

MATLABを利用したカニのディスプレイ行動の解析

宮崎県立 宮崎北高等学校 科学部カニ班

動機

繁殖期に干潟でハクセンシオマネキを観察すると、オスは盛んに大きなハサミを振る。ハサミは一定の速さで振っているように見える。性成熟したメスは、自分の巣穴から離れ、意中のオスを求めて放浪する。オスは「求愛」のディスプレイ行動で、メスにアピールする。しかし、メスに選ばれるオスもいれば、選ばれないオスもいるため、オスが行う「求愛」のディスプレイ行動には個性があるのではないかと考え、以下の仮説を立てた。

仮説 ハクセンシオマネキの求愛には、それぞれのオス固有のリズムがある。

要約

私たちは仮説を検証するために、画像解析プログラムProgramUCA(PUCA)を作った。PUCAは正確で多くのデータをもたらした。その結果、①オスは視覚によってメスを認識しているが、20cm以内の近距離では、大きなハサミは視界の邪魔になっている。そして、②ハクセンシオマネキのオスは、それぞれのオス特有の速さやリズムで、大きなハサミを振っていた。すなわち、オスは目でメスを認識すると、1回の「求愛」のディスプレイ行動でアピールしているのではなく、連続する「求愛」のディスプレイ行動で作らされるリズムや変化を、メスに示していると考えられる。

1. 研究の背景

和名:ハクセンシオマネキ 学名: *Uca lactea*

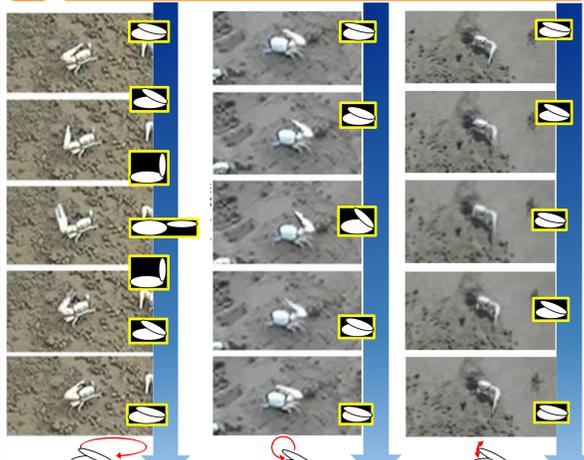
1 白色は5月中旬から8月下旬まで

6月から8月が繁殖期である。この種のほとんどの個体は、甲羅が保護色から白色に変化する。



白色の甲羅と砂のコントラストができ、見つけやすい。さらに画像解析の二値化において好都合である。

2 繁殖期はディスプレイ行動が盛ん



- ① 繁殖期の6月から8月には、オスが「ウェービング」というディスプレイ行動を盛んにするが、メスはしない。
- ② オスは、大きなハサミを振る「ウェービング」で、メスやオスに情報を伝える。
- ③ この「ウェービング」には数種類が確認されているが、これまでそれぞれの「ウェービング」について、正確で詳細な解析は行われていない。

自分たちで解析用プログラムを開発し、正確な多量のデータをもとに画像解析を行う。

3 雌雄を容易に判別できる

カニは腹節(ふくせつ)で雌雄を判断するが、ハクセンシオマネキのオスは片方が大きなハサミになり、メスは両方とも小さい。雌雄の判別は容易である。交尾相手を求めて、成熟したメスは放浪し、オスの巣穴で交尾する。



メスを除去すれば、オスだけの区画を作ることができ、成熟した放浪メスに対する求愛だけを観察できる。

4 数個体を一度に観測できる



甲羅の大きさは1cmから2cmの小さなカニである。通常は、干潟に巣穴を持ち、その巣穴から離れない。その巣穴の周囲に縄張りを形成している。観測地の加江田川河口干潟では多くのハクセンシオマネキが生息している。



