

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K14776

研究課題名(和文)インターネットによる地球規模の自然環境要因と動物行動のリアルタイム測定と解析

研究課題名(英文)Global scale measurement and analysis of animal behavior with environmental factors through the internet

研究代表者

松野 浩嗣(Matsuno, Hiroshi)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：10181744

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：温度、湿度、気圧、照度などの自然環境データとともに、動物行動のリズムを計測する装置を開発した。最初の動物としてハムスターを用い、その行動計測装置を北海道と沖縄県に置き、装置が正常に動作していることを確認した。次に、概潮汐リズムをもつミナミコメツキガニに着目し、自然環境データと行動リズムを計測する装置を開発し、山口県と沖縄県に設置した。自動潮汐発生装置やカニの数を自動的にカウントする画像処理システムも付加した。これにより、潮汐のリズムがカニの概潮汐時計に影響を与えていることを示唆するデータを得た。深層学習によるカニの画像判別も試み、より高い精度でカニの数をカウントすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物リズム研究は通常、分子生物学的な特徴を捉えるため、理想的な実験条件で行われる。通常の実験では、測定対象以外の要素を排除して行われるため、現実の行動に適用するには、個々のパラメータに分解された要因を正確に演繹的に再構築する必要があるが、その結果は合理的推測に過ぎない。本研究では、概日リズム行動と概潮汐リズムの多面的調査を可能にするため、対象生物を調査目的にかなう環境に置き、多要因を同時に測定して、インターネットで伝送できる装置を開発する。具体的には、赤外線センサ、環境データを取得するための温度、湿度、気圧、照度センサによる計測システムや、動物行動を自動的に判別する画像処理システムを実装する。

研究成果の概要(英文)：We developed the equipment to measure activity of animals with the environmental data such as temperature, humidity, pressure, and illuminance. As animal for our first experiment, hamster is used. The developed equipment are placed in Hokkaido and Okinawa, and we confirmed that these environmental data are obtained correctly with the locomotive activities of the hamster.

In addition, we developed the equipment for measuring the crab behaviors in a natural environment under the automatic control of tidal rhythm produced from the device installed in the equipment. For capturing the crab behavior automatically, the image processing software is developed. In order to confirm the operations, the equipment is placed in two different places, Yamaguchi and Okinawa. From the obtained data, we got some insight to the effect of the tidal cycle on crab behaviors. Machine learning techniques is applied to improve the accuracy of correct counting of crabs.

研究分野：情報科学

キーワード：動物行動 インターネット 画像処理 概日リズム 概潮汐リズム 深層学習

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

学内の時間生物学の研究者と、体内時計の健康への影響に関する議論の中で、環境要因が動物活動に与える影響を地球規模で調査することの重要性を認識した。インターネット接続できる計測装置を開発すれば、世界各地の動物の活動データをリアルタイムに収集することができる。そこで、動物の活動計測装置の開発とインターネット利用による地球規模の生物の活動リズムの測定・解析を目的とした本申請研究を着想するに至った。

### 2. 研究の目的

概日リズム研究は、時計遺伝子群のシステムの機能を理解しようとする研究であり、しばしば日長や温度などの環境要因が考慮されるが、それらの環境要因は実験室内で人工的に調節されており、実際の動物の生存環境とは異なっており、それから得られる結果は、あくまで合理的な推測にすぎない。

本研究では、地球規模で異なる自然環境要因(日長変化、温度、湿度、気圧など)をもつ地点で飼育した動物の行動を、インターネット利用により同時計測して解析する装置を開発する。これにより、伝統的に実験室内で行われていた研究を、IT技術導入により地球規模の研究に展開し、時間と場所の制約を超えた、新しい生物実験のパラダイムを創成することを目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) マウス行動計測装置の開発

