

クモの網に衝突するショウジョウバエの飛行経路推定

繁宮 悠介*

Trajectory estimation of fruit flies flying into spider webs

SHIGEMIYA Yusuke

Summary

Trajectory estimation of tiny insects will contribute to development of behavioral ecology. This study attempted to construct 3D images of trajectory in fruit flies flying into spider webs, using 2 synchronized cameras and free software packages. Artificial arena containing a debris spider *Cyclosa argenteoalba* on its web was set in the open air, and *Drosophila melanogaster* flying into web was recorded by 120 fps. Each movie was processed into strobe motion picture, and the identical points were pared between two pictures from the front and the side of arena. 3D images generated for 5 intercepts provided observable trajectories from arbitrary point of view. There were problems that flies are hidden behind or melted into parts of arena in strobe motion pictures, and that the differences in length of 8 sides of arenas between 3D images and the real were 6.6 % in average and 30% in maximum.

はじめに

画像解析技術の発展とともに、微小な昆虫の飛行経路や体節の動きまでもが計測できるようになった (1, 2)。以前は専用の機器やソフトウェアが必要だったが、今では汎用機器やフリーソフトでも解析可能になったことで、これまで行われてきた認知科学および神経行動学的な研究から、行動生態学的な研究への応用が可能となりつつある (3, 4, 5)。

造網性のクモにおいて、明るく目立つ体色が餌生物を誘引することで捕獲効率を上昇させているという研究結果が報告されている (6, 7, 8, 9, 10)。一方で、目立つ体色が捕獲効率に影響しないという報告もあり (11, 12, 13)、また、ギンメッキゴミグモ *Cyclosa argenteoalba* においては、腹部に銀色部が多い目立つ個体より、黒色部が多い個体の方が捕獲効率が高いという結果が出ている (14)。

ギンメッキゴミグモの腹部には、黒色部と銀色部から成る複雑な模様があり、二色の割合には個体変

異がある。本種において体色の違いが捕獲効率に影響する理由としては、紫外線を反射する銀色部が多い個体が餌昆虫に見つかりやすいため避けられていることが示唆されるが (14)、実際に餌昆虫が銀色部の多い個体を避けているのか、黒色部の多い個体に誘引されているのかは不明である。捕獲効率の違いを引き起こす理由を明らかにするためには、餌昆虫が網の周辺を飛行する際の飛行経路を観察することが1つの方法である。本研究はギンメッキゴミグモの餌生物が網周辺で見せる飛行経路を明らかにしていく一連の研究の最初歩として、人工的な空間におけるショウジョウバエの衝突までの動画から、手動によりショウジョウバエ位置をトラッキングし、その3次元的な飛行経路を推定することを目的とする。

材料と方法

1. 対象生物

* 長崎総合科学大学大学院工学研究科

2016年に京都府長岡京市で採集されたギンメツキゴミグモの卵囊から5月および8月に孵化した個体を、長崎県長崎市の長崎総合科学大学で飼育し、成熟したメス個体を実験に用いた。ショウジョウバエは、キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の野生型系統の1つである Oregon-R を購入し(株式会社 科学クラブ, 日本), 培養して実験に用いた。

2. 提示用アリーナ

ショウジョウバエにギンメツキゴミグモが乗った網を提示するための直方体のアリーナは、5 mm 厚の透明アクリル板4枚を用いて側面を作り、撮影時の背景として白色のプラスチック板を設置し、クモとショウジョウバエの位置が確認しやすいようにした (Fig. 1)。天井からは可視光および紫外光が入るように、目開き1 mm のポリプロピレン網を枠に張ったものを乗せることとした。アリーナの大きさ(内寸)は600×300×高さ450 mm で、網はその中央に配置した。

