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）

一部改正 平成１３年　６月２６日 １３生産第　１７３９号

一部改正 平成１４年１２月１０日 １４生産第　７２６９号

一部改正 平成１６年１１月２４日 １６消安第　６１９７号

一部改正 平成１７年　３月１６日 １６消安第　９２６０号

一部改正 平成１９年　４月　２日 １８消安第１４８５１号

一部改正 平成２０年　３月３１日 １９消安第１４９６６号

一部改正 平成２３年　４月　１日 ２２消安第１００１５号

一部改正 平成２５年　５月３１日 ２５消安第　　６３０号

一部改正 平成２６年　５月１５日 ２６消安第　　５３２号

一部改正 平成２８年１０月３１日 ２８消安第　３２２０号

一部改正 平成２９年　３月３１日 ２８消安第　５８８６号

一部改正 平成３０年　３月２９日 ２９消安第　６３３５号

（別紙）

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）薬効に関する試験成績

適用病害虫に対する薬効に関する試験成績（農作物等の生理機能の増進又は抑制に用いられる薬剤にあっては、適用農作物等に対する薬効に関する試験成績）

（２）薬害に関する試験成績

ア　適用農作物に対する薬害に関する試験成績
イ　周辺農作物に対する薬害に関する試験成績
ウ　後作物に対する薬害に関する試験成績

（３）毒性に関する試験成績

ア　急性経口毒性試験成績
イ　急性経皮毒性試験成績
ウ　急性吸入毒性試験成績
エ　皮膚刺激性試験成績
オ　眼刺激性試験成績
カ　皮膚感作性試験成績
キ　急性神経毒性試験成績
ク　急性遅発性神経毒性試験成績
ケ　90日間反復経口投与毒性試験成績
コ　21日間反復経皮投与毒性試験成績
サ　90日間反復吸入毒性試験成績
シ　反復経口投与神経毒性試験成績
ス　28日間反復投与遅発性神経毒性試験成績
セ　１年間反復経口投与毒性試験成績
ソ　発がん性試験成績
タ　繁殖毒性試験成績
チ　催奇形性試験成績
ツ　変異原性に関する試験成績
テ　解毒方法又は救命処置方法に関する試験成績
ト　動物代謝に関する試験成績
ナ　植物代謝に関する試験成績
ニ　家畜代謝に関する試験成績
ヌ　土壌中動態に関する試験成績
ネ　水中動態に関する試験成績

ノ　水産動植物への影響に関する試験成績
ハ　水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験成績
ヒ　有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験成績
フ　環境中予測濃度算定に関する試験成績
ヘ　農薬原体の組成に関する試験成績

（4）残留性に関する試験成績

ア　農作物への残留性に関する試験成績
イ　家畜への残留性に関する試験成績
ウ　土壌への残留性に関する試験成績

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、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。

第３　試験成績の提出について

申請者は、第１に掲げる試験成績の提出に際しては、提出する個々の試験成績の一覧表、品質報告書、概要及び考察並びに確認表を作成して、試験成績とともに提出するものとする。試験成績及び各資料を提出する上で必要な事項は、消費・安全局農産安全管理課長が別に定める。

第４　試験成績の提出の除外について

第１の規定にかかわらず、別表２に掲げる場合その他当該農薬の有効成分の種類、剤型、使用方法等からみて試験成績の一部につきその提出を必要としない合理的な理由がある場合には、申請者は、当該理由を記載した書類等を当該試験成績に代えて提出することができる。

第５　試験成績の代替について

（１）農薬の登録申請において提出することとされている試験成績の一部が、既に他の登録申請において提出されており、かつ、これらの試験成績を当該申請に係る農薬の試験成績として利用することができると認められる場合には、申請者は、別記様式による試験成績代替書を当該試験成績に代えて提出することができる。

この場合において、利用しようとする試験成績を提出した者が当該申請者と異なる場合にあっては、当該申請者は、利用しようとする試験成績を提出した者が当該試験成績を利用して差し支えない旨を記した書類を添付しなければならない。

（２）現に登録を受けている農薬と同一の有効成分を含む農薬に係る申請者は、当該有効成分を含む農薬が最初に登録を受けてから15年以上経過しており、かつ、農

薬の登録申請において提出することとされている試験成績のうち、次に掲げるものが既に他の登録申請において15年以上前に提出されている場合には、別記様式による試験成績代替書を当該試験成績に代えて提出することができる。

ア　当該有効成分に係る第１の（３）のトからネまで及びヒの試験成績（ヒの試験成績にあっては、土壌吸着性、加水分解性、水中光分解性及び生物濃縮性に関するものに限る。）並びに当該有効成分及びその分解物等を分析対象物質とした（３）のフ及び（４）のアからウまでの試験成績

イ　アに掲げるもののほか、別表１に掲げる試験成績のうち、当該有効成分の農薬原体を被験物質としたものであって、第１の（３）のへの試験成績以外のもの（登録を受けてから15年以上が経過している当該農薬の農薬原体中の有効成分等の含有量の規格が法第14条第３項の規定に基づく検査方法として定められており、別記の判断基準に基づき、当該農薬の農薬原体と申請に係る農薬の農薬原体が毒性学的に同等であると認められる場合に限る。）

第６　試験成績等の追加要求について

法第２条第３項の規定に基づき行われる登録検査上必要があると認められる場合には、申請者に対し、申請に係る農薬につき、必要な試験成績等の提出を要求することができる。

第７　農薬の毒性に関する情報提供について

申請者は、申請に係る農薬についてその品質及び安全性の確保に資するため、第１の（３）に掲げる試験成績以外から得た毒性に関する情報についても、可能な限り農林水産大臣に提出するよう努めるものとする。農薬の登録後においても同様とする。

第８　農薬に関する知見の取扱いについて

申請者は、登録申請時に提出される農薬の薬効、薬害、毒性及び残留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、ホームページ等に公表するよう努めるものとする。

附則（平成12年11月24日）

本通知は、平成13年2月1日より適用する。

附則（平成14年12月10日）

本通知は、平成14年12月17日より適用する。

附則（平成17年3月16日）

本通知は、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。

附則（平成19年4月2日）

この通知による改正は、平成２０年４月２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に掲げる生物濃縮性試験、土壌残留性試験及び後作物残留性試験に係る「試験施設の基準」、並びに、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」については、平成１９年１０月２日以降に開始された試験に適用する。なお、平成２０年４月２日以前においても、改正後の本通知を適用して試験成績を提出することができる。

附則（平成20年3月31日）

１．この通知による改正は、平成２０年４月１日以降に提出される農薬の薬効、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の「試験施設の基準」及び別添「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」については、平成２０年４月１日以降に開始する試験に適用する。

２．別表１に掲げる農作物への残留性に係る試験成績に係る「試験施設の基準」及び別添「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」について、平成２３年３月３１日以前に開始された試験は、公的試験研究施設又はこれに準じた施設が従前の規定に則り実施した試験成績を、本通知に規定する農薬GLP基準に適合した試験施設が実施した試験成績とみなすことができる。

３．前項の場合において、農薬GLP基準に適合した試験施設とみなされた試験施設の試料の分析に係る連数の規定については、本通知の改正前の規定を適用するものとする。ただし、既に、農作物への残留性に係る試験成績について、農薬GLP基準に適合確認を受けた施設の試料分析施設が、前項の試験施設の委託を受けて試験を実施する場合は、この限りではない。

附則（平成23年4月1日）

１．この通知による改正は、平成２３年４月１日以降に提出される農薬の薬効、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、次の各号に掲げる改正規定は、当該各号に定める試験又は試験成績について適用する。

（１）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」４．の「３－１－１」の８．の（３）（「３－２－２」において準ずるとされている場合を含む。）に係る改正規定　平成２３年１０月１日以降に開始される試験

（２）第２の別表１に掲げる「農作物への残留性に関する試験成績」のうち「試験例数／供試農作物・供試動物等の種類等」及び「試験施設の基準」、並びに別添「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」４．の「３－１－１」の６．の（１）の別表１に係る改正規定　平成２６年４月１日以降に提出される農薬の農作物への残留性に関する試験成績であって、次の①又は②に該当するもの

①　食品、添加物等の規格基準（昭和３４年１２月２８日厚生省告示第３７０号）に規定する基準値（②において「基準値」という。）を新たに設定する際の試験に係る成績

②　既に設定されている基準値を変更する際の試験に係る成績

２．前項の（２）の①及び②のいずれにも該当しない試験成績については、なお従前の例による。

附則(平成25年5月31日)

この通知による改正は、平成２５年５月３１日以降に提出される農薬の薬効、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」３．の２－７－６に係る改正規定は、平成２５年１２月１日以降に開始された試験に適用する。なお、平成２５年１２月１日以前においても、改正後の本通知を適用して試験成績を提出することができる。

附則（平成26年5月15日）

１．この通知による改正は、平成２６年５月１５日（以下「適用日」という。）以降に行う農薬の登録申請の際に提出する試験成績について適用する。ただし、別紙第3の改正規定以外のものについては、適用日から起算して3年を経過する日以降の農薬の登録申請の際に提出する試験成績（現に登録を受けている農薬について再登録の申請をする場合のものを除く。）について適用する。

２．前項の規定にかかわらず、適用日から起算して1年を経過する日までに登録申請された農薬及びこの通知による改正前の通知別紙第3の規定に基づき登録申請の際に試験成績を提出して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の登録申請の試験成績については、消費・安全局農産安全管理課長が別に定めるところにより、その全部又は一部について、なお従前の例により提出することができる。

３．第１項ただし書の規定にかかわらず、同項ただし書の日前においても、この通知による改正後の通知（以下「新通知」という。）の規定を適用して、新通知の別紙第１（３）ニ及び（４）イの試験成績を提出することができる。

4. 第１項ただし書の規定にかかわらず、適用日から起算して６月を経過する日より前に開始された別紙第１（３）ニ及び（４）イの試験の別紙別表１の試験施設の基準については、新通知の別紙別表第１の試験施設の基準を適用しないことができる。
5. 第１項ただし書の規定にかかわらず、同項ただし書の日に現に登録又は申請されている農薬のうち、消費・安全局農産安全管理課長が別に定める要件に該当するものにあっては、新通知の別紙第１（３）ニ及び（４）イの規定を適用して、適用日から起算して６年を経過する日までに、試験成績を提出するものとする。ただし、消費・安全局農産安全管理課長が別に期限を通知する農薬については、当該期限までに提出するものとする。

附則（平成28年10月31日）
1. この通知による改正後の規定は、平成29年４月１日（以下「適用日」という。）以降に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績について適用する。
2. 前項の規定にかかわらず、適用日前に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績については、当該農薬の登録を申請する者の選択により、この通知による改正後の規定を適用することができる。
3. 第１項の規定にかかわらず、適用日前に開始された試験の試験成績については、この通知による改正後の別表１の「試験施設の基準」の項「（４）農薬原体の組成分析」の「毒性試験に用いた農薬原体の組成分析」の欄、「試験施設の基準」の項「（６）添加物及び不純物の毒性」の「毒性試験」の欄及び「試験施設の基準」の項「（８）農薬原体の分析法」の欄の規定は、適用しないことができる。
4. 第１項の規定にかかわらず、適用日前に開始された試験の試験成績については、この通知による改正後の別添「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」のうち「水中動態に関する試験（２－６－１及び２）」及び「有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験（２－９－１～17）」の規定は、なお従前の例によることができる。
5. 第２項の規定にかかわらず、適用日前に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績については、この通知による改正後の別表１の「試験施設の基準」の項「（４）農薬原体の組成分析」の「毒性試験に用いた農薬原体の組成分析」の欄、「試験施設の基準」の項「（６）添加物及び不純物の毒性」の「毒性試験」の欄及び「試験施設の基準」の項「（８）農薬原体の分析法」の欄の規定は、適用しないことができる。
6. 第２項の規定にかかわらず、適用日前に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績については、この通知による改正後の別添「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」のうち「水中動態に関する試験（２－６－１及び２）」及び「有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験（２－９－１～17）」の規定は、なお従前の例によることができる。
7. 第１項の規定にかかわらず、この通知による改正前の規定による試験成績の提出により現に登録を受けている農薬について、再登録又は変更の登録の申請があった場合及びこの通知による改正前の規定による試験成績の提出により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、登録の申請があった場合については、なお従前の例によることができる。

附則（平成29年３月31日）

１．この通知による改正後の規定は、平成29年４月１日以降に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績について適用する。

２．前項の規定にかかわらず、この通知による改正後の別表２の「試験成績の提出を要しない場合」の項「水産動植物への影響に関する試験成績」の「⑼ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績」の欄の規定（以下「ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績に係る規定」という。）は、平成30年４月１日以降に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績について適用する。なお、平成30年４月１日前に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績についても、当該農薬の登録を申請する者の選択により、ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績に係る規定を適用することができる。

３．第１項の規定にかかわらず、この通知による改正前のユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績に係る規定による試験成績の提出により現に登録を受けている農薬について、再登録又は変更の登録の申請があった場合及びこの通知による改正前のユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績に係る規定による試験成績の提出により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、登録の申請があった場合については、この通知による改正後のユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験成績に係る規定は、なお従前の例による。

４．第１項の規定にかかわらず、この通知による改正後の別添「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」４．の３－３－１の規定（以下「土壌残留試験に係る規定」という。）は、平成29年10月１日以降に開始する試験の試験成績について適用する。なお、平成29年10月１日前に開始する試験の試験成績についても、当該農薬の登録を申請する者の選択により、改正後の土壌残留試験に係る規定を適用することができる。

附則（平成30年３月29日）

この通知による改正後の規定は、平成30年３月29日以降に行われる農薬の登録申請の際に提出される試験成績について適用する。

（別記）農薬原体の同等性の判断基準

１．農薬の製造に用いる農薬原体中の成分と含有量（有効成分の場合には下限値（必要な場合には上限値及び下限値）、添加物及び不純物の場合には上限値。以下この項において同じ。）が、法第14条第３項の規定に基づく検査方法として規格の定められた農薬原体中の成分と含有量と比較して、以下の（１）から（４）までの全ての要件を満たす場合には、当該農薬原体と毒性学的に同等であると判断する。

（１）有効成分の含有量が規格を満たすこと。

（２）考慮すべき毒性を有する不純物の含有量が規格を満たすこと。

（３）新たな添加物及び不純物を含有していないこと。

（４）添加物及び考慮すべき毒性を有する不純物以外の不純物の含有量の増加が、

①　規格の定められた農薬原体中の含有量が６g/kg以下の添加物及び不純物については、３g/kg以下であること。

②　規格の定められた農薬原体中の含有量が６g/kgを超える添加物及び不純物については、50％以下であること。

２．１の（１）及び（２）の要件を満たすが、（３）又は（４）の要件を満たさない場合であっても、農薬の製造に用いる農薬原体及び規格の定められた農薬原体について、既存の利用可能なデータ並びに農薬原体中に含有される有効成分、添加物及び不純物の毒性に関する試験成績を用いて、以下のいずれかに該当すると考えられるときは、１．の規定にかかわらず、農薬原体が毒性学的に同等であると判断する。

（１）全ての添加物及び不純物の毒性が農薬の製造に用いる農薬原体の毒性に影響を与えることはないと考えられる場合

（２）添加物及び不純物の毒性が農薬の製造に用いる農薬原体の毒性に影響を与え得ると考えられるが、「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」（別添）の２－１１－６の４に示す農薬原体を用いた毒性試験の結果が、規格の定められた農薬原体の安全性評価に用いられた毒性試験の結果と比較して、次の①から③までに示す要件を満たす場合（ただし、農薬原体が同等であるかどうかは、以下の要件のほか、添加物及び不純物の毒性の影響が認められるかどうか等を考慮して、科学的に判断すべきものとする。）

①　毒性（LD_{50}、ＮＯＡＥＬ等）が２倍以上強くならない（又は投与量の公比に相応する値を超えて強くならない）場合

②　毒性区分を分類する毒性試験において、より強い毒性区分にならない場合

③　陽性又は陰性を判定する毒性試験において、判定結果に変更がない場合

（別記様式）

試　験　成　績　代　替　書

年　　月　　日

農林水産大臣　殿

住　所
氏　名　（法人の場合にあっては、その名称及び代表者の氏名）　印

下記のとおり、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号農産園芸局長通知）の記５の規定に基づき、試験成績の代替について申し出ます。

記

１．農薬の種類及び名称（現に登録を受けている農薬にあっては、登録番号も記載すること。）

２．代替の対象となる試験成績の内容並びに利用する試験成績に係る農薬の種類及び名称（現に登録を受けている農薬については、その登録番号も記載すること。）

（日本工業規格Ａ４）

備考　氏名（法人の場合にあっては、代表者の氏名）を自署する場合においては、押印を省略することができる。

（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（別添を参照）
適用病害虫に対する薬効に関する試験成績（農作物等の生理機能の増進又は抑制に用いられる薬剤にあっては、適用農作物等に対する薬効に関する試験成績）	薬効試験（注２）	製剤（注７）	別添表１に記載	薬効試験を適正に実施する能力を有する試験施設	１－１－１
適用農作物に対する薬害に関する試験成績	(1)薬害試験（注３）	製剤（注７）	別添表１に記載	薬害試験を適正に実施する能力を有する試験施設	１－１－１
	(2)限界薬量（又は濃度）薬害試験	製剤	適用農作物ごと（適用農作物が作物群である場合にあっては、別途農産安全管理課長が定めるところによる）に２例	特に規定しない。	１－１－２
	(3)茶の残臭試験	製剤	２例	薬害試験を適正に実施する能力を有する試験施設	１－１－３
	(4)タバコの喫味試験	製剤	２例（ただし、茎葉が当該農薬に直接暴露する場合又は当該農薬の有効成分が根から吸収移行する場合は、３例）	薬害試験を適正に実施する能力を有する試験施設	１－１－４
周辺農作物に対する薬害に関する試験成績	(1)漂流飛散による薬害試験	製剤	適用農作物、適用場所等を踏まえ、ナス科、ウリ科、アブラナ科、マメ科、イネ科等の中から代表的なものを１種ずつ選定	特に規定しない。	１－２－１
	(2)水田水の流出による薬害試験	製剤	イグサ、レンコン、クワイ等の中から代表的なものを１種選定	特に規定しない。	１－２－２

	(3)揮散による薬害試験	製剤	当該農薬に対し感受性が高いと考えられる農作物の中から１種選定	特に規定しない。	１－２－３
後作物に対する薬害に関する試験成績	後作物薬害試験	製剤	適用農作物の後に栽培される可能性のある農作物の中から、当該農薬に対し感受性が高いと考えられるものを選定	特に規定しない。	１－３
急性経口毒性試験成績	急性経口毒性試験	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－１
急性経皮毒性試験成績	急性経皮毒性試験	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１種の供試動物（通常、ラット、ウサギ又はモルモット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－２
急性吸入毒性試験成績	急性吸入毒性試験	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－３
皮膚刺激性試験成績	皮膚刺激性試験	製剤（ただし、製剤での実施が困難な場合には農薬原体）	１種の供試動物（通常、ウサギ）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－４
眼刺激性試験成績	眼刺激性試験	製剤（ただし、製剤での実施が困難な場合には農薬原体）	１種の供試動物（通常、ウサギ）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－５
皮膚感作性試験成績	皮膚感作性試験	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１種の供試動物（通常、モルモット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－６
急性神経毒性試験成績	急性神経毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－７
急性遅発性神経毒性試験成績	急性遅発性神経毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ニワトリ）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－８
90日間反復経口投与毒性試験成績	90日間反復経口投与毒性試験	農薬原体	２種の供試動物（通常、ラット及びイヌ） （ただし、当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質を長期にわたり摂取するおそれがないこと等の理由により安全と認められる場合には、１種の供試動物）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－９

21日間反復経皮投与毒性試験成	21日間反復経皮投与毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ラット、ウサギ又はモルモット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－10
90日間反復吸入毒性試験成績	90日間反復吸入毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－11
反復経口投与神経毒性試験成績	反復経口投与神経毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－12
28日間反復経口投与遅発性神経	28日間反復経口投与遅発性神経毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ニワトリ）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－13
１年間反復経口投与毒性試験成績	１年間反復経口投与毒性試験 （１年間反復経口投与毒性／発がん性併合試験）（注４）	農薬原体	１種（通常、ラット） 発がん性試験と併合して実施することができる。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－14 (2-1-16)
発がん性試験成績	発がん性試験 （１年間反復経口投与毒性／発がん性併合試験）（注５）	農薬原体	２種の供試動物（通常、ラット及びマウス） なお、１種については、１年間反復経口投与毒性試験と併合して実施することができる。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－15 (2-1-16)
繁殖毒性試験成績	繁殖毒性試験	農薬原体	１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－17
催奇形性試験成績	催奇形性試験	農薬原体	２種の供試動物（通常、ラット及びウサギ） なお、繁殖毒性試験を実施する場合には、１種は繁殖毒性試験と同一種・系統の供試動物とする。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－１－18
変異原性に関する試験成績	(1)復帰突然変異試験	農薬原体	１例（細菌を用いて実施）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	2-1-19-1
	(2)染色体異常試験	農薬原体	１例（哺乳類培養細胞を用いて実施）		2-1-19-2
	(3)小核試験	農薬原体	１例（哺乳動物を用いて実施）		2-1-19-3
解毒方法又は救命処置方法に関する試験成績	解毒方法・救命処置方法検索試験	農薬原体	１例（各検査項目に適した動物種を用いて実施）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設（作用機序解明試験に限る。）	２－２－１

動物代謝に関する試験成績	動物代謝試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	１種の供試動物（通常、ラット）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－３－１
植物代謝に関する試験成績	植物代謝試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	別添表１に記載	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－４－１
家畜代謝に関する試験成績	家畜代謝試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	２種の供試動物（反すう動物１種及び家きん１種）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－４－２
土壌中動態に関する試験成績	(1)好気的湛水土壌中動態試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－５－１
	(2)好気的土壌中動態試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等。ただし、好気的湛水土壌中動態試験の結果、必要があると認められる場合には、当該試験により検出された主要代謝物についても実施。	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－５－２
	(3)嫌気的土壌中動態試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等。ただし、好気的土壌中動態試験の結果、必要があると認められる場合には、当該試験により検出された主要代謝物についても実施。	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－５－３
水中動態に関する試験成績	(1)加水分解動態試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－６－１
	(2)水中光分解動態試験	放射性同位元素で標識した有効成分等又は非標識の有効成分等	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－６－２
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	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１例 （農薬原体についてはコイ又はメダカ（ヒメダカ）を用いて実施）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	2-7-1-1
		農薬原体	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	農薬原体	１例	農薬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	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１例（農薬原体についてはオオミジンコを用いて実施）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２-７-２-１
	(4)ミジンコ類（成体）急性遊泳阻害試験	農薬原体	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２-７-２-２
	(5)ミジンコ類繁殖試験	農薬原体	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２-７-２-３
	(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	農薬原体	１例（メダカ（ヒメダカ）又はオオミジンコについて実施）	農薬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	農薬原体	１例	農薬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	農薬原体	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－７－５
	(9)ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験	農薬原体	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－７－６
	(10)藻類生長阻害試験	農薬原体及び製剤	被験物質ごとに１例（農薬原体については緑藻（*Pseudokirchneriella subcapitata*（旧学名：*Selenastrum capricornutum*））を用いて実施）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－７－７
水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験成績	(1)ミツバチ影響試験	農薬原体又は製剤	１例	特に規定しない。	２－８－１
	(2)蚕影響試験	農薬原体又は製剤	１例	特に規定しない。	２－８－２
	(3)天敵昆虫等影響試験	農薬原体又は製剤	双翅目、膜翅目、半翅目、鞘翅目脈翅目、ダニ目及びクモ目の中か	特に規定しない。	２－８－３

			ら２目３種選定		
	(4)鳥類影響試験				
	①鳥類強制経口投与試験	農薬原体	１例	特に規定しない。	２-８-４-１
	②鳥類混餌投与試験	農薬原体	１例	特に規定しない。	２-８-４-２
有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験成績	色調・形状・臭気・スペクトル・融点・沸点・蒸気圧・水に対する溶解度・有機溶媒に対する溶解度・土壌吸着性・オクタノール／水分配係数・密度・加水分解性・解離定数・熱に対する安定性・水中光分解性に関する試験・生物濃縮性試験	有効成分等の純品(注６)（有効成分の純品による実施が困難な場合には、農薬原体。なお、有効成分が複数の化学物質により構成されており、それぞれを分離できる場合には、分離した物質）	被験物質ごとに１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設（色調、形状及び臭気に関する試験は除く。）	２-９-１～17
環境中予測濃度算定に関する試験成績	(1)水質汚濁性試験	製剤	２例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－１
	(2)模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	製剤	２例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－２
	(3)実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験	製剤	２例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－３
	(4)模擬圃場を用いた地表流出試験	製剤	１例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－４
	(5)ドリフト試験	製剤	３例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－５
	(6)河川における農薬濃度のモニタリング	製剤	２例	環境中予測濃度算定に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	２－10－６

農薬原体（注１）の組成に関する試験成績	(1)農薬原体中の成分の種類及びその含有量	－	農薬原体の製造場ごとに報告する。	特に規定しない。	２－11－１
	(2)農薬原体の製造方法	－	農薬原体の製造場ごとに報告する。	特に規定しない。	２－11－２
	(3)農薬原体に含有されると考えられる不純物及びその由来	－	農薬原体の製造方法ごとに報告する。	特に規定しない。	２－11－３
	(4)農薬原体の組成分析				２－11－４
	農薬原体の組成分析	農薬原体	農薬原体の製造場ごとに５以上の異なるバッチから分析試料を採取する。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設（分析法の検討及び妥当性の確認は除く。）	
	農薬原体中のダイオキシン類の分析	農薬原体	農薬原体の製造場ごとに２以上の異なるバッチから分析試料を採取する。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設又は国がダイオキシン類の分析に関して十分能力があると認めた機関	
	毒性試験に用いた農薬原体の組成分析	毒性試験に用いた農薬原体	毒性試験に用いた農薬原体と同一のバッチから分析試料を採取する。	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設（分析法の検討及び妥当性の確認は除く。）	
	(5)農薬原体中の成分の含有量の上限値及び下限値の設定	－	農薬原体の製造場ごとに報告する。	特に規定しない。	２－11－５
	(6)添加物及び不純物の毒性				２－11－６
	既存の利用可能なデータ	－	添加物及び不純物ごとに報告する。	特に規定しない。	
	毒性試験	添加物及び不純物又はそれらを十分含有している農薬原体	被験物質ごと、試験項目ごとに１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	

	(7)農薬原体の同等性	－	農薬原体の製造場ごとに報告する。	特に規定しない。	２－11－７
	(8)農薬原体の分析法	農薬原体	１例	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	２－11－８
農作物への残留性に関する試験成績	作物残留試験	製剤（注７）	適用農作物ごと（適用農作物が作物群である場合にあっては、別途農産安全管理課長が定めるところによる。）の試験例数は以下のとおりとする。 ただし、生産量が特に少ない農作物について、初期付着量試験の結果等により、申請者が当該農作物よりも農薬残留が高いと判断できる農作物がある場合には、農薬残留が高いと判断される農作物の作物残留試験成績を当該農作物の作物残留試験成績に代えて提出することができる。 ①　生産量が特に多い農作物については、６例以上。 ②　生産量が多い農作物については、３例以上。 ③　生産量が少ない農作物については、２例以上。 ④　生産量が特に多い農作物及び生産量が多い農作物について、倉庫くん蒸でのみ使用される場合又は使用時期、使用方法等から農作物への残留がないことが明らかな場合における試験例数は、①及び②にかかわらず、２例以上とする。	農薬GLP基準に適合した試験施設とする。ただし、生産量の少ない農作物を適用農作物として試験を実施する場合は、この限りではない。 　ほ場試験については、以下の基準に基づき実施する。 ①　生産量が特に多い農作物を適用作物とする場合は、当該農作物の国内の主要な栽培地域である複数の都道府県において複数年実施する。なお、試験を施設で行う場合の実施年数については、この限りでない。 ②　生産量が多い農作物を適用作物とする場合は、当該農作物の国内の主要な栽培地域である複数の都道府県において実施する。ただし、栽培地域が一都道府県に限られているものを適用作物とする場合は、複数の試験施設において実施し、又は同一の試験施設において複数年実施する。 ③　生産量が少ない農作物を適用作物とする場合は、複数の試験施設に	３－１－１

				おいて実施し、又は同一の試験施設において複数年実施する。 ④　①から③までについて、申請する使用時期を含む前後の適切な期間の消長試験２例以上を国内で実施する。ただし、経時的に有意に減衰することが明らかでない農薬については、すべての例数について実施する。 ⑤　①及び②の場合において、１年間に２回以上栽培するものを適用作物とする場合は、残留が高くなる作期を含むものとする。 ⑥　消長試験以外の作物残留試験については、日本以外においてほ場試験を実施することができる。ただし、日本以外において試験を実施する場合における環境や利用部位その他の条件は、日本における条件と同等のものとする。 ⑦　地上散布に用いるものとして登録されている農薬について、空中散布又は無人ヘリコプター散布にも用いるものとして使用方法を追加する場合における当該空中散布又は無人ヘリコプター散布の試験例数は、必要な例数の半数以上（必要な例数が３例以下である場合は、２例以上）とす		

				る。	
家畜への残留性に関する試験成績	家畜残留試験	有効成分等	２種の供試動物（反すう動物１種及び家きん１種）	農薬ＧＬＰ基準に適合した試験施設	３－２－１
土壌への残留性に関する試験成績	(1)土壌残留試験	製剤	２例	土壌への残留性に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	３－３－１
	(2)後作物残留試験	製剤	(1)水田において使用される農薬については、根菜類に属する農作物を１種類、その他麦大豆等から１種類の農作物を選定 (2)畑地において使用される農薬については、根菜類に属する農作物を１種類、その他後作物として想定される農作物が属する植物群の中から１種類の農作物を選定	土壌への残留性に関する試験を適正に実施する能力を有する試験施設	３－３－２

注１：「農薬原体」とは、有効成分と、その製造の過程において使用され、又は生成された成分との混合物であって、農薬の原料となるものをいう。
注２：薬害試験との併合試験として実施すること。
注３：薬効試験との併合試験として実施すること。
注４：発がん性試験と併合して実施することができる。
注５：１年間反復経口投与毒性試験と併合して実施することができる。
注６：「純品」とは、原則として純度98%以上の物質をいう。
注７：展着剤については、適用対象となる農薬と組み合わせたものとする。

（別添表１）

試験項目	試　　験　　例　　数
薬効試験及び薬害試験（薬効及び薬害併合試験）	申請に係る適用農作物（適用農作物が作物群である場合には当該作物群に含まれる作物。（ただし原則として、植物成長調整剤の場合を除く。以下この表において同じ。））、適用病害虫・雑草等及び使用方法等の組合せごとに、少なくとも２か年実施するものとし、各年における試験は、原則として異なる都道府県から選定した３か所以上の施設において実施するものとする。ただし、次に掲げる場合には、当該試験の例数を下記のとおり実施することができるものとする。 （１）申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せが既登録農薬のそれと同一であり、かつ、次に掲げる条件のいずれかを満たす場合には、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せごとに、原則として異なる都道府県から選定した３か所以上の施設において実施するものとする。 ①　既登録農薬と同一の有効成分を有するものであるが、剤型が異なる場合 ②　既登録農薬と有効成分及び剤型が同一であって、有効成分投下量が既登録農薬のそれより減少する場合 ③　複数の既登録農薬の有効成分が混在する混合剤であって、当該農薬の各有効成分の含有量が個々の既登録農薬における有効成分の含有量と異なる場合 ④　既登録農薬であって、使用濃度又は使用量（有効成分投下量）を減少させた場合 ⑤　既登録農薬であって、使用方法を変更する場合 （２）申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せが既登録農薬のそれと同一であり、かつ、次に掲げる条件のいずれかを満たす場合には、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せごとに、原則として異なる都道府県から選定した２か所以上の施設において実施するものとする。 ①　既登録農薬と有効成分及び剤型が同一であって、有効成分投下量が既登録農薬のそれと同一である、又は増加する場合 ②　複数の既登録農薬の有効成分が混在する混合剤であって、当該農薬の各有効成分の含有量が個々の既登録農薬における有効成分の含有量と同一である場合 ③　既登録農薬であって、使用濃度又は使用量（有効成分投下量）を増加させる場合 （３）次に掲げる条件のいずれかを満たす場合には、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せごとに、原則として異なる都道府県から選定した２か所以上の施設において実施するものとする。 ①　既登録農薬であって、対象農作物を追加することなく、二次的な適用病害虫・雑草等を追加する場合 ②　既登録農薬であって、当該既登録農薬の適用病害虫・雑草等の対象作物に当該作物に類似した作物を追加する場合 ③　限定された地域でのみ生産される農作物又は生産量の少ない農作物を適用農作物とする場合 ④　発生地域が一部の地域に限られている病害虫・雑草等を適用対象とする場合 ⑤　既登録農薬であって、植物防疫上緊急的に適用病害虫・雑草等の範囲を拡大する必要がある場合 ⑥　展着剤を申請する場合 （４）次に掲げる条件のいずれかを満たす場合には、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せごとに、原則として異なる都道府県から選定した３か所以上の施設において実施するものとする。 ①　新規の有効成分と既登録農薬の有効成分が混在する混合剤について、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せのうち、既登録農薬の有効成分に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せが当該既登録農薬と同一である場合であって、当該申請に係る適用農作物と適用病害虫・雑草等の組合せのうち既登録農薬の有効成分のみに係る部分について実施する場合 ②　既登録農薬であって、当該既登録農薬の適用病害虫のうち多数の作物に共通する難防除病害虫に適用農作物を

	追加する場合 ③　既登録農薬であって、作物のない状態又は作物に接触しない状態において使用される農薬について当該既登録農薬の適用病害虫に適用農作物を追加する場合 （５）倉庫、サイロ等において使用される農薬については、当該申請に係る適用農作物及び病害虫の組合せごとに、３か所以上の施設において実施するものとする。
植物代謝に関する試験	申請に係る適用農作物が属する別添表２中の植物群ごとに、同表右欄に掲げる農作物の中から１種類以上の農作物を選定して行う。適用農作物に食品の用に供される農作物を含む場合には、当該農作物が属する植物群の食品の用に供される農作物を１種類以上選定すること。既登録農薬の適用農作物に食品の用に供される農作物を追加する申請をする場合であって、当該農作物が含まれる植物群に係る既提出の試験成績が飼料作物のもののみである場合は、当該植物群に含まれる食品の用に供される農作物を１種類以上選定して行った試験成績を提出すること。 ただし、申請に係る適用農作物の植物群が３種類以上の場合において、各植物群に係る農作物における代謝に大きな差がないと認められる場合には、当該試験の植物群は３種類とすることができる。 また、申請に係る農作物が１植物群に限られ当該試験の植物が申請に係る農作物と異なる場合にあっては、当該試験の供試植物は２種類以上とする。 なお、適用農作物の一つに稲が含まれる場合には、試験の対象農作物に必ず水稲を含めること。また、適用作物に遺伝子組換え農作物が含まれる場合、上に定める方法により選定した農作物のほか、遺伝子組換え農作物も供試農作物とする。

（別添表２）

○　植物代謝に関する試験の対象植物の分類

植　物　群	主　な　作　物
稲	水稲
穀類及びさとうきび	小麦、大麦、ライ麦、とうもろこし、そば、さとうきび、えんばく、ソルガム
果実（かんきつ、うり類を除く。）	もも、びわ、キウイ、りんご、なし、かき、ネクタリン、あんず、おうとう、うめ、いちご、ぶどう、ぎんなん、くり、くるみ
かんきつ類	温州みかん、大粒かんきつ類、小粒かんきつ類
果菜（うり類を含む。）	ピーマン、おくら、ししとう、かぼちゃ、きゅうり、トマト、なす、すいか、メロン
葉又は花を可食部とする植物	キャベツ、はくさい、大根の葉、ブロッコリー、こまつな、えだまめ、さ

	やえんどう、さやいんげん、玉葱、にんにく、らっきょう、ホップ
根・茎を可食部とする植物	大根の根、にんじん、しょうが、ばれいしょ、さつまいも、さといも、てんさい
豆類・採油植物	大豆、小豆、えんどう、そらまめ、なたね、ごま、べにばな
きのこ類	しいたけ、えのきたけ
茶樹	茶並びに果実（かんきつ、うり類を除く。）及びかんきつ類の植物群に該当する作物の葉

（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
適用農作物に対する薬害に関する試験成績	
(1) 茶の残臭試験成績	適用農作物に茶を含まない場合
(2) タバコの喫味試験成績	適用農作物にタバコを含まない場合
(3) 限界薬量（又は濃度）薬害試験成績	当該農薬の使用方法等からみて、適用農作物が当該農薬の適用の範囲以上（使用量、濃度）に暴露されるおそれがないと認められる場合
周辺農作物に対する薬害に関する試験成績	
(1) 漂流飛散による薬害試験成績	当該農薬の有効成分の種類、剤型、使用方法等からみて、当該農薬が漂流飛散し、周辺農作物に影響（薬害）を及ぼすおそれがないと認められる場合
(2) 水田水の流出による薬害試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 水田において使用されない場合 ② 当該農薬の使用方法等からみて、当該農薬が水田水を通じて河川等の水系に流出し、周辺農作物に影響（薬害）を及ぼすおそれがないと認められる場合
(3) 揮散による薬害試験成績	当該農薬の有効成分の特性、剤型、使用方法等からみて、当該農薬が揮散し、周辺農作物に影響（薬害）を及ぼすおそれがないと認められる場合
後作物に対する薬害に関する試験成績	当該農薬の使用方法、土壌残留性の程度等からみて、当該農薬が適用農作物の後に栽培される農作物に影響（薬害）を及ぼすおそれがないと認められる場合
急性経皮毒性試験成績	腐食性（強酸性（おおむねｐH2以下）又は強アルカリ

	性（おおむねｐH11.5以上）等）を有すると認められる場合
急性吸入毒性試験成績	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、当該農薬の使用者等が経気道暴露を受けるおそれがないと認められる場合
皮膚刺激性試験成績	腐食性（強酸性（おおむねｐＨ２以下）又は強アルカリ性 （おおむねｐH11.5以上）等）を有すると認められる場合
眼刺激性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 腐食性（強酸性（おおむねｐＨ２以下）又は強アルカリ性（おおむねｐH11.5以上）等）を有すると認められる場合 ② 皮膚刺激性試験の結果から、腐食性等を有すると疑われる場合
急性神経毒性試験成績	急性毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められる場合
急性遅発性神経毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 急性毒性試験等の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められる場合 ② 遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められる場合
90日間反復経口投与毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬の使用に係る当該農薬の成分である物質（その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。以下「成分物質等」という。）の暴露量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 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
21日間反復経皮投与毒性試	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合

験成績	①　当該農薬の使用者等が長期にわたって当該農薬の経皮暴露を受けるおそれがないと認められる場合 ②　急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと認められる場合
90日間反復吸入毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　当該農薬の使用者等が長期にわたって当該農薬の経気道暴露を受けるおそれがないと認められる場合 ②　急性吸入毒性に関する試験成績の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと認められる場合
反復経口投与神経毒性試験成績	90日間反復経口投与毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと認められる場合
28日間反復投与遅発性神経毒性試験成績	急性遅発性神経毒性試験等の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められる場合
１年間反復経口投与毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取する量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 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
発がん性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取する量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合であって、かつ、変異原性が明確に認められない場合 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
繁殖毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合

	①　当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取する量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 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
催奇形性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬の使用に係る当該農薬の成分物質等の暴露量及び摂取量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 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
変異原性に関する試験成績	「催奇形性試験成績」の場合に同じ。
解毒方法又は救命処置方法に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 １．当該農薬の剤型、使用方法等からみて、当該農薬の使用に係る当該農薬の成分物質等の暴露量及び摂取量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 ２．急性毒性試験の結果から、当該農薬の有効成分の毒性が次に掲げる場合のいずれにも該当しないと認められる場合 ①　急性経口毒性試験において半数致死量が300　mg/kg以下である場合 ②　急性経皮毒性試験において半数致死量が1,000mg/kg以下である場合 ③　急性吸入毒性試験において半数致死濃度が、ガスの場合には2,500ppm以下、蒸気の場合には10 mg/L以下、ダスト又はミストの場合には１mg/L以下である場合
動物代謝に関する試験成績	「催奇形性試験成績」の場合に同じ。
植物代謝に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　食品の用に供される農作物（特用作物及び家畜

	の飼料の用に供される農作物を含む。）以外の農作物に使用される場合 ② 当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取する量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 ③ 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 ④ 既に他の食用作物に適用される既登録農薬であって、生産量が少ない農作物を適用農作物に追加する場合。
家畜代謝に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 作物残留試験成績の提出を要しない場合 ② 家畜の飼料の用に供される農作物及び副産物（稲わら等）が家畜の飼料の用に供される農作物以外の農作物に使用される場合 ③ 家畜の飼料の用に供される農作物及び副産物（稲わら等）が家畜の飼料の用に供される農作物の残留試験において、被験物質及び主要代謝物の残留濃度が定量限界未満の場合。定量限界は、原則として0.01～0.05 mg/kg（牧草の基準値が適用される飼料作物等の場合は、水分含量を10%に換算した場合に0.01～0.05 mg/kgとなる濃度）を目途に設定するものとする。
土壌中動態に関する試験成績	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)～(3)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)好気的湛水土壌中動態試験成績	水田において使用されない場合
(2)好気的土壌中動態試	水田においてのみ使用される場合。ただし、好気的湛

験成績	水土壌中における当該農薬の成分物質等の消失速度からみて必要と認められる場合を除く。
(3)嫌気的土壌中動態試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 水田においてのみ使用される場合 ② 好気的土壌中動態試験の結果から、好気的土壌中における当該農薬の成分物質等の消失が速やかである場合 ③ 当該農薬の成分物質等の物理的化学的性質からみて、その土壌中における移動性が低いこと等の理由により、安全と認められる場合
水中動態に関する試験成績	
(1)加水分解動態試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 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
(2)水中光分解動態試験成績	「加水分解動態試験成績」の場合に同じ。
水産動植物への影響に関する試験成績	
(1)魚類急性毒性試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 1．農薬原体での実施に関し、次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 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、有害でないと認められる場合 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
	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
(2)魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績	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
(3)ミジンコ類急性遊泳阻害試験成績	「魚類急性毒性試験成績」の場合に同じ。
(4)ミジンコ類（成体）急性遊泳阻害試験成績	「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ
(5)ミジンコ類繁殖試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 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、当該農薬が甲殻類の繁殖に影響を及ぼすおそれがない場合
(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成績	「魚類（ふ化仔魚）急性毒性試験成績」の場合に同じ
(7)ヌマエビ・ヌカ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
(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)ユスリカ幼虫急性遊	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合

泳阻害試験成績	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毒性が極めて弱いこと等の理由により、有害でないと認められる場合
(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。
水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験成績	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、有害でないと認められる場合又は下記左欄に掲げる(1)～(4)の試験成績について、それぞれ右欄に掲げる場合
(1)ミツバチ影響試験成績	当該農薬の剤型、使用方法等からみて、ミツバチが当該農薬に暴露するおそれがないと認められる場合
(2)蚕影響試験成績	当該農薬の剤型、使用方法等からみて、蚕が桑葉を摂取すること等により、当該農薬に暴露するおそれがないと認められる場合
(3)天敵昆虫等影響試験成績	当該農薬の剤型、使用方法等からみて、天敵昆虫等が当該農薬に暴露するおそれがないと認められる場合
(4)鳥類影響試験成績 鳥類強制経口投与試験成績 鳥類混餌投与試験成績	①　当該農薬の剤型、使用方法等からみて、鳥類が当該農薬に暴露するおそれがないと認められる場合 ②　鳥類混餌投与試験については、鳥類強制経口投与試験の結果から、強い毒性が認められない場合
有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　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 ②　土壌吸着性、加水分解性、水中光分解性及び生物濃縮性は、当該農薬の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 ③　加水分解性及び水中分解性に関する試験については、それぞれ水中動態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 ④　生物濃縮性については、n-オクタノール／水分配係数が3.5未満の場合
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)～(6)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)水質汚濁性試験成績	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　本試験結果を水質汚濁予測濃度の算出に使用しない場合 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
(2)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　本試験結果を水産動植物被害予測濃度の算出に使用しない場合 ③　水質汚濁性試験の結果から、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
(3)実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（水質汚濁予測濃度及び水産動植物被害予測濃度をいう。以下同じ。）の算出に使用しない場合
(4)模擬圃場を用いた地表流出試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　水田においてのみ使用される場合 ②　本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用しな

	い場合
(5)ドリフト試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 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 ② 本試験結果を環境中予測濃度の算出に使用しない場合
(6)河川における農薬濃度のモニタリング成績	本試験結果を環境中予測濃度の代替として使用しない場合
農薬原体の組成に関する試験成績	
(6)添加物及び不純物の毒性のうち、法第14条第３項の規定に基づき告示された検査方法において、不純物の含有量の上限値が定められている場合における、当該不純物の毒性に関する情報	第５の（２）のイの規定により、農薬原体を被験物質とした試験成績に代えて、試験成績代替書を提出して申請されている場合
(7)農薬原体の同等性	第５の（２）のイの規定により、農薬原体を被験物質とした試験成績に代えて、試験成績代替書を提出して申請されている場合
農作物への残留性に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 １．次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ① 食品の用に供される農作物（特用作物及び家畜の飼料の用に供される農作物を含む。以下同じ。）以外の農作物に使用される場合 ② 当該農薬の剤型、使用方法等からみて、人が当該農薬の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取するもののその摂取量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 ③ 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 ２．１にかかわらず、展着剤については、次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　食品の用に供される農作物以外の農作物に使用される場合 ②　当該展着剤が適用対象となる農薬の残留性に対し何ら影響を及ぼすおそれがないと認められる場合であって、かつ、人が当該展着剤の成分物質等を長期にわたり摂取するおそれがないこと、摂取するもののその摂取量がきわめて微量であること等の理由により、安全と認められる場合 ③　当該展着剤が適用対象となる農薬の残留性に対し何ら影響を及ぼすおそれがないと認められる場合であって、かつ、当該展着剤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
家畜への残留性に関する試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合 ①　家畜代謝試験成績の提出を要しない場合 ②　家畜代謝試験の結果、畜産物中の被験物質及び主要代謝物の残留濃度がいずれも0.01 mg/kg未満の場合 ③　家畜代謝試験の結果、畜産物中に被験物質又は主要代謝物の残留が認められる場合であって、以下のア～ウのすべての条件に該当する場合 ア　畜産物中に残留が認められた被験物質及び主要代謝物の濃度が定量限界に限りなく近いこと イ　家畜代謝試験における家畜への投与量が作物残留試験で得られた残留濃度に基づく予想飼料最大負荷量より著しく多いこと ウ　家畜代謝試験における家畜への投与量に対する予想飼料最大負荷量の比率を考慮して科学的に推定される残留濃度が0.01 mg/kg未満であること
土壌への残留性に関する試験成績	
土壌残留試験成績	次に掲げる区分のいずれかに該当する場合

	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
後作物残留試験成績	当該農薬の土壌残留性の程度等からみて、その使用に係る農地において適用農作物の後に栽培される農作物が当該農薬の成分物質等により汚染されるおそれがない等の理由により、安全と認められる場合

（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」

試験項目	識別番号
1．薬効に関する試験	
○適用病害虫に対する薬効に関する試験	
・薬効・薬害試験	１－１－１
2．薬害に関する試験	
○適用農作物に対する薬害に関する試験	
・薬効・薬害試験	１－１－１
・限界薬量（又は濃度）薬害試験	１－１－２
・茶の残臭試験	１－１－３
・タバコの喫味試験	１－１－４
○周辺農作物に対する薬害に関する試験	
・漂流飛散による薬害試験	１－２－１
・水田水の流出による薬害試験	１－２－２
・揮散による薬害試験	１－２－３
○後作物に対する薬害に関する試験	
・後作物薬害試験	１－３
3．毒性に関する試験	
○急性経口毒性試験	２－１－１
○急性経皮毒性試験	２－１－２
○急性吸入毒性試験	２－１－３
○皮膚刺激性試験	２－１－４
○眼刺激性試験	２－１－５
○皮膚感作性試験	２－１－６
○急性神経毒性試験	２－１－７
○急性遅発性神経毒性試験	２－１－８
○90日間反復経口投与毒性試験	２－１－９
○21日間反復経皮投与毒性試験	２－１－１０
○90日間反復吸入毒性試験	２－１－１１
○反復経口投与神経毒性試験	２－１－１２
○28日間反復投与遅発性神経毒性試験	２－１－１３
○１年間反復経口投与毒性試験	２－１－１４
○発がん性試験	２－１－１５
○１年間反復経口投与毒性試験／発がん性併合試験	２－１－１６
○繁殖毒性試験	２－１－１７
○催奇形性試験	２－１－１８
○変異原性試験	