干潟にコロニーをつくるが、90cm×90cmの区画に15匹程度(個体群密度18.5個体/m²)がいる。

2. 実験方法

1 観測日は限られている

- ① 大潮の日
 - A: 普段よりも潮位が低く、観測時間が長とれる。
 - B: メスは月周期、オスは半月周期があるという先行研究があり、潮位がディスプレイ行動に影響する。
- ② 数日間かけて実験できる日
 - C: 繁殖期の6月～8月下旬に観測する。
 - D: ハクセンシオマネキの行動に影響しないように禁漁期間で潮干狩り客がいない時期とする。
- ③ 安全が確保されている日
 - E: 雨天時はハクセンシオマネキが巣に入り、外に出ずに、落雷や増水の危険性がある。
 - F: 河口干潟であるため、前日に台風や豪雨が発生して加江田川が増水していない。

Table1 干潟で動画撮影をする観測日 4日目は区画壁なしで実施

観測日	干潮	干潮時潮位	月齢
1: 2019/08/01	12:07	26cm	29.0
2: 2019/08/02	13:08	2cm	1.0
3: 2019/08/03	13:51	7cm	2.0
4: 2019/08/04	14:34	20cm	3.0

2 実験計画

- ① 区画の作成【1日目～3日目】
1辺90cmの正方形区画(面積0.81m²)で、黒色プラスチックダンボールで閉鎖区画を作成し、区画内へ他のカニが入るのを防ぐ(Fig.9&10)。
- ② メスの除去【1日目～3日目】
成熟したメスに対する求愛を調べるために、3日間かけて、区画内のメス(成熟していないメス)を取り除く。
- ③ 区画の作成【4日目】
4日目は区画壁をなくし、四隅にペグを刺し、放浪メスが自由に出入りできる解放区画に変える。
- ④ 撮影方法【4日目】
ビデオカメラで区画全域が写るように動画撮影する。

3 解析方法 ~ProgramUCA(PUCA)の開発~

- ① ハクセンシオマネキを追跡する「関心円」の考案する
パソコンは画像中の構造物をモニターの縦と横の辺にあわせた四角形「関心領域」で認識する(Fig.11黒色の■)。しかし、ハクセンシオマネキが向きを変えると、関心領域の面積も変化する。そこで、関心領域の対角線を直径とする「関心円」を考案した(Fig.11赤色の○)。
- ② 「関心円」はディスプレイ行動に応じて面積を変える
ハクセンシオマネキが大きなハサミを動かすと、関心円の面積は大きくなる。関心円の面積を記録すれば、パソコンに「ウェービング」の詳細を記録させられる(Fig.12黒色の●)。
- ③ 関心円の面積の増減はディスプレイ行動を判別できる
ハクセンシオマネキの「ウェービング」のうち「求愛」と「広報」は似ている(Fig.4&5)。この2つを見分けられるかをプログラムの検証に利用する。なお、時間の経過とともに「広報」はピークを1つ持ち(Fig.13)、「求愛」はピークを2つ持つグラフになる(Fig.14)と予想した。

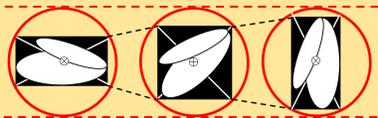


Fig. 11 パソコンの関心領域(■)と円形関心領域(○) (Fig. 11黒色の■)。しかし、ハクセンシオマネキが向きを変えると、関心領域の面積も変化する。そこで、関心領域の対角線を直径とする「関心円」を考案した(Fig.11赤色の○)。