図1に示すようなマウスの行動を環境要因とともに計測する装置を開発した。マイコン Raspberry Pi ( ) に温度・湿度・気圧センサ ( )、照度センサ ( )、赤外線センサ ( )、加速度センサ ( ) を接続した。照度センサは GPIO を、その他 4 つのセンサは I2C をインターフェイスに用いている。右上の写真のように各センサを配置した。

計測したデータは csv 形式でインターネット経由で Dropbox に送られる。

最初に赤外線センサでマウスの体温を検出することで行動を把握することを試みたが、日射光による誤検出が見られたため、行動把握を加速度センサによる方法に変更した。

ケージの下にスプリングを置き、揺れを増幅することにより、図2に示すような良好な行動検出を行うことができた。図2の上部はX軸(緑)とY軸(青)、下部(赤)はZ軸の揺れを示している。

#### (2) ミナミコメツキガニ行動計測装置の開発

ミナミコメツキガニを自然環境下で観察する装置、すなわち温度、湿度、気圧、照度などの環境データを屋外で計測でき、かつ概潮汐リズムにあわせて飼育水槽の水位を自動的に調整できる装置を開発した。この装置には、ミナミコメツキガニの行動を自動的に検出するための画像処理機能も付加した。インターネット接続環境があれば、地点によらず、自動取得した環境要因データとカニの行動データを遠隔地から伝送することができる。

満潮、干潮時間にあわせて、飼育している水槽の水位を変えることができる潮汐装置を開発した。これは、SSR (ソリッド・ステート・リレー) を用いてポンプの電源を制御することで実現した。この装置を用いた水槽と用いない水槽の2つを用意して、ミナミコメツキガニの行動観察を行った。図3に開発した装置の全体構成と潮汐発生機構を示す。

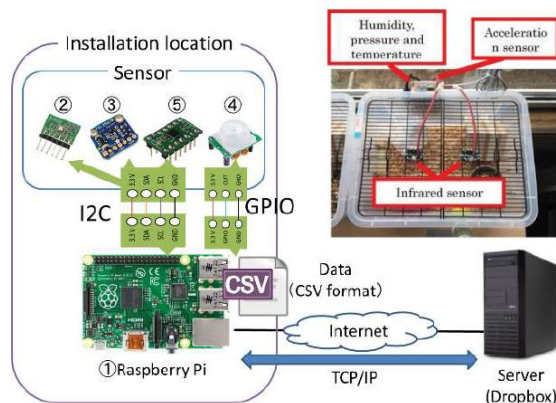


図1 マウス行動計測装置

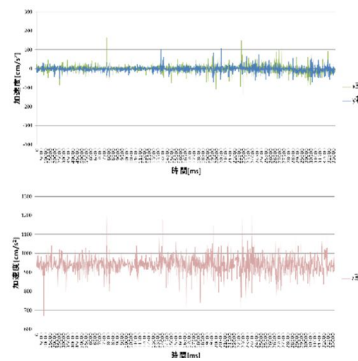


図2 加速度センサによる行動検出



図3 装置の全体構成と潮汐発生機構

#### 4. 研究成果

##### (1) ハムスター行動計測実験

2台の装置を作成し、北海道旭川市と沖縄県西原町に設置し、2017年3月29日～4月6日の期間で計測を行った。実験動物を現地で調達する必要があるため、マウスではなくハムスターを用いた。その結果を図4に示す。

記録された温度、湿度、気圧のデータを気象庁が公表しているデータを比較し、正常に動作していることを確認した。例えば、沖縄では4月1日と4月6日は曇りで、他の日は晴れであったが、曇りの日の照度センサの値は晴れの日のもより低くなっている。また、図4中の青の棒と黄色の棒とを比べてみると、赤外線センサは昼間によく反応し、加速度センサは夜によく反応していることがわかる。これらのデータから、ハムスターの行動は把握できているといえる。

