

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會
作品說明書

國中組 生物科

030304

一葉千「晶」——應用類神經網路識別繁星花草
酸鈣結晶及其防禦功能研究

學校名稱： 宜蘭縣立國華國民中學

作者： 國二 蕭睿杉 國一 周益華 國二 簡雋	指導老師： 覺一容 許睿恩
--	-----------------------------

關鍵詞： 類神經網路、草酸鈣結晶、植物防禦

一葉千「晶」——應用類神經網路識別繁星花草酸鈣結晶及其防禦功能研究

摘要

本研究應用類神經網路識別繁星花草酸鈣結晶及其防禦功能，我們成功設計出能識別結晶的模型，準確率達 0.948，我們運用此模型計算後續實驗的結晶數量。實驗發現：在繁星花中，根的結晶密度最高。愈新、愈小的葉片，結晶密度愈高，推測這可能與植物的防禦功能與生長之間的權衡有關。同一片葉片中，結晶平均分布。同一天裡，夜晚結晶密度較高。當繁星花個體處於乾早的土壤中，結晶密度會降低。以多隻蝸牛啃食、蚜蟲吸食的方式，能夠在短期內 7 天內促使植物生成結晶；但受毒蛾幼蟲啃咬以及人為模擬天敵啃食的個體，葉片結晶密度則無明顯變化。動物的攝食傾向明顯偏好無結晶的葉片，支持結晶具有防禦功能，能達到威懾作用。

壹、研究動機

在七年級時，我們曾經在生物課用顯微鏡觀察植物細胞時，看到針狀的結晶。我們原本以為結晶只會在無機物出現，因此這次在生物體內發現結晶，讓我們非常驚喜，有了想要好好研究的想法。之後我們查資料時，得知這種結晶是草酸與鈣離子結合而成的，有鈣庫、抗逆境、防蟲啃食、偏光效果……等等的功能。其中讓我們最感興趣的是「防蟲啃食」這個功能。在研究途中又因顯微照片辨識結晶工作繁複，我們尋求人工智慧類神經網路的技術，上網搜尋教學，自行開發草酸鈣結晶辨識模型，希望應用 AI 模型解決實驗工作問題。

貳、研究目的

【研究一：開發草酸鈣結晶辨識模型】

實驗 1：尋找適合的訓練集與驗證集比例

實驗 2：利用 YOLOv5 建置結晶識別模型

實驗 3：資料增強前後比較訓練模型的差異

實驗 4：影像分割對模型辨識結果的影響

實驗 5：影像處理對模型辨識結果的影響

【研究二：植物體內草酸鈣結晶的分佈】

實驗 6：不同器官中草酸鈣結晶的差異

實驗 7：不同葉片區域中草酸鈣結晶的差異

實驗 8：新舊葉中草酸鈣結晶的差異

實驗 9：葉片面積與草酸鈣結晶的關聯性

【研究三：環境因素對植物結晶之影響】

實驗 10：不同時間植物體內草酸鈣結晶的差異

實驗 11：土壤溼度對草酸鈣結晶的影響

【研究四：草酸鈣結晶和動物啃食的關係】

實驗 12：非洲大蝸牛啃食對草酸鈣結晶的影響

實驗 13：蛾類幼蟲啃食對草酸鈣結晶的影響

實驗 14：蚜蟲吸食對繁星花草酸鈣結晶的影響

實驗 15：人為模擬天敵啃食對植物結晶的影響

實驗 16：不同植種草酸鈣結晶與動物攝食傾向的關係

實驗 17：繁星花草酸鈣結晶密度與動物攝食傾向的關係






參、研究設備及器材

一、設備器材

表 3-1：各式實驗器材

				
複式顯微鏡	顯微鏡手機支架	滴管	微量滴管	吸水紙巾
				
方格載玻片	蓋玻片	培養皿	燒杯	量筒
				
研磨鉢	單面刀片	鑷子	電子天平	飼養箱
				
顯微測微尺	紗網	溫溼度計	土壤溼度計	植栽

二、分析軟體

				
ImageJ	Python	VS Code	YOLOv5	LabelImg

三、 研究對象

繁星花

界：植物界 *Plantae*
 門：維管束植物 *Tracheophyta*
 綱：木蘭綱 *Magnoliopsida*
 目：龍膽目 *Gentianales*
 科：茜草科 *Rubiaceae*
 屬：五星花屬 *Pentas*
 種：繁星花 *Pentas lanceolate*



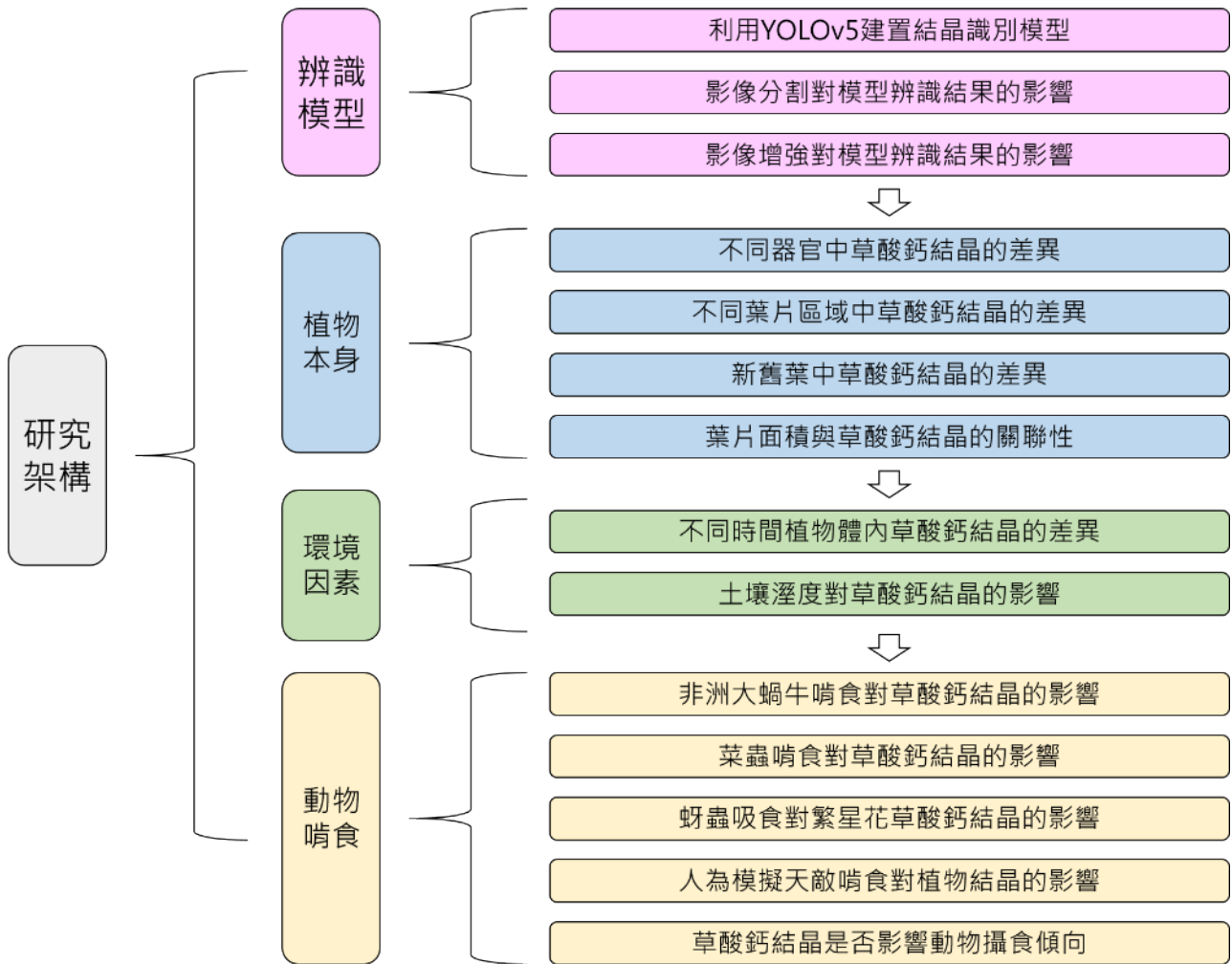
圖 3-3-1：繁星花
 (引自 <https://reurl.cc/GXbm9W>)

肆、 文獻整理

作者	研究題目	研究論點
劉怡君、 鍾立婷、 蔡盈瑩、 張尹柔， 2010	葉裡的秘密-鈣離子對結晶形成的影響	<ol style="list-style-type: none"> 1. 實驗發現鈣離子濃度和結晶密度則呈正相關 2. 結晶密度最高的葉片為新生葉，且當新葉形成時，距離最近的舊葉片內結晶密度會大幅降低，作者推測與「防蟲啃食」功能有關聯。
陳子戡、 張栩銘、 陳紫涵、 鍾昀希， 2019	「鹽」「蒞」討源~探討蒞菜草酸「鈣」與鹽逆境間關聯	<ol style="list-style-type: none"> 1. 草酸鈣結晶，於葉內的分佈大致是平均的，且大小也大致相同 2. 鹽逆境與結晶鈣數量有所關聯
我們的見解	<p>在閱讀以上述兩篇報告後，透過前人的實驗確定以下兩點：</p> <p>一、鈣離子影響草酸鈣結晶密度</p> <p>二、鹽逆境影響草酸鈣結晶的形成及數目</p> <p>同時也引起我們更大的好奇心，兩篇研究對於草酸鈣於植物體內結晶的分佈得到的結果不一，究竟不同組織中草酸鈣結晶數量會相近嗎？草酸鈣結晶是否真具有「防蟲啃食」之效？若真的遭受啃食，植物是否也會有相對應變機制？我們想進一步驗證以上幾點對於結晶的影響及關連，確認各種關於草酸鈣結晶形成之假說。</p>	

伍、研究過程與方法

一、研究架構



二、研究原理

(一) 鈣化作用

鈣是生物體必要營養元素，亦是生物體重要的訊息傳遞元素，透過調節細胞基質內外的鈣離子濃度進行訊息的傳遞，因此鈣化作用為一重要生理機制。將鈣離子形成化合物，以非溶性鈣化物形態存在，便可降低生物體內的鈣離子濃度。例如在動物體內以碳酸鈣形成骨骼、以草酸鈣、磷酸鈣形成結石。許多植物也會形成固定型態的鈣晶體，如草酸鈣(calcium oxalate)、碳酸鈣(calcium carbonate)、矽質體(silica bodies)和蛋白體(protein bodies)，其中以草酸鈣最為常見。

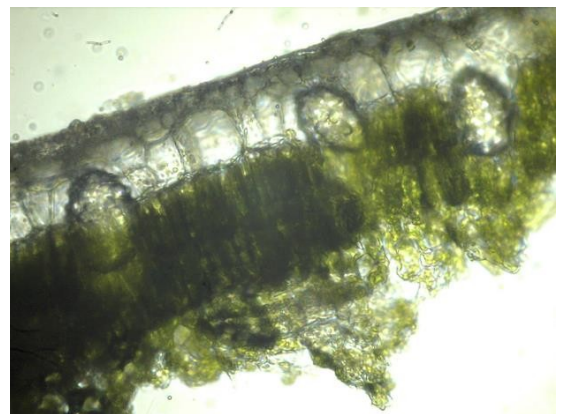


圖 5-2-1：榕樹內的鐘乳體(碳酸鈣結晶)
(引自自強國中資優班臉書專頁)

(二) 草酸鈣結晶

草酸鈣晶體是一種均質化合物，其晶形具有特定的形態，Frey 在 1929 年發現植物體內有晶體的存在，1956 年將可以專職產生晶體功能的細胞稱為晶異細胞

(crystalidioblast)。常見的草酸鈣晶體的形態，可分為：針晶、柱晶、稜(方)晶、晶砂、晶簇。晶體的型態及分佈方式，也常用於輔助植物分類。關於晶體功能，一般認為與鈣離子調節、植物防禦、組織支撐、重金屬解毒、光的聚集和反射及植物逆境的適應等有關，然而，結晶是否能真正對食草動物具有威懾作用尚未得到明確證明。

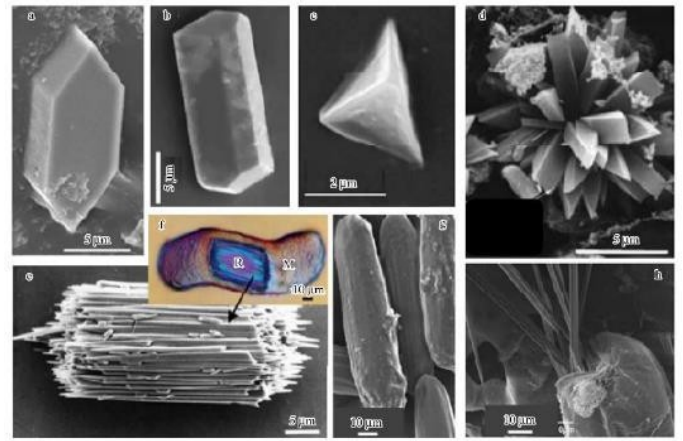


圖 5-2-2：草酸鈣結晶不同型態
a. b. c. 稜晶、d. 晶簇、e. h. 針晶、g 成晶細胞
(引自生態學報：植物晶體的形態結構、生物功能及形成機制研究進展)

(三) 類神經網路

類神經網路 (Artificial Neural Network, 簡稱 ANN) 又稱人工神經網路，屬於人工智慧領域一重要概念，模擬生物神經系統的工作原理，生物體神經系統由神經元組成，透過許多突觸相互連結傳遞訊號。類神經網路架構亦是如此，每個神經元接收訊號對其處理後，向與之相連的神經元發出訊號，且通常透過平行且分散的方式來運算，藉此達到處理大量資料。類神經網路可以用來解決複雜的模式識別、預測、分類等問題。且具有自適應、自學習、容錯性等特點，能夠從大量的訓練數據中學習，並通過調整網絡參數來進行模型的優化。目前已被廣泛應用於語音識別、圖像識別、自然語言處理、數據分析等領域，是現今熱門科技及發展迅速的應用技術。

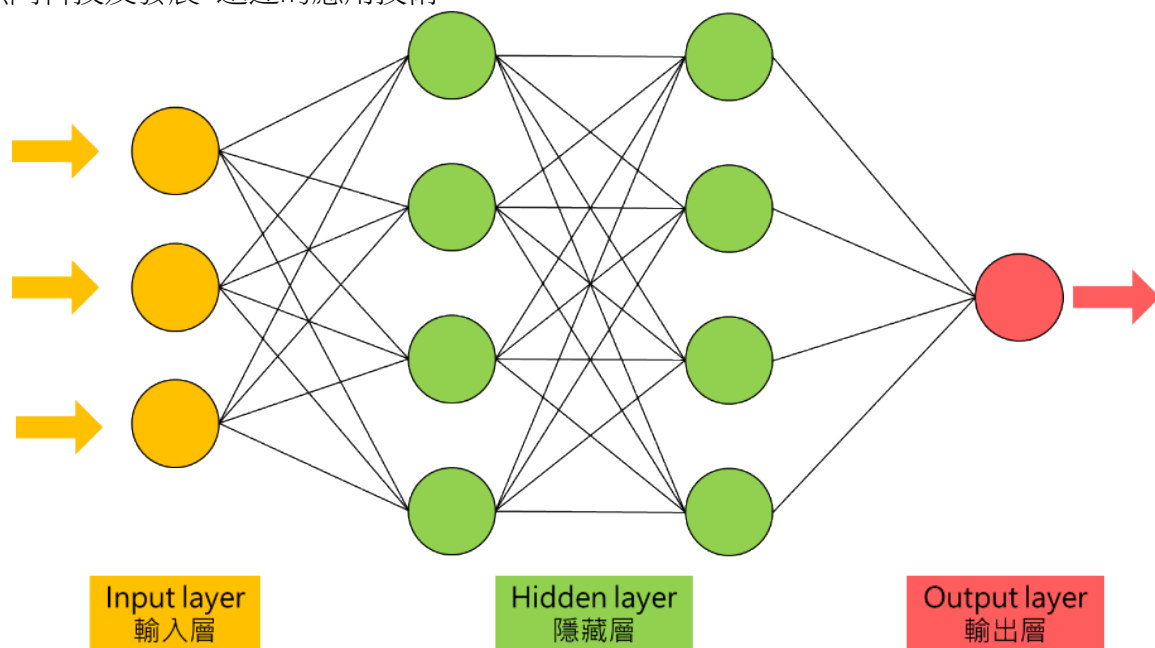


圖 5-2-3：類神經網路的架構

(四) 深度學習

深度學習(Deep Learning, DL)是一種機器學習技術，它建立在類神經網路的基礎上，通過多層神經網路的結構和大量數據的學習，從而實現對複雜模式和特徵的自動識別和提取。深度學習中的“深度”是指神經網路有很多層隱含節點，上述類神經網路包含了輸入層、隱藏層、輸出層，其中隱藏層可以有一層以上，具有複數個隱藏層的神經網路通常被稱為深度神經網路。通過層與層之間的資訊傳遞，從而學習到更加抽象的特徵表示，例如從影像的圖元特徵逐漸組合出線、角、形狀等特徵，再藉由訓練讓權重學習調整逐，步實現複雜的分類和識別任務。