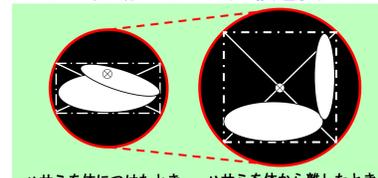


Fig. 12 円形関心領域の面積の変化 (●) (Fig. 12黒色の●)。

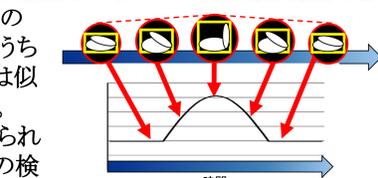


Fig. 13 「広報」の円形関心領域の面積変化

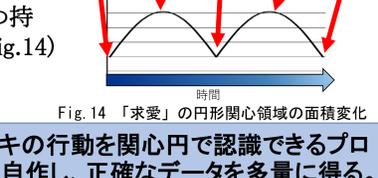


Fig. 14 「求愛」の円形関心領域の面積変化

4 画像解析プログラムPUCA

画像解析のプログラム“ProgramUCA(PUCA)”は、自分たちでプログラミングをした。PUCAは以降の①から⑤までの作業過程を実行する。

- ① モルフォロジー変換
ビデオカメラは斜め上からの撮影となるため(Fig.9)、モルフォロジー変換(台形変換)を行う(Fig.15A-C)。
- ② 二値化とノイズ処理
ハクセンシオマネキだけを残し、ノイズも取り除く(Fig.15D)。
- ③ ラベリング処理
ハクセンシオマネキを追跡するために各個体に番号をつける(Fig.15E)。
- ④ データの収集
関心円の半径(r)、ハクセンシオマネキの座標(x,y)、処理画像が起きた時間(fps)を記録する(Fig.15F)。
- ⑤ データの解析
経過時間と関心円の面積をグラフにする(Fig.15G)。移動平均を求める(Fig.15H)。前後の関心円の面積の公差を算出し(Fig.15I)、得られるグラフを波とみなして高速フーリエ変換(FFT)を行う(Fig.15J)。周波数の振幅の強さを“ウェービング”の判別に利用する。

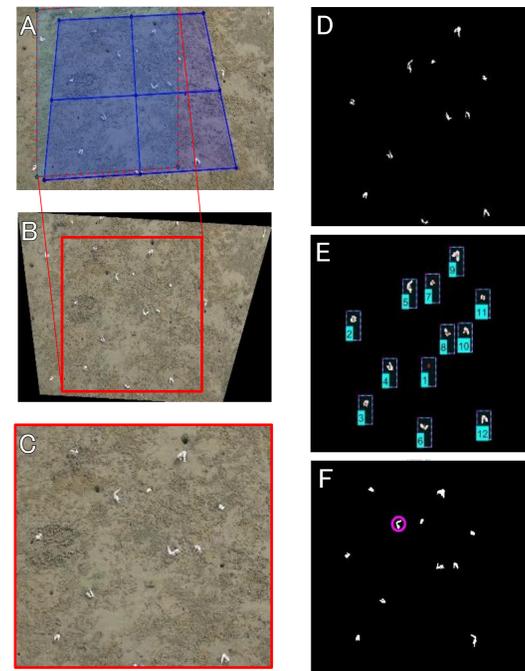


Fig. 15 画像解析プログラム“ProgramUCA(PUCA)”の解析手順
A: モルフォロジー変換前の画像とROI(緑線) 青色線: 変換前の区画のROI、赤色線: 変換後の予定の位置のROI
B: モルフォロジー変換後の画像、区画が正方形になるように元の画像が台形に変換される。
C: 区画の部分だけを正方形に切り抜いた画像
D: 砂や巣穴などハクセンシオマネキ以外を除去し、ノイズも取り除いた二値化画像。白色(数字は1)と黒色(数字は0)で行列で表現する。
E: ナンバリング処理後の画像 画像の左上から列方向(縦方向)に検出して行方向へスライドを繰り返して、検出順に番号を割り振る。
F: ナンバリング処理でNo.9とラベルされたカニを追跡する関心円
G: 関心円の面積の変化 縦軸: 関心円の面積 S_{circ} (単位: Pix²)、横軸: 時間 (単位: fps: frames per second)
H: 移動平均の変化 縦軸: 関心円の面積 S_{disk} (単位: Pix²)、横軸時間 (単位: fps: frames per second)
I: 公差の増減 (現在の関心円の面積から1つ前の関心円の面積を引いた値) 縦軸: 関心円の面積 d_{diff} (単位: Pix²)、横軸: 時間 (単位: fps: frames per second)
J: 公差の増減 d_{diff} の高速フーリエ変換(FFT)の結果 縦軸: 振幅(相対値)、横軸: 周波数(単位Hz)
K: 分析中の画像 関心円: 黄色の円 トラッキングの結果(赤色線)

