

葉形の数値表現の基となる標本計測の必要数

金井弘夫*・八田洋章**

KANAI Hiroo* and Hiroaki HATTA** : Sample Size Required
to Establish a Reliable Numerical Database of Leaf Shape

植物の形を数量的に記述するとき、例えば「葉長〇〇～××cm」という表現が用いられる。ところが実際に標本を手にしてこの記述と比較するとき、計測値がこの範囲の中に落ちればともかく、少々外れた場合にはどう扱うか、迷うことが少なくない。通常は、この範囲の外側にいくらかの余裕があるものとして扱うが、その余裕をどの程度に見積もるかは場合によって異なる。とくに初心者はこういう記述を厳格に解釈して、少しでも外れていると「本の記述と一致しないから別種ではないか」と質問してくることがある。また自分でこういう記述を書くときにも、どの程度の数のサンプルについて計測をおこなえば安心できるのか、どの範囲は切り捨ててもよいのかわからないまま、「適当に」片づけてしまうものである。理想的には、ある数値が与えられ、その前後の領域が示され、その外側はどの程度の危険率で捨てるのかわかっているとよい。しかしこのような観点に立った報文は、わが国の分類学では見当たらない。図鑑等にみられる種の形態を記述する数値は、同じ種ならば同じであってしかるべきであるが、著者によって異なる場合がある。たとえ同じ値が示されていても、それは先行文献からの単なる転記であり、参照された文献の数値は、上記のような根拠に基づくものではないことが多い。それより前に、「葉長」とは葉身の長さなのか、葉柄も含めた長さなのかさえはっきりしないことがある。

このような事情を踏まえて、植物同定の根拠となる、葉形の安定した数値データベースを作成することを目的として、マス・コレクションによる試料にもとづき、いくつかの樹木種における葉形の諸要素について計測をおこなった。その詳細については別報する予定だが、本報では、どの程度の数のサンプルをとれば、この種の統計値として安定した数値が得られるかについて、検討した結果をのべる。

材料と方法

本報の対象とする試料は、国立科学博物館筑波実験植物園に植栽されているシラカシの一個体(樹木番号 No. 9851) から得た 235 枚の葉である。実際にはこの他にブナ科、ミズキ科、ヤナギ科など、多数の種について葉を採集し、以下と同様な処理をしており、それらについては他日報告する予定だが、事情は大同小異であることは、統計数値および作図により確かめてある。葉の採取数は一株につき約 200 枚を限度とした。この数は、予備的な調査で、この程度の数になれば平均値がほぼ安定することがわかったことと、採集や計測のための作業が人手の能力を超えないようにするためである。採取の時期は、本報の場合には、葉の成長が終わった後の 9 月におこなった。採取の際には虫食いや異常生育のものを除き、新聞紙とジュラルミン波板を交互に重ねてスプリングで加圧しながら通風電熱乾燥をおこなっておしぼにした後、更に破損や奇形を取り除い

* 国立科学博物館 植物研究部。〒169 東京都新宿区百人町 3-23-1. Department of Botany, National Science Museum, 3-23-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169.

** 国立科学博物館 筑波実験植物園. Tsukuba Botanical Garden, National Science Museum, Tsukuba, 305.

たものを、計測の対象とした。形が正常であれば、葉形の大小による選択はしなかった。また結果を本報の対象とする意図は、採取者および計測者には知らせていないので、本報の目的に合わせた意識的・無意識的操作は加えられていないと考えてよい。

葉形の計測には慶応義塾大学理工学部機械工学科徳岡研究室で開発した、樹種同定システムを利用した(牧 1990, 国際協力事業団 1991)。このシステムは二部から成る。第一部は樹葉計測システムで、CCD カメラで読み込んだ葉の映像の輪郭を線画化し、これに各種のソフト的処理をおこなって葉形の諸要素の数値を得るものである。要素は直接計測値としては葉長 (L), 葉幅 (W), 周囲長 (M), 面積 (S), 頂点数 (Ch), 包絡点数 (Cv), 重心位置 (G), 包絡面積 (Sv), これらの組み合わせとしては偏平率 (L/W), 複雑度 (M^2/S), 占有率 ($S/(L*W)$), 重心比 (G/L), 頂点率 (Ch/M) である。これらの値は葉形データベースとして保存されるが、それらの平均値と標準偏差が、第二部で参照される同定用データベースとなる。第二部は種名同定システムで、種名を同定しようとする葉の映像を第一部で作った同定用データベースと比較し、マハラノビス距離が最も小さい種に同定するプログラムである。本報では葉形データベースのうち、主として葉長について、前述の立場から検討した。システムの紹介は別の機会に譲るが、従来とは異なる計測手法によるため、第一部について最小限必要な説明を次に記す。

