

小动物行为跟踪系统部分行为学实验方法改进

齐丛丛, 蒋莹蓬, 龚诗华, 丁玉强

(复旦大学实验动物科学部, 上海 200032)

摘要: Noldus 小动物行为跟踪系统(EthoVision® XT)可以进行多种动物和多种类型的行为学实验,但是在小鼠的新物体识别以及黑白箱实验过程中,发现该系统在某些情况下并不能用常规方法很好的识别小鼠,造成较大的实验误差。在长期的使用软件系统过程中,逐渐探索出一套新的识别方法,极大提高了小鼠的识别正确率。

关键词: 小动物行为跟踪系统; 新物体识别; 黑白箱; 方法

1 系统简介

EthoVision®XT 是学术界和工业界使用最广泛的自动视频观察系统之一,通过将动物图像与背景进行对比来跟踪[1]。该软件可以应用于多种行为学场景,与不同的硬件设备相结合,是自动跟踪和分析动物运动、活动和行为的高级视频软件,同时适用于多只动物的数据采集。可应用于动物学习记忆、焦虑、抑郁、神经生理、神经药理等方面的研究。

2 软件识别小鼠原理介绍

该系统通常使用剪影法识别小鼠。视频信号由一系列帧(每秒 25 或 30 帧,取决于摄像头的电视标准)组成,每个数字化帧由一个像素网格组成。每个像素都有一个灰度值(对于单色信号)或描述每个像素颜色的值(红色、绿色和蓝色,或色相、饱和度和强度)。然后,该软件分析每一帧,以便将跟踪的对象与背景区分开来[2]。因此实验前需捕获一张背景图像,该图像仅有包含实验设备在内的固定背景,而无任何实验动物。由于背景在实验过程中无任何移动,所以该部分在比较后被相关算法减去,而多余的部分则被系统识别为实验小鼠。该过程中相同部分被剪除,故命名为剪影法。

系统通过比较像素的位置来评估移动性,这些像素被确定为属于当前样本帧中被跟踪的动物与前一帧中的像素[3]。即软件把拍摄的每一帧图像与前一帧图像进行比较,通过识别前后两帧图像像素点的变化计算小鼠的移动参数。

需要注意的是,使用灰度检测方法(亮度)确定被跟踪动物的位置,这需要校准软件以将深色动物与背景区分开来,然后将其定义为所有其他像素[4]。因此,为达到该目的,应尽量选择自身颜色与实验动物毛色或肤色相差较大的硬件设备,例如:以 C57BL6/J(黑色)

小鼠为实验对象进行新物体识别实验，则箱体为白色最佳。而如果用红外发光板垫于白色箱体底部，并以红外摄像头拍摄，尽管此时背景仍呈现出亮白色，但红外光无法从小鼠腹部穿透身体被摄像头捕获，所以无论小鼠毛色如何，在视频中均为黑色，故对实验无影响。

识别小鼠后还需要对鼻尖、中心点和尾根进行标记，这一过程由系统自带的算法完成，该算法默认实验动物为啮齿类，实验前选择“啮齿类/默认”选项，即可对小鼠的轮廓进行分析，小鼠鼻尖处看起来更尖锐，而尾根处则更圆滑，通过辨认这一特征达到标记小鼠三点的目的。

3 一般识别方法的缺陷

对新物体识别实验来说，判断小鼠是否探索物体主要通过其鼻尖是否有探索行为，即鼻尖是否进入物体邻近区域，这时准确标记小鼠的鼻尖点就显得尤为重要。而上文所提到的“啮齿类/默认”算法是通过分析小鼠的轮廓标记小鼠，一旦小鼠蜷缩，或者鼻尖处与尾根处的轮廓区别较小，系统或无法准确辨认鼻尖与尾根，出现鼻尖点和尾根点倒转的情况，若此时小鼠正在探索物体，则可造成实验数据偏差。如图 1 所示，此时鼻尖和尾根识别错误，正常情况下尾根处被标记为紫色点。



图 1

黑白箱则是另一种情况，箱体内部被一道非透明隔板分割，形成两个区域，一侧为黑箱，另一侧则是白箱，隔板底部中心处开有门洞。当小鼠从门洞穿过隔板时，身体被分为两部分，