クモは室内で造網枠(15)に網を張らせ、その造網枠ごと提示用アリーナに設置するか、針金を曲げて作った円形の枠(直径約23cm)に網を移してアリーナに設置した。アリーナは野外に設置するが、可視光および紫外線が入るようにアリーナ上は青空が開けているようにし、一方で直射日光でアリーナ内の温度が上がらないように木の陰に置くことも条件とした。カメラにも直射日光が当たらないように、黒い板で遮光した。アリーナは水準器を用いて水平となるようにした。

3. 撮影方法

撮影用のカメラは2台の Exilim EX-100PRO (Casio, Japan) を用いた。このカメラは高速度撮影の無線による同期撮影が可能で、Android 4.0 で動くタブレット(AT-B618, Toshiba, Japan) に、専用アプリケーション SynchronShot (CASIO COMPUTER CO., LTD., Japan) をインストールして複数台のカメラの操作を行うことができる。

二台のカメラの配置は、一台が前方から横位置で



Fig. 1 提示用アリーナと2台のカメラの配置

撮影し、もう一台は側方から縦位置で撮影した (Fig. 1, Fig. 2)。予備実験の結果、ショウジョウバエが1個体のみだと網への衝突が起きにくかったことから、2個体から5個体のショウジョウバエを同時にアリーナに入れることとした。ショウジョウバエをアリーナに慣れさせるためとカメラの同期撮影のセッティングのために、ショウジョウバエ投入から撮影開始までは1分以上を空けた。撮影は、120 fps (640×480 pixel) で、マニュアルフォーカス設定でクモにピントを合わせ、カメラのテストシャッターで算出される同期のずれ(1500~3000 μsec)を記録したのち、撮影を開始する。動画の1ファイル最大サイズが4GBのため、1回あたりの撮影時間は約12分であった。1日に1個体のクモを使用し、1回ごとにショウジョウバエを入れ替えて、1日に10回ほどの撮影を行った。実験期間は2016年9月7日から30日までであった。

4. 動画の飛行位置を残像として静止画に合成する

120 fps の動画から、ショウジョウバエの1/120秒(0.00833秒, 8.33 ms)ごとの位置が分かる静止画(一般的に Strobe motion, motion shot, ストロボ画像, マルチストロボ撮影画像などと呼ばれるが、以後「残像静止画」と呼ぶ)を作成し、さらに前方と側方から見た2枚の残像静止画で、どのショウジョウバエ位置が何フレーム目のものか分かるようにし、3次元化ソフトで利用できるようにしなければならない。

まず、動画(.mov)をパソコン(MacBook Air)

