

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2009

課題番号：19500258

研究課題名(和文) マルチモーダル刺激によるミツバチ連合学習の情報処理と行動制御に関する研究

研究課題名(英文) Information processing and behavioral control by multimodal stimuli in honey bee

研究代表者

池野 英利 (IKENO HIDETOSHI)

兵庫県立大学・環境人間学部・教授

研究者番号：80176114

研究成果の概要(和文)：

本研究ではマルチモーダルな刺激に対するミツバチの飛行行動について実験を進め、その行動の機序となる脳・神経機構の数理モデル構築を目指した。まず、聴覚、視覚、嗅覚刺激を対象に、風洞内での自由飛行、微小トルク計に固定したフライトシミュレータという異なる飛行状態での行動を観測する新たな実験プロトコルを開発した。フライトシミュレータを用いた飛行実験においては、前方に提示した図形の形状と色では刺激提示の位置普遍性に違いがあることを示した。また、前方からの聴覚刺激に対しては、音の強度、周波数だけでなく、リズムに対して趣向性を持つことを示した。嗅覚刺激に対する反応はフライトシミュレータにおいては明確には観測されなかったが、風洞を用いた自由飛行においては匂い刺激の存在する領域とない領域の境界付近において、飛行方向を急激に変える行動が見られた。この行動変容は、学習した場所付近を探索する飛行行動と記憶した刺激に定位する行動の切り替えが、このタイミングで生じている可能性を示唆するものであった。飛行軌跡を詳細に解析した結果、この急激な方向変化は脳における行動のスイッチングを反映しており、飛行行動を制御する2つのプロセスの存在が示唆された。この2つのプロセスの切替えタイミングによる個体行動のバラエティは、環境変化への適用性を高める役割を果たしている可能性を示唆するものである。

研究成果の概要(英文)：

In this study, flight behavior of honeybee to various kinds of sensory stimuli was experimented and analyzed. It is expected to provide new insight into construct a mathematical model for flight control mechanism of the flight insect. We are developed a new experimental setup and protocol to measure the flight properties under the free and tethered flight conditions stimulating with visual, auditory and olfactory stimuli. In the tethered experiments by our flight simulator, it was shown that shape and color information has a different positional universality in the honeybee vision. It was also shown that rhythmic sounds caused by the waggle dance in the honeybee colony tended to make orientation to the sound source even under the flight. Furthermore, using a wind tunnel, in which the airflow and wind direction were stabilized, we recorded flying bees with a video camera to analyze the flight area, velocity, angular velocity and direction. Bees were trained with an artificial feeder with an odor in the center of wind tunnel. After the feeder was removed, the flight behavior was compared under the condition with or without the olfactory stimulus, given from a glass pipe, located upwind from the feeder place. In this experiment, the results shown that velocity, angular velocity and direction were different between the inside and the outside of the odor area. Flight trajectories tend to be bent or curve in the just outside of the odor range. Two type of behavioral control process, recalling memory place and acquiring external sensory signal, were existed and switched to make variation of individual flight properties. The variability of behaviors could be important to adapt to the environmental changes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード： (1)ミツバチ (2)行動制御 (3)感覚統合 (4)条件づけ (5)学習・記憶

1. 研究開始当初の背景

社会性昆虫であるセイヨウミツバチは、女王バチ、働きバチからなる集団（コロニー）を形成し生活している。ミツバチは集団で越冬するため、夏季に十分な蜜を貯蔵する必要があり、餌場への到達のためのナビゲーション情報を抽出、利用している。すなわち、採餌に出かける蜂たちは、太陽と偏光を利用して飛行方向を認識し(Whener and Rossel, 1985; von Frisch, 1993)、オプティックフローによって距離を計測している (Esch and Burns, 1995,1996; Srinivasan et al., 1996,1997,2000; Esch et al., 2001; Tautz et al., 2004)。さらに、これら餌場の位置情報を記憶することで、同じ餌場を繰り返し訪問することを可能にし、巣仲間に対しても餌場の位置を伝えている。

このナビゲーションにおいては、方向、距離情報だけではなく、目標となる対象の視覚、嗅覚などの感覚情報も複合的に利用していることが知られている(von Frisch, 1915, 1919)。von Frisch は色付きの餌場を数種類用意してミツバチを訓練させ、その後餌を取り除いて記憶した色を別のものと入れ替える実験を行った。その結果、ミツバチは記憶した色の元へ向かう行動を示し、同様に匂い付きの餌場を用いた実験により匂い情報も活用していることを示した。これら一連の実験により、ミツバチが採餌に餌場の視覚情報、嗅覚情報を記憶して利用していることが明らかとなった。

このような古典的な実験以降、ミツバチの採餌飛行に関しては視覚情報に基づくナビゲーションについては多くの知見が得られている一方で、匂い情報の利用については、刺激と行動の関連付けが難しく、それほど多くの知見が得られていない。そのような状況の中、餌場へのマーキング行動 (Wenner et al, 1969; Vladusich et al., 2006) や、巣内活動や栄養交換時において巣仲間が持ち帰った蜜の匂い学習 (Kirchner et al, 1998; Gil and Marco, 2004; Gruter et al. 2006) について実験がなされており、また、Reinhard et al., 2004 の実験ではミツバチを特定の匂いと餌場を連合するよう訓練しておき、その後、巣箱内にその匂いを注入すると記憶した餌場を訪問することが示されている。これらのことから、飛行行動が視覚情報に大いに依存していると考えられる中で、嗅覚情報もまた飛行経路を決める重要な情報源になっており、その影響や視覚情報との関係について詳細な解析が必要とされてきた。

なお、ミツバチの嗅覚に関しては自由飛行下でのフィールド実験や吻伸展反射 (PER) による学習実験が盛んに行われており、ミツバチの優れた嗅覚学習能力 (Takeda, 1961; Sandoz et al., 2000; Wager, 2000; Rogers, 2008; Geraldine, 2009; Wright, 2009) や匂い識別能力 (Laska et al, 1999) が明らかとなっている。また、遺伝子レベルでの研究も行われており、現在 170 の匂いレセプター遺伝子が特定されている。この数値は他の昆虫の 2 倍以上であり、他の昆虫と比較しても、ミツバチが嗅覚情報を重要視していることがうかがえる (Wells et al., 2010)。

昆虫類の嗅覚ナビゲーションに関する研究はこれまでも行われており、アリ、ハエ、甲虫類、ガ等では匂い源に対して風上に向かって移動することで匂い源に向かうことが示されている (Kellog et al., 1962; Baker et al., 1984,1985; Byers, 1988; Willis et al., 1991;

Whener and Wolf, 2000; Barata and Araujo, 2001; Frye et al., 2002; Budick and Dickinson, 2006; Becher et al., 2010)。特に、飛翔昆虫であるガの仲間では性フェロモンに対するアプローチが詳細に調べられており、風洞を用いた実験により匂い源に対して、ジグザグ飛行によってアプローチすることが分かっている (Baker et al., 1984,1985; Willis et al., 1991)。このジグザグ飛行は匂いの中にいると直進、匂いの外に出るとターンするという行動を繰り返すことによって実現されている。