・復帰突然変異試験 ---------- ２－１－１９－１
・染色体異常試験 ---------- ２－１－１９－２
・小核試験 ---------- ２－１－１９－３
○解毒方法又は救命処置方法に関する試験 ---------- ２－２－１
○動物代謝に関する試験 ---------- ２－３－１
○植物代謝に関する試験 ---------- ２－４－１
○家畜代謝に関する試験 ---------- ２－４－２
○土壌中動態に関する試験
・好気的湛水土壌中動態試験 ---------- ２－５－１
・好気的土壌中動態試験 ---------- ２－５－２
・嫌気的土壌中動態試験 ---------- ２－５－３
○水中動態に関する試験
・加水分解動態試験 ---------- ２－６－１
・水中光分解動態試験 ---------- ２－６－２
○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
・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
・ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験 ---------- ２－７－６
・藻類生長阻害試験 ---------- ２－７－７
○水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験
・ミツバチ影響試験 ---------- ２－８－１
・蚕影響試験 ---------- ２－８－２
・天敵昆虫等影響試験 ---------- ２－８－３
・鳥類影響試験
・鳥類強制経口投与試験 ---------- ２－８－４－１
・鳥類混餌投与試験 ---------- ２－８－４－２
○有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験 ---------- ２－９－１～１７
○環境中予測濃度算定に関する試験
・水質汚濁性試験 ---------- ２－１０－１
・模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験 ---------- ２－１０－２
・実水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験 ---------- ２－１０－３
・模擬圃場を用いた地表流出試験 ---------- ２－１０－４
・ドリフト試験 ---------- ２－１０－５
・河川における農薬濃度のモニタリング ---------- ２－１０－６
○農薬原体の組成に関する試験成績
・農薬原体中の成分の種類及びその含有量 ---------- ２－１１－１
・農薬原体の製造方法 ---------- ２－１１－２

・農薬原体に含有される不純物及びその由来 ---------- ２－１１－３
・農薬原体の組成分析 ---------- ２－１１－４
・農薬原体中の含有量の上限値及び下限値の設定 ---------- ２－１１－５
・添加物及び不純物の毒性 ---------- ２－１１－６
・農薬原体の同等性 ---------- ２－１１－７
・農薬原体の分析法 ---------- ２－１１－８

４．残留性に関する試験

○農作物への残留性に関する試験
・作物残留試験 ---------- ３－１－１
○家畜への残留性に関する試験
・家畜残留試験 ---------- ３－２－１
○土壌への残留性に関する試験
・土壌残留試験 ---------- ３－３－１
・後作物残留試験 ---------- ３－３－２

基本的事項

1. 基本的考え方

（1）本指針は、農薬の登録申請に当たって提出する薬効、薬害、毒性及び残留性に関する試験成績を作成する際の目安として利用するものである。

（2）試験実施者は、本指針に厳密に従うことを要求されているものではない。また、試験実施者が被験物質の特性に応じ、試験の目的をより的確に満たすため試験方法に変更・改善を加えるということを妨げるものではない。

2. 被験物質について

（1）農薬原体（有効成分と、その製造の過程において使用され、又は生成された成分との混合物であって、農薬の原料となるものをいう。）を被験物質として用いる場合は、農薬見本品の原料としての農薬原体と同等のものでなければならない。

（2）製剤を被験物質として用いる場合は、農薬見本品と同等のものでなければならない。

（3）試験期間中は、同じロットの被験物質を用いなければならない。やむを得ず他のロットの被験物質を用いる場合は、先のロットにおける被験物質の組成（含有する成分の種類及び含有量。以下同じ。）と十分近似しているものでなければならない。なお、試験成績には、使用したロットの番号を明記しなければならない。

3. 供試生物について

農薬の安全性評価を的確に行う観点から、各試験項目にわたり同一種・同一系統の試験生物を用いることが望ましい。

4. 実験動物の取扱い等について

動物を用いた実験を実施するに当たっては、動物愛護等の観点から、動物の愛護及び管理に関する法律（昭和48年法律第105号）、実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成18年４月28日環境省告示第88号）、動物愛護に係る国際的な規制・動向等を踏まえ、実験動物の飼育管理、実験操作、処分方法等に十分に注意を払わなければならない。

＜薬効に関する試験＞

適用病害虫に対する薬効に関する試験

薬効･薬害試験（１－１－１）

１．目的

本試験は、農薬のほ場における病害虫・雑草等に対する防除効果（以下「薬効」という。）及び適用農作物に対する薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物

適用農作物の代表的品種。

３．試験方法

（１）試験は、ほ場（適用が施設の場合は施設）で行うこととし、試験の目的を達成するために十分な面積の薬剤処理区及び無処理区並びに原則として対照薬剤区を設ける。薬剤処理区については、登録申請に係る使用方法・薬量（濃度）により薬剤処理を行う。

（２）薬剤処理は、適用病害虫・雑草等の発生状況及び農作物の生育ステージが薬効・薬害を評価する上で適切な時期を選定して行う。

（３）調査は、供試薬剤、適用病害虫・雑草等及び農作物のそれぞれの特性等を考慮した上で適切な方法を選定して行う。

４．報告事項

（１）無処理区及び対照薬剤区と比較した薬剤処理区における薬効

（２）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等

（３）その他の項目

①　農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

②　適用病害虫・雑草の発生状況

③　試験期間中の気象状況（気温、降水量等）

＜薬害に関する試験＞

適用農作物に対する薬害に関する試験（１－１－１～４）

薬効･薬害試験（１－１－１）

同上

限界薬量（又は濃度）薬害試験（１－１－２）

１．目的

本試験は、農薬による薬害が発現しない最高薬量又は最高濃度を明らかにし、適用農作物に対する薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物

登録申請に係る農作物の代表的品種とし、原則として、健全で最も感受性が高い生育ステージのものを用いる。

３．試験方法

（１）試験は、薬害が発現しない最高薬量又は最高濃度を明らかにすることを目的として行うが、使用薬量の高薬量の２倍量で実施しても差し支えない。この場合、試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量の高薬量の２倍量を限度とする薬量（濃度）で行い、使用薬量の高薬量区及び無処理区を設ける。

（２）調査は、薬害を評価するための十分な情報が得られる方法で行う。

４．報告事項

（１）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等

（２）その他の項目

農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

茶の残臭試験（1－1－3）

1．目的

本試験は、茶に使用される農薬について、その薬害の一つとして、農薬に起因する臭気が残るか否かに係る科学的知見を得ることを目的とする。

2．供試農作物

慣行の方法に従って栽培された健全な茶を用いる。品種は「やぶきた」とする。

3．試験方法

（1）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。
（2）調査は、茶の残臭を評価するための十分な情報を得られる方法で行う。

4．報告事項

（1）残臭の有無
（2）その他の項目
① 農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）
② 製茶工程及び保管等に関する情報

タバコの喫味試験（1－1－4）

1．目的

本試験は、タバコに使用する農薬について、その薬害の一つとして、農薬に起因する喫味に対する影響の有無に係る科学的知見を得ることを目的とする。

2．供試農作物

慣行の方法に従って栽培された健全なタバコを用いる。品種は代表的なものとする。

3．試験方法

（1）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。
（2）調査は、タバコの喫味を評価するための情報を得られる方法で行う。

4．報告事項

（1）喫味への影響の有無
（2）その他の項目
① 作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）
② タバコの製造工程及び保管等に関する情報

周辺農作物に対する薬害に関する試験（１－２－１～３）

漂流飛散による薬害試験（１－２－１）

１．目的

本試験は、農薬の飛散による周辺作物への薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物

（１）供試農作物の種類は、適用作物又は適用場所によって、ナス科、ウリ科、アブラナ科、マメ科、イネ科等の中から代表的なものを、それぞれ最低１種ずつ選択するよう配慮する。

（２）品種は、それぞれの農作物の代表的なものとし、最も感受性が高い生育ステージのものを用いる。

３．試験方法

（１）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。

（２）調査は、薬害を評価するための十分な情報が得られる方法で行う。

４．報告事項

（１）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等

（２）その他の項目

農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

水田水の流出による薬害試験（１－２－２）

１．目的

本試験は、水田に施用される農薬のうち、水田水を通じて水系に流出するおそれのあるものを対象に、水系に生育する作物等への薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試作物

イグサ、レンコン、クワイ等代表的なものを用いる。品種は、それぞれの作物の代表的なものとし、最も感受性が高いステージのものを用いる。

３．試験方法

（１）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。

（２）調査は、薬害を評価するための十分な情報が得られる方法で行う。

４．報告事項

（１）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等

（２）その他の項目

農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

揮散による薬害試験（１－２－３）

１．目的

本試験は、蒸気圧が高く、かつ、水溶解度が小さい化合物を有効成分とする農薬のうち、当該化合物が特に微量高活性である農薬（ただし、除草剤に限る。）について、水中又は土壌中からの揮散による周辺作物への薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試作物

感受性が高いと考えられる代表的な農作物を用いる。当該農作物の品種は、代表的なものとし、最も感受性が高い生育ステージのものとする。

３．試験方法

（１）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。
（２）調査は、薬害を評価するための十分な情報を得られる方法で行う。

４．報告事項

（１）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等
（２）その他の事項
　農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

後作物に対する薬害に関する試験

後作物薬害試験（１－３）

１．目的

本試験は、土壌処理剤又は土壌に混入する恐れがある農薬のうち、土壌残留期間が長く、かつ、適用農作物の栽培期間等から判断して必要と考えられる農薬について、後作物への薬害に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物

適用農作物の後作に栽培される可能性のある作物から感受性の高いと思われる作物を選択する。品種はそれぞれの農作物の代表的なものとし、最も感受性が高い生育ステージのものを用いて行う。

３．試験方法

（１）試験は、登録申請に係る使用方法及び使用薬量（濃度）で行い、無処理区を設ける。
（２）調査は、薬害を評価するための十分な情報が得られる方法で行う。

４．報告事項

（１）薬害の有無及びその状態並びに程度（草丈の測定値等）、回復の程度等
（２）その他の項目
　農作物に関する情報（生育状況、処理時の生育ステージ等）

＜毒性に関する試験＞

急性経口毒性試験（２－１－１）

１．目的

本試験は、農薬の毒性を評価する第一段階であり、経口経路による単回暴露によって起こり得る健康障害に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。また、反復投与毒性試験及びその他の試験での用量設定のため、さらに、被験物質の毒作用の性質に関する最初の科学的知見を得るためにも有用である。

２．試験方法

急性経口毒性試験としては「固定用量法」、「毒性等級法」等がある。

Ⅰ固定用量法

１．供試動物

（１）げっ歯類動物（通常、ラット）の若齢成獣を用いる。

（２）原則として、雌を用いる。ただし、雄の方の感受性が高いと判断される情報がある場合には雄を用いる。

（３）雌は、未経産で非妊娠のものを用いる。

２．投与方法

被験物質は、強制による単回経口投与とし、必要に応じて水若しくは適当な溶媒に溶解し又は懸濁するが、当該溶媒の毒性は既知のものであり、かつ、試験結果に重大な影響を与えないものが望ましい。

動物種に応じて、被験物質投与前の絶食の程度を考慮する。

３．観察期間

少なくとも14日間の観察を行う。

４．動物数の設定

（１）見当付け試験

１投与用量につき１匹とする。

（２）主試験

１投与用量につき５匹とする。ただし、見当付け試験を実施している投与用量については、見当付け試験に用いた１匹を加えて５匹となるように４匹を用いて実施する。

５．試験の手順

（１）見当付け試験

主試験の開始投与用量を選定するため、投与用量を5mg/kg体重、50mg/kg体重、300mg/kg体重又は2,000mg/kg体重から選択し、付表２－１－１－①の手順に沿って試験を行う。最初の投与用量の選択に当たっては、明確な毒性が発現すると予想される用量を選択する。被験物質の急性毒性に関する情報がない場合には、投与用量を300mg/kg体重から開始することが望ましい。次の投与までの間隔は、少なくとも24時間　空けなければなら

ない。

また、投与用量5mg/kg体重で死亡した場合には、LD_{50}≦5mg/kg体重とし、主試験は実施せずに試験を終了する。ただし、必要がある場合には、LD_{50}の更なる確認を行ってもよい。

（２）主試験

付表２－１－１－②の手順に沿って試験を行う。ただし、見当付け試験で死亡の見られた投与用量については、主試験で２匹以上の死亡があったものとみなし、主試験は行わない。次の投与までの間隔は、毒性徴候の持続性及び重症度によって決定する。先の投与の動物の生存又は死亡が確認できるまでは、次の投与は行わない。

（３）限界試験

見当付け試験において投与用量2,000mg/kg体重で死亡せず、かつ、主試験において2,000mg/kg体重で被験物質に起因した死亡が１匹以下の場合には、投与用量2,000mg/kg体重を超える用量の投与を行う必要はない。

６．観察及び検査

次の（１）及び（２）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　被験物質投与後30分以内に少なくとも１回、その後１日は頻繁に観察し、引き続き少なくとも毎日１回注意深く一般状態を観察する。

②　すべての試験動物について個体ごとに、肉眼的に観察されたすべての毒性徴候の種類、発現時期、回復時期及び死亡時期を記録する。

③　試験動物の体重は、個体ごとに、被験物質投与直前及び投与後は毎週１回測定するものとし、試験動物が死亡した場合には、死亡時においても測定する。

④　毒性の評価に有効な試験動物の損失を最小限に抑える観点から、死亡動物、衰弱動物又は瀕死動物を発見した場合には、速やかに適切な措置（肉眼的剖検、隔離等）を講ずるものとする。

（２）病理学的検査

すべての試験動物について剖検を行い、肉眼的病理所見を記録する。被験物質投与後24時間以上生存した試験動物の臓器で肉眼的に病理所見の認められたものについては、病理組織学的検査を行うことが望ましい。

Ⅱ毒性等級法

１．供試動物

「固定用量法」に準ずる。

２．投与方法

「固定用量法」に準ずる。

３．観察期間

「固定用量法」に準ずる。

４．動物数の設定

各投与段階につき３匹とする。

５．試験の手順

（１）試験の開始投与用量を5mg/kg体重、50mg/kg体重、300mg/kg体重又は2000mg/kg体重の中から選択し、付表２－１－１－③の手順に沿って試験を行う。最初の投与用量の選択に当たっては、投与した動物のうち何匹かが死亡すると予想される用量を選択する。被験物質の急性毒性に関する情報がない場合には、投与用量を300mg/kg体重から開始することが望ましい。

（２）次の投与までの間隔は、毒性徴候の持続性及び重症度によって決定する。先の投与の動物の生存又は死亡が確認できるまでは、次の投与は行わない。

（３）３匹の動物に投与用量2,000mg/kg体重を投与して、死亡が１匹以下の場合には、新たに2,000mg/kg体重を３匹の動物に投与する。二度目の投与においても被験物質に起因した死亡が１匹以下の場合には、2,000mg/kg体重を超える用量の投与を行う必要はない。

６．観察及び検査

次の（１）及び（２）の項目について実施する。

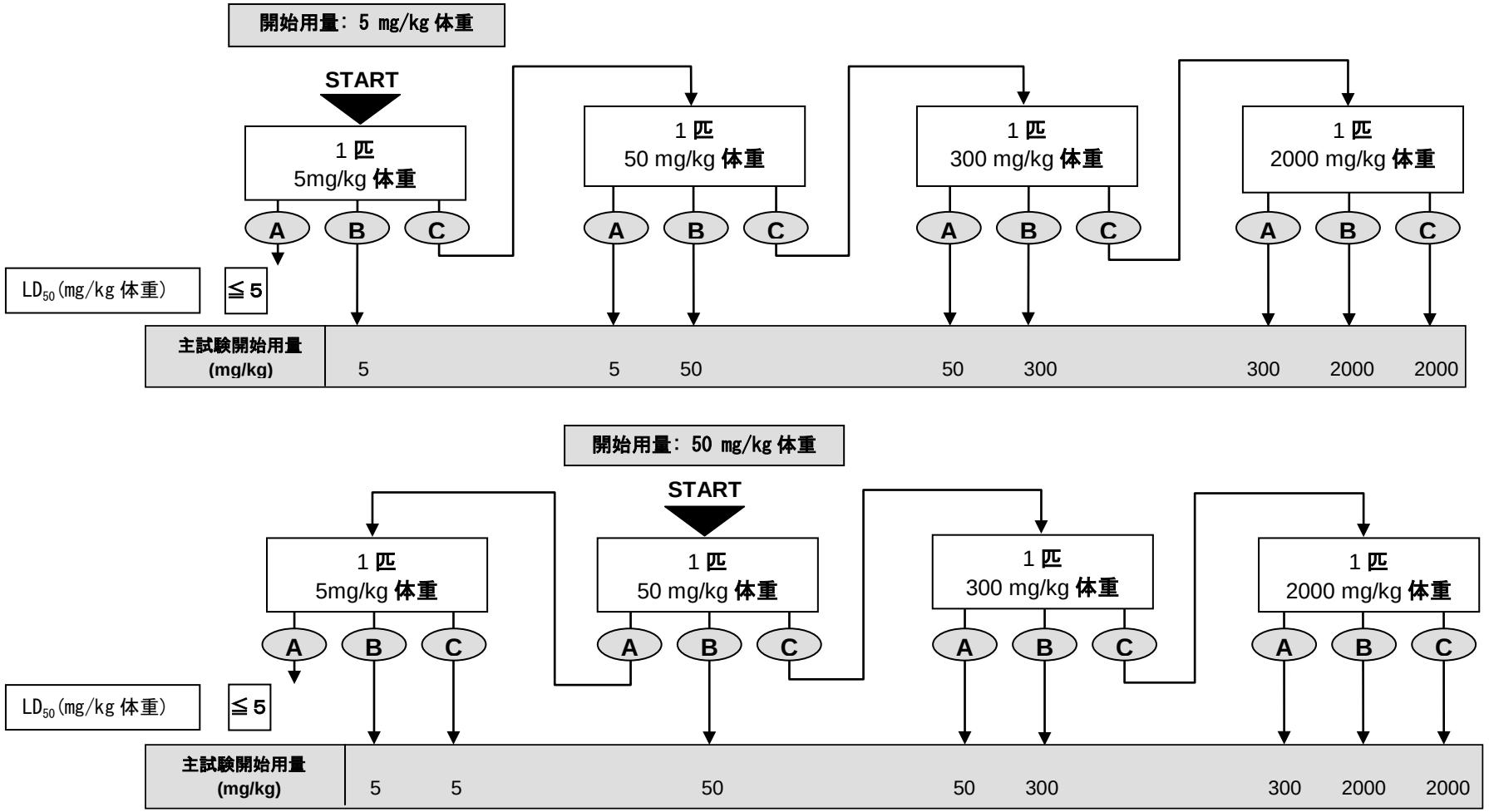
（１）一般状態の観察

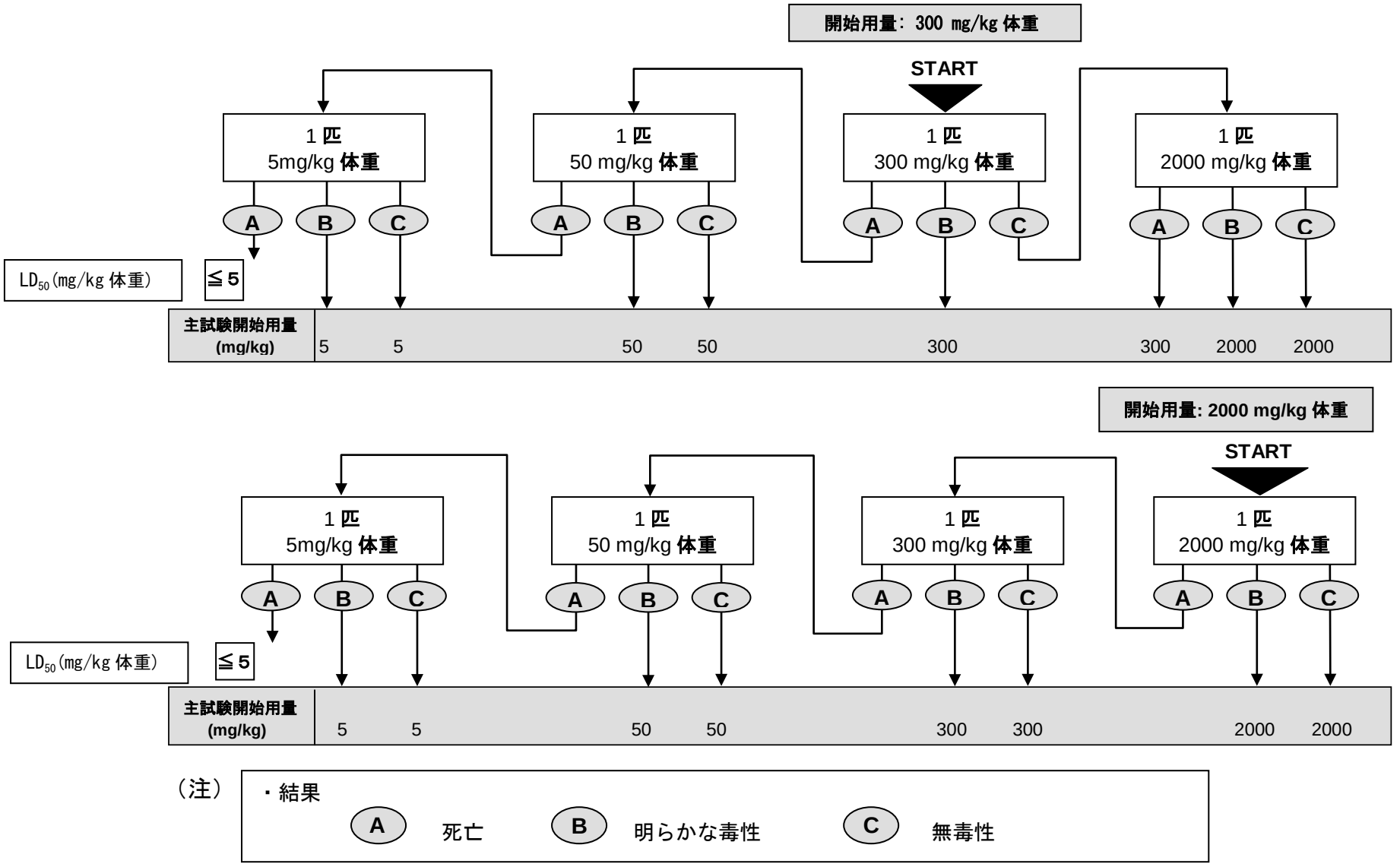
「固定用量法」に準ずる。

（２）病理学的検査

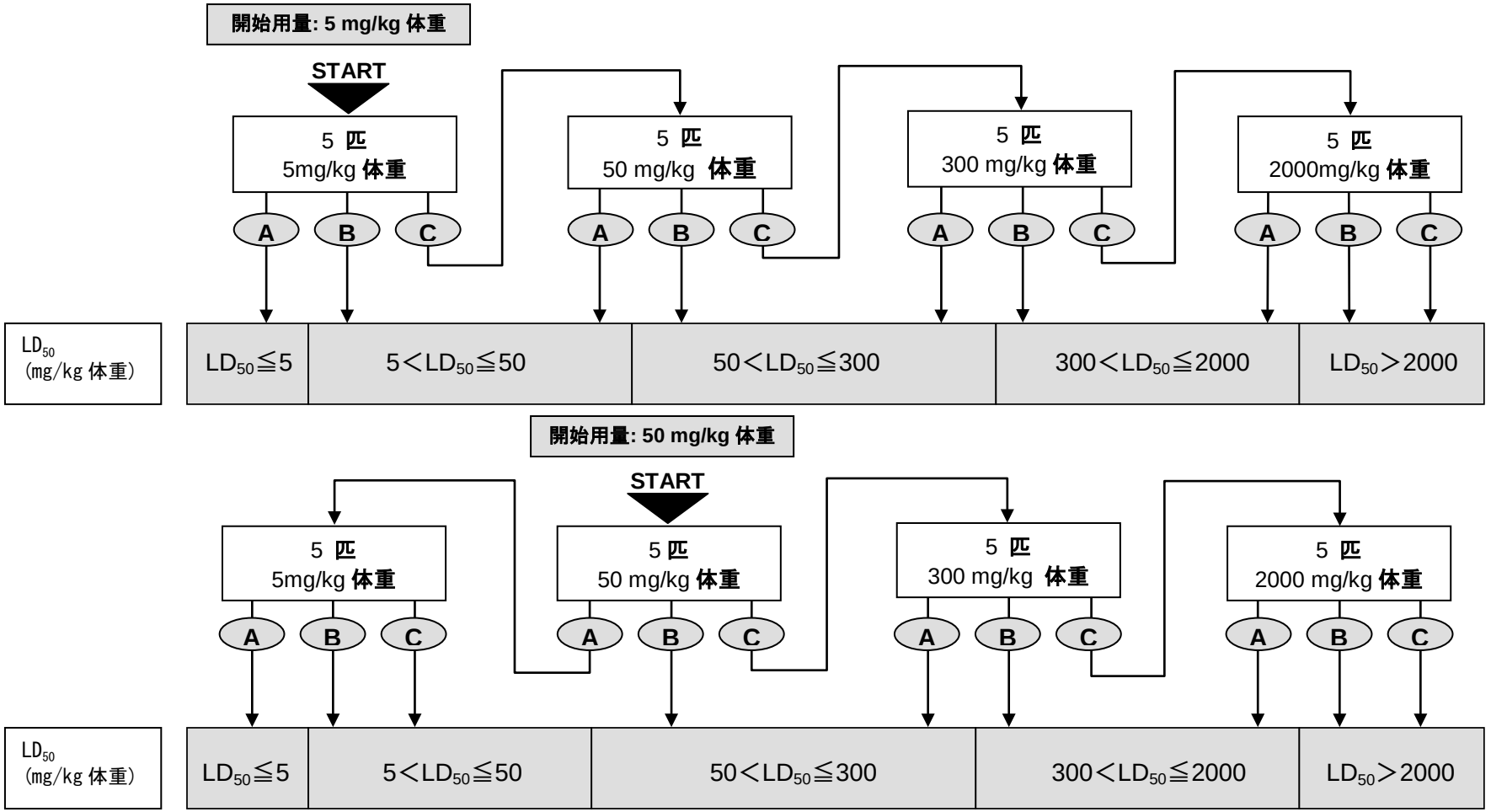
「固定用量法」に準ずる。

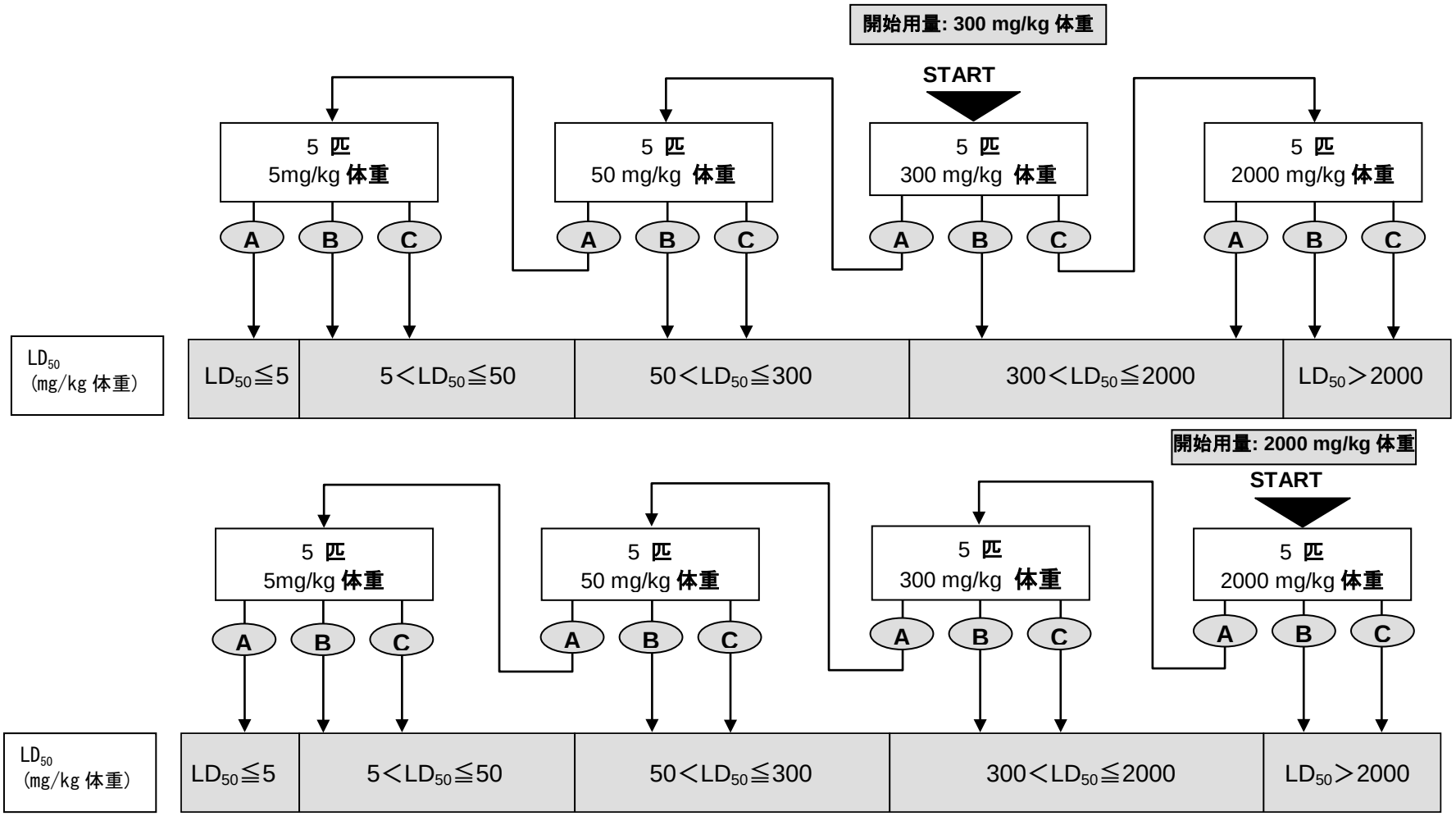
付表２－１－１－①：固定用量法／見当付け試験の手順




開始用量: 300 mg/kg 体重
START
1 匹
5mg/kg 体重
1 匹
50 mg/kg 体重
1 匹
300 mg/kg 体重
1 匹
2000 mg/kg 体重
A
B
C
LD50(mg/kg 体重)
≦5
主試験開始用量
(mg/kg)
5 5 50 50 300 300 2000 2000
開始用量: 2000 mg/kg 体重
START
1 匹
5mg/kg 体重
1 匹
50 mg/kg 体重
1 匹
300 mg/kg 体重
1 匹
2000 mg/kg 体重
A
B
C
LD50(mg/kg 体重)
≦5
主試験開始用量
(mg/kg)
5 5 50 50 300 300 2000 2000
（注）
・結果
A 死亡
B 明らかな毒性
C 無毒性

付表２－１－１－②：固定用量法／主試験の手順





（注）

・結果

A ２匹以上の死亡

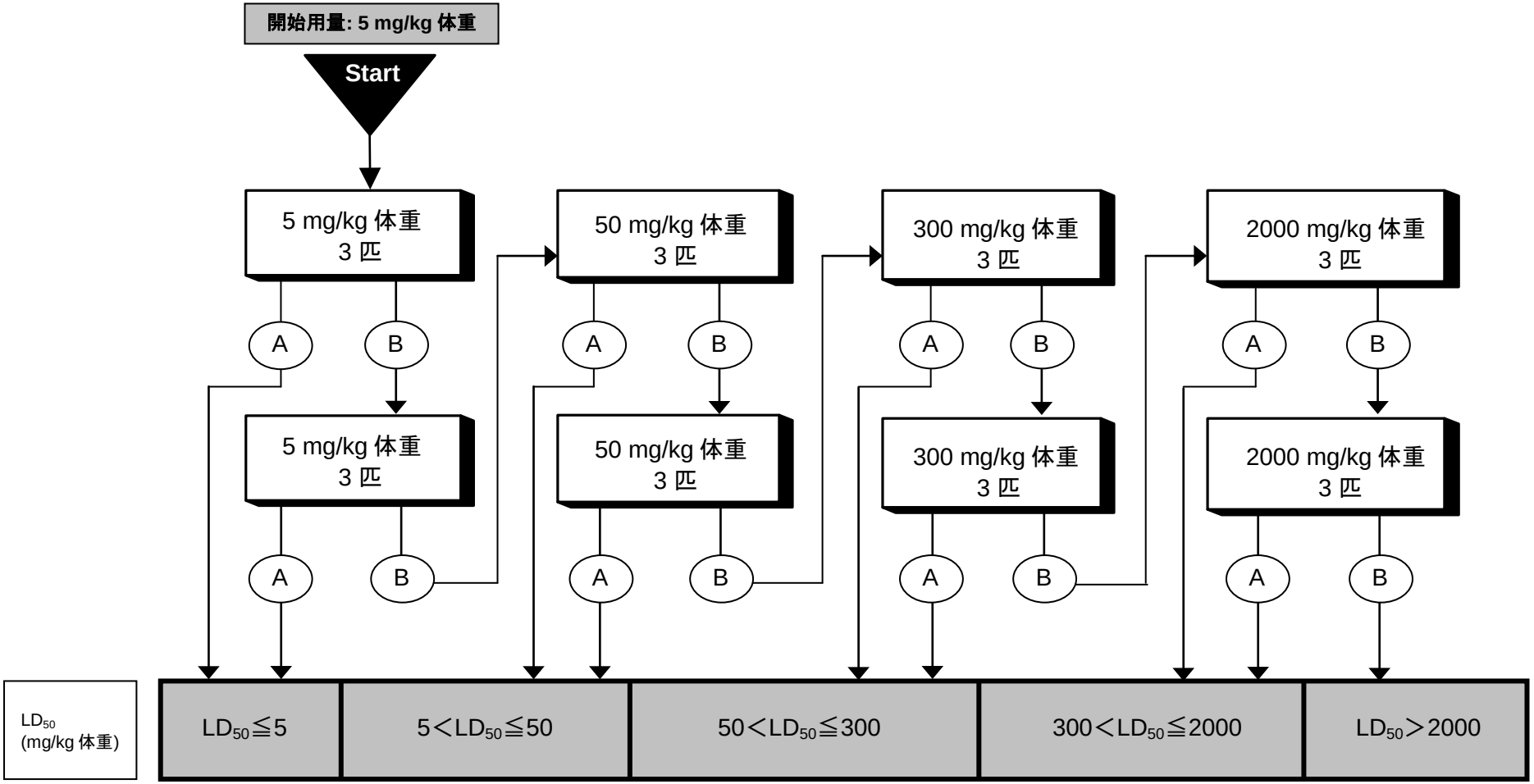
B 「１匹の死亡」、「１匹以上の明らかな毒性」または「１匹の死亡及び１匹以上の明らかな毒性」

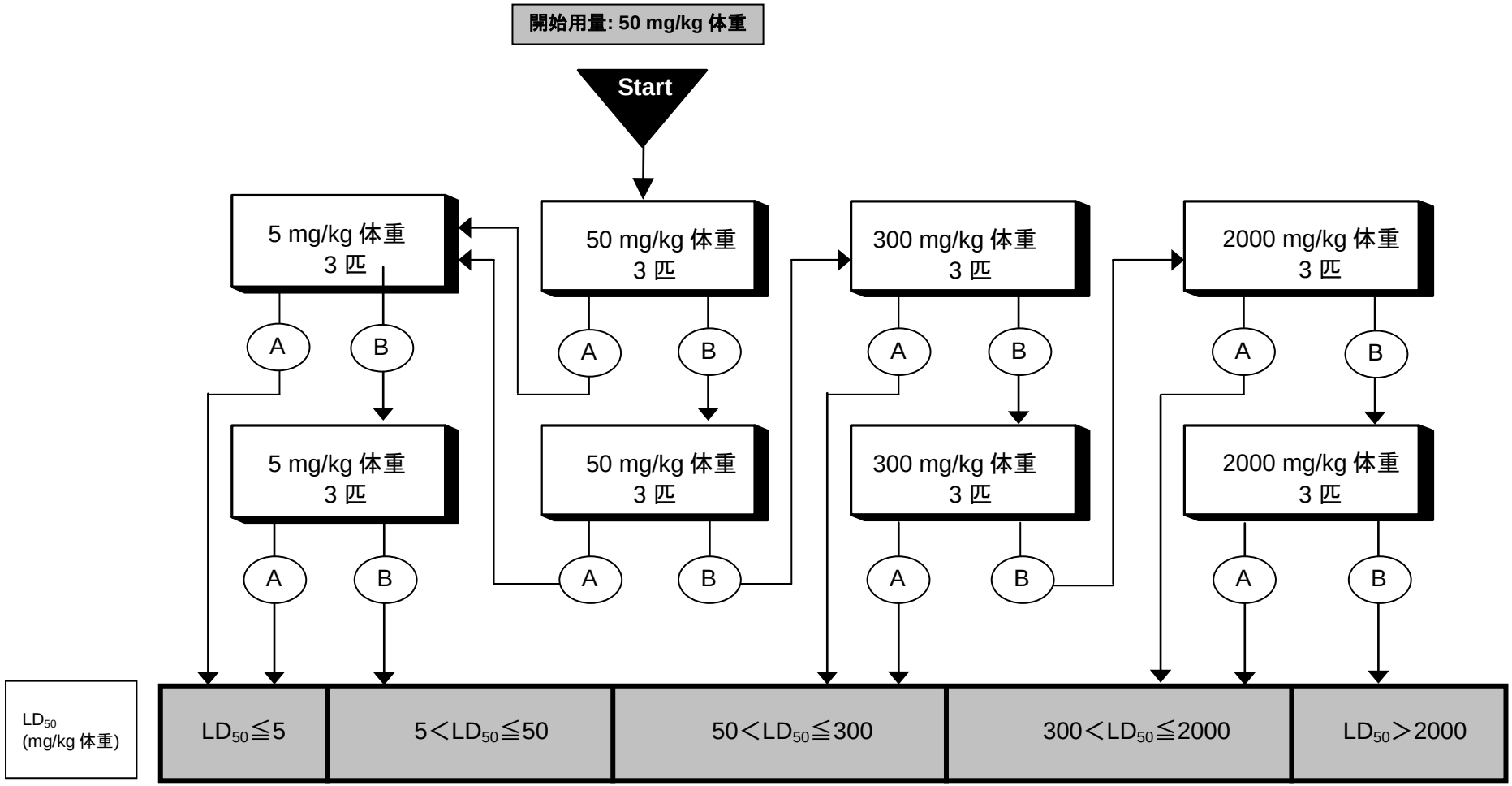
C 無毒性

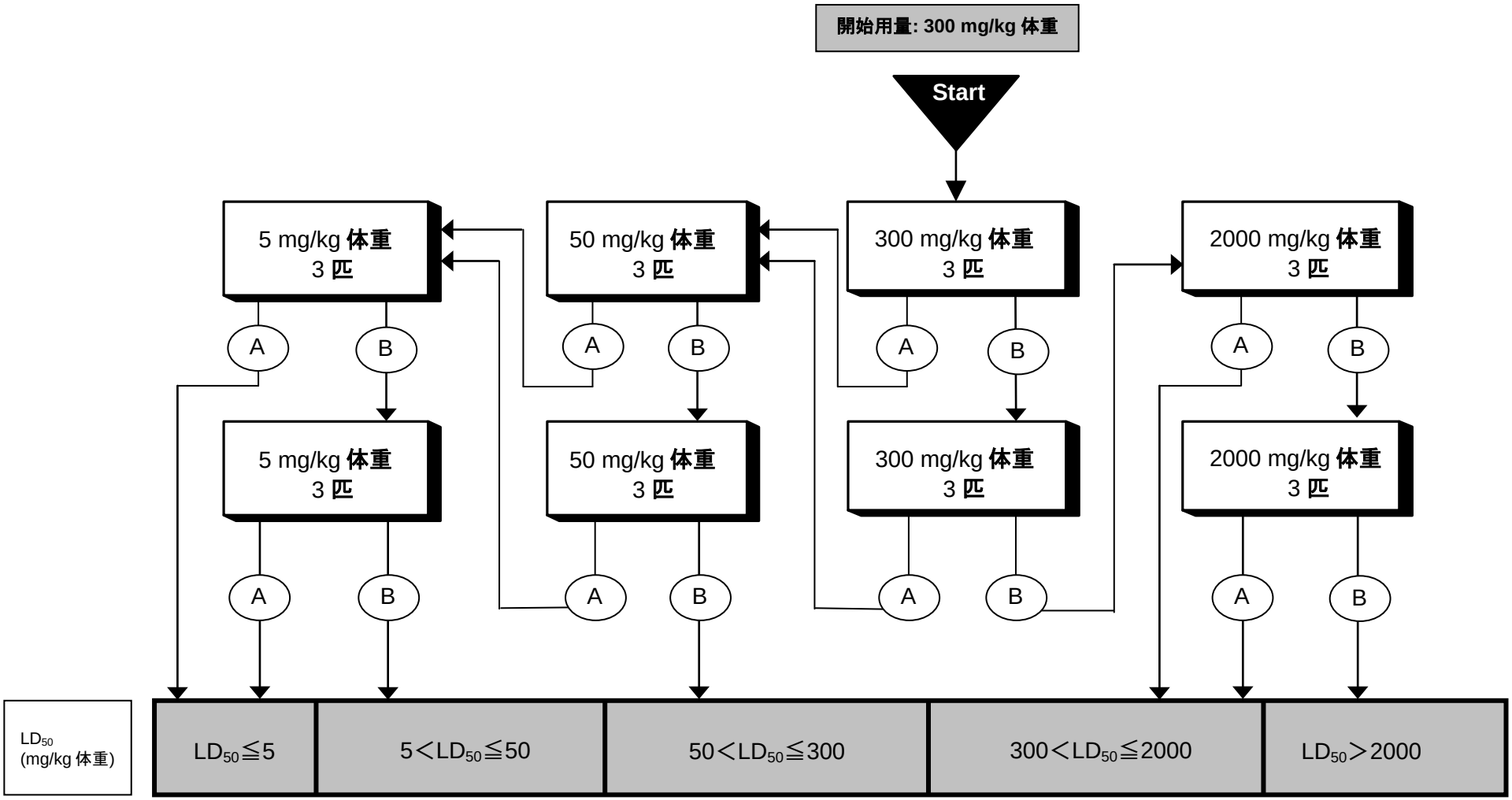
・見当付け試験を実施している投与用量については、見当付け試験に用いた１匹を加えて５匹となるように、４匹を用いて実施する。その場合の試験結果は、見当付け試験に用いた１匹を加えた５匹で判定する。

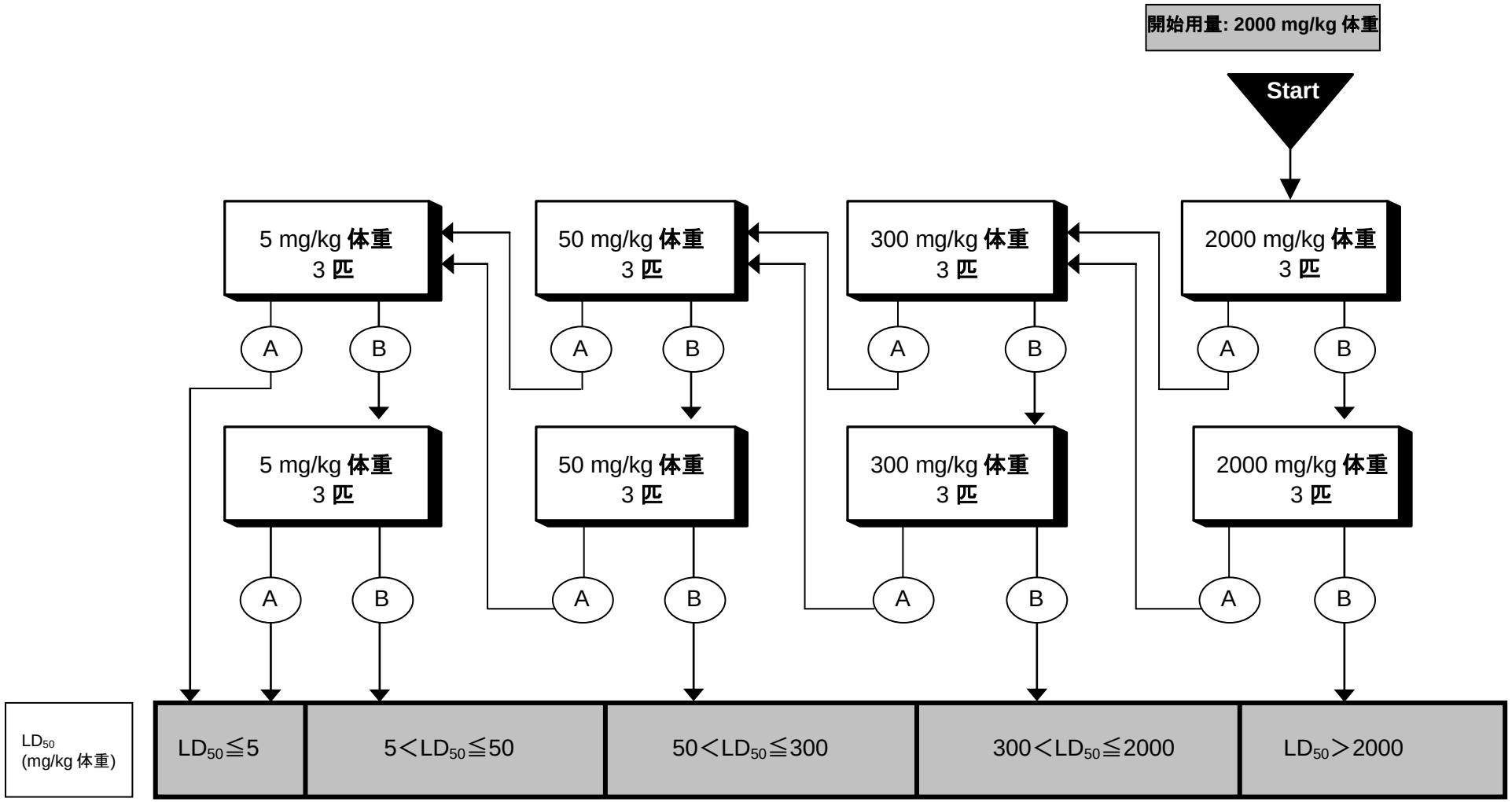
・見当付け試験において死亡の見られた投与用量については、主試験で２匹以上の死亡があったものとみなし、主試験は行わない。

付表２－１－１－③：毒性等級法の手順




開始用量: 50 mg/kg 体重
Start
5 mg/kg 体重
3 匹
50 mg/kg 体重
3 匹
300 mg/kg 体重
3 匹
2000 mg/kg 体重
3 匹
A
B
5 mg/kg 体重
3 匹
50 mg/kg 体重
3 匹
300 mg/kg 体重
3 匹
2000 mg/kg 体重
3 匹
LD50
(mg/kg 体重)
LD50≦5
5＜LD50≦50
50＜LD50≦300
300＜LD50≦2000
LD50＞2000


開始用量: 300 mg/kg 体重
Start
5 mg/kg 体重
3 匹
50 mg/kg 体重
3 匹
300 mg/kg 体重
3 匹
2000 mg/kg 体重
3 匹
A
B
5 mg/kg 体重
3 匹
50 mg/kg 体重
3 匹
300 mg/kg 体重
3 匹
2000 mg/kg 体重
3 匹
A
B
LD50
(mg/kg 体重)
LD50≦5
5＜LD50≦50
50＜LD50≦300
300＜LD50≦2000
LD50＞2000