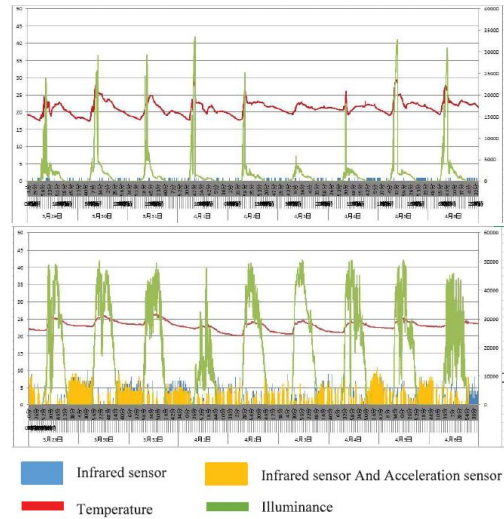


図4 北海道(上図)と沖縄(下図)でのデータ

##### (2) ミナミコメツキガニ行動計測実験

###### ・画像処理によるカニ匹数のカウント

ミナミコメツキガニの行動を1分おきにカメラで撮影し、これらの画像に対して処理を行うことで、カニの位置と匹数を特定するプログラムを作成した。図5(A)、(B)、(C)は、連続した3枚の画像である。色付きの丸枠で囲まれた部分にカニがいる。以下に、(B)の画像の匹数を検出するための処理の流れを示す。

背景差分法で、すべての画像を同じしきい値で行うと、環境光などの影響があったとき、画像全体が白くなった。そこで、あるしきい値で背景差分法を行った画像の白色のピクセル数を数え、その数に応じて適応的にしきい値を変更した。これにより、環境光の変化があっても、カニの抽出は問題なく行えた。(背景差分法は、グレースケールにした2枚の画像の差をとり、その差がしきい値以上であれば白、以下であれば黒と二値化する手法である。)

(A)と(B)の画像、(B)と(C)の画像に対して適応的にしきい値を定めた背景差分の処理を行った画像がそれぞれ(D)、(E)である。その後、図3の(D)と(E)の同じピクセル位置を比較し、AND演算のように白と白には白、それ以外の組み合わせには黒を出力した処理を行ったものが(F)である。