ハクセンシオマネキの行動を関心円で認識できるプログラムをPUCAを自作し、正確なデータを多量に得る。

3. 結果

1 画像解析プログラムができた！

画像解析のプログラムPUCAで計測した関心円の移動平均の増減とフーリエ変換の解析結果を比較した。

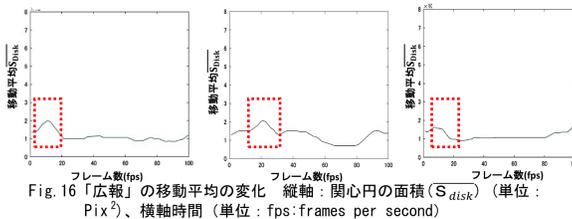


Fig. 16 「広報」の移動平均の変化 縦軸：関心円の面積 (S_{disk}) (単位: Pix^2)、横軸時間 (単位: fps:frames per second)

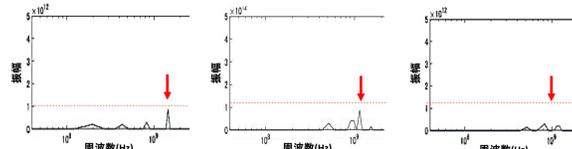


Fig. 17 「広報」の高速フーリエ変換の結果 (FFT) 縦軸：振幅 (相対値)

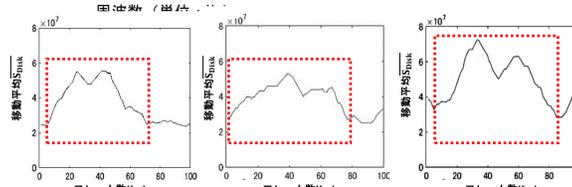


Fig. 18 「求愛」の移動平均の変化 縦軸：関心円の面積 (S_{disk}) (単位: Pix^2)、横軸時間 (単位: fps:frames per second)

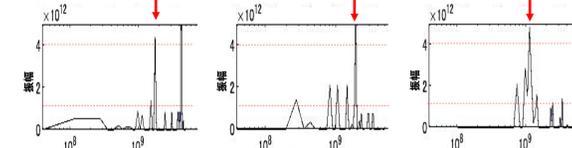


Fig. 19 「求愛」の高速フーリエ変換の結果 (FFT) 縦軸：振幅 (相対値)、横軸時間 (単位: Hz)

結果 PUCAの画像解析の結果は、事前の計算による「広報」と「求愛」の予測と似ていた (Fig.16-19)。
考察 関心円の面積の移動平均またはフーリエ変換の振幅でディスプレイ行動を判別することができる。

2 警告のディスプレイ行動も検出

画像解析のプログラムPUCAは、関心円の面積で「警告」のディスプレイ行動を検出できた。

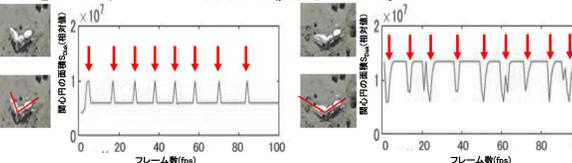


Fig. 20 「警告」の関心円の面積の変化 縦軸：関心円の面積 (S_{disk}) (単位: Pix^2)、横軸時間 (単位: fps:frames per second) 左：腕の拡げ角度が90°より小さいとき 右：腕の拡げ角度が90°より大きいとき

