

## 研究助成実施報告書

助成実施年度	2019 年度
研究課題（タイトル）	都市化がもたらす生物の形質へのインパクトの評価
研究者名※	高橋 佑磨
所属組織※	千葉大学大学院理学研究院 特任助教 (千葉大学大学院理学研究院 准教授)
研究種別	研究助成
研究分野	都市計画、都市景観
助成金額	150 万円
発表論文等	

※研究者名、所属組織は申請当時の名称となります。

( ) は、報告書提出時所属先。

# 大林財団2019年度研究助成実施報告書

所属機関名

千葉大学

申請者氏名

高橋佑磨

研究課題	都市化がもたらす生物の形質へのインパクトの評価
<p>(概要) ※最大10行まで</p> <p>近年、人間活動が原因となり生物の生息地の生物的・無機的环境は急速に変化している。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、このような環境変化が都市の生物にさまざまな影響を与えていると考えられている。しかし、表現型レベルでそのような影響を評価した研究は稀である。本研究では、果樹害虫のオウトウショウジョウバエ (<i>Drosophila suzukii</i>) を用いて、都市化に伴う表現型の進化的、可塑的変化の成否を多角的に検証することを目的とした。その結果、温度耐性が都市-郊外勾配に沿って有意に変化していることがわかった。また、夜間に微弱な人工光を当てて飼育すると、成虫の活動量が著しく低下することがわかった。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すとともに、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。</p>	

1. 研究の目的	(注) 必要なページ数をご使用ください。
<p>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。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。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。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。</p> <p>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</p>	

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。

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。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。

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。

## 2. 研究の経過

(注) 必要なページ数をご使用ください。

### 材料

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 (845–885 nm、band5) と地表面の土壌の量を表すメッシュ画像 (2100–2300 nm、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。

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

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 5 km 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 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、オウトウシヨ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°C) で 3 世代以上飼育した。



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。

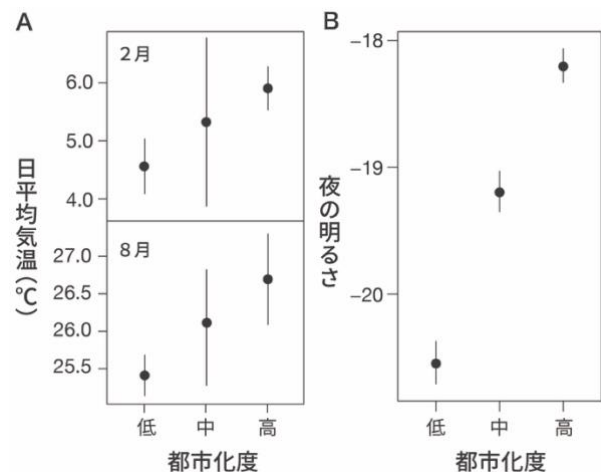


図 2. 都市化度と気温や光害 (夜の明るさ) の関係. A が調査地点における 2 月と 8 月の日平均気温で、B が夜の明るさ (値が大きいくほど夜が明るい) を示している。

#### 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°C 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°C から 2 分あたり 1°C 低下させた。サーマルサイクラーの温度が 1°C 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<sub>min</sub>) 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°C から 2 分あたり 1°C 上昇させた。1°C 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<sub>max</sub>) 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

チューブに一個体ずつ入れた。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  $\mu$ 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るため、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。

### 3. 研究の成果

(注) 必要なページ数をご使用ください。

#### 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。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、低温耐性が低くなる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  $^{\circ}$ 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。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、都市化に沿った進化的な差異がないことを示唆している。