・結果

A　２～３匹の死亡　　B　０～１匹の死亡

（死亡動物数には瀕死状態のため屠殺した動物を含む。）

急性経皮毒性試験（２－１－２）

１．目的

本試験は、経皮経路による農薬の単回暴露によって起こり得る健康障害に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

（１）ラット、ウサギ、モルモット等の哺乳動物のうち一種以上（供試動物の体重範囲はおおむね以下に示すとおり。ラット200～300g、ウサギ2.0～3.0kg、モルモット350～450g）を用いる。

（２）若齢成獣を用いる。

（３）雌は、未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

（１）被験物質投与の約24時間前に、試験動物の躯幹背部の被毛を刈毛又は剃毛により取り除く。この時、被験物質の皮膚透過性に影響を及ぼすので皮膚を損傷しないよう注意を払う。

（２）体表面積の少なくとも10%（ラット４cm×５cm、ウサギ12cm×14cm、モルモット７cm×10cm）は、被験物質の適用のためにきれいに剃毛する。剃毛する範囲を決める際には動物の体重を考慮する。

（３）被験物質は、体表面積の約10%の範囲に均一に適用するものとし、高い毒性を有する被験物質では、塗布面積はより小さくなる場合もあるが、塗布部位全体にできるだけ薄く均一に塗布するものとする。

（４）被験物質が固体の場合は、適宜、粉砕し、水又は溶媒を用いて十分に湿らせ、皮膚とよく接触させる。なお、溶媒を用いる場合は皮膚に刺激性のないものを用い、また、被験物質の皮膚透過性に対する溶媒の影響に注意を払う。液状の被験物質は、一般に希釈せずに使用する。

（５）被験物質の塗布期間は24時間とし、その間、塗布部位を多孔性のガーゼで覆い、非刺激性のテープで皮膚との接触を保つように止める。塗布部位は、被験物質とガーゼを保持するために適当な方法でさらに覆い、試験動物が被験物質を摂取できないようにしなければならない。

（６）塗布期間終了後、皮膚に付着している被験物質を水又は適当な溶媒を用いて除去する。

４．観察期間

少なくとも14日間の観察を行う。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

一群につき５匹程度とし、すべて同性とする。

（２）試験群の設定

①　少なくとも３段階の用量設定による被験物質投与群を設ける。

②　一方の性での試験に加えて、少なくとも他方の性１群に投与し、他方の性の動物が被験物質に対して著しく高い感受性を持っていないことを確かめる。どちらかの

性の供試動物がより高い感受性を持つという十分な情報が得られている場合には、他の性による試験は省略してもよい。

③　投与群は、毒性徴候と死亡動物が発生するよう適当な間隔の用量段階を設ける。投与群の設定は、用量－反応曲線及びおおよそのＬＤ$_{50}$を決定するのに十分でなければならない。

（３）限界試験

2,000mg/kg体重以上の１用量での試験で、被験物質に起因した死亡が認められない場合には、当該用量以上の投与群で試験を実施する必要はない。ただし、他の性１群に2,000mg/kg体重を投与し、感受性を確認するものとする。

６．観察及び検査

次の（１）及び（２）の項目について実施する。

（１）一般状態

①　被験物質を投与した日は頻繁に観察し、引き続き少なくとも毎日１回注意深く一般状態を観察する。

②　すべての試験動物について個体ごとに、肉眼的に観察されたすべての毒性徴候の種類、発現時期、回復時期及び死亡時期を記録する。

③　試験動物の体重は、個体ごとに、被験物質投与直前及び投与後は毎週１回測定するものとし、試験動物が死亡した場合には、死亡時においても測定する。

④　毒性の評価に有効な試験動物の損失を最小限に抑える観点から、死亡動物、衰弱動物又は瀕死動物を発見した場合には、速やかに適切な措置（肉眼的剖検、隔離等）を講ずるものとする。

（２）病理学的検査

「急性経口毒性試験」に準ずる。

急性吸入毒性試験（２－１－３）

１．目的

本試験は、吸入経路による農薬の単回暴露によって起こり得る健康障害に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

（１）１種以上の哺乳動物（通常ラット）の若齢成獣を用いる。

（２）雌は、未経産で非妊娠のものを用いる。

３．暴露方法

（１）吸入装置で設定濃度に少なくとも４時間暴露する。暴露方法は全身又は鼻部暴露とし、暴露中は給餌給水は行わない。

（２）暴露中は、流量、被験物質の実際濃度、粒子径分布、温度及び湿度をモニタリングし、これらに関する条件を一定に保つ。

（３）粒子径（空気力学的質量中位径）は１～４μmが望ましい。または、実施可能な最小粒子径とする。

（４）被験物質が揮発性の場合には、爆発の起こる濃度にならないよう注意する。

４．観察期間

少なくとも14日間の観察を行う。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

一群につき５匹程度とし、すべて同性とする。

（２）試験群の設定

①　少なくとも３段階の用量設定による被験物質暴露群を設ける。

②　一方の性での試験に加えて、少なくとも他方の性１群に暴露し、他方の性の動物が被験物質に対して著しく高い感受性を持っていないことを確かめる。どちらかの性の供試動物がより高い感受性を持つという十分な情報が得られている場合には、他の性による試験は省略してもよい。

③　暴露群に毒性徴候と死亡動物が発生するよう適当な間隔の暴露量段階を設ける。

④　暴露群の設定は、濃度－反応曲線及びおおよその半数致死濃度（LC_{50}）を決定するのに十分でなければならない。

⑤　暴露環境中、被験物質の適切な濃度を維持するため媒体を使用する場合には、当該媒体は毒性が既知のものであり、かつ、試験結果に重大な影響を与えないものが望ましい。

⑥　必要な場合には、溶媒対照群試験を行う。

（３）限界試験

①　５mg/ｌの暴露濃度（呼吸可能な被験物質の実際の濃度）で４時間の試験により被験物質に関連した死亡を生じない場合は、当該濃度以上での試験は必要ない。ただし、他の性１群に5mg/ｌを暴露し、感受性を確認するものとする。

②　被験物質の物理化学的性質のために5mg/ｌでの暴露が不可能な場合であって、かつ、本試験法の操作手順を使って得られる最高濃度で被験物質に関連した死亡を生

じない場合は、当該濃度以上で実施する必要ない。ただし、他の性１群にその最高濃度を暴露し、感受性を確認するものとする。

６．観察及び検査

次の（１）及び（２）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

「急性経皮毒性試験」に準ずる。

（２）病理学的検査

① 呼吸器系の変化に着目し、観察した毒作用を考慮し、すべての試験動物について剖検を行い、すべての肉眼的病理所見を記録する。

② 24時間以上生存した試験動物の臓器について肉眼的に異常所見の認められたものについては、病理組織学的検査を行うことが望ましい。

皮膚刺激性試験（２－１－４）

１．目的

本試験は、農薬の皮膚刺激性／腐食性に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

３匹以上の白色ウサギの若齢成獣を用いる。

３．投与方法

（１）試験の約24時間前に体幹背部の毛を短く刈る。皮膚を損傷しないように注意を払い、健康な無傷の皮膚を持つ動物だけを使用する。

（２）被験物質が固体の場合は、適宜、粉砕し、水又は溶媒を用いて十分に湿らせ、皮膚とよく接触させる。なお、溶媒を用いる場合は皮膚に刺激性のないものを用い、また、被験物質の皮膚透過性に対する溶媒の影響に注意を払う。液状の被験物質は、一般に希釈せずに使用する。

（３）液状の被験物質は0.5ml、固体又はペースト状の被験物質は0.5gを試験局所に適用する。

（４）被験物質は、皮膚の小範囲（約６cm^2）に適用し、投与（適用）期間中、ガーゼパッチで覆い、非刺激性テープで止める。液状やペースト状の場合にはガーゼパッチに被験物質を塗り、そのガーゼパッチを皮膚に適用する方法をとってもよい。パッチは暴露期間中適当な半閉塞包帯で皮膚との接触を保つようにする（場合によっては閉塞包帯を使用してもよい。）。なお、その動物の未処置部分の皮膚を対照とする。

（５）暴露時間は通常４時間とし、暴露期間終了時に、皮膚に付着している被験物質を水や適当な溶媒等を用いて除去する。

４．投与に係る留意点

（１）重度の皮膚刺激性／腐食性が疑われる場合

①　被験物質に重度の皮膚刺激性／腐食性が疑われる場合は１匹の動物で実験を行う。

②　被験物質に腐食性が疑われる場合は、３つの試験パッチを同時に１匹の動物に適用する。１番目のパッチは暴露３分後に除去する。強い皮膚反応が観察されない時は、２番目のパッチを暴露１時間後に除去する。この段階で暴露を動物愛護の観点から４時間に延長することができると判断した場合には、３番目のパッチを暴露４時間後に除去し、皮膚反応を等級付けする。なお、暴露３分後又は１時間後に強い皮膚刺激性が観察されたときは、残っているパッチを除去して直ちに試験を終了する。

以上の代わりに３つのパッチを連続的に適用して観察してもよい。

③　被験物質に重度の皮膚刺激性が疑われる場合には、１つのパッチを１匹の動物に４時間適用する。

④　４時間暴露後に重度の皮膚刺激性／腐食性が観察されないときは、２匹の追加試験動物を用い、それぞれ１つのパッチで４時間試験する。

（２）被験物質が重度の皮膚刺激性／腐食性を生じないと予想される場合

試験は３匹の動物を用いて開始し、それぞれ１つのパッチを適用し４時間の暴露を行う。

５．一般状態の観察及び採点

（１）動物はパッチ除去30分（又は60分）、24時間、48時間及び72時間後に紅斑と浮腫の徴候について観察し、皮膚反応を採点する。

（２）皮膚刺激性／腐食性は、別表の評価基準に基づき採点し記録する。なお、可逆性を明確にさせるために必要な場合には、さらにその後の観察を行う。一般には適用後14日を超える必要はない。

（３）皮膚刺激性／腐食性観察に加えて、重篤な障害その他の毒作用を十分に記録する。

（別表）　皮膚刺激性／腐食性の評価基準

１．紅斑及び痂皮の形成

（１）紅斑なし・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）非常に軽度の紅斑（かろうじて識別できる。）・・・・・・・・・・・・１

（３）はっきりした紅斑・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・２

（４）中等度又は重度の紅斑・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３

（５）重度の紅斑（深紅色）又は痂皮形成（紅斑の採点不能）まで・・・４

最高点：４

２．浮腫の形成

（１）浮腫なし・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）非常に軽度の浮腫（かろうじて識別できる。）・・・・・・・・・・・・１

（３）軽度の浮腫（はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる。）・２

（４）中等度の浮腫（約１㎜の膨隆）　・・・・・・・・・・・・・・・・・３

（５）高度の浮腫（１㎜以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり）　・・・４

最高点：４

眼刺激性試験（２－１－５）

１．目的

本試験は、農薬の眼及び眼粘膜への刺激性／腐食性に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

３匹以上の白色ウサギの若齢成獣を用いる。

３．投与方法

（１）試験開始前24時間以内に試験動物の両眼を検査する。眼に異常のある動物は使用してはならない。

（２）液状の被験物質は希釈しないで0.1ml、固体又はペースト状のものは容量で0.1ml又は重量で0.1gを超えない範囲で適用する（容量又は重量は常に記録する。）。なお、被験物質が固形又は粒状のものについては、粉砕し、微粉末にする。

（３）被験物質は、片側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、その結膜嚢内に適用する。被験物質の損失を防ぐため約１秒、両眼瞼を緩やかに合わせ保持する。無処置の他眼を対照とする。

なお、圧力のかかったエアゾル容器内に含まれる被験物質については、開眼させた状態で、眼の前方10cmの距離から約１秒間の１回噴射で適用する。

（４）被験物質が激しい痛みを起こすと考えられる場合には、投与前に局所麻酔を施しても差し支えない。ただし、局所麻酔を投与するに当たっては、その使用により被験物質に対する生体の反応性に有意な差が生じないよう十分に注意する。

（５）供試動物の眼は、被験物質点眼後24時間は洗眼してはならない。24時間の時点で適切と考えられる場合には洗眼を行ってもよい。

（６）試験の結果、眼刺激性が認められた場合には、少なくとも３匹の動物を用いて洗眼効果を確認する試験を行う。この場合、処置眼は点眼約30秒後に30秒間、眼に障害を与えない程度の量と流速で洗眼を行う。

４．投与に係る留意点

被験物質に重度の眼刺激性が疑われる場合は、１匹の試験動物で試験を行うこととし、その結果、被験物質に重度の眼刺激性又は腐食性が認められる場合には、試験動物を追加して試験を実施する必要はない。

５．一般状態の観察及び採点

（１）被験物質の投与後１時間、24時間、48時間及び72時間における眼の一般状態について観察し、記録するとともに、別表の評価基準に基づき、被験物質に対する眼の反応性（刺激性／腐食性）を記録する。なお、投与後24時間における観察終了後、一部又はすべての試験動物の眼をフルオレセインを使用して、さらに検査してもよい。

（２）投与後72時間までに眼刺激性が認められない場合には、本試験を終了するものとする。

（３）持続性の角膜障害その他の眼刺激性認められる場合には、被験物質投与後21日を超えない範囲内において、損傷の経過等（可逆性、非可逆性等）について、観察を続けるものとする。

（４）観察は、角膜、虹彩及び結膜の観察に加え、確認された損傷等はすべて記録するものとする。

（別表）　眼の刺激性／腐食性の評価基準

角膜　＊

混濁：混濁の程度（最も濃い部分で判定する）

（１）潰瘍又は混濁を認めない・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）散在性又はびまん性の混濁（通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる。）、虹彩の細部は明瞭に透視可能・・・・・・１

（３）透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭・・・・・２

（４）真珠様光沢部位あり、虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３

（５）角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない・・・・・・４

最高点：４

＊：角膜の混濁範囲を記録する

虹彩

（１）正常・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）明瞭な深いひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組合せ、虹彩はまだ光に反応する（反応は遅く鈍い）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１

（３）対光反応消失、出血、著しい組織崩壊（これらのいずれか又はすべて）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・２

最高点：２

結膜

発赤（眼瞼及び眼球結膜、角膜、虹彩）

（１）血管正常・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）一部の血管が明らかに充血・・・・・・・・・・・・・・・・・・１

（３）びまん性の深紅色、個々の血管は容易に見分けられない・・・・２

（４）びまん性の牛肉様赤色・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３

最高点：３

結膜浮腫（眼瞼結膜及び瞬膜）

（１）腫脹なし・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０

（２）正常を超える腫脹（瞬膜を含む）・・・・・・・・・・・・・・・１

（３）眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹・・・・・・・・・・・・・・・２

（４）眼瞼の1／2未満の閉鎖を伴った腫脹・・・・・・・・・・・・・・３

（５）眼瞼の1／2以上の閉鎖を伴った腫脹・・・・・・・・・・・・・・４

最高点：４

皮膚感作性試験（２－１－６）

１．目的

本試験は、農薬の皮膚感作性に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．試験動物種、齢及び性

（１）モルモット若齢成獣を用いる。

（２）雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．試験方法

比較的実施頻度の高い試験方法は、Guinea-pig Maximization Test（以下「ＧＰＭ法」という。）及びBuehler Test（以下「Buehler法」という）である。しかしながら、感作性に関する情報を得ることができればその他の試験法で代替してもよい。

４．試験操作

（１）ＧＰＭ法

①　試験群の設定

被験物質処置群、陰性対照群及び陽性対照群を設ける。陽性対照群は既知の感作性物質を用いて試験を実施する。最近の背景データがあれば、それを用いてもよい。

②　動物数の設定

ア　被験物質処置群には少なくとも10匹、対照群には少なくとも５匹用いる。

イ　被験物質処置群に20匹未満、対照群に10匹未満の動物を使用している場合でかつ被験物質が感作性物質と結論できない場合には、被験物質処置群では少なくとも総数が20匹、対照群では少なくとも総数が10匹となるまで追加試験を行うことが望ましい。

③　用量の設定

ア　感作暴露に用いる被験物質の濃度は、全身的に十分に耐性のある濃度で、軽度から中等度の皮膚刺激性を示す最高濃度とする。

イ　惹起暴露に用いる被験物質の濃度は、刺激を示さない最高濃度とする。

ウ　２匹又は３匹の試験動物を用いて、適切な被験物質の濃度を決定する。

④　初回感作（皮内注射による。）

以下の方法により行う。

ア　被験物質処置群

除毛した肩部の正中線の両側に、以下のとおり３対の皮内注射（0.1ml）を行う。

注射１：Freund's complete adjuvant（以下「ＦＣＡ」という）と水（又は生理食塩液）の１：１(v/v）の混合物

注射２：適切な溶媒中での所定濃度の被験物質

注射３：ＦＣＡと水（又は生理食塩液）の１：１（v/v）混合物中での所定濃度の被験物質

イ　陰性対照群

以下のとおり３対の皮内注射（0.1ml）を被験物質処置群と同じ位置に行う。

注射１：ＦＣＡと水（又は生理食塩液）の１：１(v/v）の混合物

注射２：処置群で用いた溶媒のみ

注射３：ＦＣＡと水（又は生理食塩液）の１：１（v/v）混合物

⑤　再感作（貼付適用による。）

ア　初回感作５～７日後の再感作

被験物質が皮膚刺激性物質でない場合には、再感作適用の約24時間前に試験区画を短く刈毛又は剃毛した後、再感作を促進するため10%ラウリル硫酸ナトリウム含有のワセリン0.5mlを塗布する。

イ　初回感作６～８日後の再感作

以下の方法により行う。

（ア）被験物質処置群

試験区を再度除毛する。適切な溶媒で調製した被験物質を濾紙又はガーゼ（2×4cm）に十分に含ませた後試験区画に適用し、48時間閉塞貼付する。

溶媒の選択には理由が必要である。固体は細かく粉砕し適切な溶媒と混合する。液体の場合には適切であれば希釈せずに適用する。

（イ）陰性対照群

処置群と同様に溶媒を48時間閉塞貼付する。

⑥　初回惹起（貼付適用による。）

ア　再感作（貼付適用による。）14日後に行う。

イ　被験物質処置群及び対照群の動物の腹側部を除毛する。被験物質を塗布したパッチ又はチャンバーを動物の一方の腹側部に適用し、必要であれば溶媒のみを塗布したパッチ又はチャンバーも同様に他方の腹側部に適用する。

ウ　パッチは24時間閉塞貼付する。

⑦　観察

ア　パッチ除去後の約21時間後に、必要があれば惹起区画を除毛する。

イ　３時間後（惹起パッチ適用開始から約48時間後）皮膚反応を観察し、以下に示した基準に従って記録する。

ウ　１回目の観察の24時間後に再度皮膚反応を観察し、記録する。

＜惹起パッチテスト反応評価のための基準＞

肉眼的変化なし・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・０
散在性又は斑状の紅斑・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・１
中等度びまん性紅斑・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・２
強い紅斑と浮腫・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・３

⑧　再惹起

初回惹起で得られた結果を明白にする必要がある場合には、適切であれば新たに対照群を設けて、初回惹起の約１週間後に実施する。初回惹起に用いた対照群を引き続き用いても差し支えない。

⑨　一般症状観察

感作及び惹起の結果生じた皮膚反応及び異常所見をすべて記録する。

（２）Buehler 法

①　試験群の設定

被験物質処置群、陰性対照群及び陽性対照群を設ける。陽性対照群は既知の感作性物質を用いて試験を実施する。最近の背景データがあれば、それを用いてもよい。

②　動物数の設定

被験物質処置群には少なくとも20匹、対照群には少なくとも10匹を用いる。

③　用量の設定

ＧＰＭ法に同じ。

④　初回感作（貼付適用による。）

以下の方法により行う。

ア　被験物質処置群

一方の肩又は側部を除毛する。試験に適切な溶媒で調製した被験物質を試験パッチ（4～6cm^2）に含ませたものを試験区画に適用し、６時間閉塞貼付する。

イ　陰性対照群

被験物質処置群と同一の方法で、溶媒のみを適用する。

⑤　再感作（貼付適用による。）

ア　初回感作６～８日後及び13～15日後に行う。

イ　同じ肩又は側部の同じ試験区画に初回感作と同様の処置を行う。

⑥　惹起

ア　再感作14日後に行う。

イ　被験物質処置群及び対照群の動物の腹側部を除毛する。被験物質を塗布したパッチ又はチャンバーを動物の一方の腹側部の適用し、必要であれば溶媒のみを塗布したパッチ又はチャンバーも同様に他方の腹側部に適用する。なお、パッチは６時間閉塞貼付する。

⑦　観察

ア　バッチ除去後の約21時間後に必要があれば惹起区画を除毛する。

イ　約３時間後（惹起パッチ適用開始から約30時間後）皮膚反応を観察し、ＧＰＭ法に示した等級に従って記録する。

ウ　１回目の観察の24時間後に再度皮膚反応を観察し、記録する。

⑧　再惹起

ＧＰＭ法に同じ。

⑨　一般状態観察

ＧＰＭ法に同じ。

急性神経毒性試験（２－１－７）

１．目的

本試験は、農薬の単回暴露による神経系への毒性の特徴を明確にし、その毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

（１）げっ歯類（通常、ラット）を用いる。

（２）離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢の動物、通常５～６週齢の動物を用いる。

（３）原則として雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

（１）被験物質の投与は、必要に応じて投与経路（経口、経皮又は吸入）を選択し行う。

（２）方法は急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験又は急性吸入毒性試験に準じて行う。

４．観察期間

被験物質を単回暴露後、14日間の観察を行う。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　試験に用いる動物数は、詳細な症状観察及び機能検査のために必要な各群雌雄各10匹以上とし、その中から神経病理組織学的検査に必要な各群雌雄各５匹以上を得ること。

②　各群への動物の割付けには、体重層別等による適切な無作為抽出法を用いる。

③　最終的には試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　対照群の他に少なくとも３段階の用量設定により投与群を設ける。

イ　用量段階は被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を引き起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ウ　用量設定に当たっては、本試験に先だって実施した毒性試験の結果等を参考とすること。また、用量設定の根拠を示すこと。

エ　技術的に投与可能な最大量又は2,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　対照群としては、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件の群を設ける。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行う。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使

用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

6．観察及び検査

次の（1）～（4）の項目について実施する。

（1）一般状態の観察

① 全動物について、一般状態を毎日注意深く観察する。

② 観察は全身状態、異常行動の有無及び死亡の有無を観察する。

③ 全動物について投与開始前及び投与開始後少なくとも週1回、体重を測定する。

（2）詳細な状態の観察

① 対象となる各群雌雄各10匹以上の動物について、投与開始前、投与後8時間以内で最も影響が現れることが予想される時間、投与7日後及び14日後に行う。観察は、飼育ケージ内及び観察台上で行う。

② 観察は、項目毎に明確な判断基準と尺度基準を定めた採点法を用い、標準化された手順に従って行う。

③ 検査は、通常、次の項目について行う。

外観（皮膚、被毛、眼・眼球及び粘膜等の変化、分泌物の有無等）、体位、姿勢（円背位等）、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸状態、排泄状態等）、運動協調性、歩行の異常、動物の取扱操作及び環境刺激に対する反応、神経系（振戦、痙攣、筋収縮性等）、探索行動の変化、常同行動（身づくろいの変化、くびふり、旋回等）、異常行動（自咬、後ずさり、異常発声等）、攻撃性等

（3）機能検査

① 対象となる各群雌雄各10匹以上の動物について、投与開始前、投与後8時間以内で最も影響が現れることが予想される時間、投与7日後及び14日後に行う。

② 検査は、通常、次の項目について行う。

種々の刺激（聴覚刺激、視覚刺激、固有受容器刺激等）に対する感覚運動反応、握力及び自発運動量（自動記録装置を用いる。）。

③ 他の毒性試験等で神経毒性が疑われた場合、疑われた神経毒性の精査に適した感覚機能、運動機能、学習・記憶に関する試験を実施する。

（4）病理学的検査

① 対象となる各群雌雄各5匹以上について、病理組織学的検査を行う。

② 症状観察及び機能検査で、特定の動物に異常が認められた場合は、その動物を検査する。

③ 組織は灌流固定その他の適当な方法により固定する。観察された肉眼的病理学的変化はすべて記録する。

④ 通常、組織標本はパラフィン包埋され、ヘマトキシリン・エオジン染色等の一般的な染色が施されるが、末梢神経系に神経障害が認められるか又は疑われる場合には、末梢神経系組織の樹脂包埋標本を作製し検査する。

⑤ 症状観察等から、適宜、検査部位の追加及び特殊染色を実施する。

⑥ 神経病理組織学的所見は、他の毒性試験成績及び行動学的影響と関連付けて評価する。

⑦ 中枢神経系と末梢神経系の代表的な切片について、段階的に検査する。

⑧ まずはじめに最高用量群と対照群の切片を比較し、最高用量群に神経病理組織学的変化が認められなければ、それ以降の検査は必要ない。最高用量群に変化が認められた場合は、中間用量と最低用量の切片を順次検査する。

⑨ 検査は、通常、以下の組織について行う。

前脳、海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経と網膜を含む眼球、脊髄の頚膨大と腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）と脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（特に腓腹筋）

⑩　脊髄及び末梢神経の切片は、横断面と縦断面の両方を含める。

急性遅発性神経毒性試験（２－１－８）

１．目的

本試験は、急性毒性試験成績その他の毒性試験成績又は既知の遅発性神経毒性を示す物質との化学構造上の相関から遅発性神経毒性を有することが予想される農薬について、その毒性に関する科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

（１）一般的な品種及び系統の雌のニワトリを用いる。

（２）月齢８～12か月の標準的な大きさの若齢成鶏を用いることが望ましい。

（３）実験結果に影響を及ぼすようなウイルス性疾患や薬物処理がなく、歩行異常のない健康な動物を用いる。

３．投与方法

（１）強制による単回経口投与とする。

（２）被験物質が液体の場合は、原液により、又は適切な溶媒に溶解した上で投与する。

（３）被験物質が固体の場合は、可能な限り溶解した上で投与する。

４．観察期間

被験物質の投与後、21日間の観察を行う。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

① 投与群、対照群とも、生化学的検査に必要な６羽及び試験終了時まで生存し病理組織学的検査に用いることができる６羽を得るのに十分な数の動物を用いるものとする。

② 陽性対照群は、生化学的検査に必要な３羽及び病理組織学的検査に必要な３羽を得るのに十分な数の動物を用いるものとする。

（２）試験群の設定

① 被験物質投与群

予備試験で、死亡がみられない程度で可能な限り高い用量（最大非致死量）を求める。

被験物質は、2,000mg/kg体重/日相当量を上限として最大非致死量を投与する。

② 対照群

ア 対照群としては、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ 被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒投与を行う。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加えるものとする。

③ 陽性対照群

既知の遅発性神経毒性物質（例えば、TOCP等）を用いて試験を実施する。最近の背景データがあれば、それを用いてもよい。

６．飼育上の注意

動物が自由に歩き回ることができ、歩行状態を容易に観察できるよう十分な大きさの飼育ケージ又は棚を用いる。

７．観察及び検査

次の（１）～（３）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

① すべての動物について、投与直後から観察を開始するものとし、最初の２日間は１日に数回、それ以降21日間又は計画屠殺されるまでの間は、毎日少なくとも１回注意深く観察する。

② あらゆる毒性徴候について、その種類、発現時期、程度及び持続期間を記録する。なお、運動失調は、４段階以上からなる判定基準に基づき評価する。

③ 病理学的検査に用いる動物は、少なくとも週２回ケージの外に出し、軽微な毒性影響が観察できるようにするため一定時間の強制運動を行う。

④ 瀕死動物は、排除・屠殺後、肉眼的病理学的検査を実施する。

⑤ すべての動物について、投与前及びそれ以降週１回、体重測定を行う。

（２）生化学的検査

① 投与群及び対照群から無作為に選択した各６羽と陽性対照群の３羽を被験物質投与後72時間以内に屠殺し、脳及び腰脊髄を採取しＮＴＥ（neuropathy targetes terase又はneurotoxic esterase）活性を測定する。

通常、投与群及び対照群の各３羽については被験物質投与後24時間目及び48時間目、陽性対照群の３羽については被験物質投与後24時間目に屠殺し、それぞれ脳及び腰脊髄を採取する。中毒症状から被験物質の排泄がきわめて緩徐であると判断される場合には、遅発性神経毒性誘発能を検出するのに最適な間隔を考慮し、投与後24時間目から遅くとも72時間目以内の間に２回、各３羽を屠殺して脳及び腰脊髄を採取することが望ましい。

② ＮＴＥ活性を測定した同じ動物の組織について、アセチルコリンエステラーゼ活性の測定をすることが、評価の助けとなる。

（３）病理学的検査

① 計画殺及び切迫殺したすべての動物について、脳及び脊髄の外観観察を含む肉眼的病理学的検査を実施する。

② 試験終了時において、生存する各群６羽以上の動物から採取した神経組織について、病理組織学的検査を実施する。

③ 組織は、灌流固定その他の適当な方法により固定する。

ア 切片には、小脳（中央縦断面）、延髄、脊髄及び末梢神経を含める。

イ 脊髄切片は、上頚部、中胸部及び腰仙部から採取する。

ウ 脛骨神経の近位部、遠位部及び分岐部と坐骨神経を採取する。

④ 切片は、髄鞘と軸索を適切な手法で染色する。

90日間反復経口投与毒性試験（２－１－９）

１．目的

本試験は、被験物質を90日間以上反復経口投与したときに生じる毒性変化及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての科学的知見を得ることを目的とする。また、本試験は、発がん性試験、１年間反復経口投与毒性試験等における用量設定に関する情報を得るためにも有用である。

２．供試動物

（１）げっ歯類１種（通常、ラット）及び非げっ歯類１種（通常、イヌ）について実施する。

（２）げっ歯類については、離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢（通常５～６週齢）の動物を用い、非げっ歯類（イヌ）については、４～６か月齢の動物を用いる。

（３）原則として雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、これら方法による投与が困難な場合には強制経口投与を行ってもよい。

４．投与期間

連続90日以上とする。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　げっ歯類については１群当たり雌雄各10匹以上、非げっ歯類については１群当たり雌雄各４匹以上とする。

②　各群への動物の割り付けには、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。なお、中間屠殺を予定する場合は、そのために必要な数を追加設定すること。

③　試験結果の評価を行う上で十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　対照群の他に少なくとも３段階の用量設定による被験物質 投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。（用量設定の根拠を示すこと。）

ウ　技術的に投与できる最大量又は1,000 mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で試験を実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用

する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（５）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　すべての動物について、毎日、死亡の有無、一般状態（毒性徴候の発現時期やその程度）を観察するとともに、定期的に体重及び摂餌量を測定する（飲水投与の場合にあっては摂水量についても測定する。以下同じ。）。

②　体重及び摂餌量の測定は、原則として、投与開始前に１回、投与開始後は少なくとも週１回の割合で行うとともに、被験物質の摂取量を算出する。

（２）詳細な状態の観察

①　投与開始前に１回、投与開始後は週１回の割合で行う。

②　観察は、飼育ケージ内及び観察台上で行う。全身状態の変化を把握するのに充分な観察項目、各項目の定義と採点基準及び観察順を決めた観察手順に従って注意深く観察する。観察時の動物の取扱いが試験結果に影響しないよう留意すること。

③　通常、次の項目について行う。

外観（皮膚、被毛、眼・眼球及び粘膜等の変化、分泌物の有無等）、体位、姿勢（円背位等）、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸状態、排泄状態等）、運動協調性、歩行の異常、動物の取扱操作や環境刺激に対する反応、神経系（振戦、痙攣、筋収縮性等）、探索行動の変化、常同行動（身づくろいの変化、くびふり、旋回等）、異常行動（自咬、後ずさり、異常発声等）、攻撃性等

（３）機能検査

①　げっ歯類について投与終了時に近い時点で行う。

②　通常、次の項目について行う。

刺激（聴覚刺激、視覚刺激及び固有受容器刺激）に対する感覚運動反応、握力、自発運動量（自動記録装置を用いて測定する。）

（４）血液検査

①　げっ歯類については少なくとも試験終了時に１回、非げっ歯類については投与開始前及び試験終了時に、原則として、すべての動物について行うことが望ましいが、げっ歯類については、実施上の理由から、各群の一部（少なくとも５匹）の動物に限ってもよい。

②　マウスを除き、検査前に一晩絶食させることが望ましい。

③　通常、次の項目について行う。

そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行うことが望ましい。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを考慮に入れて選定する。

ア　血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ　血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、Ａ／Ｇ比、ブドウ糖、コレステロール、トリグリセリド、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ［ＡＳＴ（ＧＯＴ）、ＡＬＴ（ＧＰＴ）］、γ－ＧＴＰ、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（５）尿検査

① げっ歯類については各群ごとに雌雄それぞれ一定数の動物（５匹以上）について、非げっ歯類についてはすべての動物について、血液検査と同時期に尿検査を行う。

② 通常、次の項目について行う。

尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（６）眼科学的検査

非げっ歯類はすべての動物について、げっ歯類は少なくとも高用量群と対照群について、投与開始前及び試験終了時に行う。なお、被験物質投与に起因する変化が生じた場合にはすべての動物を対象とする。

（７）病理学的検査等

① 投与期間中の死亡例は、速やかに剖検及び器官・組織の肉眼的観察を行うとともに病理組織学的検査を行い、死因及びその時点での毒性変化の程度を明らかにする。

② 投与期間中の瀕死動物は、速やかに屠殺、剖検し、①と同様の観察及び検査を行い、瀕死状態となった理由及びその時点での毒性変化の程度を明らかにする。

③ 投与期間終了時におけるすべての生存動物は、諸検査等のための採血及び採尿を行った後、屠殺、剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行い、器官ごとに重量を測定する。

④ 重量測定は、通常、次の器官について行う。なお、マウスを除き剖検前に一晩絶食させることが望ましい。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、胸腺、脾臓、心臓、脳、前立腺(注)、甲状腺・上皮小体(注)、下垂体(注)

（注）：前立腺、甲状腺・上皮小体及び下垂体については、非げっ歯類のみ。

⑤ 病理組織学的検査は、非げっ歯類ではすべての動物について、げっ歯類では少なくとも最高用量群と対照群の動物について行う。

⑥ 通常、次の器官又は組織について行うが、肉眼的所見等から適宜追加すること。

皮膚、乳腺、リンパ節（頚部リンパ節、腸間膜リンパ節等）、大動脈、唾液腺、骨及び骨髄（胸骨、大腿骨）、胸腺、気管、肺及び気管支、心臓、甲状腺及び上皮小体、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓（及び胆嚢）、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢凝固腺、前立腺、精巣(注)、精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄（頚部、胸部、腰部）、眼球及びその付属器、その他肉眼的に変化が認められた器官・組織

（注）：精巣は、ブアン液等精細管の構築保持に適した固定液を用いて検査する。

⑦ げっ歯類の他の用量群についても、被験物質投与に起因する肉眼的変化が認められる器官がある場合又は高用量群での所見からみて必要と認められる場合は、当該器官・組織についてその用量群の全動物につき病理組織学的検査を行う。なお、げっ歯類において、全動物を対象に病理組織学的検査を行うことは、評価の助けになる。

⑧ 試験終了後にあっても、必要なときに病理組織学的検査が行えるように器官及び組織を保存する。

７．その他

本試験の結果から神経系、免疫系、内分泌系に対する影響が認められた場合には、次に掲げる試験を実施することが望ましい。

（１）神経系：反復経口投与神経毒性試験

（２）免疫系：新鮮凍結標本の免疫組織化学的染色、脾臓のリンパ球組成測定及び
ＮＫ細胞活性測定、免疫グロブリン測定（ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＥ等）等
（３）内分泌系：血中のステロイドホルモン、甲状腺ホルモン等の測定

21日間反復経皮投与毒性試験(２－１－１０)

１．目的

本試験は、被験物質を21日間にわたって反復経皮投与したときに生じる毒性変化及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

２．供試動物

（１）ラット、ウサギ、モルモット等の哺乳動物のうち１種以上について実施する。

（２）成獣を用いる。試験の実施を容易にする大きさの動物としては、下記の体重範囲におさまるものがよい。

（ラット：200～300g、ウサギ：2.0～3.0kg、モルモット：350～450g）

（３）原則として、雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

（１）試験の直前に動物の躯幹部の適用部位の被毛を刈る。毛を剃ってもよいが試験の24時間前に行う。

通常、剃毛は１週間間隔で行う。剃毛時に当たっては、物質の透過性が変わる恐れがあるので皮膚を傷つけないよう注意する。

（２）総体表面積の少なくとも10%を刈る。塗布面積や剃毛する面積を決めるに当たっては、体重を考慮する。

（３）被験物質が固体の場合は、必要に応じ粉末状にし、皮膚とよく接触させるために、溶媒で十分に湿らす。ただし、溶媒を用いる場合は、皮膚刺激性のないものを用い、また、被験物質の皮膚透過性に対する溶媒の影響に注意する。液状の被験物質は一般に希釈せずに使用する。

（４）被験物質は総体表面積の約10％(例えば、上記体重範囲の動物ではラット4cm×5cm、ウサギ12cm×14cm、モルモット7cm×10cm)の範囲に均一に塗布する。毒性の強いものは塗布範囲を少なめにし、可能な限り薄く均一に塗布する。

（５）被験物質の塗布期間中は多孔質ガーゼと非刺激性テープを用い、皮膚に被験物質を十分接触させる。塗布部位は、被験物質やガーゼを保持するために、さらに適当な方法でカバーし、動物が被験物質を摂取できないようにする。また、被験物質の摂取を防ぐため固定器を用いてもよいが、完全な固定は好ましくない。

４．投与期間

１日の暴露時間を６時間として、週７日、21日間投与を継続することが望ましい。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　試験に用いる動物数は、１群当たり雌雄各５匹以上とする。

②　各群への動物の割り付けには、体重層別等による適切な無作為抽出法を用いる。なお、最終的に試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　対照群の他に少なくとも３段階の投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。

ウ　技術的に投与できる最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　対照群としては、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（５）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　全動物について、毎日、死亡の有無、一般状態（毒性徴候の発現時期やその程度）を観察するとともに、定期的に体重及び摂餌量を測定する。

②　体重及び摂餌量の測定は、原則として、投与開始前に１回、投与開始後は少なくとも週１回の割合で行う。

（２）血液検査

①　げっ歯類については少なくとも試験終了時に１回、非げっ歯類については投与開始前及び試験終了時に、原則として、すべての動物を対象に行う。

②　検査前に一晩絶食させることが望ましい。

③　通常、次の項目について行うが、そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行うことが望ましい。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを考慮に入れて選定する。

ア　血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ　血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、ブドウ糖、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ［ＡＳＴ（ＧＯＴ）、ＡＬＴ（ＧＰＴ）］、γ－ＧＴＰ、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（３）尿検査

①　げっ歯類は各群ごとに雌雄それぞれ一定数の動物、非げっ歯類は各群のすべての動物について、血液検査と同時期に尿検査を行う。

②　通常、次の項目について行う。

尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（４）病理学的検査等

①　剖検

ア　途中死亡及び瀕死の状態で屠殺した動物を含め、すべての動物について肉眼的検査を行う。

イ　体表についても検査を行う。

ウ　すべての動物について、次の器官を含む主要な臓器の重量を測定する。

肝臓、腎臓、副腎及び精巣

② 器官及び組織の保存

次に掲げる器官及び組織を保存する。

ア　肉眼的病変や大きさに変化の見られた器官及び組織

イ　無処理及び処理した皮膚

ウ　肝臓

エ　腎臓

③ 病理組織学的検査

非げっ歯類については、すべての動物を対象に病理組織学的検査を実施する。げっ歯類については、次の動物等を対象に病理組織学的検査を実施する。

ア　対照群及び最高投与群のすべての動物

イ　試験期間中に死亡及び屠殺したすべての動物

ウ　すべての動物における肉眼的病変部

エ　すべての動物における標的臓器

オ　すべての動物における肝臓及び腎臓

なお、その他の投与群の病理組織学的検査は、最高投与群で作用が発現した部位について必ず行う。

90日間反復吸入毒性試験（2－1－11）

1．目的

本試験は、被験物質を90日間にわたって反復吸入暴露したときに生じる毒性変化及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての科学的知見を得ることにより、農薬使用時の安全な取扱方法を確立すること等を目的とする。

2．供試動物

（1）１種以上の哺乳動物（通常、ラット）を用いる。
（2）若齢成獣を用いる。
（3）原則として、雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

3．暴露方法

（1）適切な性能を有する吸入装置を用いる。暴露中は給餌、給水を行わない。
（2）暴露中、流量、被験物質の実際濃度、粒子径分布、温度、湿度等をモニタリングし、一定条件に保つ。
（3）粒子径（空気力学的質量中位径）は、1～4μm又は実施可能な最小粒子径とする。
（4）揮発性物質の場合は、爆発の起こる濃度にならないよう注意する。

4．暴露期間

１日の暴露時間は少なくとも６時間とし、毎週５日間以上、90日以上暴露する。

5．動物数及び試験群の設定

（1）動物数の設定
① １群当たり雌雄各10匹以上とする。
② 各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。なお、試験結果の評価を行う上で十分な動物数を確保すること。

（2）試験群の設定
① 被験物質投与群
ア 対照群の他に少なくとも３段階の暴露群を設ける。
イ 用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を起こすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。
② 対照群
ア 対照群は、被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条件とする。
イ 被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

6．観察及び検査

次の（1）～（5）の項目について実施する。

（1）一般状態の観察

① すべての動物について、毎日、死亡の有無及び一般状態（毒性徴候の発現時期やその程度）を観察するとともに、定期的に体重及び摂餌量を測定する。

② 体重及び摂餌量の測定の頻度は、通常、投与開始前及び投与開始後少なくとも週１回とする。

（２）血液検査

① 少なくとも試験終了時に１回、原則として、すべての動物について行うことが望ましいが、実施上の理由から、各群の一部（少なくとも５匹）の動物に限っても差し支えない。

② 検査前に一晩絶食させることが望ましい。

③ 通常、次の項目について行うが、そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行うことが望ましい。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを考慮に入れて選定する。

ア 血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ 血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、ブドウ糖、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ［ＡＳＴ（ＧＯＴ）、ＡＬＴ（ＧＰＴ）］、γ－ＧＴＰ、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（３）尿検査

① 各群雌雄ごとに一定数の動物（少なくとも５匹）について血液検査と同時期に必要に応じて尿検査を行う。

② 検査は、通常、次の項目について行う。

尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（４）眼科学的検査

可能な限りすべての動物（少なくとも高用量群と対照群）について、投与開始前と試験終了時に行う。異常が発見された場合にはすべての動物について行う。

（５）病理学的検査等

① 剖検

ア すべての動物について剖検後、体表、開口部、頭蓋、胸腔及び腹腔並びに内部器官の観察を行う。

イ すべての動物について、次の器官を含む主要な臓器の重量を測定する。

肝臓、腎臓、副腎、精巣

② 器官及び組織の保存

試験終了後も必要に応じて病理組織学的検査を実施できるように、次に掲げる器官及び組織を保存する。

すべての肉眼的病変部、皮膚、脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、胸腺、肺（気管を含む）、鼻咽頭、心臓、胸骨、唾液腺、肝臓（及び胆嚢）、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、生殖腺、子宮及び性器付属器、乳腺、筋肉、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、膀胱、リンパ節、末梢神経、脊髄、眼、大動脈

③ 病理組織学的検査

次の動物等を対象として病理組織学的検査を実施する。

ア　対照群及び最高投与群のすべての動物

イ　試験期間中に死亡及び屠殺したすべての動物

ウ　すべての動物における肉眼的病変部

エ　すべての動物における標的臓器

オ　すべての動物における気道、肝臓及び腎臓

なお、その他の投与群の病理組織学的検査は、最高投与群で作用が発現した部位について必ず行う。

反復経口投与神経毒性試験（２－１－１２）

１．目的

本試験は、被験物質を反復経口投与したときに生じる神経系に対する毒性変化を明確にするとともに毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）を求めることを目的とする。

なお、神経毒性と一般毒性を関連付けて評価するために、反復投与毒性試験と併合して行ってもよい。

２．供試動物

（１）げっ歯類（通常、ラット）を用いる。

（２）離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢（通常５～６週齢）の動物を用いる。

（３）原則として、雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、混餌又は飲水投与が困難な場合は、強制投与を行ってもよい。

４．投与期間

必要に応じて90日間又は１年間試験を実施する。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　詳細な状態の観察及び機能検査のために必要な数を設定するものとし、各群雌雄ごとに10匹以上とし、その中から神経病理組織学的検査に必要な動物数を各群雌雄ごとに５匹以上を得る。

②　各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。

③　他の試験と併合で実施する場合は、それぞれの試験の目的を踏まえ、動物数は適宜、調整するものとする。また、中間屠殺群及び回復群を設ける場合は、必要な数を追加設定する。なお、試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　少なくとも３段階の用量設定による被験物質投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を引きおこすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ウ　用量設定に当たっては、本試験に先だって実施した毒性試験の結果等を参考とする。また、用量設定の根拠を示すこと。

エ　技術的に投与可能な最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。

ウ　毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（６）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　すべての動物について、一般状態を毎日注意深く観察する。

②　観察は全身状態、異常行動の有無及び死亡の有無を観察する。

③　体重及び摂餌量（飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。）

ア　90日間の試験では、すべての動物について投与開始前に１回、投与開始後は少なくとも週１回の割合で体重及び摂餌量を測定する。

イ　１年間の試験では、すべての動物について投与開始前に１回、投与開始後３か月までは少なくとも週１回、それ以降は少なくとも４週に１回、体重及び摂餌量を測定する。

ウ　被験物質の摂取量を算出する。

（２）詳細な状態の観察

①　対象となる各群雌雄それぞれ10匹以上の動物について行う。

②　検査の頻度は別表のとおりとする。

③　回復群を設ける場合は、回復期間終了時に行う。

④　観察は、飼育ケージ内及び観察台の上で行う。観察は、項目ごとに明確な判断基準と尺度基準を定めた採点法を用い、標準的な手順により行う。

⑤　通常、次の項目について行う。

外観（皮膚、被毛、眼・眼球及び粘膜等の変化、分泌物の有無等）、体位、姿勢（円背位等）、自律神経系機能（流涙、立毛、瞳孔径、呼吸状態、排泄状態等）、運動協調性、歩行の異常、動物の取扱操作及び環境刺激に対する反応、神経系（振戦、痙攣、筋収縮性等）、探索行動の変化、常同行動（身づくろいの変化、くびふり、旋回等）、異常行動（自咬、後ずさり、異常発声等）、攻撃性等

（３）機能検査

①　対象となる各群雌雄それぞれ10匹以上の動物について行う。

②　検査の頻度は別表のとおりとする。

③　回復群を設ける場合、可能な限り試験終了時に近い時点で行う。

④　通常、次の項目について行う。

種々の刺激（聴覚刺激、視覚刺激及び固有受容器刺激等）に対する感覚運動反応、握力、自発運動量（自動記録装置を用いる。）

⑤　他の毒性試験等で神経毒性が疑われた場合、疑われた神経毒性の精査に適した感覚機能、運動機能及び学習・記憶に関する試験を実施する。

（５）眼科学的検査

少なくとも高用量群及び対照群について、投与開始前及び試験終了時に行う。被験物質投与による異常が発見された場合には、すべての動物について行う。

（６）病理組織学的検査

①　対象となる各群雌雄それぞれ５匹以上について行う。

②　症状観察及び機能検査で特定の動物に異常が認められた場合は、その動物を検査する。

③　組織は、灌流固定その他の適当な方法により固定する。観察された肉眼的病理学的変化は、すべて記録する。

④　通常、組織標本はパラフィン包埋され、ヘマトキシリン・エオジン染色等の一般的な染色が施されるが、末梢神経系に神経障害が認められる場合又は疑われる場合には、末梢神経系組織の樹脂包埋標本を作製し検査する。

