

## 7.1.2 低線量率 $\gamma$ 線連続照射オス親マウスの仔・孫への影響

### –生殖細胞突然変異のゲノムワイド検索–

#### Transgenerational Effects in Mice Exposed to Continuous Low-Dose-Rate Gamma-Rays – Genome-Wide Approach for Germ Cell Mutation –

小倉 啓司, 田中 聡, *タカ イグナシヤ III ブラガ*, 一戸 一晃, 小木曾 洋一  
生物影響研究部

Keiji OGURA, Satoshi TANAKA, Ignacia BRAGA-TANAKA III, Kazuaki ICHINOHE,  
Yoichi OGHISO

*Department of Radiobiology*

#### Abstract

To elucidate whether germ cell mutations induced by chronic  $\gamma$ -ray exposure at low-dose-rates can be inherited by offspring, 8-week-old male specific-pathogen-free (SPF) C57BL/6J mice were exposed to  $\gamma$ -rays at a high-dose-rate of 889 mGy/min for 9 minutes, equivalent to a total dose of 8000 mGy at a low-dose-rate of 20 mGy/22 hr/day for about 400 days. Genome-wide molecular comparisons were made to identify mutations that may have been newly generated and inherited by offspring from a parent. These newly identified mutations were then classified based on their nucleotide sequences for comparison between irradiated and non-irradiated control groups. Here we show preliminary examination results on reliability of the array CGH method.

#### 1. 目的

本実験調査は低線量率  $\gamma$  線を長期連続照射したオスマウスと非照射メスマウスとを交配し、その仔・孫を得、これらのマウスより採取された尾組織試料を用いて、染色体の欠失・挿入等ゲノムの変化を高い精度で網羅的に解析してオス親への低線量率放射線照射の仔・孫に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。

#### 2. 方法

放射線照射がどのような突然変異を誘発するかを調べるためには、交配するオス親マウスとメス親マウスがもともと持っている蓄積された変異と新規突然変異（自然に誘発される自然突然変異、放射線照射によって新たに誘発される放射線誘発突然変異）を検出し、分別することが必要である（UNSCEAR, 2001）。そこで、現在利用できる中で

ゲノムに含まれている変異の検出感度が最も高い方法であるオリゴマイクロアレイ CGH 法の有効性を検討した。

このため、高頻度に新規突然変異が起きると考えられる高線量率（0.9 Gy/min）・高線量（8 Gy） $\gamma$  線を照射したオスマウスと非照射オスマウスをそれぞれ非照射メスマウスと1週間同居させ、交尾確認後16～19日にメス親から胎子マウスを摘出するポジティブコントロール実験を行った。オス親は交尾後、メス親は胎子マウス採取後にそれぞれ尾組織をサンプリングした。親マウスの尾組織、胎子マウス全組織からそれぞれゲノムDNAの抽出を行った。

オリゴマイクロアレイ CGH 法により効率的に新規突然変異を検出することができるかどうかを検討するため、ポジティブコントロール実験で得られたゲノムDNAを用いたオリゴマイクロアレイ CGH 法による実験を開始した。最初に非照射オスマウス

(C1♂)とメスマウス(C1♀)、および、その子供である7匹の胎子マウス(C1F1-1〜7)を用いて行ったオリゴマイクロアレイ CGH 法によって得られた結果を解析することによって突然変異の検出を試みた。オリゴマイクロアレイ CGH 法では一対のサンプルをそれぞれ Cy3 または Cy5 で蛍光標識し、競合ハイブリダイゼーションを行う。そこで、一対のサンプルを Cy3/Cy5、Cy5/Cy3 と標識の組み合わせを変えた2回の実験データを利用して蓄積された変異、自然突然変異ならびに放射線誘発突然変異を分別する解析方法の検討を行った。

### 3. 成果の概要

オリゴマイクロアレイ CGH 法の有効性を検討するためにポジティブコントロール実験を行い、高線量率・高線量 $\gamma$ 線照射および非照射のオス親マウスと、交配に用いたメス親マウスの尾組織ならびに胎子マウスの全組織からそれぞれ遺伝子変異解析用ゲ