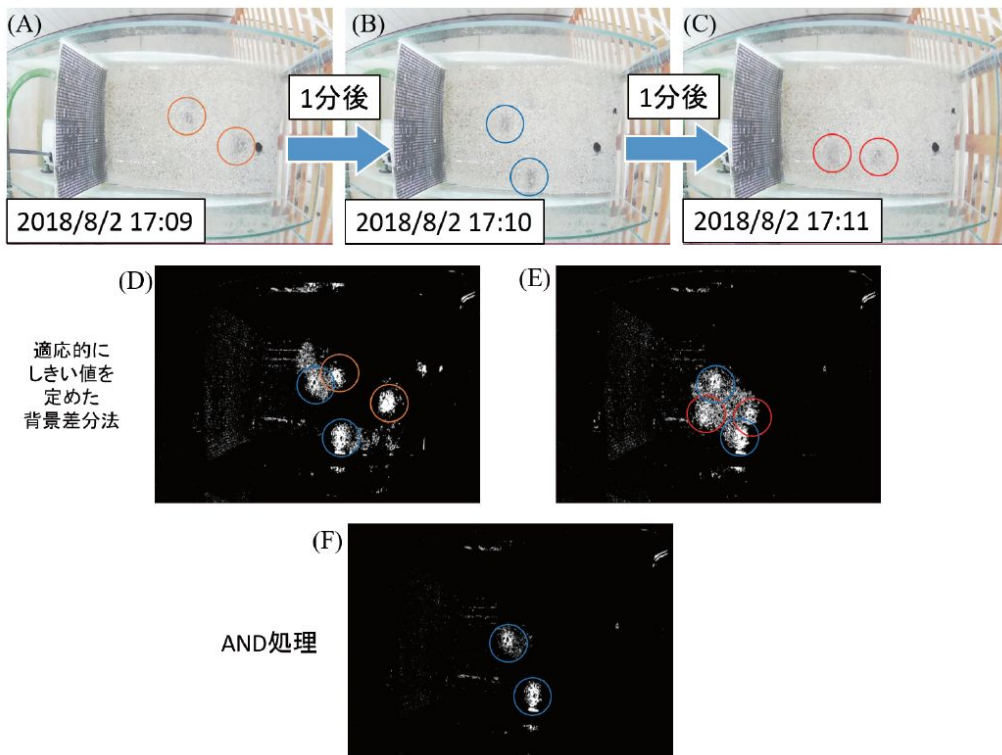


図5 適応的な背景差分法によるカニの検出と匹数

・潮汐計算による水位レベル調整の自動化

図6に実験の結果を示す。時刻  $t$  における潮汐は以下の式1で表され、この中の変数は式2の各値をパラメータ表から拾って当てはめれば求めることができる(潮汐計算略説/潮汐表)。これをプログラム化し、Raspberry Pi で実行させ、ポンプを作動させて水槽の水位レベルを上下させた。動作確認のため、名古屋港の潮汐にプログラムを設定し、連続して4日間、潮汐装置を動かして水槽を1分間隔で撮影した。その結果、作成した潮汐プログラムが名古屋港と同じ潮汐時間で動いていることが確認できた。

