

Supporting Information for “Sublethal toxicity assessments of 7PPD-quinone and 77PD-quinone in zebrafish embryos and sac-fry”

Kyoshiro Hiki ^{a,b,*}, Chenyang Rao ^{b,c,d}, Riping Huang ^b, and Hiroshi Yamamoto ^b

a: Department of Urban Engineering, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

b: Health and Environmental Risk Division, National Institute for Environmental Studies, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki, 305-8506, Japan

c: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, PR China

d: University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, PR China

*Address correspondence to hikik@env.t.u-tokyo.ac.go.jp, hiki.1225@gmail.com

Table of contents

		Content	Page
Tables	Table S1	Measured concentration of 7PPD-Q and 77PD-Q	S2
	Table S2	Average number of observed abnormal appearances in each beaker at 96 hpf	S3
	Table S3	Area of eye and head in each individual at 72 hpf	S4
Figures	Figure S1	Effects of 7PPD-Q and 77PD-Q on ratio of eye to head sizes	S7

Table S1. Measured concentration of 7PPD-Q and 77PD-Q.

		Day 0	Day 1	Day 1	Day 3	Day 3	Day 6	TWA
		New ^a	Old ^b	New ^a	Old ^b	New ^a	Old ^b	concentration ^c
Control		< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
DMSO		< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
7PPD-Q	125 µg/L	178	130 ± 25	129	166 ± 4	146	136 ± 8	147
	250 µg/L	282	259 ± 1	308	329 ± 14	206	353 ± 15	287
	500 µg/L	509	482 ± 22	418	484 ± 58	611	523 ± 7	504
	1000 µg/L	1093	778 ± 3	1090	841 ± 25	1039	752 ± 36	925
	2000 µg/L	2004	1512 ± 126	1684	1521 ± 114	2046	1303 ± 246	1665
77PD-Q	125 µg/L	182	131 ± 6	162	127 ± 3	162	147 ± 23	151
	250 µg/L	313	233 ± 9	283	226 ± 5	264	273 ± 4	264
	500 µg/L	475	459 ± 50	506	478 ± 19	453	516 ± 27	481
	1000 µg/L	1000	738 ± 62	1000	936 ± 41	891	868 ± 14	903
	2000 µg/L	2061	1619 ± 26	1998	1848 ± 148	1859	1766 ± 209	1855

a: Samples were taken just after preparation of spiked solution.

b: Samples were taken from exposure beaker before water replacement.

c: Time-weighted average concentration.

Table S2. Average number of observed abnormal appearances in each beaker at 96 hpf.

		Yolk and pericardial edema	Body curvature (lordosis, kyphosis, and scoliosis)	Blood congestion
Control		0 (0, 0, 0)	0.3 (0, 1, 0)	0 (0, 0, 0)
DMSO		0.3 (0, 0, 1)	0.7 (1, 0, 1)	0 (0, 0, 0)
7PPD-Q	125 µg/L	0 (0, 0, 0)	0.3 (1, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
	250 µg/L	0.7 (0, 0, 2)	0.3 (0, 0, 1)	0 (0, 0, 0)
	500 µg/L	0.7 (2, 0, 0)	0.3 (1, 0, 0)	0.3 (1, 0, 0)
	1000 µg/L	0.7 (1, 0, 1)	0.3 (1, 0, 0)	0.3 (0, 0, 1)
	2000 µg/L	0.3 (0, 0, 1)	0.3 (0, 0, 1)	0 (0, 0, 0)
77PD-Q	125 µg/L	0.3 (0, 1, 0)	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
	250 µg/L	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
	500 µg/L	0 (0, 1, 0)	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
	1000 µg/L	1.3 (2, 2, 0)	0 (0, 0, 0)	0 (0, 0, 0)
	2000 µg/L	0.7 (1, 0, 1)	0 (0, 0, 0)	0.3 (0, 0, 1)

Ten embryos were added to each beaker. Values in parentheses indicate the number of embryos with the abnormality in each beaker.

Table S3. Area of eye and head in each individual at 72 hpf (unit: mm²).

Individual No.	Control		DMSO		7PPD-Q 125 µg/L		7PPD-Q 250 µg/L	
	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head
1	0.071	0.136	0.072	0.144	0.064	0.148	0.061	0.129
2	0.053	0.113	0.065	0.125	0.067	0.126	0.062	0.126
3	0.066	0.142	0.067	0.144	0.056	0.118	0.061	0.128
4	0.051	0.111	0.054	0.145	0.059	0.120	0.062	0.133
5	0.053	0.105	0.054	0.114	0.061	0.129	0.070	0.150
6	0.052	0.116	0.059	0.116	0.061	0.126	0.061	0.126
7	0.055	0.105	0.061	0.113	0.057	0.116	0.052	0.109
8	0.050	0.102	0.065	0.137	0.061	0.118	0.059	0.111
9	0.058	0.128	0.064	0.139	0.061	0.120	0.053	0.111
10	0.060	0.120	0.062	0.143	0.062	0.119	0.054	0.094
11	0.065	0.130	0.064	0.123	0.061	0.120	0.061	0.114
12	0.077	0.140	0.065	0.120	0.053	0.106	0.061	0.111
13	0.076	0.134	0.066	0.150	0.062	0.127	0.062	0.138
14	0.070	0.127	0.056	0.110	0.056	0.106	0.063	0.116
15	0.059	0.114	0.071	0.139	0.066	0.109	0.070	0.133
16	0.063	0.137	0.057	0.144	0.061	0.116		
17	0.068	0.132	0.068	0.129	0.065	0.139		
18	0.069	0.153						
19	0.065	0.136						

Table S3. (continued)

