

アリのコロニー識別行動のビデオ解析

花井 一光¹・山内 大悟²・里路 裕司²・中川 恵津子²・
大橋 乙予²・尾崎 まみこ²・山岡 亮平²

アリは体表から分泌される炭化水素で自分のコロニーを識別することが知られている^{1,2)}。アリはこの体表に分泌される炭化水素の組成を感知して相手が自分と同じコロニーに属する（同巣と呼ぶ）個体か異なるコロニーに属する（異巣と呼ぶ）個体かを判定しているとされている²⁾。実際、2頭が出会うと、それらが同巣個体かそうでないかによって全く異なる行動を示す。一方、この体表に分泌された炭化水素は歩行に伴って歩行した場所にも塗布され、足跡物質としても働く。ガラスキャピラリーに詰めた足跡物質で刺激してやるとアンテナの化学感覚器から電気インパルスを検出でき、アンテナでこれらの物質を検出していると考えられる²⁾。あらかじめ多数のアリを自由に歩行させて足跡物質を塗布したシャーレを用意し、その中を新たに導入したテスト個体のアリが歩く様子を観察すると、アリはアンテナで頻りにシャーレのガラス面をたたきながら歩行し、足跡物質の影響が感ぜられる。シャーレに塗布した足跡物質が同巣個体か異巣個体かによって、テスト個体の歩行の様子は異なるように見える。この足跡物質の影響を客観的に評価するために、ビデオを利用して解析する方法を検討した。

動物の動きを調べるのに、ビデオなどを利用し³⁾、その動いた軌跡のフラクタル次元を調べる⁴⁾ことは生態学では広く利用されている。動物があちこちうろろしながらゆっくり移動するのか、目的に向かってまっしぐらに移動するのかは動物種やその生理状態に強く依存している。このような動き方の違いは軌跡のフラクタル次元の違いとして表れる。行動のうちでも、特に2次元平面内の移動行動（locomotion）はコンピュータ化して主観に左右されない詳細な解析が容易である。本研究では、アリの移動行動を民生用デジタルビデオ機器で撮影し、このビデオ映像をデジタルムービーとして直接コンピュータに取り込み、ムービーの各フレームを個々の画像として扱って解析することを試みた。

最近のコンピュータの能力には、ハード、ソフトともに驚くべきものがあり、購入時にパソコンに添付されているソフトを利用するだけでデジタルムービーを扱うことができ、本研究の目的には十分であった。各フレームの画像を解析するプログラムはFree OS、Linux上で動くCプログラムとして独自に開発した。Linux上で動くプログラムとして開発したのは、Linuxはほとんどすべてのコンピュータで動かすことができ、能力が限られたコンピュータ上で開発したものでも、高性能でより高速なコンピュータで容易に動かすことができるからである。

1) 京都府立医科大学医学科物理学教室

2) 京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学教室

方 法

直径 6 cm のガラス製シャーレを 4 枚用意し、ヘキサソールとメタノールで洗浄した。このうちの 2 枚のシャーレに、それぞれ、A (同巢) コロニー、B (異巢) コロニーのクロオオアリ (*Camponotus japonica*) を 6 頭入れ、2 時間自由に歩行させて、同巢 (homo)、異巢 (allo) の足跡物質を塗布した。このような方法で、ガスクロマトグラフィーで検出できる足跡物質がシャーレに付着することは確かである²⁾。クロオオアリは静岡県富士宮市、京都市内各所から採集したものを利用した。残りの 2 枚は足跡物質を塗布しないコントロール (c1, c2) とした。こうして用意した 4 枚のシャーレにコロニー A の観察個体 1 頭をいれ、各シャーレ 10 分ずつ歩行させ、デジタルビデオカメラ (Sony DCR-TRV240K) で撮影した。全体が一様な明るさになるように下側から白紙を通して照明した。テストは c1->allo->homo->c2、c1->homo->allo->c2 の順で行い、おのおの 10 頭についてのデータを得た。

