

令和元年6月11日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07153

研究課題名(和文) チゴガニのウェーピングがそろうのはなぜか：リズム同調の行動生理学的研究

研究課題名(英文) Why waving display in dotillid crabs synchronizes with neighbors? A neuroethological study of synchrony of rhythmic behavior

研究代表者

岡田 二郎 (OKADA, Jiro)

長崎大学・水産・環境科学総合研究科(環境)・教授

研究者番号：10284481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、動物集団がしばしば示す同期的行動として、干潟で高密度に群生する短尾甲殻類チゴガニのウェーピング(オスが八サミを繰り返し振上げる求愛行動)に注目した。近隣個体間におけるウェーピング同期のメカニズムを明らかにするために、任意のタイミングで動作可能なウェーピング模倣ロボットを開発し、実験室内でカニの行動とロボットの動作との時間的関係を調べた。個々のカニは対面するロボットに対して先行するようにウェーピングを行うこと、カニ集団中におけるロボットの稼働はウェーピングの同期の程度を変容させることを明らかにした。さらにウェーピング遂行中のカニの八サミ運動筋から電気活動を記録することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の行動にはしばしば周囲の個体と比較的高い精度で同期するものが知られており、その生物学意義についてはしばしば議論されてきたものの、生成メカニズムに関する実証研究はこれまでほとんど行われてこなかった。本研究の主要な成果は、干潟に棲む小さな甲殻類のチゴガニがロボットの動作を知覚し、それに先行できるように自身のウェーピングのタイミングを0.1秒レベルの精度で決めていることを初めて明らかにした点である。これは、チゴガニのような単純な神経系をもつ動物が、ダイナミックな外部環境の時間的規則性を認知し、予測に基づいて行動する可能性を示しており、生物学的に極めて意義深い。

研究成果の概要(英文)：A conspecific animal group often exhibits synchronized rhythmic behavior with highly temporal accuracy. To clarify the mechanism for generation of synchronized rhythmic behaviors, waving display of the male dotillid crab (*Ilyoplax pusilla*), a mating behavior with rhythmic up-down claw movement on the tidal flats, was examined using PC-controlled waving-mimicking robots. Analyses on temporal relationships between one male crab and one or two robots revealed that the crab tended to swing its claws up with precedence over the motion of the confronting robots. The robots also modified the extent of synchronized waving of a group of crabs. Furthermore, we succeeded in recording electrical activities of claw muscles from waving crabs.

研究分野：無脊椎動物における行動生理学

キーワード：ウェーピング チゴガニ 同期・同調 求愛行動

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

動物が示すリズム的な行動は、周辺の同種個体間でしばしば同期することが知られている。このような同期行動の生物学的意義については、信号の増幅によって、遠方にいる同種個体を誘引するとともに、外敵に対する威嚇効果をもつとする説明が提唱されている。しかしこの顕著な社会行動、とりわけその生成のメカニズムについては不明な点が多い。

干潟に生息するスナガニ類の多くは、繁殖期を迎えるとオス成体が鉗脚（ハサミ）を繰り返し振上げる特徴的行動を示す。これはウェーピングと呼ばれ、メスに対する求愛とともに、オスに対する威嚇あるいは縄張り誇示とも考えられている。ウェーピングのリズムが近隣個体と良く同期することは、主にシオマネキ類を用いて調べられてきた。シオマネキのメスは集団中で先行してハサミを振上げるオスに誘引される傾向があるため、オス同士は競争的關係にある。また、オスは周囲のオスが自身に先行してハサミを振上げた場合、遅れてハサミを振上げることはしない。このような諸条件下で適当なモデルを作成し、シミュレーションを行うと、複数個体間でウェーピングの同期が発生するとの報告がある (Greenfield and Roizen 1993; Backwell et al. 1998)。

干潟で高密度に群生するチゴガニは、日本では東北以南に広く分布し、オス個体は繁殖期（5月から8月）にウェーピングを盛んに行う。チゴガニが示すウェーピングは、シオマネキとは異なり、周囲にメスが存在しなくても近隣個体同士でそのリズムが極めて良く同期する (Aizawa 1998)。しかしその生成メカニズムについては研究開始当時ほとんど不明であった。