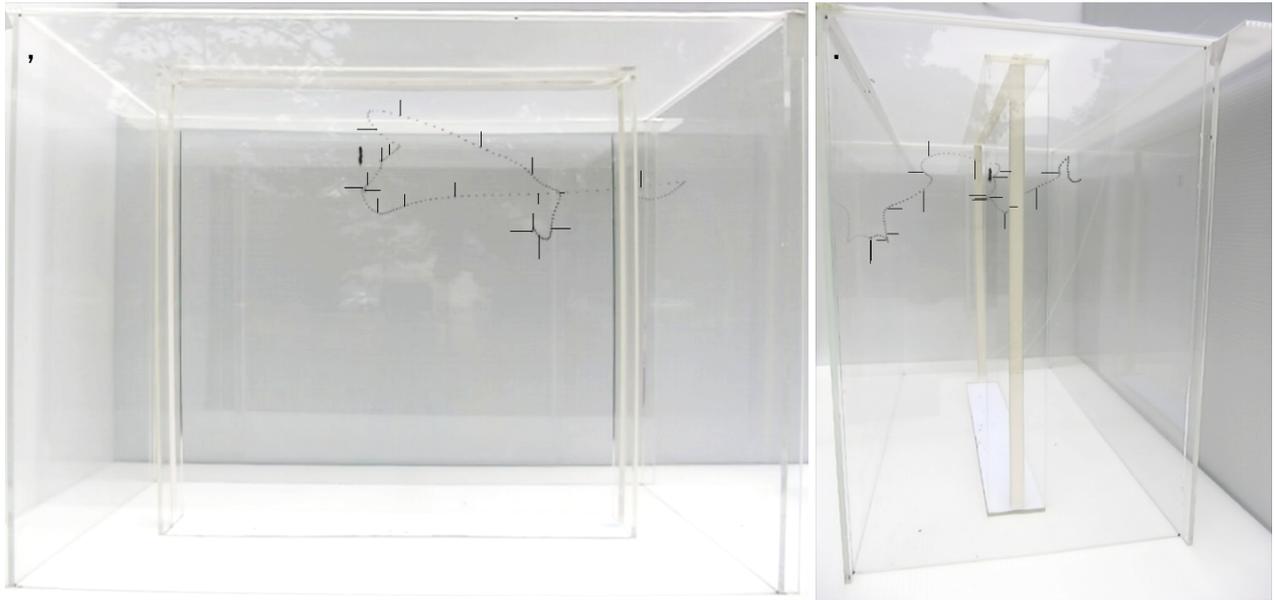


Fig.2 前方 (A) および側方 (B) から撮影した動画の各フレームにおけるショウジョウバエの位置が分かるように ImageJ により静止画に変換したもの. 10 フレームごとの位置を線で示している.

の動画再生ソフト (QuickTime Player) を使い, ハエの飛行開始時点からクモによる捕獲またはハエが網から逃げて枠外にでるまでの範囲をトリミングし (編集>トリム), 30 fps (0.25 倍速) で 10 秒ほどの画像に加工する. 前方からの動画と側方からの動画のどちらも, 同じフレームから開始し, 同じフレーム数となるようにした.

トリミングした動画 (.mov) を ImageJ で virtual stack として開き, コマ送りしながら, Multi-point selections ツールを用いて 1 フレーム目, 11 フレーム目などのハエ位置を順番にクリックしていく. 衝突もしくは逃避までのクリックが終わったら, メニューから「Stacks>Z project>Min Intensity」と選択して, virtual stack された動画を一枚の静止画にする. Min Intensity を選ぶことで, 画面内の各ピクセルについて, stack された全フレームを通して最も低い明度が抽出されることとなり, 白い背景で撮影している今回は, フレームごとのショウジョウバエの位置が静止画上に出現する (Fig.2). その静止画上にハエ位置を Multi-point selections ツールで指定した点を表示させ, Paintbrush ツールでそれらを線で明確にしたのち, ビットマップ形式の静止画 (.bmp) として保存する.

5. 残像静止画からの 3 次元化

Windows (64bit 版) 用フリーソフト SurveyFrom Photo (以下, SFP64) v. 1.89 で, 上記 4 で作成した前方および側方からアリーナを写した 2 枚の残像静止画を開く.

メニューより「3次元化機能>対応点 3次元化>対応点決定後, 次の対応点を選択する」を選ぶ. アリーナの 8 頂点の決定 (B1~B8) と, クモ位置の決定 (B9) は, 1 つの対応点ごとに 2 枚の写真を行き来して行ったが, ショウジョウバエの残像を 2 枚の静止画で対応させるためには, 静止画中の同一フレームにおけるショウジョウバエの位置を示した線を参考に, 一枚目の写真で 10 点ほど (例えば B10~B19) をまとめて決定しておき, その写真で B10 をクリックしておく, 二枚目の写真で次にクリックした点は B10 となり, リターンを押して決定すれば, 次のクリックは B11 となるので, 2 枚目の写真から移動せずに B19 までを決定できる.

