原 著

果実の3次元形態の定量的評価と遺伝解析への応用

丁 偉^{*1}・根角博久^{*2}・山田昌彦^{*3}

高野 泰^{*1}・鵜飼保雄^{*1}

^{*1} 東京大学大学院農学生命科学研究科生物測定学研究室

^{*2} 農林水産省果樹試験場カンキツ部（興津）

^{*3} 農林水産省果樹試験場カキ・ブドウ支場

Quantitative Evaluation of 3-dimensional Fruit Morphology and Its Applications to Genetic Analysis

Wei Ding^{*1}, Hirohisa Nesumi^{*2}, Masahiko Yamada^{*3},
Yasushi Takano^{*1}, and Yasuo Ukai^{*1}

^{*1} Laboratory of Biometrics, Graduate School of Agricultural and Life Science,
University of Tokyo, 1-1-1, Yayoi Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

^{*2} Okitsu Division, National Institute of Fruit Tree Science, MAFF, Okitsuunaka,
Shimizu, Shizuoka 424-0204, Japan

^{*3} Persimmon and Grape Research Center, National Institute of Fruit Tree Science,
MAFF, 338-1, Mitsui, Akitsu, Toyota, Hiroshima 729-2494, Japan

A method for quantitative evaluation of 3-dimensional (3D) fruit morphology was proposed, including measurement, quantitative description, normalization and statistical analysis of the 3D fruit shape. A measurement system consisting of a CCD laser displacement sensor and two pulse stages was constructed to obtain 3D surface data of fruit. By expanding the shape data measured in a series of spherical harmonic functions, a collection of coefficients to characterize the object surface were obtained. The surface data and coefficients expanded were normalized to provide viewpoint independent of object coordinates for comparison and analysis of different fruits. Based on the principal component analysis about the normalized spherical harmonic coefficients, the scores of some first principal components with high contributions were chosen to summarize the information about 3D shape. We applied the method to evaluate the genetic behavior for citrus and persimmon varieties.

Key words: 3-dimensional morphology; Fruit shape; Principal component analysis; Quantitative genetic analysis; Spherical harmonic function.

1. はじめに

栽培植物がもつ器官の形態は、作物生産における最終産物の収量や品質に直接に関連していて、農業上また分類学上重要な形質である。植物器官の形態は遺伝子型に支配されるとともに、環境条件により大きく変動する。形態についての品種改良や栽培的制御を行うには、形態を定量的に評価し解析する有効な方法が求められている。栽培植物の果実や穀粒などの器官の形態では、これまで形態の解析は直径/高さ比など単純な指標に基づく方法に限られてきた。

最近、情報科学と計測技術の急速な進展に伴い、定量的な形態解析手法が開発されつつある。なかでも楕円フーリエ記述子は生物学における形態解析の手法として広く用いられている (Lestrel 1997)。Kuhl ら (1982) は、2次元輪郭のチェーンコードに基づく楕円フーリエ記述子を提案した。この楕円フーリエ解析法は、作物器官2次元形態の定量的評価として、すでにダイズ粒形、ダイコン根形、オオムギの粒形や葉形などの解析と遺伝的解明に応用された (Furuta *et al.* 1995, Nishimiyama *et al.* 1995, Iwata *et al.* 1998)。楕円フーリエ解析と多変量解析を併用した解析により、ダイズ粒の丸み (Furuta *et al.* 1995) やダイコンの根先端部の尖りの程度や尖りの左右へのふれ (Iwata *et al.* 1998) など従来の計測では評価できなかった形質を抽出することが可能となった。また、同様の解析が昆虫器官の形態についても進められている (Liu *et al.* 1996)。

