研究成果報告書 科学研究費助成事業



6 月 1 2 日現在 今和 元 年

機関番号: 24506

研究種目: 基盤研究(C)(一般)

研究期間: 2016~2018

課題番号: 16K00402

研究課題名(和文)昆虫を対象とした行動解析支援プログラムの開発

研究課題名(英文)Development of a program to support behaviral analysis for insects

研究代表者

木村 敏文 (Kimura, Toshifumi)

兵庫県立大学・環境人間学部・助教

研究者番号:00316035

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文):本研究では昆虫を対象とする行動解析支援プログラムの開発を行った。対象とする昆虫(ミツバチ、アリ、アリグモなど)の行動を記録した映像から個体ごとの位置情報を複数個体同時追跡プログラムK-TracKを用いて取得した。また、これまで通り、手動での位置取得も行った。これらのデータを基に動物行動学者と共に行動の分類を行い、自動で分類するためのルールを作成した。さらにこのルールをアルゴリズム化し実装した新しいプログラムの開発を行った。開発したプログラムでは、行動を記録した映像を用いて個体位置取得から行動分類までの一連の作業を自動で行うことを可能とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義本研究で開発したプログラムは、これまで多くの動物行動学者が手動で行い、膨大な時間を費やしていた個体ごとの位置取得や行動分類も自動で行うことが可能となる。このことにより、動物行動学者は基本的なデータを取得する作業量の軽減できるため、新たな知見の検討に集中することができるようになる。また、これまでは難しかった行動と神経活動や化学物質の分泌などの現象を組み合わせた新たな行動メカニズム解明手法の確立にもつながることが期待できる。

研究成果の概要(英文): In this research, I developed a new supporting program to analyze insects' behaviors. The location data of individuasI, such as honeybee, ant, mimic-spider, were obtained from experimental videos recording their behaviors using our developed tracking software, K-Track, and manual work. I classified their behaviors with ethologists using these data and made a classification rule of the behaviors. I developed a new tracking program with a behavioral classification function. The program can execute a series of work from getting locations of individuals to classify their behaviors automatically.

研究分野: 生態画像解析

キーワード: 生態画像解析 社会性昆虫 行動解析 バイオインフォマティクス

様 式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

1.研究開始当初の背景

動物の中には社会性を持つものがおり、独自の社会性行動で発展を遂げてきた。社会性といっても種によって異なり、それらのメカニズムを解明することは、生物学では大きなテーマである。ミツバチやアリなどの社会性昆虫は、比較的神経の数が少なく、行動と神経活動の両方を見ることができることから、多くの研究者が対象としているモデル生物となっている。個体としての行動から集団行動まで、さらに神経活動や化学物質の分泌についての詳細な研究が行われている。これらの研究において、個々の個体を識別し、正確な行動を把握することも重要である。デジタルビデオカメラのような記録機器の低価格化、高性能化が進んだことで、最近の研究では、生物の行動が手軽に長時間、記録されるようになってきた。しかし、記録した映像からそれぞれ個体の位置情報や行動を分類するためのデータの取得は今なお手作業で行っていることが多く、膨大な時間を要するため、取得した映像を間引いて解析する(Okada et al, 2014)、という状況となっている。結果的に未解析映像が大量に残されてしまう事態が生じている。本来、社会性行動を知る上で重要な「集団」としての行動戦略を解明するためには個々の個体ごとの行動を詳しく解析する必要である。しかし、情報を間引いた解析では重要な現象を見落としていることも考えられる。そのため、多くの研究者たちは行動解析を支援するプログラム開発を求めている。

2.研究の目的

社会性を持った動物は集団として高い環境適応能力を有し、効率の良いコロニー維持機構を持っている。社会性昆虫であるミツバチの社会性を解明するためには「個体」と「集団」という2つの観点から巣内での役割やその分布の変化を長期に渡って、観察・解析する必要があるが、このような報告はまだない。我々の研究グループでは、これまでに複数個体同時追跡プログラム K-Track (Kimura et al., 2014)を開発してきた。本研究では、K-Track で得られる個体ごとの正確な位置情報に、動物行動学の研究者が経験的に持っている行動分類法を実装した行動解析支援プログラム開発を目的としている。これまで時間を要していた作業の軽減につながり、研究者たちが行動記録映像から詳細な行動戦略解明を行うための足掛かりになることが期待できる。