このシステムにおける「葉の長さ」とは、植物学的には「葉身の長さ」であり、システム側では「画像の輪郭が占める X 座標の最大値と最小値の差」として定義される。システム側では葉身と葉柄の映像を数値的に区別できないので、計測をおこなう試料はあらかじめ葉柄を切り取っておく。同様に「葉の幅」とは、「画像の輪郭が占める Y 座標の最大値と最小値の差」であり、「周囲長」とは、「画像の輪郭を構成する画素の数を距離に換算したもの」である。葉身の長軸と X 軸を一致させるため、試料台には X 軸を示す補助線が引かれている。このように手作業で行う場合とは定義が厳密には一致しないことを、あらかじめおことわりしておく。一連の計測に先立って、葉の大小に応じた基準図形を読み取らせ、カメラの倍率の決定と計測値の更正、および照明や葉の表面の性質に応じて線画化のための画素の明度の閾値を決める作業をおこなう。計測は葉を一枚ずつ試料台に載せてカメラに読み取らせれば、システムが必要な処理をおこなってデータを格納する。200 枚の計測には約 2 時間を要する。葉形データベースはそれぞれの要素の平均値と標準偏差が計算され、同定用データベースとして蓄積される。以上の処理はシステム内で C 言語によるプログラムでおこなわれる。これと平行して葉形データベースを MS-DOS テキスト形式で出力し、国立科学博物館で BASIC によるプログラムで処理して、平均値・標準偏差・範囲の一覧図、ヒストグラム、平均値変動図を作図すると共に、それらのデータリストを出力した。

結 果

計測値は平均値の両側にほぼ対称に山形をなし、正規確率紙上にプロットした相対累積度数はほぼ直線を示すことから、正規分布とみなしてよいと考える。葉幅や周囲長も同様である (Fig. 1)。ただし周囲長は範囲がきわめて広い場合が多く、種あるいは株の代表値としての役割は低い。またほかの種では、正規分布といえない場合もある (例・ヤナギ科)。

本報の目的である、「ある形質 (葉長) を代表する数値として安定した値を得るためには、どのくらいの数の標本を計測すればよいか?」ということを検討するため、次のような考え方をした。「標本の計測数が多くなるにつれて、葉長の標本平均は、次の一つの標本の計測値から受ける変動が少なくなり、次第に特定の値 (母平均) に近づく。したがって標本の追加による変動が少なくなったあたりを、最小限必要な標本数とみなせばよい」。これを知るには、標本数の増加に伴う平均値の動きを観察すればよい。そこで計測した個々の値と、それ迄の累積の平均値を図示した。