2. 研究の目的

Vladusich et al., 2006 はミツバチの餌場マーキングの匂いの影響を調べるために、ミツバチを風洞内の餌場に通うように訓練し、その後餌場を取り除いて、再びミツバチが風洞内を探索した時のターンの位置を調べた。その結果、風洞内に匂いがある場合とない場合では行動の違いが見られた。Vladusich らはこれについて匂い情報は行距離情報と組み合わせで用いられるとしているが、この実験では餌場マーキングの匂いしか使用しておらず、餌場そのものの匂いに関しての実験は行われなかった。一方、餌場に関する匂い源探索に関して、ミツバチにアンテナを装着して、レーダーを用いて追跡する実験が行われている。Reynolds らは広いフィールドにおいて匂い源に定位するミツバチを追跡した (Reynolds et al., 2009)。その結果、ミツバチは風上方向の匂い源を訪問することが示され、その探索がレヴィフライトで記述できると結論付けた。しかし、この実験では広い範囲での探索を調べており、軌跡も大幅に単純化を行っていたため、細かい分析は行われなかった。また、匂いの拡散の様子も分からなかったため、ミツバチが匂いを受けるタイミングを調べることができず、ミツバチがどのように匂いに対してどのように行動を変化させたかは明らかになっていない。

このようにミツバチの嗅覚ナビゲーションに関しては、匂い拡散の様子と匂い源に接近する時の経路を同時に詳細に分析した例はなく、匂い源に対するアプローチの詳細は明らかではない。本報告では、本テーマの大きな成果であるセイヨウミツバチの嗅覚ナビゲーションメカニズムについて、風洞内で匂い源に定位するミツバチをビデオカメラで撮影し、その飛行軌跡の分析を行った結果についてまとめる。

3. 研究の方法

ミツバチ

実験には兵庫県立大学新在家キャンパスで飼育しているセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) 1 群を使用した。巣箱は風洞の入り口から約 5m 離れた場所に設置した。風洞内には餌場を常時設置しておき、ミツバチが日常的に風洞に採餌に来るようにした。餌場には 50% スクロース溶液とオレンジ油 (和光 1 級) を染み込ませた濾紙を設置した。

風洞

実験は、実験室内に設置した高さ 50cm、幅 50cm、長さ 180cm の飛行スペースを持つ風洞で行った (図 1)。風洞壁面と床はベニヤ板、天井は風洞の照明、カメラ撮影のため透明アクリル板からなる。飛行スペースの壁面はミツバチに与える視覚刺激が最小限になるように

全体を白く塗装し、実験室の天井には黒い暗幕を張りつけて、アクリル板を通して天井の様が見えないようにした。出入り口は実験室の外につながっており、実験室外からの風洞への行き来を可能とした。また、出入り口には 1mm 目の網を全体に張り、その中央に直径 15cm の円形の穴をあけた。これによりミツバチは風洞の中央付近を飛行しながら入ってくる事ができる。また、計測時に他の個体が入ってこないように同じ網で出入り口を塞げるようにした。出入り口の反対側は四角錐台状にして PC ファン (DV12V, 0.20A, Elan Vital) を 4 基設置し、実験室内から実験室外への空気の流れを作った。この時の流量は室外の環境に左右されるが 0.1m/s 以下とした。ファンと飛行スペースの間には出入り口と同様の網を全体に張り、ミツバチがファンに接触しないようにした。風洞中央とそこからファン側に 50cm のところに金属パイプ (直径 2mm、高さ 30cm) を一本ずつ、それぞれ、餌場用、匂い刺激パイプとして風洞内での高さが 25cm となるように設置した。

風洞内の照明としてフリッカーのない LED 蛍光灯 (LUMICAL FL13L06K50A, N-HITECH) を使用し、風洞上部に風洞と平行に左右 2 本ずつ並べて設置した。実験中はこの LED 蛍光灯以外の照明や太陽光がアクリル板を通して風洞内に入らないようにした。

風洞内を飛行するミツバチの行動を撮影するために風洞の真上にビデオカメラ (EXILIM F1, CASIO) を設置した。出入り口付近は外部からの太陽光が差し込み、撮影が困難なためビデオカメラの撮影範囲は飛行スペースの全てはカバーせず出入り口から 30cm の地点から奥までとし、ビデオは 640×480 pixel、30fps で撮影した。また、風洞横壁に設置した赤色 LED を刺激と同時に点灯するようにして、ビデオに映る LED の点灯により刺激のタイミングを記録した。

匂い刺激

全ての実験を通して、匂い刺激にはオレンジの匂いを使用した。風洞内への刺激の送風はポンプ (コンパクトエアーポンプ NUP-1, アズワン) で行った。ポンプからビニールチューブでつながった匂い物質の入った三角フラスコを通して、風洞内の刺激パイプに接続した。フラスコにはオレンジ油 5ml を染み込ませた濾紙が入っており、ここを通ることによって匂いつきの空気が送風される。空気をそのまま送る場合はフラスコに何もつけない濾紙片を入れて空気を通した。また、風洞内での匂いの拡散範囲を把握するために、匂い源を設置する位置から、綿布を燃して煙を発生させて風洞内に流れる様子をビデオで撮影した。なお、この時は煙を見やすくするために風洞内には黒い画用紙を敷き詰めておいた。匂い拡散範囲については撮影したビデオから背景差分法で煙を抽出し、その画像を積算することで求めた。

実験手順

実験は 2009 年 9 月から 11 月に行った。まず、風洞内にいるミツバチを全て外に出して風洞内の餌場を除去した後、ビデオ撮影を開始した。ミツバチが一匹入ってきたところで出入り口にフタをして、ミツバチが風洞に入ってから約 5 秒後に風洞奥側のパイプからオレンジの匂いつきあるいはつけない空気をそのまま与えた。匂い刺激は以降連続的に与え続けた。計測は原則として 1 分間としたが、刺激後にミツバチが途中でどこかに着陸した場合はその

時点で記録を終えた。一度計測を行ったミツバチは回収した。また、ミツバチの採餌モチベーションを維持するために各実験の終了後は再び風洞中央に餌場を設置し、次の計測まで最低 15 分間は訓練時間を設けた。

データ分析

撮影したビデオはフリーウェア (VirtualDubMod, <http://virtualdubmod.sourceforge.jp/>) を用いて BMP 形式の連番画像に変換し、MATLAB で作成したオリジナルのソフトウェアで背景差分法によりミツバチ領域の重心点を抽出、これを追跡して軌跡を求めた。また、各軌跡には追跡時におけるノイズが含まれているため、5 点移動平均処理を行った。

探索領域の傾向を調べるために、オレンジの匂いつきの空気を与えた時と匂いなしの空気を与えた時についてそれぞれ風洞内の各ポジションにおける滞在時間の頻度分布を求めた。匂いつきの空気を与えた時と匂いなしの空気を与えた時の匂い源周辺の滞在頻度の比較を行うために、全体における匂い送風パイプの周囲半径 15cm 以内の滞在時間の割合を求め、マンホイットニー検定で比較した。

匂いつきの空気を与えた時のミツバチの刺激パイプに接触までの時間を調べてみると 2~20 秒以上と大きくばらついていて、そこで、匂い源に 3 秒以内に到達したもの (Under3)、10 秒以内に到達したもの (Under10)、10 秒以上で到達したもの (Over10) の三つのグループに分けて滞在時間頻度分布を作成した。