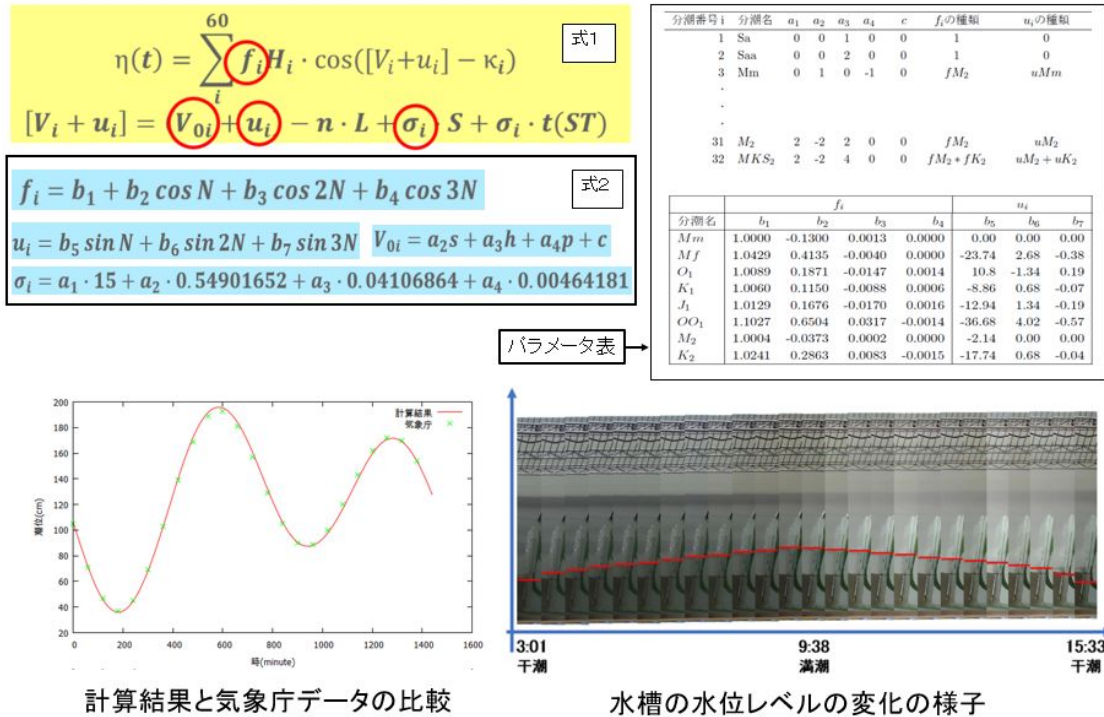


図6 潮汐計算による水位レベル調整の自動化

・場所と潮汐有無によるカニの周期性

開発した装置を山口県山口市と沖縄県西頭郡西原町に設置し、動作検証実験を2018年7月11日~8月31日の期間に行った。結果の一例を図7左に示してある。

結果をまとめたものが図7右の表である。744分付近と1488分付近にピークがみられた。744分付近は概潮汐リズムが観察されている期間で、1488分付近はミナミコメツキガニに概リズムがもしあるとすれば、それが要因のひとつとして考えられる。

潮汐ありでは、山口と沖縄ともに744分付近、1488分付近のいずれかにピークが出現している。一方、潮汐なしでは、山口と沖縄ともに前半期間7/11~8/10においてピークが出現しているときは、744分付近、1488分付近のいずれかに出現しているが、後半期間8/11~8/31では、沖縄の8/25~8/31を除いて、周期性が崩れている。

よって、潮汐を与えることで、周期的な行動が維持する傾向が観察できる。

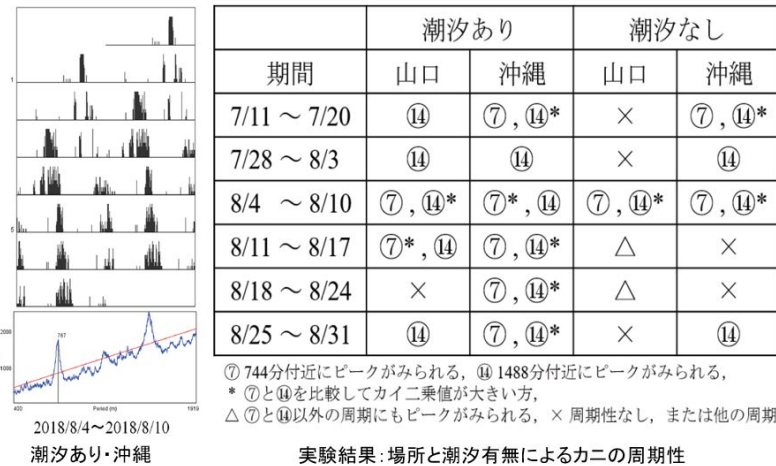


図7 場所と潮汐有無によるカニの周期性

・ 深層学習によるカニ検出

上記のようにカニの自動カウントを背景差分法によって試みていたが、十分な認識率が得られていなかった。そこで、別の検出方法として、畳み込みニューラルネットワークによる深層学習を試みた。図8のように、カニが写っている領域と写っていない教育を学習し、閾値を0.9に設定して班別を試みた。学習用画像としてカニ有を53,899枚、カニ無を60,466枚、検証用画像としてカニ有とカニ無それぞれ2,500枚を用いて試験したところ、適合率0.85、再現率0.91、分類精度88%でカニの判別をすることができた。さらに反復学習を試みたところ、分類精度は91%に向上した。