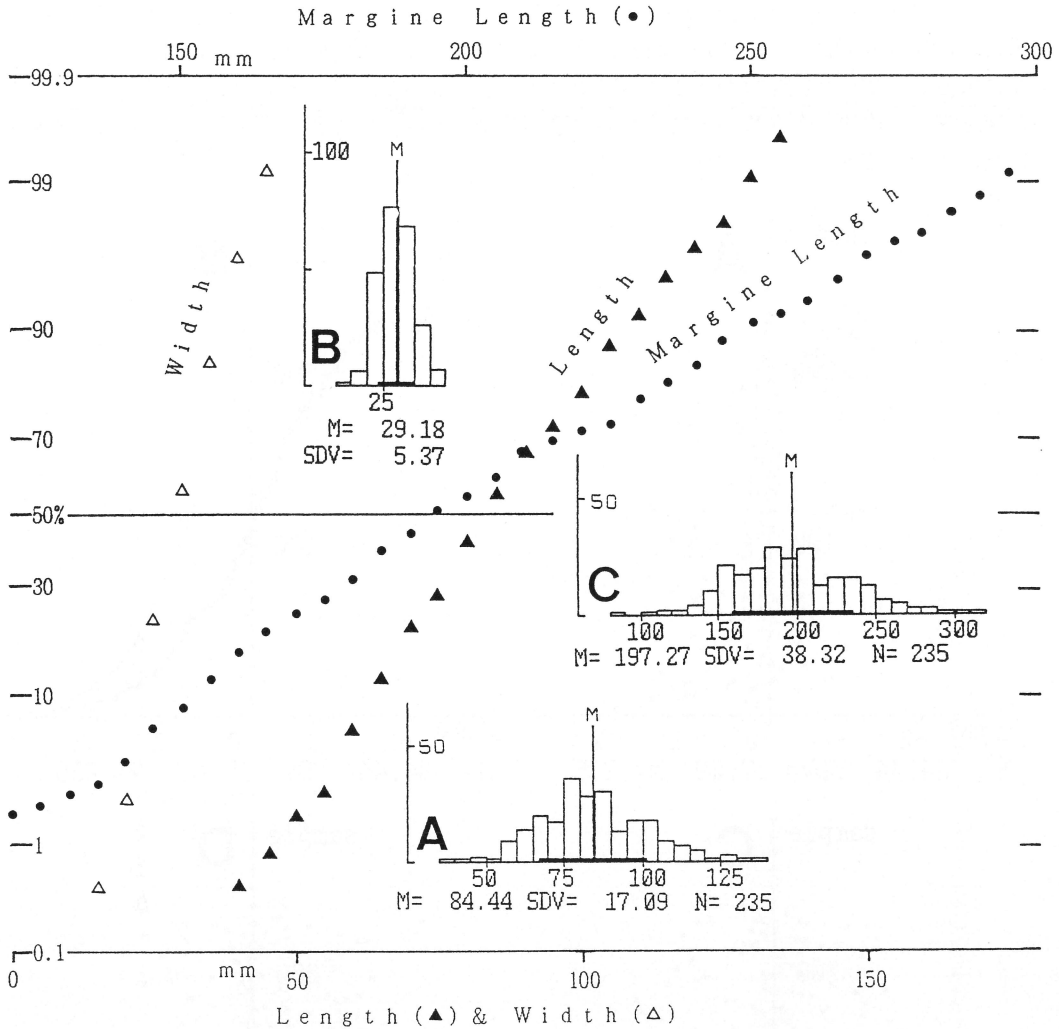


Fig. 1. Histogram and test of normal distribution. A (▲): Length. B (△): Width. C (●): Margine length. Thick bar on the base line of histogram indicates standard deviation.
 ヒストグラムと正規分布の検定。A (▲): 葉長。B (△): 葉幅。C (●): 周囲長。ヒストグラム A, B, C の相対累積度数 (%) を正規確率紙にプロットして示す。いずれもほぼ直線をなし、正規分布と見てよい。ヒストグラムの X 軸上の太線は、標準偏差を示す。

個々の計測値は当然ながらバラバラな値をとるが、標本平均は次第に母集団の平均値に近づいて行く。これを母平均を 0 とし、それからの差を母集団の標準偏差 (シグマ) を単位として示した (Fig. 2)。

Fig. 2 A は、実際に標本を計測した結果を示す。計測者は作業の結果がどのように扱われるかは意識していないので、手にとりやすい大形の葉から計測して行く。これは誰もが通常無意識に行うやり方である。とくにこのシステムでは最初にカメラの調整をおこなうため、大きい目の葉を読み込む必要がある。個々の計測データ (×印) の散らばり方は一見かなりランダムに見えるが、10 個ずつの平均値 (■) の動きは、大きい目の葉から先に計測される傾向を示している。これらの理由でほとんどの場合、はじめの頃の標本平均は大きい方に偏り、後になって小形の葉を扱うに

つれて、標本平均は小さい方へ動いて行く。しかし全数 234 個のうち 100 個を過ぎるあたりになると、個々の計測値にかなりかけ離れた値があっても、標本平均値はあまり変動しなくなり、同時に大きめの葉の計測を終わって数の多い中庸の葉にかかるため、標本平均値はしばらく同程度の値を保つ。中庸の葉が終わって小さめの葉が計測されはじめると、標本平均値はゆるやかに母平均に近づいてゆく。