しかし、果実、粒、花など植物器官の形態については、射影などによる2次元形態では3次元の立体的な形態情報をなお十分に引き出せていないと考えられる。そこで本論文では、球面調和記述子 (spherical harmonic descriptor) による3次元形態の解析を試みた。球面調和記述子は、3次元形態情報を少数の変数で定量的に縮約でき、形態の全体的および局所的な特徴を精確に表現できる利点があるので、近年医学や工学分野などで開発利用が進んできている (Max *et al.* 1988, Brechbühler *et al.* 1995)。ただし、これまでの研究では1ないし少数の生物個体の器官を解析対象としており、多数の個体を解析し比較した例は、3次元形態解析ではほとんど例がない (Ding *et al.* 印刷中)。本研究では、栽培植物の果実の3次元形態 (3-dimensional morphology) について、精密な計測システムの構築、球面調和関数 (spherical harmonic function) により形態の定量化、および主成分分析 (principal component analysis) などの統計学的解析手法の適用を統合したシステムを開発した。開発されたシステムをカンキツ果実、カキ果実の形態に応用して、量的形質としての3次元形態の遺伝様式を解析した。

2. 3次元形態の自動計測

2.1 ハードウェア

CCD レーザー変位センサ LB1200 (キーエンス社)、精密θ軸パルスステージ KSA120P (シグマ社)、Z軸パルスステージ LTS150Z (シグマ社) およびパソコン PC-9821Xa9 (エヌイーシー社) の4部分で構成される3次元形態計測システムのハードウェアを設計試作した (図1)。精密θ軸パルスステージ KSA120P は、秒 1.11~20 度のスピードで回転でき、その精度は 0.05 度である。Z軸パルスステージ LTS150Z は、秒 5.5~100 mm のスピードで上下動でき、その精度は 0.05 mm である。この2つのステージはパソコンから GPIB インターフェース経由の指令より、MARK-5A というステージコントローラで制御される。CCD レーザー変位センサ LB1200 は、ピーク波長が 780 nm であるレーザービームを生成し、重さが 250 グラムのセンサヘッドをもつ。計測距離が 300 mm である対象物に大きさ 1.2×2.5 mm のスポットを生成する。有効計測距離範

図1. 果実の3次元形態の計測システムは、CCD レーザー変位センサ、精密回転パルスステージ、Z軸パルスステージおよびパソコンで構成される。

囲は 200~400 mm である。レーザーセンサを用いて計測した形態データは、RS232C 入力ポートを経由して、パソコンに送信される。

2.2 計測方法

対象物を Θ 軸ステージ KSA120P 上の中央に置き、上下動する Z 軸ステージ LTS150Z にとりつけたセンサヘッドによって、3次元形態を計測する。すなわち、Z 軸ステージの位置をある高さに固定して、対象物を回転させながら、センサヘッドから対象物までの距離を計測する。これを予め測ったセンサヘッドと Θ 軸ステージ回転軸の間の距離から差し引いた値を表面データとして保存する。このようにしてある特定の高さでの対象物の一周の形態情報をとりこみ、つぎに Z 軸の位置を変え、そのつど一周の形態情報をとり込む。このように得られた何十周かのデータを、3次元形態情報として記録する。この計測システムでは、対象物の回転とセンサヘッドの上下動が自動的に行われるので、形態情報を容易にとりこむことができる。また、形状のデータを直接に変位センサでとりこむので測定精度が高い。

2.3 ソフトウェア

3次元形態の計測過程を一貫して自動的に行なえるようコンピュータソフトを開発した。表面データを保存するファイル名、計測データ周数および Z 軸の走行方式が入力されると、計測は自動的に実行される。Z 軸の走行方式には 2 方法が選択できる。一つは、等高度方式である。すなわち、相隣る 2 周の高さの差を一定に決める。その高さの差は、対象物の高度を計測データ周数で割った商に等しい。他は等角度方式で、データを計測する周の高度は経度 θ で決められる。計測された果実を球面と仮定して、隣りあう 2 周データの経度差は 180 度（計測開始点の経度と終止点の経度との差）を計測周数で等分した角度とする。

開発されたソフトウェアでは、計測過程を 4 ステップに分けて実行する。まず、果実の上端と

図 2. データの補間. 2つの点 b_1 と b_2 を未知点と仮定する. b_1 と b_2 は, 同じ垂直平面にある計測された点 $a_i (1 \leq i \leq 5)$ および原点 o から推定される.