⑤　症状観察等から、適宜、検査部位の追加及び特殊染色を実施する。

⑥　神経病理組織学的所見は、他の毒性試験及び行動学的影響と関連付けて評価する。

⑦　中枢神経系と末梢神経系の代表的な切片について、段階的に検査する。

⑧　はじめに最高用量群と対照群の切片を比較し、最高用量群に神経病理組織学的変化が認められなければ、それ以降の検査は必要ない。最高用量群に変化が認められた場合は、中間用量と最低用量の切片を順次検査する。

⑨　通常、以下の組織について行う。

前脳及び海馬を含む大脳中心部、中脳、小脳、橋、延髄、視神経及び網膜を含む眼球、脊髄の頚膨大及び腰膨大、脊髄神経節、神経線維の前根及び後根、近位の坐骨神経、近位の脛骨神経（膝部）及び脛骨神経の腓腹筋分岐部、骨格筋（特に腓腹筋）。

⑩　脊髄及び末梢神経の切片は、横断面及び縦断面の両方を含める。

⑪　試験終了後も必要に応じて病理組織学的検査が実施できるように器官及び組織を保存する。

別表　　詳細な状態観察と機能検査の頻度

検査の種類	対象動物	90日間試験	1年間試験
一般状態の観察	すべての動物	毎日	毎日
詳細な状態の観察	詳細な状態の観察のために選んだ動物	(1)投与開始前 (2)投与開始第1週又は第2週に1回 (3)投与開始後1か月ごと	(1)投与開始前 (2)投与開始1か月後に1回 (3)投与開始後3か月ごと
機能検査	機能検査のために選んだ動物	(1)投与開始前 (2)投与開始第1週又は第2週に1回 (3)投与開始後1か月ごと	(1)投与開始前 (2)投与開始1か月後に1回 (3)投与開始後3か月ごと

28日間反復投与遅発性神経毒性試験(2－1－13)

1．目的

本試験は、急性遅発性神経毒性試験で、その存在が確認されたか又は疑われる遅発性神経毒性をさらに検索するために、被験物質を２８日間にわたって繰り返し投与した時に生じる毒性変化の内容及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量）についての情報を得ることを目的とする。

2．供試動物

（1）一般的な品種及び系統の雌のニワトリを使用する。

（2）月齢８～12か月の標準的な大きさの若齢成鶏が望ましい。

（3）実験結果に影響を及ぼすようなウイルス性疾患や薬物処理がなく、歩行異常のない健康な動物を用いる。

3．投与方法

（1）経口による連続投与とし、通常、胃管、ゼラチンカプセル又はそれらに匹敵する方法を用いて強制的に投与する。

（2）液体は原液又は適切な溶媒に溶解し投与する。固体は可能な限り溶解し投与する。

4．投与期間及び観察期間

①　投与期間は28日間とする。

②　最終投与終了後も14日間の観察を行う。

5．動物数及び試験群の設定

（1）動物数の設定

投与群、対照群とも、生化学的検査に必要な６羽及び試験終了時まで生存し、病理組織学的検査に用いることができる６羽を得るのに十分な数の動物を用いなければならない。

（2）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　少なくとも３段階の用量設定による投与群を設ける。

イ　最高用量は毒性作用、可能な限り遅発性神経毒性がみられる用量で、かつ、動物が死亡したり著しい苦痛を示さない用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ウ　用量設定に当たっては、急性遅発性神経毒性試験、その他の毒性試験の結果を考慮して設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。

エ　技術的に投与可能な最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒等の投与を行う。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．試験動物の飼育上の注意

動物が自由に歩き回ることができ、歩行状態を容易に観察できるよう十分な大きさの飼育ケージ又は棚を用いる。

７．観察及び検査

次の（１）～（３）の項目について行う。

（１）一般状態の観察

① すべての動物について投与直後から観察を始める。投与期間中及び最終投与終了後14日間又は計画屠殺されるまでの間、毎日少なくとも1回注意深く観察する。

② すべての毒性徴候について、その種類、発現時期、程度及び持続期間を記録すること。運動失調は、４段階以上からなる判定基準に基づき評価するものとする。

③ 病理学的検査に用いる動物は、少なくとも週２回ケージの外に出し、軽微な毒性影響が観察できるようにするため、一定時間の強制運動を行う。

④ 瀕死動物は速やかに屠殺、剖検し、肉眼的病理学的検査を行う。

⑤ すべての動物について、初回投与前及び初回投与後は週に１回の割合で体重測定を行う。

（２）生化学的検査

① 投与群及び対照群から無作為に選択した各６羽を、最終投与後72時間以内に屠殺し、脳及び腰脊髄を採取しＮＴＥ（neuropathy target esterase 又はneurotoxic esterase）活性を測定する。

通常、投与群及び対照群の各３羽については、最終投与後24時間目及び48時間目に屠殺して、脳及び腰脊髄を採取する。

急性遅発性神経毒性試験又はその他の試験成績から、遅発性神経毒性誘発能を検出するのに、より適切な間隔が考えられる場合には、最終投与後の適切な時点で、２回、各３羽を屠殺して、脳及び腰脊髄を採取することが望ましい。

② ＮＴＥ活性測定に供した動物について、当該組織（脳及び脳脊髄）のアセチルコリンエステラーゼ活性を測定することは評価の助けとなる。

（３）病理学的検査

① 計画殺及び切迫殺した全動物について、脳及び脊髄の外観観察を含む肉眼的病理学的検査を実施する。

② 試験終了時において生存する各群６羽以上の動物から採取した神経組織について病理組織学的検査を行う。

③ 組織は、灌流固定その他適当な方法により固定する。

ア 切片には、小脳（中央縦断面）、延髄、脊髄及び末梢神経を含める。

イ 脊髄切片は、上頚部、中胸部及び腰仙部から採取する。

ウ 脛骨神経の近位部、遠位部及び分岐部並びに坐骨神経を採取する。

④ 切片は、髄鞘及び軸索を適切な手法で染色する。

１年間反復経口投与毒性試験（２－１－１４）

１．目的

本試験は、被験物質を長期間にわたって反復投与したときに生じる毒性変化、明らかな毒性変化を惹起する用量及び毒性変化の認められない最高投与量（無毒性量：NOAEL）についての科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試動物

（１）げっ歯類１種（通常、ラット）を用いる。

（２）離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢の動物（通常、５～６週齢）を用いる。

（３）原則として、雌雄動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、混餌又は飲水投与が困難な場合には強制投与を行ってもよい。

４．投与期間

１年以上とする。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　１群当たり雌雄各20匹以上とする。

②　各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。なお、中間屠殺を予定する場合は、そのために必要な数を追加設定する。

③　試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　対照群の他に少なくとも３段階の用量設定による投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を引きおこすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ウ　用量設定は、90日間反復経口投与毒性試験の結果等を参考とすること。また、用量設定の根拠を示すこと。

エ　技術的に投与可能な最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。

ウ　毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（５）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　すべての動物について、一般状態を毎日観察する。

②　体重及び摂餌量を定期的に測定する（飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。）。

③　体重及び摂餌量の測定は、通常、投与開始前に１回、投与開始後は３か月までの間少なくとも週１回、その後は少なくとも４週に１回の割合で行う。また、被験物質の摂取量を算出すること。

（２）血液検査

①　投与開始後６か月及び試験終了時に検査する。検査は、原則として全ての動物について行うが、実施上の理由から、各群の一部の動物（雌雄各10匹以上）に限ってもよい。

②　マウスを除き、検査前に一晩絶食させることが望ましい。

③　通常、次の項目について行うが、そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行う。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを踏まえ選定する。

ア　血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ　血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、Ａ／Ｇ比、ブドウ糖、コレステロール、トリグリセリド、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ［ＡＳＴ（ＧＯＴ）、ＡＬＴ（ＧＰＴ）］、γ－ＧＴＰ、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（３）尿検査

①　群ごとに一定数の動物（雌雄各10匹以上）を選び血液検査と同時期に尿検査を行う。

②　血液検査の対象となった動物について実施することが望ましい。

③　通常、次の項目について実施する。

尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（４）眼科学的検査

少なくとも高用量群と対照群について投与開始前と試験終了時に行う。なお、被験物質投与に起因する変化が生じた場合には全ての動物を検査する。

（５）病理学的検査

①　投与期間中に死亡した動物は速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察及び病理組織学的検査を行い、死因及びその時点での毒性変化の程度を明らかにするよう努める。

②　投与期間中に死に瀕した動物は、速やかに屠殺、剖検し、①と同様の観察及び検査を行い、瀕死状態に至った原因及びその時点での毒性変化の程度を明らかにするよう努める。

③　投与終了時における全ての生存動物は、諸検査等のための採血及び採尿を行った

後、屠殺、剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。通常、各群雌雄各10匹以上の動物について、通常、下記に掲げる器官の重量を測定する。なお、マウスを除き剖検前に一晩絶食させることが望ましい。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、脾臓、心臓、脳

④　病理組織学的検査は、少なくとも対照群及び最高用量群の全動物の器官又は組織を対象に行う。

⑤　病理組織学的検査は、通常、下記に掲げる器官又は組織について行う。また、肉眼的所見等からの判断によって適宜追加する。

皮膚、乳腺、リンパ節（頚部リンパ節、腸間膜リンパ節等）、大動脈、唾液腺、骨及び骨髄（胸骨、大腿骨）、胸腺、気管、肺及び気管支、心臓、甲状腺及び上皮小体、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓（及び胆嚢）、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢・凝固腺、前立腺、精巣・精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄（頚部、胸部、腰部）、眼球及びその付属器、そのほか肉眼的に変化が認められた器官・組織

⑥　他の用量群についても、90日間反復経口投与毒性試験における標的器官・組織、本試験において肉眼的に病変の認められた部位又は高用量群での所見から必要と考えられる器官・組織については、全動物について当該器官・組織の病理組織学的検査を行う。

⑦　全動物について病理組織学的検査を行うことは、評価の助けになる。

⑧　試験終了後、必要に応じて、病理組織学的検査を行えるよう器官及び組織を保存する。

発がん性試験（２－１－１５）

１．目的

本試験は、被験物質を反復経口投与したときの発がん性の有無に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試動物

（１）げっ歯類２種以上（通常、ラット及びマウス）を用いる。

（２）離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢の動物、通常５～６週齢の動物を用いる。また、種及び系統の選択に当たっては、感染性疾患に対する抵抗性、寿命、既知発がん性物質に対する感受性等の特性が知られていて、一般的に実験動物として広く使用されているものとする。特に、自然発生腫瘍の発生頻度に関するデータが蓄積されている系統を選択する。

（３）原則として、雌雄の動物を同数用いる。雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

原則として経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、混餌又は飲水投与が困難な場合には強制投与を行ってもよい。

４．投与期間

（１）被験物質の投与期間は、動物の種・系統における平均寿命を十分考慮して、試験目的を達成するのに必要な期間とする。

（２）投与期間は、通常、ラットでは24か月以上30か月以内、マウスでは18か月以上24か月以内とする。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　１群当たり雌雄各50匹以上とする。

②　各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法により行う。

③　動物数は、すべての群においてその10%以上が共食い等飼育上の問題で失われてはならない。

④　原則としてラット（投与開始後24か月時点）及びマウス（投与開始後18か月時点）の生存率は、25%を下回ってはならない。なお、中間屠殺を予定する場合は、そのために必要な数を追加設定すること。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　少なくとも３段階の用量設定により投与群を設ける。

イ　用量段階は下記により用量反応関係がみられるように設定する。なお、用量設定に当たっては、90日間反復経口投与毒性試験の結果等を参考とすること。また、用量設定の根拠を示すこと。

②　用量設定

ア　最高用量

最高用量は、腫瘍以外の原因で対照群に比して有意に死亡率が増加せず、何らかの毒性影響が認められる用量とする。

技術的に投与できる最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

イ　最低用量

一般に、最低用量は、最高用量の10%より低くてはいけない。

ウ　中間用量

中間用量は、最高用量と最低用量との等比中項をとることが望ましく、通常、群間の公比は２から３とする。

エ　その他

本試験から必ずしも被験物質による無毒性量を求める必要はないが、発がん性等がみられた場合には追加試験等によりその機序を検討するとともに、適切なパラメーターによる発がん性についての無毒性量を検討する。

③　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（３）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

①　すべての動物について、一般状態を毎日観察し、定期的に体重及び摂餌量を測定する（飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。）。

②　体重及び摂餌量の測定は、通常、投与開始前に１回、投与開始後３か月までは少なくとも週１回、その後は少なくとも４週に１回の割合で行うとともに被験物質の摂取量を算出すること。

（２）血液検査

試験期間中に死に瀕した動物及び試験終了時の全生存動物について屠殺時に血液沫標本を作製して、胸腺、リンパ節、肝臓、脾臓の腫大等、造血器腫瘍を予想させる例については塗抹標本を検索する。

（３）病理学的検査

①　試験期間中の死亡動物は速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察及び病理組織学的検査を行う。なお、腫瘍性病変の記載に関しては、腫瘍発生に至る各種変化（過形成、前癌病変等）の所見も付け加える必要がある（以下②及び③において同様）。

②　病理組織学的検査は、通常、以下の器官又は組織について行う。また、肉眼的観察所見等からの判断によって適宜追加する。

皮膚、乳腺、リンパ節（頚部リンパ節、腸間膜リンパ節等）、大動脈、 唾液腺、骨及び骨髄（胸骨、大腿骨）、胸腺、気管、肺及び気管支、心臓、甲状腺及び上皮小体、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓（及び胆嚢）、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢・凝固腺、前立腺、精巣・精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄（頚部、胸部、腰部）、眼球及びその付属器、鼻腔、そのほか肉眼的に変化が認められた器官・組織

③　試験期間中に死に瀕した動物は、速やかに隔離屠殺後、剖検し、上記①と同様の観察及び検査を行う。

④　試験終了時にすべての生存動物は、速やかに屠殺、剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。対照群及び最高用量群の全動物について上記①と同様に病理組織学的検査を行う。ただし、最高用量群と対照群の間で腫瘍発生率に差のある器官・組織が認められた場合には、他の用量群の全動物についても当該器官・組織の病理組織学的検査を行う。

なお、全動物について病理組織学的検査を行うことは、評価の助けになる。

⑤　試験終了後、必要に応じて病理組織学的検査が行えるように器官及び組織を保存する。

１年間反復経口投与毒性／発がん性併合試験（２－１－16）

１．目的

本試験は、長期間にわたり、被験物質を反復投与したときに発現する有害作用を検出するために行われるものであり、被験物質の１年間反復経口投与毒性と同時に発がん性に関する情報を得ることを目的とする。

２．供試動物

（１）げっ歯類１種（通常、ラット）について実施する。離乳後、馴化期間を経てできるだけ早い時期の同一週齢（通常、５～６週齢）の動物を用いる。

（２）種及び系統の選択に当たっては、感染性疾患に対する抵抗性、寿命、既知発がん性物質に対する感受性等の特性が知られていて、一般的に実験動物として広く使用されているものとする。特に自然発生腫瘍の発生頻度に関するデータが蓄積されている系統を選択する。

（３）原則として雌雄の動物を同数用いる。なお、雌は未経産で非妊娠のものを用いる。

３．投与方法

経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。ただし、混餌又は飲水投与が困難な場合には強制投与を行ってもよい。

４．投与期間

（１）被験物質の投与期間は、動物の種・系統における平均寿命を十分考慮して、試験目的を達成するのに必要な期間とする。

（２）投与期間は、通常、ラットでは24か月以上30か月以内、マウスでは18か月以上24か月以内とする。

（３）１年間反復経口投与毒性検索のための衛星群及びその対照群についは、原則として１年以上とする。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

①　発がん性検索のために用いる動物数は、１群当たり雌雄各50匹以上とする。

②　各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法による。

③　動物数は、すべての群においてその10%以上が共食い等飼育上の問題で失われてはならない。

④　原則としてラット（投与開始後24か月時点）及びマウス（投与開始後18か月時点）の生存率は、25%を下回ってはならない。なお、中間屠殺を予定する場合は、そのために必要な数を追加設定すること。

⑤　衛星群について

ア　１年間反復経口投与毒性検索のために設ける衛星群の動物数は、１群当たり雌雄各10匹以上とする。ただし、最高用量群については、20匹以上とする。

イ　各群への動物の割り付けは、体重層別等による適切な無作為抽出法による。

ウ　中間屠殺を予定する場合は、そのために必要な数を追加設定する。

エ　試験結果の評価を行うのに十分な動物数が確保できていなければならない。

（２）試験群の設定

① 発がん性検索のための用量段階

対照群の他に少なくとも３段階の投与群を設け、さらに、これらに合わせて１年間反復経口投与毒性検索のための衛星群及びその対照群を設ける。

各用量段階は、下記により、用量反応関係がみられるように設定する。

なお、用量設定に当たっては、90日間反復経口投与毒性試験の結果等を参考とし、用量設定の根拠を示すこと。

ア 最高用量

最高用量は、腫瘍以外の原因で対照群に比して有意に死亡率が増加せず、何らかの毒性影響が認められる用量とする。

なお、技術的に投与できる最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

イ 最低用量

一般に、最低用量は、最高用量の10%より低くてはいけない。

ウ 中間用量

中間用量は、最高用量と最低用量との等比中項をとることが望ましく、通常、群間の公比は２から３とする。

エ その他

本試験から必ずしも被験物質による無毒性量を求める必要はないが、発がん性等がみられた場合には追加試験等によりその機序を検討するとともに、適切なパラメーターによる発がん性についての無毒性量を検討する。

② １年間反復経口投与毒性検索のための用量段階

ア 対照群の他に少なくとも３段階の投与群を設ける。

イ 用量段階は被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は多数例の死亡を引きおこすことなく毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。

ウ 用量設定に当たっては、90日間反復経口投与毒性試験の結果等を参考とし、用量設定の根拠を示すこと。

エ 技術的に投与できる最大量又は1,000mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

③ 対照群

ア 被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ 被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行う。

ウ 毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）～（５）の項目について実施する。

（１）一般状態の観察

① すべての動物について、一般状態を毎日観察し、定期的に体重及び摂餌量を測定する（飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。）。

② 体重及び摂餌量の測定は、通常、投与開始前に１回、投与開始後３か月までは少なくとも週に１回、その後は少なくとも４週に１回の割合で行うとともに被験物質

の摂取量を算出する。

（２）血液検査

① 発がん性検索のための用量群では、試験期間中に死に瀕した動物及び試験終了時の全生存動物について、屠殺時に血液塗沫標本を作製し、胸腺、リンパ節、肝臓、脾臓の腫大等、造血器腫瘍を予想させる場合には、塗沫標本を検索する。

② １年間反復経口投与毒性検索のための衛星群では、投与開始後６か月及び試験終了時（12か月時）に各群雌雄各10匹以上について採血し、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施する。

③ マウスを除き、検査前に一晩絶食させることが望ましい。

④ 衛星群については、通常、次の項目について行うが、そのほか試験ごとに適切な項目を追加選定して行う。なお、検査項目及び検査方法は、国際的に広く採用されているものを考慮に入れて選定する。

ア 血液学的検査

赤血球数、白血球数、血液像（白血球型別百分率）、血小板数、血色素量、ヘマトクリット値、その他必要に応じて網状赤血球数、凝固能（プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間）等

イ 血液生化学的検査

血清（血漿）総蛋白、アルブミン、Ａ／Ｇ比、ブドウ糖、コレステロール、トリグリセリド、ビリルビン、尿素窒素、クレアチニン、トランスアミナーゼ［ＡＳＴ（ＧＯＴ）、ＡＬＴ（ＧＰＴ）］、γ－ＧＴＰ、アルカリフォスファターゼ、電解質（ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン等）等

（３）尿検査

① １年間反復経口投与毒性検索のための衛星群の各群雌雄それぞれ10匹以上について、血液検査と同時期に尿検査を行う。

② 血液検査の対象となった動物について実施することが望ましい。

③ 通常、次の項目について実施する。

尿量、pH、蛋白、糖、ケトン体、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血、沈渣、比重等

（４）眼科学的検査

１年間反復経口投与毒性検索のための衛星群の少なくとも高用量群と対照群について、投与開始前と試験終了時に行う。もし被験物質投与による異常が発見されたら、すべての動物を検査する。

（５）病理学的検査

① 試験期間中の死亡動物は速やかに剖検し、器官・組織の肉眼的観察及び病理組織学的検査を行い、死因及びその時点での毒性変化の程度を明らかにするよう努める。

なお、腫瘍性病変の記載に関しては、腫瘍発生に至る各種変化（過形成、前癌病変等）の所見も付け加える必要がある（以下②及び③において同様）。

② 病理組織学的検査は、通常、次に掲げる器官又は組織について行うものとし、また、肉眼的観察所見等からの判断によって適宜追加する。

皮膚、乳腺、リンパ節（頚部リンパ節、腸間膜リンパ節等）、大動脈、唾液腺、骨及び骨髄（胸骨、大腿骨）、胸腺、気管、肺及び気管支、心臓、甲状腺及び上皮小体、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸）、大腸（盲腸、結腸、直腸）、肝臓（及び胆嚢）、膵臓、脾臓、腎臓、副腎、膀胱、精嚢・凝固腺、前立腺、精巣・精巣上体、卵巣、子宮、膣、脳、下垂体、坐骨神経、骨格筋、脊髄（頚部、胸部、腰部）、眼球及びその付属器、鼻腔、そのほか肉眼的に変化が認められた器官・組織

③　試験期間中に死に瀕した動物は、速やかに隔離屠殺後、剖検し、上記①と同様の観察及び検査を行い、瀕死状態となった理由とその時点での毒性変化の程度を明らかにするよう努める。

④　発がん性検索のための用量群及び１年間反復経口投与毒性検索のための衛星群に対しては、試験終了時にすべての生存例を速やかに屠殺、剖検し、器官・組織の肉眼的観察を行う。

また、衛星群では全動物について器官の重量測定を行う。重量測定は、通常、下記の器官について行う。なお、マウスを除き剖検前に一晩絶食させることが望ましい。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、脾臓、心臓、脳

⑤　病理組織学的検査は、対照群及び最高用量群のすべての動物について上記①と同様に行う。ただし、対照群及び最高用量群の間で腫瘍発生率に差が認められた器官・組織、90日間反復経口投与毒性試験における標的器官・組織、本試験において肉眼的に病変の認められた部位又は高用量群での所見から必要と考えられる器官・組織については、全動物について当該器官・組織の病理組織学的検査を行う。

なお、上述の場合以外にあっても、全動物について病理組織学的検査を行うことは、評価の助けになる。

⑥　試験終了後も将来において必要な時に病理組織学的検査が行えるように器官及び組織を保存する。

繁殖毒性試験（２－１－17）

１．目的

本試験は、被験物質を二世代（第一世代（Ｐ）及び第二世代（F_1））にわたって投与し、発情周期、交尾、受胎、分娩、哺育等の生殖機能及び出生児の生育に及ぼす影響に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試動物

（１）げっ歯類１種以上（通常、ラット）を用いる。

（２）供試動物の系統の選択に当たっては受胎率の低い系統は避け、一般毒性試験又は繁殖毒性試験に繁用されているものを選ぶ。

３．投与方法

（１）経口による連続投与とし、通常、混餌投与又は飲水投与により行う。混餌又は飲水による投与が困難な場合には強制投与を行ってもよい。

（２）投与量は、各週における各個体の体重に基づいて算出する。ただし、妊娠期の雌動物については、妊娠０日及び妊娠６日の体重に基づいて投与量を決定してもよい。

４．投与期間

被験物質の投与期間は、次のとおりである。

（１）第一世代（Ｐ）

少なくとも５日以上馴化した後、５～９週齢目から投与を開始し、交配するまで10週間以上投与する。その後も、雄は少なくとも交配が終了するまで、雌はF_1児を離乳するまで投与を継続する。

（２）第二世代（F_1）

離乳の時点から投与を開始し、交配するまで10週間以上連続投与する。その後も、雄は少なくとも交配が終了するまで、雌はF_2児を離乳するまで投与を継続する。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

試験に用いる動物数は、原則として雌雄同数とし、１群当たり20匹以上の妊娠動物が得られるだけの数とする。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　少なくとも３段階の用量設定により被験物質投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。最高用量は親動物又は児動物に体重増加抑制等何らかの毒性影響が認められるが死には至らしめない用量、最低用量は親動物及び児動物のいずれにも何ら毒性影響が認められない用量とし、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。

ウ　なお、技術的に投与可能な最大量又は1,000 mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一の条

件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行うこと。毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに、無処置対照群を加える。

6．交配、同腹児数の調整並びに第二世代（F_1）の選抜

（1）第一世代（P）

①　同じ用量群の雌雄を1対1で同居させ、交尾が確認されるまで交配させる。同居期間は2週間を限度とする。

②　雌動物については、毎朝膣垢内の精子又は膣栓の有無により交尾の有無を確認し、精子又は膣栓が認められた日を妊娠0日とする。

③　必要に応じて、一世代につき第2産児を得ることも考慮する。

④　同腹児は離乳するまで哺育させる。必要に応じて同腹児数を調整する場合は、生後4日に、雌雄各4匹になるよう余分な新生児を無作為に取り除く。なお、1腹当たり雌雄各4匹に調整することができない場合には、総数8匹（例えば雄5匹と雌3匹）となるように調整すればよい。また、同腹児が8匹以下の場合には調整を行わない。

⑤　F_1の離乳時に、各群ともできるだけ多くの母動物から、雌雄各1又は2匹を交配用として選抜する。

（2）第二世代（F_1）

第一世代（P）と同様に交配及び同腹児数の調整を行う。交配に際して、同腹児の交配を避ける。

7．観察及び検査

次の（1）～（3）の項目について実施する。

（1）親動物

①　一般状態

ア　P及び交配用F_1動物について、一般状態を毎日観察する。繁殖期の雌については、妊娠・分娩状態も観察する。

イ　一般状態は、生死、外観のほか、興奮、けいれん、鎮静、歩行異常等を観察する。妊娠・分娩状態は、流産・早産、分娩遅延等を観察する。

②　体重及び摂餌量

ア　P及び交配用F_1動物について、定期的に体重及び摂餌量を測定する（飲水投与の場合にあっては摂水量も測定する。以下同じ。）。なお、体重及び摂餌量の測定は、通常、投与開始日及び投与開始後は少なくとも週1回の割合で行う。

イ　繁殖期間中の雌については、妊娠0、7、14、21日及び哺育0、7、14、21日に測定する。

ウ　被験物質の摂取量も合わせて算出すること。

③　性成熟の観察

交配用F_1動物について、外部生殖器の発育状態を調べる。

④　発情周期

P及び交配用F_1雌について、交配前に2週間以上発情周期を調べる。必要に応じて第三世代（F_2）雌の発情周期も調べる。

⑤　妊娠、出産及び哺育

ア　雌雄の交尾動物数、妊娠動物数（及び妊娠させ得た雄数）、出産母体数及び離

乳児数を基に、以下の値を算出する。

交尾率【（交尾した動物数／交配に用いた動物数）×100】

受胎率【（妊娠動物数／交尾した雌動物数）×100】

出産率【（生存児出産雌数／妊娠雌数）×100】

離乳率【（離乳時の生存児数／生後４日に調整した児数）×100】

イ　交尾が成立しなかった雌雄動物については、その原因を調査すること。

⑥　精子検査

Ｐ及び交配用F_1雄について、屠殺時に、精巣の精子細胞数及び精巣上体中の精子の数、運動性、形態等を調べる。

（２）児動物

①　出産後速やかに母動物ごとの産児数、死産児数、生存児数、児動物の外表異常の有無及び性を調べ、体重を測定する。必要に応じて肛門･生殖結節間距離（ＡＧＤ：Anogenital　Distance）を測定する。

②　生後４日、７日、14日及び21日における生存児の数を調べ、生存率を算出するとともに、個体ごとに体重を測定する。

③　そのほかに、一般状態の観察を行う。

（３）病理学的検査

①　Ｐ及び交配に用いたF_1動物はそれぞれの出生児の離乳後速やかに、交配用に選抜されなかったF_1及びF_2児動物にあっては離乳後速やかに屠殺し、特に生殖器系の器官に注意を払いながら、剖検し、肉眼的観察を行う。

②　交配に用いた雌の子宮については、着床痕数を調べる。試験期間中の死亡した個体は速やかに剖検し、死因を調べる。試験期間中に死に瀕した動物についても、速やかに屠殺、剖検し、その原因を調査する。

③　重量測定は、通常、以下の器官について行う。

ア　親動物：卵巣、子宮、精巣、精巣上体、精嚢･凝固腺、前立腺、脳、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、下垂体、甲状腺その他標的臓器

イ　離乳児：脳、脾臓、胸腺及び子宮

④　Ｐ及び交配に用いたF_1動物の高用量群と対照群について、生殖器系の器官と標的器官の病理組織学的検査を実施する。被験物質投与の影響と考えられる異常が認められる場合は、中間用量群と低用量群についても同様の検査を実施する。その他、児動物についても、被験物質投与の影響と考えられる肉眼的異常が認められた器官及び組織について病理組織学的検査を実施する。反復投与毒性試験の結果を参考にする。

⑤　試験終了後も必要に応じ、病理組織学的検査が行えるよう親動物及び児動物の生殖器系の器官を中心に保存する。

催奇形性試験（２－１－１８）

１．目的

本試験は、妊娠中の母動物が被験物質に暴露された場合の胎児の発生、発育に及ぼす影響、特に催奇形性に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試動物

げっ歯類１種以上（通常、ラット）及び非げっ歯類（通常、ウサギ）の合計２種以上にを用いる。

３．投与方法

（１）原則として、経口による強制連続投与とする。

（２）投与量は、投与に最も近い日の体重に基づいて計算する。ただし、被験物質の血中濃度の値、摂餌状況等により、一定の投与量が確保出来ることが確認できる場合には、飼料又は飲水に添加して投与を行ってもよい。

４．投与期間

（１）被験物質の投与期間は、少なくとも着床から分娩予定日の前々日までの期間とし、連日投与とする。

（２）膣栓又は膣垢中に精子が認められた日を妊娠０日として起算する。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

試験に用いる妊娠動物数は、データの解釈が十分できる数とする。

（２）試験群の設定

①　被験物質投与群

ア　少なくとも３段階の用量設定による投与群を設ける。

イ　用量段階は、被験物質の毒性の徴候を明らかにし、無毒性量を推定できるように設定する。

ウ　最高用量は、母動物又は胎児に体重増加の抑制等何らかの毒性影響が認められる用量とし、一方、最低用量は親動物、胎児のいずれにも何ら毒性影響が認められない用量とし、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定する。また、用量設定の根拠を示すこと。

エ　技術的に投与可能な最大量又は1,000 mg/kg体重/日相当量で何ら毒性影響が認められない場合は、それ以上の投与量で実施する必要はない。

②　対照群

ア　被験物質の投与を行わないこと以外、すべての点で被験物質投与群と同一条件とする。

イ　被験物質の投与に溶媒等を使用する場合には、投与溶媒量の最も多い用量群と同量の溶媒の投与を行う。なお、毒性に関する情報が十分に得られていない溶媒等を使用する場合には、さらに無処置対照群を加える。

６．観察及び検査

次の（１）及び（２）の項目について実施する。

（１）母動物

①　一般状態の観察

ア　すべての母動物について、一般状態及び妊娠状態を毎日観察する。

イ　体重、摂餌量（飲水投与の場合にあっては、摂水量も測定する。以下同じ。）を定期的に測定する。なお、体重及び摂餌量の測定は、通常、妊娠０日、剖検日及び被験物質の投与期間中にあっては少なくとも３日ごとに行う。

ウ　一般状態は、生死、外観のほか、興奮、けいれん、鎮静、歩行異常等を、妊娠状態は、流産、早産等を観察する。

②　剖検

ア　流産や早産の徴候を示した動物は、速やかに屠殺し、器官・組織の肉眼的観察を行う。死亡動物及び死に瀕した動物についても、同様な検索を行う。

イ　分娩予定日の前日にすべての動物を屠殺し、子宮を摘出した後、すべての器官・組織の肉眼的観察を行う。摘出した子宮については、重量を測定した後、下記（２）に記載する検査を行う。

ウ　黄体数を調べる。子宮内に受胎産物がみられない場合には、さらに詳細に検査し、着床痕の有無を調べる。

（２）胎児

①　母動物より摘出した子宮を切開し、胚死亡、胎児死亡及び生存胎児数を検査する。

死亡胚・胎児については、死亡時期を推定する根拠となる所見をできる限り記録する。胎児の性別判定を行い、胎児体重を個別に測定、記録し、各群雌雄の平均胎児体重を算出する。

②　摘出したすべての胎児について外表異常の検査を行った後、ラットについては同腹胎児の１／２について骨格異常の検査を行い、残りについて内臓異常の検査を行う。ウサギについては、すべての胎児について内臓異常（１／２については頭部を切断して詳細に観察する。）の検査を行った後に骨格異常の検査を行う。

変異原性に関する試験（２－１－１９－１～３）

１．目的

本試験は、被験物質の遺伝子突然変異、染色体構造異常及び数的異常の誘発性の有無を検索することを目的とする。

２．試験法の選択

変異原性試験としては、「細菌を用いる復帰突然変異試験」、「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」及び「げっ歯類を用いる小核試験」を実施する。技術的又は科学的な理由から、上記試験が適用できない場合には、これに類似した指標を持つ試験系によって代行してもよい。これらの試験結果からさらに検索の必要が認められる場合には、適切な変異原性試験を追加して実施する。

復帰突然変異試験（２－１－１９－１）

１．使用菌株

以下の５組の中からそれぞれ１株を選択し、合計５菌株を用いて試験を行う。

① ネズミチフス菌（*Salmonella* typhimurium）ＴＡ98
② ネズミチフス菌ＴＡ100
③ ネズミチフス菌ＴＡ1535
④ ネズミチフス菌ＴＡ1537、ＴＡ97又はＴＡ97ａ
⑤ 大腸菌（*Escherichia coli*）ＷＰ２ *uvrA*、大腸菌ＷＰ２ *uvrA*/pＫM101又はネズミチフス菌ＴＡ102

被験物質の性質からみて必要な場合には他の菌株を追加する。

２．用量段階

（１）適切な間隔で５段階以上の解析できる用量を用いる。
（２）最高用量はあらかじめ試験に用いる全菌株を用いて用量設定試験を行い、生育阻害と溶解性を考慮に入れて設定することが望ましい。
（３）原則として生育阻害を示す用量を最高用量とし、生育阻害を示さない場合には５mg／プレートとする。溶解性にかかわらず全く生育阻害を示さない難溶性物質の場合には、析出する用量を最高用量としてもよい。

３．対照

溶媒を用いる陰性対照及び適切な既知の変異原物質による陽性対照を試験ごとに設定する。

４．使用プレート数

被験物質の各用量及び各対照について、それぞれ２枚以上のプレートを用いる。

５．試験方法

（１）プレインキュベーション法又はプレート法により実施する。科学的に正当な理由があれば他の方法を用いてもよい。
（２）いずれの方法においても、代謝活性化を用いる系及び用いない系について試験を行

う。代謝活性化を用いる系には、薬物代謝酵素系を誘導する適切な処理を行った動物の肝ホモジネート上清分画（Ｓ９）に補酵素等を添加したＳ９*mix*を用いる。

６．観察

すべてのプレートを原則として37℃で48～72時間培養した後、プレートごとに復帰変異コロニー数を計測する。同時に生育阻害及び被験物質の析出の観察を行う。

７．結果の判定

（１）再現性については、使用菌株、用量段階、対照、プレート数等について十分なデータを提供する用量設定試験が実施されていれば、これで確認してよい。

（２）復帰変異コロニー数が陰性対照と比べ明らかに増加し、再現性あるいは用量依存性が認められる場合は陽性と判定する。再現性が認められない場合には、確認試験を実施する。また、明確に陽性あるいは陰性と判定できない場合には、実験条件を変えて確認試験を実施する。

８．結果の表示

プレートごとの復帰変異コロニー数の実測値及び群ごとの平均値を表示する。

染色体異常試験（２－１－１９－２）

１．使用細胞

（１）ヒト細胞を含む初代、継代培養細胞又は株細胞を用いる。例えば、チャイニーズハムスター線維芽細胞株、ヒト末梢血リンパ球である。

（２）試験に用いる細胞については、染色体数(modal number)、マイコプラズマの汚染の有無、細胞周期等を調べること。

２．用量段階

（１）適切な間隔（原則として公比２）で３段階以上の染色体分析できる用量を用いる。

（２）あらかじめ用量設定試験を行うことが望ましい。

（３）最高用量は、被験物質の培養液中での溶解性にかかわらず、細胞増殖を明らかに50％以上抑制する濃度とする。50％以上の増殖抑制が認められない場合には、5mg/ml又は10mM（いずれか低い方）を最高用量とする。増殖抑制が全く認められず、処理終了時に被験物質の析出が認められる場合には、析出する用量を最高用量としてもよい。

３．対照

溶媒を用いる陰性対照及び適切な既知の染色体異常誘発物質による陽性対照を試験ごとに設定する。

４．使用プレート数

被験物質の各用量及び各対照について、原則としてそれぞれ２枚のプレートを用いる。

５．試験方法

（１）増殖期の細胞を用い、最初に短時間処理法として代謝活性化を用いる系及び用いな

い系について、３～６時間被験物質で処理し、処理開始より約1.5細胞周期後に染色体標本を作製する。

（２）短時間処理法で陰性の結果が得られた場合には、代謝活性化を用いない系について1.5細胞周期の連続処理法による試験を実施する。被験物質によっては顕著な細胞周期の遅延が生じる場合がある。代謝活性化を用いない系では1.5細胞周期よりも長い連続処理、代謝活性化を用いる系では1.5細胞周期よりも遅い標本作製時期が必要な場合があり、そのため必要に応じて確認試験を行う。代謝活性化を用いる系には、薬物代謝酵素を誘導する適切な処理を行った動物の肝ホモジネート上清分画（Ｓ９）に補酵素等を添加したＳ９*mix*を用いる。

６．観察

（１）陽性対照及び陰性対照を含め、すべてのスライド標本はコード化して、処理条件が分からない状況で観察を行う。

（２）用量当たり少なくとも200個、プレート当たり少なくとも100個のよく広がった分裂中期細胞を観察し、染色体構造異常を持つ細胞の数と出現頻度を記録する。構造異常は種類別にその数と出現頻度を記録する。

（３）ギャップは他の異常と区別して記録するが、総異常頻度には含めない。なお、ギャップは染色分体幅より狭い非染色性部位と定義する。倍数体や核内倍加が観察される場合にはその数と出現頻度を記録する。

７．結果の判定

（１）染色体異常を持つ細胞の出現頻度が陰性対照に比較して明らかに上昇し、用量依存性又は再現性が認められる場合は陽性と判定する。

（２）明確に陽性又は陰性と判定できない場合には、実験条件を変えて確認試験を実施する。

８．結果の表示

プレートごとに各観察データを表示し、群ごとの平均値を表示する。本試験における各用量及び陰性対照群の細胞増殖に関するデータを表示する。被験物質の析出がみられる場合には、その用量を明記する。

小核試験（２－１－１９－３）

１．動物種

通常、骨髄の赤血球を用いる場合にはマウス又はラットを、末梢血の赤血球を用いる場合にはマウスを用いるが、他の適切な動物種を用いてもよい。毒性に明らかな性差がみられない場合には、雄のみで試験を実施してよい。

２．動物数

一群５匹以上の動物を用いる。

３．投与経路

強制経口投与又は腹腔内投与とする。

４．投与回数
単回又は複数回投与とする。

５．用量段階
（１）適切な間隔で３段階以上の用量を設定する。
（２）幼若赤血球の減少等骨髄で細胞毒性が認められる用量又は毒性徴候が認められるか若しくはそれ以上の用量で致死が予想される用量を最高用量とする。
（３）毒性が認められない場合には2,000mg/kgを最高用量とする。

６．対照
溶媒を用いる陰性対照及び適切な既知の小核誘発物質による陽性対照を設定する。

７．試験方法
（１）骨髄又は末梢血の赤血球を用いる。
（２）単回投与の場合には被験物質投与後適切な時期に２回、複数回投与の場合には最終投与後適切な時期に１回標本を作製する。
（３）最も感受性の高い時期が確認できれば単回投与の場合でも標本作製は１回にすることができる。

８．観察
（１）陽性対照及び陰性対照を含め、すべてのスライド標本はコード化して、処理条件が分からない状況で観察を行う。
（２）個体当たり2,000個以上の幼若赤血球を観察して、小核を有する細胞の出現頻度を記録する。
（３）個体当たり骨髄の場合には200個以上、末梢血の場合には1,000個以上の赤血球を観察して全赤血球に対する幼若赤血球の比率を記録する。

９．結果の判定
（１）小核を有する細胞の数の増加に用量依存性が認められる場合又はいずれかの投与群で小核を有する細胞の数が明らかに増加する場合には陽性と判定する。
（２）明確に陽性又は陰性と判定できない場合には、実験条件を変えて確認試験を実施する。

10．結果の表示
個体ごとに各観察データを表示し、群ごとの平均値を表示する。

解毒方法又は救命処置方法に関する試験（２－２－１）

１．目的

本試験は、農薬に含まれる急性毒性の強い被験物質による急性中毒症に対する解毒方法又は救命処置方法を得ることを目的とする。

２．供試動物

（１）マウス、ラット、モルモット、ウサギ、イヌ等の中から、試験に適した動物種を用いる。

（２）原則として、雌を用いるが、他の毒性試験の結果から雄の方の感受性が高いと判断される場合には雄を用いる。

（３）雌は、未経産で非妊娠のものを用いる。

３．試験の実施方針

（１）解毒方法の検索

被験物質による急性中毒症の機序が他の毒性試験の結果等から明らかとなっている場合には、当該機序による毒性の発現の緩和が期待できる既知の解毒剤を用いて、その効果（生存率の改善、中毒徴候の緩和等）を確認する試験を行う。

急性中毒症の機序が明らかではない場合には、必要に応じ機序を解明するための試験を実施した上で、推定される機序による毒性の発現の緩和が期待できる解毒剤を検索し、同様に試験を行う。

（２）その他の救命処置方法の検索

（１）の試験により有効な解毒剤が得られない場合には、胃洗浄、催吐、活性炭投与等により消化管からの被験物質の吸収を抑える措置等、一般的な薬物中毒対策の効果を検討するための試験を行う。

（３）作用機序解明試験の実施

（１）の機序を解明するための試験を行う場合には、次に掲げる検査項目のうち、必要な項目について実施する。

① 状態観察
観察は多次元観察法により客観的、定量的、経時的に把握する。

② 中枢神経系
自発運動量、けいれん誘発作用等に対する作用

③ 呼吸・循環器系
呼吸、血圧、心拍数、心電図等に対する作用

④ 腎機能
尿量、尿中電解質濃度、尿浸透圧（比重）等

⑤ 自律神経系
瞳孔径、瞬膜、摘出輸精管等に対する作用

⑥ 骨格筋
握力、摘出骨格筋等に対する作用

⑦ 血液系
溶血作用、凝固機能等に対する作用

⑧ 消化器系
小腸輸送能、摘出腸管、アゴニスト収縮等に対する作用

⑨　その他
　状態観察その他毒性試験から必要と思われるもの

４．試験報告書に記載すべき事項
（１）被験物質に関する情報
　名称、略称又はコード番号、化学名、ＣＡＳ番号（既知の場合）、純度及び安定性等の物理化学的性質
（２）供試した解毒剤に関する情報
　（１）に同じ。
（３）供試した解毒剤又は救命処置方法の選択理由
（４）作用機序解明試験を実施した場合、実施した検査項目の選択理由
（５）供試動物に関する情報
　動物種、系統、齢、性（選択理由）、供給源、１群当たりの匹数、開始時の個体別体重、飼育条件（飼育環境、飼料の品質及び水質）等
（６）試験条件に関する情報
　被験物質の調製方法、用量設定理由、投与経路及び期間、投与量、漸増投与の場合は投与間隔の根拠等
（７）試験結果及び統計処理方法・結果
（８）考察及び結論
（９）参考文献

動物代謝に関する試験（２－３－１）

１．目的

本試験は、被験物質を動物に投与して、当該被験物質の体内動態（吸収、分布、排泄、代謝等）に関する科学的知見を得ることにより、農薬の毒性に関する試験成績の評価等に資することを目的とする。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。なお、同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試動物

（１）１種類（通常、ラット）の若齢成獣を用いる。

（２）１年間反復投与経口毒性試験又は発がん性試験に用いたものと同一系統の動物を用いることが望ましい。

（３）原則として、雌雄の動物を用いる。

（４）げっ歯類と非げっ歯類において、標的臓器及び毒性徴候の程度が著しく異なる場合には、一部の試験項目について非げっ歯類を加えることが望ましい。なお、必要に応じ妊娠動物も用いる。

４．投与方法

（１）投与経路

原則として経口投与による。必要に応じ静脈内投与等による試験を補足する。

（２）投与回数、期間

原則として単回投与とする。蓄積性が予想されるとき等は反復投与による実施について検討する。なお、反復投与の場合、被験物質の体内での定常状態、蓄積性等を推定し得るに足る投与間隔（通常１日１回）と期間（おおむね14日）で行う。

５．動物数及び試験群の設定

（１）動物数の設定

動物数は、原則として各用量群とも４匹以上とし、個体差、各観察・測定時点での必要検体数等を考慮して、試験目的にあった適切な数とする。

（２）試験群の設定

①　単回投与では少なくとも２用量を用いる。２段階の用量設定に当たって、高用量は何らかの毒性影響が認められる量を、低用量は何ら毒性影響が認められない用量を目安とする。

②　反復投与では原則として低用量のみとし、必要に応じ高用量についても実施する。

６．検討項目

吸収、分布、排泄、代謝等における検討項目は、通常、次のとおりである。

（１）吸収

被験物質の吸収量及び吸収速度に関する情報を求める。これらは排泄量又は血中濃度（血清中濃度、血漿中濃度又は全血中濃度）の推移等の解析から求められる。

（２）分布

主要器官及び組織（毒性影響の見られた器官及び組織を含む。）への被験物質及び代謝物の分布（濃度及び分布率）を、投与後Tmax及び排泄調査の最終時点を含む適当な複数の時点で測定することにより、その分布、経時的変化及び蓄積性に関する情報を求める。

（３）排泄

被験物質及び代謝物の糞尿及び呼気への排泄量を測定し、これらより総排泄量を求め、排泄経路及び排泄の程度と速度に関する情報を求める。排泄量の測定は、投与後７日間又は投与量の少なくとも90％が排泄されるまでの、どちらか早いほうで経時的に行う。必要に応じ、胆汁及び乳汁への排泄量も測定する。

（４）代謝

適切な手法により、被験物質及び主要な代謝物の同定と定量を行い、代謝経路及び代謝の程度と速度に関する情報を求める。

（５）その他

例えば、生体高分子との結合等毒性との関連が示唆されるような各種の事項、代謝に関与する器官、組織等の解明等についてできるだけ調査することが望ましい。

植物代謝に関する試験（２－４－１）

１．目的

本試験は、被験物質の植物体内での吸収移行、植物表面上での光化学反応を含めた主要代謝経路及び代謝物の量に関する科学的知見を得ることを目的とする。動物代謝に関する試験成績とあわせて動物及び植物体内における代謝物の異同の確認並びに作物残留試験の分析対象物質の決定に資するものとする。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。

なお、同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試植物

栽培環境は、通常の栽培形態に近い条件で試験を行うことが望ましい。

４．処理方法

（１）被験物質は、登録を予定している代表的な製剤又はそれに近い形態若しくは組成に調整して用いる。

（２）原則として登録申請に係る使用方法、使用時期及び使用量に準じて処理を行う。

（３）異なる複数の施用方法が予定される場合は、原則として複数の試験を実施することが望ましい。

５．試料採取

（１）原則として、試料の採取は当該作物の収穫期に行う。ただし、施用から収穫までの期間が長く、収穫期のみでは代謝経路の解明が困難な場合は、施用の初期から後期までの複数時点で試料を採取する。