また、各々の軌跡より行動を示す指標として以下の式を用いて計測点 (30Hz) ごとに対地飛行速度: v_{ground} (m/s)、風上飛行速度: v_{upwind} (m/s)、角速度: ω ($^{\circ}$ /s) を求めた。各式における x 、 y の値はそれぞれミツバチの風洞長軸方向の位置、短軸方向の位置、 t は時間 (1/30s) を示している。

$$v_{ground} = \sqrt{(x(t) - x(t-1))^2 + (y(t) - y(t-1))^2}$$

$$v_{upwind} = \Delta x(t)$$

$$\theta_{\omega} = \tan^{-1} \left(\frac{((x(t-1) - x(t)) \cdot (y(t+1) - y(t))) - ((y(t-1) - y(t)) \cdot (x(t+1) - x(t)))}{((x(t-1) - x(t)) \cdot (x(t+1) - x(t))) + ((y(t-1) - y(t)) \cdot (y(t+1) - y(t)))} \right)$$

$$\omega = \begin{cases} \pi - \theta_{\omega} & \theta_{\omega} \geq 0 \\ -\pi - \theta_{\omega} & \theta_{\omega} < 0 \end{cases}$$

訓練場所の記憶の影響が少なく匂いに素早く反応した Under3 グループと匂いなしの空気を与えた場合の刺激前後の行動を比較するために、各個体について刺激前 3 秒、刺激後 3 秒の計 6 秒間の 1 秒ごとの速度、風上飛行速度、角速度の平均値を求め、さらにその平均値を求めた。

ミツバチの匂い源へのアプローチを調べるために、匂い源到達直前 (刺激パイプに最初に触れた時点から 3 秒前まで) の軌跡を抽出した。この軌跡について、匂い拡散範囲内外におけ

る速度、角速度の平均値を比較した。比較にはマンホイットニー検定を使用した。

4. 実験結果

探索領域

匂いつきの空気を与えた時と匂いなしの空気を与えた時の探索領域は異なっていた。匂いなしの空気を与えた時は訓練場所付近でのみピークを示しているのに対し、匂いつきの空気を与えた場合は訓練場所付近と刺激パイプ付近の 2 か所にピークが見られた (図 2)。匂いつきの空気を与えた時と匂いなしの空気を与えた時の刺激パイプ周辺の滞在時間の割合を比較すると、匂いつき刺激を与えた時の方が有意に長い探索時間を示すことがわかった (Mann-Whitney, $p < 0.05$)。

匂いつきの空気を与えた場合について、Under3、Under10、Over10 の三つのグループそれぞれにおける滞在頻度分布を求めた結果、Under3 のグループは探索範囲が非常に狭い範囲で直線的に収まっており (図 3 A)、刺激パイプから少し風下までを中心に探索していた。Under10 のグループは Under3 のグループよりも少し広い探索範囲を示し、訓練場所でもピークを示した (図 3 B)。Over10 のグループは訓練場所の周り と刺激パイプの周りの両方を探索しており、他の二つのグループと比べて広い探索範囲を示した (図 3 C)。さらに、Over10 のグループについて刺激後から刺激パイプに最初に接触までの時間を前半と後半に分けて滞在頻度分布を調べると、前半は訓練場所付近を中心とした探索分布が見られ、後半は刺激パイプを中心とした探索分布が見られた (図 3 D, E)。

刺激前後の比較

ミツバチの対地飛行速度は匂いなしの空気を与えた時はほぼ変わらず一定であったが、Under3 グループは刺激後に減少する傾向が見られた (図 4)。風上飛行速度は両方とも刺激前は減少していく傾向を示した。一方、刺激後は匂いなしの空気を与えた時はほぼ変わらなかったのに対し、Under3 については刺激直後に大きく増加し、その後、徐々に減少を示した。一方、角速度は匂いなしの空気を与えた時は刺激前後ではほぼ変わらず一定であったが、Under3 のグループのみ刺激後に増加していく傾向を示した。

匂い拡散範囲内外の比較

刺激パイプに接触 3 秒前から接触までの飛行軌跡を求めた結果、風洞入り口から訓練場所付近までは直線的な軌跡を示し、訓練場所よりも奥側では風方向に対して横方向への飛行が増加している傾向が見られた (図 5)。また、刺激パイプに接近するに伴って探索範囲が狭まっており、匂い拡散範囲よりも少し外の範囲までで探索しているという結果を得た。

匂いの拡散範囲内と範囲外における対地飛行速度、角速度を比較すると、対地飛行速度は範囲内外ではほぼ変わらなかったが、角速度は匂い範囲外の方が範囲内よりも有意に高い値を示した (図 6, Mann-whitney, $p < 0.05$)。

5. 考察

匂いつきの空気を与えた場合にミツバチは刺激パイプの方を探索する行動を示したことから、ミツバチは風洞内で匂いに反応して飛行状態を変えていると考えられる。また、本研究では訓練時には風洞中央、実験時には訓練時とは異なり風洞の奥から刺激を与えた。この実験条件は、自然状況下では例えば、ミツバチが記憶した場所へ再び採餌に行き、その餌場の餌が尽きて異なる餌場の探索を始めるなどに対応していると考えられる。

探索領域

匂いなしの空気を与えた場合、匂いつきの空気を与えた場合の両方においてミツバチは訓練場所を正確に探索していた。ミツバチは採餌の時、餌場の匂いだけでなく方向、距離、対象物の色、形状を記憶しており (Whener and Rossel, 1985; von Frisch, 1915, 1993; Esch and Burns, 1995, 1996; Srinivasan et al., 1996, 1997, 2000; Esch et al., 2001; Tautz et al., 2004; von Frisch, 1915; Weber et al., 2010)、これらの計測には視覚情報を使用している。本研究では風洞の外壁を均一な白色にしていたが、完全に視覚刺激を除去することは難しく風洞壁面のわずかなコントラスト、風洞奥のファンや天井の亚克力板を通したカメラあるいは亚克力板の反射等が視覚刺激として利用されていた可能性が考えられる。不完全な視覚情報下では、正確な定位ができなかったかもしれない。

一方、匂いつきの空気を与えた時のみ匂い源の方を探索しており、その分布に匂い源から風下の方に広がりが見られた。このような広がりや移動はミツバチがゆっくり移動した、あるいは同じ場所を何度も飛行したことを意味する。このような行動の違いは使用する情報の違いが関係している可能性が高い。訓練場所の探索時は記憶した方向、距離情報が使用できるが、匂い源に関しては距離、方向の情報が使用できず、ミツバチは匂いのみを頼りにしなければならない。距離や方向の計測には視覚情報をしており、高速かつ連続的に得ることができるが、匂いは塊 (プルーム) を形成して伝播するため (Murlis et al., 1992) 不連続であると考えられる。したがって、視覚刺激に比べて、ムラのある情報となり、行動の不安定に結びついたと考えられる。