下端を自動的に探す. つぎに見つけた両端の位置から, 果実の高さを求める. それから, 果実の高さおよび入力された Z 軸の走行方式を用いて, 各計測データの周の Z 座標を計算する. 最後に, 果実の表面からレーザーセンサヘッドまでの距離を順次測る. 各計測高度の 1 周につき, 360 個の計測点を測る.

2.4 データの補間

等角度方式の計測では, 対象物の最上点と最下点の付近で, データ周の密度が高く, 計測点が相対的に集中しがちである. そのため, 計測できない点または誤差の大きい点が存在する場合が生じる. この場合には, データの補間が必要である. 補間は (1) 式に示す 3 次多項式を利用して行なう.

$$y = c_1 x + c_2 x^2 + c_3 x^3 \quad (1)$$

たとえば, 図 2 において, 2つの点 b_1 と b_2 を未知点と仮定する. b_1 と b_2 は, 同じ垂直平面にある計測された点 $a_i (1 \leq i \leq 5)$ および o から推定される. すなわち, $a_i (1 \leq i \leq 5)$ および o から多項式 (1) の係数を推定して, b_1 と b_2 に対応する x 値より b_1 と b_2 を求める. 利用される曲線は原点を通るので, 定数の項は 0 になる. 未知点数が 2 でない場合の補間方法も同じである.

3. 3次元形態の定量的記述

3.1 表面データの標準化

上記の方法でとり込まれた形態データは計測の開始時における対象物の位置に依存するので, そのままでは異なる対象物について形態の比較や分類を行なえず, 標準化が必要である. まず, 密度を均一と仮定して求めた対象物の重心を 3 次元座標の原点に並行移動する. 3 次元空間では, 3 つの自由度があるが, この段階では 1 自由度分だけ減少することになる. 残りの 2 自由度は, 表面近似の際の 2 次標準化に用いられる.

3.2 球面調和関数への展開

3 次元果実形状 (fruit shape) の記述では, さまざまな特徴をもつ形態をとり扱えることと, 全体的特徴と局所的特徴を共に評価できることが必要である. 球面調和関数は, これらの条件を満たす形態記述子である. 計測システムによりとり込んだ形態表面データは, 経度と緯度の関数として, 球面調和関数で展開される. 展開して得られた係数を統計解析することより, 生物集

団における3次元形態の変異を遺伝的に解析することができる。

球面調和関数は、次の式で定義される。

$$\begin{aligned}
 Y_n^0(\theta, \varphi) &= \sqrt{\frac{2n+1}{4\pi}} P_n(\cos \theta), \\
 &\quad n=0, 1, 2, \dots, \\
 Y_n^m(\theta, \varphi) &= \sqrt{\frac{2n+1}{2\pi} \frac{(n-m)!}{(n+m)!}} P_n^m(\cos \theta) \cos m\varphi, \quad 0 < m \leq n, \quad n=1, 2, \dots \\
 Y_n^{-m}(\theta, \varphi) &= \sqrt{\frac{2n+1}{2\pi} \frac{(n+m)!}{(n-m)!}} P_n^m(\cos \theta) \sin m\varphi.
 \end{aligned} \tag{2}$$

ただし、 $P_n(x)$ は、ルジャンドルの多項式で、つぎのルジャンドルの微分方程式

$$(1-x^2) \frac{d^2 P}{dx^2} - 2x \frac{dP}{dx} + n(n+1)P = 0 \tag{3}$$

を満足する。また $P_n^m(x)$ は、ルジャンドルの陪関数で、つぎのルジャンドルの陪微分方程式

$$(1-x^2) \frac{d^2 P}{dx^2} - 2x \frac{dP}{dx} + \left(n(n+1) - \frac{m^2}{1-x^2} \right) P = 0 \tag{4}$$