### 2. 研究の目的

チゴガニのウェーピング同期の生成メカニズムについて、主として実験条件が厳密にコントロールできる研究室内の行動観察および生理実験により明らかにすることを目的とした。とりわけ、ウェーピングを模倣するカニ型ロボットの利用、ウェーピングにおけるハサミ運動筋からの筋電位記録に重点をおいた。

シオマネキでは、ウェーピングを模倣するロボットをメスに提示して、その嗜好性を調べる試みがなされている (Reaney et al. 2008)。これと同様の手法をチゴガニのオスに適用した。すなわち人為的にコントロールされたロボットのウェーピング様動作に対して、オスがどのような挙動を示すのか調べた。

通常骨格筋は張力を維持するための自発的電気活動を示し、実際の体運動の際にはそれに先行する筋電位（準備電位）を発生する。すなわち筋電位は、運動解析では検知できない個体の内的状態を表現しうる。チゴガニのハサミ運動筋に微小ワイヤ電極を埋め込み、その筋電位を記録することで、近隣個体（生体カニおよびロボット）のウェーピングが筋電位に反映されるかどうか明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 材料・飼育方法：長崎県西海市七釜郷の多良川の河口干潟にてチゴガニ (*Ilyoplax pusilla*, 図 1A) のオス成体を採集し、長崎大学の実験室に設置された人工干潟装置で飼育した。本装置は、砂泥を敷き詰めた飼育容器からなり、潮汐と明暗条件を 24 時間周期で自動制御しながらチゴガニを長期飼育することが可能である。本研究では、0:00-6:00 および 12:00-18:00 を干潮期、6:00-12:00 および 18:00-24:00 を満潮期とし、5:30-19:30 を明期、19:30-翌 5:30 を暗期とした。すべての実験は、人工干潟の砂泥表面において明期の干潮期に実施した。

(2) ロボット：カニのウェーピングを模倣するロボットを開発した (図 1B,C)。本ロボットは、内蔵する小型ロータリーソレノイドがカニのハサミに相当する一対の発泡スチロール球（直径 6mm）を上下往復運動させることで稼働する。ロータリーソレノイドは、PC 制御の信号発生器からのパルス出力をアンプを介して入力することで駆動する。ハサミモデル（発泡スチロール球）の運動パターンは、信号発生器からの出力パルスの周期と時間幅を変更することで、任意に設定できる。本研究では、動作期間（ハサミモデルの振上げから振下りまでの所要時間）はカニのウェーピング期間とほぼ等しい 0.3 秒に固定し、稼働周波数のみ可変とした。

(3) 行動解析：行動解析はオリジナルのソフトウェアにより行った。30 コマ/秒で撮影された動画において、前後コマ間の輝度および色の差分を利用して、静止またはウェーピングに分類された時系列データとして書き出した。ロボット動作に対するカニのウェーピングの時間的關係を調べるため、相互相関解析を行った。ロボットの動作開始を基準としたカニのウェーピング開始の時間差について一定数調べ、時間差と観察数の関係を示す相互相関図を作成した。

(4) 電気生理実験：ウェーピング遂行中のカニのハサミ運動筋から筋電位を記録するため、掌節屈筋を含む長節に双極被覆ニクロムワイヤ（直径 38 $\mu$ m）を刺入し、施術したカニを人工干潟に放ち、目視で行動観察を行いつつ筋電位記録を行った。

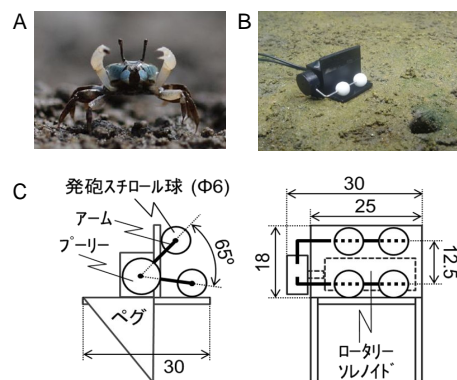


図 1. チゴガニ (A) とウェーピング模倣ロボット (B, C)