興味深いことに匂い刺激を与えてからミツバチが最初に刺激パイプに接触までの時間は大きくばらついていた。なかでも、**Under3** のグループは到達時間が 3 秒以内と短く、軌跡も風洞の中央付近に集中し、狭い探索範囲で匂い源に到達していた。このグループは匂いに敏感に反応し、すばやく匂い源探索にモードを切り替えたと考えられる。一方、**Under10** のグループや **Over10** のグループは訓練場所もかなり探索していることから、匂いによって再び餌場記憶が想起され、その後匂い源探索に切り替わったと考えられる。**Reinhard** ら (2004) による巣箱への匂い注入実験においても、匂いによって、それまで通っていた餌場の記憶を想起することが示されていることから、訓練された匂いによる探索行動の変化は十分予想できることと言える。

このような個体ごとの探索行動の違いにはいくつかの要因が考えられる。まず、原因の一つにミツバチの日齢が考えられる。ミツバチは齢を重ねるにつれ脳が発達し、学習能力が向上

することが分かっている (Sigg et al., 1997; Farris et al., 2001)。したがって、日齢の違いがミツバチの訓練場所の記憶に影響し行動の違いを生じさせたのかもしれない。さらに、各個体の学習状態や飛行経験の違いが行動に反映している可能性もある。本研究では個体を識別せずに実験を行っており、各個体が何回訓練試行を行ったなどの情報が得られていない。したがって、ミツバチごとに訓練回数が異なったために、記憶された情報の正確性や信頼性が異なっていたことが予想される。このような日齢や学習状態による影響については、ミツバチの個体識別を行って日齢、訓練試行を完全に制御した実験を行うことによって解析を進めていく必要がある。

行動の時間変化

刺激前後を見ると風上飛行速度だけが刺激直後に増加を示した。対地飛行速度があまり変化していないことから風上飛行速度の増加は単純に風上方向への飛行割合の増加を意味する。ミツバチや他の昆虫でも風上の匂い源を探索することは知られており、特にショウジョウバエの風洞を用いた研究でも刺激直後の風上飛行速度の増加が見られており、本研究の結果はそれらと一致している (Budick and Dickinson, 2006)。

匂い源へのアプローチ

刺激パイプに接触直前の飛行軌跡はほぼ匂い拡散範囲と形状的に一致しており、ミツバチは匂い拡散範囲から出ると急激な方向転換 (ターン) をしている。匂い拡散範囲外では角速度が大きくなっていったことから匂いの範囲外ではターンしようとしていたことが分かる。飛翔するガにおいても匂いを見失うことでジグザグ行動やターンを発現していることから、ミツバチも似たような戦略を用いているのかもしれない。しかし、個体ごとに軌跡をみてもガのようなジグザグパターンを見つけることは出来なかった。むしろ、まっすぐに匂い源に向かう個体がいるなど、定型的な行動を見つけることは出来なかった。

これはミツバチとガの生活の違いが影響している可能性がある。ガの多くは夜行性であり、夜は視覚刺激による情報量が少ないことからガにとって、嗅覚情報は定位あるいは飛行のための重要な情報であると考えられる。一方、ミツバチは昼光性であり、採餌に出る時は明るいいため視覚刺激による恩恵を受けることができる。したがって、ミツバチは視覚刺激による飛行経路の修正を前提として匂いに対してそれほど正確に行動パターンを示さなくても定位できるのかもしれない。また、ミツバチとガの飛行の違いが関係している可能性もある。ガの羽ばたき頻度は約 30Hz (Frye, 2001; Tytell and Ellington, 2003)、一方、ミツバチは 200Hz を超える (Bastlan and Esch, 1970; Altshuler et al., 2005) ことからホバリング飛行も得意としている。このことから、ミツバチはガよりも細かい飛行制御が可能で飛行経路を複雑にしたのかもしれない。ガの仲間では刺激方法や風速などの影響が調べられており、ジグザグ行動の基本的なパターンは変わらないが、軌跡の広がりなどが異なることが分かっている。本研究では刺激方法や風速を一定としたため、今後はこれらの影響を検証してミツバチの匂い源探索について検証していく必要がある。

6. むすび

本報告では、一連の研究の中で実施した匂い刺激によるナビゲーション行動に関する実験結果についてまとめた。本研究では、これに加えてテザード状態下で前方に提示した視覚刺激を用いて視覚恒常性を調べた実験、聴覚刺激に対する定位行動に関する実験など、様々な刺激に対する行動実験を実施した。そのメカニズムを統合的に理解する上で構築を進めている数理モデルについては完成には至らず、未だ概念的なモデルに留まっているが、一連の研究成果は順次学術誌等に投稿、発表する段階に達しており、目標とする成果をほぼ達成することができたと言える。

今後は、異なる種類の刺激の連合、学習の効果などを明らかにするため、視覚刺激と嗅覚刺激を同時に与えたときの定位飛行行動など詳細に調べ、両者の影響の違い比較することで、ミツバチのナビゲーション戦略を明らかにしていくことが目標となる。さらに、これらの飛行探索戦略をモデル化することでソフトウェアやロボティクスへの応用が期待される。

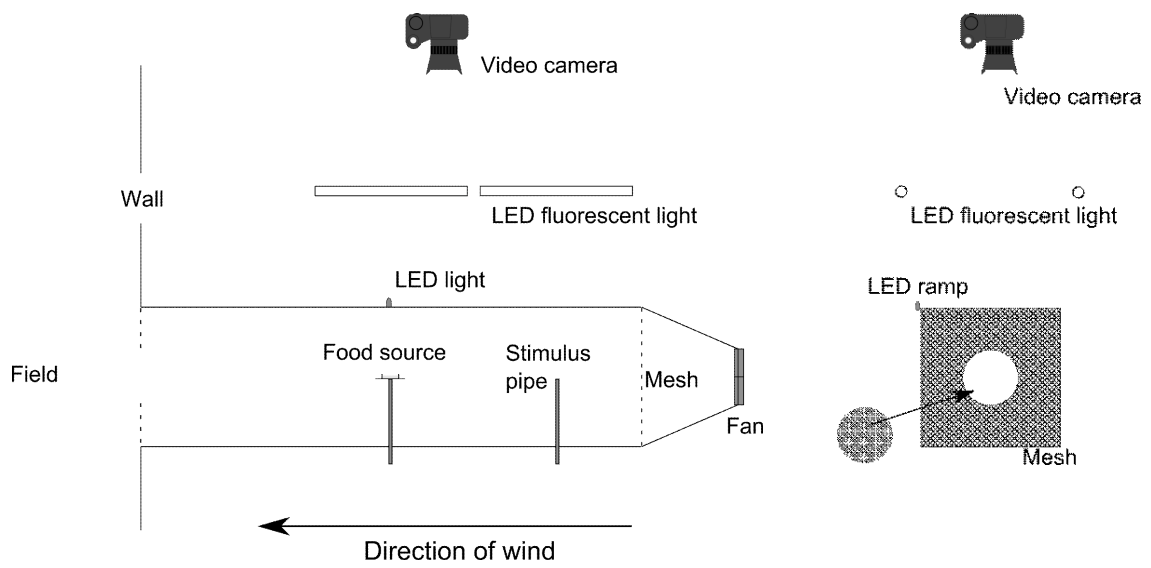


図 1. 風洞装置

左が風洞を側面から見た図。右が風洞を入り口側から見た図。(説明は本文中に記載)

