

共同研究者

佐藤 あやめ
(千葉大学大学院融合理工学府 大学院生)

略 歴

2006年 3月 筑波大学第二学群生物学類
卒業
2010年 11月 筑波大学大学院
生命環境科学研究科 修了
2016年 8月 千葉大学大学院理学研究院
特任助教
現在に至る

都市化による温度と光環境の変化が ショウジョウバエに与える影響と対抗的適応進化

近年、人間活動が原因となり生物の生息地の生物的・無機質な環境は急速に変化している。このような環境変化が生物の種数や個体数に与える影響は数多くの研究で指摘されているものの、それらが表現型レベルで生物に与える影響は充分にはわかっていない。都市化は、急速な環境変化の代表例である。都市では温度上昇や光害、騒音といった環境変化が起きると同時に、生息地が分断化することによる集団サイズの縮小や遺伝的交流の減少が起きると考えられている。すなわち、環境変化に対する適応進化や表現型可塑性による表現型変化に加え、遺伝的浮動による確率的進化が生じている可能性がある。したがって、都市の生物に着目することで、急速な環境変化に対する生物の応答を包括的に検証できるといえよう。本研究では、果樹害虫のオウトウショウジョウバエ (*Drosophila suzukii*) を用いて、都市化に伴う表現型の進化的、可塑的变化の成否を多角的に検証することを目的とした。まず、千葉県と東京都において、都市から郊外までのさまざまな環境を含む複数地点を選定し、衛星画像を用いて各地点の5km圏内の都市化指数を求めた。次に、各地点で本種のサンプリングを行ない、地点ごとに複数の単雌系統を確立した。都市化度に沿った温度耐性の進化的変化を調べたところ、高温耐性については都市の系統と郊外の系統とで差がみられなかったが、都市の個体は郊外の個体より低温耐性が有意に低かった。このことは、都市において低温耐性が進化的に変化したことを示唆している。また、温度耐性の可塑的变化の有無を調べるために、3℃に2時間曝露した成虫の低温耐性と32℃に2時間曝露した成虫の高温耐性を測定し、対照区(25℃曝露処理)の成虫のそれらと比較した。その結果、都市由来の系統でも郊外由来の系統でも、低温曝露の有無は、低温耐性に影響しないことがわかった。一方、高温に曝露された個体は対照区の個体よりも高温耐性が高くなり、その傾向は都市由来の系統で顕著であった。つぎに、成虫の活動性に関する進化的変化と温度や光が活動性に与える影響を調べるために、夜間の光量と気温がそれぞれ2段階となる計4通りの環境で個体を卵から飼育し、得られた雌成虫においてそれぞれの環境での活動を24時間記録した。夜間に完全に暗くなる条件では、他のショウジョウバエと同様、日の出と日没前後に活動性の高くなるという二峰性の活動リズムを示した。このとき、都市個体の方が24時間の活動量が高い傾向があった。また、夜間にわずかな光のある環境では、全体の活動量は著しく生かした。また、都市の個体は夜間に高い活動性を示すことがわかった。これらの結果は、温度耐性や日周活動パターンが都市化に伴って進化していることを示している。また、温度や夜間の照明の変化が本種の活動に多大な影響を及ぼしていることを示唆している。