こうして得たデジタルビデオ映像を IEEE1394 経由でコンピュータ (Apple Macintosh QuickSilver、iMovie) に取り込んだ。iMovie で取り込んだ映像を高品質 DV ファイルに変換した後、Quicktime Pro を利用して、取り込んだ映像を 30 frames/sec のシリーズ画像 (Tiff フォーマット) に変換した。こうして得たシリーズ画像の 1 枚 1 枚に対して、Linux 上で動く独自開発プログラム glana⁴⁾ を利用して (コンピュータは Compaq Alpha DE20 を利用)、各フレームから背景を消去した上、アリ画像を抽出し、アリの重心座標を求めた。

glana は、当初はヒドラの行動解析用に MacOS 上で動くプログラムとして開発された analysis を Linux に移植されたものであった⁴⁾。画像フレームから目的画像を抽出するアルゴリズムに視覚機構で作用している側抑制を取入れて効率よく目的画像を抽出するようにしている。側抑制フィルターをかける (隣のピクセルの明るさに応じてピクセルの明るさを減らす操作) と、画像の境界が鋭くなるので、目的画像を抽出しやすくなる。もともとは黒い背景の中

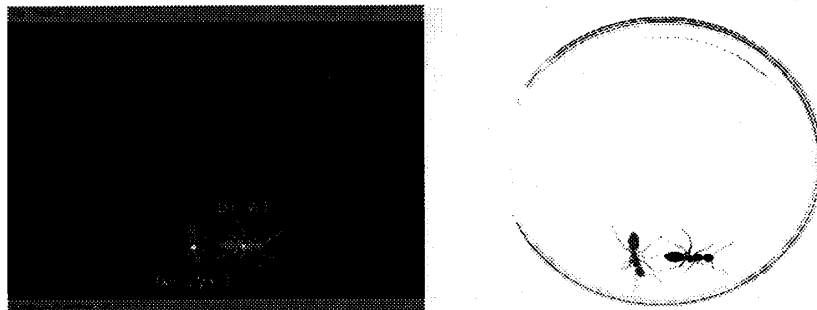


図1 右、入力画像。左、glana で 2 値化した画像 (白黒反転している)。入力画像にみられるシャーレの像は 2 値化画像では消えている。実際にはアリの画像は 1 つだが、この図では別フレームの画像を合成して 2 頭の画像を示している。

の白い画像を解析するプログラムとして作成されたので、入力画像を白黒反転してアリでも使えるようにした。アリの行動解析の画像には実験に供するシャーレの画像が入ることが避けられなかったので、行動解析に無関係なこのような背景画像を自動的に除去するようにしている。これは、解析のために入力したすべての画像で、背景画像は変化しないが、目的画像のアリは動き回ることを利用して、背景を消去している。実際には、入力画像を平均することで、まず背景画像を算出している。入力画像を平均すれば動きまわる目的の画像は消え、動かない背景はそのまま残るからである。実際の画像フレームからこのようにして得られた背景画像をさっ引いてやれば目的画像のみを得ることができる。図1に入力画像と glana で抽出したアリの2値化画像を示す。

歩行・停止状態の持続時間は各フレームでの重心の位置からフレーム間の移動距離を算出

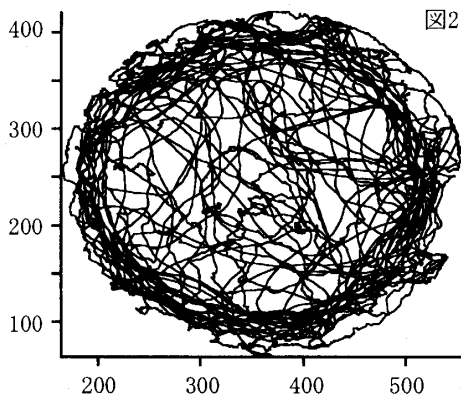


図2 同巢のアリで足跡物質を塗布したシャーレをテスト個体が歩行したときの最初の10分間の軌跡。横軸、縦軸の単位はピクセル。DVフォーマットの関係で横軸：縦軸の長さの比は1:0.9になっている。

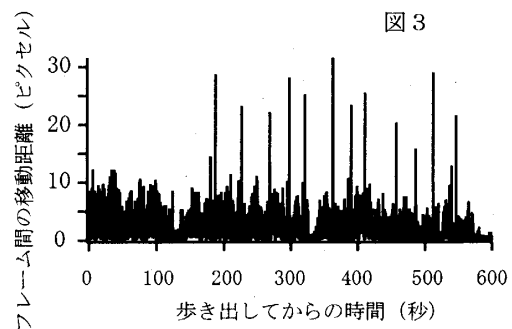


図3 図2の軌跡からフレーム間の移動距離（フレーム間は一定の時間 1/29.97秒なので、これは速度になる。単位はピクセル）を算出。縦軸は移動距離（ピクセル）、横軸は時間（秒）