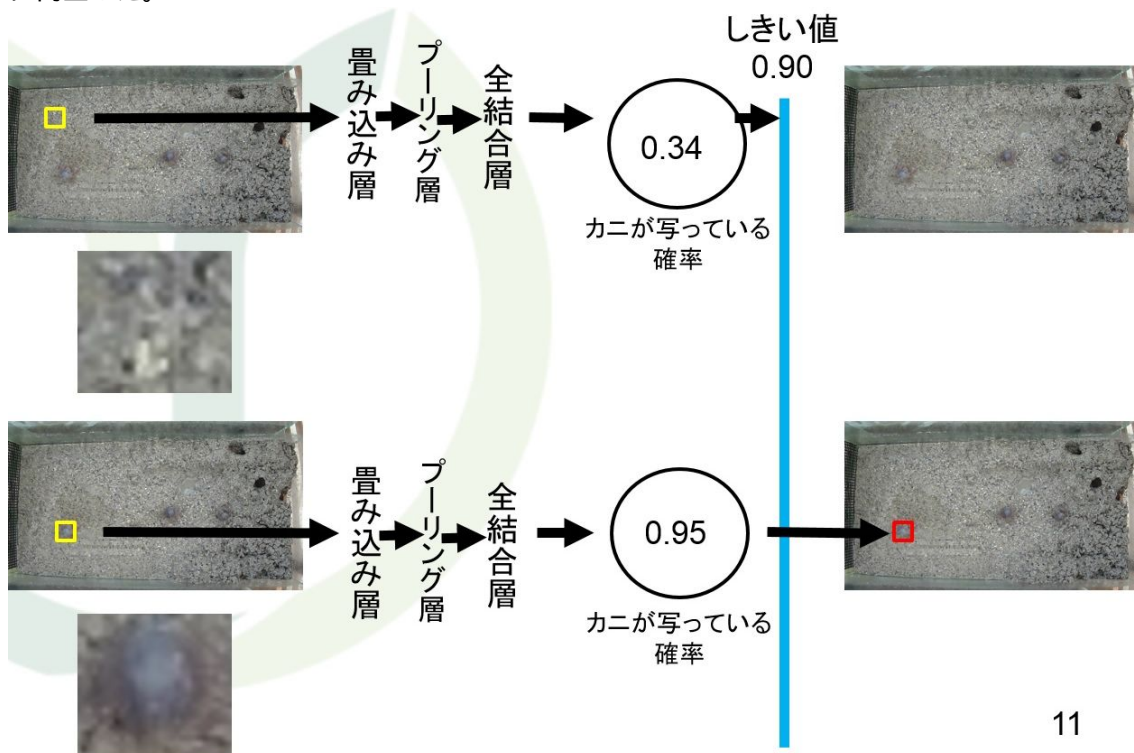


図8 深層学習によるカニ検出

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iwamasa S, Matsuno H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Equipment for measuring animal activity with environmental factors in natural condition through the internet	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The 23rd International Technical Conference on Circuit/System, Computers and Communications	6. 最初と最後の頁 510-513
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kajimoto J, Matsumura R, Node K, Akashi M.	4. 巻 23
2. 論文標題 Potential role of the pancreatic hormone insulin in resetting human peripheral clocks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 393-399
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1111/gtc.12582	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshinaka K., Yamaguchi A., Matsumura R., Node K., Tokuda I.T., Akashi M.	4. 巻 22
2. 論文標題 Effect of different light-dark schedules on estrous cycle in mice, and implications for mitigating the adverse impact of night work	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genes to Cells	6. 最初と最後の頁 876-884
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） DOI: 10.1111/gtc.12522	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Iwamasa S, Arakaki H, Yasunaga K, Matsuno H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of circatidal rhythm measuring system of Mictyris brevidactylus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc. The 34th International Technical Conference on Circuit/System, Computers and Communications	6. 最初と最後の頁 608-611
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩政翔大、松野浩嗣
2. 発表標題 インターネットによる動物行動自動計測装置
3. 学会等名 時間学会第10回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩谷巧海、武方宏樹、岩政翔大、松野浩嗣、森山徹、竹村明洋
2. 発表標題 ミナミコメツキガニにおける個体レベルでの概潮汐リズムの解析
3. 学会等名 第25回日本時間生物学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩政翔大、明石真、松野浩嗣
2. 発表標題 インターネットによる概日リズムの多地点同時計測装置の開発
3. 学会等名 日本時間学会第9回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岩政翔大、新垣蛭、塩谷拓海、武方宏樹、竹村明洋、松野浩嗣
2. 発表標題 ミナミコメツキガニ概潮汐リズム計測装置の開発
3. 学会等名 日本時間生物学会第26回学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	明石 真  (Akashi Makoto)  (30398119)	山口大学・時間学研究所・教授    (15501)	