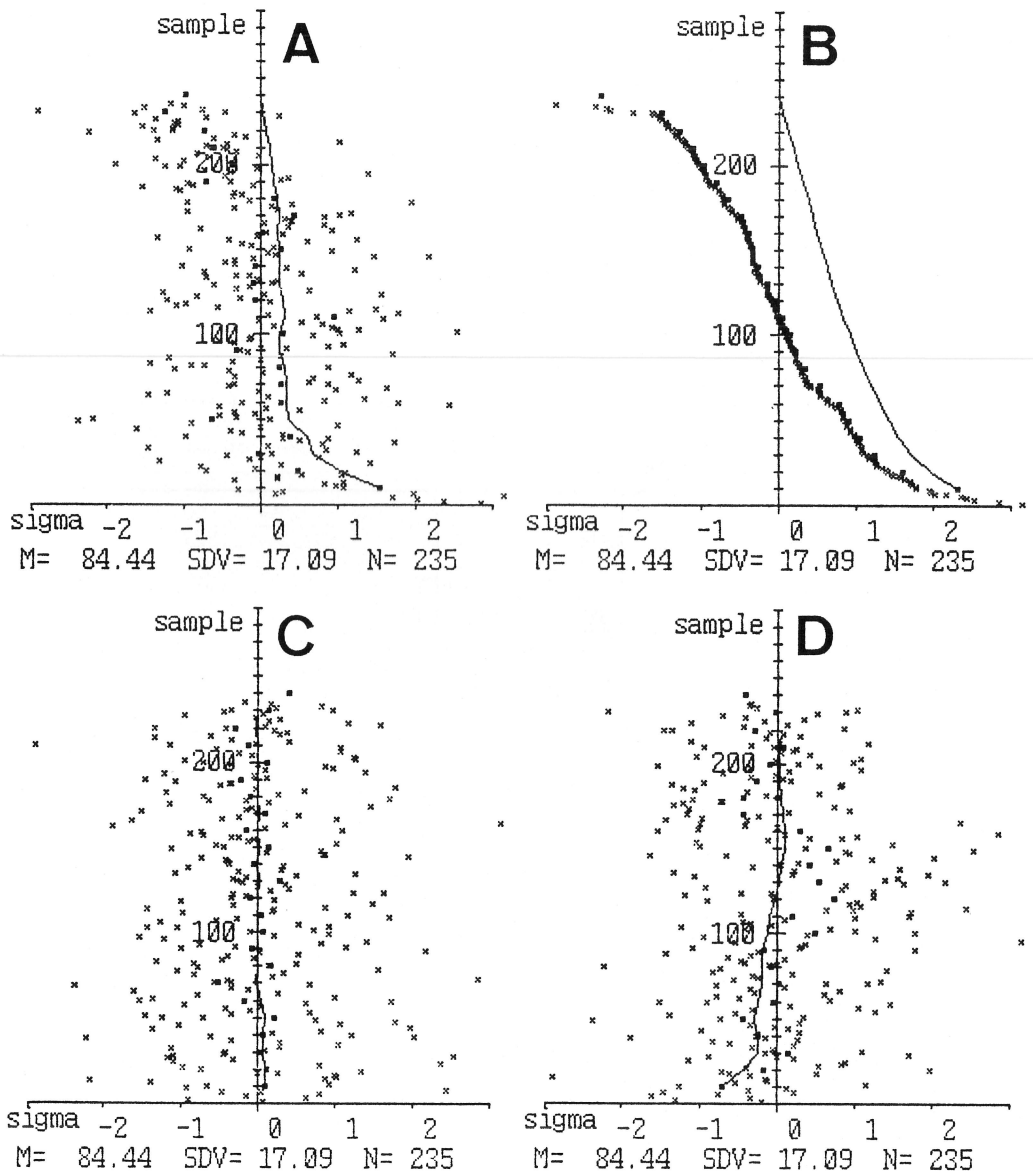


Fig. 2. Convergence of sample mean of leaf length. A: Measured unconcerned about sampling procedure. B: Measured from larger samples. C&D: Measured with randomized samples. Two examples of 6 trials. ■: Mean of every 10 samples. ×: Data of each sample.