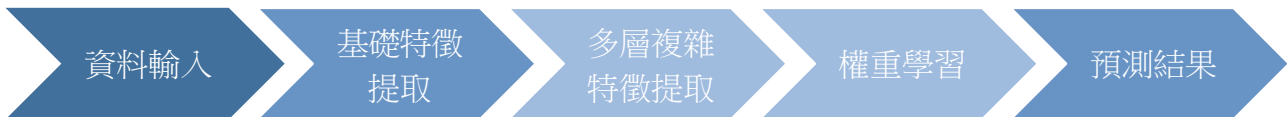


圖 5-2-4：深度學習基本流程步驟

(五) YOLO v5

YOLO 系列 (You only look once, Yolo) 是一種用於物件偵測的類神經網路演算法，它基於開源深度學習框架 PyTorch 實現，由 Joseph Redmon 和 Alexey Bochkovskiy 於 2020 年開發。YOLOv5 是對先前版本 YOLOv4 的改進，通過改進模型架構、訓練方法、數據增強等方面，提高了物體檢測的準確性和速度。相較於先前的版本，YOLOv5 採用了更輕量化的模型架構，使得其在檢測準確性和速度方面都表現優異。

目前 YOLOv5 執行的模型，是官方經由著名「COCO dataset」所訓練的模型，共可辨識 80 種不同的物件。但由於本實驗要辨識的對象是「草酸鈣結晶」，這並不在原數據集中的 80 種類別之內，因此需要準備訓練資料。使用工具標記圖像將標籤導出為 YOLO 格式，如右圖對應的標籤文件包含 2 個人 (class 0) 和一條領帶 (class 27)。

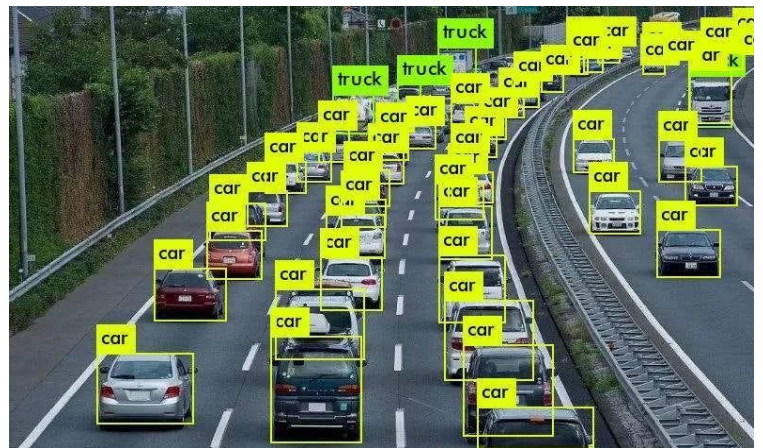


圖 5-2-5：YOLOv5 識別車輛

(引自文章：YOLO v5—Explained and Demystified (Object Detention))

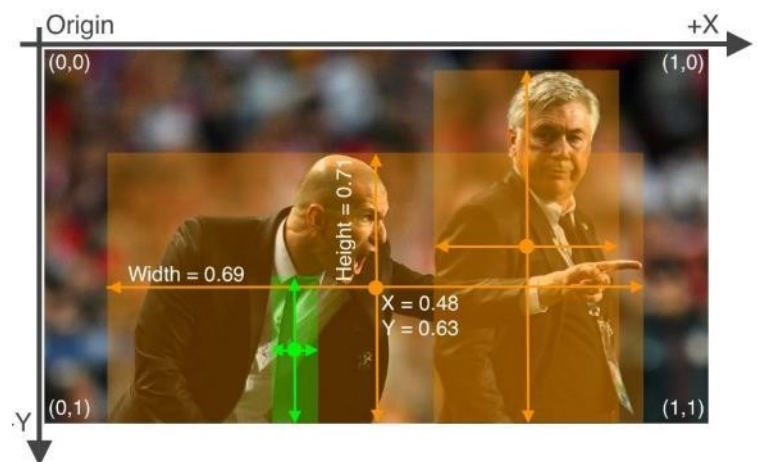


圖 5-2-6：YOLOv5 標籤範例

(引自網站Github，文章Train Custom Data)

三、名詞解釋

(一) **混淆矩陣(Confusion Matrix)**：用於評估分類模型（分類演算法）效果的一種矩陣表示方法，顯示出分類模型將樣本正確分類和錯誤分類的情況。

混淆矩陣		真實值	
		YES(1)	NO(0)
預測值	YES(1)	真陽性(True Positive, TP)	偽陽性(False Positive, FP)
	NO(0)	偽陰性(False Negative, FN)	真陰性(True Negative, TN)

(二) **精確率 (Precision)**：表示在所有預測陽性的樣本中真實正確的百分比，公式如下：

$$Precision = \frac{TP}{(TP + FP)}$$

(三) **召回率 (Recall)**：表示所有事實為陽性的樣本中預測正確的百分比的，公式如下：

$$Recall = \frac{TP}{(TP + FN)}$$

(四) **F1 score**：為精確率及召回率的調和平均數(Harmonicmean)，可作為該二指標的綜合指標，能概略地評估模型的表現。F1 score 的數值介於 0 到 1，若該值越近於 1，代表模型有較佳的表現，反之越趨近於 0，則模型性能不理想。其公式如下：

$$F1\ score = \frac{2 \times Precision \times Recall}{(Precision + Recall)}$$

(五) **信心程度 (Confidence)**：判斷此物件屬於該類別的信心程度。

(六) **期 (epoch)**：1 個 epoch 等於使用訓練集的全部樣本訓練一次。

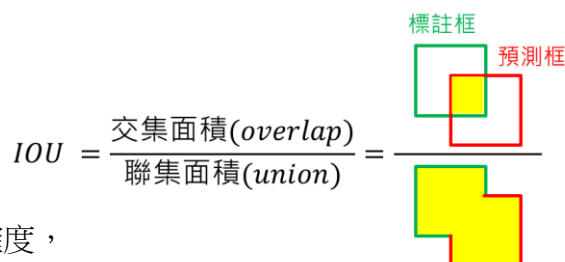
(七) **批次尺寸 (batch size)**：一次訓練的樣本數目，通常取決於電腦的記憶體大小。

(八) **訓練集 (Training Set)**：模型訓練和學習的數據集，包含了標記有正確答案的數據。

(九) **驗證集 (Validation Set)**：是用於評估模型性能和調整模型超參數的數據集。用於了解模型的泛化能力，可以比較不同模型的性能。

(十) **IoU (Intersection over Union)**：公式如右，

用於衡量預測框與真實標籤之間的重疊程度。



(十一) **mAP@0.5**：表示在 IOU 閾值為 0.5 時的平均精確度，

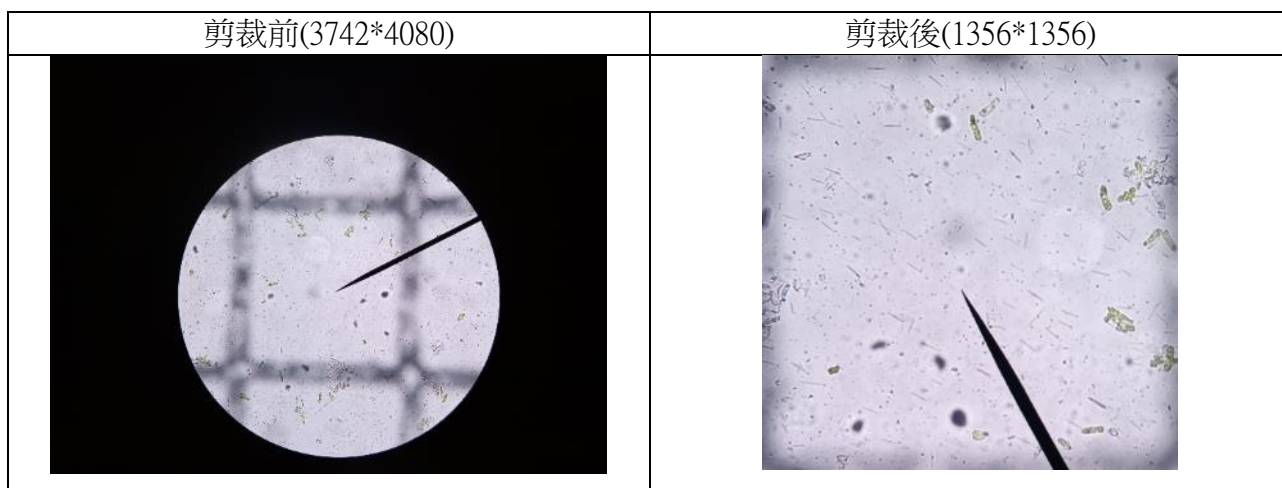
是一個衡量模型整體性能常用的評估指標，越高 mAP@0.5 值表示模型檢測性能越好。

(十二) **結晶密度**：在 1 平方毫米植物葉片中存在的草酸鈣結晶數，單位以(No/mm²)表示。

四、實驗步驟

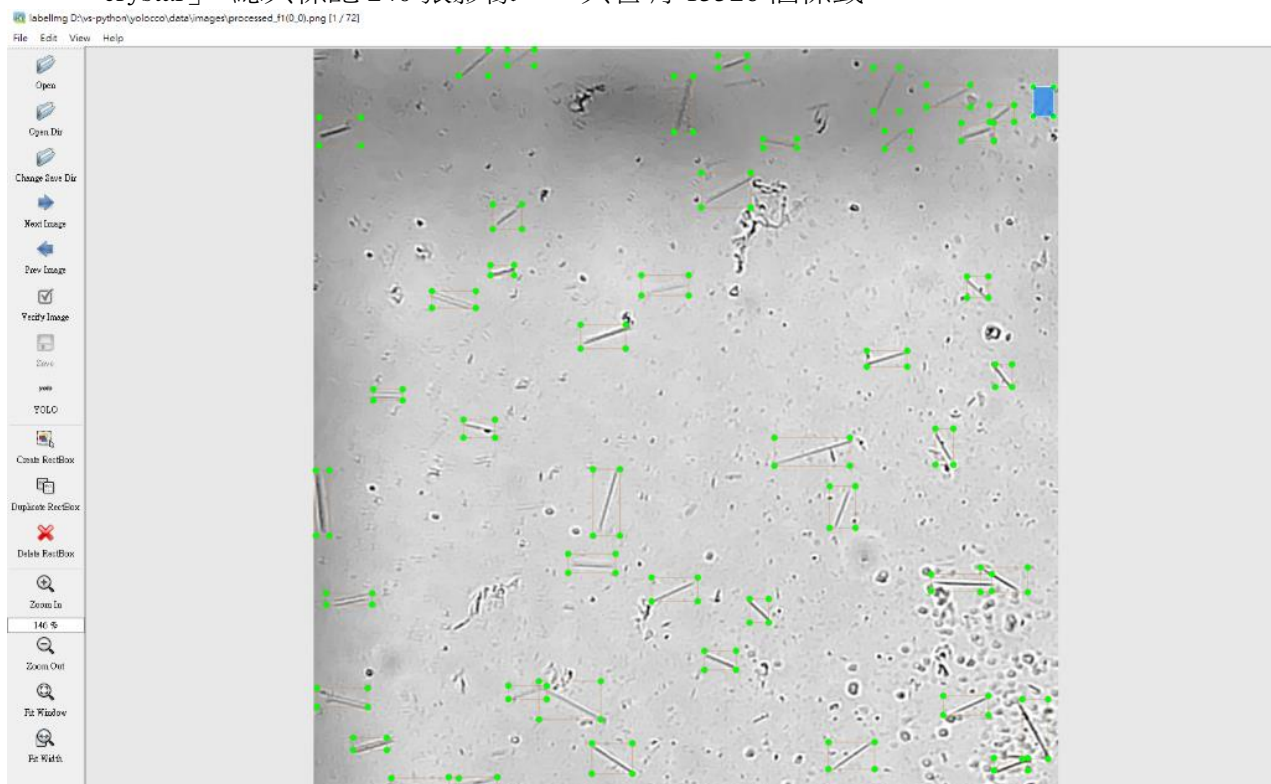
(一) 建立影像數據集

本研究於正常室內燈光環境下，使用智慧型手機搭配支架，固定於複式顯微鏡目鏡中的明亮視野下拍攝，手機像素 3072*4080，結晶玻片製作方法如下述所示，將自製玻片放入顯微鏡中觀察拍攝，裁去樣區邊界外區域，留影像長寬約 1200~1700 像素的正方形樣區，作為影像訓練資料，總共蒐集 240 張結晶照片。正方形樣區實際尺寸為 1mm*1mm。




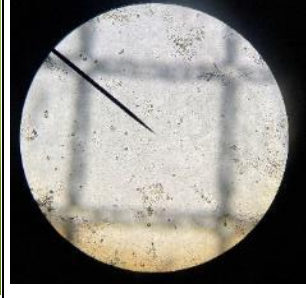


(二) 手動標註訓練資料

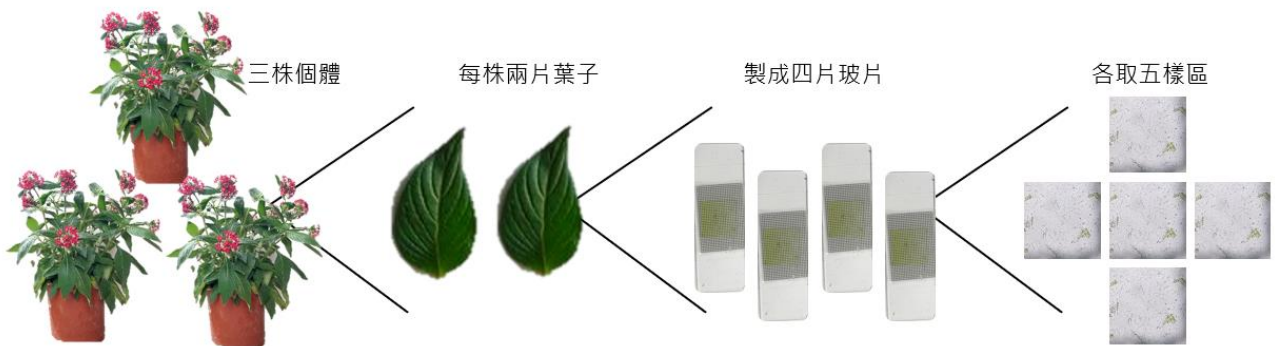
使用 Labelimg 程式並將標籤存到 labels，手動圈選結晶範圍，設定類別為一種「crystal」。總共標記 240 張影像，一共含有 13526 個標籤。



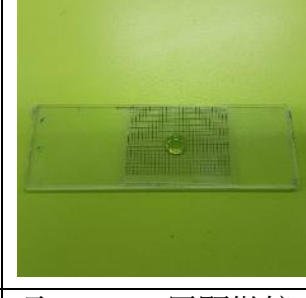
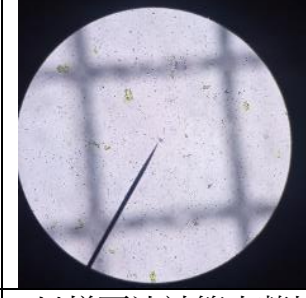


(三) 觀察植物結晶的方法(實驗 4)

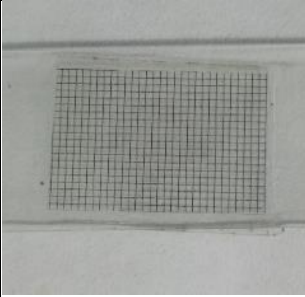

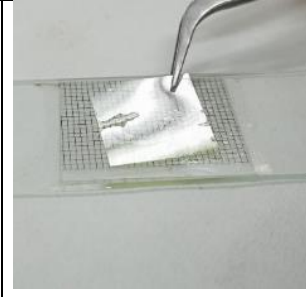
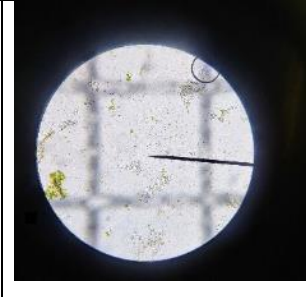
			
1.取植物各部位(根、莖、葉、花)各 1 克。	2. 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。	3. 取 20um，用顯微鏡 100 倍觀察結晶數量。	4. 以樣區法計算出葉片結晶密度。

(四) 觀察葉片結晶的方法(實驗 5~13)



			
1.取一片大小 1 平方公分的葉片。	2.放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。	3.取 20um，用顯微鏡 100 倍觀察結晶數量。	4. 以樣區法計算出葉片結晶密度。

(五) 利用樣區法計算葉片結晶密度

			
1.將載玻片上以透明塑膠片方格紙標示出樣區。	2.製 0.5ml 組織待測液中以微量滴管吸取 20ul 。	3. 將待測液滴上玻片後，輕蓋上蓋玻片，以顯微鏡 (100X)觀察。	4.選取上、下、左、右、中各一個樣區，統計各樣區結晶數。