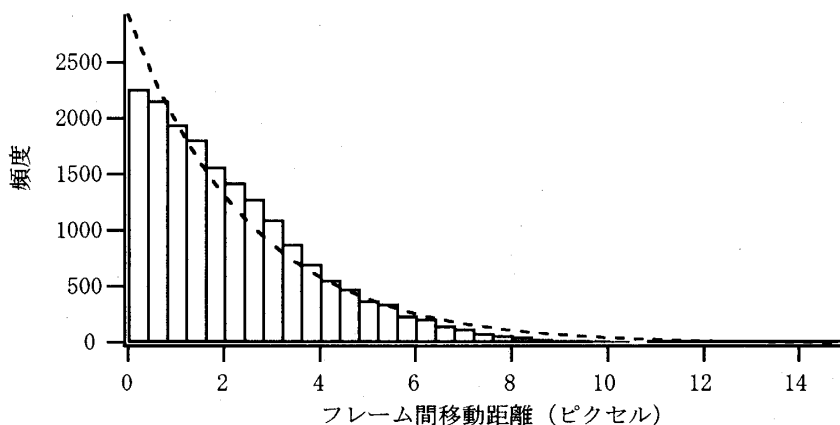


図4 図3の結果から歩行最初の10分間の速度（フレーム間の移動距離）をヒストグラム（棒グラフ）で示す。縦軸は頻度、横軸はフレーム間の移動距離。点線で示しているのは、ヒストグラムのデータを指数関数でフィットしたときの曲線。

し、この値が0.8ピクセル以下の場合には、フレーム間での動きはないものと判定し、これより大きいときは動いていると判定した。これは、アリは体全体としては動いてないがアンテナや足を動かしているようなときがあり、単純に2値化画像から重心を計算すると、このような動きによっても重心の位置がわずかに変わってしまいうること、目的画像の2値化の際、目的画像の一部が欠けたりすることがあり、こういう不完全な2値化データから重心を計算すれば、重心のわずかな変化は本当に移動によるものか2値化に伴う人工産物であるのか不明であるからである。

glana は画像フレームから、目的の画像を抽出して、その重心を算出する。得られた重心座標からアリの速度を計算し、フラクタル解析などに供した。これらに必要なプログラムは perl で作成した。統計検定は Macintosh 用の JMP (SAS) によった。