ノム DNA を抽出・精製した。このゲノム DNA を用いたオリゴマイクロアレイ CGH 法によるデータの蓄積を開始した。蓄積されたデータのうち非照射対照群のひとつがいであるオス親マウス、メス親マウスとその仔マウス7匹について、合計28回分のオリゴマイクロアレイ CGH 法の結果を用いて解析方法の検討を試みた。その結果、仔マウスに両親由来の変異候補1601個と新規変異候補4個をそれぞれ抽出したが、変異候補抽出の精度を高めるために一対のサンプルに対するオリゴマイクロアレイ CGH 法の繰り返し回数を増やす必要があることが判明した。

### 引用文献

UNSCEAR (2001) United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation  
UNSCEAR 2001 Report to the General Assembly, with Scientific Annex

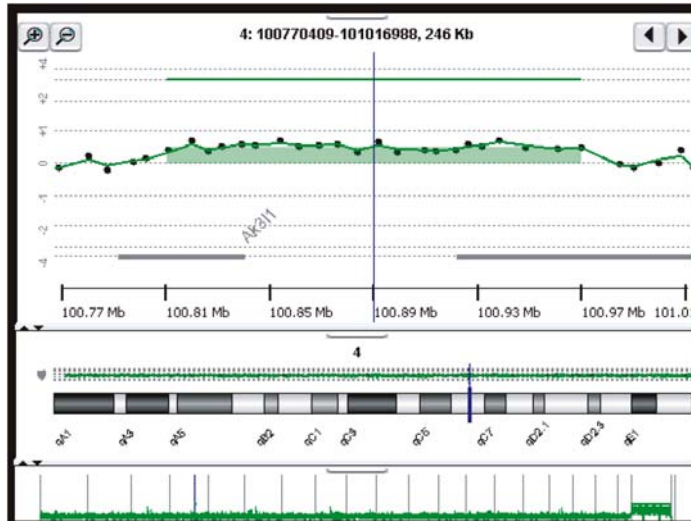


Fig. 1 Log<sub>2</sub> transformed ratios are plotted by CGH Analytics 3.4 (Agilent Tech.).

Vertical lines represent the whole genome (lower figure), the fourth chromosome (middle figure), and part of the fourth chromosome (upper figure). Gains and losses are represented in the array CGH profiles on the opposite side across zero. The green belt in the upper figure suggests a deletion region in C1 female.

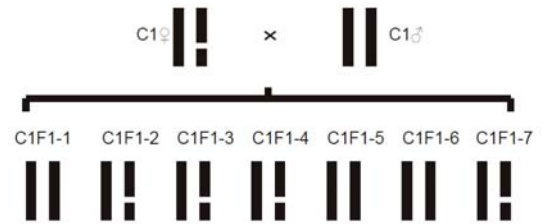


Fig. 2 Summary of deletions between positions 100,814,316 to 100,974,314 in the 4th chromosome. This was found in one non-irradiated control mouse 1 (C1)<sub>♀</sub> and inherited by her offspring C1F1-2, C1F1-3, C1F1-4 and C1F1-7.

Table 1 Reliability of the array CGH in non-irradiated C1 parents and their progenies