（２）収穫期間が長い作物は、収穫期間中の複数時点で試料を採取することが望ましい。

（３）原則として、根、葉、茎、実等の各植物部位、また、処理部位と非処理部位がある場合には、それぞれを区別して試料とする。

６．分析

（１）区別して採取した試料ごとに代謝物等（未変化の被験物質を含む。以下同じ。）の存在量等を明らかにする。

（２）処理部位については、可能な範囲で表面に残存した代謝物等と植物体内部に浸透した代謝物等を区別して分析する。

（３）原則として、試料は速やかに分析することとし、植物試料、抽出液等を保存する場合は、代謝物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の代謝物等の変化を把握出できるようにする必要がある。

７．代謝物の同定等

代謝物の同定は、原則として、次により明らかにすることが望ましい。

（１）採取部位における全残留量の10％以上で、かつ、被験物質に換算して0.01mg／kg以

上の各代謝物及びそれに近いものは、同定又はその化学的特徴付けを行う。
（２）採取部位における全残留量の10％以上で、かつ、被験物質に換算して0.05mg／kg以上の各代謝物及びそれに近いものは、技術的に可能な限り同定する。
（３）植物体に固有な代謝物等（抱合体の場合はそのアグリコン）は、量的に満たない場合であっても、技術的に可能な限り同定する。
（４）採取部位における放射性残留濃度が被験物質に換算して0.01mg/kg以上の場合、抽出性残留物量の50％以上の同定及び全残留量の70％以上の化学的特徴付けを行うことが望ましい。
（５）全残留量の10％以上で、かつ、0.05mg/kg以上生成する抽出残さ成分については、界面活性剤、酵素、酸塩基処理等により化学的特徴付けを行う。
（６）採取部位における放射性残留濃度が被験物質に換算して0.01mg/kg以上で、かつ、全残留量の10％未満の代謝物が複数種残留している場合は、可能な限り共通の分子部分に変換する等により特徴付けることが望ましい。

家畜代謝試験（２－４－２）

１．適用範囲
（１）農薬（当該農薬の植物代謝物等を含む。）が残留した飼料の用に供される農作物及び稲わら等の農作物の副産物（以下「飼料作物等」という。）を家畜（家きんを含む。以下同じ。）に給与した場合の当該農薬の家畜体内における代謝を定性的、定量的に明らかにするための放射性同位元素で標識した被験物質（以下「標識被験物質」という。）を用いた家畜代謝試験を対象とする。
（２）本試験に係る指針はOECDテストガイドライン503「家畜代謝」(2007年1月8日採択)に準拠する。ただし、当該ガイドラインの対象である農薬使用のうち、「農薬の家畜への直接投与」及び「農薬による畜舎内の処理」に係る規定は含まない。

２．目的
（１）家畜の組織、臓器、乳及び卵（食用のものに限る。以下「食用の組織等」という。）並びに排泄物中の標識被験物質由来の放射性同位元素を含む成分（以下「残留放射性物質」という。）の性質及びそれらの総濃度（Total Radioactive Residue。以下「TRR」という。）を推定すること。
（２）食用の組織等中における残留物の主要成分を同定し、家畜残留試験における分析対象物質（規制対象化合物及び暴露評価対象化合物と考えられるもの）を明らかにすること。
（３）反すう動物及び家きんにおける農薬の代謝経路を明らかにすること。
（４）残留物が脂溶性（脂肪組織、乳脂肪又は卵黄に分布する性質。以下同じ。）か否かの根拠を提供すること。
（５）畜産物に残留する農薬の成分をヒトが摂取する可能性がある場合に、農薬の家畜体内への吸収、分布、代謝及び排泄を説明するための情報を得ること。

３．一般的な留意事項
（１）動物代謝試験（２－３－１）のデータ等を家畜代謝試験のデータの代替にすることはできない。ただし、その結果を家畜代謝試験を設計する際に参考とする場合又は家畜代謝試験で

残留成分の特徴付けや同定が十分にできなかった場合には、家畜代謝試験の補完として当該試験データを使用することができる。

（2）実施した家畜代謝試験データを、家畜残留試験（３－２－１）に関するデータの一部として利用する場合は、実際に起こりえる飼料からの摂取量と同程度の投与量を用いた試験（反すう動物の場合は個体、家きんの場合は投与群）のデータが必要である。その際に食用の組織等中の残留濃度が定常状態に達しないと考えられる場合は、投与期間を延長する必要がある。特に、乳及び卵中の残留濃度が定常状態に達していない場合、当該試験データを家畜残留試験（３－２－１）の一部として利用することについては十分な科学的根拠が必要である。

４．試験の実施が必要な条件

飼料作物等の作物残留試験（３－１－１）において、有効成分及び主要代謝物が定量限界以上残留した場合に本試験の実施が必要である。定量限界は、原則として0.01～0.05 mg/kg（牧草の基準値が適用される飼料作物等の場合は、水分含量を10%に換算した場合に0.01～0.05 mg/kgとなる濃度）を目途に設定するものとする。

５．試験方法

（1）被験物質

①　被験物質

被験物質は、原則は農薬の有効成分等（以下「親化合物」という。）とし、親化合物と植物体中の代謝物等との混合物であってはならない。植物体中の主たる代謝物が動物中での代謝物としても存在することが明らかな場合は、原則として当該代謝物を投与する追加試験は必要ない。ただし、植物体中の主たる代謝物が飼料作物等中の総残留の大部分を占める場合等にあっては、当該代謝物を用いた家畜代謝試験を求める場合がある。

②　標識位置

ア　残留する成分を追跡できるように、安定した位置を選定する。

イ　複数の環を持つ構造又は重要な側鎖が存在し、かつ、これらが開裂する可能性がある場合は、それぞれの環又は側鎖を標識し、標識被験物質ごとに試験を実施する。開裂しないことが予想される場合は、その科学的根拠を示すことにより、該当する試験を省略してもよい。ただし、開裂することが明らかになった場合は、開裂した部分を追跡する試験を追加要求する場合がある。

③　標識に使用する放射性同位元素

ア　標識に使用する放射性同位元素は通常^{14}Cとする。

イ　分子内に炭素原子が存在しない場合や不安定な炭素側鎖しか存在しない場合は、^{32}P、^{35}S等も利用可能である。^{3}Hは生体内分子中の水素との置換が起こる可能性があることから原則として使用しない。不安定な側鎖への標識あるいは^{3}H標識体を用いた試験のデータはその残留放射性物質が全て同定され、かつ、供試した農薬に由来することが確認されている場合にのみ使用することができる。

ウ　なお、質量分析法（以下「MS」という。）又は核磁気共鳴法（以下「NMR」という。）による代謝物の同定を目的として、安定同位体^{13}C、^{15}N、^{2D}（置換性のないものに限る。）を併用してもよい。

④　比放射能

投与する被験物質の比放射能は、食用の各組織等中の総残留量として0.01 mg/kgの定量

が可能となるよう設定する。

（２）投与

①　投与方法

被験物質が確実に投与されるよう、強制経口投与により行う。

②　投与量

ア　家畜代謝試験に用いる投与量は、最大残留濃度の作物を飼料として与えた場合に予想される摂取量（以下「予想飼料最大負荷量」という。）と同等のレベルとする。ただし、各組織における残留物の特徴付け、同定のために十分な残留量を得るため最低でも供与飼料中濃度として10 mg/kg を投与する。

イ　投与量の計算は全て飼料の乾物重ベースとする。予想飼料最大負荷量の算出方法は家畜残留試験（３－２－１）にしたがう。

ウ　投与量が不十分で、残留物の特徴付け及び同定のために十分な放射性物質濃度が得られなかった場合は追加試験を行う。追加試験では、比放射能の増加、最適なと殺時間の設定、過剰投与等を検討し、十分な放射性物質濃度を得られるよう試験設計をする必要がある。

③　投与日数

反すう動物及び非反すう動物は５日間以上、家きんは７日間以上、毎日投与する。

（３）供試動物及び試料採取

①　供試動物

ア　供試する動物種は、反すう動物においては泌乳山羊、家きんにおいては産卵鶏とする。

イ　供試個体数は標識被験物質ごとに以下のとおりである。ただし、科学的に必要と考える時は、個体数を増やすこと。なお、非反すう動物を用いる場合は、反すう動物の個体数に準じる。

（ア）泌乳山羊：１頭

（イ）産卵鶏：10羽（複数の投与量で実施する際には、各投与群あたり10羽）

ウ　対照群は必要ない。

エ　動物代謝試験と反すう動物又は家きんの家畜代謝試験で代謝が顕著に異なる場合（例えば、以下の場合）は、非反すう動物(豚)の代謝試験が必要になる場合がある。

（ア）代謝経路が異なる場合

（イ）主要な残留物が異なる場合

（ウ）毒性学上の懸念が知られている基本構造を持つ代謝物が生じる場合

オ　順化期間は、投与開始時に、乳量及び産卵数が適切に維持されるように設定する。

カ　以下の理由により、組織等中の残留放射性物質濃度が低くなり、組織等への分布が検出されない、又は親化合物と代謝物の相対的な量の比較を困難にする可能性があるため、被験物質を供試動物に事前投与してはならない。

（ア）代謝酵素が誘導される可能性がある。

（イ）事前投与された被験物質の残留により、動物体内における分布が変化し、各組織等に存在する親化合物及び代謝物の比放射能が変わる可能性がある。

②　動物試料の採取

ア　と殺時期の決定に当たっては次の事項に考慮する。また、と殺時期の根拠となった情報を報告書に記載する。

（ア）一般的なと殺時期（例えば最終投与後１、３、６、９、12時間など）と動

態学的情報

（イ）と殺時期は、原則最終投与の６～12時間後とするが、最終投与後の24時間を超えてはならない。また、親化合物の寄与を過大評価することを避けるため、T_{max}（投与後、被験物質等の濃度がCmax（被験物質等の最高濃度）に達するまでの時間）より前のと殺はさけること。

（ウ）代謝物の同定及び特徴付けに十分な残留放射性物質濃度を確保すること。

（エ）と殺時点における残留放射性物質濃度が十分でないと予想される場合は、動態学的情報から組織中最大濃度を推定し、と殺時期の妥当性を検証する。なお、組織等への分布が速やかな場合には、組織中最大濃度はT_{max}近傍で生じる。T_{max}は、供試動物の血液試料を分析することで得ることができる。また、多くの場合、経口投与における動態学的挙動は、ラット、反すう動物、大部分の家きんにおいて類似していることが知られているため、実験動物における動態学的情報や全身オートラジオグラフィーの結果等を参考として用いてよい。

イ　排泄物、乳及び卵は、可能であれば毎日2回採取する。

ウ　と殺時には少なくとも以下の組織を採取する。

（ア）筋肉（反すう動物では腰部及び脇腹の筋肉、家きんでは脚及び胸の筋肉）

（イ）肝臓（山羊及び家きんでは臓器全部、牛及び豚では肝臓の異なる葉部の代表的部分）

（ウ）腎臓（反すう動物のみ）

（エ）脂肪（反すう動物及び豚では腎周囲脂肪、大網膜脂肪及び皮下脂肪、家きんでは内臓脂肪及び皮下脂肪）

エ　採取した臓器について病理検査を行う。異常があった場合には記録し報告書に記載する。

（４）　試料の分析

①　残留放射性物質の同定及び特徴付け

ア　家畜代謝試験では、食用の組織等中に存在するTRRの少なくとも90 %について、付録1に従い、同定及び特徴付けを行う。ただし、次のような理由で同定が困難な場合は、各残留成分の濃度を明らかにし、特徴付けのみを行い、同定が困難な理由及び特徴付けの結果を報告書に記載する。

（ア）個々の残留放射性物質の量が非常に少ない場合

（イ）残留放射性物質が生体成分に取り込まれている場合

（ウ）標識被験物質が容易に代謝され、非常に低濃度の多成分として存在している場合

イ　代謝物の構造が他の登録農薬の有効成分又は代謝物と同じであると同定された場合、当該成分について入手可能な情報を収集する。

②　分析対象組織

ア　採取した全ての組織及び臓器等及び排泄物について残留放射性物質濃度を定量する。家きんの場合、1羽ごとの試料の分析が困難であれば10羽分の試料を混合してもよい。乳についても分析が困難な場合は同一日に採取した同一個体の乳は混合してもよい。乳は脂肪画分と水溶性画分を分離し、それぞれの画分の残留放射性物質濃度を定量する。

イ　組織中残留物が微量であること等により特徴付けが十分に行えない等の場合には、排泄物中の残留物の特徴付けや同定が必要な場合もある。

ウ　筋肉及び脂肪の残留放射性物質濃度は採取部位ごとに定量する。異なる部位(例えば、腹部及び脇腹の筋肉)での残留濃度がほぼ同じ場合は、代謝物を分析する前に同一組織の各部位の試料を混合してもよい。ただし、その際には混合試料中の各部位の混合比を供試動物中の各部位の比率と同等とすること。部位によって残留濃度が明らかに異なる場合は、それぞれ部位ごとに残留放射性物質の特徴付け及び同定を行う。

③　分析方法

ア　分析に供される試料は、均質化したのち、放射能測定を実施し、TRRを算出する。また、投与した放射性物質すべての行方が解明されなければならない。

イ　想定される残留物の性質に応じ、極性その他の特性が異なる溶媒を組み合わせた一連の溶媒系（水溶性の溶媒を含む。）を用いて組織等から残留物を抽出する。得られた抽出液に含まれる残留物を抽出性残留物、抽出残渣に含まれる残留物を非抽出性残留物と定義する。

ウ　抽出性残留物および非抽出性残留物は付録１にしたがって同定、特徴付けを行う。

（５）試料の保存

①　代謝試験の試料は原則-18℃以下で保存する。他の条件で保存した場合は、当該条件を記録するとともにその妥当性を説明する。

②　組織等の採取からの期間、分析用試料の調製及び保存期間における試料中の残留物の安定性を確認しなければならない。

③　試験期間中に採取した組織等及び分析用試料（抽出物を含む。）を適切な条件下で保存し、採取後6ヶ月以内に分析された試料については保存安定性に関するデータは原則必要ない。

④　試料採取後6ヶ月以内に分析を終了できなかった場合には、試料採取から当該試料を用いた最後の分析が終了するまでの保存安定性を証明しなければならない。保存安定性の検証に使用する組織等は実際に試料として保存されたものとする。例えば、組織等からの抽出物を試料として保存する場合には、その抽出物中での安定性を確認する。

⑤　他の知見から有効成分の安定性が疑われる場合は、採取後6カ月以内であっても試験期間中における安定性を確認する。

⑥　家畜残留試験（３－２－１）等の分析法で用いられる抽出法が代謝試験で用いられた抽出法と異なる場合には、ラジオバリデーションが必要となることがあるため、肝臓、乳とともに、特定の組織等に特定の代謝物が残留している場合は、当該組織等を保存しておくこと。

６．試験報告書に記載すべき事項

（１）概要・緒言

①　試験の目的、試験設計及びその試験設計を採用した合理的理由

②　当該試験の実施にあたって準拠したガイドラインや試験実施体制等に関する情報、予期しなかった試験上の問題、それによる試験計画書からの逸脱及び当該逸脱が試験結果へ及ぼした影響

③　結果の概要（検出された代謝物及び想定代謝経路。（残留物のすべての構成成分（遊離体及び非抽出性画分）の同定及び定量に関する記述、当該構成成分の食用の組織等への分布を含む。））

④　結果の解析（分析した組織、乳及び卵中の残留物の性質に関する結論）

⑤　試験上の問題点及び当該問題点を試験目的に照らした場合の妥当性の評価

（２）材料及び方法

①　被験物質

ア　被験物質の化学名（IUPAC名）、一般名（ISO名等）、企業の開発名、CAS名及び番号、ロット番号、純度、構造式等（分析証明書を添付すること。）

イ　残留物を構成している親化合物及び代謝物の化学構造、それらの開発名又は実験名（同定において使用した標準物質の純度及びNMRやMSの分析結果等の構造についての情報を記載している分析証明書があれば添付すること。）

ウ　投与製剤に関する情報（例えば、標識被験物質の投与時に使用した溶媒、担体又は補助成分等）。

エ　標識被験物質の化学的純度、放射化学的純度、比放射能（MBq/mg）、放射性同位元素の種類及びその由来。標識被験物質に含まれる放射性同位元素で標識された不純物があれば、その化学構造に関する情報。標識被験物質の分子内の標識位置。^{14}C以外の放射性同位元素の選択した場合、その妥当性及び分子内の標識位置の決定に関する根拠。

オ　投与製剤の比放射能（MBq/mg）。実験データから残留放射性物質濃度（mg/kg）に換算した計算例。組織及び臓器並びに各種クロマトグラムの画分ごとの濃度を検証するために十分な情報。

カ　その他標識被験物質に関連があると考えられるすべての追加情報（例えば物理化学的性質等）

②　飼育条件及び供試動物の状態

ア　飼育環境（例えば、供試動物の収容条件）の詳細な情報

イ　供試動物の種、系統、年齢、体重、乳量及び産卵数並びに成長段階に関する情報

ウ　試験中の供試動物の健康に関する情報。例えば、試験中の供試動物の健康状態の所見、肝臓及び腎臓における変化又は所見（あらかじめ実験動物の試験において報告されている場合）

エ　報告された飼育条件が、試験計画書で定められた供試動物の取扱い方法から逸脱した場合には、その説明及び採用した取扱い方法の根拠

③　投与

ア　標識被験物質を供試動物へ投与する際の媒体および投与方法

イ　投与量（mg/kg 体重）と予想飼料最大負荷量（mg/kg）との関係

ウ　1日当たりの投与回数及び投与期間

エ　試験計画書で定めた投与量から逸脱した場合には、それに関する考察又は根拠

④　組織及び臓器の採取

ア　泌乳山羊、産卵鶏及び豚以外の供試動物を選択した場合、その理由及び妥当性に関する説明。反すう動物又は家きんのいずれかにおける代謝試験が実施されなかった場合、その根拠又は説明。

イ　残留放射性物質を分析した組織及び臓器

ウ　食用の組織等及び排泄物の採取方法及び採取量

エ　その他関連があると考えられるすべての追加情報

⑤　と殺時期

ア　最終投与からと殺までの時間

イ　と殺時期の根拠となる情報。なお、供試動物から直接得た情報又は実験動物

の動態学的情報を利用する場合には、当該情報の要約を記載するか、資料を添付する。

⑥　試料の取扱及び保存安定性（7. の（3）を参照）

ア　採取した試料の取扱、搬出前の保存条件及び保存期間並びに搬出手順

イ　実験室での試料の保存条件及び期間

ウ　残留物の同定等までの分析用試料の保存条件及び期間

⑦　残留放射性物質の分析に用いた分析法

ア　総残留の構成成分が遊離型、抱合型又は非抽出型かを決定するために用いた分析法の性能

イ　採取した組織等中の残留物の分析法

ウ　酸化的燃焼分析又は液体シンチレーション分析法

エ　供試動物から検出した残留物の主要な構成成分の定量結果

オ　各試料における残留量測定のために使用した装置の詳細を含む分析条件

カ　計数時間、1分当たりの壊変率（dpm）、検出した親化合物当量濃度、感度、検出限界及び代表的な計算例

キ　クエンチング補正を用いる放射能分析法の場合、クエンチング補正の方法及びクエンチングを低減するために用いた方法。

⑧　残留放射性物質の抽出及び分画

ア　採用した抽出法（分画法を含む。）とその方法に関する考察及び根拠

イ　非抽出性残留物の抽出又は抱合体から残留放射性物質を遊離させるために使用した加水分解条件及びそれらを利用した根拠

ウ　各抽出画分における遊離型又は抱合型の親化合物若しくは代謝物の比率及び量

エ　溶媒抽出及び加水分解処理をした後に抽出残渣に残っている残留放射性物質量の推定値（TRRに対する割合（%TRR）及び濃度（親化合物当量(mg/kg)））。

オ　採取した組織及び臓器ごとの放射化学的抽出効率

カ　分画及び単離手順における放射性物質のロス及びロスを最小限に留めるために行った方策についての考察

キ　非抽出性残留放射性物質の大部分が生体成分へ組み込まれたか否か。

ク　各試料画分（水溶性、有機溶媒可溶性、加水分解による遊離等）における各残留放射性物質の割合（%TRR）及び濃度（親化合物当量(mg/kg)）。

⑨　残留放射性物質の特徴付け・同定

ア　特徴付け及び同定に用いた親化合物、すべての既知の代謝物及び想定される中間体（これらの構造及び標準物質の純度）の詳細なリスト

イ　TLCラジオオートグラムにおける分析対象物質及び標準物質のRf値、GC及びHPLCカラムにおける相対保持時間。予想値からの逸脱又は差異並びにこれらの問題を補正するために取られた措置についての考察

ウ　同定に使用したTLC板又はオートラジオグラム等の画像及び質量スペクトルスキャンなどを含むHPLC/GCクロマトグラム（分析用標準物質のクロマトグラムを含む。）

エ　代謝物を分離し特徴付け及び同定するために用いた補助的分析法（高電圧電気泳動、イオン交換法、排除クロマトグラフィー、誘導体化等）及び代謝物の最終的な同定を行うために用いた機器分析法（MS、NMR等）の詳細

オ　組織若しくは臓器又は分析した抽出画分から検出した放射性物質の割合（%TR

R）及び濃度（親化合物当量(mg/kg)）

カ　非抽出性残留放射性物質を特徴付け又は同定するために用いられた方法

キ　残留物の構成成分が次のいずれに該当するか報告しなければならない。

（ア）遊離型残留物

遊離させるために化学的処理を必要とせず、有機溶媒によって通常抽出可能なもの

（イ）抱合型残留物

農薬由来成分とグルクロン酸、硫酸、アミノ酸、グルタチオン等の生体由来成分との抱合体になっているもの。通常、酸、塩基又は酵素による加水分解によって抱合体を開裂させることにより、農薬由来成分が同定される。

（ウ）非抽出性残留物

生体成分と共有結合している代謝物であって、極性又は非極性溶媒による抽出によって抽出できないもの。酸、塩基又は酵素による加水分解によって抽出残渣から遊離できるものは、非抽出性残留物に分類する。

（エ）生体成分

農薬が分解され、同化サイクルの中に入り込み細胞成分の中へ組み込まれた場合に当てはまる。当該生体成分が抽出されないものである場合には、（ウ）の非抽出性残留物と区別することは困難である。

ク　その他家畜の代謝試験の実施及びTRRの決定に関連する追加情報

（３）結果と考察

①　試験計画

予期せぬ実験上の問題により試験計画書から逸脱した場合、当該逸脱に関する考察。例えば、残留物の抽出、分画、特徴付けにおける問題が生じた場合、非抽出性残留物に特殊な抽出法又は特徴付けを採用した場合の考察。また、試験結果に対してこれらの逸脱が影響を及ぼした場合には、その考察。

②　代謝経路

可能であれば、供試動物中での代謝経路の詳細な考察及び代謝経路図。動物代謝試験及び植物代謝試験の結果と本試験で得られた結果を比較考察する。特徴付け・同定試験の結果に基づき、代謝物の化学構造及び名称（IUPAC名及びCAS名、CAS番号を含む。）の表を添付し代謝経路の化学的意味付け（どのような化学反応によるか等）をしなければならない。推定中間体及び推定代謝物も、その経路において明示しなければならない。

③　総残留の特徴付け、同定及び分布

ア　表又はグラフを用い、総残留のすべての主要な構成成分（遊離型、抱合型及び非抽出型）について、名称、構造及び量（割合%TRR及び濃度（親化合物当量として(mg/kg)））、各画分内の分布及び当該構成成分が遊離型、抱合型、非抽出性又は生体成分のいずれに該当するか。

イ　同定又は特徴付けができない主要な最終残留物の総量及び各画分への分布に関する情報

ウ　統計学的処理（家畜の代謝試験における試料採取及び分析結果の生データに適用した統計学的検定の代表例を含めること。）。また、放射性物質の測定及びクロマトグラフィーにおける定量限界。

④　試験の妥当性を確保するためにとられた精度管理に関する措置及び事前注意、その他家畜代謝試験に関する詳細な説明のために関連があると考えられるすべて

の追加情報

（４）結論

① 供試動物において観察された代謝経路、メカニズム

② 採取された組織、卵及び乳における総残留量、構成成分及び分布

③ 分析対象物質の抽出方法及び分析法。動物組織、臓器、乳、卵試料を用いた当該分析法の妥当性検証結果。

④ 家畜における動態及び代謝プロセスを完全かつ詳細に理解するための結論

（５）添付資料

① 代表的クロマトグラム、スペクトル等（該当がある場合）

② 試験の実施にあたって参考とした試験報告書等のリスト

７． 参考文献

(1) OECD Guidelines for the testing of chemicals: Metabolism in Livestock (2007)

(2) OECD Guidelines for testing of chemicals: Residues in Livestock (2007)

(3) OECD Guidance Document: Overview for Residue Chemistry Studies (2006)

(4) OECD Guidance Document on the Definition of Residue (2006)

(5) Commission of the European Communities (1997). Document 7030/VI/95-Rev.3 (22/7/1997) ; Appendix F: Metabolism and Distribution in Domestic Animals.

(6) Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2009) FAO Manual on the Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data.

(7) Food and Agriculture Organisation of the United Nations (2002) Submission and Evaluation of Pesticide Residues Data for the Estimation of Maximum Residue Levels in Food and Feed. Rome.

(8) Food and Agriculture Organisation of the United Nations (1996). Guidelines on Pesticide Residue Trials to Provide Data for the Registration of Pesticides and the Establishment of Maximum Residue Limits, Section 2.1 Radiolabelled Studies (Metabolism Studies). Rome.

付録１　残留放射性物質の同定と特徴付け

１．抽出性残留物の同定及び特徴付け

（１）同定

①　「同定」は残留放射性物質の構造決定をいう。同定は下記のいずれかの方法で行う。

ア　構造既知の標準物質とのコクロマトグラフィーによる同定

イ　MS、NMRなどによる構造決定による同定

ウ　コクロマトグラフィーの場合、例えば順相及び逆相のように独立した二種の系を用いること。逆相及び順相のTLC又はHPLCの分離能が適切である場合は、MS等による追加の確認は要求しない。

②　0.05 mg/kg未満又はTRRの10 %未満の代謝物については、推定代謝物を標準物質として用いた一種のコクロマトグラフィーでの同定でもよい。

（２）特徴付け

①　「特徴付け」は同定の前段階で行われる残留放射性物質の特性の解明をいう。有機溶媒や水への易溶解性、中性、酸性、塩基性、極性、非極性、非抽出性などがある。

②　共通構造への変換又は特定試薬への反応性によって、分子内に存在する部分構造を特定することも特徴付けに含まれる。

③　残留放射性物質の全てについて同定できない場合、同定されていない残留放射性物質にどの程度の特徴付けが必要かは以下の要因により決まる

ア　残留放射性物質の量

イ　TRRに対する同定率

ウ　食品としての重要性

エ　毒性学上の懸念

オ　残留放射性物質を検出する分析法の能力

（３）その他

①　非常に過剰な投与量で実施された代謝試験で、食用の組織等にほとんど残留放射性物質が検出されなかった場合は、特徴付け、同定の必要性は低い。

例えば、以下のような場合、最低限の特徴付け、同定で十分である。ただし、当該残留濃度において、毒性学上の特別な懸念がない場合に限る。

（例）通常の予想最大負荷量が飼料中の濃度として0.01 mg/kg以下であって、家畜代謝試験で飼料中濃度として10 mg/kg以上投与し、その試験の結果、食用の組織等中のTRRが0.1 mg/kg以下であった場合

②　代謝物の立体構造は必ずしも決定する必要はない。ただし、毒性学上の懸念がある場合は、立体異性体比を考慮しなければならない。

③　超臨界流体抽出法(SFE)、マイクロ波抽出法、高速溶媒抽出法(ASE)等の新技術を利用可能な範囲で用いてできるだけ代謝経路を明らかにすること。

（４）代謝物の同定が必要な場合

①　供試動物の各食用の組織等について特徴付け又は同定が必要となる残留放射性物質濃度の閾値は表１のとおりである。

なお、濃度に基づく閾値は絶対的なものではなく、どの程度の同定又は特徴付けで十分かを判断するための目安である。また、より低濃度で毒性学上の懸念がある場合は同定や特徴付けが必要となる。

② １つの代謝物が複数の抽出画分に存在する可能性があることに留意する。
③ 特定の残留放射性物質が多数の抽出画分に分かれる場合、各画分をクロマトグラフィーにより分析し、各画分に含まれる当該物質の量を合計し、同定あるいは特徴づけが必要か否かを判断する。

表１．残留放射性物質の同定及び特徴付けの基準

%TRR	濃度(mg/kg)	必要となる特徴付け及び同定
<10	<0.01	同定等の必要なし。ただし、毒性学上の懸念がある場合を除く。
<10	0.01 - 0.05	特徴付けを行う。標準物質が入手可能な場合、すでに実施された試験で同定がなされている場合など、簡易にできる場合のみ、同一性の確認を行う。
<10	>0.05	TRRに対する同定率を考慮しつつ、特徴付け・同定を行うか否かを個別に決定する。
>10	<0.01	特徴付けを行う。簡易にできる場合のみ、同一性の確認を行う。
>10	0.01 - 0.05	代謝経路を特定するために必要な場合には、同定を試みる。少なくとも特徴付けは必要。
>10	>0.05	技術的に可能な限り同定する。
>10	>0.05 非抽出性放射性物質	「2非抽出性残留物の遊離」及び 図 1にしたがって残留放射性物質の遊離、特徴付け等が必要。

２． 非抽出性残留物の遊離

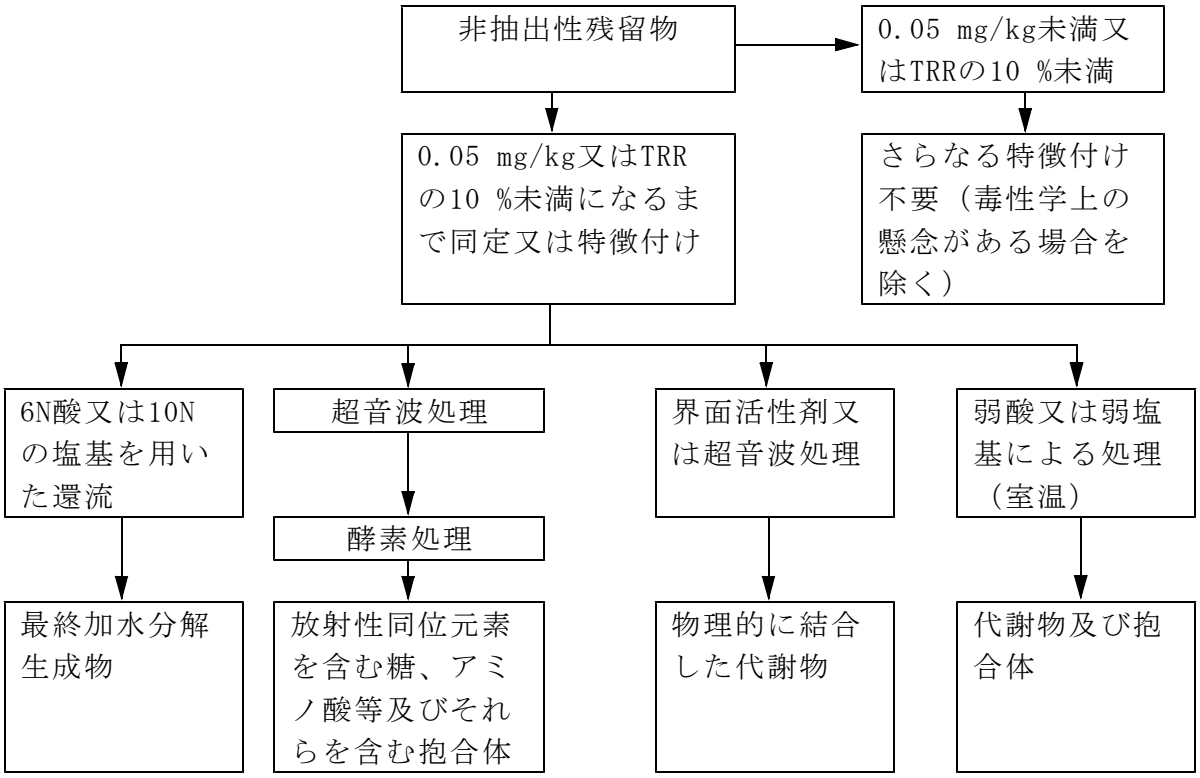
（１）残留放射性物質が家畜体内で非抽出性として検出されるのは以下の状況が考えられる。
① 生体内分子（アミノ酸、糖等）へ組み込まれた場合。これは、標識被験物質が生体成分の生合成に利用できるほど小さい炭素単位（1個か2個）に分解された場合に起こる。
② 生体内分子の特定の部分と強固に結合し、残留物を形成している場合。これは化学反応（例えば、酸、塩基及び酵素による加水分解）によって遊離させることができる。
③ 組織への物理的な抱合や取り込みが起こっている場合。この状況で残留物を遊離させるためには組織の可溶化が必要となる。通常は強塩基を用いた還流処理によるが、界面活性剤の使用により、より穏やかな条件で残留物を遊離させることも可能である。

（２）非抽出性残留物の遊離の一般的手順を以下に示す（図１を参照）。
① 抽出後、残渣中の残留放射性物質濃度が0.05 mg/kg 又はTRRの10 %以上の場合には、残留放射性物質の遊離を試みる（表1を参照）。遊離処理後、残渣中の非抽出性放射性物質濃度が0.05 mg/kg未満かTRRの10 %未満であった場合は、これ以上、遊離を行う必要はない。
② 遊離した残留放射性物質を定量し、表1の基準を適用して同定及び特徴付けを行う。特徴付けは、遊離した残留放射性物質のクロマトグラフィーでの挙動と、親化合物及びその類似構造を持つ想定代謝物の標準品のクロマトグラフィーの挙動を比較する。
③ 一連の遊離処理は、連続的に行うか、あるいはサブサンプルごとに行う。遊離処理には以下のものが含まれる（図1参照）。穏やかな処理ほど代謝物の構造は維持される。
ア 37 ℃での弱酸又は弱塩基による処理
イ 界面活性剤での処理

ウ　酵素処理

エ　6Nの酸又は10Nの塩基を用いた還流

図１　非抽出性残留物の特徴付け及び同定



（３）非抽出性残留物が総残留量の大部分を構成すると考えられる場合には、残留物が生体成分であるかどうかを確認することが望ましい。放射性同位元素がアミノ酸、糖、フェノール化合物、ヌクレオチド等の内因性化合物に組み込まれていることが判明した場合、さらなる特徴付け及び同定の必要性は低い。一般に生体成分の生合成に利用できるほど農薬が小さな炭素単位に分解されていることを意味する。このような場合、非抽出性残留物が表1の基準を超えていても、同定及び特徴付けが必要ない場合がある。

ただし、3H標識や分子中の不安定な位置を^{14}C等で標識した場合又はTRRの相当な部分(0.05 mg/kg以上又は総残留量 の10 %以上)を占める単一の遊離代謝物が同定されていない場合にはこの限りではない。

土壌中動態に関する試験（２－５－１～３）

好気的湛水土壌中動態試験（２－５－１）

１．目的

本試験は、好気的条件下の湛水土壌中における被験物質の主要な代謝経路及び代謝により生成される物質の種類並びに被験物質の収支等に関する科学的知見を得ることを目的とする。本試験は、他の生体内代謝に関する試験の結果の評価及び土壌残留試験等における分析対象物質の選定に資する。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。

なお、放射性同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試土壌

（１）水田ほ場から採取した新鮮な表層土壌を用いる。

（２）土壌は、生土状態又は必要に応じて室温で最小限の風乾をしたのち、原則として２mmの篩に通したものを用いる。ただし、完全に風乾してはならない。

（３）微生物の影響をみるために、滅菌した土壌を追加して用いることが望ましい。

４．試験条件

（１）土壌層の厚さは、５cm以上が望ましい。土壌を湛水し、水深は１cm以上とする。

（２）試験は、遮光条件下で、原則として25℃（±２℃）で実施することが望ましい。

（３）試験は、原則として、自由な気体交換及び試験期間中気体相に揮発した被験物質等の回収が可能な条件下で実施する。

（４）試験期間と同一条件で２週間以上の予備培養（プレインキュベーション）を実施し、還元層が形成されることを確認した後、被験物質を処理する。

５．試験の実施

（１）処理

① 被験物質を水又は少量の有機溶媒（アセトン等）に溶解し、試験系に１回処理した後、湛水中の被験物質が均一になるように試験系全体を撹拌、振とう等を行う。

② 最大慣行施用量で１回施用した被験物質（有効成分）が深さ10cmの土壌に均一に分布した場合の濃度を基準に、一種類の処理濃度を設定する。ただし、最大慣行施用量が低く、分析等に支障がある場合は、分析が可能な範囲の濃度で行う。

（２）試験期間

被験物質の消失及び主要な代謝物の生成と消失が把握できる期間とする。なお、最大６か月間とする。

（３）分析試料の採取

代謝物等（未変化の被験物質を含む。以下同じ。）の生成と消失を適切に評価できるように、処理直後と試験期間終了時点を含む６時点以上で経時的に、試験系の土壌、水及び気体を採取する。ただし、土壌と水は傾斜法によって分離して採取する。

（４）分析

原則として、試料は速やかに分析することとし、土壌試料、抽出液等を保存する場合は、代謝物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の代謝物等の変化を把握できるようにする必要がある。

６．検討項目

分布及び代謝の各段階における検討項目は、通常、次のとおりである。

（１）分布

物質収支を明らかにし、試験系の土壌、水及び気体相に含まれる被験物質等の分布の経時的変化に関する情報を得る。土壌の抽出残渣が生成する場合は、その生成率についての情報を得る。

（２）代謝

適切な手法により、試験系の土壌中、水中及び気体相に含まれる被験物質並びに主要な代謝物の同定又は化学的特徴付けと定量を行い、代謝経路に関する情報を得る。あわせて、被験物質の消失に関する情報及び可能な場合は主要な代謝物の消失に関する情報も得る。土壌中の抽出残渣が生成する場合は特徴付けを行う。

好気的土壌中動態試験（２－５－２）

１．目的

本試験は、好気的条件下での土壌中における被験物質の主要な代謝経路及び代謝により生成される物質の種類並びに被験物質の収支等の情報を得ることを目的とする。本試験は、他の生体内代謝に関する試験の結果の評価及び土壌残留試験等における分析対象物質の選定に資する。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。なお、放射性同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試土壌

（１）ほ場から採取した新鮮な表層土壌を用いる。

（２）土壌は、生土状態又は必要に応じて室温で最小限の風乾をしたのち、原則として２㎜の篩に通したものを用いる。ただし、完全に風乾してはならない。

（３）微生物の影響を見るために、滅菌した土壌を追加して用いることが望ましい。

４．試験条件

（１）土壌層の厚さは、１cm以上５cm以下が望ましい。

（２）土壌含水量は最大容水量の40～60%に維持する。

（３）試験は、遮光条件下で、原則として 25℃（±２℃）で実施することが望ましい。

（４）試験は、原則として、自由な気体交換及び試験期間中気体相に揮発した被験物質等の回収が可能な条件下で実施する。

（５）試験期間と同一条件で２週間以上の予備培養を実施し被験物質を処理する。

５．試験の実施

（１）処理

①　被験物質を水又は少量の有機溶媒（アセトン等）に溶解した後、試験系に１回処理し、被験物質が均一になるよう、撹拌、振とう等を行う。

②　最大慣行施用量で１回施用した被験物質（有効成分）が深さ10cmの土壌に均一に分布した場合の濃度を基準に、一種類の処理濃度を設定する。ただし、最大慣行施用量が低く、分析等に支障がある場合は、分析が可能な範囲の濃度で行う。

（２）試験期間

被験物質の消失及び主要な代謝物の生成と消失が把握できる期間とする。なお、最大６か月間とする。

（３）分析試料の採取

代謝物等（未変化の被験物質を含む。以下同じ。）の生成と消失を適切に評価できるように、処理直後と試験期間終了時点を含む６時点以上で経時的に、試験系の土壌及び気体を採取する。

（４）分析

原則として、試料は速やかに分析することとし、土壌試料、抽出液等を保存する場合は、代謝物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の代謝物等の変化を把握できるようにする必要がある。

６．検討項目

分布及び代謝の各段階における検討項目は、通常、次のとおりである。

（１）分布

物質収支を明らかにし、試験系の土壌及び気体相の被験物質及び代謝物の分布の経時的変化に関する情報を得る。土壌の抽出残渣が生成する場合は、その生成率についての情報を得る。

（２）代謝

適切な手法により、試験系の土壌中及び気体相に含まれる被験物質並びに主要な代謝物の同定又は化学的特徴付け及び定量を行い、代謝経路に関する情報を求める。あわせて、被験物質の消失に関する情報及び可能な場合は主要な代謝物の消失に関する情報も得る。土壌中の抽出残渣が生成する場合は特徴付けを行う。

嫌気的土壌中動態試験（２－５－３）

１．目的

本試験は、嫌気的条件下の土壌中における被験物質の主要な代謝経路及び代謝により生成される物質の種類並びに被験物質の収支等に関する科学的知見を得ることを目的とする。本試験は、他の生体内代謝に関する試験の結果の評価及び土壌残留試験等における分析対象物質の選定に資する。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。なお、放射性同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試土壌

（１）ほ場から採取した新鮮な土壌を用いる。

（２）土壌は、生土状態又は必要に応じて室温で最小限の風乾をしたのち、原則として２㎜の篩に通したものを用いる。ただし、完全に風乾してはならない。

４．試験条件

（１）土壌層の厚さは、５cm以上が望ましい。

（２）土壌を嫌気的条件になるように湛水し、水深は１cm以上とする。

（３）試験は、遮光条件下で、原則として25℃(±２℃）で実施することが望ましい。

（４）試験は、原則として、自由な不活性気体交換により嫌気状態を保つことができ、かつ、試験系の気体相中に揮発した被験物質等の回収が可能な条件下で実施する。

（５）試験期間と同一条件で２週間以上の予備培養を実施し、還元層が形成されることを確認した後、被験物質を処理する。

５．試験の実施

（１）処理

①　被験物質を水又は少量の有機溶媒（アセトン等）に溶解し、試験系に１回処理した後、湛水中の被験物質が均一になるように撹拌、振とう等を行う。

②　最大慣行施用量で１回施用した被験物質（有効成分）が深さ10cmの土壌に均一に分布した場合の濃度を基準に、一種類の処理濃度を設定する。ただし、最大慣行施用量が低く、分析等に支障がある場合は、分析が可能な範囲の濃度で行う。

（２）試験期間

被験物質の消失及び主要な代謝物の生成と消失が把握できる期間とする。なお、最大６か月とする。

（３）分析試料の採取

代謝物等（未変化の被験物質を含む。以下同じ。）の生成と消失を適切に評価できるように、処理直後と試験期間終了時点を含む６時点以上で経時的、試験系の土壌、水及び気体を採取する。ただし、土壌と水は傾斜法によって分離して採取する。

（４）分析

原則として、試料は速やかに分析することとし、土壌試料及び抽出液等を保存する場合は、代謝物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の代謝物等の変化を把握できるようにする必要がある。

６．検討項目

分布及び代謝の各段階における検討項目は、通常、次のとおりである。

（１）分布

物質収支を明らかにし、試験系の土壌、水及び気体相に含まれる被験物質等の分布の経時的変化に関する情報を得る。土壌の抽出残渣が生成する場合は、その生成率についての情報を得る。

（２）代謝

適切な手法により、試験系の土壌中、水中及び気体相に含まれる被験物質並びに主要

な代謝物の同定又は化学的特徴付け及び定量を行い、代謝経路に関する情報を得る。あわせて、被験物質の消失に関する情報及び可能な場合は主要な代謝物の消失に関する情報も得る。土壌中の抽出残渣が生成する場合は特徴付けを行う。

水中動態に関する試験（２－６－１及び2）

加水分解動態試験（２－６－１）

１．目的

本試験は、加水分解性のある被験物質の水中での分解に関し、その主要な分解経路及び分解により生成される物質並びに物質収支等の情報を得ることを目的とする。本試験は、他の生体内代謝に関する試験の結果の評価及び水質汚濁性試験等における分析対象物質の選定に資する。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。なお、放射性同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試水

ｐＨ4.0、7.0及び9.0の緩衝液を用いる。

４．試験条件

（１）試験は20±１℃又は25±１℃で実施する。

（２）試験は、加水分解以外の分解要因（光、酸素等）を排除して行う。

（３）供試水及び試験容器は滅菌する。

５．試験の実施

（１）処理

被験物質の試験濃度は一種類とし、原則として、0.01M又は水溶解度の１／２以下のうち、いずれか低い方を選択する。

（２）試験期間

試験期間は、被験物質の消失及び主要な分解物の生成と消長が把握できる期間とする。なお、最大30日間とする。試験終了後に、試験系について滅菌状態が維持されていたことを確認することが望ましい。

（３）分析試料の採取

被験物質の消失及び主要な分解物の生成と消失を適切に評価できるように、処理直後と試験期間終了時点を含む７時点以上で経時的に、分析試料（水及び気体）を採取する。

（４）分析

① 試料は、採取後、速やかに分析に供する。

② 試料及び抽出液等を保存する場合は、分解物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の分解物等の変化を把握できるようにする必要がある。

６．検討項目

通常、次のとおりとする。

（１）物質収支

物質収支を明らかにする。

（２）分解物等

適切な手法により、水中の被験物質及び主要な分解物の同定又は化学的特徴付け及び定量を行うほか、揮発性物質が生成する場合は主要な揮発性物質についても同定又は化学的特徴付け及び定量を行い、分解経路及び分解物の消失に関する情報を得る。

（３）分解速度

被験物質の消失に関する情報及び可能な場合は主要な分解物の消失に関する情報も得る。

水中光分解動態試験（２－６－２）

１．目的

本試験は、水中光分解性のある被験物質の水中での光による分解に関し、その主要な分解経路及び分解により生成される物質並びに物質収支等の情報を得ることを目的とする。本試験は、他の生体内代謝に関する試験の結果の評価及び水質汚濁性試験等における分析対象物質の選定に資する。

２．被験物質

農薬の有効成分等の放射性同位元素で標識した又は非標識の高純度化合物を用い、入手先、純度、安定性等を明確にしておく。なお、放射性同位元素標識体にあっては、合成法、標識核種、標識位置及び比放射能についても明確にしておく。

３．供試水

緩衝液を用いる。ただし、水田（湛水状態で農作物を栽培する全ての状態を含む。）において使用される農薬にあっては、自然水を用いた試験も行う。

４．試験条件

（１）試験に用いる光源は、原則として、地上に到達する太陽光の波長分布に類似した人工光を用い、連続的に照射する。試料部位での入射光の波長分布及び強度を測定する。

（２）試験容器の入射光面は、上記の光に対して吸収を示さない材質でなければならない。

（３）供試水及び試験容器は滅菌する。自然水の場合は、成分を変質させない方法で滅菌する。

（４）試験は25±２℃で実施する。

５．試験の実施

（１）処理

被験物質の試験濃度は１濃度とし、水溶解度の１／２以下で、被験物質の消失速度と分解物の消長を分析するのに十分な濃度とする。

（２）試験期間

試験期間は、被験物質の消失及び主要な分解物の消長が把握できる期間とする。ただし、太陽光に換算（北緯35°（東京）、春（４月から６月））して30日を超える必要はない。試験終了後に、試験系について滅菌状態が維持されていたことを確認することが望ましい。

（３）分析試料の採取

分析試料の採取は、被験物質の消失と主要な分解物の生成と消長を適切に評価できるように、処理直後と試験期間終了時点を含む７時点以上で経時的に、分析試料（水及び気体）を採取する。

（４）試験の実施に当たり、暗所対照区試料を設置する。

（５）分析

① 試料は、採取後、速やかに分析に供する。

② 試料、抽出液等を保存する場合は、分解物等の分解が最小限に抑えられるよう適切な方法を採用するとともに、保存期間中の分解物等の変化を把握できるようにする必要がある。

６．検討項目

通常、次のとおりとする。

（１）物質収支

物質収支を明らかにする。

（２）分解物等

適切な手法により、水中の被験物質及び主要な分解物の同定又は化学的特徴付け及び定量を行うほか、揮発性物質が生成する場合は主要な揮発性物質についても同定又は化学的特徴付け及び定量を行い、分解経路及び分解物の消失に関する情報を得る。