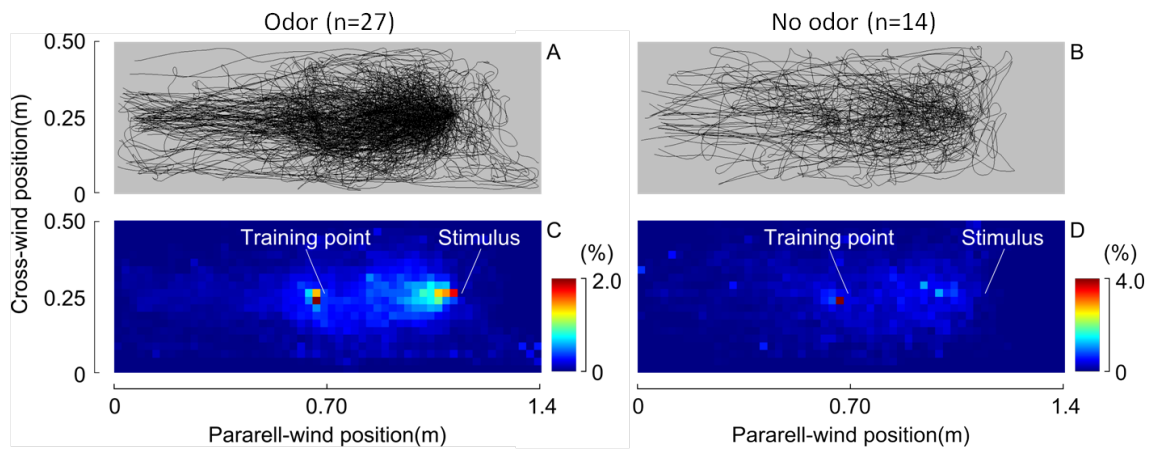


図 2. 飛行軌跡と滞在頻度分布

(A) 匂いつきの空気を与えた時の刺激後から計測終了までの全個体の飛行軌跡。(B) 匂いなしの空気を与えた時の刺激後から計測終了までの全個体の飛行軌跡。(C) 匂いつきの空気を与えた時の刺激後から計測終了までの風洞内飛行チャンバーにおける滞在頻度分布。(D) 匂いなしの空気を与えた時の刺激後から計測終了までの風洞内飛行チャンバーにおける滞在頻度分布。滞在頻度分布は飛行チャンバーを 56×20 の計 1120 マスに分割して求めた。一マスあたりの実距離はおよそ 2.5cm である。

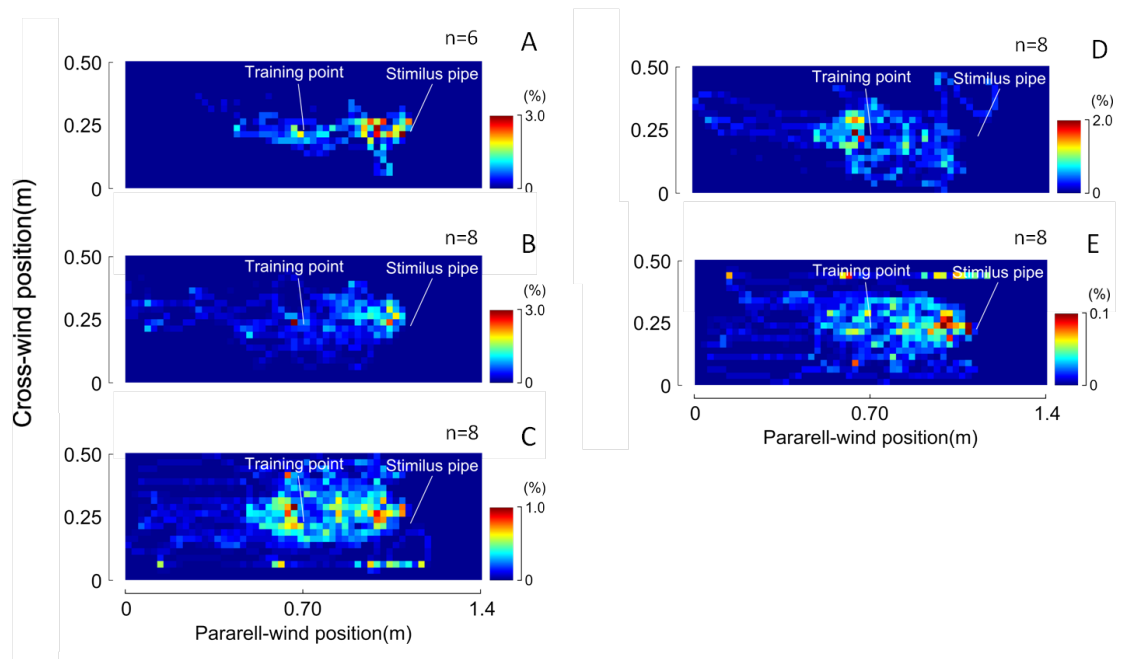


図 3. 各グループにおける滞在頻度分布

(A) Under3 グループにおける刺激後から計測終了までの滞在頻度分布。(B) Under10 グループにおける刺激後から計測終了までの滞在頻度分布。(C) Over10 グループにおける刺激後から計測終了までの滞在頻度分布。(D) Over10 グループの刺激後から 5 秒後までの滞在頻度分布。(E) Over10 グループの刺激後 5 秒後から計測終了までの滞在頻度分布。

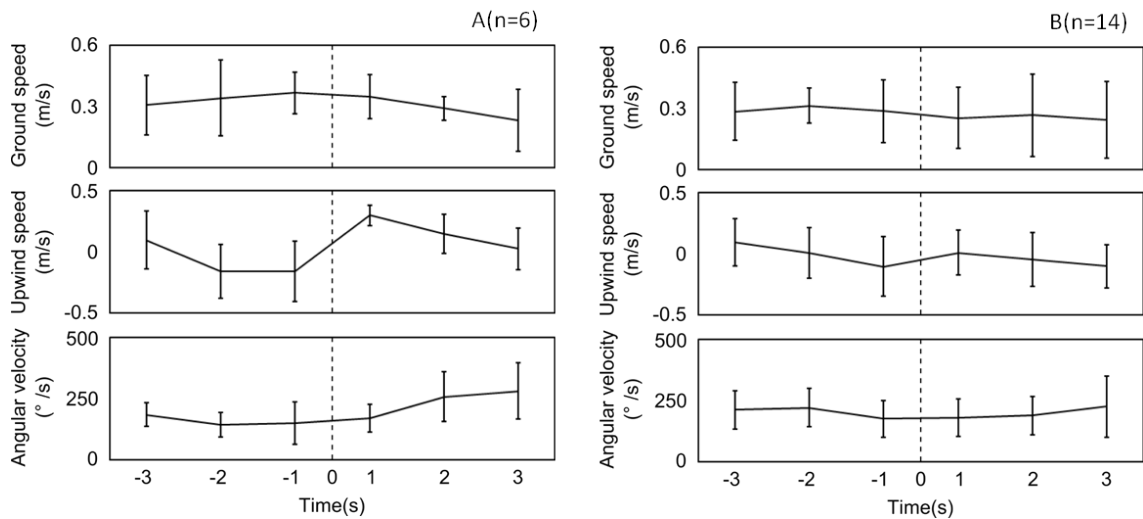


図 4. 刺激前後における各パラメータの変動

(A) Under3 グループの刺激前後のパラメータ。(B) 匂いなしの空気を与えた時の刺激前後のパラメータ。各折線グラフの値は 1 秒間における平均値、エラーバーは標準偏差を示している。グラフ内の破線は刺激の時間を示している。