を満足する。(2)式で表示されている球面調和関数 $Y_n^m(\theta, \varphi)$ ($-n \leq m \leq n, n=0, 1, 2, \dots$) は、単位球面上で正規直交関数系をなす(小谷正雄ら 1958)。

したがって、球面上の任意の関数 $r(\theta, \varphi)$ は、

$$r(\theta, \varphi) = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{m=-n}^n a_n^m Y_n^m(\theta, \varphi) \tag{5}$$

の形に展開できる。ただし、 a_n^m は球面調和係数である。ここで3.1節で標準化された表面データの半径を (θ, φ) の関数として、下記の最小化過程によって形態表面を近似する。

$$\min \left\{ \sum_i \left(r_i - \sum_{n=0}^N \sum_{m=-n}^n a_n^m Y_n^m(\theta_i, \varphi_i) \right)^2 \right\} \tag{6}$$

ただし、 N は正の整数である。つまり、(6)式で球面調和係数 a_n^m は計算される。

3.3 近似の精度

(6)式での N は、採用する球面調和関数の最高階数で、実際の計算において(5)式の ∞ の代りとなるものである。なお採用される球面調和関数の項数は $(N+1)^2$ になる。(6)式での近似の精度は、 N の大きさに依存する。理論上近似の精度は、 N が大きいほどよいが、あまり大きいと計算量が莫大となって計算できなくなるので、適度な大きさの N を見つけることが重要である。

ここでは、一個の計測対象を例として、採用される球面調和関数の次数と近似の精度の関係

表 1. 球面調和関数の最高階数と体積近似精度との関係.

最高階数	項数	体積の誤差
2	9	7.00
3	16	3.60
4	25	2.70
5	36	2.34
6	49	2.07
7	64	1.67
8	81	1.65
9	100	1.28
10	121	1.24
11	144	1.17
12	169	1.06
13	196	1.07
14	225	1.05
15	256	0.97

を検討した. 一つのカンキツ果実を, 2 節で説明した計測方法で計測した. Z 軸の走行方式は等角度方式とし, 毎週 360 点, 43 周の表面データを測った. 計測したデータに対応する緯度角と経度角の座標に基づいて, カンキツの表面を 15,840 個の小三角形に分割して, 体積を計算した. 最高次数が 2 から 15 までの球面調和関数をそれぞれ用いて, 相対的な誤差を計算した (表 1). 球面調和関数の最高次数が大きくなると近似精度は高まり, 最高階数が 15 では 1% 以下になった. 図 3 は同じサンプルに基づく計測データと, 球面調和関数の最高次数を 2, 3, 5, 7, 8 とした場合の近似的形態である. 図より近似の精度が関数の最高次数により変化していくことが理解される.

3.4 2 次標準化

3.1 節では対象物の重心を 3 次元座標の原点に移動するという初期の標準化を行ったが, 形態記述を観察点と独立にするために, もう 2 つの自由度を減少して再標準化する必要がある. そこで, 表面近似した球面調和係数を用いる 2 次標準化を行う.

2 種の 2 次標準化方法が考えられる. その一つは, 果実の生物学的特徴を利用せず, 単純な数学的変換を行うものである. 具体的には, 一次球面調和係数が 3 つあるが, そのうちの 2 つを特定の値とする変換を行う. すなわち, 一次球面調和関数における加法定理

$$A_1^0 P_1^1(\cos(\theta-\theta_0)) \cos(\varphi-\varphi_0) = a_1^0 P_1^1(\cos \theta) + a_1^{-1} P_1^1(\cos \theta) \cos \varphi + a_1^{-1} P_1^1(\cos \theta) \sin \varphi$$

$$A_1^0 = ((a_1^0)^2 + (a_1^{-1})^2 + (a_1^1)^2)^{1/2} \quad (7)$$

を用いる (小谷正雄ら 1958). (7) 式を満足する θ_0 および φ_0 を計算して, θ 軸および φ 軸における回転変換

$$\Theta = \theta - \theta_0, \Phi = \varphi - \varphi_0 \quad (8)$$

図3. カンキツ果実の計測データによる形状とその果実が球面調和記述子による近似された形状. (a) 計測された形状; (b)–(f) 球面調和関数の最高次数がそれぞれ2, 3, 5, 7および8である場合の近似された形状.