（３）分解速度

被験物質の光による消失に関する情報及び可能な場合は主要な分解物の消失に関する情報も得る。

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）

１．目的

本試験は、魚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等を目的とする。

２．定義

（１）死亡：観察可能な動き（鰓ぶたの動き等）がなく、尾柄部に触れて反応がない場合魚は死亡しているとみなす。

（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）被験物質：試験に用いる農薬原体又は製剤をいう。

（４）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。

（５）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

（６）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。

（７）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。

（８）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　供試魚は、別表の魚種の中から選択する。

②　基準物質でのLC_{50}を確認することが望ましい。

（２）順化

①　供試魚は、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　必要に応じて、入手時に薬浴を行う。

③　供試魚は、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（水質等）と同様の条件下で順化しなければならない。

④　餌は少なくとも週に５回与え、供試前24時間は給餌を行ってはならない。

⑤　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魚類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．供試魚数及び試験区の設定

（１）供試魚数

試験区ごとに、少なくとも７尾使用する。

（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。公比は2.2を超えないことが望ましい。

ウ　濃度範囲には、供試魚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、試験濃度区と同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）農薬原体を被験物質として用いる場合

①　易水溶性農薬原体の場合は、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　難水溶性農薬原体の場合は、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、供試魚に対して毒性が弱く、使用濃度で供試魚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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/L）を超えないことが望ましい。

（２）製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え撹拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

８．環境条件

（１）収容密度

①　止水式及び半止水式による試験では、供試魚１g当たり１リットル以上の試験液量が必要である。

②　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

供試魚種の設定温度は別表のとおりとし、変動範囲は±2℃以内とする。

（３）照明

12～16時間明期とする。

（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、魚が良好に生存又は成長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。被験物質の顕著な消失がなければ、必要に応じてゆるやかな暴気を行ってもよい。

（７）pH

試験液のpH調整は行わない。

９．観察及び測定

（１）供試魚の一般状態の観察

暴露開始後、少なくとも24、48、72及び96時間後に供試魚の一般状態を観察し、記録する。死亡魚は速かに試験系から取り除く。また、観察された異常は記録する。

（２）被験物質濃度の測定

① 農薬原体を被験物質として用いた場合には、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、48時間後、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LC_{50}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LC_{50}を算定する。

11．報告事項

（１）試験物質について

（２）試験魚について

種名、供給源、飼育方法、順化、供試魚数、供試魚の全長・体重、基準物質のLC_{50}等

（３）試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等

（４）試験結果について

① LC_{50}（農薬原体を被験物質として用いた場合は、有効成分濃度に基づくLC_{50}）及びその95％信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)
② LC_{50}の算定方法
③ 各観察時間における各試験区での累積死亡率
④ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ
⑤ 供試魚の異常な症状及び反応
⑥ 被験物質濃度の測定値(農薬原体を被験物質として用いた場合のみ)
⑦ 環境条件の測定結果
水質、溶存酸素濃度、pH等
⑧ 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（本試験法からの逸

脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）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。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。

別表　試験生物種の条件及び設定温度

魚種	設定温度（℃）	試験魚の全長（cm）
コイ（*Cyprinus carpio*）	20～24	4.0 ± 2.0
メダカ（ヒメダカ）（*Oryzias latipes*）	21～25	2.3 ± 1.2
ブルーギル（*Lepomis macrochirus*）	21～25	2.0 ± 1.0
ニジマス（*Oncorhynchus mykiss*）	13～17	5.0 ± 1.0
グッピー（*Poecilia reticulata*）	21～25	2.0 ± 1.0
ゼブラダニオ（*Danio rerio*）	21～25	2.0 ± 1.0
ファットヘッドミノー（*Pimephales promelas*）	21～25	2.0 ± 1.0

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　供試魚はメダカ（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LC_{50}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）

１．目的

本試験は、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）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。

（２）EC_{50}（Median Effect Concentration：半数遊泳阻害濃度）：暴露期間に供試生物

の50%を遊泳阻害する被験物質の濃度をいう。
（３）被験物質：試験に用いる農薬原体又は製剤をいう。
（４）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。
（５）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
（６）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。
（７）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。
（８）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 オオミジンコ（*Daphnia magna*）を用いる。ただし、当該種と同等の試験結果が得られるミジンコ類であれば他の種を用いてもよい。
② 供試生物は、経歴（入手源、 飼育方法等）の明らかな同系統の親ミジンコから得られたものを用いる。
③ 基準物質でのEC_{50}を確認することが望ましい。
（２）生育段階
生後24時間以内の個体（以下「幼体」という。）を用いる。また、ばらつきを減らすため、親ミジンコの１回目の産仔によるものは使用しない。
（３）親ミジンコの飼育
幼体を得るための親ミジンコは、可能な限り試験環境条件（試験に用いる希釈水と同一の水質、水温等）に近い条件で一定期間飼育し、健康で繁殖の盛んな時期（通常２～４週齢）のものを用いる。

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
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20頭の供試生物を使用する。この場合、各５頭ずつ４連に分けることが望ましい。
（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。公比は2.2を超えないことが望ましい。
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遊泳阻害する濃度と全く遊泳阻害しない濃度が少なくともそれぞれ１濃度、一部を遊泳阻害す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、試験濃度区と同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）農薬原体を被験物質として用いる場合

① 易水溶性農薬原体の場合は、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 難水溶性農薬原体の場合は、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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/L）を超えないことが望ましい。

（２）製剤を被験物質として用いる場合

製剤を希釈水に加え撹拌し、試験液又は試験原液を調製する。なお、製剤の調製には助剤は用いない。

８．環境条件

（１）試験液量

ミジンコ１頭当たり５ml以上とする。

（２）水温

設定温度は20℃とし、 試験期間中の変動範囲は±１℃以内とする。

（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、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。

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。

④ Elendt M4、M7培地のようなキレート剤が含まれている水は、金属を含む物質の試験には使用しない。

（６）溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して3mg/L以上に保つようにする。暴露期間中は、原則として暴気は行わない。

（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24時間後及び48時間後における遊泳阻害の有無について観察し記録する。遊泳阻害の他にも、行動や外見の異常が見られた場合には記録する。

（２）被験物質濃度の測定

① 農薬原体を被験物質として用いた場合には、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、換水前及び換水後に測定する。

なお、試験区ごとに複数の容器を設けている場合には、各容器から試験液を等量採取し混和後、測定用試料に供する。ただし、分析上必要がある場合、分析のために別の容器の試験液を用いてもよい。この場合、試験液と全く同じ条件で処理する。

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。また、暴露期間中、pHは通常の場合1.5以上変動してはならない。

10. 結果の処理法

（１）各濃度における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EC_{50}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EC_{50}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EC_{50}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 EC_{50}（農薬原体を被験物質として用いた場合は、有効成分濃度に基づくEC_{50}）及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② EC_{50}の算定方法

③ 各観察時間における各試験区での累積遊泳阻害率

④ 暴露終了時における濃度－遊泳阻害率曲線のグラフ

⑤ 観察された影響

⑥ 被験物質濃度の測定値(農薬原体を被験物質として用いた場合のみ)

⑦ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑧ 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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）等

12. 試験の妥当性

（１）暴露期間中において対照区の遊泳阻害率が10%を超えてはならない。

（２）暴露期間中において10%を超える対照区のミジンコが脱色、水面に浮いているなどの異常な症状、行動を示してはならない。

（３）溶存酸素濃度は暴露終了時において、3mg/L以上でなければならない。

ミジンコ類（成体）急性遊泳阻害試験（２－７－２－２）

１．目的
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）

１．目的

本試験は、甲殻類に対する被験物質の繁殖に及ぼす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）繁殖率：生存親ミジンコ１頭当たりの平均累積産仔数（生存幼体）をいう。

（２）EC_{50}（Median Effect Concentration：半数影響濃度）：対照区と比べて、暴露期間に供試生物の繁殖率を50％阻害する濃度をいう。

（３）LOEC（Lowest Observed Effect Concentration：最低影響濃度）：対照区と比べて、繁殖性、親ミジンコの死亡率等に影響が認められた試験最低濃度をいう。

（４）NOEC（No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度）：対照区と比べて、何ら繁殖性、親ミジンコの死亡率等に影響が認められない試験最高濃度をいう。

（５）被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。

（６）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。

（７）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　オオミジンコ（*Daphnia magna*）を用いる。ただし、当該種と同等の試験結果が得られるミジンコ類であれば他の種を用いてもよい。

②　供試生物は、経歴（入手源、 飼育方法等）の明らかな同系統の親ミジンコから得られたものを用いる。

（２）生育段階

生後24時間以内の個体（以下「幼体」という。）を用いる。また、ばらつきを減らすため、親ミジンコの１回目の産仔によるものは使用しない。

（３）親ミジンコの飼育

幼体を得るための親ミジンコは、可能な限り試験環境条件（試験に用いる希釈水と同一の水質、水温等）に近い条件で一定期間飼育し、健康で繁殖の盛んな時期（通常２～４週齢）のものを用いる。

４．暴露方法

半止水式又は流水式により試験を行う。

５．暴露期間

21日間とする。

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頭の供試生物を使用し、必要に応じて観察が可能な個体数に分割する。

（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。公比は3.2を超えないことが望ましい。

イ　試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果又は急性遊泳阻害試験の結果を参考にして定める。

ウ　濃度範囲には、供試生物のすべてに影響が見られる濃度と全く影響が見られない濃度が少なくともそれぞれ１濃度、一部に影響が見られ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、試験濃度区と同濃度の助剤を含む助剤対照区も設ける。

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。

（１）通常、試験液は高濃度の試験原液を希釈して調製する。正確な濃度の試験原液の調製に必要な場合は有機溶剤、乳化剤、分散剤等の助剤を用いるが、できる限り助剤を用いないことが望ましい。

（２）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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/L）を超えないことが望ましい。

８．　環境条件

（１）試験液量

ミジンコ１頭当たり少なくとも50ml以上とする。

（２）水温

設定温度は18～22℃とし、試験期間中の変動範囲は±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

培養したクロレラなどの単細胞緑藻類等を与える。

（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、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。

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。

④　Elendt M4、M7培地のようなキレート剤が含まれている水は、金属を含む物質の試験には使用しない。

（６）溶存酸素濃度

溶存酸素濃度は、暴露期間を通して3mg/L以上に保つようにする。暴露期間中は、原則として暴気は行わない。

（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

親ミジンコの生死及び生存産出幼体数を数え、親ミジンコの状態、死亡幼体、堕胎卵及び休眠卵の有無等を定期的に観察し記録する。

（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、硬度及びpHを測定する。また、暴露期間中、pHは通常の場合1.5以上変動してはならない。

10．結果の処理法

（１）EC_{50}及び95％信頼限界

対照区（又は助剤対照区）と各濃度区での生存親ミジンコ１頭当たりの平均累積産仔数（生存幼体）を用い、一般的な手法で可能な限り算定する。

（２）LOEC及びNOEC

各試験容器毎の生存親ミジンコ１頭当たりの累積産仔数（生存幼体）を算出し、対照区（又は助剤対照区）と各濃度区との有意差の有無を統計手法により求め、対照区（又は助剤対照区）と比較して有意差の認められる最低濃度(LOEC)と有意差が認められない最高濃度(NOEC)を求める。

（３）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EC_{50}等を算定する。

11．報告事項

（１）被験物質について

（２）供試生物について

種名、経歴（入手源、飼育方法等）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　親ミジンコの死亡率

②　繁殖率

③　有効成分濃度に基づくEC_{50}及びその95%信頼限界（可能な限り求める。）

④　EC_{50}の算定方法

⑤　有効成分濃度に基づくLOEC及びNOEC（これらの値が求められなかった場合は、その理由を記す。）

⑥　LOEC及びNOECの算定方法

⑦　各観察時間における各試験区での親ミジンコの死亡率及び繁殖率

⑧　暴露終了時における濃度－親ミジンコの死亡率及び繁殖率曲線のグラフ

⑨　観察された影響

⑩　各試験濃度区における最初の産仔までの日数

⑪　被験物質濃度の測定値

⑫　環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、硬度、pH等

⑬　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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）等

12．試験の妥当性

（１）暴露終了時において対照区の親ミジンコの死亡率が20％を超えてはならない。

（２）対照区の親ミジンコ1頭当たりの平均累積産仔数が60頭以上でなければならない。

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）

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（魚類）：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（ミジンコ類）：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）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。

（４）EC_{50}（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）$L(E)C_{50}$ ：LC_{50} 又はEC_{50}であることを示す。

（６）被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。

（７）助剤：被験物質を溶解するために用いられる溶剤をいう。

（８）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。

（９）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。

（10）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。

（11）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。

（12）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

試験生物種は魚類の場合はメダカ（ヒメダカ）（*Oryzias latipes*）、ミジンコ類の場合はオオミジンコ(*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個体の２倍を超えてはなら

ない。

ミジンコでは生後24時間以内齢の個体を用いる。また、ばらつきを減らすため、親ミジンコの１回目の産仔によるものは使用しない。

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96時間、ミジンコでは48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樹脂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、喚水前及び喚水後に測定する。

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)C_{50}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)C_{50}の算定方法

③ TOCとL(E)C_{50}との回帰分析結果と用いた手法

④ 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

⑤ 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

⑥ 観察された影響

⑦ TOC測定結果

⑧　HA濃度10 mg/Lで行った予備試験の結果
⑨　環境条件の測定結果（水質、溶存酸素濃度、pH等）
⑩　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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）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ミ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（ｴﾋﾞ類）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）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）被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。
（４）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。
（５）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。
（６）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。
（７）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。
（８）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らない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、試験濃度区と同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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/L）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時間後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の濃度は少なくとも暴露開始時、48時間後、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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}及びその信頼限界（可能であれば各観察時間のもの）

② LC_{50}の算出方法

③ 各観察時間における各試験区での累積死亡率

④ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ

⑤ 供試生物に観察された異常及び反応

⑥ 被験物質濃度の測定値

⑦ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑧ 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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）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）被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。

（４）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。

（５）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

（６）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。

（７）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。

（８）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 *Hyalellaazteca* 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らない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、試験濃度区と同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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は

0.1ml/L）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時間後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の濃度は少なくとも暴露開始時、48時間後、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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}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LC_{50}及びその信頼限界（可能であれば各観察時間のもの）

② LC_{50}の算出方法

③ 各観察時間における各試験区での累積死亡率

④ 暴露終了時における濃度－死亡率曲線のグラフ

⑤ 供試生物に観察された異常及び反応

⑥ 被験物質濃度の測定値

⑦ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑧ 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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）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。

ユスリカ幼虫急性遊泳阻害試験（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）遊泳阻害：パスツールピペットによる緩やかな水流を与える、試験容器を軽く振とうするなどの物理的な刺激の後、遊泳やほふくなど自発的な運動によって15秒間位置を変えない場合、遊泳阻害されたとみなす。

（２）EC_{50}（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。

（３）被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。

（４）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。

（５）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

（６）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。

（７）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。

（８）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 *Chironomus riparius*、*C.yoshimatsui*又は*C.dilutus*のいずれかを用いる。

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 基準物質でのEC_{50}を確認することが望ましい。

（２）生育段階

試験には１齢幼虫を用いる。１齢幼虫は、産卵直後の卵塊を試験開始４～５日前に採取し、孵化させて得ることができる。

（３）親ユスリカの飼育

１齢幼虫を得るための親ユスリカは、可能な限り試験環境条件（試験に用いる希釈水と同一の水質、水温等）に近い条件で一定期間飼育し、健康なものを用いる。

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

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20個体の幼虫を使用する。この場合、各５個体ずつ４連に分けることが望ましい。

（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。公比は2.2を超えないことが望ましい。

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、供試生物の全てを遊泳阻害する濃度と全く遊泳阻害しない濃度が少なくともそれぞれ１濃度、一部を遊泳阻害す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、試験濃度区と同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）易水溶性農薬原体の場合は、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）難水溶性農薬原体の場合は、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、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/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2 ml以上とする。

（２）水温

設定温度は*C.riparius*では18～22 ℃、*C.yoshimatsui*及び*C.dilutus*では23～25 ℃とし、試験期間中の変動範囲は±1 ℃以内とする。

（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、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3 mg/L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時間後及び48時間後における遊泳阻害の有無について観察し記録する。遊泳阻害の他にも、行動や外見の異常が見られた場合には記録する。

（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、換水前及び換水後に測定する。また、暴露期間中、pHは通常の場合1.5以上変動してはならない。

10．結果の処理法

（１）各濃度における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EC_{50}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EC_{50}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EC_{50}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 有効成分濃度に基づくEC_{50}及びその95%信頼限界(可能であれば各観察時間のもの)

② EC_{50}の算定方法

③ 各観察時間における各試験区での累積遊泳阻害率

④ 暴露終了時における濃度－遊泳阻害率曲線のグラフ

⑤ 観察された影響

⑥ 被験物質濃度の測定値

⑦ 環境条件の測定結果

水質、溶存酸素濃度、pH等

⑧ 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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）等

12. 試験の妥当性

（１）暴露終了時において対照区の遊泳阻害率が15%を超えてはならない。

（２）溶存酸素濃度は暴露期間中、3 mg/L以上でなければならない。

藻類生長阻害試験（２－７－７）

１．目的

本試験は、藻類の生長に対する被験物質の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）生物量（Biomass）：単位体積当たりの生物の乾燥重量をいう。ただし、細胞濃度などの生物量の代替となるパラメータをいうこともある。

（２）生長速度：生物量の自然対数の単位時間（日）当たりの増加分をいう。

（３）EC_{50}（Median Effect Concentration：半数生長阻害濃度）：対照区と比べて供試生物の生長が50％阻害される被験物質の濃度をいう。

（４）NOEC（No Observed Effect Concentration：最大無影響濃度）：対照区と比べて影響が認められない試験最高濃度をいう。

（５）被験物質：試験に用いる農薬原体又は製剤をいう。

（６）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。

（７）試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

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、試験の妥当性を満たす場合は、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 *Desmodesmus subspicatus*（旧学名：*Scenedesmus subspicatus*）（86.81 ＳＡＧ株）

② 基準物質でのEC_{50}を確認することが望ましい。

（２）培養方法

供試藻類は、試験条件に近い培養条件で前培養を行い、対数増殖期にあるものを用いる。原則として培養は、無菌条件下で行う。

（３）初期生物量

初期生物量は0.5mg/Lを超えないものとし、*Pseudokirchneriella subcapitata* の推奨株を用いる場合、試験培地の初期細胞濃度は、5×10^{3}～１$\times10^{4}$cells/mlが適当である。

４．暴露方法

被験物質を含む培地で処理する方式を用い、振とう培養を行う。

５．暴露期間

原則として72時間とする。

６．試験区の設定

（１）試験濃度区の設定

① 等比級数的に少なくとも５濃度区を設ける。

② 試験濃度及び濃度公比は、予備試験の結果から定める。公比は3.2を超えないことが望ましい。

③　濃度範囲には、供試藻類の生長が75%以上阻害される濃度と全く阻害されない濃度を少なくともそれぞれ１濃度ずつ、藻類の生長が一部阻害され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

①　対照区として、被験物質を含まない無処理対照区を設ける。

②　試験培地の調製に助剤を使用した場合は、試験濃度区と同濃度の助剤を含む助剤対照区を設ける。

（３）試験区の連数

各試験濃度区は３連以上とし、対照区（助剤を使用した場合は、助剤対照区）については試験濃度区の２倍の連数が望ましい。

７．試験培地の調製方法

試験培地の調製方法は、以下のとおりとする。なお、試験培地は、試験に供する直前に調製することが望ましい。

（１）農薬原体を被験物質として用いる場合

①　易水溶性農薬原体の場合は、適切な方法で滅菌した培地に被験物質を溶解して、試験原液を調製する。試験培地は、試験原液を滅菌した培地で希釈した後、これに藻類懸濁液を加えて調製する。

②　難水溶性農薬原体の場合は、以下のいずれかの方法により試験培地を調製する。

ア　被験物質を有機溶剤等の助剤に溶かした試験原液を用いて試験培地を調製する。この場合、助剤は、試験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。

助剤の試験液中濃度は、原則として全試験濃度区で一定とし、100mg/L（又は0.1ml/L)を超えないことが望ましい。

イ　各濃度ごとに必要量の被験物質を無菌操作により滅菌培地に加え、撹拌、超音波処理等を行い、これに藻類懸濁液を加え、試験培地を調製する。

（２）製剤を被験物質として用いる場合

製剤を滅菌培地に加え撹拌し、試験原液とする。試験培地は、試験原液を滅菌した培地で希釈した後、藻類懸濁液を加えて調製する。なお、製剤の試験では助剤は用いない。

８．環境条件

（１）培養方法

①　無菌培養とする。

②　暴露期間中は試験培地を懸濁状態に保つとともに、通気を促進するため、試験容器を振とう又は撹拌する。

（２）培養温度

設定温度は21～24℃とし、暴露期間中の変動範囲は±２℃以内とする。

（３）照明

連続的に均一照射することとし、*Pseudokirchneriella subcapitata* の推奨株を用いる場合、液面付近で波長400～700nmの測定範囲で60～120μE/m^2/s（4440～8880lux）程度の照度が望ましい。

（４）培地

①　培地の種類

OECD培地（OECDﾃｽﾄｶﾞｲﾄﾞﾗｲﾝ201 Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test(2006)）又はAAP(AGP) 培地(U.S.EPA:Alga Assay Procedure:

Bottle Test, National Environmental Research Center, Corvallis, Oregon(1971))を用いることが望ましい。

② 培地の量

１容器当たりの培地の量は、生物量の測定法及び被験物質濃度の測定法により異なるが、100ml程度が望ましい。

9．観察及び測定

（１）生物量の測定

個々の試験容器中の生物量は、暴露開始後24時間間隔で暴露終了時まで測定する。また、外見の異常が見られた場合には記録する。

（２）被験物質濃度の測定

① 農薬原体を被験物質として用いた場合には、各試験濃度区ごとに被験物質の濃度を少なくとも暴露開始時及び終了時に測定する。

② 被験物質濃度区ごとに各容器から試験液を等量採取して混合し、測定用試料に供する。繰り返し間に差がないと予想される場合には、１容器から採取してもよい。繰り返し間に差がないと予想される場合として、試験開始時に同じ調製液から分配している場合、試験終了時に藻類濃度（阻害率）がほぼ同じ場合が該当する。なお、繰り返し間で藻類濃度（阻害率）が著しく異なる場合は、容器毎に測定する。また、分析上必要がある場合、分析のために別の容器の試験液を用いてもよい。この場合、試験液と全く同じ条件で処理する。

（３）環境条件の測定

① 各試験区（試験濃度区、対照区）について、試験培地の水温及びｐＨを測定する。

② 測定は、少なくとも暴露開始時及び終了時に行う。

10. 結果の処理法

（１）濃度－阻害率の算出法

試験濃度区と対照区の生物量を測定時間と被験物質の濃度とともに表にする。それぞれの試験濃度区と対照区の生物量の平均値を時間に対してプロットし生長曲線を描く。速度法を用いて各濃度での生長阻害率を計算する。

（２）EC_{50}の算定

各濃度における生長阻害率の結果から、一般的に用いられる手法　を用いてEC_{50}を算定する。

（３）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EC_{50}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、株名、入手源、基準物質のEC_{50}等

（３）試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等

（４）試験結果について

① EC_{50}（農薬原体を被験物質として用いた場合は、有効成分濃度に基づくEC_{50}）及びその95％信頼限界

② EC_{50}の算定方法

③　NOEC（農薬原体を被験物質として用いた場合は、有効成分濃度に基づくNOEC。6.(1)②で設定した試験濃度区からNOECの値が求められた場合のみ。）
④　各観察時間における各試験区の生物量（細胞濃度等）及びその平均値
⑤　生物量の測定方法
⑥　生長曲線
⑦　濃度－生長阻害率の関係を示すグラフ
⑧　観察された影響
⑨　被験物質濃度の測定値(農薬原体を被験物質として用いた場合のみ)
⑩　環境条件の測定結果
水質、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（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）等

12. 試験の妥当性
（１）対照区の生物量は、試験開始72時間後において、試験開始時における生物量の16倍以上に増加していなければならない。
（２）対照区において、各繰り返し毎に各日（０～１日、１～２日、２～３日）について求めた生長速度の変動係数を算出する。これらの変動係数の平均値が35％を超えてはならない。
（３）対照区において、各繰り返し毎に試験期間中（０～３日）の平均生長速度を求め、その変動係数が７％を超えてはならない。

水産動植物以外の有用生物への影響に関する試験（２－８－１～４）

ミツバチ影響試験（２－８－１）

１．目的

本試験は、ミツバチに対する被験物質の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．試験方法

（１）急性毒性試験（急性経口毒性試験又は接触毒性試験）を実施する。なお、科学的に妥当であれば、他の試験方法により実施しても差し支えない。

（２）急性毒性試験の結果強い毒性が認められる場合には、ほ場での影響試験を実施する。

蚕影響試験（２－８－２）

１．目的

本試験は、蚕に対する被験物質の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．試験方法

（１）急性経口投与試験を実施する。なお、科学的に妥当であれば、他の試験方法により実施しても差し支えない。

（２）急性経口投与試験の結果、強い毒性が認められる場合には、残毒試験を実施する。

天敵昆虫等影響試験（２－８－３）

１．目的

本試験は、天敵等標的外昆虫に対する被験物質の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．試験方法

（１）急性毒性試験を実施する。科学的に妥当であれば、他の試験方法を用いても差し支えない。

（２）急性毒性試験の結果、強い毒性が認められる場合には、ほ場での試験を実施する。

鳥類影響試験（２－８－４－１及び２）

鳥類強制経口投与試験（２－８－４－１）

１．目的

本試験は、被験物質を単回経口投与した場合の鳥類への毒性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．試験方法

（１）特に規定しない。科学的に妥当な方法で実施すること。

（２）試験方法としては、米国EPA 712-C-96-139 April 1996 Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.2100 Avian Acute Oral Toxicity Test“Public Draft”等がある。

鳥類混餌投与試験（２－８－４－２）

１．目的

本試験は、より現実的な暴露経路として、被験物質を混餌投与した場合の鳥類への毒性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．試験方法

（１）特に規定しない。科学的に妥当な方法で実施すること。

（２）試験方法としては、ＯＥＣＤテストガイドライン205Avian Dietary Toxicity Test、1984等がある。

有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験（2-9-1～17）

１．目的

本試験は、農薬の有効成分等の性状、安定性、分解性等農薬の安全性評価に当たって必要不可欠な基礎的科学的知見を得ることを目的とする。

２．試験の具体的内容等

本試験は、次に掲げる試験（2-9-1～17）により構成するものとする。

（１）色調に関する試験（２－９－１）

①　試験方法

常温常圧で目視により測定する。

②　報告事項

色調（「白色」、「淡黄色」、「褐色」等により記載する。）

（２）形状に関する試験（２－９－２）

①　試験方法

常温常圧で目視により測定する。

②　報告事項

形状（「固体（結晶）」、「固体（粉末）」、「液体」、「気体」等により記載する。）

（３）臭気に関する試験（２－９－３）

①　試験方法

常温常圧で官能検査により測定する。

②　報告事項

臭気（「刺激臭」、「芳香臭」等により記載する。）

（４）スペクトルに関する試験（２－９－４）

①　試験方法

ア　紫外可視吸収（ＵＶ／ＶＩＳ）スペクトルは、ＯＥＣＤテストガイドライン101（1981年５月12日採択）に準じて測定する。

イ　赤外吸収（ＩＲ）スペクトル、核磁気共鳴（ＮＭＲ）スペクトル（^{1}Ｈ及び^{13}Ｃ等）、質量スペクトル（ＭＳ）は、いずれも測定用機器を使用して測定する。

②　報告事項

測定条件及びチャート。なお、ＵＶ／ＶＩＳは吸収波長（ｎｍ）、モル吸光係数及びＩＲは吸収波数（ｃｍ$^{-1}$）、ＮＭＲはｐｐｍ、ＭＳはM／Ｚの測定数値をそれぞれ記載する。ＮＭＲ及びＭＳについては、各ピークを構造式を用いて可能な限り帰属を明らかにする。

（５）融点に関する試験（２－９－５）

①　試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン102（1995年７月27日採択）に準じて測定する。

②　報告事項

融点（熱分解等により融点を測定できない場合には、熱分解等の生じた温度）（摂氏単位）

（６）沸点に関する試験（２－９－６）

①　試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン103（1995年７月27日採択）に準じて測定する。

なお、常圧で沸騰しない場合には、減圧条件下で測定する。

② 報告事項

沸点（熱分解等により沸点を測定できない場合には、熱分解等の生じた温度）（摂氏単位）

（７）蒸気圧に関する試験（２－９－７）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン104（2006年３月23日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

20℃又は25℃における蒸気圧（Pa単位）

（８）水に対する溶解度に関する試験（２－９－８）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン105（1995年７月27日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

20℃における水に対する溶解度（mg/l又はg/l単位）

（９）有機溶媒に対する溶解度に関する試験（２－９－９）

① 試験方法

ア ＯＥＣＤテストガイドライン105（1995年７月27日採択）に準じて測定する。

イ 有機溶媒は、非極性炭化水素としてヘキサン、ヘプタン等、芳香族炭化水素としてキシレン、トルエン等、ハロゲン化炭化水素としてジクロロメタン等、ケトンとしてアセトン等、アルコールとしてメタノール、エタノール等、エステルとして酢酸エチル等を用いる。

② 報告事項

20℃における有機溶媒に対する溶解度（mg/l又はg/l単位）

（10）土壌吸着性に関する試験（２－９－10）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン106（2000年１月21日採択）に準じて測定する。ただし、供試土壌は、原則として当該テストガイドラインに示されている７つの土壌タイプのうち、タイプ２、３、４及び５ごとにそれぞれ１種類以上とし、少なくとも１種類は火山灰土壌を含める。なお、平衡化温度は25℃で測定する。

② 報告事項

ア 土壌吸着係数（K^{ads}_{F} 及び$K^{ads}_{F\ oc}$ 単位）

イ 試験温度（摂氏単位）

（11）オクタノール／水分配係数に関する試験（２－９－11）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン107（1995年７月27日採択）、ＯＥＣＤテストガイドライン117（2004年４月13日採択）又はＯＥＣＤテストガイドライン123（2006年３月23日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

20℃又は25℃におけるオクタノール／水分配係数（log_{10}値）

（12）密度に関する試験（２－９－12）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン109（2012年10月2日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

ア 密度（g／cm^3単位）

イ 試験温度（摂氏単位）

(13) 加水分解性に関する試験（２－９－13）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン111（2004年４月13日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

20℃又は25℃の条件下、ｐＨ４、ｐＨ７及びｐＨ９の緩衝液中における推定半減期

(14) 解離定数に関する試験（２－９－14）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン112（1981年５月１２日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

20℃における解離定数（ｐＫa単位）

(15) 熱に対する安定性に関する試験（２－９－15）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン113（1981年５月12日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

加熱による変質の有無、変質の生じた温度等（摂氏単位）

(16) 水中光分解性に関する試験（２－９－16）

① 試験方法

ＯＥＣＤテストガイドライン316（2008年10月３日採択）に準じて測定する。

② 報告事項

ア 25℃の条件下、緩衝液中における光分解による推定半減期

イ 光強度（W/m^2単位）及び測定波長域（nm単位）

(17) 生物濃縮性試験（魚類濃縮性試験）（２－９－17）

① 定義

ア．生物濃縮：生物中又はその体表面又は特定組織の被験物質濃度が、環境中媒体中のそれに比して増大することをいう。

イ．濃縮倍率：取込期間のある任意の時間の農薬の魚体中濃度と水中濃度の比をいう。

ウ．定常状態：48時間以上の間隔で連続した３回の測定における濃縮倍率の変動が20％以内になった状態をいう。

エ．取込期間：試験魚が被験物質に暴露されている期間をいう。

オ．排泄期間：被験物質を含む試験液からこれを含まない試験液に魚を移した後に、魚体又は特定の組織から被験物質が排泄される程度を調べる期間をいう。

カ．被験物質：試験に用いる農薬原体をいう。

キ．試験物質：試験に用いる被験物質及び基準物質をいう。

ク．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。

ケ．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。

② 試験生物

ア．生物種

試験魚は、別表の魚種の中から選択する。

イ．順化

（ア）供試魚は、試験に供する14日前までには入手し、維持しなければならない。

（イ）必要に応じて、入手時に薬浴を行う。

（ウ）供試魚は、試験に供する前の少なくとも14日間は、試験時における環境条

件（水質等）と同様の条件下で順化しなければならない。
（エ）餌は少なくとも週に５回与える。
（オ）以下に掲げる基準により順化を行い、死亡率を記録する。
ａ．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％を超えた場合には、当該群は廃棄する。
ｂ．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。
ｃ．群の死亡率が 5％未満の場合において当該群の魚類を試験に供するものとする。

③　暴露方法

原則として流水式により試験を行う。ただし、流水式が不可能な場合（試験生物に有害な影響を与える場合）には、半止水式を使用してもよい。

④　試験期間

ア．試験期間は取込期間と排泄期間（濃縮倍率を BCFk で求める場合等）を設ける。
イ．取込期間は、28 日間又は定常状態に達するまでとする。もし、28 日間で定常状態に達しない場合は期間を延長し、定常状態に達するまで、或いは 60 日間とし、いずれか短い方を採用する。
ウ．排泄期間は、定常状態における魚体中の被験物質濃度の 95%以上排泄されるまでの期間とする。

⑤　試験区の設定

ア．試験濃度区の設定
（ア）少なくとも２濃度区を設ける。
（イ）試験濃度は、急性毒性試験等の LC_{50}の 1/100 以下を最高濃度の目安とし、用いる分析法において分析が可能な限り低い２濃度区を設定する。
（ウ）原則として低濃度区は高濃度区の 1/10 の濃度とする。ただし、低濃度区が、分析の検出限界から判断して測定不可能であれば、濃度比を 1/10 より大きくしてもよい。
（エ）設定する濃度が、検出限界から判断して測定不能であれば、放射性同位元素で標識した被験物質を使用してもよい。
（オ）試験濃度は、被験物質の水溶解度を上まわらないことが望ましい。
イ．対照区
（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。魚への影響がないことが明らかな助剤を使用した場合は無処理対照区または助剤対照区のどちらかを設ける。

⑥　試験液の調製

ア．易水溶性農薬原体の場合は、希釈水に溶解して試験原液とする。
イ．難水溶性農薬原体の場合は、機械的な分散によるか、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。用いる助剤は、試験生物に対して毒性が弱く、使用濃度で試験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。助剤の試験液中濃度は 100mg/L（又は 0.1ml/L）を超えないことが望ましい。

⑦　環境条件

ア．収容密度

流水式では、魚体重１ｇ当たり１Ｌ～10L 以上の試験液量が１日に交換される必要がある。

イ．水温

推奨魚種の設定温度は別表のとおりとし、変動範囲は±２℃以内とする。

ウ．照明

12 ～ 16 時間明期とする。

エ．給餌

毎日給餌を行う。１日に体重の１～２％程度与える。

給餌後食べ残しの餌料及び排泄物を除く。

オ．希釈水

試験に用いる水は有害物質や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、成長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。脱塩素水道水あるいは天然水を用いる。使用前には十分に暴気し, 温度調節を行う。

カ．溶存酸素濃度

試験期間を通して溶存酸素濃度は、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。

キ．ｐＨ

試験液のｐＨ調整は行わない。

⑧　観察及び測定

ア．魚の生死及び症状

暴露開始後、24 時間毎に観察し、記録する。

死亡魚が見られた場合は速かに取り除く。また、観察された異常は記録する。

イ．魚体中の被験物質濃度

取込期間中に少なくとも５回、排泄期間中に少なくとも４回測定する。

１回の分析に４尾以上使用する。分析は原則として個体別に行う。

ウ．魚体中の脂質含量

魚体中の被験物質濃度測定時に魚体中の脂質含量を測定することが望ましい。

エ．試験水中の被験物質濃度

暴露開始前及び暴露開始当日、並びに取込期間中に少なくとも５回測定する。取込期間中は、魚体中の被験物質の分析と同時期に行う。

取込期間中、被験物質濃度の変動は、測定値の平均の ±20 %以内であることが望ましい。

オ．水質

試験に先立って希釈水の一般的な水質項目について測定する。

試験液については、水温、溶存酸素濃度及びｐＨを全ての試験区について測定する。

⑨　結果の処理法

魚体中及び試験水中の被験物質濃度の測定結果から、濃縮倍率を算定する。

⑩　報告事項

ア．試験物質について

一般名、化学名、構造式、純度、ロット番号、水溶解度、Pow(n-ｵｸﾀﾉｰﾙ/水分配係数)等。

また、放射性同位元素を使用した場合は、標識位置及びその根拠、放射化学的純度、比放射能等。

イ．試験魚について

種名、供給源、飼育方法、順化、供試魚数、供試魚の全長･体重等

ウ．試験方法について

暴露条件、環境条件、観察及び測定項目等。

エ．試験結果について

（ア）濃縮倍率（BCFss 又は BCFk）及び算定方法。

（イ）取込速度定数及び排泄速度定数。

（ウ）供試魚の死亡及び異常な症状及び反応。

（エ）魚体内の脂質含量の測定値。

（オ）試験水中の被験物質濃度の測定値。

（カ）魚体内の被験物質濃度の測定値。

（キ）水質の測定値。

（ク）放射性同位元素で標識した被験物質を使用した場合、総放射能の BCF が 1000 を超える場合には、総放射能の 10 %以上の代謝物については、濃縮性を表示することが望ましい。

（ケ）その他、試験液の状態等、試験結果に影響を及ぼした可能性のある事項（本試験法からの逸脱等の内容及びそれが試験結果に影響を及ぼした可能性）等。

⑪　試験の妥当性

ア．水温の変動範囲は ± 2 ℃以内でなければならない。

イ．試験終了時において対照区及び試験区の死亡率又は病気などの異常の発生率が 10 %を超えてはならない。試験が数週あるいは数ヶ月延長になった場合には、死亡又は異常は、対照区及び試験区で１ヶ月間で５%未満かつ全期間で 30 %を超えてはならない。

ウ．溶存酸素濃度は試験期間中、飽和濃度の 60 %以上でなければならない。

エ．水槽中の被験物質濃度の変動は測定値の平均の ±20 %以内でなければならない。

別表　試験生物種の条件及び設定温度

魚種	設定温度 (℃)	試験魚の全長 (cm)
ｺｲ (*Cyprinus carpio*)	20 ～ 25	8.0 ± 4.0
ﾒﾀﾞｶ（ﾋﾒﾀﾞｶ） (*Oryzias latipes*)	20 ～ 25	3.0 ± 2.0
ﾌﾞﾙｰｷﾞﾙ (*Lepomis macrochirus*)	20 ～ 25	5.0 ± 2.0
ﾆｼﾞﾏｽ (*Oncorhynchus mykiss*)	13 ～ 17	8.0 ± 4.0
ｸﾞｯﾋﾟｰ (*Poecilia reticulata*)	20 ～ 25	3.0 ± 1.0
ｾﾞﾌﾞﾗﾀﾞﾆｵ (*Danio rerio*)	20 ～ 25	3.0 ± 0.5
ﾌｧｯﾄﾍｯﾄﾞﾐﾉｰ(*Pimephales promelas*)	20 ～ 25	5.0 ± 2.0

環境中予測濃度算定に関する試験（２－１０－１～６）

水質汚濁性試験（２－１０－１）

１．目的

本試験は、水質汚濁予測濃度を算出するため、水田に施用される農薬の水田水の水質における汚濁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

下記により、試験区として被験物質処理区及び無処理区を設定する。

（１）試験区（試験水田）の設置方法

① 原則として１ｍ^2（１ｍ×１ｍ）以上のコンクリート製の容器等とし、浸透水量の調節ができるものとする。

② 充てん土壌は、灰色低地土、グライ土、多湿黒ボク土、褐色低地土等からなる水田土壌で、原則として風乾しない状態で砕き、小石及び粗大有機物等を選別除去してからよく混合した後、十分に脱気しながら土層の深さが５０cm程度となるように湿式充てんしたものとする。

③ ほ場における気象その他の環境条件が十分に反映されるように設置する。

④ 降雨による水田水量の急激な上昇等を避けるため、屋根を設け雨水が入らないようにすることが望ましい。この場合には、大気の流れを妨げないよう留意するとともに、屋根の素材は光線透過率の良好なものを使用する。

（２）試験区（試験水田）の管理

① 試験期間を通じて1日当たりの降下浸透は１～２cm程度とし、水深５cm程度の湛水状態を保つ。落水や掛け流しは避けるものとする。

② 使用する水は、被験物質の分解、分析等に影響を及ぼすおそれのある物質を含まないものとする。

（３）試験区の栽培農作物

試験区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．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。

ただし、屋根を設置している等降雨の影響がない場合は、この限りでない。

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 １回の採取において４か所以上（原則として、水深２～３cm）の異なる地点から採取する。

（２）採取時期及び回数
① 原則として、被験物質の施用直前、直後（施用後１～３時間）、１日後、３日後、７日後及び14日後にそれぞれ１回行う。
② 施用後14日以降も水田水から分析対象物質が検出される可能性のある場合には、検出濃度がその最高値の10分の１以下になるまで採取を続ける。
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

（１）試料の輸送
① 試料の輸送に当たっては、試料が変質又は汚染しないよう十分留意するとともに、凍結しない程度の低温条件で速やかに輸送する。
② 輸送に当たっては、試料の取り違え等を防止するため、識別票を添付する等により適切に取り扱うものとする。

（２）輸送試料の取扱い
試料は、受領後ただちに識別票等により現物の確認を行った後、他の試料との混同がないよう適切に取り扱い、速やかに分析に供するものとする。

６．試料の分析

（１）分析対象物質
被験物質に係る農薬の有効成分及び当該有効成分が生物的又は化学的に変化して生成した物質とする。ただし、水中における検出量がきわめて微量であること、その毒性がきわめて弱いこと等により有害でないと認められるものは除く。

（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 分析対象物質の残留量はｍｇ／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 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、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。
⑦ 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。
⑧ 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。

７．報告事項

（１）試験成績作成機関（ほ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
（４）分析方法（概要及び詳細）
（５）分析対象毎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）推定半減期及び算出方法

模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験（２－１０－２）

１．目的

本試験は、水産動植物被害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．披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（２－１０－３）

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

水質汚濁予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、水質汚濁性試験に準じ、水産動植物被害予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

５．試料の取扱い

水質汚濁性試験に準ずる。

６．試料の分析

水質汚濁予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、水質汚濁性試験に準じ、水産動植物被害予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、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、可能なら蒸発量）、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

水質汚濁性試験に準ずる。

模擬圃場を用いた地表流出試験（２－１０－４）

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２０㎝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５㎝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５㎝高くなるようにする。次に、壁面から２～３㎝内側の表層土壌を深さ約１５㎝まで充分に耕起する。

（３）土壌水分計の設置

土壌容器には、深さ約１５㎝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㎡当たり1.5Lの表流水を得るまでの時間が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㎡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毎回記録する。

（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

水質汚濁予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、水質汚濁性試験に準じ、水産動植物被害予測濃度を算出するために試験を実施する場合には、模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

（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 試料は十分に撹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。

③ 分析対象物質の量はmg／ｌで表す。

④ 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。

⑤ 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。

⑥ 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。

⑦ 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、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。

⑧ 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。

⑨ 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（２－１０－５）

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20ｍ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

（１）農薬の散布は、平均風速が概ね2.0m/ｓ以上の条件下で行う。

（２）被験物質は、調製後、速やかに施用する。

（３）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。
（４）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。
（５）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

河川における農薬濃度のモニタリング（２－１０－６）

１．目的

本モニタリングは、現に登録を有する農薬について、公共用水域の水中における当該農薬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、対象農薬及び用途分野について河川中農薬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）調査河川は、調査対象農薬の使用地区からの排水が流入することが明らかな河川を選定する。

（３）調査地点は、少なくとも以下の地点を選定する。

①　水質汚濁性の評価に用いる場合

ア　評価地点

当該地区からの主排水路等の調査河川への合流地点の直近下流域とする。

イ　動態観測点

当該地区からの農薬流出動態を的確に把握できる主排水路等において動態観測点を設置することが望ましい。

ウ　上流部観測点

当該地区からの排水の調査河川への合流地点の上流部とする。

②　水産動植物に対する毒性影響の評価に用いる場合

ア　評価地点

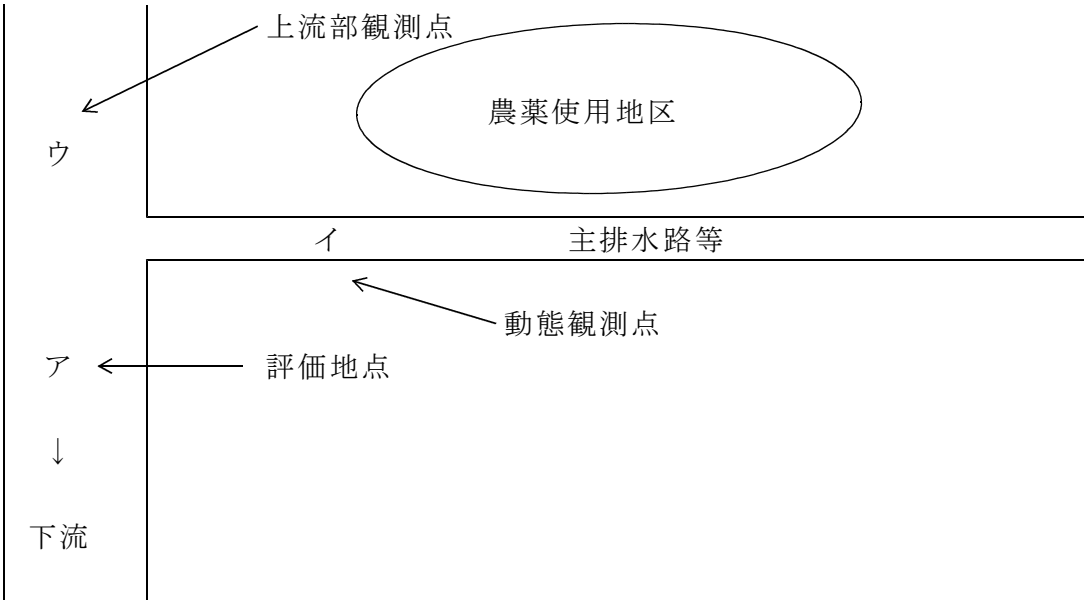
当該地区下流域の最寄りの公共用水域常時監視地点（環境基準点又は補助点）とする。

イ　動態観測点

当該地区からの農薬流出動態を的確に把握できる主排水路等とする。なお、地域内において農薬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。

ウ　上流部観測点

当該地区からの排水の調査河川への合流点の上流部とする



３．流量測定及び気象観測

水質汚濁性の評価に用いる場合には、４半期に１回以上、水産動植物に対する毒性影響の評価に用いる場合には、調査期間中に１回以上、評価地点における流量（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 水質汚濁性の評価に用いる場合

ア 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、農薬使用時期においては１週間ごとに、その後においては１ヶ月ごとに、評価地点における農薬濃度が定量限界以下となることが確認されるまで行う。

イ 水田以外に使用する農薬の場合

試料採取は、農薬使用時期においては約２週間ごとに、その後においては１ヶ月ごとに、評価地点における農薬濃度が定量限界以下となることが確認されるまで行う。

② 水産動植物に対する毒性影響の評価に用いる場合

ア 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毎日、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。

イ 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）分析対象物質

水質汚濁性の評価に用いる場合には、水質汚濁性試験に準じ、水産動植物に対する毒性影響の評価に用いる場合には、模擬水田を用いた水田水中農薬濃度測定試験に準ずる。

（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　分析対象物質の濃度はμｇ／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）年間又は最大濃度期における平均濃度