葉長の平均値変動図。計測順にデータを10個ずつ区切り、標本平均の変化と各10個の平均値、および個々のデータの値を、母平均を0とし、標準偏差を1として示す。■: 10個ごとの平均値。×: 個々の計測値。A: 無意識に計測した場合。B: 忠実に大きい葉から計測した場合。C&D: 個々の計測値に乱数を割りつけ、無作為抽出をしたものを計測した場合。6回試行した中の2例を示す。

もし標本がその大きさとは無関係に、無作為に拾われて計測されるならば、標本平均は母平均(0)の左右にからまるように進むはずである。試みに個々の計測値に乱数を割付けて計測順序を無作為化したうえ、標本平均の収斂状態を示したのが Fig. 2 C, D である。乱数表は肥田野ら(1961)の付表 24 により、ランダムダイスを用いて先頭位置を決めた。無作為化は独立に 6 回おこない、その中で初期の標本平均が母平均と最も離れている場合(D)と最も母平均に近い場合(C)を示したが、いずれにせよ標本平均ははじめから母平均のごく近傍にあり、標本の数はあまり多くなくても母平均とさしたる違いはない。一方、忠実に大きい葉から小さい葉へと計測をおこなったのが Fig. 2 B である。この場合には標本平均は、当然ながらなかなか母平均に近づかないことがわかる。

考 察

われわれが植物のある特定の種の「葉の長さ」というものを知ろうとするとき、なんらかの標本を計測して認識せざるを得ない。たとえ一株のみを対象にするとしても、それに着いている葉の全数計測をおこなうことは通常できない。その株から得たせいぜい何十枚、たまには何百枚の葉を母集団とし、それが株なり種なりを代弁するものとみなして計測する。採取した葉の全部について計測を行う場合には、株なり種なりを代表するに足りる十分な量の葉があれば、何も問題はない。計測の順序などはかまわず、とにかく全部の試料を計測すればよい。しかし実際には多量の標本を全部計測することはできないから、その中から更に少数の標本を選んで計測することになる。この場合、必要とする少数の葉を株から直接無作為に抽出すれば理想的であるが、これは不可能である。次善の策として、とにかく集めた多量の試料を母集団として、それから無作為に抽出した標本について計測を行うのがぞましい。Fig. 2 C によれば、無作為抽出ならせいぜい 50 個の試料でも母集団を十分代表できるし、それより多く計測しても、結果はあまり変わらない。

しかしながら無作為抽出を行うとなると、多量の葉を箱に入れてかき回して取り出すような乱暴なことではできないから、一枚ずつ番号をつけてサイコロを振って抜き出すというような煩雑な手続きをとらねばならないので、常にこれを行うことは実際には困難である。次善の策として、多量の採集品の中から「十分な」数の標本をとり出して計測し、これを母集団の値とみなすことになる。Fig. 2 A によれば、全数が 200 枚程度ならば約 100 枚でかなり安定した値となるが、この場合意識的に中程度の大きさの葉を取り出すことによって、かなり真の値に近づけるだろう。試みに 34 種の葉長について、累積平均値が標準偏差の $1/2$ 以内に納まるようになる標本数を調べてみると、最悪の場合でも約 100 個だった。したがって「無意識に」計測をおこなう場合に用意するサンプル数は、この程度を目標とすればよいだろう。統計的手法としてこういうやり方は邪道であるが、手作業でやる場合にはうまい方法を考えつかない。最も注意すべきことは、「無意識」に「手当たり次第」に計測し、「ある程度の数」をやったら十分と思うことである。Fig. 3 A がこういうやり方によるものである。「無作為」ならばそれにふさわしい手続きをとらねばならず、「手当たり次第」や「無意識」とは異なる。このことはしばしば混同されている。もし計測を 200 枚中の 100 枚程度で打ち切ったとしても、結果は真の平均値から $1/2$ シグマ以内にあると考えてよいだろうが、無作為抽出した少数標本の結果にはおよばない。

以上のとおり、「どのくらいの数の標本を計測すればよいか」という問題は、じつは「どのようにして標本を抽出すればよいか」ということの方が重要であるという結論になった。つまり全数計測をやりたくなければ、無作為抽出をした少数の標本を用いるのがよく、無作為抽出の手間を省きたければ、せめて 100 個程度の標本をなるべく「意識的に」抽出して計測するのがよいとい