#### 4. 研究成果

##### (1) ロボットの効果の検証

後述のように、カニはロボット動作に対して特定の時間的關係をもちながらハサミを振上げる傾向を示したことから、ウェーピングを行う生体カニと同様に認識していると考えられた。また、ロボットの周囲に障壁を設け、視覚要因を除去した条件下では、時間的關係性が消失したことから、ロボット動作に伴う音や振動は無関係であると結論づけた。すなわち今回開発したロボットの利用がウェーピングの生成メカニズムを探るための有効な手段であることが確認された。

(2) ロボット1体とカニ1匹との時間的關係  
 ロボット1体とカニ1匹を人工干潟上で対面するように配置し、ロボットを0.91Hz~1.66Hzで稼働させた。ロボット動作開始時を基準としたカニのウェーピング開始タイミングの相互相関解析を行ったところ、いずれの稼働周波数に対しても、カニはロボットより先行してハサミを振上げる傾向を示した(図2)。ただし、稼働周波数が増大するにしたがって、カニのウェーピングのタイミングは先行、同期、遅延へと徐々に移行した。これは、シオマネキで報告されている先行効果(より先行してハサミを振上げるオスがメスに選択される)と良く一致する結果であった。各ウェーピングの時間間隔からウェーピング周波数を求め、その分布の最頻値と、ロボット稼働周波数との関係を調べたところ、ロボット稼働周波数の増大に伴って、カニのウェーピング周波数は、ロボットの1倍、1/2倍、1/3倍へと段階的に移行する傾向が存在し、その移行パターンには個体間で差が見られた(図3)。以上より、カニは自身より体力的に劣る相手に対しては毎回先行するタイミングでウェーピングを行うが、体力的に勝る相手に対しては間欠的ウェーピングに切り替えることで先行するタイミングを維持する戦略をとることが示唆された。

(3) ロボット2体とカニ1匹との時間的關係  
 自然界に近い、より複雑な社会条件下におけるカニの挙動を調べるため、ロボット2体とカニ1匹を対面するように配置し、2体のロボットの動作に時間差をおいて稼働させた。ただしロボットの稼働周波数は一定(0.83Hz)とした。両ロボット間の動作の時間差を徐々に増大させると、カニが両ロボットに先行してウェーピングできる時間帯は減少することになる。ウェーピング開始のタイミングについて相互相関解析を行った結果、カニは両ロボットに先行できる時間帯にハサミを振上げる明確な傾向を示し、最短0.07秒間の時間帯に集中するようにウェーピングを行った(図4)。またロボット動作が互いに逆位相となり、両ロボットに先行できる時間帯が存在しなくなると、カニのウェーピング開始タイミングの特徴は消失した。以上の結果は、チゴガニが周囲を取り囲む複数のライバルのウェーピングの時間的關係を認知し、自身が有利にメスから選択されるためのタイミングを予想して行動していることを示唆する。

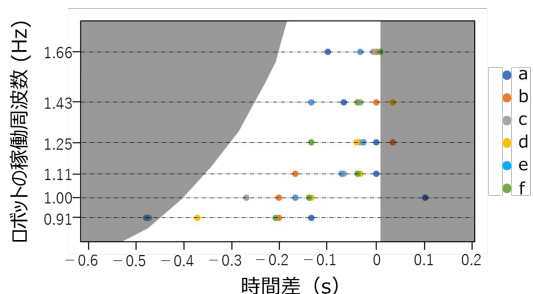


図2. 各ロボット稼働周波数においてカニのウェーピング最頻値が見られた時間差

横軸はロボット動作開始に対するカニのウェーピング開始の時間差で、6個体(a-f)から得られた相互相関解析の最頻値をプロットした。白と灰のゾーンは、カニがロボットにそれぞれ先行、遅延するタイミングを示す。カニはロボットに先行するタイミングでウェーピングを行う傾向を示した。