農薬原体の組成に関する試験（２－１１－１～８）

農薬原体中の成分の種類及びその含有量（２－１１－１）

１．目的

農薬の製造に用いる農薬原体の組成を明らかにすることを目的とする。

２．基本事項

（１）農薬の製造に用いる農薬原体について、農薬原体の製造場（製造プラントが設置されている施設。以下同じ。）ごとに、農薬原体に含有される有効成分、添加物（保存安定性、取り扱いやすさ等を向上させるために農薬原体に意図的に加える成分。以下同じ。）及び不純物（農薬原体に含有される有効成分及び添加物以外の成分。以下同じ。）の基本情報及び農薬原体中の含有量（農薬原体１kg当たりの重量（g）。以下同じ。）に関する情報を報告する。

（２）登録申請時に報告した情報がパイロットプラント（農薬原体の製造試験を行う設備。以下同じ。）により製造した農薬原体に関する情報である場合であって、製造プラント（農薬原体を商業目的で製造する設備。以下同じ。）により製造した農薬原体中の成分の種類及びその含有量がパイロットプラントにより製造した農薬原体のものと異なるものとなる場合には、製造プラントにより製造した農薬原体に含有される有効成分、添加物及び不純物の基本情報及び農薬原体中の含有量に関する情報を追加報告する。

３．報告事項

（１）有効成分

農薬原体中の有効成分について、次の①から⑦までに示す情報を報告する。

① 一般名（ＩＳＯ名、その他の名称）

② 化学名（ＩＵＰＡＣ名及びＣＡＳ名）

③ ＣＡＳ番号

④ コード番号

⑤ 分子式、構造式及び分子量

⑥ 農薬原体中の含有量

有効成分の含有量の下限値を設定して報告する。ただし、有効成分の含有量が低く、有効成分の含有量の増加により、ヒトの健康への影響が大きくなると考えられる農薬原体については、下限値に加え、上限値についても設定して報告する。

⑦ 異性体組成

有効成分が異性体の混合物である場合には、各異性体の含有量又は組成比を報告する。

有効成分が異性体の一部である場合には、その他の異性体は不純物として情報を報告する

（２）添加物

農薬原体中の添加物について、以下の①から⑥までに示す情報を報告する。

① 一般名（ＩＳＯ名、その他の名称）

② 化学名（ＩＵＰＡＣ名及びＣＡＳ名）
③ ＣＡＳ番号
④ 分子式、構造式及び分子量
⑤ 農薬原体中の含有量（上限値及び下限値）
⑥ 添加する目的

（３）不純物

農薬原体中の含有量が１g/kg以上の全ての不純物について、次の①から⑤までに示す情報を報告する。

農薬原体中の含有量が１g/kg未満の不純物（農薬原体の組成分析（２－１１－４）により農薬原体に含有されることが確認されている不純物に限る。）であっても、添加物及び不純物の毒性（２－１１－６）により、その毒性が農薬原体の毒性に与え得る影響を考慮して、有効成分とともに管理が必要な不純物（以下、「考慮すべき毒性を有する不純物」という。）であると判断した場合には、当該不純物の情報を報告する。

① 一般名（ＩＳＯ名）
② 化学名（ＩＵＰＡＣ名及びＣＡＳ名）
③ ＣＡＳ番号
④ 分子式、構造式及び分子量
⑤ 農薬原体中の含有量（上限値）

農薬原体の製造方法（２－１１－２）

１．目的

農薬原体に含有される不純物及びその由来（２－１１－３）を特定する情報を示すことを目的とする。

２．基本事項

（１）農薬の製造に用いる農薬原体について、農薬原体の製造場ごとに、製造方法に関する情報を報告する。

（２）農薬原体の製造方法は、一般工業製品として入手可能な原料から有効成分までの合成工程及び精製工程とし、一般工業製品として入手できない中間体を製造し、農薬原体の製造に用いる場合には、当該中間体に関する情報も報告する。

３．報告事項

（１）製造者

農薬原体の製造者の名称及び所在地を報告する。ただし、申請者と農薬原体の製造者が同一の場合には、報告は不要とする。

（２）製造場

農薬原体を製造する全ての製造場の名称及び所在地を報告する。

中間体の製造場が農薬原体の製造場と異なる場合には、当該中間体の製造場の名称及び所在地も報告する。

（３）原料

農薬原体の製造に用いる全ての原料（中間体の製造に用いる原料を含む。）について、次の①及び②に示す情報を報告する。

① 一般名、ＣＡＳ番号
② 化合物の特性に関して入手可能な情報（安全データシート（ＳＤＳ）等）

（４）製造方法

農薬原体の製造場ごとに、原料から有効成分までの合成工程及び精製工程をフローシート様式により、工程ごとに次の①から⑤までに示す情報を報告する。

① 製造方法（バッチ製造、連続製造等）
② 化学反応
各工程で用いる化学反応について、化学式を用いて報告する。
③ 反応物、溶媒及び触媒
各工程で用いる反応物、溶媒及び触媒並びにそれらの投入順を報告する。
④ 設備及び操作
生成物の組成に影響を及ぼすと考えられる各工程で用いる設備及び操作の情報を報告する。
⑤ 反応条件
各工程で用いる反応条件（温度、圧力、ｐＨ等）及び管理幅を報告する。

農薬原体に含有されると考えられる不純物及びその由来（２－１１－３）

１．目的

農薬原体の組成分析（２－１１－４）において分析対象とする不純物の選定根拠を示すことを目的とする。

２．基本事項

農薬の製造に用いる農薬原体について、農薬原体の製造方法ごとに、農薬原体に含有されると考えられる不純物に関する情報及びそれらが含有されると考えられる要因を推察できる情報を報告する。

３．報告事項

（１）農薬原体に１g/kg以上含有されると考えられる不純物について、化学理論に基づき、それらが含有されると考えられる要因を検討し、次の①から⑥までに示す項目ごとに分類した上で、検討結果を報告する。

① 農薬原体の製造に用いる原料
② 農薬原体の製造に用いる原料中の不純物
③ 農薬原体の製造時の中間体
④ 農薬原体の製造時の副生成物

⑤　農薬原体の製造後の有効成分、中間体等の分解物
⑥　農薬原体の製造に用いる溶媒、触媒等

（２）考慮すべき毒性を有する不純物として別表１に示すダイオキシン類及び別表２に示す有害物質が農薬原体に含有されると考えられるかどうかについて、化学理論に基づき検討した結果を報告する。

別表１：ダイオキシン類

考慮すべき毒性を有するダイオキシン類として、ポリ塩化ジベンゾパラジオキソン（ＰＣＤＤｓ)、ポリ塩化ジベンゾフラン（ＰＣＤＦｓ）及びコプラナーポリ塩化ビフェニル（Ｃｏ－ＰＣＢｓ）並びに2006年にＷＨＯ／ＩＰＣＳから提案された毒性等価係数（ＴＥＦ）を以下に示す。

ダイオキシン類		ＴＥＦ
ＰＣＤＤｓ	2,3,7,8－ＴｅＣＤＤ	1
	1,2,3,7,8－ＰｅＣＤＤ	1
	1,2,3,4,7,8－ＨｘＣＤＤ	0.1
	1,2,3,6,7,8－ＨｘＣＤＤ	0.1
	1,2,3,7,8,9－ＨｘＣＤＤ	0.1
	1,2,3,4,6,7,8－ＨｐＣＤＤ	0.01
	ＯＣＤＤ	0.0003
ＰＣＤＦｓ	2,3,7,8－ＴｅＣＤＦ	0.1
	1,2,3,7,8－ＰｅＣＤＦ	0.03
	2,3,4,7,8－ＰｅＣＤＦ	0.3
	1,2,3,4,7,8－ＨｘＣＤＦ	0.1
	1,2,3,6,7,8－ＨｘＣＤＦ	0.1
	1,2,3,7,8,9－ＨｘＣＤＦ	0.1
	2,3,4,6,7,8－ＨｘＣＤＦ	0.1
	1,2,3,4,6,7,8－ＨｐＣＤＦ	0.01
	1,2,3,4,7,8,9－ＨｐＣＤＦ	0.01
	ＯＣＤＦ	0.0003
Ｃｏ－ＰＣＢｓ	3,3',4,4'－ＴｅＣＢ（#77）	0.0001
	3,4,4',5－ＴｅＣＢ（#81）	0.0003
	3,3',4,4',5－ＰｅＣＢ（#126）	0.1
	3,3',4,4',5,5'－ＨｘＣＢ（#169）	0.03
	2,3,3',4,4'－ＰｅＣＢ（#105）	0.00003
	2,3,4,4',5－ＰｅＣＢ（#114）	0.00003
	2,3',4,4',5－ＰｅＣＢ（#118）	0.00003
	2',3,4,4',5－ＰｅＣＢ（#123）	0.00003
	2,3,3',4,4',5－ＨｘＣＢ（#156）	0.00003
	2,3,3',4,4',5'－ＨｘＣＢ（#157）	0.00003
	2,3',4,4',5,5'－ＨｘＣＢ（#167）	0.00003
	2,3,3',4,4',5,5'－ＨｐＣＢ（#189）	0.00003

別表２：有害物質
考慮すべき毒性を有する有害物質を以下に示す。
考慮すべき毒性を有するとして新たに追加すべき有害物質が判明した場合には、本有害物質のリストの見直しを行うこととする。

ＤＤＴ類
ＨＣＢ
ベンゾ[a]ピレン
イソマラソン
ヒドラジン
β－ナフトール
1,2－ジクロロプロパン
トリクロロエチレン
テトラクロロエチレン
エチレンチオウレア（ＥＴＵ）
重金属類（セレン、カドミウム、クロム、鉛、水銀及び砒素）

農薬原体の組成分析（２－１１－４）

１．目的

農薬原体中の成分とその含有量（２－１１－１）の設定根拠とするための情報及び農薬の製造に用いる農薬原体と毒性試験に用いた農薬原体との同等性（２－１１－７）を確認するための情報を得ることを目的とする。

２．農薬原体の組成分析

（１）基本事項

① 登録申請した製造方法により製造した農薬原体を製造場ごとに５以上の異なるバッチ（連続製造の場合には、ロット。以下同じ。）から採取し、その組成分析を実施する（ダイオキシン類の分析は２－１１－４の３に別途示す。）。

② 登録申請時に報告した情報がパイロットプラントにより製造した農薬原体に関するものである場合には、製造プラントにより製造した農薬原体に関する情報を追加報告する。

（２）分析試料の採取

① 採取対象とするバッチの選定は、登録申請した製造方法により農薬原体を製造した場合に生じ得る各成分の含有量の変動が反映されるように、製造時期の連続したものを避ける等、十分に検討してから行う。また、農薬原体の製造後に有効成分、中間体等の分解物が生成すると考えられる場合には、通常の保管条件で通常想定される期間保管したバッチを選定することを検討する。

② 各バッチの試料は、偏りが生じないように、無作為に選定した複数の位置から採取し、十分に混和する。

（３）分析対象

① 分析対象は、有効成分、添加物及び農薬原体に１g/kg以上含有されると考えられる不純物とする。また、２－１１－３の別表２に示す有害物質のうち、農薬原体に含有されると考えられる有害物質を分析対象とする。

② 特別な理由がない限り、定量された分析対象の含有量の合計が980g/kg以上である必要がある。

③ 有効成分が異性体の混合物である場合には、各異性体をそれぞれ定量する。

④ 分析対象の標準品の純度は、95%以上を目安とする。

（４）分析法の妥当性

分析法が次の①から⑤までに示す要件を満たすものであることを確認する。

① 選択性

ア 有効成分については、添加物及び不純物による妨害が有効成分のピーク面積の３%を超えないこと。

イ 添加物及び不純物については、農薬原体中の当該成分が適切に同定できること。

② 直線性

ア 通常の含有濃度の±20%以上の範囲で、３濃度以上を選定し、２回繰り返し分析を行い、又は５濃度以上を選定し、単回分析を行い、直線の相関係数（ｒ）が0.99以上であること。

③ 精確さ

ア 添加物及び不純物については、通常の含有濃度の２以上の試料の分析を行い、回収率を求め、各回収率が以下の範囲であること。

含有濃度（g/kg）	回収率（%）
＞10	90－110
１－10	80－120
＜１	75－125

④ 併行精度

通常の含有濃度により５回以上繰り返し分析を行い、算定した併行相対標準偏差（ＲＳＤｒ（%））が以下に示す許容範囲内であること。

ＲＳＤｒ（%）＜２（１－0.5logＣ）×0.67（Ｃは､分析対象の農薬原体に対する重量分率）

⑤ 定量限界

ア 添加物及び不純物については、１g/kg以下であること。ただし、２－１１－６により、考慮すべき毒性を有する不純物であると判断した不純物については、１g/kg以下であり、かつ、技術的に可能な限り低い濃度であること。

イ ２－１１－３の別表２に示す有害物質については、１g/kg以下であり、かつ、技術的に可能な限り低い濃度であること。

ウ 添加物及び不純物（考慮すべき毒性を有する不純物を含む。）の通常の含有濃度がア又はイの濃度よりも著しく高いことが明らかな場合には、通常の含有濃度の10分の１以下であること。

（５）報告事項

組成分析について、次の①から⑨までに示す事項を報告する。

① 分析法の原理
② 分析試料
③ 器具、試薬及び標準品
④ 試料調製方法
⑤ 分析機器及び操作条件
⑥ 含有量の算出方法
⑦ 分析法の妥当性（選択性、直線性、精確さ、併行精度及び定量限界）
⑧ 各バッチの各成分の含有量並びにその平均値及び標準偏差（ＳＤ）（含有量は、回収率による補正は行わない。）
⑨ 代表的なクロマトグラム

３．農薬原体中のダイオキシン類の分析

（１）基本事項

① 登録申請した製造方法により製造した農薬原体を製造場ごとに２以上の異なるバッチから採取し、ダイオキシン類の分析を実施する。ただし、ダイオキシン類が農薬原体に含有されていないと考えられる場合には､分析は不要とする。
② 登録申請時に報告した情報がパイロットプラントにより製造した農薬原体に関するものである場合には、製造プラントにより製造した農薬原体に関する情報を追加報告する。

（２）分析試料の採取

① 採取対象とするバッチの選定は、登録申請した製造方法により農薬原体を製造した場合に生じ得るダイオキシン類の含有量の変動が反映されるように、製造時期の連続したものを避ける等、十分に検討してから行う。
② 各バッチの試料は、偏りが生じないように、無作為に選定した複数の位置から採取し、十分に混和する。

（３）分析対象

分析対象は、毒性のあるポリ塩化ジベンゾパラジオキソン（ＰＣＤＤｓ）、ポリ塩化ジベンゾフラン（ＰＣＤＦｓ）及びコプラナーポリ塩化ビフェニル（Ｃｏ－ＰＣＢｓ）とする（２－１１－３の別表１参照）。

（４）分析法

① 分析法は、日本工業規格（ＪＩＳ　K0312　工業用水・工業廃水中のダイオキシン類及びコプラナーＰＣＢの測定方法）に定められた方法に準ずる。
② 定量限界は、2006年にＷＨＯ／ＩＰＣＳから提案された毒性等価係数（ＴＥＦ）に基づき、ダイオキシン類の種類ごとに毒性等量（ＴＥＱ）換算で0.1μg/kg以下とする。

（５）報告事項

ダイオキシン類の分析について、次の①から⑨までに示す事項を報告する。

① 分析法の原理
② 分析試料

③　器具、試薬及び標準品
④　試料調製方法
⑤　分析機器及び操作条件
⑥　含有量の算出方法
⑦　定量限界
⑧　各バッチの各成分の含有量
⑨　代表的なクロマトグラム

４．毒性試験に用いた農薬原体の組成分析
（１）基本事項
①　急性毒性、短期毒性、遺伝毒性、長期毒性、発がん性、生殖毒性及び神経毒性に関する毒性試験（２－１－１～３、２－１－６～１８及び２－１－１９－１～３）に用いた農薬原体について、組成分析を実施する。
②　毒性試験に複数のバッチの農薬原体を用いた場合には、全てのバッチの農薬原体について、組成分析を実施する。
③　毒性試験に用いた農薬原体について、２－１１－４の４に示す組成分析を実施していない場合には、当該農薬原体が農薬の製造に用いる農薬原体と同等であることを示す理由を報告する。

（２）分析試料の採取
①　試料は、毒性試験に用いた農薬原体と同一のバッチから採取する。
②　試料は、偏りが生じないように、無作為に選定した複数の位置から採取し、十分に混和する。

（３）分析対象
２－１１－４の２の（３）に同じ。

（４）分析法の妥当性
２－１１－４の２の（４）に同じ。

（５）報告事項
組成分析について、２－１１－４の２の（５）の①から⑨までに示す事項を報告する。また、毒性試験に用いた農薬原体の製造方法が２－１１－２で報告した製造方法と異なる場合には、当該製造方法に関する情報を報告する。

農薬原体中の成分の含有量の上限値及び下限値の設定（２－１１－５）

１．目的
農薬原体中の成分及びその含有量（２－１１－１）の妥当性を示すことを目的とする。

２．基本事項
有効成分、添加物及び不純物の農薬原体中の含有量は、原則として、農薬原体の組成分析（２－１１－４の２）の結果に基づき設定する。

３．含有量の上限値及び下限値の設定方法

（１）農薬原体の組成分析に基づく設定

①　有効成分、添加物及び不純物の農薬原体中の含有量については、農薬原体の組成分析における各成分の含有量の平均値及び標準偏差を求め、平均値＋３ＳＤ又は平均値－３ＳＤを根拠として、上限値又は下限値を設定する。

②　農薬原体の組成分析における各成分の含有量の最大値又は最小値を含有量根拠とする場合には、当該値を根拠とすることについて妥当な理由が必要である。

（２）その他のデータに基づく設定

農薬原体の製造管理データ等、農薬原体の組成分析とは異なる試験成績又は情報を根拠として、含有量の上限値又は下限値を設定する場合には、製造において生じ得る各種成分の組成と変動が反映されていることが必要である。

（３）含有量の上限値及び下限値の有効数字等

含有量の上限値及び下限値の有効数字は、原則として、100g/kg未満の場合には１桁、100g/kg以上の場合には２桁とし、上限値は切り上げにより、下限値は切り捨てにより必要な桁数とする。ただし、含有量の上限値及び下限値の設定根拠との差が大きくなりすぎる又は小さくなりすぎる場合には、等比級数的に設定する等の適切な方法を検討する。

４．報告事項

農薬原体中の含有量の上限値及び下限値の設定について、農薬原体の製造場ごとに、次の（１）から（３）までに示す事項を報告する。

（１）設定根拠とした試験成績

（２）含有量の上限値又は下限値の設定方法

（３）設定した含有量の上限値又は下限値が妥当と考える理由（必要な場合）

添加物及び不純物の毒性（２－１１－６）

１．目的

農薬原体の毒性に影響を与え得る添加物及び不純物を特定するための情報並びに農薬の製造に用いる農薬原体と毒性試験に用いた農薬原体との同等性（２－１１－７）を確認するための情報を得ることを目的とする。

２．基本事項

（１）農薬の製造に用いる農薬原体について、農薬原体に含有される添加物及び不純物の毒性に関する情報を報告する。

（２）添加物及び不純物（農薬原体の組成分析（２－１１－４の２）により農薬原体に含有されることが確認されている不純物に限る。）の毒性が農薬原体の毒性に影響を与え得るかどうかについて、先ず、２－１１－６の３に示す既存の利用可能なデータを用いて考察し、影響を与え得ると考えられる場合又は十分な情報が得られない場合には、２－１１－６の４に示す毒性試験を実施する。

３．既存の利用可能なデータ

添加物及び不純物の毒性については、次の（１）から（５）までに示す試験成績等の既存の利用可能なデータから十分な情報が得られる場合には、それらを用いて考察を行う。

（１）化学物質の分類リスト

不純物が考慮すべき毒性を有することが知られている化学物質であるかどうかを確認するため、２－１１－３の別表１に示すダイオキシン類及び別表２に示す有害物質、諸外国が考慮すべき毒性を有する化学物質として分類している化学物質のリスト等の情報を用いる。

（２）安全データシート（ＳＤＳ）

添加物及び不純物が一般工業製品として入手可能な化学物質である場合には､安全データシートの情報を用いることができる。ただし、毒性に関する十分な情報が得られない場合には、他の利用可能なデータが必要である。

（３）動物代謝試験

① 不純物が有効成分の動物における代謝物と同一である場合には、ラットを用いた動物代謝試験（２－３－１）の情報を用いることができる。

② 農薬の製造に用いる農薬原体中の不純物の含有量に比して、不純物が代謝物として十分量生成している場合には、不純物の毒性は、毒性試験において有効成分とともに評価されていると考えることができる。

（４）毒性試験に用いた農薬原体の組成分析

① 添加物及び不純物が分析されている場合には、毒性試験に用いた農薬原体の組成分析（２－１１－４の４）の情報を用いることができる。

② 農薬の製造に用いる農薬原体中の添加物及び不純物の含有量の平均値（製造場ごとの平均値）が、毒性試験に用いた農薬原体中の添加物及び不純物の含有量（バッチごとの含有量）と比較して、次のア又はイの要件を満たす場合には、その添加物及び不純物の毒性は、毒性試験において有効成分とともに評価されていると考えることができる。

ア 考慮すべき毒性を有する不純物の場合には、その含有量が増加していないこと。

イ 添加物及び考慮すべき毒性を有する不純物以外の不純物の場合には､その含有量の増加が、

（ア）毒性試験に用いた農薬原体中の含有量が６g/kg以下の添加物及び不純物については、３g/kg以下であること。

（イ）毒性試験に用いた農薬原体中の含有量が６g/kgを超える添加物及び不純物については、50％以下であること。

（５）構造活性相関

添加物及び不純物の毒性について、信頼できる予測が可能であり、科学的に支持できる場合には、毒性に関する構造活性相関（ＳＡＲ）解析の情報を用いることができる。ただし、解析に用いるモデルが対象とする構造が限定的であり、当該構造を有していない添加物及び不純物の場合には、毒性に関する十分な情報が得られないため、他の利用可能なデータが必要である。

４．毒性試験

（１）添加物及び不純物又はそれらを十分量含有している農薬原体を用いて、次の①から⑥までに示す毒性試験を実施する。

① 遺伝毒性試験

ア 細菌を用いた復帰突然変異試験（２－１－１９－１）を実施する。

イ 復帰突然変異試験の結果、陽性又はその疑いがある場合には、染色体異常試験（２－１－１９－２）及び小核試験（２－１－１９－３）の実施が必要である。

② 急性経口毒性試験

ア ラットを用いた急性経口毒性試験（２－１－１）を実施する。

イ 急性経口毒性試験の結果、添加物及び不純物の毒性の影響により農薬原体の毒性（ＬＤ50）が２倍以上強くなると考えられる場合には、反復経口投与毒性試験の実施が必要である。ただし、反復経口投与毒性試験を実施するかどうかの判断は、上記の要件から自動的に行うのではなく、添加物及び不純物の毒性の影響が認められるかどうか等を考慮して、科学的に判断することが必要である。

③ 反復経口投与毒性試験

添加物及び不純物の農薬原体中の含有量が50g/kgを超える場合又は急性毒性試験の結果から実施が必要と判断された場合には、ラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験（２－１－９）を実施する。ただし、安全性評価に用いる毒性試験に用いた農薬原体についてＯＥＣＤテストガイドライン407（2008年10月３日採択）及び農薬ＧＬＰ基準に準拠した28日間反復経口投与毒性試験が実施されており、結果を比較できる場合には、28日間反復経口投与毒性試験を実施してもよい。

④ 催奇形性試験

不純物が催奇形性を有すると考えられる場合には、ラット又はウサギを用いた催奇形性試験（２－１－１８）を実施する。

⑤ 神経毒性試験

不純物が神経毒性を有すると考えられる場合には、ラットを用いた急性神経毒性試験（２－１－７）を実施する。

⑥ その他の毒性試験

不純物が①から⑤まで以外の毒性を有することが明らかな場合には、当該不純物を十分量含有している農薬原体を用いた毒性試験の実施を求めることがある。

（２）実施した毒性試験の報告書には、次の①から⑥までの事項を記載する。

① 被験物質に関する情報
② 供試動物、使用菌株、使用細胞等に関する情報
③ 試験条件に関する情報
④ 試験結果
⑤ 考察及び結論
⑥ 参考文献

５．報告事項

添加物及び不純物ごとに、次の（１）及び（２）に示す事項を報告する。

添加物及び不純物について、毒性が低いことが知られている化学物質（無機塩、水等）である場合には、その旨を報告する。

（１）考察に用いた試験成績等

（２）添加物及び不純物の毒性が農薬原体の毒性に影響を与え得るかどうかについての考察及び結論

農薬原体の同等性（２－１１－７）

１．目的

農薬の製造に用いる農薬原体と毒性試験に用いた農薬原体との同等性を示すことを目的とする。

２．基本事項

（１）農薬の製造に用いる農薬原体及び毒性試験に用いた農薬原体について、毒性学的に同等と考えられる理由に関する情報を報告する。

（２）農薬の製造に用いる農薬原体及び毒性試験に用いた農薬原体の同等性について、まず、２－１１－７の３に示す組成の比較による検討を行い、同等であると判断できない場合には、２－１１－７の４に示す毒性の比較による検討を行う。

３．組成の比較

農薬の製造に用いる農薬原体及び毒性試験に用いた農薬原体について、農薬原体中の成分とその含有量の比較表を作成し、農薬原体が同等であるかどうかを検討する。

（１）判断基準

農薬の製造に用いる農薬原体中の添加物及び不純物の含有量の平均値（製造場ごとの平均値）が、毒性試験に用いた農薬原体中の含有量（バッチごとの含有量）と比較して、以下の①から③までの全ての要件を満たす場合には、毒性試験に用いた農薬原体と同等であると判断する。

① 考慮すべき毒性を有する不純物の含有量が増加していないこと。

② 新たな添加物及び不純物を含有していないこと。

③ 添加物及び考慮すべき毒性を有する不純物以外の不純物の含有量の増加が、

ア 毒性試験に用いた農薬原体中の含有量が６g/kg以下の添加物及び不純物については、３g/kg以下であること。

イ 毒性試験に用いた農薬原体中の含有量が６g/kgを超える添加物及び不純物については、50％以下であること。

（２）報告事項

組成の比較について、次の①から③までの事項を報告する。

① 農薬原体中の成分とその含有量の比較表
② 判断基準への適合性
③ 考察及び結論

４．毒性の比較

２－１１－７の３の（１）の①から③までの要件を満たさない場合には、農薬の製造に用いる農薬原体及び毒性試験に用いた農薬原体について、農薬原体中に含有される有効成分、添加物及び不純物の毒性に関する試験成績を用いて、農薬原体が同等であるかどうかを検討する。

（１）判断基準

① ２－１１－６の５の報告により、全ての添加物及び不純物の毒性が農薬原体の毒性に影響を与えることはないと考えられる場合には、農薬の製造に用いる農薬原体が毒性試験に用いた農薬原体と同等であると判断する。

② 添加物及び不純物の毒性が影響を与え得ると考えられる場合には、２－１１－６の４に示す農薬原体を用いた毒性試験の結果が、安全性評価に用いる毒性試験の結果と比較して、次のアからウまでに示す要件を満たす場合には、農薬の製造に用いる農薬原体が毒性試験に用いた農薬原体と同等であると判断する。なお、農薬原体が同等であるかどうかの判断は、以下の要件から自動的に行うのではなく、添加物及び不純物の毒性の影響が認められるかどうか等を考慮して、科学的に判断することが必要である。

ア 毒性（ＬＤ50、ＮＯＡＥＬ等）が２倍以上強くならない（又は投与量の公比に相応する値を超えて強くならない）場合
イ 毒性区分を分類する毒性試験において、より強い毒性区分にならない場合
ウ 陽性又は陰性を判定する毒性試験において、判定結果に変更がない場合

（２）報告事項

毒性の比較について、次に示す①から③までの事項を報告する。

① 添加物、不純物及び農薬原体の毒性試験結果の比較表
② 判断基準への適合性
③ 考察及び結論

農薬原体の分析法（２－１１－８）

１．目的

農薬取締法（昭和23年法律第82号）第14条第３項の検査方法に用いる分析法として妥当であることを示すことを目的とする。

２．基本事項

（１）農薬の製造に用いられる農薬原体について、農薬取締法第14条第３項の検査方法と

して設定する農薬原体中の有効成分及び考慮すべき毒性を有する不純物の含有量に関する規格に適合しているかどうかを検査する目的に適した分析法に関する情報を報告する。

（２）農薬原体中の有効成分及び考慮すべき毒性を有する不純物の分析法について、妥当性の確認を実施する。

３．分析対象

（１）分析対象は、有効成分及び考慮すべき毒性を有する不純物（農薬原体の組成分析（２－１１－４の２）により農薬原体に含有されることが確認されている不純物に限る。）とする。

（２）有効成分が異性体の混合物である場合には、各異性体をそれぞれ定量する。

４．妥当性の確認

２－１１－４の２の（４）に同じ。

５．報告事項

２－１１－４の２の（５）に同じ。

６．標準品

（１）登録申請した製造方法により製造した農薬原体を製造場ごとに20g（又は20ml）及び有効成分の標準品２g（又は２ml）をそれぞれ提出する。

（２）考慮すべき毒性を有する不純物に成分規格を設定する必要がある場合には、その標準品の提出を求めることがある。

＜残留性に関する試験＞

農作物への残留性に関する試験

作物残留試験（３－１－１）

１．目的

本試験は、農薬の農作物における残留の程度等に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物

（１）登録申請に係る適用農作物ごとにその代表的品種及び作型を選択する。

（２）栽培方法は、標準的な方法を選択する。特に栽培条件（施設・露地、有袋・無袋）は、残留量に大きく影響することから、施設栽培又は無袋栽培を基本とする。

３．試験区（ほ場）の設定

（１）試験区として、被験物質処理区及び無処理区を設ける。

（２）試験区は、分析を行う上で十分な量の供試農作物のが確保できる面積を有しなければならない。

（３）試験区は、外部からの農薬の飛散等による汚染防止措置が講じられていなければならない。

（４）被験物質処理区は、原則として被験物質の残留の消長が確認できるよう経過日数を設定する。ただし、農作物の生育初期に使用する被験物質や土壌処理剤等限られた時期に使用される被験物質についてはこの限りでない。

４．供試農作物の栽培

（１）供試農作物は、収穫時に市場出荷可能な状態となるよう、通常の栽培方法に従って適切に栽培管理を行う。

（２）やむを得ず病害虫等の防除等を行わなければならない場合は、試験結果に影響を及ぼさない方法により防除等を行うこと。

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、登録申請に係る使用方法（時期、回数、量等）等に基づき、通常用いられる器具を用いて、適切に施用する。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。ただし、屋根を設置している等降雨の影響がない場合は、この限りでない。

６．試料の採取

（１）採取部位及び採取量は、別表１に定めるところによる。

（２）採取方法は、採取の偏りがないよう適切な採取方法とする。

（３）試料は、市場へ出荷できる状態のものであって、かつ、可能な限り均一なサイズ（長さ及び大きさ）のものを採取し、障害（病虫害、薬害、未熟等）のあるものは採取しない。
（４）試料の採取及び包装は、試料の取り違いや汚染が生じないよう適切な方法により行う。

７．試料の取扱い
（１）試料の輸送
① 試料の輸送に当たっては、試料が変質又は汚染しないよう十分留意するとともに、天日乾燥や機械乾燥した試料を除き、凍結しない程度の低温条件で速やかに輸送する。
② 輸送に当たっては、試料の取り違え等を防止するため、識別票を添付する等により適切に取り扱うものとする。
（２）輸送試料の取り扱い
試料は、受領後ただちに識別票等により現物の確認を行った後、他の試料との混同がないよう適切に取り扱い、速やかに分析に供するものとする。

８．試料の分析
（１）分析対象物質
被験物質に係る農薬の有効成分及び当該有効成分が生物的又は化学的に変化して生成した物質（以下「成分物質」という。）とする。ただし、残留濃度がきわめて低いこと、その毒性がきわめて弱いこと等により人の健康に対するリスクが無視できる程度であると認められる場合は除く。
なお、展着剤については、原則として展着剤及び適用対象農薬とするが、当該展着剤の適用農薬の残留性への影響等から判断して合理的な理由がある場合にあっては、別表２に掲げるものとする。
（２）分析部位
食品の用に供される農作物の分析部位は、食品、添加物等の規格基準（昭和34年12月28日厚生省告示第370号）に定めるところによる。
（３）分析方法
① 試料は、分析部位ごとにその全量又は均質化した一部を磨砕して分析に供する。
② 分析対象物質を科学的に分析できる方法により行う。なお、食品規格（残留農薬基準値）の設定に際して分析法が定められている場合は、当該方法による。
③ 分析対象物質の残留量はppmで表す（この場合のppmは重量比である）。
④ 分析は、各試料ごとに少なくとも２回行う。
⑤ 分析方法の妥当性は、以下の項目により、農作物ごとに確認又は検証する。
ア．選択性
分析対象物質を含まない試料を用いて分析操作を行い、定量を妨害するピークがないこと。
イ．回収率
定量限界及び分析対象物質の残留が見込まれる濃度範囲において、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分析法に従い定量し、得られた定量値の添加濃度に対する比の平均。
ウ．精度
定量限界及び分析対象物質の残留が見込まれる濃度範囲における併行相対標準

偏差(RSDr)

⑥　定量限界については、試料について分析のすべての操作を行った場合に十分な回収率及び精度が得られる最低濃度で表すこととし、試験の目的に必要な感度を確保する。

⑦　試料は、原則として、受領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。

⑧　保存安定性試験は、無処理区から採取した試料を、作物残留試験における分析試料と同一の形態にした上で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）被験物質

（２）供試農作物の栽培及び被験物質の施用方法等

（３）供試農作物の栽培期間中における気象条件（気温、降雨量、日照等）

（４）分析対象物質

（５）分析方法（概要及び詳細）

（６）分析対象物質ごとの定量限界及び回収率

（７）試料の調製方法等

（８）分析結果

別表1

作物名	採取部位	採取量
稲	玄米 もみ米 稲わら	１ｋｇ １ｋｇ ５束（２ｋｇ）
小麦	脱穀した種子	１ｋｇ
大麦	脱穀した種子	１ｋｇ
未成熟とうもろこし	雌穂	１ｋｇ
とうもろこし（子実）及び飼料用とうもろこし	乾燥種実 青刈りとうもろこし（飼料用とうもろこしに限る。）	１ｋｇ １２株
みかん	果実	２ｋｇ
なつみかん	果実	２ｋｇ
いよかん	果実	２ｋｇ
不知火	果実	２ｋｇ
はっさく	果実	２ｋｇ
ぽんかん	果実	２ｋｇ
もも	果実	２ｋｇ
すいか	果実	５ｋｇ
メロン	果実	５ｋｇ
りんご	果実	２ｋｇ
なし（日本なし、	果実	２ｋｇ

西洋なしを含む)		
かき	果実	２ｋｇ
うめ	果実	１ｋｇ
いちご	果実	１ｋｇ
ぶどう	果実	１ｋｇ
キウイフルーツ	果実	１ｋｇ
ピーマン	果実	１ｋｇ
かぼちゃ	果実	２ｋｇ
きゅうり	果実	２ｋｇ
トマト	果実	２ｋｇ
ミニトマト	果実	１ｋｇ
なす	果実	２ｋｇ
えだまめ	さや	１ｋｇ
さやいんげん	さや	１ｋｇ
キャベツ	葉球	５ｋｇ
はくさい	茎葉	５ｋｇ
カリフラワー	花蕾	２ｋｇ
ブロッコリー	花蕾	２ｋｇ
こまつな	茎葉	１ｋｇ
しゅんぎく	茎葉	１ｋｇ
セルリー	茎葉	１ｋｇ
チンゲンサイ	茎葉	１ｋｇ
のざわな	茎葉	１ｋｇ
レタス	茎葉	３ｋｇ
ねぎ	茎葉	１ｋｇ
ほうれんそう	茎葉	１ｋｇ
にら	可食部	１ｋｇ
かぶ	根部 葉部	２ｋｇ １ｋｇ
だいこん	根部 葉部	５ｋｇ １ｋｇ
ごぼう	根部	２ｋｇ
にんじん	根部	２ｋｇ
れんこん	地下茎	２ｋｇ
しょうが	根茎	１ｋｇ
たけのこ	たけのこ	２ｋｇ
たまねぎ	鱗茎	２ｋｇ
かんしょ	塊根	２ｋｇ
ばれいしょ	塊茎	２ｋｇ
こんにゃく	球茎	２ｋｇ
さといも	塊茎	２ｋｇ
やまのいも	塊茎(担根体)	２ｋｇ
だいず	乾燥子実	１ｋｇ
あずき	乾燥子実	１ｋｇ
てんさい	根部	５ｋｇ

さとうきび	茎	５ｋｇ
茶	あら茶	２００ｇ
上記以外の食品の用に供される作物	可食部	同一試料内の変動及び分析の精度確保を勘案して適宜採取量を決定する。なお、少なくとも５個以上採取するものとする。
上記以外の飼料の用に供される作物	飼料の用に供される部位	１ｋｇ（乾牧草の場合は０．５ｋｇ）

注：　採取量の欄に掲げる量に達するに要する個数が５個未満の農作物等にあっては、それぞれ大きさのそろった５個を採取する。

別表２

	当該展着剤の適用対象農薬の残留性への影響	
	適用対象農薬の残留量を増加させるおそれがないと認められる場合	適用対象農薬の残留量を増加させるおそれがあると認められる場合
１．当該展着剤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		適用対象農薬の成分物質等
２．人が当該展着剤の成分物質等を長期にわたって摂取するおそれがないこと、摂取するもののその摂取量がきわめて微量であること等から安全と認められる場合		適用対象農薬の成分物質等
３．上記１及び２のいずれにも該当しない場合	展着剤の成分物質等	展着剤及び適用対象農薬の成分物質等

家畜への残留性に関する試験

家畜残留試験(3－2－1)

1　適用範囲

（1）農薬（当該農薬の植物代謝物等を含む。）が残留した飼料の用に供される農作物及び稲わら等の農作物の副産物（以下「飼料作物等」という。）を給与した家畜（家きんを含む。以下同じ）由来の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳、卵等（以下「組織等」という。）中の残留物を定量するために実施する家畜残留試験を対象とする。

（2）本試験に係る指針はOECDテストガイドライン505「家畜の残留試験」(2007年1月8日採択)に準拠する。ただし、当該ガイドラインの対象である農薬使用のうち、「農薬の家畜への直接投与」及び「農薬による畜舎内の処理」に係る規定は含まない。

2　目的

畜産物の残留基準値（Maximum Residue Limits：MRLs）の設定と暴露評価に用いるデータを提供すること。

3　一般的な留意事項

（1）本試験を実施することにより、畜産物への残留物の移行を定量的に見積もることができる。

（2）家畜に農薬を投与するにあたっては、最大残留濃度の作物を飼料として与えた場合に予想される摂取量（予想飼料最大負荷量）を基準とする。

（3）原則は、反すう動物及び家きんを用いて残留試験を実施する。豚で代謝試験を実施し、その代謝経路が反すう動物と異なる結果が得られた場合には、豚を用いた残留試験を実施しなければならない。

（4）試験結果の他の動物種への外挿は以下を原則とする。

①　泌乳牛を用いた残留試験から求められた筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳の残留濃度をすべての陸棲ほ乳類の同じ種類の組織等に適用する。ただし、豚を用いた残留試験を行う場合には、その結果を豚の残留濃度とする。

②　産卵鶏を用いた残留試験結果から求められた筋肉、脂肪、肝臓、及び卵の残留濃度をすべての家きん由来の同じ種類の組織等に適用する。

4　試験の実施が必要となる条件

家畜代謝試験（2－4－2）の結果、畜産物中に被験物質及び主要代謝物が0.01 mg/kgを超えて残留していると考えられる場合等に本試験の実施が必要である。

ただし、畜産物中に残留が認められる場合であっても、その濃度が定量限界に限りなく近く、かつ、家畜代謝試験（2－4－2）における家畜への投与量が予想飼料最大負荷量より著しく多い場合で、家畜代謝試験（2－4－2）における家畜への投与量に対する予想飼料最大負荷量との比率を考慮して、推定される予想飼料最大負荷量を投与した場合の畜産物の残留濃度が0.01 mg/kg未満であれば、本試験は不要とすることができる。

5　試験方法

（1）被験物質

① 被験物質は原則、農薬の有効成分とする。

② 植物体中の主たる代謝物が動物中での代謝物としても存在することが明らかな場合は、当該代謝物を用いた追加試験は不要である。植物代謝においてのみ検出される代謝物が飼料作物等中の残留の大部分を占める場合は、当該代謝物を投与することが適切である。一般に、複数の被験物質の同時投与は推奨しない。混合物を用いる場合はその根拠を説明することが必要である。

（２）投与

① 投与方法

飼料作物等中の残留濃度に基づき、一定期間確実に暴露させるために、被験物質はカプセル投与することが望ましい。混餌投与の場合には、飼料と被験物質を均一に混合することが必要であり、定期的な分析を行って、試験期間における飼料中の被験物質の均一性及び安定性を確認しなければならない。

② 投与量

ア 家畜（牛、豚又は家きん）ごとに予想飼料最大負荷量を決定し、通常３段階の用量（予想飼料最大負荷量の１倍、３倍及び10倍）で実施する。予想飼料最大負荷量は、同じ種類の動物で試算した最大負荷量のうち最も高いものとする。例えば、泌乳牛と比較して肉牛に対する飼料負荷量が高いと推定される場合には、家畜残留試験に泌乳牛が用いられる場合でも、肉牛の予想飼料最大負荷量を１倍投与量とする。

イ 将来加工して給餌することを考慮する等、飼料負荷量が予想より低くなる場合を想定し、予想飼料最大負荷量の１倍より低い投与量を追加してもよい。

ウ 予想飼料最大負荷量の具体的な算出方法は付録１のとおりである。

エ 複数の投与量で実施して得た情報は次のように利用する。

（ア）適用拡大によって、予想飼料最大負荷量が試験実施時よりも高くなった場合に、畜産物の残留基準と暴露評価の見直しが必要になることがある。適用拡大後の予想飼料最大負荷量が実施した家畜残留試験の投与量の範囲内にある場合には、投与量と畜産物中残留濃度を直線回帰し、予想飼料最大負荷量を内挿することにより新しい使用方法に基づいた畜産物中残留濃度を算出することができる。

（イ）投与量と残留濃度の間に直線関係がない場合には、投与量から残留濃度の推定は慎重に行わなければならない。また、反すう動物と、著しく異なる飼料を給餌されている他の家畜に外挿することは妥当でない場合がある。

③ 投与日数

被験物質は、供試動物に少なくとも28日間毎日投与しなければならない。28日間の投与で乳又は卵の残留濃度が定常状態にならない場合は、定常状態になるまで毎日投与しなければならない。

（３）供試動物及び試料採取

① 供試動物

ア 動物種

原則、反すう動物においては泌乳牛、家きんにおいては産卵鶏とする。

イ 供試動物数

（ア）泌乳牛：無処理群（対照群）１頭

被験物質投与群３頭（各投与量ごとに）

（イ）産卵鶏：無処理群（対照群）１羽（各投与群ごとに）

被験物質投与群は９～10羽（各投与量ごとに）

（ウ）肉牛あるいは豚を用いた残留試験を実施する際の試験条件は、特に定める場合を除き泌乳牛に準じる。

② 対照群の利用

対照群は、当該残留試験において乳量、産卵数及び動物の健康状態に被験物質投与以外の影響があるか否かを確認するために必要である。また、対照群の試料を分析法の検証に使用することもできる。

③ 動物の状態

ア 年齢、体重、各個体又は群平均での毎日の摂餌量、乳量又は産卵数並びに順化及び投与期間中の動物の状態に関する情報を記録すること。泌乳牛は、商業的な牛乳生産における平均的な乳量であることを確認して試験に用いること。産卵鶏は、十分な産卵数であることを確認して試験に用いること。摂餌量を個体ごとではなく群平均として記録する場合には、その個体差に留意すること。

イ 健康上の問題、異常行動、摂餌量の減少があった場合、また、通常行わない治療を行った場合には記録し、試験結果へ影響を及ぼすものであるかを適宜考察することが望ましい。

ウ 適切な順化期間を設け、その期間に摂餌量、体重の推移、乳量及び産卵数が正常であることを確認する。

④ 動物試料の採取

ア 泌乳牛は最終投与後24時間以内にと殺する。産卵鶏は最終投与後６時間以内にと殺する。と殺の際に、組織等に血液その他の体液、尿、糞が付着しないよう留意すること。

イ 泌乳牛、産卵鶏及び豚から採取する試料の詳細を、表１、表２及び表３に示す。残留濃度は個体ごとに分析しなければならない。産卵鶏の場合は３羽ごとにまとめて分析しても良い。分析対象物質が脂溶性であると考えられる場合は、各部位の脂肪は混合せず別々に分析する。（（10）①を参照）

ウ 採取した肝臓及び腎臓の所見を記録すること。特に、動物代謝試験（２－３－１）において報告された所見について注意しなければならない。

エ 乳及び卵は、以下のように採取すること。

（ア）投与開始前に全供試動物から乳又は卵を採取し、対照試料とする。

（イ）投与開始後、試料採取日は少なくとも週に２日（例えば、３日又は４日ごと）とする。

（ウ）乳は試料採取日に午前と午後に１回ずつ、個体ごとに採取する。同一日に投与と採取を行う場合には、投与前に試料採取を実施する。

（エ）対照群の試料を採取後、投与群の試料を採取する。

（オ）同一日に採取した同一個体の乳は混合してもよい。別の個体から採取した乳は混合してはならない。

（カ）卵は、試料採取日には２回採取する。採取時に付着している排泄物等を除去する。

（キ）同一日に同じ投与群の産卵鶏から採取した卵は、分析及び保存に適した試料重量とするために必要な場合は混合してもよい。ただし、各時点で同一投与群ごとに３例の試料を確保すること。

表１．反すう動物の試料採取

採取する試料	採取方法	分析用試料の調製	採取重量
筋肉	腰、脇腹及び後脚（もも）の筋肉を概ね等量採取	細切して均一に混合	0.5 kg
脂肪	皮下脂肪、大網膜脂肪、腎周囲脂肪を概ね等量採取	細切して均一に混合	0.5 kg
肝臓	臓器全体又はその代表的部分（例えば各葉の切片）を採取	細切して均一に混合	0.4 kg
腎臓	両腎から採取		0.2 kg
乳[*1]	個体毎に乳を採取		0.5 L[*2]

*1　脂溶性化合物については、定常状態に達した時点以降、最終投与時まで乳脂肪中の残留濃度を測定する必要がある。乳脂肪は物理的方法で乳から分離し、分析に供することが望ましい。分離する前に溶媒抽出すると水相と脂肪相の両方から残留物が抽出されるからである。クリーム（脂肪を40～60 %含有）と無脂肪乳を分離し、クリーム中の脂質含有量を記録する。

*2　分析するまでに凍結保存が必要な場合は、個体ごとに採取試料を混合した後、分析時の試料量まで減じてもよい。

表２．家きんの試料採取[*1]

採取する試料	採取方法	分析用試料の調製	採取重量
筋肉	脚及び胸部から概ね等量を採取	３羽分の試料を細切して均一に混合	0.5 kg
脂肪	腹部脂肪を採取 3羽からの脂肪を混合	３羽分の試料を細切して均一に混合	0.05 kg
肝臓	臓器全体を採取	３羽分の試料を細切して均一に混合	0.05 kg
卵	各個体ごとに卵を採取	殻を洗浄し、３羽分の卵を割り、卵黄及び卵白を混合[*2]。 残留物が脂溶性の場合は、卵黄及び卵白間の分布を確認するために、別々に分析する必要がある[*3]。	３　例

*1　少なくとも１群３例のサンプルを確保する（すなわち１群９羽以上）。

*2　分析施設への輸送前後のどちらで試料を調製してもよい。ただし、溶媒の添加は分析開始時に行う。

*3　卵黄と卵白の重量が既知であれば、それぞれ別々に分析し、MRLの設定のために卵全体の残留濃度を算出してもよい。その場合、卵黄と卵白は試料の保管の前に分離する必要がある。