衝突までのショウジョウバエ位置を決定し終わったら, メニューより「3次元化機能>対応点 3次元化>カメラ位置・姿勢の計算」を選択すれば, 3次元表示ウィンドウに, 3次元化された対応点が出現

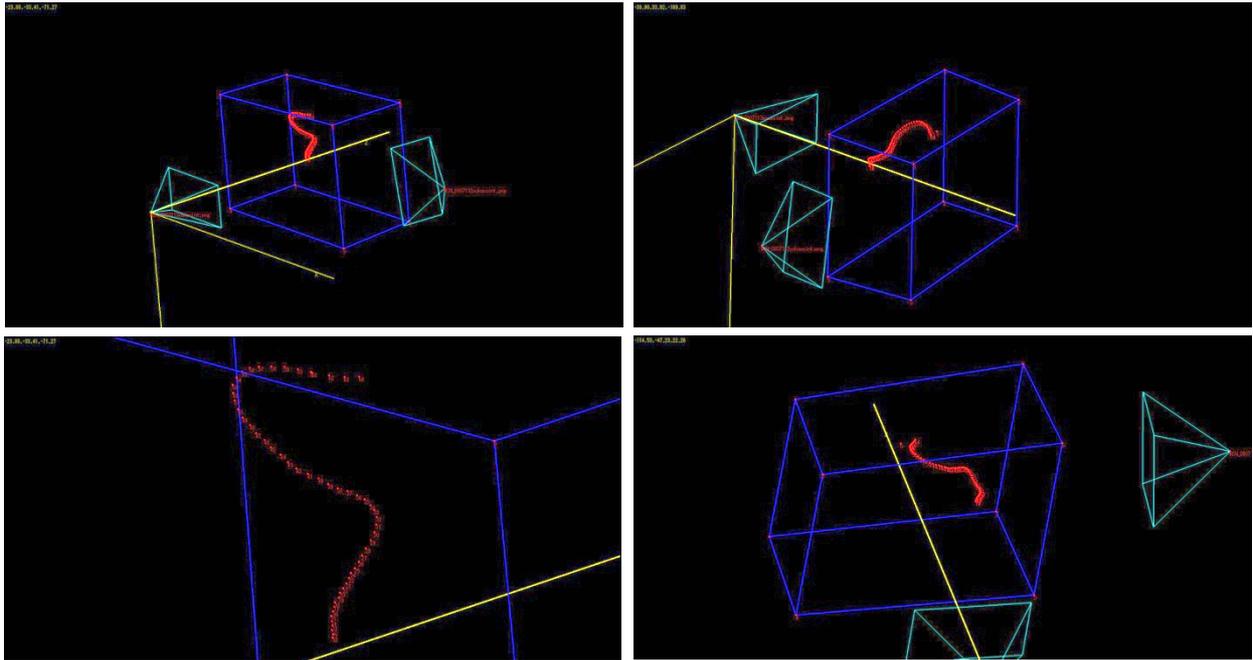


Fig. 3 SFP64により3次元化されたショウジョウバエの飛行経路. アリーナと飛行経路, カメラの視野錐が表示されている.

する. デフォルトではポリゴンとして出現し, 面には画像が貼り付けられているが, その機能を外すことで, 対応点のみを表示させることができる. アリーナの形状が分かるように, 直方体の頂点を順番にクリックして「辺」を出現させ, メニューより「補助機能>エッジ>エッジ作成(3次元)」を選択して辺を決定する.

3次元化した対応点に, 3次元座標を設定することで, アリーナの寸法がどれほど再現されているかを調べることができる. メニューの「3次元化機能>モデリング・計測>対応点に座標値を設定して座標系設定」において, 「基準点(原点)」としてアリーナ左下奥の点(B1であれば「1番の対応点」)を指定して, (X, Y, Z)を(0, 0, 0)と入力し, 「基準点(厳守方向・距離)」としてX軸方向と見なすアリーナ右下奥の点を(600, 0, 0), 「基準点(近似方向)」としてY軸方向と見なす左上奥の点を(0, 450, 0)と指定する.

アリーナの8辺に寸法を表示するために, 「補助機能>寸法>エッジ全てから寸法作成」を選ぶ. その数値をCSV出力するために「補助機能>>エクスポート>指定箇所距離出力」を選ぶ. ショウジョ

ウバエ位置を含む全ての指定点の3次元座標を出力するには「補助機能>エクスポート>対応点座標のCSV出力」を実行する.