はじめに

地球上の生物は、現在、生息環境の急速な変化に曝されている。とくに都市では複数の環境要因が人間の手で同時多発的に改変される (Johnson and Munshi-South 2017)。その中には、天敵の増減、餌資源の増減などの生物学的な環境変化と、気温の上昇、降水パターンの変化、汚染物質の増加、光環境の改変、騒音の増大などの非生物学的な環境変化が含まれる。また、このような生息地の環境要因の変化だけではなく、生息地の喪失や縮小、分断化などの生息地の構造変化も含まれる (Szulkin et al. 2020)。生息地の喪失は、直接的に生物の個体数を減少させ、また、生物多様性を低下させる可能性がある。実際、都市化は、近年の生物の大量絶滅の一因になっていると考えられている。一方で、環境要因の変化は、生物の発生 (成長) 過程や生理状態の改変を通じて、個体のパフォーマンス、さらには、種や集団の人口学的な動態にも影響する可能性がある (Altermatt and Ebert 2016)。また、近年、さまざまな形質で都市において生物が急速に適応進化していることが示唆されるようになってきた。もし実際に都市環境への適応進化が起きているとすると、このような変化もまた集団の人口動態に影響する可能性がある。したがって、都市化による環境変化が各生物種の栄枯盛衰やその総和としての生物多様性に与える影響を正確に理解するためには、単に環境変化が生物の個体数に与える影響を調べるだけではなく、形質レベルの変化に与える影響を評価しなければならない。

環境の変化に対する生物の形質レベルでの変化には、2種類の変化が含まれる。一つは、「表現型可塑性」、すなわち、進化的な変化を伴わない個体内での応答である。環境要因の変化が、生物の発生 (成長) 過程や生理状態の改変を通じて、形質変化をもたらすのである。このような変化には、発生過程で曝された経験によって成体の形質が不可逆的に決まるような発生学的可塑性や、直前に曝された環境に応じて可逆的かつ迅速に形質を変化させるような短期的柔軟性 (flexibility) が含まれる。なお、このような可塑的な表現型変化には、環境変化に順応するような方向性で生じる場合 (例えば、ある汚染物質に曝されたときに当該汚染物質への耐性を獲得する場合など) もあれば、順応と異なる方向性である場合 (例えば、汚染物質に曝されるほど生存率が低下する場合など) もある。一方、もう一つの表現型レベルの変化は、DNA の塩基配列の変化や集団中の遺伝子頻度の変化を伴うような「進化的変化」である。新規の環境に曝されることで、そのような環境で有利な遺伝的特徴をもった個体が選択され、集団内の平均的な表現型が変化していく場合などが進化的な変化に当たる。また、集団サイズの減少によって確率的に特定の遺伝子型が集団中に固定すること (遺伝的浮動) によって、必ずしも適応的な方向でなく遺伝子頻度が変化していく場合も、進化的変化に含まれる。

近年、多くの生物のさまざまな形質について表現型が都市集団と郊外集団とで異なっていることがわかってきている。たとえば、トンボの一種では、都市の個体が郊外の個体よりも飛行能力の高いことが知られている (Tüzün et al. 2017)。また、鳥類では、都市の個体が郊外の個体よりも高い声でさえずることが明らかになっている (Slabbekoorn and Peet 2003)。ただし、これらの研究の多くでは、表現型の変化が可塑的な変化と進化的な変化のどちらに由来するものなのかを断言することは難しい。なぜなら、これらの研究では、都市と郊外の集団で採集された個体の表現型を測定し、比較しているだけなので、都市と郊外の環境要因の差異によって可塑的に生じた差であるのか、

都市集団と郊外集団の遺伝的（進化的）な差であるのか、あるいはその両方の影響を受けているのかを判断することはできないためである。一方で、相互移植実験やコモンガーデン実験（実験条件下での表現型比較）を行なうことができれば、表現型可塑性と進化的差異のそれぞれの貢献を評価することができるはずである（Gorton et al. 2018）。都市化による環境変化が生物の表現型に与える影響を正確に捕捉するためには、実験条件下での集団間の表現型比較や、実験的に操作した環境での表現型変化を測定することが不可欠である。すなわち、同一条件内での集団間（都市-郊外間）の比較により形質の進化的（遺伝的）な差異を検出し、飼育条件を変化させたときの形質変化を測定することで可塑的な変化の有無やその程度を評価する必要があるのだ。