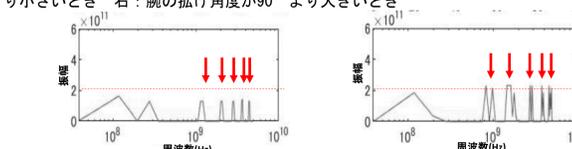


Fig. 21 「警告」の高速フーリエ変換の結果 (FFT) 縦軸：振幅 (相対値)、横軸時間 (単位: Hz)

結果 PUCAは、高速で複数回繰り返される「警告」の判別もできた。しかし、関心円の面積の変化で、異なる2パターンを確認した (Fig.20)。
考察 この2パターンは、大きなハサミの振り上げ角度が90°より大きいか、小さいかで異なるため、フーリエ変換後の振幅を利用するほうが良い (Fig.21)。

3 PUCAの判別精度は高い

PUCAで得られたディスプレイ行動「広報」「求愛」「警告」の速さと所要時間、および判別成功率をまとめた。

Table2 PUCAにより得られた3種類のディスプレイ行動の速さと所要時間等 判別成功率はPUCAと目視による比較を行った

ディスプレイ行動	広報	求愛	警告
フーリエ変換の振幅の最大値 (相対値)	$0.5 \times 10^{12} \sim 1.0 \times 10^{12}$	2.0×10^{12} 以上	0.5×10^{12} 未満
平均の速さ (cm/sec)	振り上げ 4.1 振り戻し 0.51	7.51 9.91	17.11
速さの不偏標準偏差 (SD)	振り上げ 1.24 振り戻し 0.29	8.15 4.86	24.86
平均所要時間 (sec)	振り上げ 0.53 振り戻し 0.15	1.20 0.55	0.12
判別成功率 (%)	(100)	87.93	97.32
標本数 (回)	4	137	299

結果 PUCAにより得られた数値のうち、フーリエ変換後の振幅は、高い確率で3種類のディスプレイ行動を判別できた (Table2)。
考察 フーリエ変換後の振幅を利用して、ディスプレイ行動を判別できるようになったため、そのディスプレイ行動を行った場所のプロットや、ディスプレイ行動の対象個体の特定が可能となった。

4 31cm程度まで見えている

ハクセンシオマネキは視覚にて情報交換していると考えられるが、どの程度の距離まで見えているのだろうか？ 成熟したメスに求愛した3個体のオスと、そのときのメスとの距離を測定した。

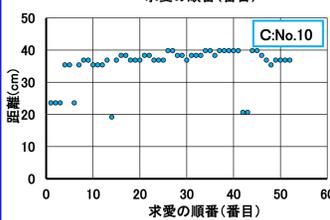
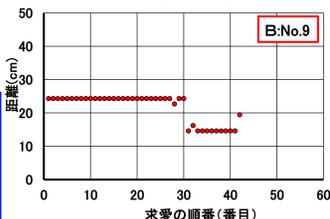
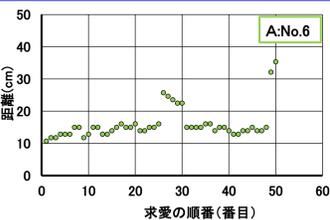


Fig. 22 求愛を行うときの相手 (対象個体: メス) との距離 A: No. 6の個体 B: No. 9の個体 C: No. 10の個体

結果 PUCAの画像解析の結果から、メスまでの距離は平均31cm程度であった。また、いずれのオスもメスとの距離を一定に保っている (Fig.22)。
考察 ハクセンシオマネキが見えている距離の最大値は少なくとも31cmはあると考えられる。

5 大きなハサミが邪魔で見にくい

PUCAで得たデータを用いて、求愛をしたときのメス (対象個体) の位置を調べた。ディスプレイ行動をするカニの正面を0°と定め、相手が左側にいればマイナス値、右側にいればプラス値として相手との角度を測定した。