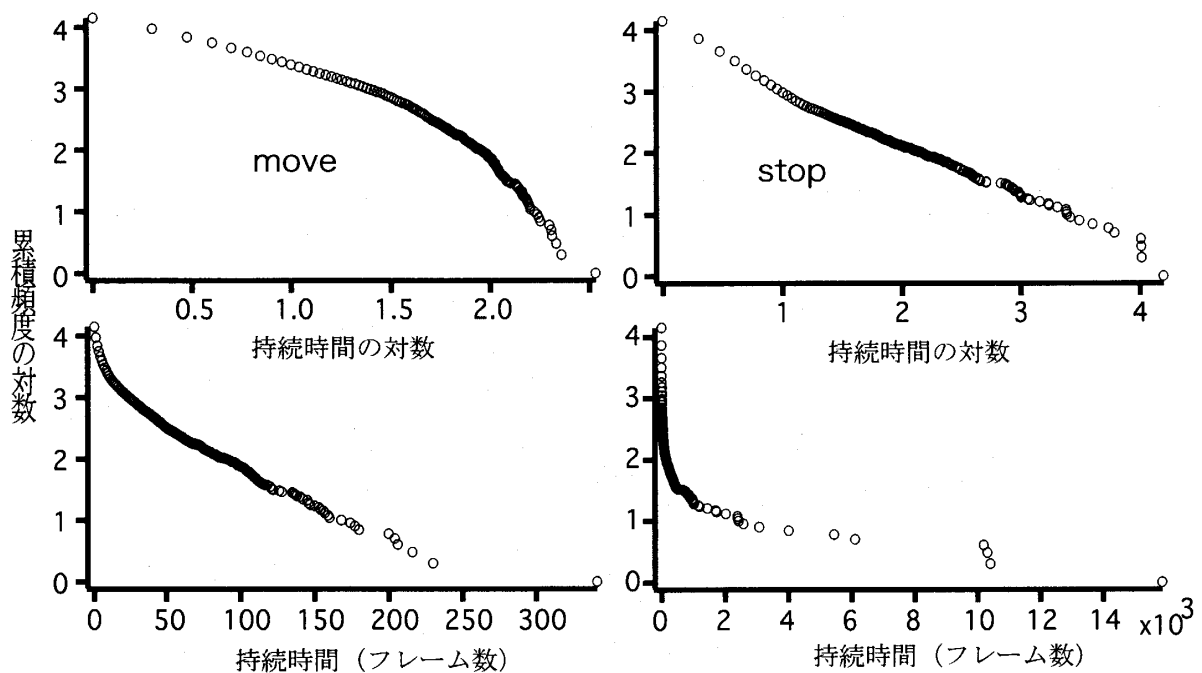


図5 160分間テスト個体のアリの同巢足跡物質を塗布したシャーレを歩行させたときの動いた持続時間(左側、move)、停止状態持続時間(右側、stop)と累積頻度の関係。持続時間の単位はビデオフレーム(1/29.97秒)。上は累積頻度の対数と持続時間の対数をプロットしたもの。下は累積頻度の対数と持続時間をプロットしたもの。動いている状態に対しては、左下のプロットが広い範囲で直線になっているので、これはポワソン過程であることが分かる(速度定数0.358 sec⁻¹。持続時間の短いところで勾配が急になっているのは緩和時間の短いポワソン過程があるためと考えられる)。停止状態に対しては、右上のプロットが4桁にも及ぶ広い範囲で直線関係を示しており、これは時間フラクタル過程であることを示している(フラクタル次元0.806)。

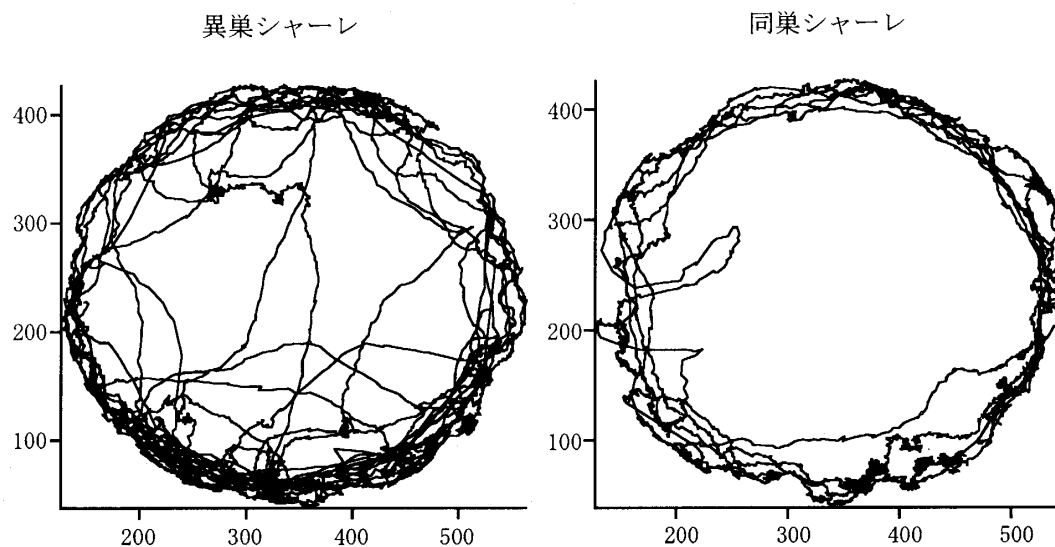


図6 アリが10分間歩行した軌跡。左、異巣足跡物質塗布シャーレ：右、同巣足跡物質塗布シャーレ。座標の値はピクセル値。

結 果

長時間歩行：

まず、アリを長時間歩行させた場合についてその歩行の様子を調べてみた。図2はあらかじめ同巣のアリを歩かせておいたシャーレをテスト個体が歩行したときの最初の10分の軌跡を示している。アリは少し動いては止まり方向を変えまた動く、という動きを繰り返している。市販されている民生用のビデオで撮影すれば、毎秒29.97フレームの画像データを撮ることができ、この各フレームから重心の位置座標のデータが得られる。これら軌跡のデータから各時刻での速度を算出できる。この結果を図3に示す。図3からアリが歩行しているときの歩行速度は各時刻で急激に変化していることが分かる。これは、一旦動き出せば、比較的滑らかに動く自動車などの動きとは大きく異なる。また最初の10分間での各時刻での速度（フレーム間の重心の移動距離）のヒストグラムを図4に示す。一定の平均速度が期待されるガウス分布とは大きく異なり、速度がゼロに近いほど頻度が高い。実際、この分布曲線は指数分布に近い（図4の点線）。この速度分布は、アリが歩行するときには、移動距離をその所用時間で割って算出した平均速度というのは統計的な代表値としての意味を持たないことも明らかである。