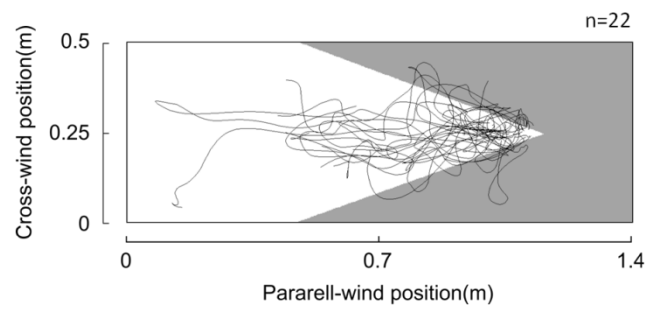


図 5. 匂い源到達直前の飛行軌跡

白いエリアは匂い拡散範囲、グレーのエリアは匂い拡散範囲外を示す。

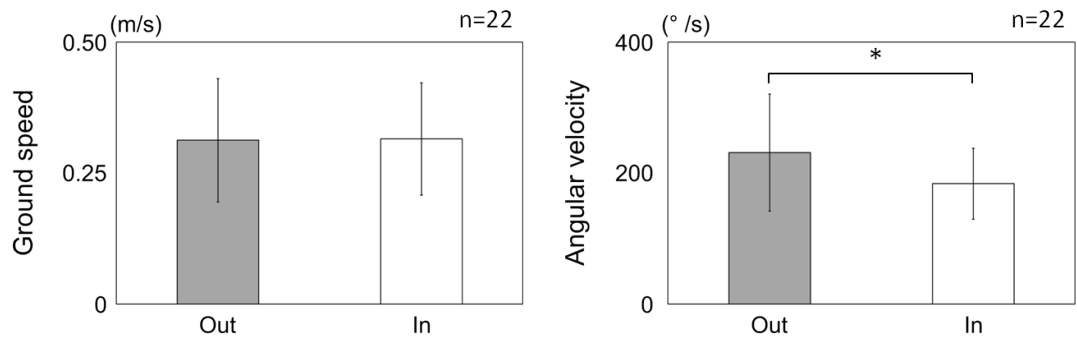


図 6. 匂い拡散範囲内外における対地飛行速度、角速度

各バーは平均値、エラーバーは標準偏差を示している。角速度のみ匂い範囲の内と外で有意な差が見られた (Mann-Whitney, $p < 0.05$)。

参考文献

- Altshuler, D. L., Dickson, W. B., Vance, J. T., Roverts, S. P. and Dickinson, M. H.** (2005) Short-amplitude high-frequency wing strokes determine the aerodynamics of honeybee flight, *PNAS* 102 18213-18218
- Baker, T. C., Willis M. A. and Phelan P. L.** (1984) Optomotor anemotaxis polarizes self-steered zigzagging in flying moths, *Physiological Entomology* 9 365-376
- Baker, T. C., Willis M. A., K. F. Haynes and Phelan P. L.** (1985) A pulsed cloud of sex pheromone elicits upwind flight in male moths, *Physiological Entomology* 10 257-265
- Barata, E. N. and Araujo J.** (2001) Olfactory orientation responses of the eucalyptus woodborer, *Phoracantha semipunctata*, to host plant in a wind tunnel, *Physiological Entomology* 26 26-37
- Bastlan, J. and Esch, H.** (1970) The Nervous Control of the Indirect Flight Muscles of the Honey Bee, *Z. vergl. Physiologie* 67 307-324
- Becher, P. G., Bengtsson, M., Hansson, B. S. and Witzgall, P.** (2010) Flying the fly: Long-range flight behavior of *Drosophila melanogaster* to attractive odors, *J. Behav. Ecol.* 36 599-607
- Byers, J. A.** (1988) Upwind flight orientation to pheromone in western pine beetle tested with rotating windvane traps, *Journal of Chemical Ecology* 14 1 189-198
- Budick, S. A., and Dickinson, M. H.** (2006) Free-flight responses of *Drosophila melanogaster* to attractive odor, *J. Exp. Biol.* 209 3001-3017
- Esch, H.E. and Burns J.E.** (1995) Honeybees use optic flow to measure the distance of a food source, *Naturwissenschaften* 82 28-40
- Esch, H. E. and Burns J. E.** (1996) Distance estimation by foraging honeybees, *J. Exp. Biol.* 199 155-162
- Esch, H. E., Zhang, S., Srinivasan, M. V. and Tautz, J.** (2001) Honeybee dances communicate distances measured by optic flow, *Nature* 411 581-583
- Farris, S. M., Robinson, G. E. and Farhbach, S. E.** (2001) Experience- and Age-Related Outgrowth of Intrinsic Neurons in the Mushroom Bodies of the Adult Worker Honeybee, *J. Neuroscience* 21 6395-6404
- Frye, M. A.** (2001) Effects of stretch receptor ablation on the optomotor control of lift in the hawkmoth *Manduca sexta*, *J. Exp. Biol.* 204 3683-3691
- Frye, M. A., Tarsitano, M. and Dickinson, M. H.** (2002) Odor localization requires visual feedback during free flight in *Drosophila melanogaster*, *J. Exp. Biol.* 206 843-855
- Gil, M. and Marco, R. J.** (2005) Olfactory learning by means of trophallaxis in *Apis*