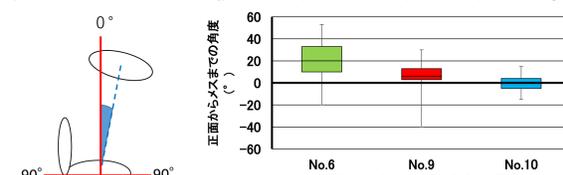


Fig. 23 求愛を行うときの角度 縦軸：メスからオスまでの角度 (°) 横軸：メス (対象個体: メス) との角度の定義 緑: No. 6の個体、赤: No. 9の個体、青: No. 10の個体

結果 距離が20cm以内の近距離では、相手のメスとの角度はプラス値に偏り角度のばらつきも大きかった ($SD=17.56$, Fig.25)。
距離が20cmを超えると角度は20度以内に収まり、左右どちらにも均等であった ($SD=6.96$, Fig.26)。

考察 これら3個体のオスは、大きなハサミが左側であった。そのため20cmの近距離では、左側 (マイナス値) が見えにくく、右側 (プラス値) の視野に、対象のメスが入るように立っただけではないかと考えられる。また、20cmを超えると大きなハサミの影響も減り、視野の中心付近 (0° 付近) に対象のメスが入るように立っただけではないかと考えられる。

6 ハサミを振る距離はほぼ一定！

ハサミは胸部の関節を中心に先端 (爪先) が楕円を描くようにふる。ハサミの先端 (爪先) をトレースし、振り上げと振り戻しのときの速さを求めた。また振り上げと振り戻しにかかった所要時間をPUCAで得た時間 (フレーム数: 1fps=1/30sec) を用いて、時間との関係を確認した。

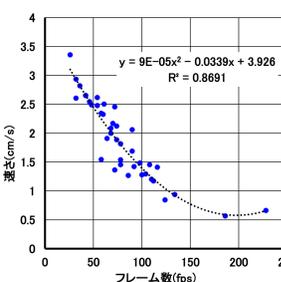


Fig. 27 求愛の振り上げの速さと所要時間の関係 データは: No. 9の個体

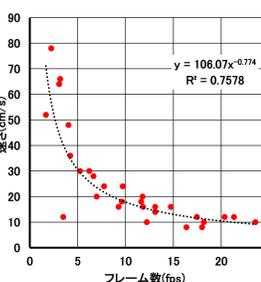


Fig. 28 求愛の振り戻しの速さと所要時間の関係 データは: No. 9の個体

結果 振り上げの速さとフレーム数の相関係数は -0.732 であった (Fig.28)。振り戻しの速さとフレーム数の相関係数は、 -0.749 であった (Fig.29)。
考察 ハサミの先端が楕円形に動く。しかし、振り上げと振り戻しのときにハサミの先端が移動する距離は、ともに等しい。そのため、振り上げや振り戻しのときの速さはハサミを動かした時間と強い負の相関関係がある。

7 各オス独自のリズムを見つけた

ハクセンシオマネキのメスは性成熟すると、自分の巣穴を捨てて放浪し、意中のオスを選び、オスの巣穴の中で交尾をする。このときメスはオスの求愛を見て、意中のオスを選択する。月周期のメスと、半月周期のオスの影響か、干渉で個体数を数えるとメスはオスの半分しかいない。そのため選ばれるオスと選ばれないオスがいる。この違いがなぜ起こるのかを調べるために、PUCAで得たデータを用いて、オスの求愛にリズムがあるか調べた。方法は、所要時間をもとに、それぞれの速さ (相対値) で算出し、振り上げの速さをプラス値、振り戻しの速さをマイナス値としてプロットしてパターンを調べた。