アリの歩行では各瞬間で速度が大きく変化しているため、フラクタル性を示している可能性が考えられたので、アリが歩行している（フレーム間の変位がしきい値以上）とき、停止している（フレーム間の変位がしきい値以下）ときのそれぞれの持続時間を調べてみた。すると、動くときの持続時間はポワソン分布になるが、止まっているときの持続時間はフラクタルになることが分かった。図5にテスト個体が同巣足跡物質を塗布したシャーレ上を2時間半歩行させたときのデータを示す。動く持続時間がポワソン分布になることは、累積頻度の対数

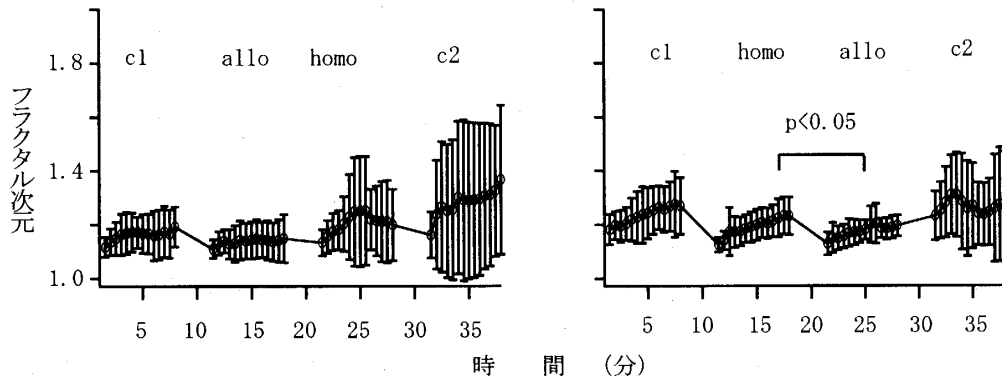


図7 軌跡から得られたフラクタル次元の変化。右と左はテストした足跡物質の順番が異なる。縦軸は歩行の軌跡のフラクタル次元、横軸は時間(分)。アリは図中に示された足跡物質を塗布されたシャーレの中を次々と連続して各10分歩行した。10頭についての平均値と標準偏差を示す。各個体のデータについて、対応のあるt testの結果、図に示すところで、有意な差が見られた。p<0.05。

と持続時間とをプロットすると直線になることから分かる(図5左下)。この直線の傾きから、動いている状態の速度定数は 0.358 sec^{-1} (半減期 1.94 秒) であることが分かる。停止の持続時間がフラクタルになることは、累積頻度の対数と持続時間の対数が直線関係を示すことから分かる(図5右上)。この直線の勾配からフラクタル次元は 0.806 であることがわかる。この関係は非常に安定で、いろいろな条件下でも常に観察される。ただ残念ながら、シャーレ上の足跡物質を変えても、2時間半のデータを丸ごと解析する限り、これらの歩行の様子に変化は見られなかった(未発表データ)。

異なる足跡物質を塗布したシャーレを次々と歩かせる：

次に異なる足跡物質を塗布したシャーレ上を次々と10分ずつ歩かせ、塗布した足跡物質の歩行に対する影響を調べた。図6に本実験で得られた同巢・異巢足跡物質を塗布したシャーレでの歩行の軌跡の例を示す。両者は同じ10分間の軌跡であるが、たまたまこの例では、異巢足跡物質存在下では速く動いたため、より異巢足跡物質存在下での軌跡が長くなっているように見える。

軌跡のフラクタル解析

アリの歩行の軌跡をフラクタル解析してみた。自然界の「線」がフラクタル性を示すことはよく知られている⁹⁾。直線のフラクタル次元は1であるが、動物がうろうろして歩行の軌跡が複雑に折れ畳まれるほど軌跡は平面全体を覆うようになるので、フラクタル次元は2に近づく。この性質から、フラクタル次元は動物の歩行の様子などの指標として適している³⁾。テスト個体はそれぞれ異なる足跡物質を塗布したシャーレを10分ずつ連続して歩行させた。3分間の