3.研究の方法

動物を対象とした行動実験において、特別な機材を使わなくても手軽に映像を記録できるため、多くの未処理映像が蓄積されている。これらの映像には有益なデータが含まれているため、行動解析のためのプログラム開発が求められている。我々は、これまでにミツバチを対象とした複数個体同時追跡プログラム K-Track の開発を行ってきた (Kimura et al.,2014)。本研究では K-Track をベースに行動解析支援プログラムの開発を行う。本研究では 3 つの課題に取り組んだ。

- (1) 複数個体同時追跡プログラム K-Track を用いたデータ取得 我々の研究グループで開発したミツバチを対象とした複数個体同時追跡プログラム K-Track (Kimura et al., 2014)をこれまでに開発してきた。K-Track では平面アリー ナ上を移動する複数ミツバチ(マークなし)を個体ごとの検出・識別し、位置情報や移 動軌跡を精度良く取得することができる。K-Track を用いて、これまで撮りためた多く の映像(ミツバチ、アルゼンチンアリ、アリグモ)からデータ取得を行う。また、同じ 映像に対して、手動でもデータ取得を行った。
- (2) 行動分類手法のアルゴリズム化
 - コンピュータを用いて自動で行動分類を行うためには、以下の2 つの方法を用いた。 動物行動学の研究者が経験的に持っている分類方法を理解する

K-Track で得られたデータと行動分類を対応付けて、行動ごとに定義する個体ごとの位置情報や専門家の知識から行動分類アルゴリズムの構築を目指す。

(3) 行動解析支援プログラムの開発

K-Track に行動分類手法のアルゴリズム(課題(2))を実装することで、行動解析支援を目的としたプログラムを開発する。開発段階から連携研究者や研究協力者にプログラム提供を行い、取得するデータの評価をフィードバックしてもらいながら、プログラムや行動解析アルゴリズムの精度向上を目指す。

4. 研究成果

(1) 複数個体同時追跡プログラム K-Track を用いたデータ取得

共同研究で対象としている昆虫の実験映像に対して、個体位置情報の取得を行った。2つの手法(複数個体同時追跡プログラム K-Track (Kimura et al., 2014)を用いた自動位置取得、 画像処理ソフトウェア Fiji (https://fiji.sc/)を用いた手動位置取得)を用いて、個体位置情報取得を行った。もともと、K-Track の行動追跡の対象はミツバチであるために、ミツバチ以外の昆虫では調整が必要になる。ミツバチに比べて、速いスピードで動くことがあり、ジャンプや衝突により不規則な動きが発生するなど、が観察できた。K-Track の追跡ルールを多少調整しながら位置情報の抽出を行った。2つの

作業において、行動解析の基本となる情報(個体ごとの位置情報、移動速度、移動距離、 個体間距離など)を取得することができた。

(2) 行動分類手法のアルゴリズム化

K-Track によって得られた行動データ、および、手動で取得した位置データを動物行動学の研究者に提供し、共同研究者と共に行動分類について、検討を行った。提供データによって、個体ごとの動きを図示化し、動きの変化を数値的に提示することで、行動解析の基本データを提供し、行動実験で行ってきた行動の把握や行動の分類している方法の記述を行った。

本研究では一連の作業を確立するために、ミツバチの行動実験映像を用いた。共同研究者は彼らの行動実験においてミツバチ個体の動きの特徴から 4 つの行動に分類 (Random Walk, Wall Following, Goal Finding, Immobility) している。コンピュータで自動解析するために、彼らの行動分類を基に位置データから行動パラメータを取得し、分類に必要なパラメータを検討し、アルゴリズム化を行った。

(3) 行動解析支援プログラムの開発

K-Track で得られる個体ごとの正確な位置情報に、動物行動学者が持つ個体の行動分類の知識を組み込んだ行動解析支援プログラムの開発を行った。K-Track のアルゴリズムに、動物行動学者によって定義された行動パターンを基にした行動分類アルゴリズム化し、プログラムに実装することで、昆虫を対象とした行動解析支援プログラム開発を行った。開発したプログラムでは、アリーナ上での複数個体の映像からフレームごとの位置を検出する、個体ごとの位置情報を移動軌跡とし、定義した行動パターン分類を行う、という2つのことが自動で行うことが可能となった。