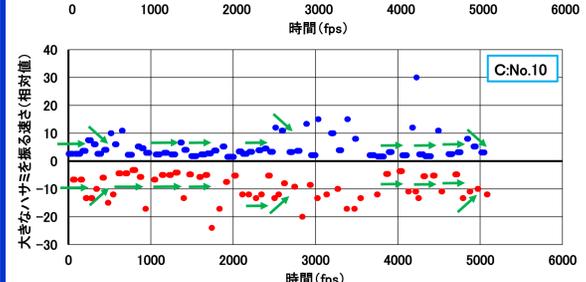
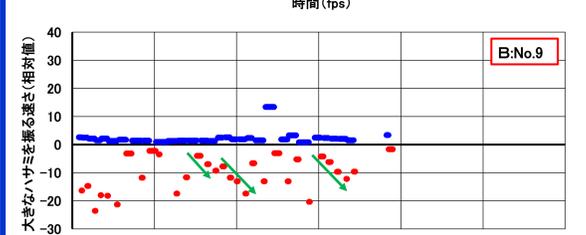
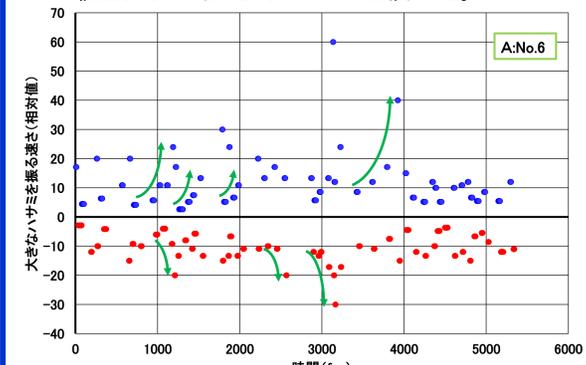


Fig. 29 各オスの求愛を行うときの振り上げと振り戻しから成るリズム 縦軸：大きなハサミを振る速さ (相対値)、横軸：所要時間 (1fps=1/30sec) 赤: 振り戻しの速さ、青: 振り上げの速さ、緑: 連続する点で特徴的なパターン 上A: No. 6の個体、中B: No. 9の個体、下C: No. 10の個体

結果 同じメス (成熟個体) に対する3個体のオスの求愛を解析し、全てのオスで独自の繰り返されるパターンが見つかった (Fig.29A-C)。
考察 ハクセンシオマネキのオスは、それぞれのオス特有の速さやリズムで、大きなハサミを振っていた。すなわち、オスは眼でメスを認識すると、1回の「求愛」のディスプレイ行動でアピールしているのではなく、連続する「求愛」のディスプレイ行動で作りだされるリズムや変化を、メスに示していると考えられる。

8 今後の研究方針

- 1: 繁殖期の後期において、同じメスに対して行われた3個体の求愛に、個体特有の繰り返されるパターンを確認した。これはオスが、振り上げるときや振り戻しときの速さを変えて、独自のリズムを作っている可能性が考えられる。また、今回の実験は、ハクセンシオマネキの繁殖期の後期の求愛であり、3個体とも求愛に失敗している。メスに好まれる求愛があるのかもしれない。繁殖期の最盛期に求愛に成功したオス解析し、メスに好まれる求愛のリズムについて調べたい。
- 2: 警告では、放浪オスとの距離や体の向き、はさみの振り上げるタイミングに関連付けて調べることで、縄張りの境界を明確にしたい。
- 3: PUCAが認識できないディスプレイ行動の「排除」がある。「排除」も判別できるようになれば、全てのディスプレイ行動を判別できるプログラムに発展させたい。
- 4: PUCAができたことで調査個体数を増やして、さらに多くの個体で画像解析が可能である。今後も正確で詳細な解析に取り組みハクセンシオマネキの縄張りの境界や、カニの社会性について調査する。

9 参考文献

- (1) 古賀庸憲 (2007). カニ類における配偶行動と繁殖戦略・性淘汰・捕食-被食関係. 日本生態学会誌 Vol.57, 1-12
- (2) 竹之前慎太郎他 (2014). 白色のカニは何色が好き? ~ハクセンシオマネキの行動と光の波長~. 化学と生物 (KASEAA) Vol.52, No.11, p.777-779
- (3) Tomoyuki Miura (2013). 宮崎県の干潟面積に関する試算. 宮崎大学農学部研究報告 Vol.59, p.45-55
- (4) 宮崎県レッドデータブック