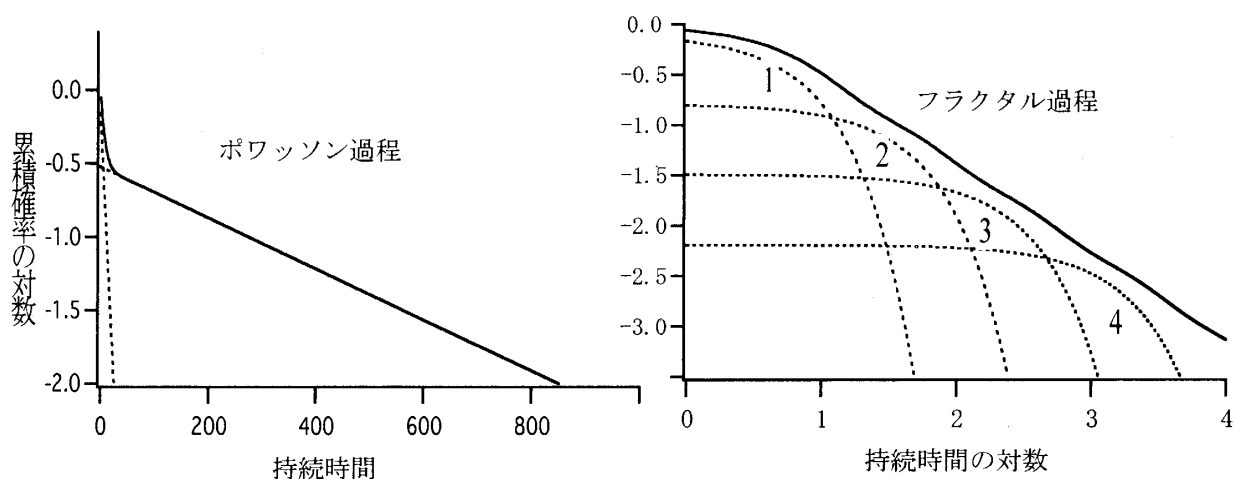


図8 無限個のポワソン過程があるとフラクタル過程になる。左は2つのポワソン過程が並列的に生起するときの累積度数の対数と持続時間をプロットしたもの。右は4個のポワソン過程1-4(点線)が一定の規則の元で生起しているときの全体のプロセス(実線)。累積度数の対数と持続時間の対数をプロットすると広い範囲で直線関係が得られ、フラクタル性がでてきている。

軌跡のデータ(5400点のデータ)からフラクタル次元を算出し、これをその中心の時刻の値とした。Mandelbrotの方法⁶⁾、異なるスケールで測定した3分間の歩行跡の長さが減少する割合からフラクタル次元を算出した。最初の3分から30秒ずつずらして行って軌跡を取り、これから算出したフラクタル次元を各時刻の値とした。コントロール>異巢足跡物質>同巢足跡物質>コントロール(c1->allo->homo->c2と略す)では各時刻の平均フラクタル次元は顕著に変化せず、homo、c2のところ、標準偏差が大きくなっていた(個体差が大きくなった)(図7左)。一方、c1->homo->allo->c2では、アリがc1->homo、homo->alloの違う環境に進むときにフラクタル次元が大きく変化した(図7右)。homoの最後の(18分)フラクタル次元とalloの21.5-24.5分までのフラクタル次元は、いずれの値も、有意($p < 0.05$)に異なるとの結果が得られた。この結果は、c1->homo->allo->c2の順で歩行させた時には、新しい環境に移った直後にフラクタル次元が大きく変化し、速やかに戻ること示している。

考 察

ここで得られた結果はテストする足跡物質を供する順番が結果に大きく影響することを示している。同じhomo環境でもそれまでの経験が軌跡のフラクタル次元に影響している。新しい環境に入った時にフラクタル次元が変化するときには、その変化は急激であり、その後速やかに前環境でのフラクタル次元の値に近付いてゆく。新しい環境に移った直後のフラクタル次元の変化を詳細に見てみると、新しい環境に移った直後では $p < 0.001$ でも有意になっている(未発表データ)。新しい環境では、最初、フラクタル次元が有意に小さくなるが、これは歩行がそれまでより直線的になることを意味している。この時間変化の速さを考えると、できるだけ短い時間のデータで解析してその結果の時間変化を見る必要があるように思われる。今回は3分

