

## *p,p'*-DDT の20週間鳥類繁殖毒性試験の結果について

### 目 的

本試験（20週間投与による鳥類繁殖毒性試験、以下「20週間鳥類繁殖毒性試験」という。）は、第一種特定化学物質に指定されている*p,p'*-DDTについて鳥類に対する長期毒性を確認するため、長時日照明条件により繁殖状態にあるニホンウズラのつがいに、高次捕食動物に対する有害性調査のためにわが国が指定する方法（鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験）で、*p,p'*-DDTを飼料に添加し、非繁殖照明条件下で8週間、さらに照明を繁殖状態になるように操作して12週間飼育して計20週間投与し、採取した卵は人工的に孵化させ、生まれた若鳥は*p,p'*-DDT無添加飼料で14日間飼育し、この間に、親鳥の産卵状況、卵殻質、孵化状況及び若鳥の育成状況を観察し、鳥類の繁殖に対する影響を調べ、無影響濃度を明らかにする。

### 方 法

#### 1) 被験物質、被験物質添加飼料の調製

被験物質の*p,p'*-DDT（CAS No.50-29-3）は、試薬（関東化学株式会社、純度99.5%）を購入して用いた。投与濃度は、投与濃度設定試験として行った鳥類摂餌毒性試験（OECD TG205）の結果、並びに*p,p'*-DDTのウズラへの飼料添加による6週間投与で、150ppmで雄に軽度の毒性を認めた報告（平成13年度農薬環境影響基礎調査・環境省内部資料）に基づき、投与濃度は125ppmを最高濃度とし、以下25、5及び1ppm（公比5）の計4濃度を設定した。被験物質添加飼料は、まず基礎飼料（成鶏用粉末飼料）に*p,p'*-DDTを高濃度添加したプレミックス飼料を調製し、次いで試験設定濃度（1、5、25及び125ppm）になるように混合攪拌機でプレミックス飼料と基礎飼料を均一に混合して調製した。調製した被験物質添加飼料は分析し、飼料中での均一性及び所定の濃度で調製されていることを確認した。

#### 2) 試験生物、飼育条件

産卵状況の観察により、繁殖状態にあることが確認されたニホンウズラ（10週齢）を1群12ペアとして用いた。ウズラは、温度17～27℃、湿度50～75%、換気回数10回以上/時に設定した飼育室で管理した。照明条件については、親鳥では投与開始後8週間は非繁殖状態とするため7時間/日の短時日で、12週以降は17時間/日の長時日で飼育し、若鳥は14時間/日とした。親鳥は産卵ケージにつがいで収容、若鳥は保温室を有する育雛ケージに群別・週単位で収容し、飼料及び飲料水を自由に摂取させて飼育した。被験物質添加飼料の給与期間は20週間とし、対照群には基礎飼料を同様に給与した。群構成は、対照群並びに被験物質添加飼料4群（1、5、25及び125ppm）の計5群とした。

### 3) 観 察

#### (1) 親鳥

##### 臨床観察、体重、飼料摂取量

臨床観察は毎日行い、体重は投与開始時及び終了時に測定した。飼料摂取量は、ケージ単位で週ごとに測定した。

##### 産卵確認、貯卵、孵卵、検卵

投与開始9週で長時日照明に切り替えてから対照群の産卵率が非繁殖状態から概ね正常に回復した投与13週から、ケージごとに産卵状況及び正常卵か異常卵（ひびのある卵、軟卵等）かを毎日観察した。産卵確認以降の毎週採取した正常卵は15 の貯卵庫に保存し、それぞれ1週間分をまとめて孵卵器に移し、孵化させた。孵卵開始7日後に検卵器で検卵し、胚の発生を確認した。

##### 卵殻厚

投与82日、92日、107日、122日及び137日に採取した全ての正常卵について卵殻厚を測定した。

##### 病理学検査

投与終了時に解剖し、器官重量（脳、肝臓、脾臓、精巣又は卵巢及び卵管）の測定を行った。さらに、雄については精子を採取してその活動性及び一部の例の精巣について組織切片を作製して精子形成に対する影響を観察した。雌については、卵巢の最大卵胞径を測定した。

#### (2) 若鳥

孵化した雛は14日齢まで飼育し、その間に臨床観察は毎日行い、体重は14日齢時に測定した。飼料摂取量はケージ単位で、孵化後1週及び2週に測定した。

#### (3) 繁殖能に関する指数

次の指数を週単位で算出し、群ごとの平均値を算出した。また、次の指標を投与13週から20週までの8週間におけるデータから算出した。

$$\text{産卵率 (\%)} = \text{産卵数} / (\text{雌数} \times \text{日数}) \times 100$$

$$\text{異常卵の発生率 (\%)} = \text{異常卵の数} / \text{産卵数} \times 100$$

$$\text{胚の発生率 (\%)} = \text{入卵7日発育卵数} / \text{卵群} \times 100$$

$$\text{孵化率 (\%)} = \text{孵化した卵の数} / \text{入卵数} \times 100$$

$$\text{若鳥の育成率 (\%)} = \text{14日齢生存数} / \text{孵化数} \times 100$$

#### 4) 統計解析

パラメトリックデータ（体重・飼料摂取量等）については Bartlett の分散検定を行った。その結果各群の分散が一様な場合は一元配置の分散分析を行い、有意差を認めた場合は、Dunnett の