都市における普遍的な環境変化に、ヒートアイランド現象による温度上昇と夜間照明による光害がある。そこで本研究では、オウトウショウジョウバエ (*Drosophila suzukii*) を用いて、都市化に伴った温度耐性や日周活動の進化的な変化を調べるとともに、温度環境や夜間の光環境の変化が本種の温度耐性や活動性に与える影響を調べた。具体的には、まず、都市集団と郊外集団の高温耐性と低温耐性の進化的な差異を検出するとともに、短時間の高温あるいは低温曝露によって低温耐性と高温耐性がどのように変化するか調べた。さらに、都市集団と郊外集団を用いて、活動性の比較を行なうとともに、夜間照明が活動性に与える影響を調べた。

材料と方法

材料とサンプリング

材料には果実の害虫として知られるオウトウショウジョウバエを用いた。本種はモデル生物のキイロショウジョウバエの近縁種であり、飼育法が確立されていると同時に、さまざまな実験的操作が容易である。また、都市から郊外までの幅広い環境に生息する種であり、都市化の影響評価に適した種である。

千葉県と東京都に関して、アメリカ地質調査所の運用する Landsat8 衛星により観測されたセンサ画像のうち緑地量を表すメッシュ画像（845-885nm、band5）と地表面の土壌の量を表すメッシュ画像（2100-2300nm、band7）を取得した。このとき、landsat8 の衛星画像のうち雲の少ない 2015 年 8 月 6 日画像を用いた。これらの画像データを用いて、QGIS を用いて以下の通り都市化指数（urbanization index）、UI を算出した（Kawamura et al., 1998）。

$$UI = \frac{\text{band7} - \text{band5}}{\text{band7} + \text{band5}}$$

この指数をもとに、UI の高い地域と中程度の地域、低い地域から各 4 地点の緑地を千葉県と東京都内から選定し、サンプリング地点とした（図 1）。各地点の都市化指数として、該地点から半径 5km からの海域を除いた領域内の平均都市化指数を算出した。各メッシュを UI の高い（-0.225 から -0.15）地点と、中程度（-0.35 から -0.225）の地点、低い（-0.5 から -0.35）地点の



図 1. 調査地点。
千葉県と東京都においてサンプリングを実施した。

3段階区分した。なお、これらの地点については、都市化度の高い地点ほど冬季も夏季も日平均気温が高く、夜間の天空の照度が高い（光害が深刻）ことが確認されている（図2）。

各地点で、2019年の5～8月に、サクラ類やクワ、ヤマモモなどの果実を集めた。バイアルに果実を静置し、果実に産卵された個体が羽化するまで待った。羽化した成虫の種同定を行ない、オウトウショウジョウバエであることを確認した。雌成虫を同じ地点から羽化したオスとランダムに交尾させ、その雌を使って各地点2から4の単雌系統を作った。系統内の遺伝的多様性を除去し、サンプリング地点の環境の差に由来する環境効果や母性効果の影響を最小限にするために、実験に供試する前に一定環境（25℃）で3世代以上飼育した。