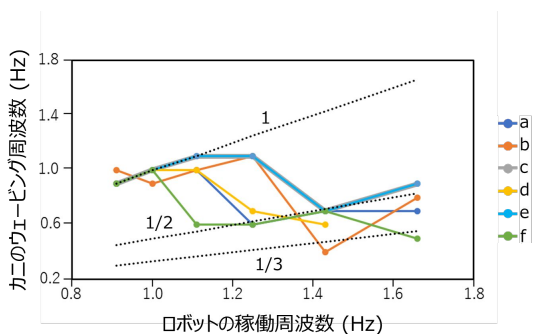


図3. ロボットの稼働周波数とカニのウェーピング周波数(最頻値)の関係

ロボット稼働周波数の増大に伴い、カニのウェーピング周波数は、1倍、1/2倍、1/3倍へと段階的にシフトした。6個体(a-f)のデータ。

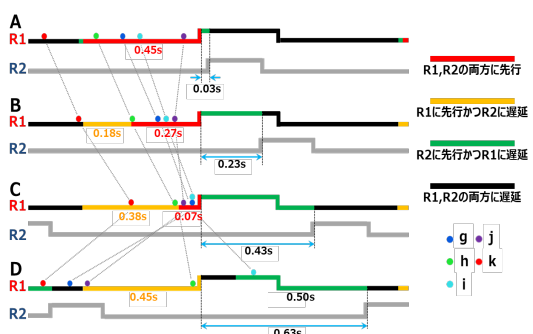


図4. ロボット2体の動作とカニのウェーピングの時間的關係

カニ1匹に対してロボット2体(R1, R2)を配置し、両ロボット動作の時間差を徐々に増大させ、カニ5個体(g-k)のウェーピング開始のタイミング(相互相関解析の最頻値)をプロットした。カニは両方のロボットに先行できる時間帯(赤線)でウェーピングを行う傾向を示したが(A-C)この時間帯が存在しない条件(D)では明確な時間的關係性を示さなかった。



#### (4) 集団的ウェーピングに対するロボット稼働の効果

人工干潟中で飼育する 20 匹前後のチゴガニ集団に対して、チゴガニが示す平均的ウェーピング周波数と同等の頻度で稼働するロボットを提示し、集団的ウェーピング活性に対する影響を調べた(図 5)。ロボットの稼働は、稼働前のウェーピング活性が比較的高い場合では同期性を阻害し、低い場合では促進した。すなわちロボットは、集団としてのウェーピング活性の程度に依存して、その同期性に対してペースメーカーにも、インヒビターにもなりうることを示す。

#### (5) ウェーピング遂行中のハサミ運動筋の電気的活動

拘束自由運動条件下におけるチゴガニのハサミ運動筋からの電気活動記録については、施術後の動物がウェーピングを行わなくなるなど、実験開始当初から困難を伴ったが、技術的改善を重ねることでグルーミング、摂食、ケンカ、逃避などの各種行動時における筋電位記録が可能になり、研究期間終了直前には、ウェーピング時におけるハサミ運動筋の筋電位記録に成功した。図 6 はウェーピング開始時の筋電位の一例である。リズム的なバースト活動(図 6, 青ドット)はウェーピング運動と 1 対 1 の対応が見られた。図 6 で示した例では、最初のウェーピングが起こる数秒前から振幅の小さな持続的筋電位(図 6, 赤アスタリスク)が記録され、準備電位と推測された。

#### (6) 総括

本研究では、チゴガニの同期的ウェーピングの生成メカニズムを探るためのアプローチとして、ロボットの利用が極めて有効であることが示された。基本的にチゴガニは、周囲のライバル(ロボット)より先行してハサミを振上げるように振る舞った。これは、周囲の複数個体(ロボット)が時間差をもってウェーピングを行っているような複雑な状況下でも見られた。本研究を通じて、チゴガニ集団が、何らか適応的意義があって積極的にウェーピング同期を生起することを支持する証拠は得られなかった。では、なぜ自然界のチゴガニはウェーピング同期を示すのか。実際のチゴガニの生息地では、周囲を取り囲む多数のチゴガニがそのウェーピング周波数をエスカレートさせていく競争的状況が想定される(Ohata and Wada 2008)。この際、先行できるタイミングは限定的になるため、付带的にウェーピング同期が起こるのはでないかと我々は現在のところ考えている。