多重比較検定を行った。分散が一様でない場合及びノンパラメトリックデータ（産卵率・胚の発生率・孵化率・異常卵の発生率、育成率等）についてはKruskal-Wallis の順位検定を行い、その結果有意差を認めた場合は Dunnett 型の多重比較法を用いて検定した。カテゴリカルデータ（死亡率・異常例の発現率等）には Fisher の直接確率法を用いた。有意水準は5%以下とした。

## 結果

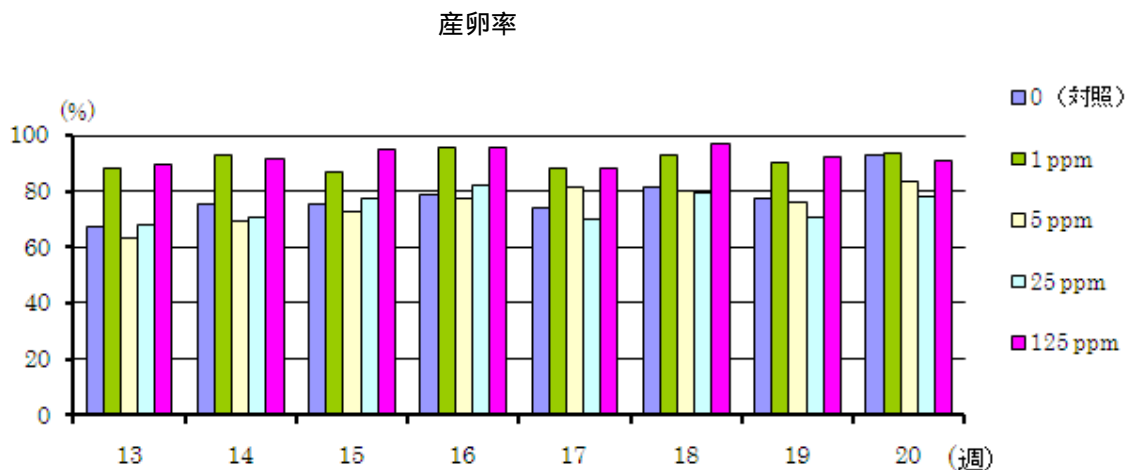
### 1) 親鳥に対する一般毒性学的影響

臨床観察、飼料摂取量、体重、剖検所見、器官重量、精子の活動性及び精巢の組織学検査、卵巣の最大卵胞径において、被験物質の投与による有意な変化は認められなかった。

### 2) 繁殖能に関する指標

#### (1) 産卵に対する影響 - 産卵率

被験物質の投与による影響は認められなかった。

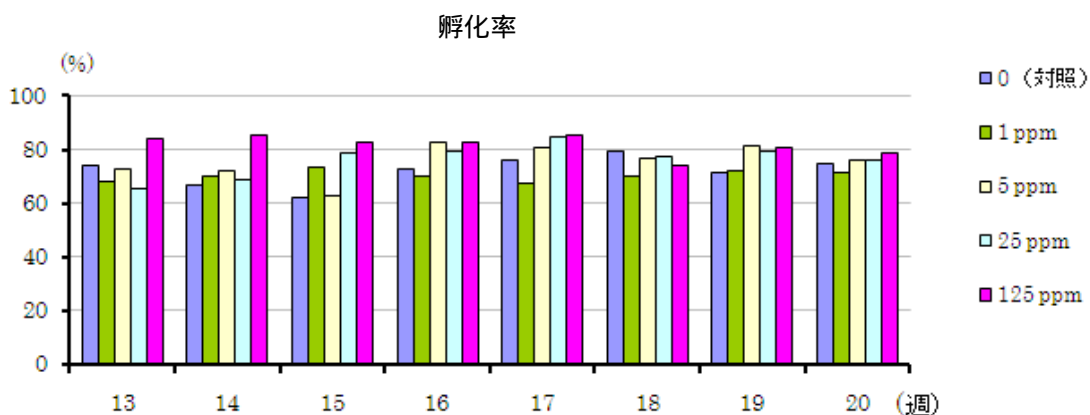


#### (2) 卵殻質に対する影響 - 卵殻の厚さ、異常卵の発生率

卵殻の厚さ及び異常卵の発生率に有意な変化は認められなかった。

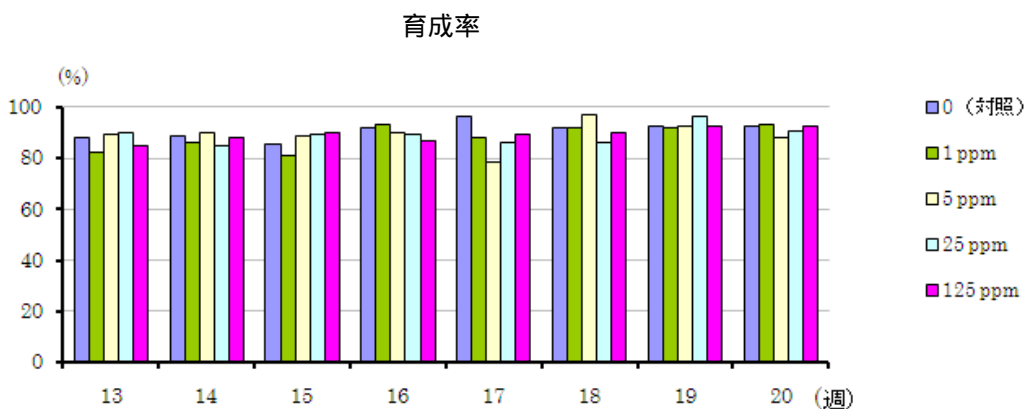
#### (3) 発生に対する影響 - 孵化率

胚の発生率及び孵化率に被験物質投与による変化は認められなかった。



#### (4) 若鳥の生存に対する影響 - 育成率

125ppm群の親鳥に由来する雛に振戦が認められ、発現数は13～20週において対照群と比べ有意差が認められた。しかしながら、育成率に有意な変化は認められなかった。



## まとめ

*p,p'*-DDTに対する20週間鳥類繁殖毒性試験を1、5、25及び125ppmの用量で実施し、鳥類の繁殖に対する影響を調べた。その結果、最高濃度125ppm (16mg/kg/日)においても、繁殖に対する明らかな影響は認められなかったため、繁殖に対する無影響濃度 (NOEC) は、125ppm (16mg/kg/日) 以下と結論された。

# 追加試験

125ppm以下の用量で実施した $p,p'$ -DDTのウズラを用いた20週間鳥類繁殖毒性試験では、繁殖に対する明らかな影響を検出することができなかった。そこで対照群及び $p,p'$ -DDT 250ppm群の2群で20週間鳥類繁殖毒性試験の追加試験を実施した（方法は前述の試験と同様。供試ウズラは各群12ペア）。

## 結果

$p,p'$ -DDT 250ppm（30mg/kg/日）群の親鳥は、振戦及び痙攣並びに摂餌量の減少を伴って、短時日照明飼育の間に全例が死亡した（表1～3）。

表1  $p,p'$ -DDTを20週間投与したウズラ（親鳥）の死亡率

群	性別	羽数	投与	死亡経過																	死亡率(%)							
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20 (週)	雄+雌	(羽)			