陸、研究結果與討論

【研究一：開發草酸鈣結晶辨識模型】

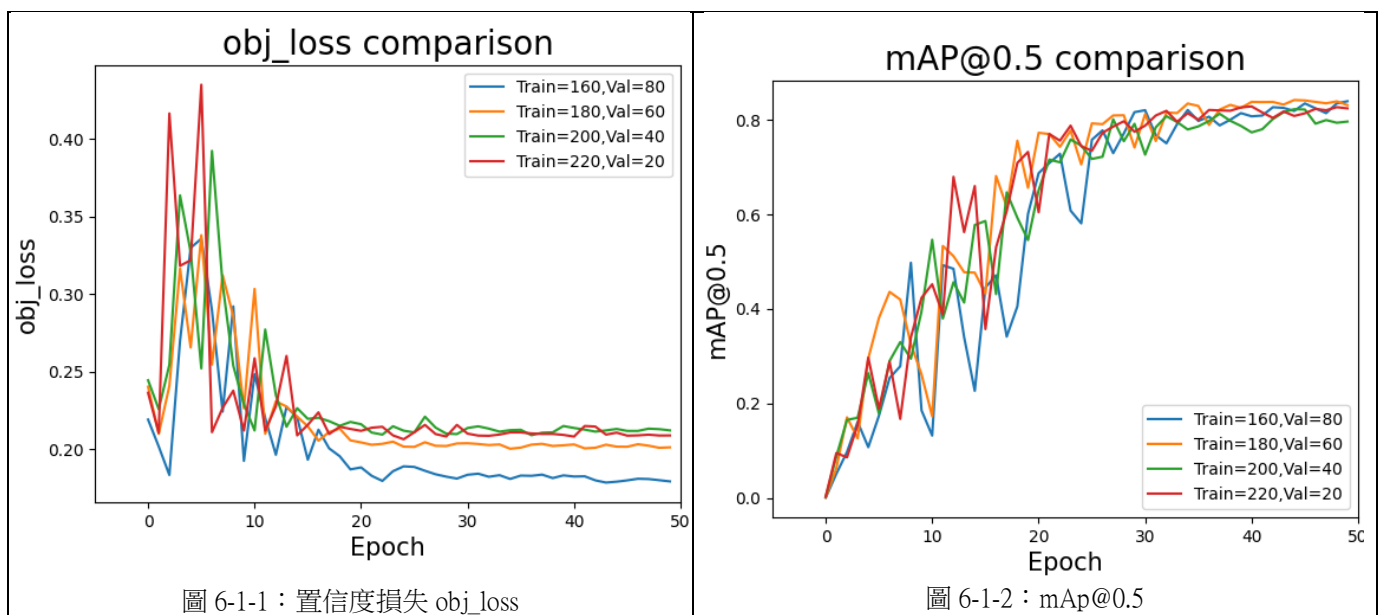
實驗 1：尋找適合的訓練集與驗證集比例

1. 實驗方式

- (1) 將 240 張影像依不同比例劃分成訓練集與驗證集。
- (2) 使用 yolov5 進行初步訓練及分析。

	組別 1	組別 2	組別 3	組別 4
訓練集 Training Set	160 張	180 張	200 張	220 張
驗證集 Validation Set	80 張	60 張	40 張	20 張

2. 實驗結果



3. 分析討論

以上結果為模型隨著訓練期數(epochs)，置信度損失 obj_loss 與 mAP@0.5 平均精確度的變化，在 YOLO 物體檢測算法中，obj_loss (Object Loss) 是用於計算預測框與真實標籤之間的誤差的一個損失函數，obj_loss 越小越好。可以看到在訓練集 160 張：驗證集 80 張時，置信度損失 obj_loss 是最小的，mAP@0.5 平均精確度隨訓練期數四組收斂相差不多，落在 0.82~0.84 間。因此我們選擇以訓練集 160 張：驗證集 80 張來劃分數據集。

實驗 2：利用 YOLOv5 建置結晶識別模型

1. 實驗方式

- (1) 安裝 Visual Studio Code 及 Python(3.9 version)。
- (2) 安裝環境，下載 git、labelImg、yolov5。
- (3) 建立影像數據集，剪裁影像。
- (4) 安裝 labelimg 程式並將標籤存到 labels。
- (5) 輸入指令開始訓練(本實驗選用 YOLOv5l)。


```
python train.py --img 640 --batch 16 --epochs 200 --data dataset.yaml --weights yolov5l.pt
```

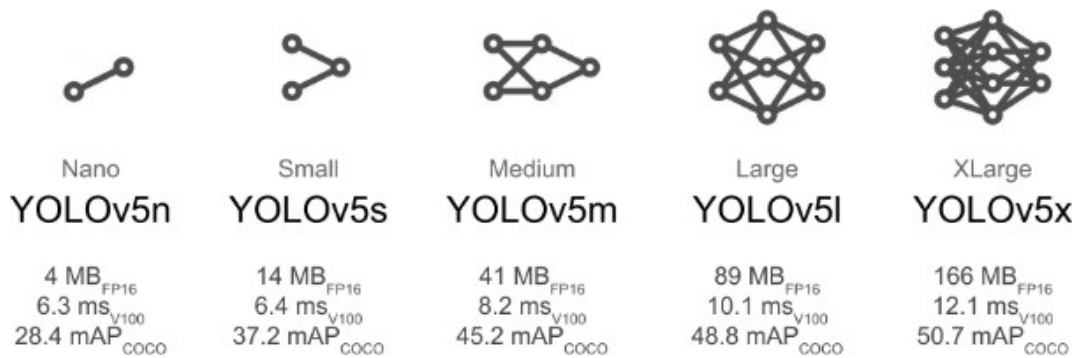
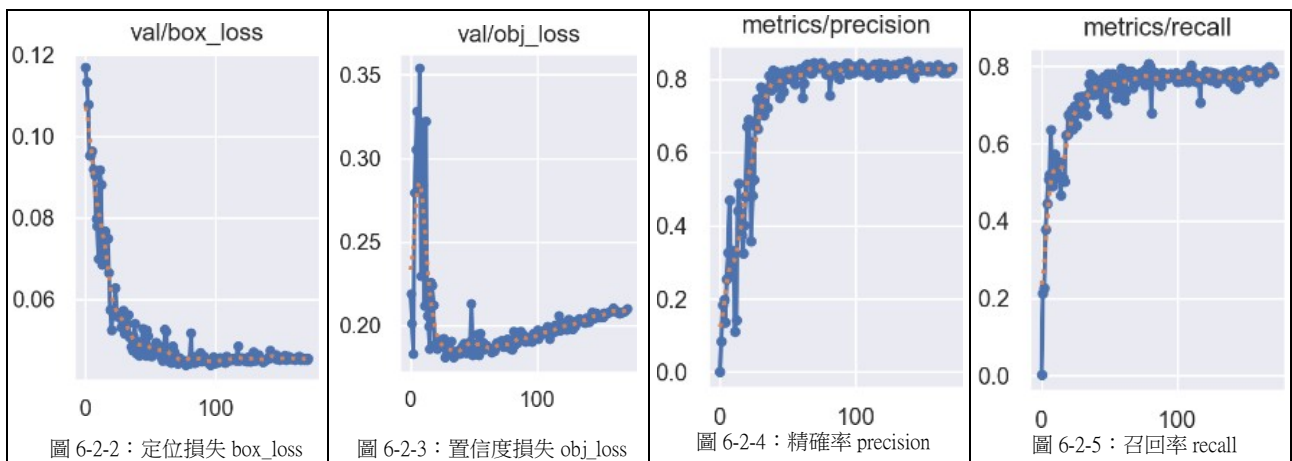


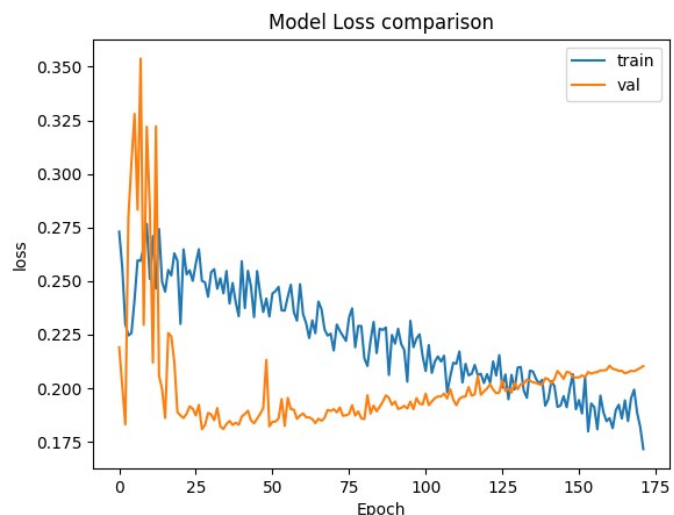
圖 6-2-1：YOLOv5 訓練模型型號比較
(引自網站Github，文章Train Custom Data)

2. 實驗結果



以上四圖結果為模型隨著訓練期數(epochs)，各項數值的變化,由左至右圖，分別是定位損失box_loss，指預測框與標定框之間的誤差。置信度損失obj_loss，衡量預測框中是否包含物體的預測準確性，越小判定為目標的能力越準。這些損失項的總和將用於優化模型參數，以提高 YOLOv5 模型在物體檢測任務上的性能。定位損失 box_loss 隨著訓練期數增加下降至0.04 左右，但驗證集置信度損失 obj_loss 卻逐漸提升。精確率及召回率也穩步上升，在訓練50個期數後逐漸收斂達到0.84左右，顯示模型訓練效果不錯。

接著我們進一步檢視訓練集和驗證集的 obj_loss，發現訓練集的損失穩定下降，表示辨識學習數據很理想，在驗證集上卻反而上升，表示越學模型對於未見過的數據辨識越不準確，這顯示模型出現了過擬合的現象。



*補充說明：

過擬合(Overfitting) 是一種機器學習行為，過於緊密或精確地匹配特定資料集，以致於無法良好地響應新數據，如下圖所示。當模型過擬合時，它在訓練數據上的表現很好，但在測試數據或實際應用中的新數據上表現較差。過擬合可能會導致模型對噪音或不重要的特徵過於敏感，而無法捕捉到真正的模式和趨勢，泛化能力差。避免過擬合的方法包括：增加訓練數據量、提前停止 (Early Stopping)、使用交叉驗證、簡化模型結構...等。

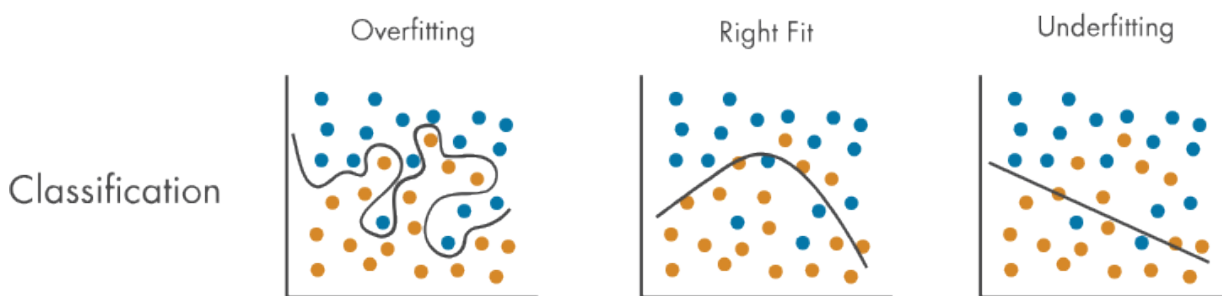


圖 6-2-7：過擬合示意圖(引自網站MathWorks，引自網站Overfitting)

實驗 3：資料增強前後比較訓練模型的差異

資料增強(Data Augmentation)

是一種在機器學習和深度學習中常用的技術，用於擴增訓練數據集的大小和多樣性，使模型能夠更好地應對不同的情況和變化，將原始數據進行一系列的變換或修改，生成新的數據樣本，以創造出更多的圖片來讓機器學習，彌補資料量不足的困擾，從而提高模型的泛化能力，同時減輕過擬合現象。常見的資料增強方法包括：圖像翻轉、旋轉、縮放、平移、改變亮度、對比度、加入噪聲等，以模擬現實世界中的變化。

本研究使用 Albumentations 圖像增強庫，專為機器學習視覺任務而設計，基於 NumPy 和 OpenCV 的優化函數，確保圖像增強過程高速執行。支持 60 多種不同的圖像增強技術，每一種方法可以設定不同機率執行，並且可以多種疊加使用，支援邊界框和關鍵點數據的增強。



圖 6-3-1：使用 Albumentations 進行資料增強示意圖(自製)

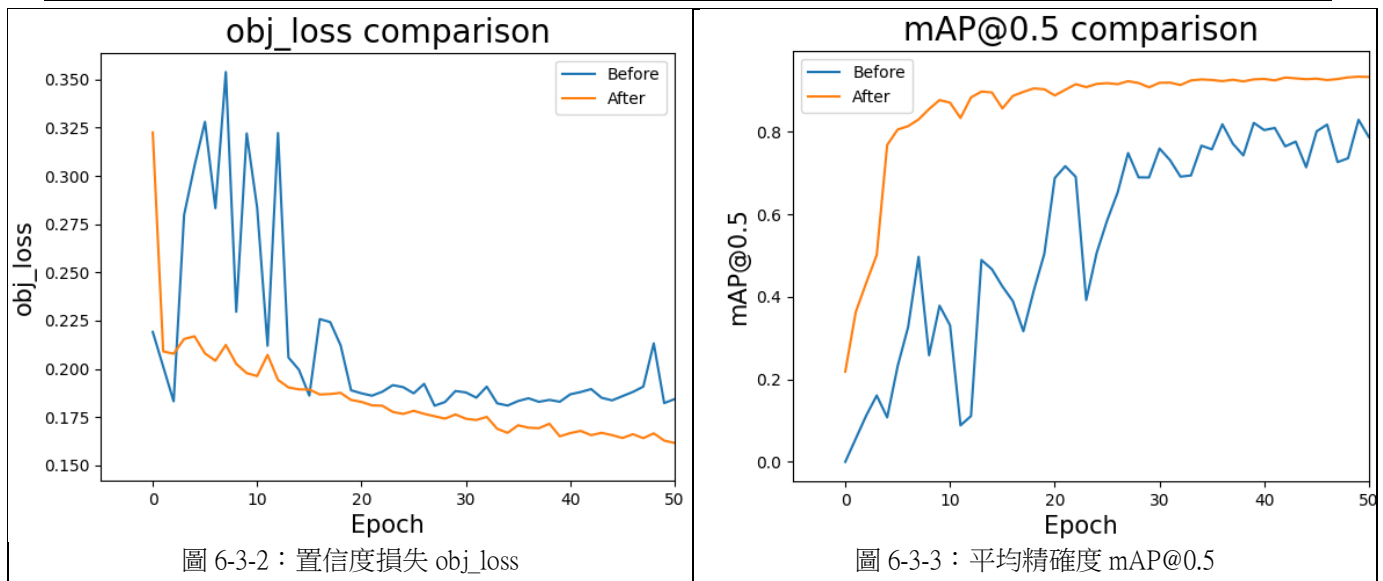
1. 實驗方式

- (1) 將原始數據集 240 張影像，利用 Albumentations 圖像增強庫，擴充至 1200 張。
- (2) 將原始數據及資料增強後的數據分別以 yolov5 進行初步訓練及分析。
- (3) 為避免過擬合，減少訓練期數 epoch 至 50

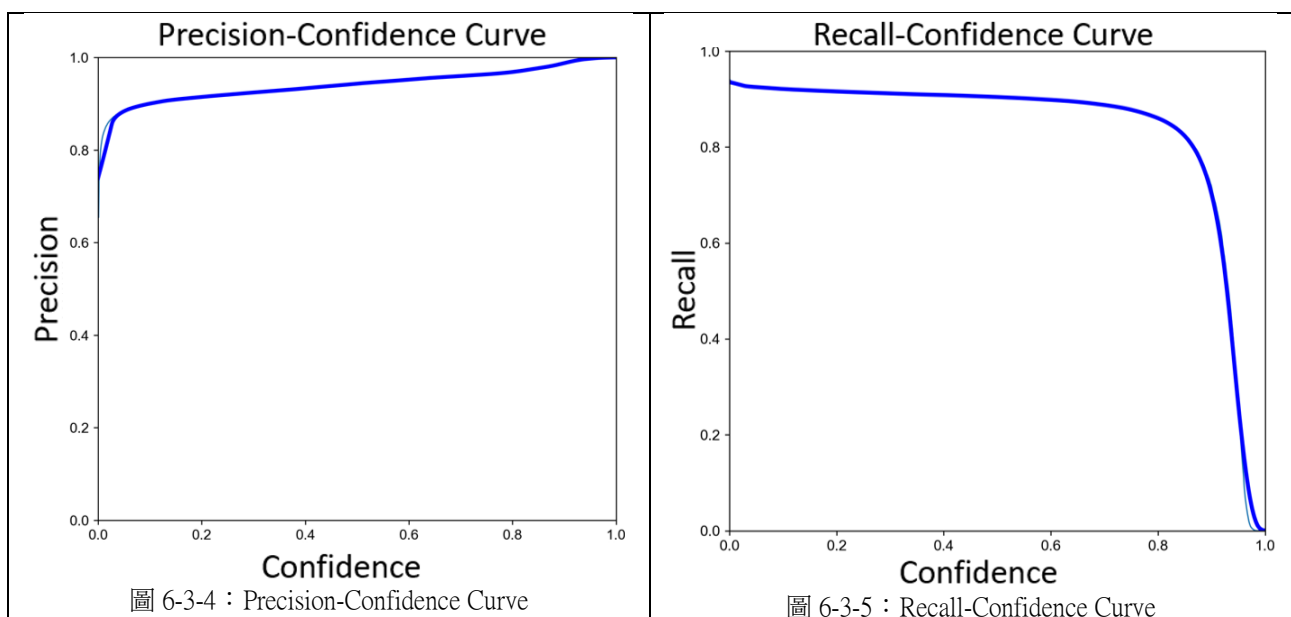
2. 實驗結果

表 6-3-1 資料增強前後訓練模型比較

	p	r	F1-score	mAP@0.5
原始數據	0.841	0.778	0.81	0.833
資料增強後	0.953	0.898	0.92	0.948



從訓練結果可以看到在資料增強後，幾個評估指標都有提升的表現，顯示對於資料量小的數據及經過數據增強技術後可以提升辨識模型的性能。由圖 6-3-2 可看到資料增強後數據集(橘線)的置信度損失 obj_loss 比之前更下降一些，且表現較緩和，而 mAP@0.5 平均精確度也更快速的爬升，從 0.833 提升至來到 0.948，提升了精確度也解決過擬合問題。