ハサミ運動筋からウェーピング時の電気活動の記録が可能となり、更には準備電位と考えられる活動が記録されたことは、行動観察のみでは計り知れない個体の「内部状態」をモニターする意味で極めて重要な成果である。特にチゴガニは近隣個体が自身より先行してウェーピングを行うと自身のウェーピングを中止・リセットするため、これが準備電位あるいはその他の筋電位に明確に表れる可能性がある。

今後、本研究で得られた成果を発展させつつ、ロボットの利用と筋電位測定を併用して、チゴガニのウェーピング同期性に関して更なる詳細な解析を行い、その生成メカニズムの解明を目指す。

#### < 引用文献 >

- Greenfield and Roizen (1993) Nature 364, 618-619
- Backwell et al. (1998) Nature 391, 31-32
- Aizawa (1998) Mar Biol 131, 523-532
- Reaney et al. (2008) Curr Biol 18, R62-R63
- Ohata and Wada (2008) J Crust Biol 28, 216-219

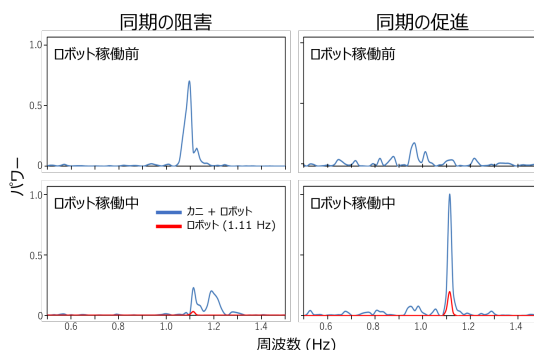


図 5. 集団的ウェーピングに対するロボット稼働の効果

各グラフはウェーピング個体数の時系列データのスペクトル曲線で、横軸は周波数、縦軸はパワー(相対値)を示す。左側はロボット稼働がウェーピング同期性を阻害した例、右側は促進した例を示す。

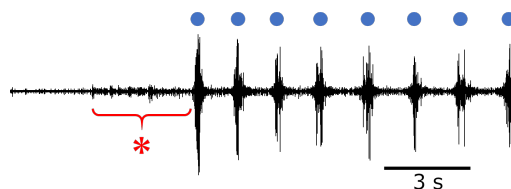


図 6. ウェーピング時のハサミ運動筋の筋電位

青いドットはウェーピング運動と対応するバースト活動を、赤いアスタリスクは準備電位と推測される筋電位が見られた期間をそれぞれ示す。

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計5件)

岡田二郎, 中川哲, 本木和幸, 藤崎顕彰, 内田誠一 (2018) チゴガニのウェーピングにおける個体間相互作用. 長崎大学海洋未来イノベーション機構特別シンポジウム「海洋動物の環境適応」

中川哲, 岡田二郎, 内田誠一, 藤崎顕彰 (2018) チゴガニのウェーピングにおける個体間相互作用: ロボットを用いた行動解析. 第89回日本動物学会大会

Nakagawa S, Fujisaki K, Uchida S, Okada J (2017) Temporal relationships of waving display between the dotillid crab (*Ilyoplax pusilla*) and robot. 第39回日本比較生理生化学会大会

Nakagawa S, Fujisaki K, Uchida S, Okada J (2017) Investigation of synchronized waving display in the dotillid crab *Ilyoplax pusilla* Temporal relationships of claw movements between crab and robot. The 11th International Workshop on the Oceanography and Fisheries Science of the East China Sea

Okada J, Honki K, Fujisaki K, Uchida S (2016) Modification of waving display by a robot in the ocypodid crab *Ilyoplax pusilla*. 第87回日本動物学会大会

〔その他〕

ホームページ: 長崎大学環境科学部教員紹介

<http://www.env.nagasaki-u.ac.jp/professors>

## 6. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名 (ローマ字氏名)

本木 和幸 (HONKI, Kazuyuki)

中川 哲 (NAKAGAWA, Satoshi)

杉村 東陽 (SUGIMURA, Akihiro)

藤崎 顕彰 (FUJISAKI, Kensho)

内田 誠一 (UCHIDA, Seiichi)

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。