間のデータを利用して解析しているが可能な限り短い時間のデータからフラクタル次元を算出できるのが望ましいと考えられる。

歩行の様子をビデオに撮って、それらの画像データをコンピュータで解析するのは行動を解析する上で強力な手法になりうることを示された。これは既にいろいろなシステムで示されているところであるが^{3-5, 7-8)}、本研究では、ビデオレートの画像をそのまま利用して、30 データ/秒という膨大なデータを活用するために新たなプログラム glana を開発して、詳しい解析を可能にしている。また、本研究で利用した glana では画像から目標動物を抽出するのに、高度なアルゴリズムを開発し実装している。この glana に実装された高度な画像処理アルゴリズムのため、ビデオフレームから動物画像を抽出するために動物を特別に標識したり、動物を抽出しやすくするため一様な背景の特別な環境を用意する必要はない。

動物の動きについては時間的なフラクタル性も示すことが知られている⁷⁻⁹⁾。動物がうろうろ歩き回るのは食べるものその他その動物に有用なものを探索している場合が多い。このような場合、動物は単なるランダム歩行ではなくて、歩行（動物によっては飛翔）にフラクタル性を入れて、出来るだけ効率よく探索物を見つけるようにしていると考えられている⁹⁾。本研究でも、アリの歩行行動に関して、停止の持続時間は非常に広い範囲に渡ってフラクタル性を示すことが明らかになった。また歩行そのものの持続時間はポワソン過程になっていた。この両者の関係がどんなものであるかは非常に興味深い。いずれにしろ、図2で示した何の規則性も感ぜられない、全くの気まぐれと偶然に左右されているとしか思えないアリの歩行状態が、歩行状態と停止状態の持続時間で整理すると、図5に示したような簡単な規則性が表れるのは大変興味深い。

Schlesinger によれば、一定の規則で無限個のポワソン過程が同時に働いているとそれは全体としてはフラクタル過程になるという（図8）¹⁰⁾。しかし無限個のポワソン過程が並列的に起こる、とはどういうものを考えればよいのだろうか。放射性同位元素の崩壊や1分子で進む化学反応（2分子反応であっても、反応に関与する化合物の一つが大過剰にあるような場合、例えば加水分解、もこの範疇に入る）は典型的なポワソン過程として知られている。図8に示したような無限個のポワソン過程が生起する過程ではどの時間スケールで観察しても一定の確率で事象は生起するので、ポワソン過程で見られる半減期というような過程を特徴づける時間は存在しない（ある任意の2つの時間で事象が生起する頻度を調べると、いつでも同じ割合になる）。

最近、コンピュータネットワーク、細胞内の代謝物質のネットワーク、人と人の関係のネットワークなど、広い分野のネットワークがスケールフリーなトポロジー構造（ノードの結合の数の分布がベキ乗則に従う構造）であることが見いだされている¹¹⁻¹³⁾。また、Barabasi は、人が電子メールを受け取ってから返事するまでの時間もやはりベキ乗則（ベキ指数は1）に従うことを見出している¹⁴⁾。Barabasi はベキ指数1になることを、人がメールを受け取って返事をする場合、メールに返事をする以外にいろいろな仕事があること、返事するメールに優先度があるとするモデルで説明している。また、長期間にわたってほとんどすべての手紙の記録が残っ

ている Darwin と Einstein の場合について手紙のやり取りの頻度を解析し、やはりベキ乗則にしたがっていることを見出している（ベキ指数 1.5）¹⁵⁾。この場合には、手紙を受け取る速度と返事を出す速度（処理速度）を考慮した優先度モデルを考え、もし、手紙を受け取る頻度が高く、手紙処理能力に等しいかそれを超えるとベキ指数が 1.5 になることを示し、現代人の電子メールの場合も、少し前の手紙の場合も同じモデルで説明できることを示している。停止状態というのは動物が動き出すときに終了する。動物が停止状態にあって動き出すときの要因は、内的なもの外的なものいろいろなものがあると考えられるので、ある意味、状況は、メールや手紙を出すまでの時間と似ているのかもしれない。この場合、Barabasi のベキ指数と同じ取り方をすると、我々の場合のベキ指数は 1.8 になり、入力が出力と同じぐらいか大過剰の場合と似ている。この場合の入力とは、動物の外部感覚、内部感覚による入力などに相当すると考えられる。