で標準化する. その結果, $Y_l^0(\theta, \varphi)$ および $Y_l^{-1}(\theta, \varphi)$ の係数が0になる.

しかし, 単純な数学的変換による標準化では, 重要な生物学特徴があってもそれを利用できないおそれがある.

生物学の特徴を利用する方法の一つのとして, 一つの生物学の特徴を利用してZ軸が決まった場合に,

$$((a_1^1)^2 + (a_1^{-1})^2)^{1/2} \cos(\varphi - \varphi_0) = a_1^1 \cos \varphi + a_1^{-1} \sin \varphi \quad (9)$$

でZ軸を軸とする回転変換

$$\Phi = \varphi - \varphi_0 \quad (10)$$

で, 2次標準化ができる. このように, 一つの自由度は生物学の特徴を利用してZ軸を決めたことより減少され, もう一つの自由度は(10)式の変換で使われる. その結果, $Y_l^{-1}(\theta, \varphi)$ の係数が

表 2. 第 1~7 主成分の寄与率.

主成分	寄与率	累積寄与率
第 1 主成分	0.648	0.648
第 2 主成分	0.140	0.789
第 3 主成分	0.035	0.823
第 4 主成分	0.027	0.850
第 5 主成分	0.025	0.875
第 6 主成分	0.020	0.895
第 7 主成分	0.018	0.913

0 になる.

最後に, すべての球面調和係数を 0 次係数で割り, 大きさの成分を外して形状だけの情報を考えることができる.

4. 解析例

4.1 カンキツの種間差

農林水産省果樹試験場興津支場で栽培されているカンキツ属 58 品種について, その果実形態を解析した. 各品種から 3 果実をランダムにとり, 上記の方法で果実形態の情報をとり込んだ. これらのデータを標準化し, 近似精度が 2% 以下になる 7 次までの球面調和関数による展開を行い, 62 個の 2 次標準化された係数を得た.

標準化された球面調和係数の分散共分散行列に基づいて主成分分析を行った. 寄与率が平均寄与率である $1/62$ を超えた主成分は, 第 7 主成分までであった (表 2). 第 1 から第 7 までの主成分による累積寄与率は 91.3% に達した. 主成分の形態学的意味を探るため, 対象とする特定の主成分スコアについては, (平均 ± 2 標準偏差) とし, 他の主成分スコアは 0 として, 逆に球面調和係数を計算した. その結果, 第 1 主成分は果実の幅/長さ比および果実両端の伸縮程度, 第 2 主成分は果頂端と果底部の鋭さ, 第 3 主成分は果頂端における X 軸正方向への凸状性の度合いを表わしていることが認められた. その他の主成分はそれぞれに複雑な 3 次元的な歪みなどの形態学的意味に対応していることが分かった. さらに, 主成分別に品種を要因とする 1 因子の分散分析を行った (表 3). 品種効果は第 1, 第 2, 第 3 主成分で 1% 有意, 第 4 および第 7 主成分では 5% 有意であった. また, 果実の大きさとする体積の分散分析も行った結果, 品種効果は 1% 水準で有意であった.

4.2 カキ形態の遺伝的解析

農林水産省果樹試験場カキ・ブドウ支場で栽培育成されているカキ品種およびその F_1 について, 果実の 3 次元形態を解析した. この結果は, Ding ら (1998) より簡単に報告されたが, ここでもっと詳しく説明したい. 11 品種に同一品種 (太秋) を交配した F_1 について, 各 3 個体の果実をランダムにとり, 2 節で記述した方法で計測した. カキ果実全体の形状情報として, 45 周, 各周ごとに 360 ポイントのデータを取り込んだ. ただしカキの場合には, 果実が凹状であるの

表3. 主成分および体積の分散分析表.