結果

今回は5つの衝突事例で, 飛行経路の概要が把握できる3次元座標を得ることができた(Fig.3). しかし, 残像静止画からショウジョウバエ位置を特定するには, 各フレームにおけるショウジョウバエの影が融合してしまい, どのフレームのショウジョウバエ位置か分からず, 指定できないこともあった. また, とくに横方向から撮影したカメラでは, 衝突直前のショウジョウバエ位置が, 造網枠で見えなくなり, 位置の指定ができなかったことがあった. また, 白い背景でも光の関係で背景とショウジョウバエの明度が似てしまい, 静止画からショウジョウバエ位置を特定することができないこともあった.

3次元化された座標が, どれほど正確に実際の空間を再現できたかを検証してみると, どの辺でも正および負の誤差が見られ, 最大で29.7%, 平均6.6%であった(Table 1).

Table 1 3次元化したアリーナの寸法と実際の寸法との誤差. 1行目カッコ内の数字は辺の長さ(mm). どの例でもFig. 2Aの写真における左下奥の頂点を原点とし, 右方向をX軸正方向, 上方向を同Y, 手前方向を同Zとした. 下奥の辺の長さを基準とし, 左奥の辺の長さを近似値として設定している.

	上左 (300)	上奥 (600)	上右 (300)	上前 (600)	左前 (450)	左奥 (450)	右奥 (450)	右前 (450)	下左 (300)	下奥 (600)	下右 (300)	下前 (600)	平均
例1	8.9%	2.1%	1.3%	8.8%	4.5%	2.7%	11.7%	6.3%	7.1%	8.2%	0.8%	3.1%	5.5%
例2	19.2%	4.4%	4.0%	7.3%	18.9%	29.7%	16.7%	8.5%	1.5%	13.9%	0.0%	6.2%	10.9%
例3	7.5%	1.9%	2.9%	9.6%	1.1%	11.3%	12.7%	5.2%	7.4%	6.1%	0.0%	3.8%	5.8%
例4	9.9%	1.7%	3.8%	10.4%	2.3%	13.2%	15.2%	3.7%	5.8%	9.4%	0.0%	5.8%	6.8%
例5	5.0%	0.4%	1.7%	7.6%	0.7%	7.3%	9.7%	3.8%	5.7%	5.0%	0.0%	3.2%	4.2%
平均	10.1%	2.1%	2.7%	8.7%	5.5%	12.8%	13.2%	5.5%	5.5%	8.5%	0.2%	4.4%	6.6%
最大	19.2%	4.4%	4.0%	10.4%	18.9%	29.7%	16.7%	8.5%	7.4%	13.9%	0.8%	6.2%	
最小	5.0%	0.4%	1.3%	7.3%	0.7%	2.7%	9.7%	3.7%	1.5%	5.0%	0.0%	3.1%	

考察

本研究では, ギンメッキゴミグモの網に衝突する昆虫の飛行経路推定の最初歩として, 人工空間中におけるショウジョウバエ飛行経路の手動トラッキングによる3次元化を行った. 二次元の映像では, たとえそれが二方向から撮影したものであっても, 把握しにくい飛行経路について, 3次元画像を回転させることで曲がる角度や速度の変化を把握しやすくなった. そのような角度や速度の変化は, 3次元座標の出力データをMS Excel等で加工することで, 特徴を抽出することができ, クモの体色の違いに対して餌昆虫が飛行経路を変化させるのかどうかを検証することができるだろう.

しかし, アリーナ内に造網枠があったり, 野外での光環境の変化があったりで, ショウジョウバエ位置が特定できないこともあった. 造網枠の不透明部をできるだけ細くしたり, 背景のプラスチックが光りの影響を受けないように工夫したり, カメラ位置を変えたりすることで, 影響を少なくすることができるだろう.