人がメールや手紙を受け取る場合、優先度を考えないモデル、例えば、受け取った順に必ず返事する、あるいは、受け取った時間には無関係に全くランダムに手元にあるメールに返事するというモデルでは、ポワソン分布になるという¹⁴⁾。歩行状態の持続時間がポワソン過程になるのは、歩行状態では、停止状態に移行する命令は優先度なしで即実行されるためかもしれない。

動物のロコモーションも動物の神経系で体内の生理状態や外界からの情報を総合した結果であるので、神経系ネットワークのスケールフリー性が反映しているのかもしれない。スケールフリーなシステムは、自然界から人の社会に至るまであらゆるところで見られ、一般的に非常に頑強なシステムであることが知られている¹¹⁻¹²⁾。要素間の結合の様子がすべて知られている線虫の神経系、CPU チップの配線などは典型的なスケールフリーなシステムである。障害などで一部が機能を果たさなくなっても、すぐその障害を迂回する別の経路が働き、システム全体が機能不全に陥ることは非常に少ない。図 7 に示した歩行の軌跡のフラクタル次元がある環境から別の環境に移行した後数分の間のみ見られ、それ以降はまた以前と区別できない状態になっていること、長時間の歩行のデータを解析すると、シャーレに塗布した足跡物質の影響が見られないのは、この歩行を制御しているシステムがスケールフリーであることの反映かもしれない。歩行など動物行動のダイナミックな性質とスケールフリー性との関係を調べることによって、生きている動物での神経系の働きのダイナミックな様子を探れる可能性がある。

この論文では軌跡についてのフラクタル性の解析しか示していないが、歩行の動きを時間に関するフラクタル性で解析する方法でも類似の結果が得られている（未発表データ）。いずれの場合でも、c1->homo、homo->allo で大きな変化が見られたが、allo->homo の順番で歩行させるとこの変化は見られなかった。これが、アリの社会性行動の上でいかなる意味を持つのかは今後検討する必要がある。

文 献

- 1) Lahav S, Soroker V, Hefetz A and Meer, VBK: Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften* 86:246-249 (1999)
- 2) Ozaki M, Wada-Katsumata A, Fujikawa K, Iwasaki M, Yokohari F, Satoji Y, Nisimura T and Yamaoka R: Ant nestmate and non-nestmate discrimination by a chemosensory sensillum. *Science* 309:311-314 (2005)
- 3) Anagnostaras, S.G., Josselyn, S.A., Frankland, P.W. and Silva, A.J.: Computer-assisted behavioral assessment of pavlovian fear conditioning in mice. *Learn. Mem.* 7:58-72, (2000)
- 4) Sugihara, G. and May, R.M: Applications of fractals in ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 5:79-86, (1990)
- 5) Hanai K: Multivariate time series analysis of glutathione-induced response of Hydra. *Proc. of 36th JASTS Ann. Meeting* 9: 313-316 (2002)
- 6) Mandelbrot, B. The Fractal Geometry of Nature. New York: W.H.Freeman, (1983)
- 7) Shimada I, Kawazoe Y and Hara H: A temporal model of animal behavior based on a fractality in the feeding of *Drosophila melanogaster*. *Biol. Cybern.* 68:477-481 (1993)
- 8) Cole BJ: Fractal time in animal behavior: the movement activity of *Drosophila*. *Anim. Behav.* 50:1317-1324 (1995)
- 9) Viswanathan GM, Buldyrev SV, Havlin S, da Luz MGE, Raposo EP and Stanley HE: Optimizing the success of random search. *Nature* 401: 911-914 (1999)
- 10) Shlesinger MF: Fractal time and 1/f noise in complex system. *Ann. NY Acad. Sci.* 504: 214-227 (1987)
- 11) Barabasi A-L and Albert R: Emergence of scaling in random networks. *Science* 286: 509 - 512 (1999)
- 12) Albert R and Barabasi A-L: Statistical mechanics of complex networks. *Rev. Mod. Phys.* 74: 47 - 96 (2002)
- 13) Barabasi A-L: Linked - New science of networks. pp.1- 265 Perseus Pub, Cambridge (2002)
- 14) Barabasi A-L: The origin of bursts and heavy tails in human dynamics. *Nature* 435: 207 - 211 (2005)
- 15) Oliveria JG and Barabasi A-L: Darwin and Einstein correspondence patterns. *Nature* 437: 1251 (2005)