精確率曲線，precision 表示預測正確樣本中真實正確的比例，橫軸為信心程度，可發現當信心程度 0.2 時，精確率已超過 0.9，信心程度可以提供研究者設置信心程度閾值。

召回率(查全率)曲線，recall 表示所有真實為結晶樣本中，預測正確的比例，當信心程度越低，召回率越高，且接近 1，表示不容易有遺漏的樣本。



圖 6-3-6：輸入影像



圖 6-3-7：模型辨識成果

上方左圖為輸入影像，右圖為模型辨識結果，可清楚看到影像中所有的結晶，模型均有辨識出來，且信心程度高，大多介於 0.8~0.9 之間，也表示此模型可以取代人工計算。於是我們選擇經資料增強後訓練的模型平均精確度 0.948，進行後續實驗的資料分析。

實驗 4：影像分割對模型辨識結果的影響

1. 實驗方式

- (1) 準備 20 張測試影像，作為對照組。
- (2) 將 20 張測試影像，4 等分切割後共 80 張，做為測試組。
- (3) 分別以辨識模型進行演算，紀錄檢測到的結晶數量。

2. 實驗結果

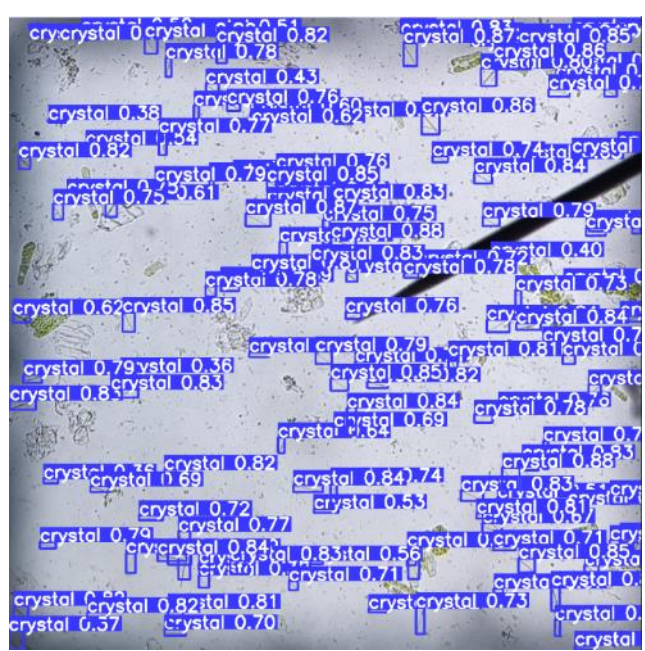


圖 6-4-1：原始照片示例



圖 6-4-2：4 等分割照片示例

表 6-4-1 模型對原始尺寸及分割影像的辨識正確率

實驗 2	原始尺寸	四等分切割
實際結晶數量	3493	3493
辨識結晶數量	2487	3127
辨識正確率	71.2%	89.5%

3. 分析討論

由上表可發現四等分分割後的辨識正確率明顯高於原使尺寸 71.2%，辨識信心程度也較低。這可能因為原始照片輸入模型後，因尺寸過大(約 1500*1500)，YOLO 會自行縮放影像再進行運算處理，省略細節造成辨識上的困難，因此後續分析，都先將影像四等分裁切處理，尺寸大小約(750*750)。

實驗 5：影像處理對模型辨識結果的影響

1. 實驗方式

- (1) 使用 80 張測試影像，作為對照組。
- (2) 將 80 張測試影像，進行銳化處理、灰階處理等做為不同實驗組。
- (3) 分別以辨識模型進行演算，紀錄檢測到的結晶數量。

2. 實驗結果

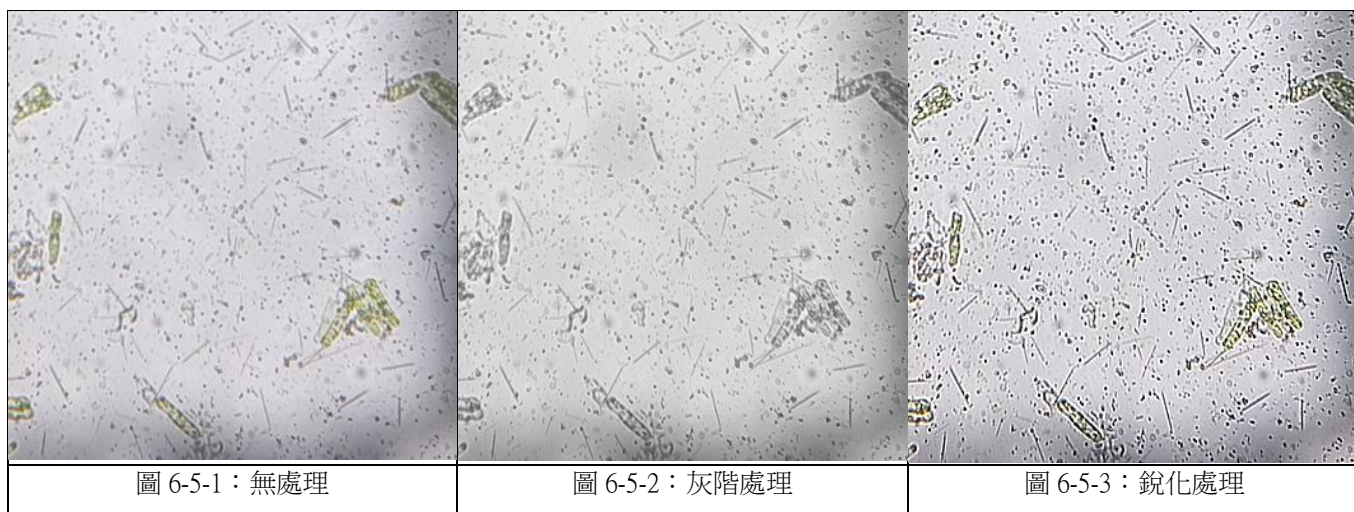


圖 6-5-1：無處理

圖 6-5-2：灰階處理

圖 6-5-3：銳化處理

表 6-5-1 模型對灰階及銳化處理後影像的辨識正確率

實驗 3	無處理	灰階處理	銳化處理
實際結晶數量	3493	3493	3494
辨識結晶數量	3127	3142	3422
辨識正確率	89.5%	90%	97.9%

3. 分析討論



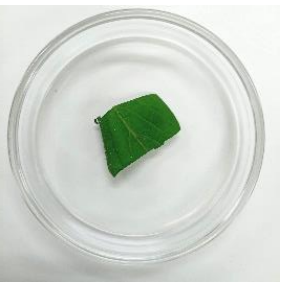
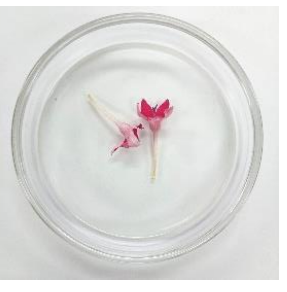
從實驗結果可知灰階處理後影像與無處理辨識正確率相近，表示顏色資訊對於模型判別結晶較不重要。而銳化處理後的相片辨識正確率達 97.9%，有效提高辨識率。因此未來實驗所有數據，需進行圖片前處理工作，再以銳化後的照片進行分析。

【研究二：植物體內草酸鈣結晶的分佈】

實驗 6：不同器官中草酸鈣結晶的差異

1. 實驗方式

- (1) 取各 0.1 公克的根、莖、葉、花。
- (2) 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。
- (3) 取 20ul，用顯微鏡 100 倍觀察結晶。
- (4) 用手機拍下結晶照片，計算結晶密度。

組別	根	莖	葉	花
照片				

2. 實驗結果

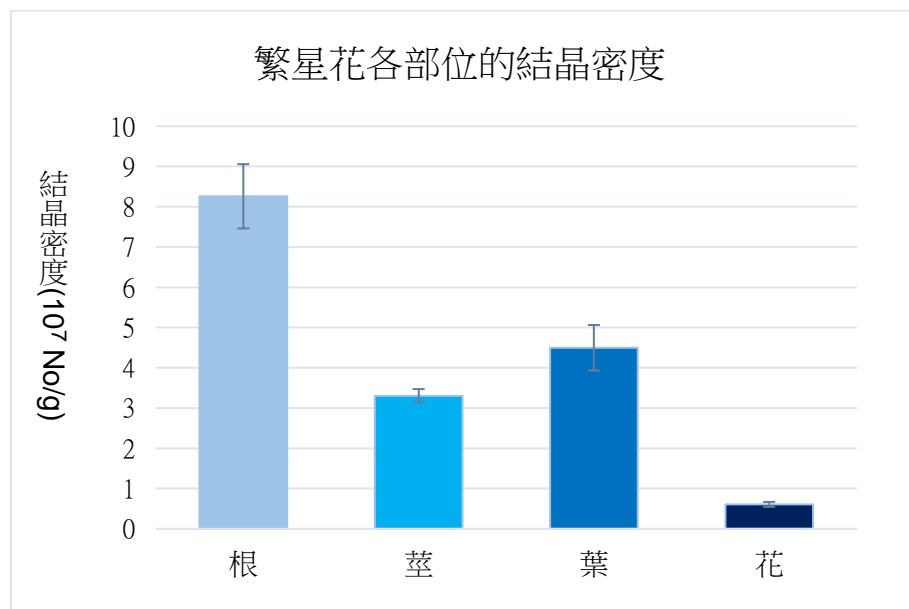


圖 6-6-1




3. 分析討論

由上圖可以發現：繁星花各部位的結晶密度是有差異的。其中，根部的結晶密度最高，且明顯高於其他部位，約 8×10^7 根/公克；葉次之，約 4×10^7 根/公克；莖部第三，約 3×10^7 根/公克；花的結晶密度最低，小於 1×10^7 根/公克。

實驗 7：不同葉片區域中草酸鈣結晶的差異

1、實驗方式

- (1) 取葉片尖端、中心、尾端各 1 平方公分。
- (2) 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。
- (3) 取 20ul，用顯微鏡 100 倍觀察結晶。
- (4) 用手機拍下結晶照片，計算結晶密度。

組別	尖端	中部	基部
照片			

2、實驗結果

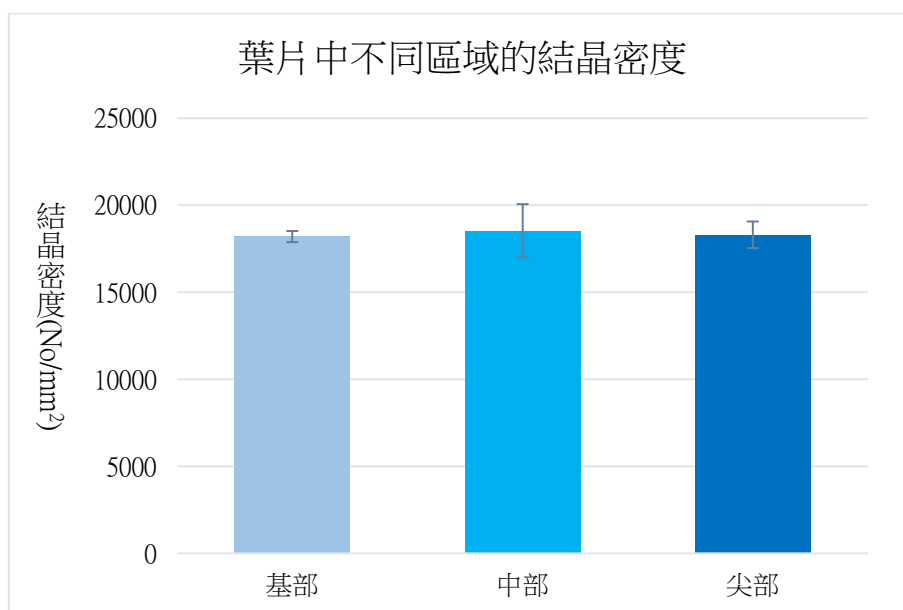


圖 6-7-1

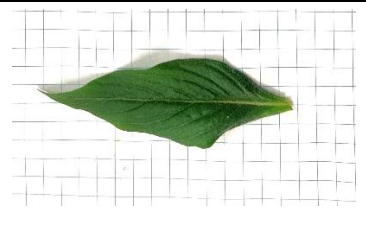
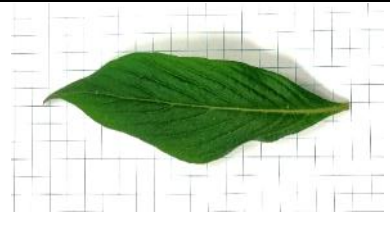

3、分析討論

由上圖可發現：葉片不同部位的結晶數量相近，其中，三者的結晶數量並無顯著差異，約在 18198~18535 根/mm²。印證了『「鹽」「菠」討源~探討菠菜草酸「鈣」與鹽逆境間關聯』中所得出的結論：草酸鈣結晶，於葉內的分佈大致是平均的，且大小也大致相同。

實驗 8：新舊葉中草酸鈣結晶的差異

1、實驗方式

- (1) 取新葉、中葉（成熟葉）、舊葉(老葉)各 1 平方公分。
- (2) 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。
- (3) 取 20ul，用顯微鏡 100 倍觀察結晶。
- (4) 用手機拍下結晶照片，計算結晶密度。

組別	新葉	中葉	舊葉
照片			

2、實驗結果

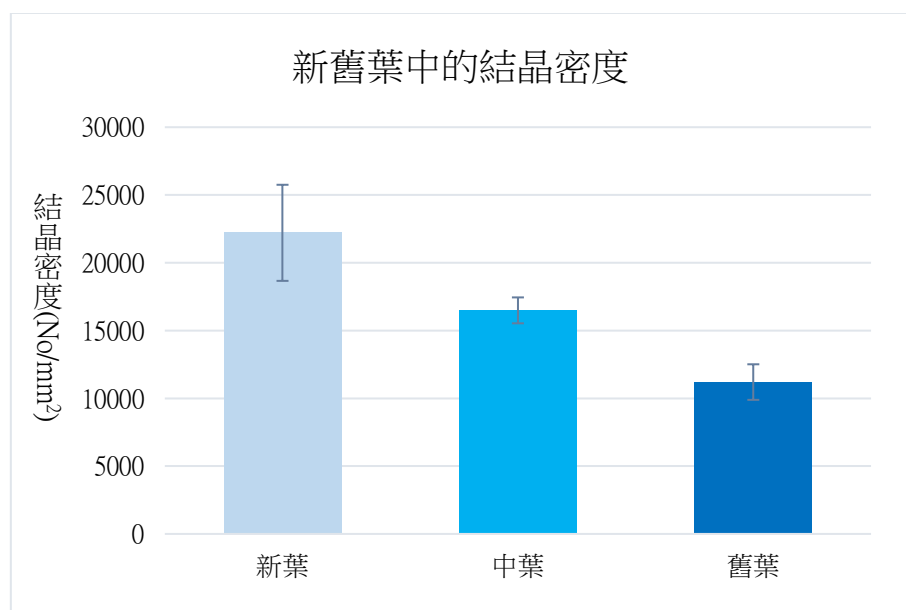


圖 6-8-1

3、分析討論

由上圖中可發現：新葉的結晶密度明顯高於中葉及舊葉許多，平均密度約為 22210 根/平方毫米；而中葉及舊葉的結晶密度則差異不大，分別為 16490 根/平方毫米及 11201 根/平方毫米。推測這可能與植物的防禦功能有關，因大多掠食者較偏好取食新嫩葉，較多的針晶可能達到威懾作用，此外，亦有可能是結晶對於新葉成長有重要生理功能，如協調離子平衡及增加光合作用效率，值得探討。

實驗 9：葉片面積與草酸鈣結晶的關聯性

1、實驗方式

- (1) 取距離頂端生長點 2 節的大、小葉各 1 平方公分。
- (2) 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。
- (3) 取 20ul，用顯微鏡 100 倍觀察結晶。
- (4) 用手機拍下結晶照片，計算結晶密度。