また, 残像静止画にすることで, フレームごとのショウジョウバエの影が融合して特定できないこともあった. この点は残像静止画では無く, 動画をコマ送りして位置を指定できれば, 静止画にする手間も無く, 1フレームにショウジョウバエの影は1つなので, 指定もしやすいだろう.

3次元化されたアリーナの寸法の誤差は最大30%と大きく, このままで飛行経路を比較するのは

困難である. ソフト内で修正するか, 出力した3次元座標データをExcel等で修正する必要があるだろう.

今後は, 動画からのショウジョウバエ位置の自動トラッキングによる2次元座標の連続データの獲得や, カメラに写るアリーナの各頂点の2次元座標から, 2台のカメラの位置関係を射影行列として表し, その射影行列とショウジョウバエ位置の二次元座標から3次元座標を算出すること方法を試すとともに, 撮影方法とくにアリーナや背景の改善も進めていくべきだろう.

謝辞

本研究はJSPS 科研費(課題番号26440251)の助成を受けて行った. 京都女子大学の中田兼介教授には, 様々な助言をいただいた.

参考文献

- (1) Maimon G, Straw AD, Dickinson MH (2008). A simple vision-based algorithm for decision making in flying *Drosophila*. *Curr. Biol.*, 18(6), 464-470.
- (2) Mischiati M, Lin HT, Herold P, Imler E, Olberg R, Leonardo A (2015). Internal models direct dragonfly interception steering. *Nature*, 517(7534): 333.
- (3) Dell AI, Bender JA, Branson K, Couzin ID, de Polavieja GG, Noldus LP, Brose U (2014) Automated image-based tracking and its application in ecology. *Trends. Ecol. Evol.*, 29(7), 417-428.

- (4) Anderson DJ & Perona P (2014). Toward a science of computational ethology. *Neuron*, 84(1), 18-31.
- (5) Fukunaga T, Iwasaki W (2015) : Computational ethology: バイオインフォマティクスと動物行動学の融合. 領域融合レビュー, 4, e003
- (6) Hauber ME. 2002. Conspicuous colouration attracts prey to a stationary predator. *Ecol. Entomol.*, 27: 686-691.
- (7) Heiling AM, Chittka L, Cheng K, Herberstein ME. 2005. Colouration in crab spiders: substrate choice and prey attraction. *J. Exp. Biol.*, 208: 1785-1792.
- (8) Hoese FJ, Law EAJ, Rao D, Herberstein ME (2006) Distinctive yellow bands on a sit-and-wait predator: prey attractant or camouflage? *Behaviour* 143: 763-781.
- (9) Tso IM, Liao CP, Huang RP, Yang EC (2006) Function of being colorful in web spiders: attracting prey or camouflaging oneself? *Behav. Ecol.* 17: 606-613.
- (10) Bush AA, Yu DW, Herberstein ME (2008) Function of bright coloration in the wasp spider *Argiope bruennichi* (Araneae: Araneidae). *Proc. R. Soc. Series B, Biol. Sci.*, 275(1640), 1337-1342.
- (11) Vaclav R, Prokop P (2006) Does the appearance of orb-weaving spiders attract prey? *Annales Zoologici Fennici* 43: 65-71.
- (12) Vanderhoff EN, Byers C, Hanna C (2008) Do the color and pattern of *Micrathena gracilis* (Araneae: Araneidae) attract prey? Examination of the prey attraction hypothesis and crypsis. *J. Insect Behav.*, 21: 469-475.
- (13) Gawryszewski F, Motta P. (2012) Colouration of the orb-web spider *Gasteracantha cancriformis* does not increase its foraging success. *Ethol. Ecol. & Evol.*, 24: 23- 38.
- (14) Nakata K, Shigemiyama Y (2015). Body-colour variation in an orb-web spider and its effect on predation success. *Biol. J. Linn. Soc.*, 116(4), 954-963.
- (15) Zschokke S, Herberstein ME (2005) Laboratory methods for maintaining and studying web-building spiders. *J. Arachnol.*, 33: 205-213