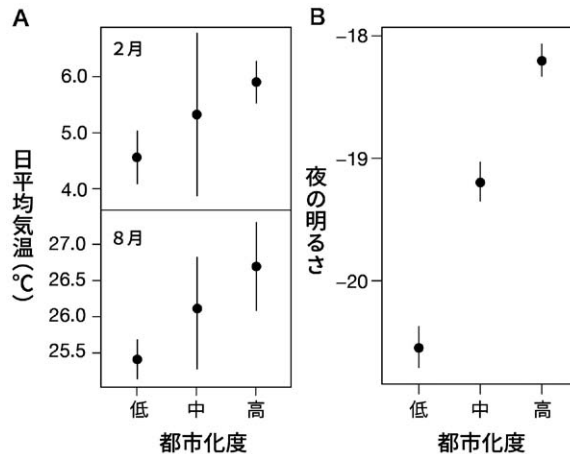


図2. 都市化度と気温や光害（夜の明るさ）の関係。

Aが調査地点における2月と8月の日平均気温で、Bが夜の明るさ（値が大きいほど夜が明るい）を示している。

臨界活動温度測定

成虫の低温耐性と高温耐性の進化的な差異を調べるため、一定の条件で飼育した都市と郊外の系統を用いて、臨界最低温度と臨界最高温度をそれぞれ測定する実験を行なった。まず、各単雌系統を23℃の12L12Dの条件のインキュベータで少なくとも2世代飼育した。羽化してきた雌雄の成虫を0.2mlチューブに1個体ずつ入れ、綿棒の先で蓋をした。このとき、使用する成虫の齢や状態をできる限り統一するため、翅に汚損のあるものや、痩せた成虫については実験に用いなかった。臨界最低温度を測定するため、成虫の入ったチューブをサーマルサイクラーに入れ、温度を25℃から2分あたり1℃低下させた。サーマルサイクラーの温度が1℃低下して1分経過するごとにチューブをサーマルサイクラーから持ち上げて優しくタップし、成虫の運動の有無を記録した。このとき、腹部と足の両方が完全に動かなくなったときに「運動なし」としている。成虫の運動を観察した最低温度を臨界最低温度（ CT_{min} ）とした。臨界最高温度の測定においては、サーマルサイクラーの温度を25℃から2分あたり1℃上昇させた。1℃上昇して1分経過するごとにチューブをサーマルサイクラーから持ち上げて優しくタップし、成虫の運動の有無を記録した。成虫の運動を観察した最高温度を臨界最高温度（ CT_{max} ）とした。

臨界活動温度の柔軟性の測定

短時間の曝露による温度耐性の可塑的な応答の程度を調べるため、以下の実験を行なった。都市化度の高い2地点各1系統、都市化度の低い2地点の各1系統を用いた。雌雄の成虫を麻酔せずに0.2mlチューブに1個体ずつ入れた。このとき、翅に汚損のあるものや、痩せた成虫は実験に

使わなかった。綿棒の先を5 μ lの水で湿らせてからチューブに蓋をし、曝露処理中の乾燥を防いだ。それぞれ、サーマルサイクラーで3 $^{\circ}$ Cと32 $^{\circ}$ Cに2時間曝露した。また、それぞれのコントロールとして、25 $^{\circ}$ Cに2時間曝露する処理も同時に行なわれた。曝露後、曝露の直接的な影響をなくすため、1時間の回復時間を与えた後、低温に曝露した個体とそのコントロール区の臨界最低温度と、高温に曝露した個体とそのコントロール区の臨界最高温度を上述の方法で測定した。

夜間照明が日周活動に与える影響

都市化度の高い3地点の個体と低い3地点の個体を用いた。23 $^{\circ}$ Cの12L12Dの条件飼育してきた雌成虫に産卵させ、得られた卵を以下の4つの処理で飼育した。すなわち、温度条件が2通り(至適温度の22 $^{\circ}$ Cと高温27 $^{\circ}$ C)、夜間の光条件が2通り(0ルクスと10ルクス)の計4通りである。このとき、日中の光条件を約1000ルクスとした。なお、高温条件や夜間照明のある条件が都市の環境を模したものである。これらの環境で飼育したときに得られた成虫について、それぞれの環境において24時間の活動をDrosophila Activity Monitorによって記録した、1時間ごとに集計した。

統計解析

すべての統計解析はRによって行なわれた。表現型を非説明変数、都市化度や曝露した環境条件、サンプリング地点を説明変数として解析を行なった。なお、系統はランダム効果とし、一般化線形混合モデルによって解析している。多重比較にはボンフェローに補正を用いた。