組別	面積小	面積大
照片		

2、實驗結果

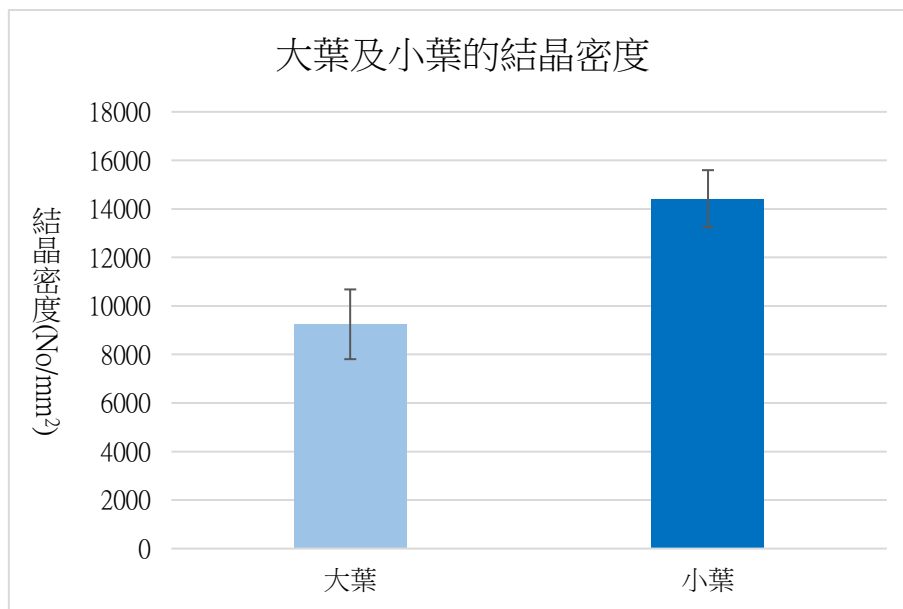


圖 6-9-1

3、分析討論

上圖顯示葉片面積小的結晶密度略高於面積大的葉子，其中，小葉的結晶密度約為 14421 根/平方毫米，大葉則只有約 9244 根/平方毫米。此與前人研究成果接近，推測是一種防禦資源分配與生長之間的權衡，對生長投資較多的葉片對晶體生產投資較少。

【研究三：環境因素對植物結晶之影響】

實驗 10：不同時間植物體內草酸鈣結晶的差異

我們也好奇結晶是否也有日夜周期的變化，或是與蝸牛的活動時間有關，來調節結晶生成，以抵禦掠食者的啃食，於是進行了以下實驗。

1、實驗方式

- (1) 在同一天的 9a.m.、12p.m.、3p.m.、6p.m.、9p.m 分別從三株個體個摘取兩片葉片。
- (2) 每片葉片各取下 1 平方公分葉片。
- (3) 放入研磨鉢，加入 0.5 毫升的水，搗碎。
- (4) 取 20ul，用顯微鏡 100 倍觀察結晶。
- (5) 用手機拍下結晶照片，計算結晶密度。
- (6) 隨機三天進行以上操作。

2、實驗結果

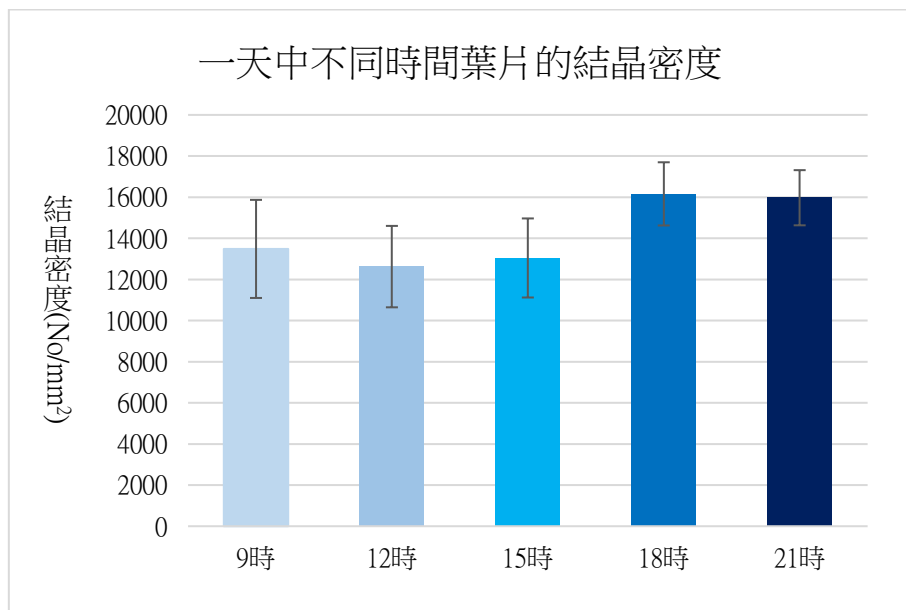


圖 6-10-1

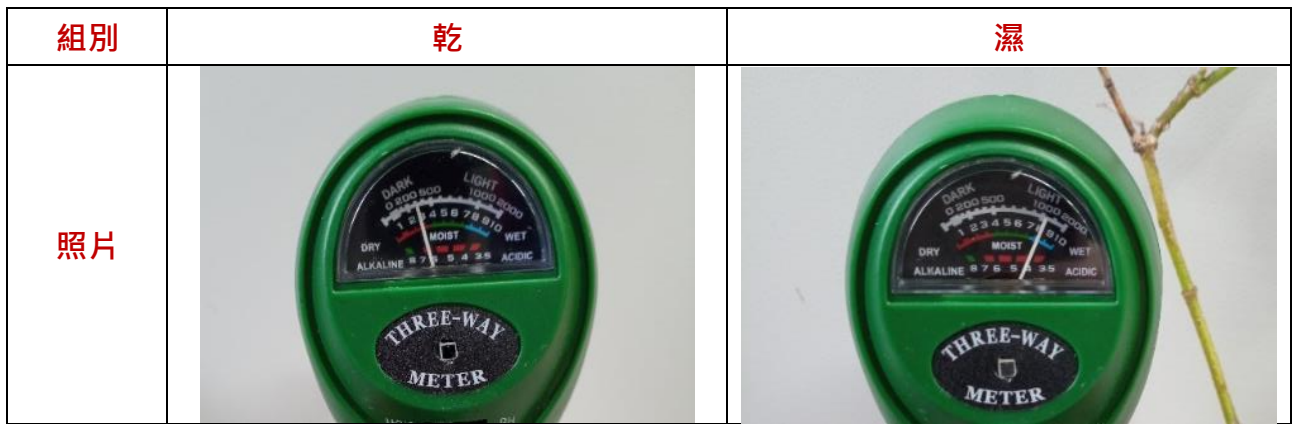
3、分析討論

由上圖可知，分別在 9 時、12 時及 15 時進行葉片取樣時，測得結晶密度差異不大，約在 12623~13483 根/平方毫米，僅在 12 時稍低，18 時結晶密度增加至 16160 根/平方毫米，21 時約為 15973 根。整體而言，晚上兩組(18 時、21 時)的結晶密度平均高於白天的結晶密度，顯示一天之內植物結晶數量也有變化，白天少，晚上多。

實驗 11：土壤溼度對草酸鈣結晶的影響

1、實驗方式

- (1) 將四株繁星花個體分為濕組：A、B，乾組：A、B 四株。
- (2) 濕組每日澆水 50ml，維持濕度 7~10；乾組不澆水，維持濕度 1~3。
- (3) 第 0、7、14 天各取兩片葉片，依觀察葉片結晶的方法操作。



2、實驗結果

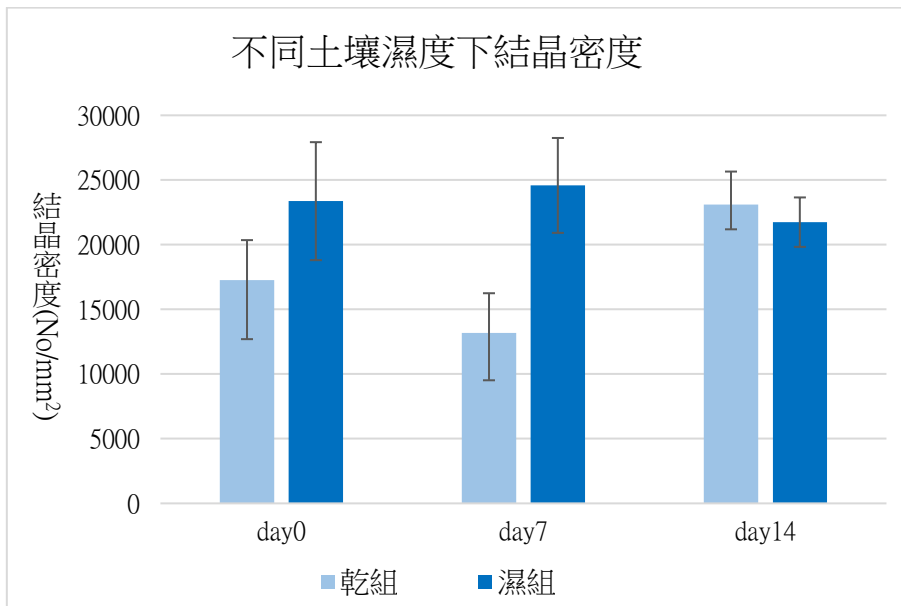


圖 6-11-1

3、分析討論

補充說明，因提前一周測試土壤乾濕度，確保乾溼組差異大，乾組自一周前已停止澆水，使其土壤乾燥逐漸下降至濕度 3~5 左右，因此發現在第 0 天乾組已明顯低於濕組，可觀察出濕組密度約為 23363 根/平方毫米之間，高於乾組密度約為 17258 根/平方毫米，表示土壤溼度與結晶密度相關。第 14 天時進行採樣時，乾組數據較前兩次採樣高，乾溼差異不大，我們推測造成如此結果的原因，可能是因在第 9 天，發現乾組的植物都快枯死了，擔心植物無法生存，所以之後幾天有澆一點水，也許這也是導致乾組結晶密度上升的原因。



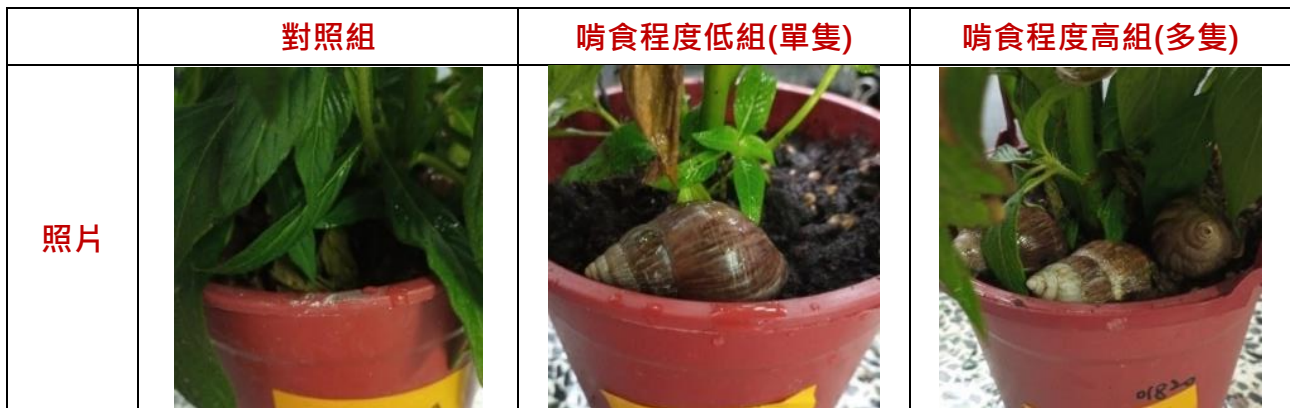
圖 6-11-2：第七天乾組及濕組的狀態

【研究四：草酸鈣結晶和動物啃食的關係】

實驗 12：非洲大蝸牛啃食對草酸鈣結晶的影響

1. 實驗方式

- (1) 搭建簡易的飼養環境，將掠食者及繁星花一同放置。
- (2) 將掠食者放置於繁星花葉片上。
- (3) 持續兩周，第 7、14 天對繁星花進行觀察。
- (4) 每組實驗進行三重複。



2. 實驗結果

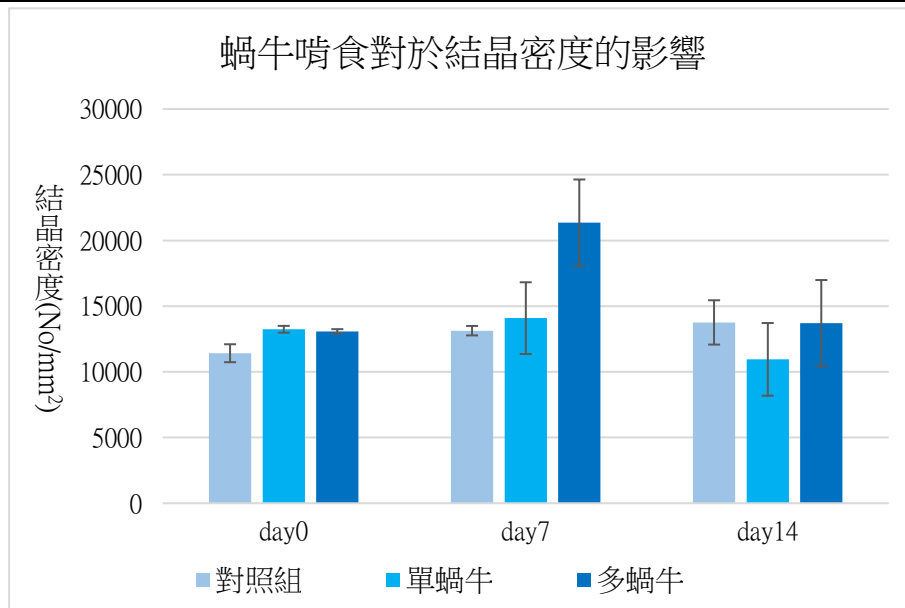


圖 6-12-1

3. 分析討論

第 0 天時，三組的結晶密度相差接近，介於 11415~13238 根/平方毫米；但在第 7 天時，我們發現以多隻蝸牛啃食 7 天的組別，產生有明顯較高的結晶密度，約為 21356 根/平方毫米，而對照組與單隻蝸牛組結晶密度差不多；在第 14 天時，多隻蝸牛啃食組的結晶已恢復平常數據。整個實驗期間，僅有以多隻蝸牛啃食的組別，在第 7 天時的結晶密度明顯高出其他組別及時間點較多，推測以多隻蝸牛啃食的方式，能夠在短期內 7 天內促使植物生成大量的結晶，單隻蝸牛組可能因啃蝕程度低並無造成類似反應。

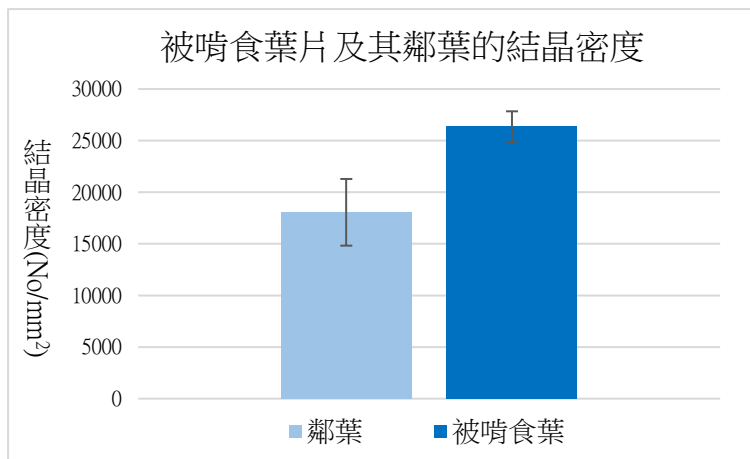


圖 6-12-2

我們另外做了被啃食葉片與鄰近葉片的區別；發現被啃食後的葉片和一般的葉片有非常明顯的差異，相差了近 10000 根/平方毫米。

實驗 13：蛾類幼蟲啃食對草酸鈣結晶的影響

1. 實驗方式

- (1) 搭建簡易的飼養環境，將掠食者及繁星花一同放置。
- (2) 將掠食者放置於繁星花葉片上。
- (3) 持續兩周，第 7、14 天對繁星花進行觀察。
- (4) 每組實驗進行三重複。

蛾類幼蟲組	
說明	一群 (約 5~8 隻)
照片	

2. 實驗結果

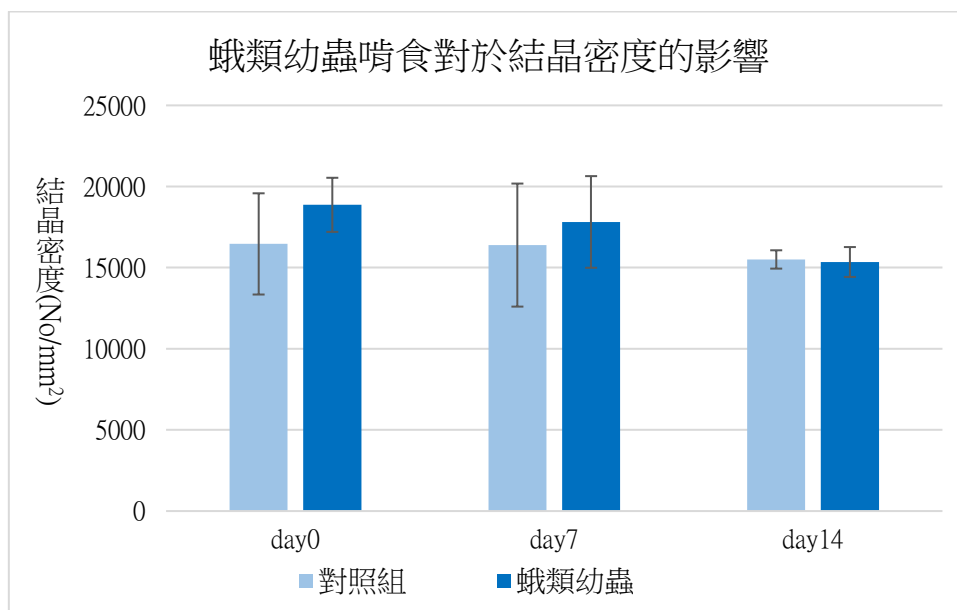


圖 6-13-1

3. 分析討論

如圖，依據此實驗結果，實驗 14 天期間，對照組的結晶密度無明顯變化。蛾類幼蟲組的結晶密度在第 0 天時略多於對照組，差約 2000 根/平方毫米，應為個體差異，隨著實驗進行，對照組與受蛾類幼蟲啃咬組的結晶密度相近，顯示蛾類幼蟲啃食對草酸鈣結晶的生成較無影響，推測可能是啃食程度較小所致。