- mellifera J. Exp. Biol. 208 671-680
- Gruter, C., Acosta, L. E. and Farina, W. M.** (2006) Propagation of olfactory information within the honeybee hive, *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60 707-715
- Kellog, F. E., Frizel, D. F. and Wright, R. H.** (1962) The olfactory guidance of flying insects. IV. *Drosophila*, *The Canadian Entomologist*
- Kirchner, W. H. and Grasser, A.** (1998) The significance of odor cues and dance language information for the food search behavior of honeybees (Hymenoptera: Apidae), *J. Insect Behav.* 11 169-178.
- Reinhard, J., Srinivasan M. V., Guez, D. and Zhang, S. W.** (2004) Floral scents induce recall of navigational and visual memories in honeybees, *J. Exp. Biol.* 207 4371-4381
- Reynolds, A. M., Swain, J. L., Smith, A. D., Martin, A. P. and Osborne, J. L.** (2009) Honeybees use a Lévy flight search strategy and odour-mediated anemotaxis to relocate food sources, *Behav. Ecol. Sociobiol.* 64 115–123
- Sigg, D., Thompson, C. M. and Mercer, A. R.** (1997) Activity-Dependent Changes to the Brain and Behavior of the Honey Bee, *Apis mellifera* (L.), *J. Neuroscience* 17 7148-7156
- Srinivasan, M. V., Zhang, S. W., Lehrer, M. and Collet, T. S.** (1996) Honeybee navigation en route to the goal: visual flight control and odometry, *J. Exp. Biol.* 199 237-244
- Srinivasan, M. V., Zhang, S. W. and Bidwell, N.** (1997) Visually mediated odometry in honeybees, *J. Exp. Biol.* 200 2513-2522
- Srinivasan, M. V., Zhang, S. W., Altwein, M. and Tautz, J.** (2000) Honeybee navigation: nature and calibration of the 'odometer', *Science* 287 851-853
- Tautz, J., Zhang, S. W., Spaethe, J., Brockmann, A. Aung Si and Srinivasan, M.** (2004) Honeybee odometry: performance in varying natural terrain, *PLoS Biology* 2 915-923
- Tytell, E. D. and Ellington, C. P.** (2003) How to perform measurements in a hovering animal's wake: Physical modeling of the cortex wake of the *hawkmoth*, *Manduca sexta*, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 358 1559-1566
- Valdusich, T., Hemmi, J. M. and Zeil, J.** (2006) Honeybee odometry and scent guidance, *J. Exp. Biol.* 209, 1367-1375
- von Frisch, K.** (1915) Der Farben- und Formensinn der Bienen, *Zoologische Jahrbücher (Physiologie)* 35 1–188
- Weber, A. A., Portelli G., Benard, B., Dyer, A. and Giufà M.** (2010) Configural processing enables discrimination and categorization of face-like stimuli in honeybees, *J. Exp. Biol.* 213, 593-601
- Wenner, A. M., Wells, P. H. and Johnson, D. L.** (1969) Honey bee recruitment to

food sources? olfaction or language?, Science 164 84-86.

Wehner, R. and Rossel, S. (1985) The bee's celestial compass-a case study in behavioral neurobiology, Neujahrbl. Naturforsch. Ges. Zuerich 184 1-132

Willis, M. A. and Arbas E. A. (1991) Odor-modulated upwind flight of the phinx moth, *Manduca sexta* L., J. Comp. physiol. A 169 4 427-440

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

(関連研究テーマ)

1. R. Okada, H. Ikeno, T. Kimura, M. Ohashi, H. Aonuma, E. Ito, Markov Model of Honeybee Social Behavior, *Informtion*, 13, 1115-1130, 2010.
2. S. Namiki, S. S. Haupt, T. Kazawa, A. Takashima, H. Ikeno, R. Kanzaki, Reconstruction of virtual neural circuits in an insect brain, *Frontiers in Neuroscience*, 3, 206-213, 2009.
3. M. Ohashi, R. Okada, T. Kimura, H. Ikeno, Observation system for the control of the hive environment by the honeybee (*Apis mellifera*), *Behavior Research Methods*, 41 (3), 782-786, 2009.
4. R. Okada, H. Ikeno, M. Ohashi, T. Kimura, E. Ito, Observations and Computer Simulation of the Social Behavior in the Honeybee, *Proceedings of the 3rd International Symposium of Mobiligence*, 87-91, 2009.
5. K. Iwata, M. Ohashi, T. Akamatsu, R. Okasa, T. Kimura, H. Ikeno, Carbon cycling of a honeybee colony under the environmental variation, *Proceedings of the 3rd International Symposium of Mobiligence*, 316-319, 2009.
6. T. Kazawa, H. Ikeno, R. Kanzaki, Development and application of a neuroinformatics environment for neuroscience and neuroethology. *Neural Networks*, 21, 1047-1055, 2008.
7. R. Okada, H. Ikeno, H. Aonua, E. Ito, Biological insights into robotics: Honeybee foraging behavior by a waggle dance, *Advanced Robotics*, 22, 1665-1681, 2008.
8. R. Okada, H. Ikeno, N. Sasayama, H. Aonuma, D. Kurabayashi, E. Ito, The dance of the honeybee: How do honeybees dance to transfer food information effectively?, *Acta Biologica Hungarica*, 59 (Suppl.), 157-162, 2008.
9. H. Ikeno, T. Nishioka, T. Hachida, R. Kanzaki, Y. Seki, I. Ohzawa, S. Usui, Development and application of CMS-based database modules for neuroinformatics, *Neurocomputing*, 70, 2122-2128, 2007.
10. H. Ikeno, N. Sasayama, R. Okada, E. Ito, Behavioral analysis of honeybee waggle dance and its effect on foraging, *Proc. The 2nd International Symposium on Mobiligence*, 223-226, 2007.
11. 岡田龍一, 池野英利, 青沼仁志, 倉林大輔, 伊藤悦朗, 社会的適応行動から学ぶ情報共有システムの構築—ミツバチの8の字ダンスを対象として, *計測と制御*, 46, 916-921, 2007.

[学会発表] (計 34 件)

(本研究テーマ)

1. 中元由香里, 長谷川雄二, 大家輝, 赤松忠明, 池野英利, 回避と追従の行動選択に寄与するミツバチ視覚刺激条件に関する研究, 第 81 回日本動物学会, 東京大学, 2010.
2. 長谷川雄二, 中元由香里, 大家輝, 赤松忠明, 池野英利, 複雑な画像刺激に対するテザード実験によるミツバチの条件づけ学習の解析, 第 81 回日本動物学会, 東京大学, 2010.
3. 赤松忠明, 長谷川雄二, 藍浩之, 池野英利, 風洞内におけるセイヨウミツバチの嗅覚定位飛行軌跡の解析, 日本動物学会近畿支部研究発表会, 大阪大学, 2010年5月.
4. 長谷川雄二, 池野英利, ミツバチの視覚パターンに対する並進恒常性の解析, 第 79 回日本動物学会, 福岡大学, 2008年9月.
5. Y. Hasegawa, Y. Ogawa, H. Ikeno, Flight behavior towards waggle dance sounds of honey bee, *Proceedings of International Congress of Neuroethology*, 2007.
6. 長谷川雄二, 小川友香子, 池野英利, ミツバチのダンス音に対する定位行動の解析, 日本動物学会第 78 回大会, 弘前大学, 2007.

(関連研究テーマ)