結果

温度耐性の進化的な差異

臨界最低温度はいずれの集団も6~8 $^{\circ}$ Cであることが多かった(図3)。都市化度の低い集団では、臨界最低温度の平均が6.6 $^{\circ}$ Cだったのに対し、都市化度の中程度あるいは高い地域は、その平均が7 $^{\circ}$ C以上であった。都市化度が臨界最低温度に与える影響は有意であった(UI class: $\chi^2 = 13.6, p = 0.001$; sex: $\chi^2 = 14.6, p < 0.001$; site: $\chi^2 = 65.1, p < 0.001$; UI class \times sex: $\chi^2 = 4.67, p = 0.097$; sex \times site: $\chi^2 = 7.63, p = 0.57$)。ペアワイズで検定を行なったところ、中~高度都市化地点は、低都市化クラスの集団よりも臨界最低温度が高く、中程度の都市化クラスと高度都市化クラスの集団では、臨界最低温度に差が認められなかった。このことは、中程度以上の都市化地点において、

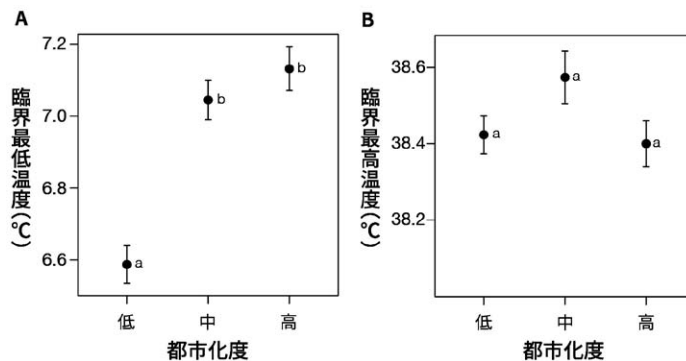


図1. 都市化度と臨界温度の関係。

Aが臨界最低温度(低い値ほど低温耐性が高い)、Bが臨界最高温度(高い値ほど高温耐性が高い)を表す。

低温耐性が低くなる（低温に弱くなる）ような進化が起きていることを示唆している。臨界最高温度は、どの集団でも 34 ~ 36 °C であり、都市化度が臨界最高温度に与える影響は有意ではなかった（UI class: $\chi^2 = 3.54, p = 0.17$; sex: $\chi^2 = 18.2, p < 0.001$; site: $\chi^2 = 13.2, p = 0.15$; UI class \times sex: $\chi^2 = 0.40, p = 0.82$; sex \times site: $\chi^2 = 11.3, p = 0.26$ ）。ペアワイズの検定でも、都市化クラス間での差異は認められなかった。このことは、高温耐性については、都市化度に沿った進化的な差異がないことを示唆している。

曝露処理後の温度耐性

臨界最低温度は前項の結果で示した結果と同様、曝露なしのコントロール区では、都市化度の高い集団ほど高い値を示していた（図 4）。低温曝露により都市化度の高い集団も低い集団も臨界最低温度が減少する傾向にあったが、統計的な有意性はなかった（treatment: $\chi^2 = 0.26, p = 0.61$; UI class: $\chi^2 = 12.5, p < 0.001$; sex: $\chi^2 = 3.19, p = 0.07$; treatment \times UI class: $\chi^2 = 0.014, p = 0.9048738$; treatment \times sex: $\chi^2 = 1.05, p = 0.31$; UI class \times sex: $\chi^2 = 0.15, p = 0.7$ ）。このことは、温度曝露は低温耐性に影響を与えないことを示唆している。一方、臨界最高温度も前項で示したとおり、未処理のコントロール区では都市化度の高い集団と低い集団で差が認められなかった。ただし、高温曝露後には、いずれに都市化度クラスの集団においても臨界最高温度の上昇が認められた。また、その上昇幅は、高都市化度クラスの集団において高い傾向があった。曝露の有無と都市化度の間の有意な交互作用の効果が認められた（treatment: $\chi^2 = 27.0, p < 0.001$; UI class: $\chi^2 = 0.41, p = 0.52$; sex: $\chi^2 = 4.03, p = 0.045$; treatment \times UI class: $\chi^2 = 5.85, p = 0.015$; treatment \times sex: $\chi^2 = 0.07, p = 0.79$; UI class \times sex: $\chi^2 = 0.51, p = 0.48$ ）。このことは、都市由来の系統における高い表現型可塑性の能力の存在を示唆している。量の総計が小さくなっているように見えます。