實驗 14：蚜蟲吸食對繁星花草酸鈣結晶的影響

1. 實驗方式

- (1) 搭建簡易的飼養環境，將掠食者及繁星花一同放置。
- (2) 將掠食者放置於繁星花葉片上。
- (3) 持續兩周，第 7、14 天對繁星花進行觀察。

2. 實驗結果

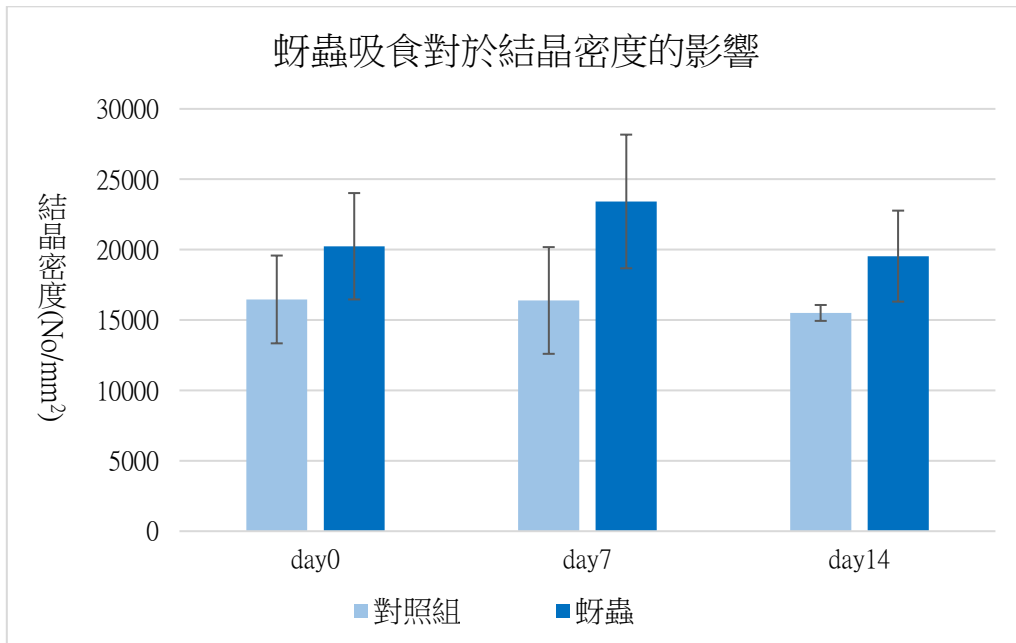


圖 6-14-1

3. 分析討論

如圖，在實驗期間，對照組的結晶密度並無明顯變化，在第 0 天時，蚜蟲組與對照組的結晶密度差異不大，對照組約為 16463 根/平方毫米；實驗經過 1 周後，對照組維持在 16390 根/平方毫米，蚜蟲組的結晶密度變化有上升的趨勢，上升至 23425 根/平方毫米，到了第二周又下降回 19541 根/平方毫米。結晶成長的幅度不像蝸牛那麼突出，與蛾類幼蟲造成的結果也不同，推測可能因兩種昆蟲口器不同，攝食方式不同，對植物造成的損傷亦不同，也有可能受有毒蛾類幼蟲產生的物質影響。總而言之，受蚜蟲吸食之個體，可能促使植物生成草酸鈣結晶。

實驗 15：人為模擬天敵啃食對植物結晶的影響

1. 實驗方式

- (1) 每天用打洞器破壞葉緣模擬天敵啃食，另外一組在葉片缺口上塗抹掠食者的唾液。
- (2) 持續兩周，第 7、14 天對繁星花進行觀察。

	對照組	人為模擬啃食組	人為模擬啃食 + 蝸牛唾液組
說明	不放置任何掠食者	以打洞機每天於每片葉子各打兩個半孔，共打兩片。	以打洞機每天於每片葉子各打兩個半孔，並於缺口處塗抹掠食者的唾液。
照片			

2. 實驗結果

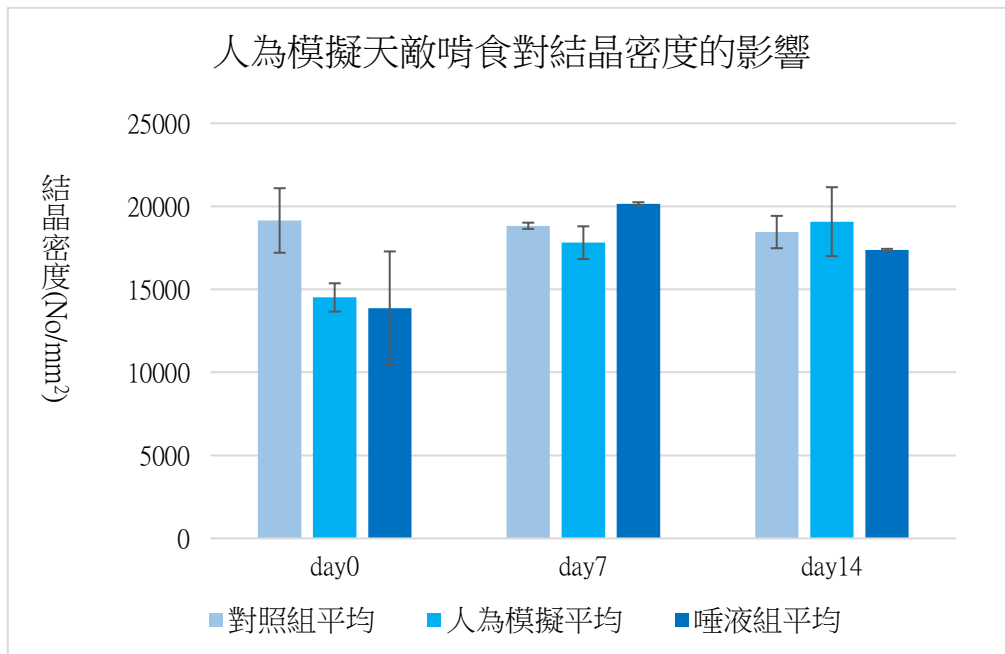


圖 6-15-1

3. 分析討論

由上圖可發現：實驗期間，對照組的結晶密度並無太大變化，約為 18450~18827 根/平方毫米；人為模擬破壞組與唾液組結晶密度差距也都不大，經統計分析後，發現無太大關聯，表示使用打洞的方式模擬啃食無法誘導植物生成結晶，推測打洞與動物實際啃食模式還是有差別。



圖 6-15-2：人為模擬動物啃食

實驗 16：草酸鈣結晶是否影響動物攝食傾向

1. 實驗方式

- (1) 選擇質地相近的植物八種，其中三種有結晶，其中五種無結晶。
- (2) 各植物取相近面積的葉片（單一葉片大的取二片，小的取二至三片），
- (3) 拍照紀錄葉片面積後，分別餵食給八隻蝸牛。
- (4) 隔天，將葉片取出，紀錄葉片面積，並不再餵食葉片，讓蝸牛餓一天。
- (5) 重複步驟二、三，直到所有植物都被各蝸牛吃過一遍。

2. 實驗結果

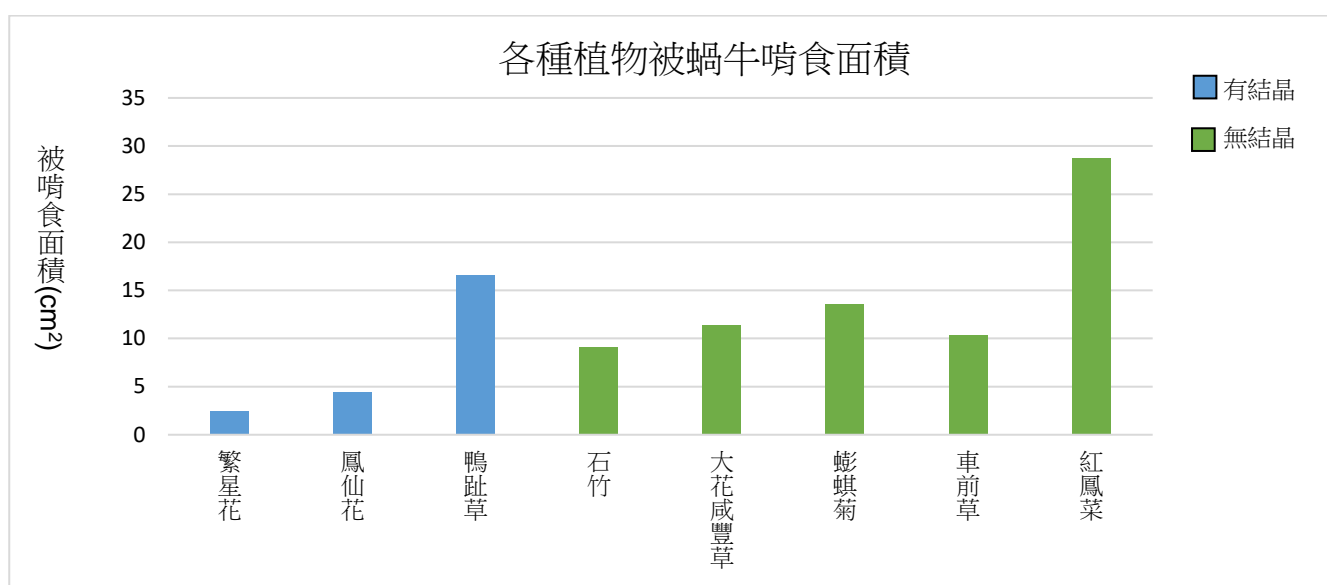


圖 6-16-1

3. 分析討論

由上圖發現：結晶密度極高的繁星花和鳳仙花，被啃食的面積都不到 5 平方公分；而無結晶的石竹、大花咸豐草、蟛蜞菊、車前草和紅鳳菜，被啃食的面積都明顯更多，甚至將近 30 平方公分，因此我們認為草酸鈣結晶的存在的確會影響到動物的攝食傾向。但在實驗過程中，比較特別的是我們發現有結晶的鴨跖草，被啃食面積居然偏高，我們進一步對其做了結晶密度的分析，發現鴨跖草雖然有結晶，但結晶密度明顯低於繁星花、鳳仙花，一樣區內僅有個位數，推測可能是因此受到較嚴重的啃食，也佐證結晶與動物的攝食傾向有關。

實驗 17：繁星花草酸鈣結晶密度與動物攝食傾向的關係

1. 實驗方式

- (1) 餵食紅鳳菜給若干隻蝸牛。
- (2) 隔天，將葉片取出，並不再餵食葉片，讓蝸牛餓一天。

- (3) 第三天隨機摘取面積相近的繁星花葉片若干片。
- (4) 拍照紀錄葉片面積後，分別餵食給若干隻蝸牛。
- (5) 隔天，將葉片取出，紀錄葉片面積，並不再餵食葉片，讓蝸牛餓一天。
- (6) 重複步驟一到五，直到蒐集到足夠筆資料。

2. 實驗結果

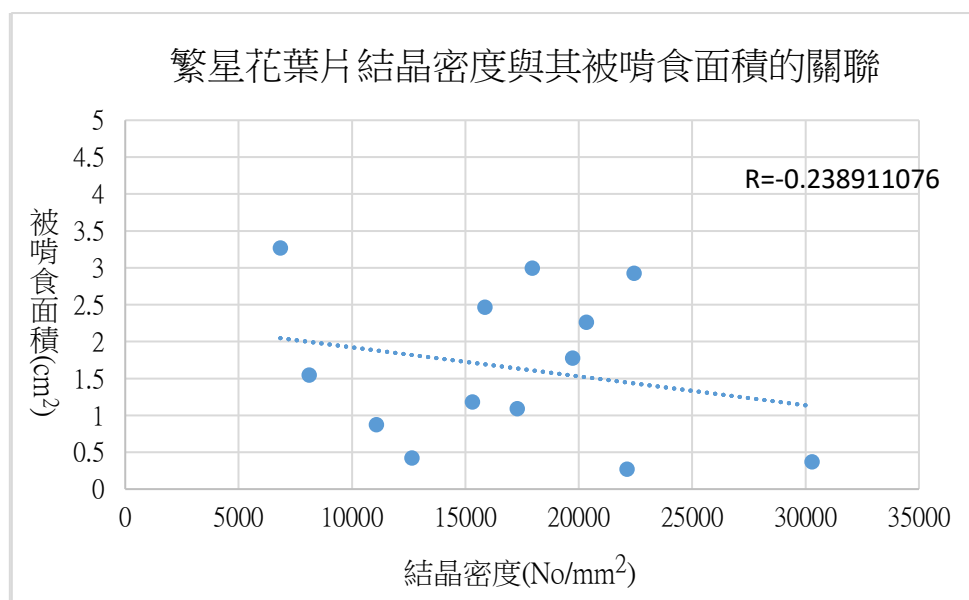


圖 6-17-1

3. 分析討論

在上圖 13 筆資料中，R 值約為 -0.23，表示繁星花葉片結晶密度與其被啃食面積成負相關，結晶密度越高的葉片受蝸牛啃食面積較低。若想得出更確切的結果，需要蒐集更多筆資料來分析。

柒、研究綜合討論

【研究一：開發草酸鈣結晶辨識模型】

1. 在研究初期，我們採用 imageJ 軟體人工辨識結晶，但人工辨識費時費力，平均一張影像要花費 15~20 分鐘計算數百根結晶，需要一直盯著電腦，也會有用眼疲勞問題，此外，實驗樣本數數據眾多，作業上有極大困難，因此我們才上網搜尋 AI 類神經網路的深度學習技術，希望透過科技協助解決此問題。
2. 原始資料集 240 張影像，每張影像的明暗、對比、對焦程度均有差異，分辨類別為 1 種(結晶)，標註資料 13526 筆，在經資料增量擴增為 1200 張，雖然看來不多，但事實上模型已看過 6 萬 7 千多個結晶的影像，因此訓練成果優異。
3. 我們推測因草酸鈣針狀結晶結構簡單易分辨，模型表現優異，至於其他型態的草酸鈣結晶，如柱狀結晶、多面體狀、菱形狀、晶簇等，能不能有同樣的辨識效果，令人期待。

4. 本實驗成功使用類神經網路偵測植物體內目標物，自定義辨識類別：草酸鈣結晶，可提供未來其他生物學研究參考，如細胞偵測、組織切片觀測，提升分析效率，促進研究進展。倘若自行訓練的樣本數不足，可以考慮透過數據增強技術達成，而本研究無此問題。
5. 雖然以模型輔助計算，但是對於樣本中的極端值，仍採用人工辨識偵錯，避免誤差。

【研究二：植物體內草酸鈣結晶的分佈】

1. 植物草酸鈣晶體的型態與分佈，可以作為分類的特徵。以針狀結晶為例，僅存在雙子葉植物中少數幾個科中，如：茜草科、鳳仙花科、葡萄科、獼猴桃科、紫茉莉科、商陸科和虎耳草科。但在單子葉植物中大多物種均存在針狀草酸鈣結晶。研究初期，我們觀察了數種植物，但茜草科中亦並非所有物種都存在結晶，例如矮仙丹、山黃梔均無發現，最後選定繁星花。
2. 由於實驗 4 植物其他部位根、莖、花，不像葉片一樣薄且厚度平均，以面積或體積難以定量，因此我們改用重量當作單位。其他實驗則以面積為單位。
3. 實驗 6 在取新、舊葉時，我們盡量以大小相近的葉片進行實驗。避免因面積造成誤差，新葉我們以盡量取靠近花的葉片，而舊葉則是取靠近土壤、已發黃的葉片。
4. 實驗 7 在取大、小葉時，我們盡量以年齡相近（生長的莖節順序相同）、大小相差最大的葉片進行實驗。
5. 除了將葉片磨碎，我們也嘗試使用透明法觀察結晶，並於葉內觀察到晶束包含在成晶細胞中，但其中結晶分布非常緊密，有時厚度或方向不一，難以計算數量。