うことになる。とはいうものの、Fig. 2 A と C, D では、標本抽出のやり方に違いがあるとは見えにくく、「意識的に」抽出することが、言うべくして行いがたいことを示している。

樹葉計測システムは多数の葉を短時間で計測できるので、全数計測に適している。そのうえ人力では困難であった複雑な葉形の多くの要素を数値化してくれるので、分類学・同定学の領域で利用価値が高い。ただ、ソフト的に得られる多くの要素のうち、どれが葉形の特徴として有効なのかを知るのは今後の課題である。たとえば周囲長は範囲が広くて代表値となりにくいと記したが、複雑度 (M^2/S) は葉形の特徴を示し得るかもしれない。また現在のシステムは葉の輪郭以外の形質はまだ扱えないし、非対称形や凹入部の多い形も苦手であり、今後改善すべき点が多い。しかしながら十分な試料に基づく葉形データベースが確立すれば、特定の種の葉形要素を平均値と標準偏差で示すことが出来るので、われわれは新たな計測の結果をそれらと比較して、同一集団と認めるにはどの程度確実性があるか、認めないとすればどの程度の危険率で言えるのかを数字で示すことができる。今回の報告に用いた植物は一種一株（一個体）であり、得られた数値は種を代表するものとは言えないが、今後このようなデータを積み重ねることにより、より信頼性の高い葉形データベースが作られるだろう。一方植物用語を、こういう計測システムが理解できるように定義づけする必要がある。たとえば「葉身とは葉の広がった部分である」という定義は、計算機には理解不能であるために、わざわざ葉柄を切り取るような不自然なことをしなければならなかった。いくら人工知能が発達しても、この定義では理解させることはできそうもない。

なお、どのような葉を計測の対象とするか、結果に大きな影響をおよぼすものであるが、これは作業者のフィロソフィーの問題である。たとえ対象を「健全な成葉」と限定しても、どこ迄を成葉と認め、どれを健全と認めるかは、経験にもとづいた個人の感覚に頼るしかない。まして既存のおしば標本を計測する場合などは、採集者によってすでに意図的な選別がなされているので、本報で論ずる性質とは異なる。冒頭にのべた文献による葉形数値の違いは、むしろこの種の問題だろう。

謝 辞

慶応義塾大学理工学部機械工学科徳岡直静教授には、システムの開発を指導されると共に、本研究のために長時間にわたる機器の利用を許され、また葉形計測について多くのアイデアを提供されたことに対して深甚の謝意と敬意を表する。同学科大学院（当時）牧敦氏、前田敏男氏、鈴木章久氏、津沢義行氏には、プログラムの制作と改訂、機器の調整、入出力のアドバイスなど、面倒をいとわず多くのご援助を頂いた。ご好意に対し厚く御礼申し上げます。日本女子大学学生篠崎和美氏には、本報に用いた多量の試料の調製とデータ入力に多くの時間を費やしていただいた。元来本報は、同氏の学部卒業論文の課題の一部として用意されたものだが、篠崎氏は共著による発表を辞退された。記してその努力に謝意を表する。株式会社グリーンテクノロジーの江口輝章氏には、本システムの開発と利用のきっかけを作っていただいたことに感謝する。

Summary

The minimum sample size to construct a reliable numerical database of leaf shape was surveyed with the mass-collected leaves of *Quercus myrsinaefolia* measured through an automated measuring system. The distribution mode of sample data in length, width and margine length is proved to be normal distribution (Fig. 1). The sample mean of leaf length gradually converges to the population mean from the larger side as

the measurement is going on because the operator used to start to pick up larger samples when he/she is unconcerned about sampling procedure. Fluctuation of sample mean is being less affected by additional data after the sample size exceeds ca.100 of a population consists of about 200 samples (Fig. 2A). When the samples are selected randomly, the minimum sample size is attained at ca.50 samples(Fig. 2C & D).

引用文献

- 国際協力事業団, 1991. 自動樹木検索システム開発業務報告書. 国際協力事業団.
肥田野直・瀬谷正敏・大川信明, 1961. 心理教育統計学. 培風館.
牧 敦, 1990. 画像処理を用いた自動診断法に関する研究. 慶応義塾大学理工学部理工学研究科卒業論文.