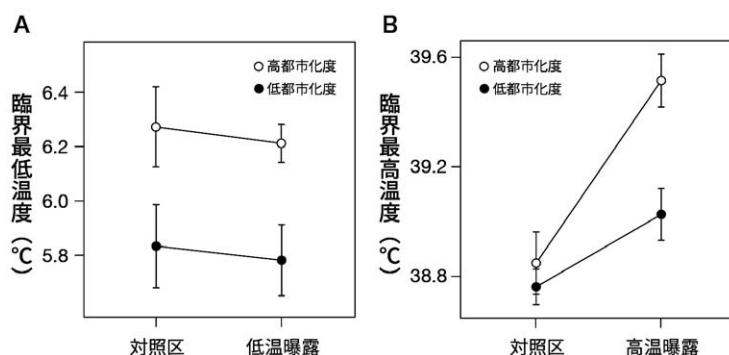


図2. 高温あるいは低温曝露が温度耐性に与える影響。
Aが低温曝露ごとの低温耐性、Bが高温曝露後の高温耐性を示す。

活動パターンの進化的差異と可塑的变化

夜間照明のない至適温度で飼育・観察された個体については、郊外由来の集団では日の出直後と日没直後に明瞭な活動量のピークがあったが、都市集団では、両ピークとも不明瞭であった（図 5）。その傾向は夜間照明のない高温処理においても同様であり、この条件では、日没直後の活動量のピークはまったく見られなくなっていた。一方、微弱な夜間照明のある環境では、都市と郊外いずれの由来の集団においても活動量の著しい低下が認められた。ただし、都市由来の個体については、夜間の活動量が低いながらも維持されているようなパターンが認められた。個体の 24 時間の

総活動量を比較したところ、22℃の環境においては、都市由来の個体は、郊外由来の個体よりも活動量が高く、いずれの由来の集団も光害処理によって活動量が有意に低下することがわかった (light: $\chi^2 = 6.6506, p = 0.01$; UI class: $\chi^2 = 10.31, p = 0.001$; light \times UI class: $\chi^2 = 0.0001, p = 0.99$) (図6)。一方、27℃の処理区では、都市由来の個体のほうが活動量が高く、夜間の証明により活動量が低下