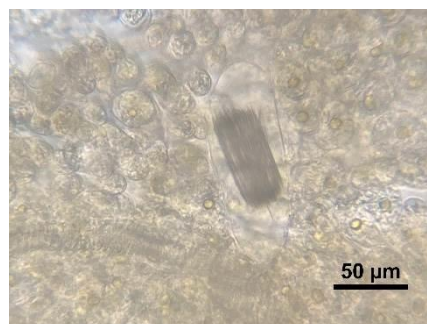


圖 7-1-1:成束的針狀結晶

【研究三：環境因素對植物結晶之影響】

1. 實驗 8 關於不同時間對草酸鈣結晶的影響，由於受測植物個體群均種植於學校，操作時間不易，僅測試早上 9 時至晚上 9 時，共 12 小時，結晶的數量增減趨勢是否與日夜週期相關，或是因為因應植物夜間的生理反應，協調離子間的平衡，而導致結晶數量變化，值得深入研究。
2. 原本想測試氣溫對繁星花中草酸鈣結晶的影響，但是因繁星花個體大，缺乏合適的恆溫植物生長箱，只好放棄此實驗，期待未來能解決此設備問題加以探討。

【研究四：草酸鈣結晶和動物啃食的關係】

1. 實驗 11 為了避免各蝸牛體型影響其攝食量，因此我們選擇了八隻重量相近的中型非洲大蝸牛，並分別放入不同的八個飼養箱。

2. 為避免餵食植物物種的先後順序影響蝸牛的取食偏好，我們讓每一隻蝸牛在同一天都吃不同的植物並相互輪替，每一隻蝸牛先接觸到的物種都不同，並且每一種都有吃過。
3. 為了避免蝸牛在前一天吃的植物對蝸牛造成的各種影響，所以我們讓每隻蝸牛吃完後，先間隔一天，不餵食，飢餓一天再放入下一種植物葉片。
4. 經蝸牛啃食後使繁星花葉片內內草酸鈣結晶密度上升，但經蛾類幼蟲及蚜蟲吸食後，卻使得結晶密度下降，我們推測這可能與啃食程度有關，也可以與不同掠食者所分泌的物質有關，難道植物的防禦策略會因對象種類而異？這需要更多實驗加以佐證。
5. 在餵食蝸牛繁星花葉片之後，我們利用顯微鏡觀察蝸牛的糞便，發現其中存在少量的草酸鈣結晶，我們推測結晶大多被消化掉了，但仍會殘存一些於糞便中。



圖 7-1-2:蝸牛糞便中存有少數結晶

捌、研究結論與應用

結論

1. 經過資料增強後可有效解決模型過擬合問題
2. 自行訓練結晶辨識模型表現優異，mAP 平均精度為 0.948。
3. 四等分切割後及銳化處理後的照片，模型辨識正確率較高。
4. 繁星花各部位結晶密度不同，結果為根>葉>莖>花。
5. 葉片不同區域(尖部、中部、基部)的結晶數量相近。
6. 新生葉的結晶數量大於舊葉；小葉的結晶密度大於大葉。
7. 結晶數量在晚間略多於白天；潮濕多於乾燥。
8. 多隻蝸牛啃食後，能在 7 天內促使植物生成較多的結晶。
9. 蛾類幼蟲啃咬對植物的草酸鈣結晶密度較無影響。
10. 蚜蟲吸食後，能在 7 天內少量促使植物生成結晶。
11. 人為模擬啃食無法誘導植物生成結晶。
12. 草酸鈣結晶的存在的確會影響到動物的攝食傾向。
13. 繁星花葉片結晶密度與其被啃食面積成負相關

未來展望

1. 本研究以類神經網路訓練辨識模型，運用深度學習技術辨識草酸鈣結晶，模型平均精度達 0.948，未來可以新增不同型態的草酸鈣結晶做為辨識類別，觀察模型性能。
2. 不同植物種類中出現特定形態的草酸鈣結晶，例如在繁星花中指觀察到針狀結晶，不同

型態的草酸鈣結晶，柱晶、稜(方)晶、晶砂、晶簇，其在植物體內的生理功能相近嗎？是否均對動物具有威懾作用。

3. 若植物的資源有限，生長需要成本，形成草酸鈣防禦也需要成本，那麼對於植物而言，被啃食之後，會如何取捨生長與防禦的投資呢？多少的啃食比例可能引起植物產生更多的草酸鈣結晶？
4. 實驗證明蝸牛偏向取食部距草酸鈣的葉片，能否萃取出草酸鈣結晶，施灑於部距草酸鈣結晶的農作物上，利用其威懾作用，取代農藥，開發為天然的驅蟲劑。
5. 目前關於植物結晶的調控機制還有待進一步研究，能否透過誘導方式使植物生成更多的草酸鈣結晶，或是體外模擬合成微小或特定形態結晶，這些草酸鈣結晶也許能跨領域發展，有利於為晶體材料的開發。

玖、參考資料

1. 陳子戡、張栩銘、陳紫涵、鍾昀希(2019)。「鹽」「蒴」討源~探討蒴菜草酸「鈣」與鹽逆境間的關聯。2019 全國科學探究競賽
http://sciexplore2019.colife.org.tw/vote_content.aspx?guid=199ff702-ae40-4e84-b349-6d06a7f18afc&type=pop&group=2
2. 劉怡君、鍾立婷、張尹柔、蔡盈瑩(2010)。葉裡的秘密-鈣離子對結晶形成的影響。國立臺灣科學教育館:中華民國第五十屆中小學科學展覽會參賽作品專輯(高中組生物生命科學科 040712)。臺北市:國立臺灣科學教育館
<https://twsf.ntsec.gov.tw/activity/race-1/50/pdf/040712.pdf>
3. 黃玲瓏(2002)。金線蓮與彩葉蘭之草酸與鈣的組織定位。(報告編號:NSC 90 -- 2311--B002 -- 078)行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。
4. 洪榆宸、張金元、李東霖(2022)。青花菜採摘系統之影像辨識模型建置-以 Solomon AccuPick 3D 為例。臺中區農業改良場研究彙報 156: 13-26
5. 黃憶汝(2001)。部份地生蘭和附生蘭葉部之鈣晶體與矽沈澱物和金線連葉部形態發生及其內針束狀晶體之分佈與發育。臺北:國立臺灣大學植物學研究所
6. 朱育聖(2020)。運用類神經網路進行植物病害影像檢測—以蘭花為例。臺中:朝陽科技大學資訊管理系
7. 朱廣龍、馬茵、韓蕾、霍張麗、魏學智(2009)。植物晶體的形態結構、生物功能及形成機制研究進展。山西:師範大學生命科學學院
8. N. Ruiz, D. Ward, D. Saltz(2002)Calcium oxalate crystals in leaves of *Pancreaticum sickenbergeri*: constitutive or induced defence? *Functional Ecology* Volume 16, Issue 1,99-105
9. Anna Kuznetsova, Tatiana Maleva & Vladimir Soloviev(2020).Detecting Apples in Orchards Using YOLOv3 and YOLOv5 in General and Close-Up Images.*Advances in Neural Networks* – ISSN 2020,233 – 243
10. Yunong Tian, Guodong Yang, Zhe Wang, Hao Wang, En Li, Zize Liang(2019).Apple detection during different growth stages in orchards using the improved YOLO-V3 model.*Computers and Electronics in Agriculture* Volume 157, 417-426

【評語】 030304

優點：

本研究以類神經網路技術於植物細胞內微小晶體之辨識與量化，過程中能結合顯微影像處理與不同類神經網路演算法，將繁星花草酸鈣結晶辨識模型予以優化並提升模型平均精準度十分值得肯定。實驗清楚解析了特殊用語，並在研究方法討論的部分提供了清晰的敘述，使後續實驗設計能運用此新興科技。值得鼓勵。

建議及檢討：

1. 實驗宜增加重複次數，並進行數據的統計分析，方能提供更客觀的證據
2. 訓練的資料來源為智慧手機架於複式顯微鏡拍攝方式建構 240 張結晶照片的訓練集，然而在 P8 的照片顯示其解析度較為不足且直接定義其為草酸鈣結晶部分，此部分資訊會影響後續的判斷。
3. 圖 6-11-1 不同土壤濕度下結晶密度的 0、7、14 天數據趨勢不一致，實驗設計也有問題，應予改善

4. 研究四來探討此草酸鈣結晶與動物啃食之關係，十分有趣。但實驗 16 中對於草酸鈣結晶是否影響動物攝食傾向就現有實驗結果尚無法明確佐證，鼓勵未來可針對此再加以深入探討。人工模擬與動物啃食的傷口大小及數量需一致。

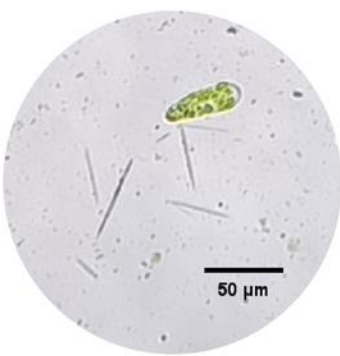
作品海報

摘要

本研究應用類神經網路識別繁星花草酸鈣結晶及其防禦功能，我們成功設計出能識別結晶的模型，準確率達0.948，我們運用此模型計算後續實驗的結晶數量。實驗發現：在繁星花中，根的結晶密度最高。愈新、愈小的葉片，結晶密度愈高，推測這可能與植物的防禦功能與生長之間的權衡有關。同一片葉片中，結晶平均分布。同一天裡，夜晚結晶密度較高。當繁星花個體處於乾早的土壤中，結晶密度會降低。以多隻蝸牛啃食以及蚜蟲吸食的方式，能夠在短期內7天內促使植物生成結晶；但以台灣黃毒蛾啃咬及人為模擬啃食的方式，對植物生成結晶較無影響。動物的攝食傾向明顯偏好無結晶的葉片，支持結晶具有防禦功能，能達到威懾作用。

研究動機

七年級生物課時，我們曾用顯微鏡觀察植物細胞，發現了針狀結晶，這讓我們非常好奇，想了解結晶在植物體內的功能。經資料搜尋後得知草酸鈣結晶，有抗逆境、防蟲啃食、偏光效果等功能，其中讓我們最感興趣的是「防蟲啃食」功能。在研究過程中因為辨識結晶工作遭遇瓶頸，於是尋求人工智慧技術的協助，先是上網搜尋教學資料，嘗試開發出辨識草酸鈣結晶的模型，期望應用類神經網路解決偵測問題。

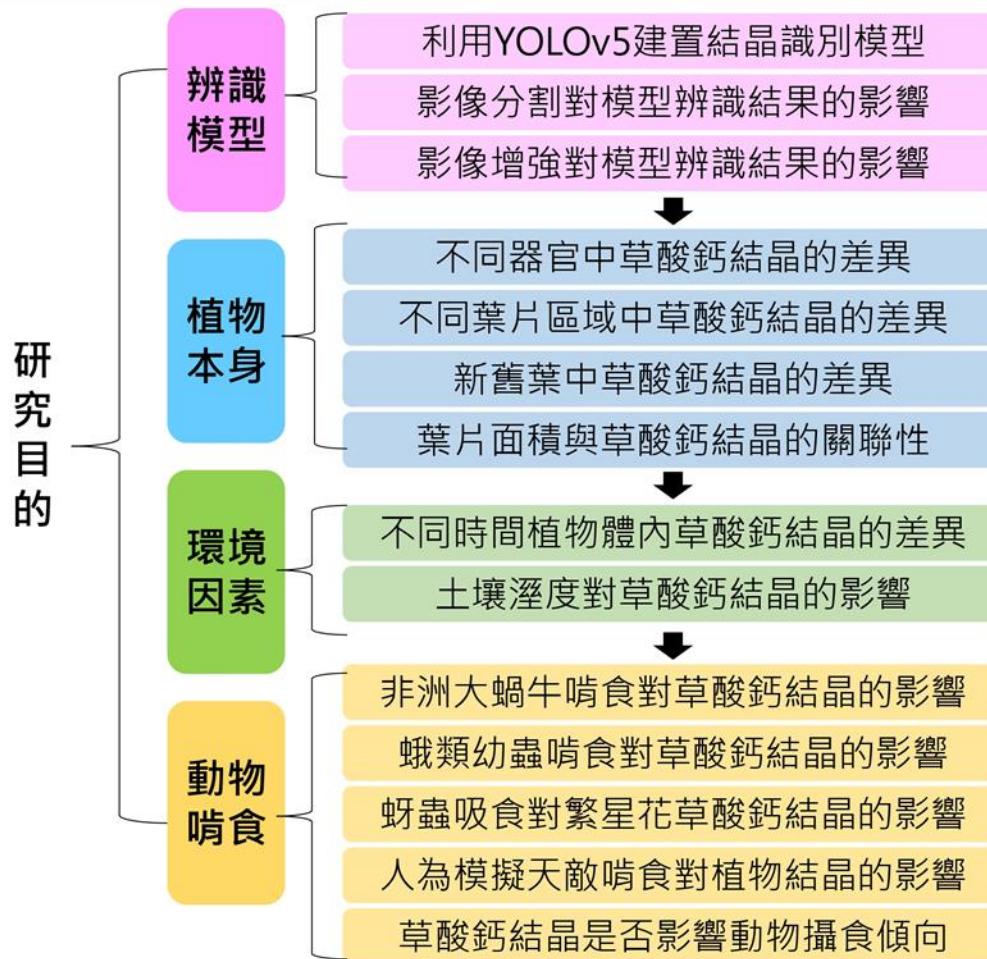


↑繁星花中的草酸鈣結晶

研究器材

複式顯微鏡、手機支架、滴管、微量滴管、吸水紙巾、方格載玻片、培養皿、燒杯、量筒、研磨鉢、單面刀片、鑷子、電子天平、飼養箱、顯微測微尺、紗網、溫濕度計、土壤溼度器、繁星花、GeForce RTX 3090 顯示卡。

研究目的



研究過程與方法

研究原理

鈣化作用

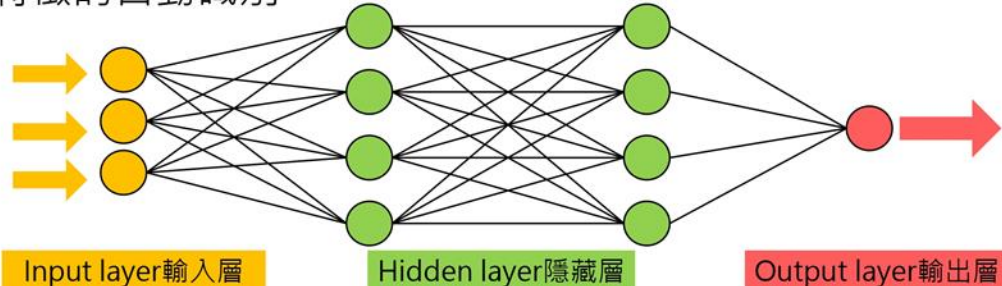
為生物體內重要生理機制之一。將鈣離子形成非溶性化合物，藉此調節細胞內外的鈣離子濃度。例如動物以碳酸鈣形成骨骼，或以草酸鈣、磷酸鈣形成結石。許多植物也會形成固定型態的鈣晶體，如草酸鈣、碳酸鈣等。

草酸鈣結晶

草酸鈣晶體是一種均質化合物。植物體常見的草酸鈣晶體形態，可分為：針晶、柱晶、棱晶、晶簇等，其形態及分佈可輔助植物分類。一般認為與鈣離子調節、植物防禦、組織支撐、解毒、聚光反射及逆境適應等有關，然而，結晶是否真正對食草動物具有威懾作用尚未得到明確證實。

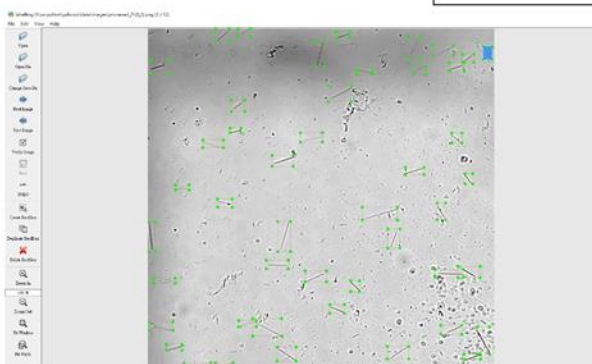
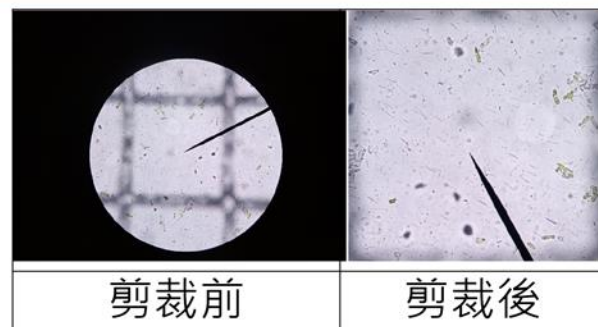
深度學習