1. 岡田龍一, 池野英利, 木村敏文, 大橋瑞江, 青沼仁志, 伊藤悦朗, 計算機シミュレーションによるミツバチ8の字ダンスの採餌行動における効果, 第81回日本動物学会, 東京大学, 2010.
2. 藍浩之, 金子怜央, 池野英利, 峯本俊文, 斉藤歩, 磯川悌次郎, 上浦尚武, 松井伸之, 伊東綱男, ミツバチニューロンモデルの作成と個体間比較, 第81回日本動物学会, 東京大学, 2010.
3. M. Hata, T. Isokawa, H. Ikeno, N. Kamiura, A. Saitoh, N. Matsui, Spatiotemporal characteristics of honeybee, *Apis cerana japonica*, in shimmering behavior, XVI Congress of International Union for the study of social insects, 2010.
4. H. Ikeno, M. Takahashi, T. Akamatsu, T. Kimura, M. Ohashi, An automated measurement system for behavioral analysis in the observation honeybee hive, XVI Congress of International Union for the study of social insects, 2010.
5. T. Kimura, H. Ikeno, K. Crailsheim, T. Schmickl, R. Okada, M. Ohashi, A behavioral tracking system for multiple honeybees on a plane surface, XVI Congress of International Union for the study of social insects, 2010.
6. H. Ai, H. Ikeno, T. Ito, Parallel processing in the auditory center of the honeybee brain., Proceedings of the Ninth International Congress of Neuroethology, 2-7, 2010.
7. T. Akamatsu, Y. Hasegawa, H. Ai, H. Ikeno, Analysis of flight of honeybee (*Apis mellifera*) for olfactory stimulus in a wind tunnel, Proceedings of the Ninth International Congress of Neuroethology, P342, 2010.
8. 木村敏文, 池野英利, 大橋瑞江, 岡田龍一, 行動解析のための複数ミツバチ追跡システム, 第80回日本動物学会, 静岡グランシップ, 2009.
9. 岩田可南子, 大橋瑞江, 木村敏文, 赤松忠明, 岡田龍一, 池野英利, ミツバチコロニーの持続的データ計測システムによる炭素収支解明, 第80回日本動物学会, 静岡グランシップ, 2009.
10. 石井愛弓, 池野英利, 加沢知毅, S. S.Haupt, 並木重宏, 神崎亮平, カイコガ標準脳地図の構築, 第80回日本動物学会, 静岡グランシップ, 2009.
11. 赤松忠明, 池野英利, 状態に依存したセイヨウミツバチの嗅覚刺激応答, 日本動物学会近畿支部研究発表会, 神戸大学, 2009年5月.
12. 池野英利, 岡田龍一, 大橋瑞江, 木村敏文, ミツバチ個体行動とコロニー特性変化に関する計測と解析, 第5回移動知シンポジウム, 観山荘, 2010年3月.
13. I. Nishikawa, M. Nakamura, Y. Igarashi, T. Kazawa, H. Ikeno, R. Kanzaki, Neural network model of the lateral accessory lobe and ventral protocerebrum of *Bombyx mori* to generate the flip-flop activity, Annual Meeting of Computational Neuroscience, 2008.7.
14. 木村敏文, 池野英利, 大橋瑞江, 岡田龍一, 伊藤悦朗, ミツバチの観察巣板内行動追跡システム, 日本比較生理生化学会第30回大会, 北海道大学, 2008年7月.
15. 池野英利, 岡田龍一, 大橋瑞江, 木村敏文, 赤松忠明, 伊藤悦朗, 巣内ミツバチ活動を評価するための時空間運動指標, 日本比較生理生化学会第30回大会, 北海道大学, 2008年7月.
16. 岡田龍一, 池野英利, 木村敏文, 大橋瑞江, 青沼仁志, 伊藤悦朗, 巣内ミツバチの歩行パターン, 日本比較生理生化学会第30回大会, 北海道大学, 2008年7月.
17. T. Kimura, H. Ikeno, R. Okada, E. Ito, A Study of Identification and Behavioral Tracking for Honeybees in the Observation Hive Using Vector Quantization Method, pp.165-166, Proceedings of Measuring Behavior (6th International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research), Maastricht Exhibition Conference Centre (MECC), Maastricht, The Netherlands, 2008.8.
18. M. Ohashi, H. Ikeno, T. Kimura, T. Akamatsu, R. Okada, E. Ito, Control of hive environment by honeybee (*Apis mellifera*) in Japan, pp.243, Proceedings of Measuring Behavior (6th International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research), Maastricht Exhibition Conference Centre (MECC), Maastricht, The Netherlands, 2008.8.
19. H. Ikeno, R. Kanzaki, S. Usui, Development of the invertebrate brain platform, 1st INCF Congress of Neuroinformatics, Stockholm, 2008.9.
20. 岡田龍一, 池野英利, 木村敏文, 大橋瑞江, 青沼仁志, 伊藤悦朗, 巣内での追従バチの行動

- パターン, 第 79 回日本動物学会, 福岡大学, 2008 年 9 月.
21. 岡田龍一, 池野英利, 木村敏文, 大橋瑞江, 青沼仁志, 伊藤悦朗, ミツバチの 8 の字ダンスにおける巣内でのダンスバチと追従バチの行動パターン, 無脊椎動物神経生物学研究会, 旭川, 2008 年 9 月.
 22. N. Kamiura, H. Urata, A. Saitoh, T. Isokawa, H. Ikeno, N. Matsui, Y. Seki, R. Kanzaki, On Map-Based Classification of Insect Neurons Using Three-Dimensional Quantification, Proceedings of 2008 IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics, 2138-2143, Singapore, 2008.10.
 23. 木村敏文, 池野英利, 大橋瑞江, 岩田可南子, 岡田龍一, 伊藤悦朗, ミツバチに関する複数個体の追跡と巣板内状態の継続的計測, 第 4 回移動知シンポジウム, ホテル松島大観荘, 2009 年 3 月.
 24. 伊藤悦朗, 池野英利, 大橋瑞江, 木村敏文, 岡田龍一, 社会性適応のための行動変容機構の研究, 第 4 回移動知シンポジウム, ホテル松島大観荘, 2009 年 3 月.
 25. 深田嘉昭, 池野英利, 礪川悌次郎, 齋藤歩, 上浦尚武, 松井伸之, シマリングにおけるミツバチ集団的行動の時空間特性, 計測自動制御学会 システム・情報部門学術講演会講演論文集, 145-150, 2008.11.
 26. 池野英利, 神崎亮平, 西川郁子, 加沢知毅, 高嶋聰, Shuichi S. Haupt, 昆虫嗅覚系全脳シミュレーションに向けたデータベース環境, バイオスーパーコンピューティング・シンポジウム (BSCS) 2008, 2008.12.
 27. 神崎亮平, 池野英利, 西川郁子, 加沢知毅, 高嶋聰, Shuichi S. Haupt, 昆虫の嗅覚系全脳シミュレーション, バイオスーパーコンピューティング・シンポジウム (BSCS) 2008, 2008.12.
 28. 木村敏文, 池野英利, 大橋瑞江, 岡田龍一, 伊藤悦朗, ベクトル量子化分類法を用いたミツバチ個体追跡のための基礎研究, 信学技報, 113-116, 電子情報通信学会, 2008.

[図書] (計 2 件)

(関連研究テーマ 計 2 件)

1. H. Ikeno, R. Kanzaki, Y. Seki, T. Kazawa, T. Isokawa, N. Matsui, Web based resource management and its application in the laboratory, Neurocomputing Research Developments (Hugo A. Svensson, ed.), NOVA Science Publisher, 223-239, 2008.
2. 大塚晃嗣, 浦田宏樹, 礪川悌次郎, 関洋一, 上浦尚武, 松井伸之, 神崎亮平, 池野英利, 昆虫脳神経細胞分類システム, 自己組織化マップとその応用 (徳高平蔵, 大北正昭, 藤村喜久郎編), シュプリンガー・ジャパン, 123-135, 2007.

[その他]

ホームページ等

<http://www.u-hyogo.ac.jp/shse/ikenol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

兵庫県立大学環境人間学部 教授 池野英利
研究者番号: 80176114

(2) 研究協力者

兵庫県立大学大学院環境人間学研究科 赤松忠明
ホンダリサーチインスティテュート 長谷川雄二
福岡大学理学部地球圏科学科 助教 藍 浩之