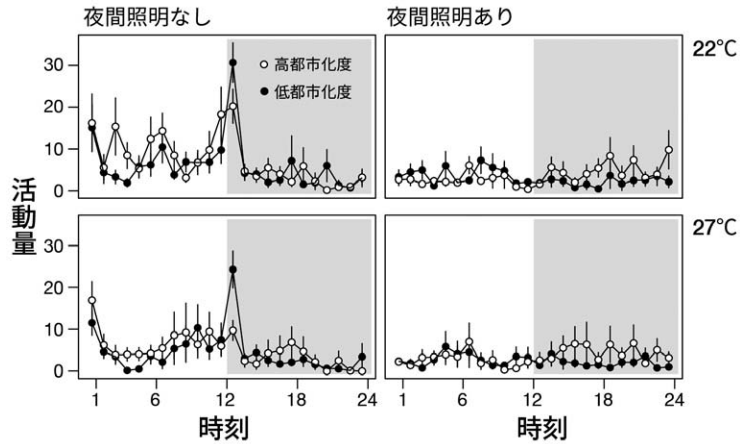


図3. 異なった条件で飼育・測定された成虫の日周活動。パネル内の白い背景が明期、灰色の背景が暗期を示す。

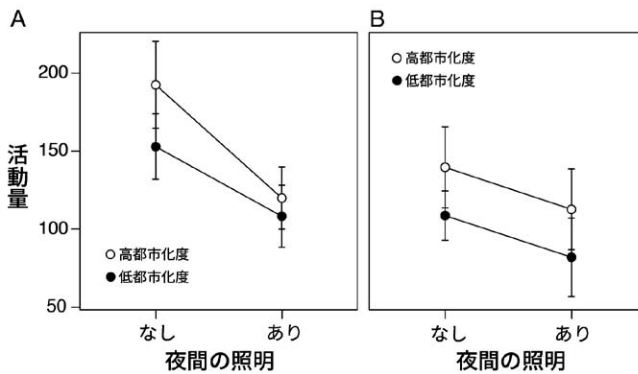


図4. 夜間照明が一日の総活動量に与える影響。Aが22℃条件、Bが27℃条件の結果を示す。

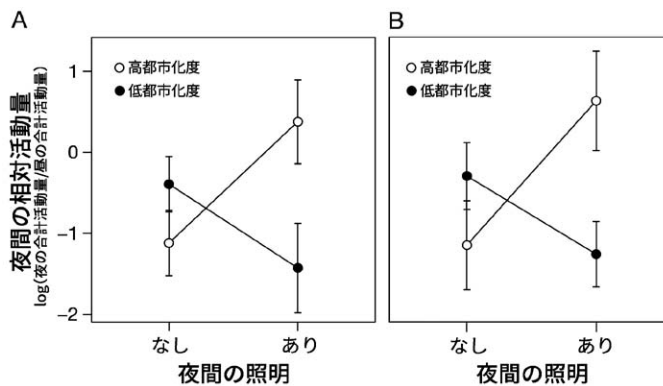


図5. 夜間の相対活動量。Aが22℃条件、Bが27℃条件の結果を示す。

する傾向が認められたが、いずれも有意ではなかった (light: $\chi^2 = 2.33, p = 0.13$; UI class: $\chi^2 = 0.36, p = 0.55$; light \times UI class: $\chi^2 = 0.14, p = 0.71$)。次に、夜間の相対的な活動量の強さを評価するため、個体ごとに日中の活動量に対する夜間の活動量の割合を算出した。すると、いずれの温度環境においても夜間の相対活動量に対する都市化度と光害の有無の有意な交互作用が検出された (22℃: light: $\chi^2 = 0.52, p = 0.47$; UI class: $\chi^2 = 0.34, p = 0.56$; light \times UI class: $\chi^2 = 7.38, p = 0.007$, 27℃: light: $\chi^2 = 0.68, p = 0.41$; UI class: $\chi^2 = 0.23, p = 0.63$; light \times UI class: $\chi^2 = 9.4, p = 0.002$, 図7)。このことは、光害のある環境において、都市個体は夜間の活動量を可塑的に増やしていることを示唆している。

考 察

低温耐性には進化的な差がみられたことから、都市個体は年間を通じて温度の高い都市環境に進出する過程で、低温耐性を喪失するような進化を起こしていることが示唆された。一方で、低温耐性については、低温曝露による可塑的な変化が認められなかった。このことは、都市の個体は、遺伝的にも可塑的にも低温への適応ができなくなっていることを示している。また、高温曝露を行なわなかった場合には、高温耐性に都市と郊外の集団で差が認められなかったが、高温曝露により、都市由来の集団は郊外由来の集団よりも著しく高い高温耐性を示した。このことは、都市の個体は高い表現型可塑性の能力を有し、柔軟に温度耐性を変化させることができることを示唆している。都市に進出した個体は、高い可塑性能力を進化させることで都市環境への進出に成功したのかもしれない。一般に、理論的には、新規環境への定着の初期に可塑性の高さが寄与することが示されている (Levis and Pfennig 2016)。今回の結果は理論と一致している。