0(対照)	雄	12		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	雌	12		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
$p,p'$ -DDT 250ppm	雄	12		0	0	0	1	10	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100**	100**
	雌	12		0	0	0	0	7	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100**	

有意差 (\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )

表2  $p,p'$ -DDTを20週間投与したウズラ（親鳥）の一般状態

症状	群 性別 羽数	0(対照)			$p,p'$ -DDT 250ppm		
		雄	雌	計	雄	雌	計
		12	12	24	12	12	24
振戦		0	0	0	10 **	12 **	22 **
痙攣		0	0	0	10 **	12 **	22 **

有意差 (\*\*:  $p < 0.01$ )

表3  $p,p'$ -DDTを20週間投与したウズラ（親鳥）の飼料摂取量

群	投与期間(週)																				(g/ペア/日)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
0(対照)	41	21	22	26	24	20	17	14	18	26	28	29	32	32	32	27	27	34	34	33	
	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	
$p,p'$ -DDT 250ppm	41	22	23	19 **	17 *	- <sup>a)</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	(12)	(12)	(12)	(11)	(6)																

平均値 ± 標準偏差

(n): ペア数

<sup>a)</sup> 全例死亡

有意差 (\*:  $p \leq 0.05$ , \*\*:  $p \leq 0.01$ )

## まとめ

$p,p'$ -DDTに対する20週間鳥類繁殖毒性試験を250ppmの用量で実施し、鳥類の繁殖に対する影響を調べた。その結果、250ppm（28mg/kg/日）群で振戦及び痙攣並びに摂餌量の減少を伴って、短時日照明飼育の間に全例が死亡した。

## 追加試験を含めての評価

$p,p'$ -DDTの20週間鳥類繁殖毒性試験における無影響濃度は、125ppm（16mg/kg/日）と推定された。