ミツバチにおいて、共同研究者が手動で行っていた映像に対して、開発したプログラムを用いて、行動追跡から行動解析までを自動で行った。得られた結果は、共同研究者が手動で行った結果と同等なものであった。実験において、個体ごと、映像全体で分類した行動の割合を取得できる。また、行動の変化を可視化することができる(図1)。

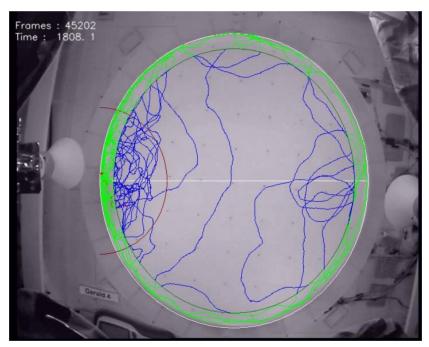


図1.行動分類結果を行動記録映像に重ね合わせた結果例。色ごとに行動を割り当てている。

(4) 逆再生映像を用いた K-Track の改良

本研究の課題を実施する中で、ミツバチの行動については順方向映像を用いるよりも、逆方向映像から移動推定する方がうまく推定できることがあることがわかった。 K-Track の移動追跡を順方向映像だけでなく、逆方向映像を用いた移動推定手法を提案した (Kimura et al., 2019)。提案手法は、これまでの K-Track のアルゴリズムを基にしているため、大きな変更なく利用することができることが特徴である。

順方向映像だけでなく、逆方向映像を用いた移動推定を行う新しい追跡アルゴリズム K-Track-kai は、次の手順で推定を行っている。

K-Track のアルゴリズムを用い、順方向映像、逆方向映像、両方の映像から行動追跡結果を得る

追跡結果から交差するシーンの基本データ (開始時間、終了時間、交差 個体、位置情報)を取得する

2つの追跡結果が異なる交差シーンをピックアップする結果が異なる交差シーンで各個体の最大移動距離を求める

順方向、逆方向、2つの追跡結果の最大移動距離を比較し、小さい値を 持つ追跡結果を対象となる交差シーンの追跡結果として、採用する 交差シーンをすべて処理するまで、 に戻る 追跡結果を位置情報や移動軌跡として出力する

この手法を基にプロトタイプを開発した。K-Track の性能を示すために用いた映像でK-Track-kai、と、K-Track の性能比較を行った。K-Track で追跡ミスが発生したシーンの追跡経路修正を行うことができ、全体の結果として、追跡率が 91.7%から 96.4%に向上した。

本研究では昆虫を対象とした行動解析支援プログラムの開発を行った。行動記録映像を用いることで、位置情報取得から行動分類までを自動で行うための仕組みを構築した。本研究は、行動分類および行動のアルゴリズム化、さらにコンピュータプログラムへの実装、という一連の作業の流れを確立した。研究を遂行する中で、ミツバチの行動には逆再生で観察した方が追跡しやすいシーンも存在することを発見した。この考えも基に、これまでの複数個体同時追跡ソフトウェア K-Track の改良版 K-Track-kai を開発し、追跡率向上につなげることができた。

今後、開発したプログラムから得られた結果を基に、共同研究者と共に、今後の行動解析に 利用していく。また、神経活動、化学物質の分泌など他の要素とも組み合わせた行動解析も行って行く予定である。また、得られた知見を基に論文や学会での発表を行っていく予定である。

< 引用文献 >

R. Okada, H. Ikeno, T. Kimura, M. Ohashi, H. Aonuma. E. Ito, Error in the Honeybee Waggle Dance Improves Foraging Flexibility, Scientific Reports, 2014, DOI: 10.1038/srep04175

T.Kimura, M. Ohashi, K. Crailsheim, T. Schmickl, R. Okada, G. Radspieler, H. Ikeno, Development of a new method to track multiple honey bees with complex behaviors on a flat laboratory arena, PLOS ONE, 2014, DOI: 10.1371/journal.pone.0084656