活動性の日周リズムは、郊外由来の系統では、明瞭であるのに対して、都市由来の系統では、不明瞭であった。また、一日を通じて活動性が高い傾向にあった。これらの差は、都市と郊外の間での進化的な差異であると考えられる。一方、夜間にわずか 10ルクスの照明があるだけで、いずれの由来の個体も活動量が著しく低下した。これは光害の直接的な影響であるといえ、この影響が昆虫類の活動性や繁殖に影響すると考えられた。この結果は夜間の光が非順応的な可塑的变化を引き起こしていることを示唆しています。また、光害のある環境において都市集団だけで夜間の活動性が高まったことは、自然環境においも夜間の環境に活動時間を進化的に拡張させていることを示唆している。

以上の結果は、温度耐性やそれに関わる可塑性の能力、さらに活動性やそれに関わる可塑適応に関して、都市集団のける進化的な差異が存在することを示唆している。また、高温や光害が生物の活動に多大な直接的な影響 (温度耐性の変化や日周活動パターンの変化など) を与えていることを示唆している。今後は、本研究で測定した形質以外の生存や繁殖に影響しそうな形質をさらに測定・比較することで昆虫類への都市化の影響を総合的に評価していく。また、温度や光以外の公害についても焦点をあてるとともに、より詳細にこれらの要因を実験的に操作することで、どの程度の環境変化が生物に影響を与えるのかを定量していく。このことを通じて、環境影響や生物影響を最小化するような都市開発の指針を示すことができるはずである。

都市化という現象は、現在までのたった 200 年程度で生じた環境変化の一つである。このような急速な環境変化に対して生物が進化し、適応しているのかは、十分に検証されていない。本研究は、

都市化によって生物が進化的に変化していることを実証することに成功した。都市において生物の形質がこれほどまでに進化し、変化しているということを前提とすると、新たなリスクを検討する必要がある。すなわち、都市で進化し、都市に適応した、すなわち、郊外環境ではむしろ不利になるような特徴をもった個体が、郊外環境に再移入するというリスクである（例えば、低温耐性の低い都市型個体が郊外に移入するような状況）。郊外で非適応的な個体に移入してくると、郊外の集団の平均的な適応度（繁殖成功度）は低下するかもしれない。このように異なった環境から個体が移動し、その個体を受け入れる側の集団において集団の平均的な適応度を下げる効果は移住荷重と呼ばれる（Bridle and Vines 2007）。移住荷重は、その強さによっては移住を受ける側の集団の局所絶滅をもたらすこともある。したがって、今後、都市化の二次的な災害として、移住荷重が公害環境の生物に与える影響に着目することの重要性になるかもしれない。

引用文献

- Altermatt, F., and D. Ebert. 2016. Reduced flight-to-light behaviour of moth populations exposed to long-term urban light pollution. *Biology Letters* 12:20160111.
- Bridle, J. R., and T. H. Vines. 2007. Limits to evolution at range margins: when and why does adaptation fail? *Trends in Ecology & Evolution* 22:140–147.
- Gorton, A. J., D. A. Moeller, and P. Tiffin. 2018. Little plant, big city: a test of adaptation to urban environments in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*). *Proceedings. Biological Sciences* 285.
- Johnson, M. T. J., and J. Munshi-South. 2017. Evolution of life in urban environments. *Science* 358.
- Levis, N. A., and D. W. Pfennig. 2016. Evaluating ‘plasticity-first’ evolution in nature: Key criteria and empirical approaches. *Trends in Ecology & Evolution* 31:563–574.
- Slabbekoorn, H., and M. Peet. 2003. Birds sing at a higher pitch in urban noise. *Nature* 424:267–267.
- Szulkin, M., J. Munshi-South, and A. Charmantier, editors. 2020. *Urban Evolutionary Biology*. Oxford University Press, Oxford, New York.
- Tüzün, N., L. Op de Beeck, and R. Stoks. 2017. Sexual selection reinforces a higher flight endurance in urban damselflies. *Evolutionary Applications* 10:694–703.