|  |  | Cy3 | Cy5 | C1♀ | C1♂ | F1-1 | C1♀ | Cy3 | Cy5 | F1-2 | C1♀ | Cy3 | F1-3 | C1♀ | F1-4 | C1♀ | F1-5 | Cy3 | F1-6 | C1♀ | F1-7 | C1♀ | F1-8 | Cy3 | F1-9 | C1♀ | F1-10 | Cy3 | F1-11 | C1♀ | F1-12 | Cy3 | F1-13 | C1♀ | F1-14 | Cy3 | F1-15 | C1♀ | F1-16 | Cy3 | F1-17 | C1♀ | F1-18 | Cy3 | F1-19 | C1♀ | F1-20 | Cy3 | F1-21 | C1♀ | F1-22 | Cy3 | F1-23 | C1♀ | F1-24 | Cy3 | F1-25 | C1♀ | F1-26 | Cy3 | F1-27 | C1♀ | F1-28 | Cy3 | F1-29 | C1♀ | F1-30 | Cy3 | F1-31 | C1♀ | F1-32 | Cy3 | F1-33 | C1♀ | F1-34 | Cy3 | F1-35 | C1♀ | F1-36 | Cy3 | F1-37 | C1♀ | F1-38 | Cy3 | F1-39 | C1♀ | F1-40 | Cy3 | F1-41 | C1♀ | F1-42 | Cy3 | F1-43 | C1♀ | F1-44 | Cy3 | F1-45 | C1♀ | F1-46 | Cy3 | F1-47 | C1♀ | F1-48 | Cy3 | F1-49 | C1♀ | F1-50 | Cy3 | F1-51 | C1♀ | F1-52 | Cy3 | F1-53 | C1♀ | F1-54 | Cy3 | F1-55 | C1♀ | F1-56 | Cy3 | F1-57 | C1♀ | F1-58 | Cy3 | F1-59 | C1♀ | F1-60 | Cy3 | F1-61 | C1♀ | F1-62 | Cy3 | F1-63 | C1♀ | F1-64 | Cy3 | F1-65 | C1♀ | F1-66 | Cy3 | F1-67 | C1♀ | F1-68 | Cy3 | F1-69 | C1♀ | F1-70 | Cy3 | F1-71 | C1♀ | F1-72 | Cy3 | F1-73 | C1♀ | F1-74 | Cy3 | F1-75 | C1♀ | F1-76 | Cy3 | F1-77 | C1♀ | F1-78 | Cy3 | F1-79 | C1♀ | F1-80 | Cy3 | F1-81 | C1♀ | F1-82 | Cy3 | F1-83 | C1♀ | F1-84 | Cy3 | F1-85 | C1♀ | F1-86 | Cy3 | F1-87 | C1♀ | F1-88 | Cy3 | F1-89 | C1♀ | F1-90 | Cy3 | F1-91 | C1♀ | F1-92 | Cy3 | F1-93 | C1♀ | F1-94 | Cy3 | F1-95 | C1♀ | F1-96 | Cy3 | F1-97 | C1♀ | F1-98 | Cy3 | F1-99 | C1♀ | F1-100 | Cy3 | F1-101 | C1♀ | F1-102 | Cy3 | F1-103 | C1♀ | F1-104 | Cy3 | F1-105 | C1♀ | F1-106 | Cy3 | F1-107 | C1♀ | F1-108 | Cy3 | F1-109 | C1♀ | F1-110 | Cy3 | F1-111 | C1♀ | F1-112 | Cy3 | F1-113 | C1♀ | F1-114 | Cy3 | F1-115 | C1♀ | F1-116 | Cy3 | F1-117 | C1♀ | F1-118 | Cy3 | F1-119 | C1♀ | F1-120 | Cy3 | F1-121 | C1♀ | F1-122 | Cy3 | F1-123 | C1♀ | F1-124 | Cy3 | F1-125 | C1♀ | F1-126 | Cy3 | F1-127 | C1♀ | F1-128 | Cy3 | F1-129 | C1♀ | F1-130 | Cy3 | F1-131 | C1♀ | F1-132 | Cy3 | F1-133 | C1♀ | F1-134 | Cy3 | F1-135 | C1♀ | F1-136 | Cy3 | F1-137 | C1♀ | F1-138 | Cy3 | F1-139 | C1♀ | F1-140 | Cy3 | F1-141 | C1♀ | F1-142 | Cy3 | F1-143 | C1♀ | F1-144 | Cy3 | F1-145 | C1♀ | F1-146 | Cy3 | F1-147 | C1♀ | F1-148 | Cy3 | F1-149 | C1♀ | F1-150 | Cy3 | F1-151 | C1♀ | F1-152 | Cy3 | F1-153 | C1♀ | F1-154 | Cy3 | F1-155 | C1♀ | F1-156 | Cy3 | F1-157 | C1♀ | F1-158 | Cy3 | F1-159 | C1♀ | F1-160 | Cy3 | F1-161 | C1♀ | F1-162 | Cy3 | F1-163 | C1♀ | F1-164 | Cy3 | F1-165 | C1♀ | F1-166 | Cy3 | F1-167 | C1♀ | F1-168 | Cy3 | F1-169 | C1♀ | F1-170 | Cy3 | F1-171 | C1♀ | F1-172 | Cy3 | F1-173 | C1♀ | F1-174 | Cy3 | F1-175 | C1♀ | F1-176 | Cy3 | F1-177 | C1♀ | F1-178 | Cy3 | F1-179 | C1♀ | F1-180 | Cy3 | F1-181 | C1♀ | F1-182 | Cy3 | F1-183 | C1♀ | F1-184 | Cy3 | F1-185 | C1♀ | F1-186 | Cy3 | F1-187 | C1♀ | F1-188 | Cy3 | F1-189 | C1♀ | F1-190 | Cy3 | F1-191 | C1♀ | F1-192 | Cy3 | F1-193 | C1♀ | F1-194 | Cy3 | F1-195 | C1♀ | F1-196 | Cy3 | F1-197 | C1♀ | F1-198 | Cy3 | F1-199 | C1♀ | F1-200 | Cy3 | F1-201 | C1♀ | F1-202 | Cy3 | F1-203 | C1♀ | F1-204 | Cy3 | F1-205 | C1♀ | F1-206 | Cy3 | F1-207 | C1♀ | F1-208 | Cy3 | F1-209 | C1♀ | F1-210 | Cy3 | F1-211 | C1♀ | F1-212 | Cy3 | F1-213 | C1♀ | F1-214 | Cy3 | F1-215 | C1♀ | F1-216 | Cy3 | F1-217 | C1♀ | F1-218 | Cy3 | F1-219 | C1♀ | F1-220 | Cy3 | F1-221 | C1♀ | F1-222 | Cy3 | F1-223 | C1♀ | F1-224 | Cy3 | F1-225 | C1♀ | F1-226 | Cy3 | F1-227 | C1♀ | F1-228 | Cy3 | F1-229 | C1♀ | F1-230 | Cy3 | F1-231 | C1♀ | F1-232 | Cy3 | F1-233 | C1♀ | F1-234 | Cy3 | F1-235 | C1♀ | F1-236 | Cy3 | F1-237 | C1♀ | F1-238 | Cy3 | F1-239 | C1♀ | F1-240 | Cy3 | F1-241 | C1♀ | F1-242 | Cy3 | F1-243 | C1♀ | F1-244 | Cy3 | F1-245 | C1♀ | F1-246 | Cy3 | F1-247 | C1♀ | F1-248 | Cy3 | F1-249 | C1♀ | F1-250 | Cy3 | F1-251 | C1♀ | F1-252 | Cy3 | F1-253 | C1♀ | F1-254 | Cy3 | F1-255 | C1♀ | F1-256 | Cy3 | F1-257 | C1♀ | F1-258 | Cy3 | F1-259 | C1♀ | F1-260 | Cy3 | F1-261 | C1♀ | F1-262 | Cy3 | F1-263 | C1♀ | F1-264 | Cy3 | F1-265 | C1♀ | F1-266 | Cy3 | F1-267 | C1♀ | F1-268 | Cy3 | F1-269 | C1♀ | F1-270 | Cy3 | F1-271 | C1♀ | F1-272 | Cy3 | F1-273 | C1♀ | F1-274 | Cy3 | F1-275 | C1♀ | F1-276 | Cy3 | F1-277 | C1♀ | F1-278 | Cy3 | F1-279 | C1♀ | F1-280 | Cy3 | F1-281 | C1♀ | F1-282 | Cy3 | F1-283 | C1♀ | F1-284 | Cy3 | F1-285 | C1♀ | F1-286 | Cy3 | F1-287 | C1♀ | F1-288 | Cy3 | F1-289 | C1♀ | F1-290 | Cy3 | F1-291 | C1♀ | F1-292 | Cy3 | F1-293 | C1♀ | F1-294 | Cy3 | F1-295 | C1♀ | F1-296 | Cy3 | F1-297 | C1♀ | F1-298 | Cy3 | F1-299 | C1♀ | F1-300 | Cy3 | F1-301 | C1♀ | F1-302 | Cy3 | F1-303 | C1♀ | F1-304 | Cy3 | F1-305 | C1♀ | F1-306 | Cy3 | F1-307 | C1♀ | F1-308 | Cy3 | F1-309 | C1♀ | F1-310 | Cy3 | F1-311 | C1♀ | F1-312 | Cy3 | F1-313 | C1♀ | F1-314 | Cy3 | F1-315 | C1♀ | F1-316 | Cy3 | F1-317 | C1♀ | F1-318 | Cy3 | F1-319 | C1♀ | F1-320 | Cy3 | F1-321 | C1♀ | F1-322 | Cy3 | F1-323 | C1♀ | F1-324 | Cy3 | F1-325 | C1♀ | F1-326 | Cy3 | F1-327 | C1♀ | F1-328 | Cy3 | F1-329 | C1♀ | F1-330 | Cy3 | F1-331 | C1♀ | F1-332 | Cy3 | F1-333 | C1♀ | F1-334 | Cy3 | F1-335 | C1♀ | F1-336 | Cy3 | F1-337 | C1♀ | F1-338 | Cy3 | F1-339 | C1♀ | F1-340 | Cy3 | F1-341 | C1♀ | F1-342 | Cy3 | F1-343 | C1♀ | F1-344 | Cy3 | F1-345 | C1♀ | F1-346 | Cy3 | F1-347 | C1♀ | F1-348 | Cy3 | F1-349 | C1♀ | F1-350 | Cy3 | F1-351 | C1♀ | F1-352 | Cy3 | F1-353 | C1♀ | F1-354 | Cy3 | F1-355 | C1♀ | F1-356 | Cy3 | F1-357 | C1♀ | F1-358 | Cy3 | F1-359 | C1♀ | F1-360 | Cy3 | F1-361 | C1♀ | F1-362 | Cy3 | F1-363 | C1♀ | F1-364 | Cy3 | F1-365 | C1♀ | F1-366 | Cy3 | F1-367 | C1♀ | F1-368 | Cy3 | F1-369 | C1♀ | F1-370 | Cy3 | F1-371 | C1♀ | F1-372 | Cy3 | F1-373 | C1♀ | F1-374 | Cy3 | F1-375 | C1♀ | F1-376 | Cy3 | F1-377 | C1♀ | F1-378 | Cy3 | F1-379 | C1♀ | F1-380 | Cy3 | F1-381 | C1♀ | F1-382 | Cy3 | F1-383 | C1♀ | F1-384 | Cy3 | F1-385 | C1♀ | F1-386 | Cy3 | F1-387 | C1♀ | F1-388 | Cy3 | F1-389 | C1♀ | F1-390 | Cy3 | F1-391 | C1♀ | F1-392 | Cy3 | F1-393 | C1♀ | F1-394 | Cy3 | F1-395 | C1♀ | F1-396 | Cy3 | F1-397 | C1♀ | F1-398 | Cy3 | F1-399 | C1♀ | F1-400 | Cy3 | F1-401 | C1♀ | F1-402 | Cy3 | F1-403 | C1♀ | F1-404 | Cy3 | F1-405 | C1♀ | F1-406 | Cy3 | F1-407 | C1♀ | F1-408 | Cy3 | F1-409 | C1♀ | F1-410 | Cy3 | F1-411 | C1♀ | F1-412 | Cy3 | F1-413 | C1♀ | F1-414 | Cy3 | F1-415 | C1♀ | F1-416 | Cy3 | F1-417 | C1♀ | F1-418 | Cy3 | F1-419 | C1♀ | F1-420 | Cy3 | F1-421 | C1♀ | F1-422 | Cy3 | F1-423 | C1♀ | F1-424 | Cy3 | F1-425 | C1♀ | F1-426 | Cy3 | F1-427 | C1♀ | F1-428 | Cy3 | F1-429 | C1♀ | F1-430 | Cy3 | F1-431 | C1♀ | F1-432 | Cy3 | F1-433 | C1♀ | F1-434 | Cy3 | F1-435 | C1♀ | F1-436 | Cy3 | F1-437 | C1♀ | F1-438 | Cy3 | F1-439 | C1♀ | F1-440 | Cy3 | F1-441 | C1♀ | F1-442 | Cy3 | F1-443 | C1♀ | F1-444 | Cy3 | F1-445 | C1♀ | F1-446 | Cy3 | F1-447 | C1♀ | F1-448 | Cy3 | F1-449 | C1♀ | F1-450 | Cy3 | F1-451 | C1♀ | F1-452 | Cy3 | F1-453 | C1♀ | F1-454 | Cy3 | F1-455 | C1♀ | F1-456 | Cy3 | F1-457 | C1♀ | F1-458 | Cy3 | F1-459 | C1♀ | F1-460 | Cy3 | F1-461 | C1♀ | F1-462 | Cy3 | F1-463 | C1♀ | F1-464 | Cy3 | F1-465 | C1♀ | F1-466 | Cy3 | F1-467 | C1♀ | F1-468 | Cy3 | F1-469 | C1♀ | F1-470 | Cy3 | F1-471 | C1♀ | F1-472 | Cy3 | F1-473 | C1♀ | F1-474 | Cy3 | F1-475 | C1♀ | F1-476 | Cy3 | F1-477 | C1♀ | F1-478 | Cy3 | F1-479 | C1♀ | F1-480 | Cy3 | F1-481 | C1♀ | F1-482 | Cy3 | F1-483 | C1♀ | F1-484 | Cy3 | F1-485 | C1♀ | F1-486 | Cy3 | F1-487 | C1♀ | F1-488 | Cy3 | F1-489 | C1♀ | F1-490 | Cy3 | F1-491 | C1♀ | F1-492 | Cy3 | F1-493 | C1♀ | F1-494 | Cy3 | F1-495 | C1♀ | F1-496 | Cy3 | F1-497 | C1♀ | F1-498 | Cy3 | F1-499 | C1♀ | F1-500 | Cy3 | F1-501 | C1♀ | F1-502 | Cy3 | F1-503 | C1♀ | F1-504 | Cy3 | F1-505 | C1♀ | F1-506 | Cy3 | F1-507 | C1♀ | F1-508 | Cy3 | F1-509 | C1♀ | F1-510 | Cy3 | F1-511 | C1♀ | F1-512 | Cy3 | F1-513 | C1♀ | F1-514 | Cy3 | F1-515 | C1♀ | F1-516 | Cy3 | F1-517 | C1♀ | F1-518 | Cy3 | F1-519 | C1♀ | F1-520 | Cy3 | F1-521 | C1♀ | F1-522 | Cy3 | F1-523 | C1♀ | F1-524 | Cy3 | F1-525 | C1♀ | F1-526 | Cy3 | F1-527 | C1♀ | F1-528 | Cy3 | F1-529 | C1♀ | F1-530 | Cy3 | F1-531 | C1♀ | F1-532 | Cy3 | F1-533 | C1♀ | F1-534 | Cy3 | F1-535 | C1♀ | F1-536 | Cy3 | F1-537 | C1♀ | F1-538 | Cy3 | F1-539 | C1♀ | F1-540 | Cy3 | F1-541 | C1♀ | F1-542 | Cy3 | F1-543 | C1♀ | F1-544 | Cy3 | F1-545 | C1♀ | F1-546 | Cy3 | F1-547 | C1♀ | F1-548 | Cy3 | F1-549 | C1♀ | F1-550 | Cy3 | F1-551 | C1♀ | F1-552 | Cy3 | F1-553 | C1♀ | F1-554 | Cy3 | F1-555 | C1♀ | F1-556 | Cy3 | F1-557 | C1♀ | F1-558 | Cy3 | F1-559 | C1♀ | F1-560 | Cy3 | F1-561 | C1♀ | F1-562 | Cy3 | F1-563 | C1♀ | F1-564 | Cy3 | F1-565 | C1♀ | F1-566 | Cy3 | F1-567 | C1♀ | F1-568 | Cy3 | F1-569 | C1♀ | F1-570 | Cy3 | F1-571 | C1♀ | F1-572 | Cy3 | F1-573 | C1♀ | F1-574 | Cy3 | F1-575 | C1♀ | F1-576 | Cy3 | F1-577 | C1♀ | F1-578 | Cy3 | F1-579 | C1♀ | F1-580 | Cy3 | F1-581 | C1♀ | F1-582 | Cy3 | F1-583 | C1♀ | F1-584 | Cy3 | F1-585 | C1♀ | F1-586 | Cy3 | F1-587 | C1♀ | F1-588 | Cy3 | F1-589 | C1♀ | F1-590 | Cy3 | F1-591 | C1♀ | F1-592 | Cy3 | F1-593 | C1♀ | F1-594 | Cy3 | F1-595 | C1♀ | F1-596 | Cy3 | F1-597 | C1♀ | F1-598 | Cy3 | F1-599 | C1♀ | F1-600 | Cy3 | F1-601 | C1♀ | F1-602 | Cy3 | F1-603 | C1♀ | F1-604 | Cy3 | F1-605 | C1♀ | F1-606 | Cy3 | F1-607 | C1♀ | F1-608 | Cy3 | F1-609 | C1♀ | F1-610 | Cy3 | F1-611 | C1♀ | F1-612 | Cy3 | F1-613 | C1♀ | F1-614 | Cy3 | F1-615 | C1♀ | F1-616 | Cy3 | F1-617 | C1♀ | F1-618 | Cy3 | F1-619 | C1♀ | F1-620 | Cy3 | F1-621 | C1♀ | F1-622 | Cy3 | F1-623 | C1♀ | F1-624 | Cy3 | F1-625 | C1♀ | F1-626 | Cy3 | F1-627 | C1♀ | F1-628 | Cy3 | F1-629 | C1♀ | F1-630 | Cy3 | F1-631 | C1♀ | F1-632 | Cy3 | F1-633 | C1♀ | F1-634 | Cy3 | F1-635 | C1♀ | F1-636 | Cy3 | F1-637 | C1♀ | F1-638 | Cy3 | F1-639 | C1♀ | F1-640 | Cy3 | F1-641 | C1♀ | F1-642 | Cy3 | F1-643 | C1♀ | F1-644 | Cy3 | F1-645 | C1♀ | F1-646 | Cy3 | F1-647 | C1♀ | F1-648 | Cy3 | F1-649 | C1♀ | F1-650 | Cy3 | F1-651 | C1♀ | F1-652 | Cy3 | F1-653 | C1♀ | F1-654 | Cy3 | F1-655 | C1♀ | F1-656 | Cy3 | F1-657 | C1♀ | F1-658 | Cy3 | F1-659 | C1♀ | F1-660 | Cy3 | F1-661 | C1♀ | F1-662 | Cy3 | F1-663 | C1♀ | F1-664 | Cy3 | F1-665 | C1♀ | F1-666 | Cy3 | F1-667 | C1♀ | F1-668 | Cy3 | F1-669 | C1♀ | F1-670 | Cy3 | F1-671 | C1♀ | F1-672 | Cy3 | F1-673 | C1♀ | F1-674 | Cy3 | F1-675 | C1♀ | F1-676 | Cy3 | F1-677 | C1♀ | F1-678 | Cy3 | F1-679 | C1♀ | F1-680 | Cy3 | F1-681 | C1♀ | F1-682 | Cy3 | F1-683 | C1♀ | F1-684 | Cy3 | F1-685 | C1♀ | F1-686 | Cy3 | F1-687 | C1♀ | F1-688 | Cy3 | F1-689 | C1♀ | F1-690 | Cy3 | F1-691 | C1♀ | F1-692 | Cy3 | F1-693 | C1♀ | F1-694 | Cy3 | F1-695 | C1♀ | F1-696 | Cy3 | F1-697 | C1♀ | F1-698 | Cy3 | F1-699 | C1♀ | F1-700 | Cy3 | F1-701 | C1♀ | F1-702 | Cy3 | F1-703 | C1♀ | F1-704 | Cy3 | F1-705 | C1♀ | F1-706 | Cy3 | F1-707 | C1♀ | F1-708 | Cy3 | F1-709 | C1♀ | F1-710 | Cy3 | F1-711 | C1♀ | F1-712 | Cy3 | F1-713 | C1♀ | F1-714 | Cy3 | F1-715 | C1♀ | F1-716 | Cy3 | F1-717 | C1♀ | F1-718 | Cy3 | F1-719 | C1♀ | F1-720 | Cy3 | F1-721 | C1♀ |
|--|--|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|
|--|--|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|--------|-----|