表３．豚の試料採取

採取する試料	採取方法	分析用試料の調製	採取重量
筋肉	腰、脇腹及び後脚の筋肉から概ね等量採取	細切して均一に混合	0.5 kg
脂肪	皮下脂肪、大網膜脂肪及び腎周囲脂肪を概ね等量採取	細切して均一に混合	0.5 kg
肝臓	臓器全体又はその代表的部分（例えば各葉の切片）を採取	細切して均一に混合	0.4 kg
腎臓	両腎臓から採取	細切して均一に混合	0.2 kg

（８）試料の分析

①　分析対象物質

当該農薬の有効成分のほか、家畜代謝試験（２－４－２）等において生成した主要な代謝分解物とする。ただし、これらの代謝分解物のうち、毒性学上の懸念がない又はそれら代謝分解物が残留するおそれがないと判断される場合は除く。

②　分析方法

ア　分析方法の妥当性は、作物残留試験（３－１－１）に準じて確認又は検証する。

イ　定量限界は、当該化合物の毒性によるが、原則0.01～0.05 mg/kg以下を目途に設定する。

③　食用組織及び臓器

最高用量群の試料から分析を開始することが望ましい。最高用量群の試料の残留濃度が定量限界未満であれば、低用量群の試料を分析する必要はない。

個体間の残留濃度の変動を明らかにするために、泌乳牛及び豚では、一頭ごとに各組織等を分析しなければならない。家きんについては、３羽から得た試料を混合し、１例としてよい。各投与群について３例を確保する。

④　乳及び卵

試料を投与開始前及び投与開始後残留濃度が定常状態に至るまではすべての試料を分析する。定常状態に達した後は１週間間隔（例えば14日、21日、28日）で分析してもよい。各投与群について各時点で３例分析する。ただし、最高用量群の試料が定量限界未満であれば、低用量群の試料を分析する必要はない。

（９）保存安定性

代表的な組織について試料採取から分析までの間の保存安定性を証明するデータを提出しなければならない。ただし、保存期間が30日以内で、物理的化学的性質等から分析対象物質の安定性を説明できる場合には、省略してもよい。保存安定性試験の方法は、作物残留試験（３－１－１）に準じる。

（１０）試験実施にあたってその他の考慮事項

①　脂溶性化合物の場合の考慮事項

ア　脂溶性に分類するか否かは、主に家畜代謝及び家畜残留試験において見られる筋肉と脂肪の間での分析対象物質の分布割合に基づいて評価する。畜産物の試料採取手順は、脂溶

性であるか否かで変わるため留意すること。

イ　脂溶性であると考えられる場合には異なる種類の脂肪組織を混合すると残留濃度を過小評価する可能性があるため、各脂肪組織を別々に分析しなければならない。また、各脂肪組織について、以下の情報を記録すること。

（ア）脂肪の種類及び採取部位（例えば、皮下、大網膜及び腎周囲の脂肪）

（イ）脂質含有量（精製又は抽出された脂肪は100 %脂質であると仮定）又は文献値

②　減衰試験を実施する際の考慮事項

減衰試験を実施する際にはOECDテストガイドライン505の減衰試験に関連する項目を参考とすること。

③　農薬が残留した飼料作物等の給与による暴露だけでなく、当該化合物の家畜への直接使用による暴露が考えられる場合には、事前に独立行政法人農林水産消費安全技術センターに相談すること。

6　試験報告書に記載すべき事項

（1）概要・緒言

①　試験の目的、試験設計及びその試験設計を採用した合理的理由

②　当該試験の実施に当たって準拠したガイドラインや試験実施体制等に関する情報並びに予期しなかった試験上の問題並びに当該問題による試験計画書からの逸脱及びその逸脱が試験結果へ及ぼした影響

③　結果の概要（投与後、組織等への残留物の移行、特定の組織等への蓄積の有無、各組織等での最大残留濃度、乳又は卵における残留濃度が定常状態に達したかどうか）

④　結果の解析（残留物の飼料を通じた組織等への移行についての結論及び移行の程度に関する考察）

⑤　試験上の問題点及び当該問題点を試験目的に照らした場合の妥当性

（2）材料及び方法

①　被験物質

ア　被験物質の化学名（IUPAC名）、一般名（ISO名等）、企業の開発名、CAS名及び番号、ロット番号、純度、構造式等。分析証明書を添付すること。

イ　分析対象物質の化学構造、それらの開発名または実験名。その純度及び構造についての情報を記載している分析証明書があれば添付する。

ウ　投与製剤に関する情報（例えば、被験物質の投与時に使用した溶媒、単体又は補助成分等）

エ　農薬の有効成分以外の化合物を被験物質として用いる場合はその根拠

②　飼育条件及び供試動物の状態

ア　飼育方法及び施設（囲いの広さ、飼育単位、飼料及び飲料水の容器、温度、照明、排泄物の取扱い等）

イ　供試動物の種、系統、年齢、体重（推移を含む。）、一般状態

ウ　個体識別の方法（例えば耳標）

エ　順化、投与期間及び消失期間中の体重及び乳量又は産卵数。

オ　供試動物の健康上の問題若しくは異常行動又は予定されていなかった処置及びこれらの試験結果への影響についての考察

カ　採取した肝臓及び腎臓の所見

③　給餌

ア　順化期間及び投与期間中の供試動物の飼料について次の事項を記載すること。

（ア）飼料及び飲料水の種類

（イ）給餌量（規定量の給餌か自由摂取か等）

イ　個体又は投与群ごとの摂餌量（反すう動物については乾重量）を記載すること。

④　投与

ア　投与量及び投与方法

混餌又はゼラチンカプセル等の投与方法、投与量（飼料乾重量当たりの被験物質濃度（ppm（mg/kg 飼料））及び投与量設定の根拠

イ　投与被験物質調製日及び投与までの保存条件

ウ　飼料の添加回収試験に用いた分析方法及びその分析結果。被験物質が飼料調製から投与までの期間を通して飼料中で安定であったことの証明

エ　混餌投与でない場合は投与頻度

オ　投与開始日と終了日（又は投与期間）。投与量はmg/kg飼料、mg/動物/日又はmg/kg 体重/日として記載する。

カ　投与群及び対照群当たりの供試動物数

⑤　乳及び卵の採取

乳及び卵の採取方法が通常の方法と異なる場合があればその内容。また、複数の試料を混合した場合はその方法。

⑥　と殺後の試料採取

ア　と殺方法及び最終投与からと殺までの時間。最終投与からと殺までの時間が24時間以上経過した場合は、その理由及び残留物への影響の考察。

イ　と殺後に採取した組織、その部位（例えば、腰、脇腹及び後脚の筋肉等）及びその重量。異なる個体の試料を混合した場合はその方法。

⑦　試料の取扱い及び保存安定性

ア　試料採取から分析までの期間の試料の保存及び取扱いに関する以下の項目

（ア）　保存前の試料調製方法

（イ）　保存容器

（ウ）　試料採取から保存までの時間

（エ）　保存温度

（オ）　保存期間（採取、発送、分析の日付等）

（カ）　該当がある場合には輸送方法

イ　30日以内に試料を分析しなかった場合、その保存が試験結果に影響を与えなかった根拠（保存安定性等）

⑧　抽出、精製、測定及び解析に用いた方法

試料の抽出、精製及び測定に用いた方法の詳細。組織等中の残留物質の同定、定量及びその結果の解析に用いた方法。

⑨　試料の分析

ア　残留分析に採用した分析方法（妥当性検証結果、回収率及び分析感度を含む。）の詳細。分析対象物質の選定に関する陳述。なお、当該分析方法についての情報を他報告書で提出している場合には、当該報告書を引用することでよい。代謝物が分析対象である場合も同様。

イ　残留濃度及び回収率の根拠となるデータ（対照群、添加回収試料（保存安定性を確認するための試料を含む。）及び投与群の試料重量、最終の抽出液量並びにクロマトグラム上のピークの高さ又はピークの面積等）

ウ　使用した分析機器（その測定条件を含む。）及び試薬。抽出及び精製方法が複雑である場合にはそのフローチャート。

エ　分析法を検証しその感度（定量限界）を確定するため、添加回収試験の結果を記載する際には次の各項目を含める。

（ア）　添加した化合物及び試料（使用した組織等の名称）

（イ）　添加濃度

（ウ）　添加濃度ごとに添加した化合物別の反復分析回数

オ　添加、抽出、分析の日付。添加又は抽出等を行った日に分析をしない場合、当該試料の保存条件。

カ　検量線並びに各組織等ごとの対照群、添加回収試料及び投与群について残留物の代表的なクロマトグラム、生データを用いた濃度計算及び回収率の例

（３）結果と考察

①　各組織、乳、卵での分析対象物質の回収率（%）（分析ごとの回収率を示すこと。）

②　各組織、乳、卵での分析対象物質の経時的な保存安定性。保存期間及び保存条件（温度等）。

③　各投与量における各組織等中の残留濃度（対照群試料も含む。）（分析値は個々の試料について示し、回収率による補正を行ったかどうかを明記すること。また、分析対象物質が複数の物質である場合には、分析可能な限り各物質ごとの分析値を報告すること。なお、乳及び卵中の残留濃度は、各試料採取日の投与量ごとに報告すること。）

⑤　残留物について、乳、卵、脂肪、筋肉、肝臓又は腎臓への移行の有無、乳及び卵において定常状態に達した時期、特定の組織への選択的な蓄積の有無及び家畜代謝試験（２－４－２）の結果との一致の程度についての考察

⑥　申請した使用方法に照らした試験結果の妥当性の考察

（４）結論

当該農薬の残留物の飼料を通しての組織等への移行の有無についての結論及び移行の程度についての考察（具体的な畜産物中残留濃度の算出方法は付録2を参照。）

（５）添付資料

①　代表的クロマトグラム、スペクトル等（該当がある場合）

②　試験の実施にあたって参考とした試験報告書等のリスト

７　参考文献

(1) OECD Guidance Document: Overview for Residue Chemistry Studies (2006)
(2) OECD Guidance Document on the Definition of Residue (2006)
(3) OECD Guidelines for the testing of chemicals: Metabolism in Livestock (2007)
(4) OECD Guidelines for the testing of chemicals: Residues in Livestock (2007)
(5) FAO: Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed (2002)

（付録１）予想飼料負荷量（予想飼料最大負荷量及び飼料中平均負荷量）の算出（具体例）

予想飼料最大負荷量は、作物残留試験（３－１－１）で得られた各飼料作物等の残留濃度に給餌量表（別表１）における当該飼料の給与割合を乗じた値を、残留濃度（乾重量ベース）の高いものから順に、給与割合の合計が100%になるまで積み上げて積算して推定する。ただし、家畜の栄養バランスに配慮した給与実態を踏まえ、Codexの各飼料作物グループ（以下「作物グループ」という。）で給与割合が最大となる作物の給与割合を超えることはできない。

（１）予想飼料最大負荷量の算出

① 飼料負荷量の算出の対象となる作物を以下の表の作物グループに分類し、作物残留試験（３－１－１）結果に基づいて、それぞれの作物グループに属する飼料作物等に作物残留濃度を割り当てる。

Codex code	作物グループ	算出に用いる残留濃度
AL	まめ科牧草類	HR
AF/AS	穀物の茎葉、いね科牧草類	HR
AM/AV	雑作物の茎葉	HR
CM/CF	穀物の粉砕副産物	STMR-P
AB	果実及び野菜の加工副産物	STMR-P
SM	雑多な植物由来の副産物	STMR-P
VR	根菜類	HR
VD	まめ類	STMR
GC	穀物類	STMR

② 算出に用いる残留濃度は、上記の表に従い、各農作物での最大残留値（Highest Residue：HR）、中央値（Supervised Trials Median Residue：STMR）、加工副産物の場合は加工係数を加味した中央値（Supervised Trials Median Residue-processed：STMR-P）とする。ただし、作物残留試験（３－１－１）成績が３例以下の場合には、HRの代わりに推定残留基準値（MRL）を代用する。MRLが確定していない場合はHRを使用する。

③ 各飼料作物等中残留濃度は乾重量ベースに換算する。

④ 乾重量ベースの残留濃度の高い順に給与割合を割り振る。各作物グループ内の適用農作物（登録申請中のものを含む。以下同じ。）由来の飼料作物等が2つ以上ある場合は、それらの飼料作物等の給与割合の合計が作物グループ内の適用農作物由来の飼料作物等の最大給与割合となるまで割り振る。

例：AF/ASに関してはその他いね科（生牧草）が5 %（変更なし）。続く稲わらは50 %（=55%-5%)となる。

⑤ 合計100%となるまで割り振りを続ける。総給与割合が100%を超えた場合、負荷量が最大となるよう、乾重量当たりの残留量の低い飼料作物等から100%となるまで除外する。

例：大麦を45%(=100%-55%)とすることにより、総給与割合を100%とする。

⑥　適用農作物由来の飼料作物等の総給与割合が100%未満の場合は、適用のない農作物由来の飼料作物等を給与したと仮定する。

⑦　同じ農薬が輸入飼料に残留しているおそれがある場合は、当該輸入飼料の給与を考慮して算出することが望ましい。

例）農薬Aの飼料中最大残留濃度の算出例（肉牛の場合）

飼料作物等	Codex code	作物残留濃度 (mg/kg)		乾物重量割合 (%)	乾物重量当たり残留濃度 (mg/kgdw)	最大給与割合 (%)
その他のいね科（生牧草）	AF/AS	5	HR	25	20.00	5
稲わら	AF/AS	0.7	HR	90	0.78	55
大麦	GC	0.05	STMR	88	0.06	70

AF/ASのうち、より残留濃度の高い生牧草5%の寄与を差し引いた値（=55%-5%）

飼料作物等	Codex code	作物残留濃度 (mg/kg)		乾物重量割合 (%)	乾物重量当たり残留濃度 (mg/kgdw)	給与割合 (%)	負荷量 (mg/kg)
その他のいね科（生牧草）	AF/AS	5	HR	25	20.00	5	1
稲わら	AF/AS	0.7	HR	90	0.78	50	0.389
大麦	GC	0.05	STMR	88	0.06	45	0.026
合計						100	1.414

総給与割合を100%とする(=100%-55%)

（２）飼料中平均負荷量の算出

①　（１）の最大負荷量を計算した方法と同様に、作物残留試験（３－１－１）結果に基づいて、給餌量表から飼料負荷量の算出の対象となる飼料作物等を選定する。

②　対象作物を作物グループに分類し、それぞれの作物グループに属する飼料作物等に作物残留濃度を割り当てる。

③　算出に用いる残留濃度は下記の表に従い、STMR又はSTMR-Pの値を代入する。各飼料作物等中残留濃度は乾重量ベースに換算する。

Codex code	作物グループ	算出に用いる残留濃度
AL	まめ科牧草類	STMR
AF/AS	穀物の茎葉、いね科牧草類	STMR
AM/AV	雑作物の茎葉	STMR
CM/CF	穀物の粉砕副産物	STMR-P

AB	果実及び野菜の加工副産物	STMR-P
SM	雑多な植物由来の副産物	STMR-P
VR	根菜類	STMR
VD	まめ類	STMR
GC	穀物類	STMR

④ 予想飼料最大負荷量と同様に、飼料中平均残留濃度を計算する。

⑤ 乾物中の残留濃度の高い順に給与割合を割り振る。各作物グループ内の適用農作物由来の飼料作物等が2つ以上ある場合は、それらの飼料作物等の給与割合が作物グループ内の適用農作物由来の飼料作物等の最大給与割合となるまで割り振る。

⑥ 合計100%となるまで割り振りを続ける。もし、総給与割合が100%を超えれば、負荷量が最大となるよう、乾重量あたり残留量の低い飼料作物等から100%となるまで除外する。

例：稲わらを25%(=100%-75%)とすることにより、総給与割合を100%とする。

⑦ 適用農作物由来の飼料作物等の総給与割合が100%未満の場合は、適用のない農作物由来の飼料作物等を給与したと仮定する。

⑧ 同じ農薬が輸入飼料に残留しているおそれがある場合には、当該輸入飼料の給与を考慮して算出することが望ましい。

例）農薬Aの飼料中平均残留濃度の算出例（肉牛の場合）

飼料作物等	Codex code	作物残留濃度 (mg/kg)		乾重量割合 (%)	乾重量当たり残留濃度 (mg/kgdw)	最大給与割合 (%)
その他のいね科（生牧草）	AF/AS	3	STMR	25	12.00	5
大麦	GC	0.05	STMR	88	0.06	70
稲わら	AF/AS	0.02	STMR	90	0.02	55

飼料作物等	Codex code	作物残留濃度 (mg/kg)		乾重量割合 (%)	乾重量当たり残留濃度 (mg/kgdw)	給与割合 (%)	負荷量 (mg/kg)
その他のいね科（生牧草）	AF/AS	3	STMR	25	12.00	5	0.6
大麦	GC	0.05	STMR	88	0.06	70	0.0398
稲わら	AF/AS	0.02	STMR	90	0.02	25	0.0056
合計						100	0.6453

総給与割合を100%とする(=100%-75%)

（付録２）予想飼料負荷量から畜産物中残留濃度の算出（具体例）

付録１の方法にしたがって算出した予想飼料負荷量と家畜残留試験結果を用いて、当該農薬を処理した飼料作物等を家畜に給与した場合の畜産物中最大残留濃度及び平均残留濃度を算出する。

原則として、算出された畜産物中の最大残留濃度を畜産物中MRLの推定に、平均残留濃度を人の暴露評価に利用する。

（１）畜産物中の最大残留濃度の算出

① 家畜残留試験結果から、投与量X（飼料乾重量当たりの被験物質濃度（mg/kg））に対し 畜産物中残留濃度Y（mg/kg）をプロットする。

ア 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び卵中の最大残留量を見積もるためには、当該家畜残留試験の各投与量で最も高い残留が認められた個体の残留濃度を使用する。

イ 乳の最大残留量を見積もる際には、当該家畜残留試験の各投与量での全個体の採取日ごとの平均残留濃度のうち、定常状態における中央値を使用する。

例）農薬Bを泌乳牛(４頭/群)に投与。最終投与後24時間以内にと殺した場合の組織中残留濃度

組織	組織中残留濃度, mg/kg		
	0.1 mg/kg(X_1)投与	0.3 mg/kg(X_2)投与	1 mg/kg(X_3)投与
筋肉	<0.02 (4)	0.021, 0.024, 0.026, 0.031	0.040, 0.046, 0.051, 0.057
肝臓	0.029, 0.030, 0.032, 0.033	0.081, 0.089, 0.096, 0.114	0.161, 0.217, 0.264, 0.298
腎臓	<0.02 (4)	<0.02 (4)	0.025, 0.031, 0.030, 0.028
脂肪	0.297, 0.303, 0.327, 0.338	0.921, 1.045, 1.051, 1.245	2.649, 2.737, 3.396, 3.493

プロットする際には下線値（最大値）を採用

② ①の結果から予想飼料最大負荷量（A）に相当する畜産物中残留濃度を求める。肉牛と泌乳牛、又は産卵鶏とブロイラーの予想飼料最大負荷量が異なる場合は高いほうの値を筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳及び卵中の残留濃度の計算に使用する。

ア 予想飼料最大負荷量（A）が2つの投与量間にある場合

最も近い投与量間を直線回帰することによって組織等中残留濃度を見積もることができる。

（例）A=0.50 mg/kgの場合の筋肉中残留濃度の算出（$X_2<A<X_3$）

(X_2, Y_2)=(0.3, 0.031)と(X_3, Y_3)= (1, 0.057)とを直線回帰し、回帰式よりX=0.50 mg/kgでの筋肉中残留濃度を算出する。

Y= 0.037X+ 0.020　X=0.50の場合、Y=0.038 mg/kg

イ 予想飼料最大負荷量（A）が最低投与量(X_1)よりも小さい場合

原点と(X_1, Y_1)を直線回帰することによって組織等中残留濃度を見積もることができる。

（例）A=0.05 mg/kgの場合の肝臓中残留濃度の算出（A< X_1）

(X_0, Y_0)= (0, 0)と(X_1, Y_1)= (0.1, 0.033)とを直線回帰し、回帰式よりX=0.05 mg/kgでの肝臓中残留濃度を算出する。

Y= 0.33X　X=0.05の場合、<u>Y=0.017 mg/kg</u>

ウ　予想飼料最大負荷量（A）が最大投与量(X_3)よりも大きい場合

原点と(X_3, Y_3)を直線回帰することによって組織等中残留濃度を見積もることができる。

（例）A=1.2 mg/kgの場合の肝臓中残留濃度の算出　（A> X_3）

(X_0, Y_0)= (0, 0)と(X_3, Y_3)= (1, 0.298)とを直線回帰し、回帰式よりX=1.0 mg/kgでの肝臓中残留濃度を算出する。

Y= 0.298X　X=1.2の場合、Y=<u>0.358 mg/kg</u>

エ　家畜残留試験での最大投与量(X_3)を30%以上超える外挿は実施しない。

オ　最も近い投与量が両者とも定量限界未満の場合、残留濃度は定量限界未満とする。

（例）A=0.20 mg/kgの場合の腎臓中残留濃度の算出（X_1<A<X_2）

Y_1<0.02, Y_2<0.02なので、X=0.20 mg/kgでの腎臓中残留濃度Yは<u><0.02</u>

（２）畜産物中平均残留濃度の算出

①　家畜残留試験結果から、投与量X（飼料乾重量当たりの被験物質濃度（mg/kg））に対し畜産物中残留濃度Y（mg/kg）をプロットする。

ア　筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び卵中の平均残留濃度を見積もるためには、当該家畜残留試験の各投与量での全個体の平均残留濃度を使用する。

イ　乳の平均残留濃度を見積もる際には、当該家畜残留試験の各投与量での全個体の各日毎の平均残留濃度のうち、定常状態の中央値を使用する。

例）上述の農薬Bを産卵鶏に投与した場合、筋肉、肝、脂肪中残留濃度の平均値

組織	農薬B, mg/kg		
	0.1 mg/kg(X_1)投与	0.3 mg/kg(X_2)投与	1 mg/kg(X_3)投与
筋肉	<0.02	0.026	0.049
肝臓	0.031	0.095	0.235
腎臓	<0.02	<0.02	0.029
脂肪	0.316	1.066	3.069

→　プロットする際には4例の平均残留濃度を採用

②　以下、畜産物中最大残留濃度を算出した方法と同様に算出する。

別表1　給餌量表

肉牛

Codex code	飼料作物等	適用農作物	最大給与割合 (%)	DM (%)
AB	ビートパルプ（てんさい）	てんさい	5	88
AF/AS	稲わら	稲	55	90
AF/AS	稲発酵粗飼料（サイレージ）	稲WCS	5	40
AF/AS	イタリアンライグラス(乾牧草)	いね科牧草	30	86
AF/AS	その他のいね科（生牧草）	いね科牧草	5	25
AF/AS	その他のいね科（乾牧草）	いね科牧草	40	88
AF/AS	その他のいね科（サイレージ）	いね科牧草	5	40
AL	アルファルファ（乾牧草、ヘイキューブ）	まめ科牧草	10	89
AL	その他まめ科（乾牧草）	まめ科牧草	5	85
CM/CF	大麦混合ぬか	大麦	10	90
CM/CF	米ぬか	稲	20	90
CM/CF	ふすま（小麦）	小麦	55	88
CM/CF	コーングルテンフィード	とうもろこし	25	40
CM/CF	コーンジャムミール	とうもろこし	5	85
CM/CF	ホミニーフィード（トウモロコシ）	とうもろこし	35	88
GC	大麦	大麦	70	88
GC	小麦	小麦	25	89
GC	マイロ	食用ソルガム	35	86
GC	とうもろこし	飼料用とうもろこし	75	88
GC	飼料米（籾米）	稲	30	88
GC	らい麦	らい麦	35	88
SM	ビールかす（大麦）	大麦	45	92
SM	大豆油かす	だいず	65	92
SM	大豆皮（ソイハルペレット）	だいず	5	90
SM	とうふかす	だいず	40	92
SM	とうもろこしジスチラーズグレインソリュブル	とうもろこし	10	92
SM	なたね油かす	なたね	15	88
SM	やし粕（コプラフレーク）	やし	5	90
VD	大豆（全脂大豆）	だいず	15	89

泌乳牛

Codex code	飼料作物等	適用農作物	最大給与割合 (%)	DM (%)
AB	ビートパルプ（てんさい）	てんさい	40	88
AF/AS	稲わら	稲	25	90
AF/AS	稲発酵粗飼料（サイレージ）	稲WCS	55	40
AF/AS	イタリアンライグラス(生牧草)	いね科牧草	10	17
AF/AS	その他のいね科（生牧草）	いね科牧草	10	25
AF/AS	イタリアンライグラス(乾牧草)	いね科牧草	30	86
AF/AS	イタリアンライグラス(サイレージ)	いね科牧草	35	29
AF/AS	オーチャードグラス（乾牧草）	いね科牧草	5	84
AF/AS	オーチャードグラス（サイレージ）	いね科牧草	20	27
AF/AS	チモシー（乾牧草）	いね科牧草	70	85
AF/AS	チモシー（サイレージ）	いね科牧草	35	40
AF/AS	らい麦（乾牧草）	いね科牧草	5	88
AF/AS	らい麦（サイレージ）	いね科牧草	5	28
AF/AS	その他のいね科（乾牧草）	いね科牧草	70	88
AF/AS	その他のいね科（サイレージ）	いね科牧草	80	40
AF/AS	えん麦（生牧草）	飼料用えんばく	5	30
AF/AS	えん麦（乾牧草）	飼料用えんばく	5	90

AF/AS	えん麦（サイレージ）	飼料用えんばく	5	35
AF/AS	デントコーン（生牧草）	飼料用とうもろこし	20	40
AF/AS	デントコーン（サイレージ）	飼料用とうもろこし	50	40
AF/AS	ソルゴー（生牧草）	ソルガム	40	35
AF/AS	ソルゴー（乾牧草）	ソルガム	5	88
AF/AS	ソルゴー（サイレージ）	ソルガム	10	21
AL	アルファルファ（乾牧草、ヘイキューブ）	まめ科牧草	25	89
AL	アルファルファ（サイレージ）	まめ科牧草	20	40
AL	その他まめ科（乾牧草）	まめ科牧草	25	85
AL	その他まめ科（サイレージ）	まめ科牧草	60	30
CM/CF	米ぬか	稲	10	90
CM/CF	ふすま（小麦）	小麦	45	88
CM/CF	コーングルテンフィード	とうもろこし	25	40
CM/CF	コーングルテンミール	とうもろこし	15	40
GC	えん麦	えん麦	5	89
GC	大麦	大麦	40	88
GC	小麦	小麦	10	89
GC	マイロ	食用ソルガム	30	86
GC	とうもろこし	飼料用とうもろこし	80	88
GC	飼料米（籾米）	稲	20	88
GC	らい麦	らい麦	15	88
SM	ビールかす（大麦）	大麦	40	92
SM	大豆油かす	だいず	60	92
SM	とうふかす	だいず	20	92
SM	とうもろこしジスチラーゼグレインソリュブル	とうもろこし	15	92
SM	なたね油かす	なたね	25	88
SM	やし粕（コプラフレーク）	やし	5	90
VD	大豆（全脂大豆）	だいず	10	89

豚

Codex code	飼料作物等	適用農作物	最大給与割合 (%)	DM (%)
CM/CF	米ぬか	稲	10	90
CM/CF	ふすま（小麦）	小麦	15	88
CM/CF	コーングルテンフィード	とうもろこし	10	40
CM/CF	コーングルテンミール	とうもろこし	5	40
GC	大麦	大麦	30	88
GC	小麦	小麦	35	89
GC	マイロ	食用ソルガム	55	86
GC	とうもろこし	飼料用とうもろこし	85	88
GC	飼料米（籾米）	稲	45	88
GC	らい麦	らい麦	35	88
SM	大豆油かす	だいず	70	92
SM	なたね油かす	なたね	20	88
SM	アルファルファミール	まめ科牧草	5	89
SM	やし粕（コプラフレーク）	やし	15	90

ブロイラー

Codex code	飼料作物等	適用農作物	最大給与割合 (%)	DM (%)
CM/CF	米ぬか	稲	5	90
CM/CF	ふすま（小麦）	小麦	5	88
GC	大麦	大麦	10	88
GC	小麦	小麦	10	89
GC	マイロ	食用ソルガム	65	86
GC	とうもろこし	飼料用とうもろこし	70	88
GC	飼料米（籾米）	稲	40	88
SM	大豆油かす	だいず	35	92
SM	とうもろこしジスチラーズグレインソリュブル	とうもろこし	5	92
SM	なたね油かす	なたね	5	88
SM	アルファルファミール	まめ科牧草	5	89

産卵鶏

Codex code	飼料作物等	適用農作物	最大給与割合 (%)	DM (%)
CM/CF	大麦混合ぬか	大麦	5	90
CM/CF	米ぬか	稲	20	90
CM/CF	ふすま	小麦	30	88
CM/CF	コーングルテンフィード	とうもろこし	10	40
CM/CF	コーングルテンミール	とうもろこし	10	40
GC	マイロ	食用ソルガム	55	86
GC	とうもろこし	飼料用とうもろこし	80	88
GC	飼料米（籾米）	稲	65	88
SM	ごま油かす	ごま	5	91
SM	大豆油かす	だいず	30	92
SM	とうもろこしジスチラーズグレインソリュブル	とうもろこし	5	92
SM	なたね油かす	なたね	15	88

別表2　加工試験を実施していない場合に使用する加工係数（デフォルト値）

飼料作物等	加工係数
なたね油かす	2
ごま油かす	2
やし粕（コプラフレーク）	2
大豆油かす	2
大豆皮（ソイハルペレット）	10
とうふかす	2
ビートパルプ（てんさい）	10
ビールかす（大麦）	1
大麦混合ぬか	2
コーングルテンフィード	1
コーングルテンミール	1
とうもろこしジスチラーズグレインソリュブル	1
ふすま（小麦）	5
米ぬか	10
大豆（全脂大豆）	1

土壌への残留性に関する試験

土壌残留試験（３－３－１）

１．目的

本試験は、農薬の土壌中におけるほ場条件での残留性の程度に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．試験ほ場

（１）農薬の用途を踏まえ、畑地又は樹園地で使用される農薬については畑地ほ場、水田で使用される農薬については水田ほ場で試験を実施する。登録申請に係る適用場所等が水田畦畔、休耕田及び水田刈取り後の場合は、畑地ほ場で試験を実施しても差し支えない。

（２）試験は、国内の代表的な農耕用土壌のうち土壌の成因等土壌の特性が異なる２か所以上で実施する。畑地又は樹園地で使用され、かつ水田においても使用される農薬については、畑地ほ場及び水田ほ場のそれぞれ２か所以上で実施する。畑地の場合は黒ぼく土ほ場、水田の場合は灰色低地土ほ場を含むこと。主に冷涼地又は施設で使用される農薬については、該当する条件での試験を１例以上含むことが望ましい。

やむを得ない事情により土壌の特性の異なるほ場を選定できない場合にあっては、気象その他土壌の特性以外の条件の異なるほ場を選定して試験ほ場とすることができる。

（３）試験は、作物を栽培しない裸地条件で実施する。

（４）試験ほ場は、試験実施前の農薬の使用履歴、土壌の特性等が確認されたほ場を用いる。当該ほ場の土壌中に７．（１）に示す分析対象物質が、分析の支障となる濃度で含まれていないことを確認する。なお、試験期間中、当該分析対象物質の分析を妨害する農薬を使用してはならない。また、試験ほ場の土壌特性として土壌の成因のほか、有機炭素含有量、土壌ｐＨ、仮比重等を確認する。

（５）畑地にあっては散布した農薬が表面流出するような傾斜や明瞭な亀裂があるほ場、水田にあっては漏水の大きいほ場は、試験ほ場として選定しない。

（６）試験ほ場が畑地の場合、裸地条件での過度の乾燥を防ぐため、少なくとも週１回は保湿状態を確認し、必要に応じて土壌表面をかく乱しない方法により、１回につき５㎜を超えない範囲で灌水を行う。この際、保湿の確認はｐＦメーター等を用いて適切に行う。

試験ほ場が水田の場合、水稲を栽培する場合と同様に、通常の水管理を行うが、表面流出しないよう管理し、降雨等による表面流出を防ぐため以外の落水は行わないこと。水田耕起前の使用又は水田不耕起栽培における使用の場合は、当該農薬の使用時及び使用後の管理については、通常の管理方法に則した方法で行う。

（７）試験期間が長期にわたる場合であっても、原則として、耕起、掘起し等は行わない。

３．被験物質の取扱い及び処理

（１）被験物質は、適切な管理条件下で保管された製剤とする。ただし、長期保管された製剤を被験物質とする場合は、保管期間中の安定性を確認することとする。

被験物質を希釈等して使用する場合は、処理の直前に行う。

（２）被験物質は、登録申請に係る使用時期、使用方法（散布、土壌混和等）に基づき処

理する。処理回数は単回処理を標準とする。

登録申請に係る使用方法が２以上あるときは、当該２以上の使用方法のうち、分析対象物質が２分の１に減少する期間（以下「半減期」という。）が、他の使用方法より短い又は同程度と予想されるものに係る試験を省略することができる。その場合、当該農薬の登録申請に当たって、他の使用方法より半減期が短い又は同程度という判断根拠を示す必要がある。

登録申請に係る使用方法が特殊であり試験が困難な場合には、他の方法で処理することができる。

（３）有効成分投下量は、登録申請に係る当該農薬を使用することができる総回数（以下「申請総回数」という。）が１回の場合は１回の最大処理量、申請総回数が複数回の場合には１回の最大処理量の２倍量を目安として処理する。乳剤等、希釈して処理する農薬の場合の10a当たりの散布液量は、水田の場合は150L、畑地の場合は300Lをそれぞれ目安とする。

登録申請に係る使用方法が、育苗箱に処理する場合等、直接ほ場に散布しない使用方法である場合は、当該農薬の使用量から算出した量をほ場に処理して試験を実施する。稲の場合は10a当たり籾は４kg、育苗箱は20箱使用するものとする。

農薬の有効成分投下量が少量であり、土壌中濃度の分析又は推定半減期の算出が困難となる場合には、算出が可能となる程度まで有効成分投下量を増加することができる。

（４）被験物質の処理は、雨天時又は被験物質の処理直後に降雨が予想される場合には行わない。ただし、施設等で降雨の影響が無いときはこの限りではない。

（５）被験物質の処理は、ほ場全体に均一になるよう適切に行う。特に粒剤等の固形製剤の場合は、偏在しないように注意する。

（６）処理時及び試験期間中の天候、雨量等の気象条件（処理時については、風向及び風速を含む。）を記録する。

４．試料の採取

（１）試験期間は、原則として、分析対象物質の残留濃度（分析対象物質が複数である場合は、それぞれの残留濃度を有効成分換算し合計した値）が、最高濃度の10%程度に減少するまでの期間（10%程度に減少するまでの期間が１年を超える場合にあっては、確実に最高濃度の２分の１に減少するまでの期間）とする。

（２）試料の採取は、無処理区試料として被験物質の処理直前及び処理区試料として処理直後に１回、その後農薬の特性に応じて適当な間隔で４回以上行う。一般的には処理３日後、７日後、14日後、１か月後、２か月後、３か月後のように計画し、それ以降の調査が必要な時は３か月おきを標準とする。

（３）試料は、試験ほ場ごとに１回の採取において８か所以上の異なる地点から採取し、十分に混和する。採取は、Ｓ字、Ｘ字型等の系統的な方法とし、試験区の端からは採取しない。また、２回目以降の採取においては、前回までに採取した地点を含め各採取地点間は少なくとも50cm以上離す。

（４）試料は、内径５cm以上の採土管を用いて、柱状に採取する。

（５）ほ場が畑地であるときは、地表面から20cmの深さまで採取する。この場合、表層10cmと、それ以深の２層に分けて採取し、それぞれを分析する。処理直後の試料については、それぞれ仮比重（見かけ比重）を測定すること。

（６）ほ場が水田であるときは、土壌と水層の境界面をできるだけ撹乱しないように水層を静かに吸引採取した後、地表面から10cmの深さまで土壌を採取する。採取した水層

と土壌層はそれぞれを分析する。
（７）試料の包装は無処理区から行い、被験物質に接触したと思われる手、用具又は衣服から無処理区試料が汚染されることを避ける。
（８）採取した試料は、試料や農薬の特性に応じて適切な容器に入れて包装し、輸送中に破損しないようにする。

５．試料の取扱い
（１）試料を輸送する場合は、試料が変質又は汚染しないよう十分留意するとともに、凍結しない程度の低温条件で速やかに輸送する。やむを得ず試料を凍結して輸送する場合は、保存安定性試験を実施する。
　輸送に当たっては、試料の取り違え等を防止するため、識別票を添付する等により適切に取り扱う。
（２）試料の分析者は、試料受領後直ちに識別票等により現物の確認を行った後、他の試料との混同がないよう適切に取り扱い、速やかに分析に供する。
（３）土壌試料は、原則として風乾することなく、生土のまま土塊を細かく砕き、ふるいにかけて可能な範囲で、２㎜以上のれき及び粗大有機物を選別除外した後、よく混合し、一定量を分取して分析試料とする。
（４）やむを得ず試料を一時保存しなければならない場合は、分析対象物質が分解等しないように低温や凍結など適切な管理条件下（冷蔵の場合は５℃以下、冷凍の場合は-20℃以下）で保存し、保存期間中の分析対象物質の安定性を確認するために保存安定性試験を実施する。

６．試料の分析
（１）分析対象物質
　分析対象物質は、被験物質に係る農薬の有効成分のほか、土壌中動態試験及び水中動態試験等において生成した主要な代謝分解物（通常、10%以上生成したものとし、CO_2を除く。）とする。
　ただし、これらの代謝分解物のうち、毒性試験の結果等から毒性上の懸念がないことが示される場合又はそれら代謝分解物が残留するおそれがないと判断される場合は、除いてもよい。
　分析対象物質の標準品の純度は、95%以上を目安とする。
（２）分析方法
　①　分析対象物質を科学的に分析できる方法により行う。
　②　分析対象物質の残留量は、土壌は乾土当たりの濃度（mg/kg）、田面水は単位面積当たりの量（mg/㎡）及び濃度（mg/L）で表す。
　③　同一試料について２回以上繰り返して分析を行う。
　④　分析法の妥当性は、以下の項目により確認する。
　ア．分析対象物質を含まない試料を用いて、分析操作を行い、定量を妨害するピークがないことを確認する。
　イ．分析法の精度は、分析対象物質の残留が見込まれる濃度範囲で繰り返し分析を行い、併行相対標準偏差（ＲＳＤｒ＝標準偏差÷平均値×100）を求めて確認する。
　原則、ＲＳＤｒは10%（ただし、定量限界付近においては20%）以内であること。
　ウ．回収率は、無処理区から採取した試料（畑地については土壌、水田については土壌及び田面水）に既知量の分析対象物質を添加した試料を用いて分析法に従い定量し、得られた定量値の添加量に対する比を求めて確認する。定量限界及び本

試験の処理濃度とその中間付近の濃度において３回以上繰り返し測定する。

原則、回収率は添加量の70～120%であること。原則として小数点第一位を四捨五入し整数で表記する。

⑤　定量限界は、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とし、無処理区の試料ごとに検出限界のおおむね１～10倍になるよう分析対象物質を添加して、分析の全操作を行った場合の添加量に対する回収率が、70～120%の値が得られる濃度とする。分析は３回以上行う。

原則、定量限界は、0.01mg/kg（田面水の場合は0.01mg/L）以下（やむを得ない場合は試験期間中における有効成分の最高値の１%以下の濃度。代謝分解物については有効成分換算していない数字とする。）とする。有効数字は２桁以内とする。

⑥　検出限界は、試料について分析の全操作を行ったと仮定した場合、分析対象物質の有無が明らかに判断できる最低濃度とする。有無が明らかに判断できるとは、例えばクロマトグラム上で当該物質の保持時間に明確なピークが認められ、試料由来の妨害ピークが重ならない等、その分析方法において当該物質の有無が明らかに判断できることをいう。検出限界は装置の試料測定の感度、試料の採取量及び分析操作による濃縮割合から算出する。有効数字は２桁以内とする。

（３）保存安定性試験

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存後、分析する方法により行う。

保存後の回収率は、70%以上得られることを目安とする。なお、分析法の回収率による補正は行わない。

（４）回収率の確認試験、保存安定性試験は、原則として、試料の種類ごとに行う。ただし、結果に影響を与えない場合は、代表的な試料又は混合した試料のみとすることができる。

７．試験報告書に記載すべき事項

報告書には、原則として以下の事項が記載されていること。

（１）分析事項（④～⑨については、分析対象物質ごとに作成すること。）

①　分析機関名
②　被験物質名及び剤型
③　有効成分の化学名及び成分含有率
④　分析対象物質
⑤　試験土壌（土壌特性（成因、土性）、試料調製場所）
⑥　分析方法の要旨
⑦　使用濃度及び量
⑧　ほ場試験実施機関名
⑨　分析結果（被験物質の処理量（有効成分投下量）、処理日、試料採取日、試料送付日、試料到着日、経過日数、分析回数、試料分析日、分析値（各分析値及び平均値）及び保存日数（試料到着後分析までの期間））

以下により報告すること。

ア．分析値は、無処理区の値を差し引くことなく、そのまま記載し、また、回収率による補正は行わない。

イ．分析値は、定量限界の位にまとめる。ただし、有効数字は３桁以内とする。数字のまるめ方はJISZ8401-1999の規定による。

ウ．分析値が定量限界（土壌の場合は「a　mg/kg」、田面水の場合は「a　mg/㎡」

及び「a mg/L」）未満のときは、土壌の場合は「< a mg/kg」、田面水の場合は「< a mg/㎡」及び「< a mg/L」と記載する。

エ．分析値に定量限界未満の値が含まれている場合は、平均しない。

オ．代謝分解物の分析値は、被験物質の有効成分に換算し、報告書には換算前の値と換算後の値を記載する。

カ．畑地の場合は、地表面から10cm、10cmから20cmまで及び地表面から20cmまでそれぞれの土壌中濃度について記載する。

キ．水田の場合は、田面水中の残留量と土壌中の残留量を合わせて算出した土壌中濃度について記載する。

ク．　初期値については、採取土壌表面積当たり有効成分投下量を、採取土壌容積及び実測した土壌の仮比重（見かけ比重）で除して理論初期濃度を求め併記するとともに、理論初期濃度に対する最高濃度の比率も併記することが望ましい。

⑩　分析方法の詳細

ア．被験物質及び分析対象物質（構造式、化学名及び物理的化学的性質）

イ．分析方法（試薬及び機器、試料調製法、分析機器の操作条件、検量線の作成、分析操作、定量限界及び検出限界、回収率、保存中の安定性、参考資料、検討事項（分析法の検討）、分析フローシート（分析操作が複雑な場合）並びに参考図表（クロマトグラム等））

（２）ほ場試験実施事項

①　被験物質

ア．被験物質名及び剤型

イ．有効成分名及び成分含有率

ウ．被験物質のロット番号

②　ほ場試験実施機関名及び試験ほ場所在地

③　土壌特性（土壌群、成因、土性、有機炭素含量、土壌pH、仮比重（畑地の場合は地表面から10cm及び10cmから20cmまでの各層の値）等）及び減水深（水田の場合）

④　当該ほ場における作付作物及び農薬使用実績（過去１年間）

⑤　ほ場の管理（耕耘、水管理（水田の場合）、灌水の時期及び量、被験物質以外の農薬の使用状況等）

⑥　試験区

ア．１試験区の面積

イ．施設の場合は、面積、容積及び高さ

ウ．試験区の配置図（試験区全体及び周辺農地等の状況が把握できるもの）

⑦　処理方法

処理区ごとの処理日、処理濃度、処理量（10a当たり又は試験区当たり）、処理方法、処理時の環境条件等（処理時刻、処理時を含む処理日の気象概況、降雨・風が散布試験に及ぼした影響、処理時の使用器具（機械）、湛水散布時の水管理、土壌混和時の深度及び土壌水分等）

ア．展着剤の使用（処理区、展着剤名、処理濃度又は量）

イ．備考

⑧　試料採取

処理区毎の採取日、試料採取時の天候、試料採取量、試料採取時の水深（水田の場合）、試料送付日

ア．試料採取方法

使用した器具（機械）、採取方法の詳細を記載

イ．採取後の調製・梱包方法
ウ．試料の輸送方法
⑨　気象表

（３）推定半減期及び算出方法
以下により報告すること。
①　推定半減期は、被験物質に係る農薬の有効成分について算出する。また、毒性及び残留量の点から無視することができない代謝分解物がある場合には、該当する全ての代謝分解物の残留量（有効成分換算値）と有効成分の残留量との合計値（分析値が定量限界未満の場合には加算しないことができる。）から推定半減期を算出する。また、主要な代謝分解物の挙動に関する考察を付記する。
②　推定半減期は、原則として、有効成分及び代謝分解物が一次反応により減少すると仮定して、最小自乗法により算出する。なお、他の推定半減期を適切に算出できる方法がある場合には、それを用いてもよい。
③　（３）の②の方法によって推定半減期を求めることが困難な製剤又は使用方法である場合には、180日経過時点での土壌中濃度と、処理直後の土壌中濃度との関係から半減期が180日を超えるかどうかを推定する。
④　畑地の場合は、地表面から20cmまで及び地表面から10cmまでの土壌中濃度から、それぞれ推定半減期を算出する。
⑤　水田の場合は、（１）の⑨のキで算出した土壌中濃度から半減期を算出する。

（４）考察（必要な場合）
（５）報告書は、別記様式の資料を添付すること。

（別記様式）
※別記様式は、添付資料１に示す。

後作物残留試験（３－３－２）

１．目的
本試験は、農薬が土壌を経由して農作物に残留する程度に関する科学的知見を得ることを目的とする。

２．供試農作物
（１）被験物質が水田施用の場合は、麦、大豆又は根菜類の中から異なる植物群に属する農作物を２種類以上選定すること。
（２）被験物質が畑地施用の場合は、根菜類に属する農作物を１種類以上、その他後作物として想定される農作物から１種類以上を選定すること。

３．試験区（ほ場）の設定
試験区は、供試農作物の栽培前に被験物質を登録申請に係る農作物に対して登録申請に係る使用方法で施用したほ場とし、当該ほ場の確保が困難な場合は、被験物質を登録申請に係る農作物に対して登録申請に係る使用方法で施用したほ場の土壌を用いて、ポットによる試験を行っても差し支えない。その他、作物残留試験に準ずる。

４．供試農作物の栽培

作物残留試験に準ずる。

5．被験物質の取扱い及び施用
作物残留試験に準ずる。

6．試料の採取
作物残留試験に準ずる。

7．試料の取扱い
作物残留試験に準ずる。

8．試料の分析
作物残留試験に準ずる。

9．報告事項
作物残留試験に準ずる。

（別記様式）

土　壌　残　留　試　験　結　果　表
（水 田 ・ 畑 地）

報告年月日

1. 試験実施機関名 責 任 者	（所属）	（氏名）	6.試験委託者	
2. 被 験 物 質 名 及び剤型	（被験物質名）	（剤型）	7.使用濃度及び量	
3.有効成分の化学名 及び成分含有率(%)			8. ほ場試験実施機関名 （実施場所）	
4. 分析対象物質 （成分名）			9.分析機関名	
5. 分析方法の要旨				

10. 分　析　結　果

試料調製場所	試験土壌 （土壌特性）	被検物質の処理量(有効成分投下量)	処理 年月日	試料採取 年月日	経過 日数 ※1	土壌中濃度(mg/kg)※2 ※3	備　考※4 （推定半減期等）
	（土壌群） （成因） （土性）						

※1　経過日数は、処理日から試料採取日までの期間を記載すること。

※2　土壌中濃度は、各採取部位の分析値の平均値から算出した濃度を記載すること。畑地の場合は地表面から 10cm の深さまで及び地表面から 20cm の深さまでの土壌中濃度、水田の場合は田面水及び土壌中の残留量を合わせて算出した土壌中濃度を記載すること。

※3　分析対象物質名を記載すること。必要に応じて記載欄を追加すること。

※4　備考には、推定半減期（畑地の場合は、半減期算出対象部位の別（地表面から 10cm まで、地表面から 20cm まで）を記載）、推定半減期算出方法、有効成分換算の方法等を記載すること。