Toshifumi Kimura, Mizue Ohashi, Karl Crailsheim, Thomas Schmickl, Ryuichi Okada, Gerald Radspieler, Teijiro Isokawa and Hidetoshi Ikeno, A Heuristic Trajectory Decision Method to Enhance the Tracking Performance of Multiple Honeybees on a Flat Laboratory Arena, システム制御情報学会論文誌,第32巻第3号,2019,113-122

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計2件)

Toshifumi Kimura, Mizue Ohashi, Karl Crailsheim, Thomas Schmickl, Ryuichi Okada, Gerald Radspieler, Teijiro Isokawa and Hidetoshi Ikeno, A Heuristic Trajectory Decision Method to Enhance the Tracking Performance of Multiple Honeybees on a Flat Laboratory Arena, システム制御情報学会論文誌,査読有,第32巻第3号,2019,113-122

Toshifumi Kimura, Mizue Ohashi, Karl Crailshiem, Thomas Schmickl, Ryuichi Okada, Geranld Radspieler, Teijiro Isokawa, Hidetoshi Ikeno, Automatic tracking method for multiple honeybees using backward-play movies, Proceedings of the 6th International Conference on Infromatics, Electronics & Vision,查読有, 2017,

DOI: 10.1109/ICIEV.2017.8338596

[学会発表](計 10 件)

木村敏文, 大橋瑞江, 岡田龍一, 礒川悌次郎, 池野英利, 逆再生ビデオを用いた行動追跡システムの精度向上の試み, 第8回ミツバチシンポジウム, 福岡, 2019.2

Shunya Habe, Shigeru Matsuyama, <u>Toshifumi Kimura</u>, Mamiko Ozaki, Newly identified male pheromone in Camponotus japonicus and its effects on neural activity and behavioral control, The 40th Annual Meeting-Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry, Kobe, 2018.11

<u>木村敏文</u>, 大橋瑞江, 岡田龍一, 池野英利, ミツバチ行動解析におけるコンピュータ支援の試み, 第 6 回ミツバチシンポジウム, 姫路, 2018.3

Yoshiaki Hashitomo, Runa Nagahama, <u>Toshifumi Kimura</u>, Hidetoshi Ikeno, Mizue Ohashi, Pattern of Ant Walk - Learning from Ant-mimicking spider, SWARM2017: Second international symposium on swarm behavior and bio-inspired robotics, Kyoto University, Kyoto, 2017.10

<u>Toshifumi Kimura</u>, Mizue Ohashi, Ryuichi Okada, Hidetoshi Ikeno, Automatic tracking method for multiple honeybees using backward-play movies, the 6th International Conference on Infromatics, Electronics & Vision (ICIEV17), Himeji, Japan, 2017.9

吉田澪,大橋瑞江,<u>木村敏文</u>,岡田龍一,池野英利,ミツバチコロニーのエネルギー収支の見積もり-成長期と退行期の比較,日本生態学会第64回全国大会,東京,2017.3

甘中健一,池野英利,岡田龍一,木村敏文,大橋瑞江,ミツバチコロニーの成長と退行特性に関

する数理モデル解析,第6回ミツバチシンポジウム,福岡,2017.2

吉田澪,大橋瑞江,木村敏文,岡田龍一,池野英利,ミツバチコロニーのエネルギー収支の季節変化-成長期と退行期の比較,第6回ミツバチシンポジウム,福岡,2017.2

<u>Toshifumi Kimura</u>, Mizue Ohashi, Ryuichi Okada and Hidetoshi Ikeno, Improvement in processing time of the tracking software, K-Track, The 38th Annual Meeting-Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry (JSCPB 2016 Tokyo), Tamagawa, 2016.9

<u>Toshifumi Kimura</u>, Mizue Ohashi, Ryuichi Okada, Hidetoshi Ikeno (2016), Tracking tool for animal behavior on a flat area, International Symposium: Environmental Sensing and Animal Behavior, Tokyo, 2016.6

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

連携研究者氏名:池野 英利

ローマ字氏名: (IKENO, Hidetoshi)

連携研究者氏名:大橋 瑞江 ローマ字氏名:(OHASHI, Mizue)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。