		自由度	平均平方	F 値
第1主成分	品種間	57	0.003348	25.70**
	誤差	116	0.000130	
	全体	173		
第2主成分	品種間	57	0.000683	14.18**
	誤差	116	0.000048	
	全体	173		
第3主成分	品種間	57	0.000101	2.22**
	誤差	116	0.000045	
	全体	173		
第4主成分	品種間	57	0.000064	1.53*
	誤差	116	0.000042	
	全体	173		
第5主成分	品種間	57	0.000040	0.83 ^{ns}
	誤差	116	0.000049	
	全体	173		
第6主成分	品種間	57	0.000044	1.31 ^{ns}
	誤差	116	0.000034	
	全体	173		
第7主成分	品種間	57	0.000043	1.57*
	誤差	116	0.000028	
	全体	173		
体積	品種間	57	91611.17	36.69**
	誤差	116	2497.03	
	全体	173		

*, **: 5% および 1% 水準有意

^{ns}: 有意でない

で、頂部も含めた全体の形態情報をとり込むために、果実を横向きにステージ上に置いて計測した。2ステップの標準化を行った。まず、データの重心を原点として、座標の平行移動を行った。つぎに、カキの果梗と原点を結ぶ直線をZ軸として、座標の回転変換をした。それから、7次までの球面調和関数によって展開し、64個の係数を得た。さらに、それらの係数中の0次調和関数に対する係数を1として、1次調和関数に対する緯度を0として2次標準化した。残った62個の球面調和係数の分散共分散行列に基づいて主成分分析を行った。寄与率が1/62を越えた主成分は、第7主成分までであった。第1主成分による寄与率は50%を超え、第1から第7までの主成分による累積寄与率は90%に達した(表4)。第1主成分は果実の幅/長比および果実両端の伸縮程度、第2主成分は上部におけるX軸正方向への凸状性の度合い、第3主成分は上部におけるY軸正方向への凸状性の度合い、第4主成分は臍の凸状性の程度を表わしていることが認められた。これらの7個の主成分は3次元形態を表す量的形質として次に遺伝的解析を行なった。

量的形質の変異は、遺伝子型に支配されるが、環境条件による影響も受ける。広義の遺伝率

表 4. 主成分の寄与率・広義の遺伝率・親子相関.

	寄与率	累積寄与率	広義の遺伝率	相関係数 ^a
第 1 主成分	0.540	0.540	0.930	0.763**
第 2 主成分	0.130	0.670	0.193	-0.263 ^{ns}
第 3 主成分	0.092	0.762	0.377	0.157 ^{ns}
第 4 主成分	0.062	0.824	0.490	0.722**
第 5 主成分	0.035	0.859	0.216	-0.036 ^{ns}
第 6 主成分	0.026	0.885	0.248	-0.006 ^{ns}
第 7 主成分	0.020	0.905	0.476	0.576*

^a: 母親と F_1 との相関係数

*, **: 5% および 1% 水準有意

^{ns}: 有意でない

は, 表現型分散を遺伝分散と環境分散に分割したとき表現型分散に占める遺伝分散の割合と定義される. 広義の遺伝率が高く 1 に近いほど, 表現型の変異が遺伝的であることを示す. いっぽう全く遺伝しない形質では遺伝率は 0 となる. 本研究では, 主成分別に品種を要因とする 1 因子の分散分析を行い, それぞれの遺伝分散と環境分散を推定した. これら 2 つの分散の和が表現型分散である. 広義の遺伝率は遺伝分散と表現型分散の比として求められた. 得られた広義の遺伝率は, 第 1 主成分で高かったが, 第 2 以下の主成分ではいずれも低かった (表 4). さらに, 親子間の相関を調べるために, 主成分別に母親 11 品種の各 3 個体の平均値とそれぞれに対応する F_1 の 3 個体の平均値との相関係数を求めた. 相関は第 1 および第 4 主成分で 1% 有意, 第 7 主成分で 5% 有意となり, 他の主成分では有意でなかった.

