンレス又はガラス製の適切なものを用い、原則として各調査地点の流心から採取する。

② 採取は底質が入らないよう注意して行い、粗大な浮遊物は除去する。

(2) 採取期間及び間隔

① 水田に使用する農薬の場合

試料採取は、農薬使用時期前から開始し、農薬使用最盛期においてはできるだけごと日、その後においては数日～1週間おきに実施し、評価地点における農薬濃度の不可逆的な減衰傾向が確認されるまで行う。

② 水田以外に使用する農薬の場合

試料採取は、農薬使用期間において約1週間ごとに、使用時期の概ね1か月後まで行う。

5. 試料の取り扱い

水質汚濁性試験に準ずる。

6. 試料の分析

(1) 分析

分析対象物質は、水産動植物に対する毒性試験において評価の対象となる物質とする。

(2) 分析方法

① 分析法は、分析対象物質を正確に分析できる方法を採用する。

② 分析対象物質の濃度は $\mu g/l$ で表す。

③ 分析は、各試料ごとに少なくとも2回行い、これらの平均値を測定値とする。

④ 分析法の精度は、分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲での変動係数により確認する。

⑤ 分析法の感度は、試料について分析の全操作を行った場合に十分な回収率が得られる最低濃度である定量限界で表すこととし、試験の目的に則した感度とする。

⑥ 試料は、原則として、採取後速やかに分析に供することとするが、やむを得ず試料を一時保管しなければならない場合には、適切な管理条件下に保管し、保管期間中は、分析対象物質の安定性を確認するため保存安定性試験を実施する。

⑦ 保存安定性試験は、分析対象物質を含まない類似試料に既知量の分析対象物質を添加し、分析試料と同一条件で同一期間以上保管した試料を分析する方法により行う。

⑧ 分析法の回収率は定量限界及び分析対象物質の検出が見込まれる濃度範囲で、類似試料 (調査対象農薬の混入のない上部から採取した河川水、もしくは農薬使用時期以外に採取した河川水等) に既知量の分析対象物質を添加した試料を用いて確認する。

7. 報告事項

(1) 試験成績作成機関（設計機関及び実施機関）

(2) 被験物質

(3) 試験条件（調査実施地域、調査方法、調査期間中の気象及び試料採取操作等の詳細）

(4) 分析方法（概要及び詳細）

(5) 分析対象ごとの定量限界及び回収率

(6) 分析結果

(7) 農薬流出要因に関する考察

(8) 最大濃度期における平均濃度