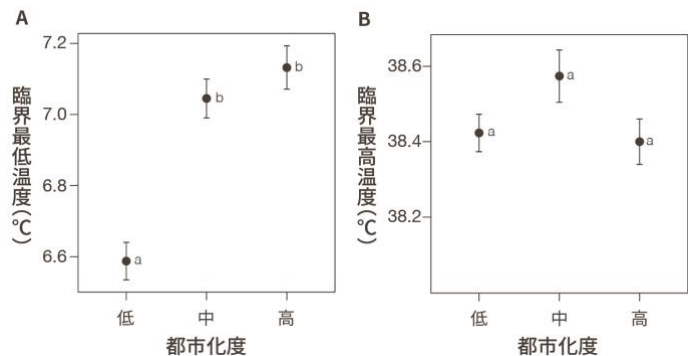


図 2. 都市化度と臨界温度の関係。A が臨界最低温度（低い値ほど低温耐性が高い）、B が臨界最高温度（高い値ほど高温耐性が高い）を表す。

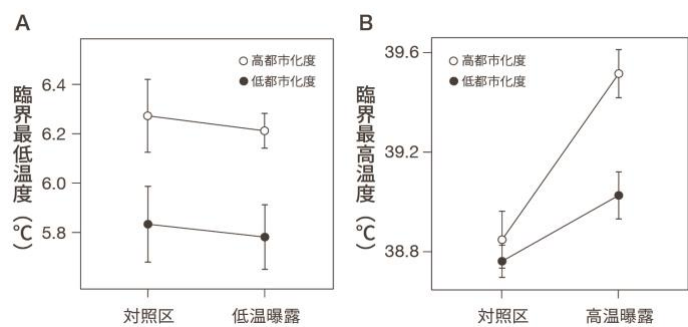


図 1. 高温あるいは低温曝露が温度耐性に与える影響。A が低温曝露ごとの低温耐性、B が高温曝露後の高温耐性を示す。

### 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。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。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。

### 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°C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（図6）。一方、27°C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する傾向が認められたが、いずれも有意ではなかった。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（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。

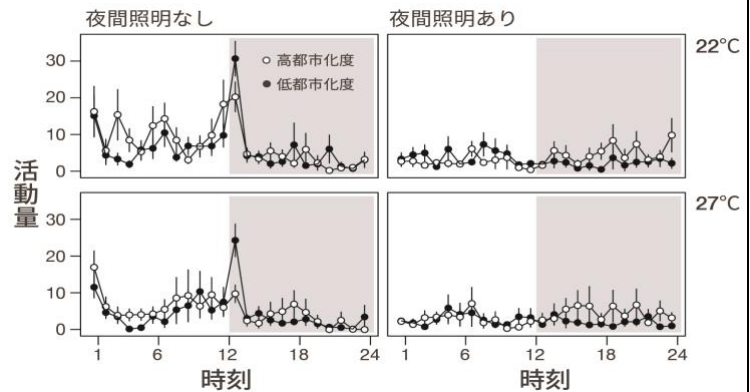


図3. 異なる条件で飼育・測定された成虫の日周活動。パネル内の白い背景が明期、灰色の背景が暗期を示す。

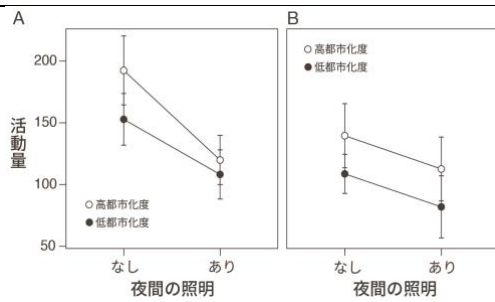


図 5. 夜間照明が一日の総活動量に与える影響. A が 22°C 条件、B が 27°C 条件の結果を示す。

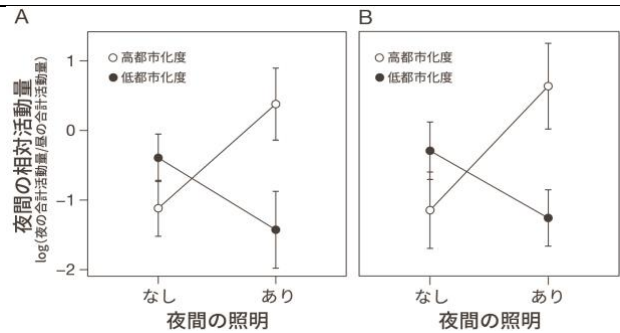


図 4. 夜間の相対活動量. A が 22°C 条件、B が 27°C 条件の結果を示す。

#### 4. 今後の課題

(注) 必要なページ数をご使用ください。

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出てくる。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。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。

なお、都市においては、一般に、生息地に分断化が生じる。生息地の分断化は、各集団における遺伝的多様性を喪失させたりする。各集団における独立した多様性の喪失は、異なった遺伝子型を確率的に固定させる可能性がある。すなわち、今回観察された遺伝的な変異が適応進化によるものなのか確率的浮動によるものなのかは現時点では、区別ができない。今後は、本研究で得られたサンプルをもとに集団遺伝学的な解析を行なうことで、これらを区別する予定である。