5. まとめと考察

以上, 植物の果実の 3 次元形態を計測・評価するシステムを構築し, 形態の多様性とその遺伝機構を統計的に解析する方法を提示した. カンキツ・カキ果実の定量的遺伝解析 (quantitative genetic analysis) 事例を通じて, 標識点の少ない形態についても情報損失の少ない正確な評価が可能であることを示した. さらに形態が主成分別に特徴的な遺伝様式を示すことを明らかにした.

球面調和関数は, 植物果実形態を定量的に評価する有効な記述子である. 植物果実の形態は, 動物器官や他の植物器官 (例えば, 葉, 根, 花など) に比べて標識点が少ないという特徴を持つ. 球面調和関数に基づく解析では表面の標識点をとくに要求していない. 標識点に基づいて形態を解析する標識点法 (landmark-based method: Bookstein 1991) と比べ, 球面調和関数は対象物表面の全体的データを用いて評価するので, 形態情報の損失が少ない. 理論的には球面調和関数は無限の関数で構成されているが, 0 次関数から比較的低次までの関数で 3 次元形態を正確に近似できる. また, この有限の球面調和関数に対する係数を使って, 逆に 3 次元形状を再構成して, その生物学的意味を探ることができる. 多変量解析と遺伝解析を通じて抽出された球面調和係数を逆変換することにより, 個体内変異の大きな形態, 品種間差の大きな形態, 遺伝率の高い形態などの特徴を明らかにすることができる.

参考文献

- Bookstein, F. L. (1991). *Morphometric tools for landmark data*. Cambridge Univ. Pr., New York.
- Brexbühler, C., G. Gerig and O. Kubler (1995). Parameterization of closed surfaces for 3-D shape description. *Computer Vision, Graphics and Image Processing*, **61** (2), 154–170.
- Ding, W., H. Nesumi, Y. Takano and Y. Ukai, Quantitative evaluation of the three-dimensional fruit shape and size of *Citrus* species based on spherical harmonic descriptors. *Euphytica*, in press.
- Ding, W., Y. Takano, H. Omori, A. Satou, M. Yamada and Y. Ukai (1998). Genetic and quantitative evaluation of 3-dimensional persimmon shape based on spherical harmonic functions. *18th International Congress of Genetics, Beijing*, 96.
- Furuta, N., S. Ninomiya, N. Takahashi, H. Ohmori and Y. Ukai (1995). Quantitative evaluation of soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaflet shape by principal component scores based on elliptic Fourier descriptor. *Breeding Science*, **45**, 315–320.
- Iwata, H., S. Niikura, S. Matsuura, Y. Takano and Y. Ukai (1998). Evaluation of variation of root shape of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) based on image analysis using elliptic Fourier descriptors. *Euphytica*, **102**, 143–149.
- Kuhl, F. P. and C. R. Giardina (1982). Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Processing*, **18**, 236–258.
- Lestrel, P. E. ed. (1997). *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge Univ. Pr., Cambridge.
- Liu, J., J. Mercer, L. Stam, G. Gibson, Z. Zeng and C. Laurie (1996). Genetic analysis of a morphological shape difference in the male genitalia of *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. *Genetics*, **142**, 1129–1145.
- Max, N. L. and E. D. Getzoff (1988). Spherical harmonic molecular surfaces. *IEEE Conf. Computer Graphics and Applications July*, 42–50.
- Ninomiya, S., R. Ohsawa and M. Yoshida (1995). Evaluation of buckwheat and Tartary buckwheat kernel shape by the elliptic Fourier method. In: T. Matano & A. Ujihara (Ed.) *Current Advances in Buckwheat Research*. Shinshu Univ. Press, Matsumoto, 389–396.
- 小谷正雄, 橋本英典 (1958). 特殊函数. 岩波書店, 東京, 61–78.