Individual No.	7PPD-Q 500 µg/L		7PPD-Q 1000 µg/L		7PPD-Q 2000 µg/L		77PD-Q 125 µg/L	
	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head
1	0.062	0.121	0.047	0.129	0.058	0.116	0.066	0.141
2	0.062	0.116	0.054	0.114	0.059	0.129	0.065	0.123
3	0.046	0.110	0.059	0.098	0.058	0.101	0.064	0.120
4	0.057	0.119	0.064	0.134	0.059	0.105	0.063	0.124
5	0.065	0.119	0.059	0.122	0.057	0.121	0.062	0.107
6	0.062	0.130	0.058	0.116	0.056	0.115	0.061	0.143
7	0.054	0.091	0.057	0.109	0.055	0.107	0.061	0.114
8	0.056	0.097	0.064	0.141	0.055	0.123	0.062	0.135
9	0.057	0.110	0.064	0.098	0.061	0.123	0.055	0.104
10	0.062	0.127	0.063	0.123	0.054	0.102	0.064	0.097
11	0.057	0.101	0.054	0.104	0.055	0.114	0.051	0.099
12	0.064	0.123	0.059	0.111	0.058	0.122	0.063	0.127
13	0.062	0.131	0.058	0.117	0.057	0.113	0.070	0.133
14	0.065	0.126	0.056	0.105	0.048	0.112	0.067	0.114
15	0.054	0.097	0.056	0.109	0.059	0.133	0.060	0.106
16	0.065	0.135	0.045	0.098	0.053	0.113	0.063	0.129
17	0.060	0.115	0.060	0.111	0.050	0.091	0.064	0.133
18			0.054	0.145	0.061	0.126	0.065	0.123
19					0.061	0.124		

Table S3. (continued)

Individual No.	77PD-Q 250 µg/L		77PD-Q 500 µg/L		77PD-Q 1000 µg/L		77PD-Q 2000 µg/L	
	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head	Eye	Head
1	0.066	0.130	0.055	0.105	0.056	0.114	0.071	0.139
2	0.052	0.116	0.060	0.118	0.056	0.120	0.052	0.087
3	0.060	0.109	0.055	0.107	0.059	0.120	0.059	0.124
4	0.062	0.110	0.053	0.109	0.051	0.112	0.052	0.109
5	0.054	0.119	0.057	0.112	0.060	0.115	0.060	0.117
6	0.068	0.141	0.058	0.118	0.054	0.116	0.059	0.121
7	0.067	0.135	0.065	0.116	0.064	0.127	0.057	0.123
8	0.068	0.126	0.062	0.122	0.054	0.105	0.059	0.134
9	0.065	0.129	0.061	0.115	0.063	0.126	0.055	0.153
10	0.064	0.112	0.052	0.110	0.067	0.153	0.060	0.165
11	0.071	0.144	0.071	0.135	0.065	0.144	0.069	0.125
12	0.054	0.107	0.068	0.126	0.063	0.119	0.075	0.120
13	0.064	0.135	0.055	0.120	0.068	0.138	0.068	0.133
14	0.057	0.111	0.065	0.130	0.060	0.148	0.062	0.154
15	0.056	0.131	0.060	0.132	0.066	0.158	0.063	0.120
16	0.060	0.135	0.065	0.147	0.074	0.143	0.056	0.130
17	0.061	0.111	0.061	0.127	0.056	0.130	0.074	0.118
18	0.058	0.120			0.064	0.150	0.061	0.110
19	0.068	0.142						

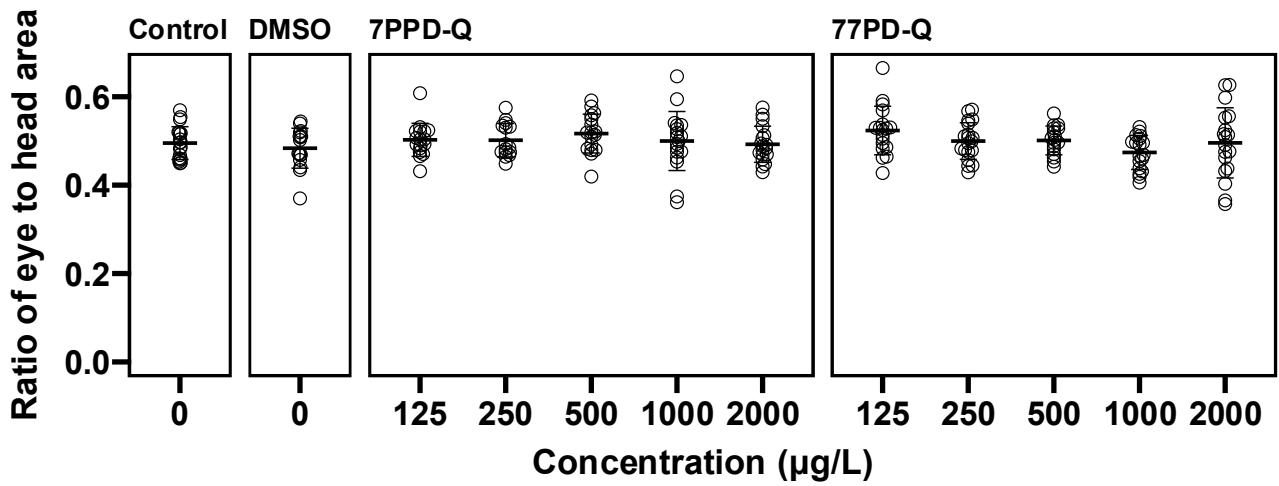


Figure S1. Effects of 7PPD-Q and 77PD-Q on ratio of eye to head sizes in zebrafish embryos. Bars and error bars represent mean values and standard deviations ($n = 3$), respectively. No statistically significant differences from the DMSO control were observed.