一種機器學習技術，它建立在類神經網路的基礎上，通過多層神經網路的結構和大量數據的學習，從而實現對特徵的自動識別。

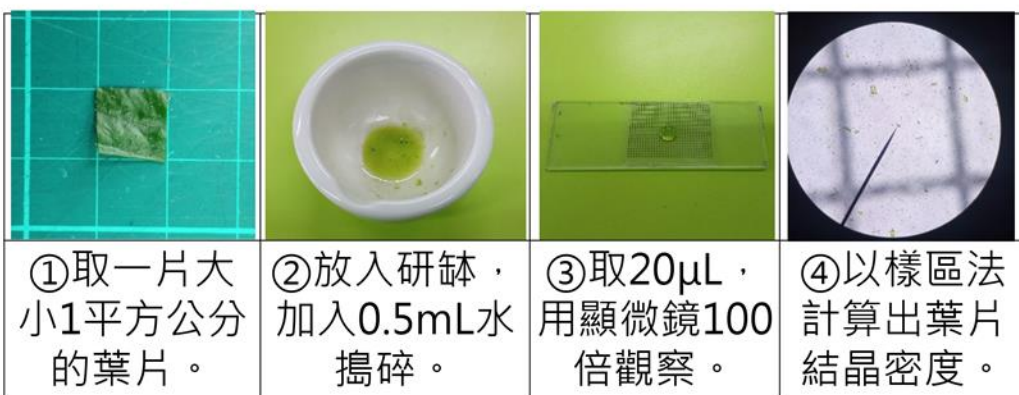


實驗步驟

搭配手機支架，固定於顯微鏡目鏡的明亮視野下拍攝，裁去樣區邊界外區域，作為影像數據集。



使用Labeling程式，手動框選標示結晶範圍，設定類別。總共標記240張影像，一含有13526個標籤。

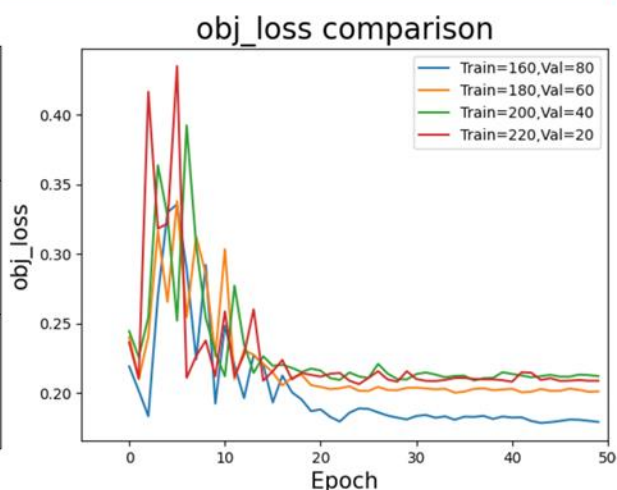


研究結果

【研究一：開發草酸鈣結晶辨識模型】

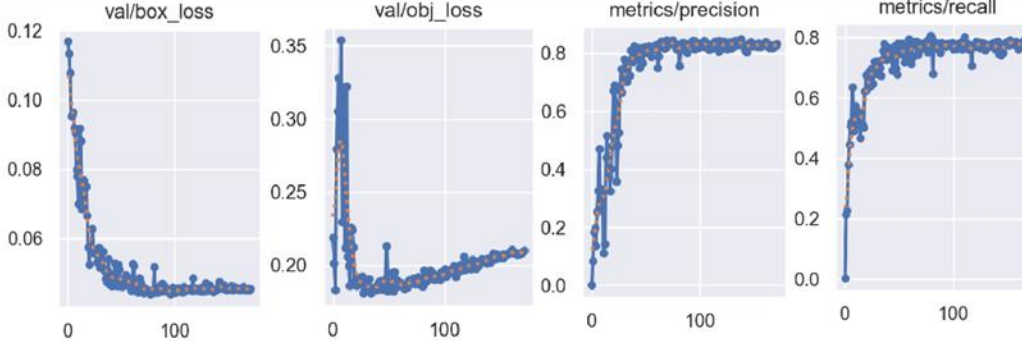
實驗1：尋找適合的訓練集與驗證集比例

	組別 1	組別 2	組別 3	組別 4
訓練集	160張	180張	200張	220張
驗證集	80張	60張	40張	20張

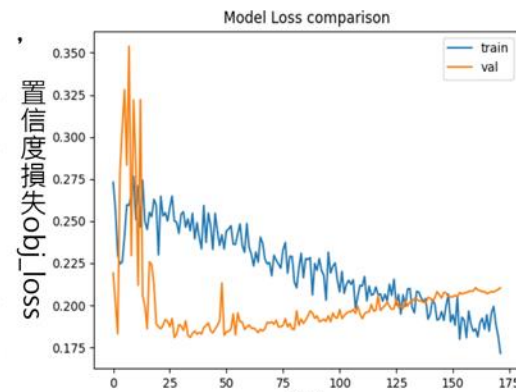


以上結果為模型隨著訓練期數增加，置信度損失obj_loss的變化，可以看到前期數值波動較大，隨著訓練後逐漸下降，並在訓練集160張：驗證集80張時，置信度損失obj_loss降至最低，優於其他三者。因此我們選擇以訓練集160張：驗證集80張的比例來劃分數據集。

實驗2：利用YOLOv5建置結晶辨識模型

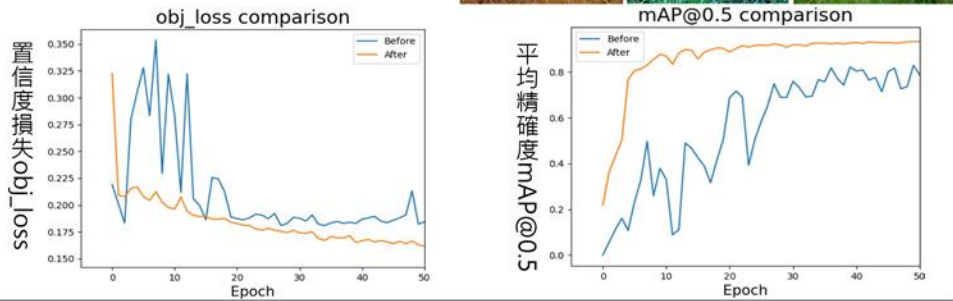


以上為隨著訓練期數增加，各項數值的變化。精確率及召回率穩步上升，精確率逐漸收斂至0.84左右，顯示訓練成效不錯。我們卻發現在驗證集的置信度損失反而上升，顯示出模型出現了過擬合的現象。

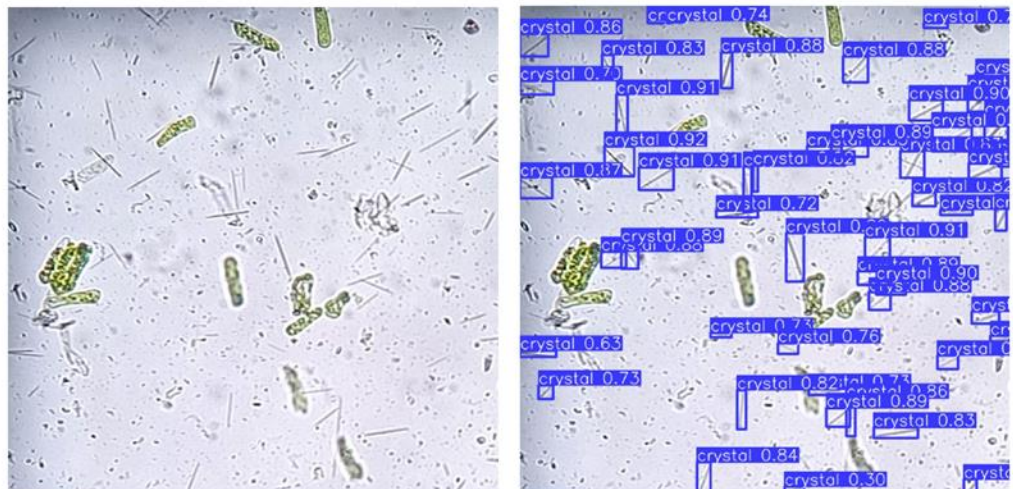


實驗3：資料增強前後比較訓練模型的差異

資料增強是一種擴增數據集多樣性的技術



	P	R	F1-score	mAP@0.5
原始數據	0.841	0.778	0.81	0.833
資料增強後	0.953	0.898	0.92	0.948



輸入影像

模型辨識結果

重新訓練後的模型可成功辨識出影像中的結晶，且信心程度大多介於0.8~0.9之間，平均精確度達到0.948，表示此模型可以取代人工計算。運算時間平均僅約0.977秒/張，大幅節省了時間，於是我們將使用資料增強後的模型進行後續的分析工作。

實驗4：影像分割對模型辨識結果的影響

圖左為原始圖片
圖右為四等分圖片



實驗4	原始尺寸	四等分切割
實際結晶數量	3493	3493
辨識正確率	71.2%	89.5%

四等分切割後辨識正確率自71.2%提升至89.5%。這可能是原始照片輸入後，尺寸過大，YOLO縮放影像再進行運算，省略細節造成辨識困難，因此後續分析皆先將影像四等分裁切處理。

實驗5：影像增強對模型辨識結果的影響



無處理

灰階處理

銳化處理

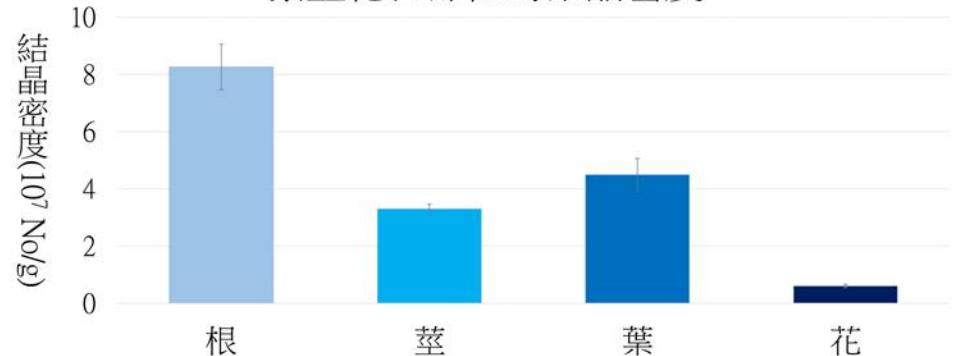
實驗5	無處理	灰階處理	銳化處理
實際結晶數量	3493	3493	3493
辨識正確率	89.5%	90%	97.9%

灰階處理後與原始影像的辨識正確率相近，表示顏色資訊對於結晶識別較不重要，而經銳化後的影像辨識正確率達97.9%。往後資料依此進行圖片前處理，再以銳化後的影像進行分析。

研究二：植物體內草酸鈣結晶的分佈

實驗6：不同器官中草酸鈣結晶的差異

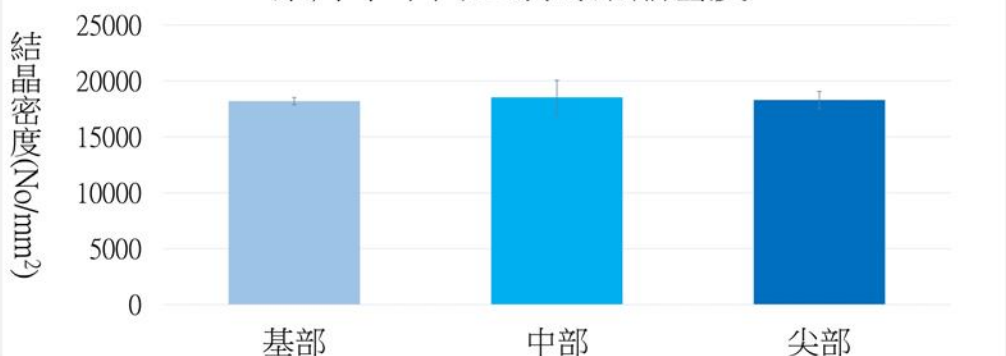
繁星花各部位的結晶密度



繁星花各部位的結晶密度以根部最高，約8×10⁷根/公克；葉次之，約4×10⁷根/公克；莖部第三，約3×10⁷根/公克；花的結晶密度最低，小於1×10⁷根/公克。

實驗7：不同葉片區域中草酸鈣結晶的差異

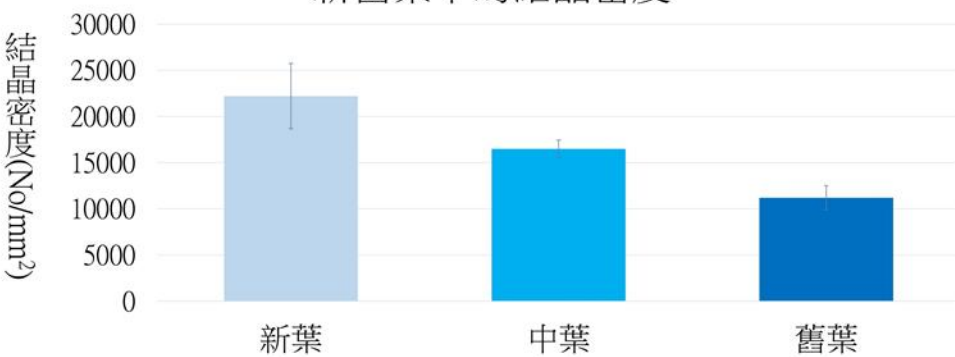
葉片中不同區域的結晶密度



葉片不同部位的結晶數量相近。印證了『「鹽」「菠」討源~探討菠菜草酸「鈣」與鹽逆境間關聯』中所得出的結論：草酸鈣結晶，於葉內的分佈大致是平均的，且大小也大致相同。

實驗8：新舊葉中草酸鈣結晶的差異

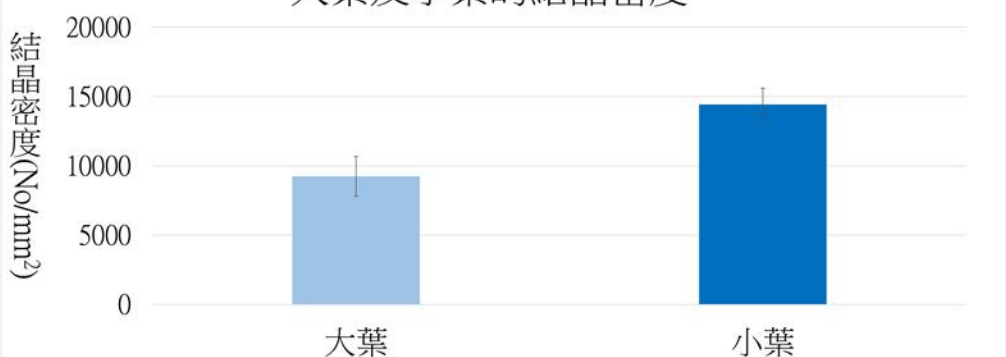
新舊葉中的結晶密度



新葉結晶密度明顯較高。推測可能與植物的防禦功能有關，因大多掠食者偏好取食嫩葉，較多針晶能達到威懾作用。此外，亦可能與新葉成長的重要生理功能及離子平衡有關。

實驗9：葉片面積與草酸鈣結晶的關聯性

大葉及小葉的結晶密度

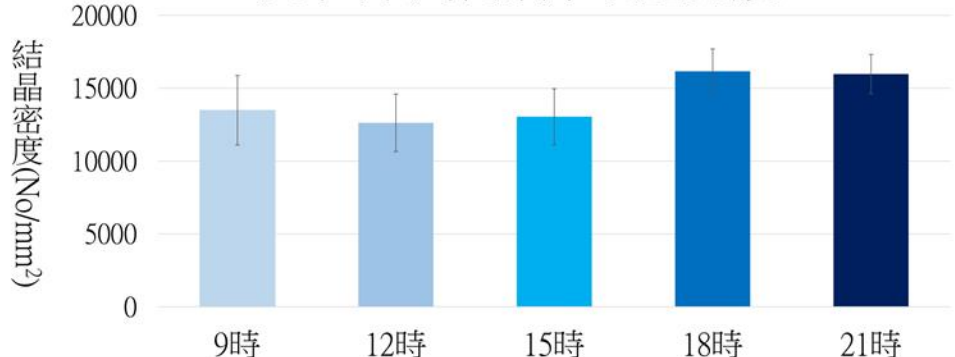


上圖中顯示，葉片面積小的結晶密度高於面積大的葉子。此與前人研究成果接近，推測是一種防禦資源分配與生長之間的權衡，對生長投資較多的葉片對晶體生產投資較少。

研究三：環境因素對植物結晶之影響

實驗10：不同時間植物體內草酸鈣結晶的差異

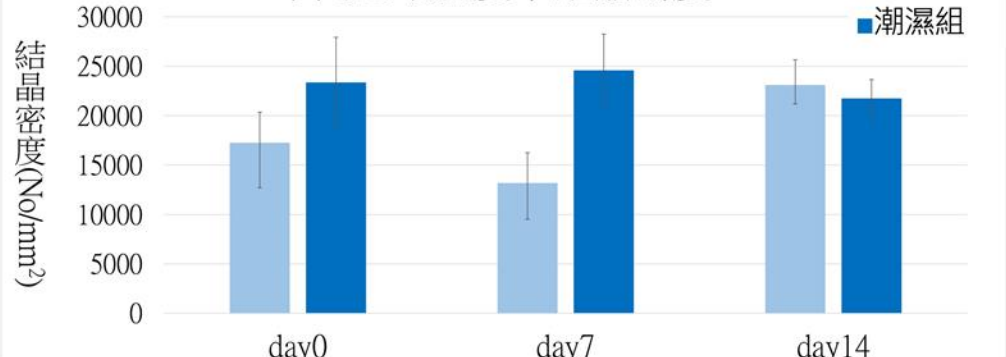
一天中不同時間葉片的結晶密度



在9時、12時及15時進行葉片取樣時，測得結晶密度差異不大，整體而言，晚上兩組的結晶密度平均高於白天的結晶密度，顯示一天之內植物結晶數量有變化，白天少，晚上多。

實驗11：土壤溼度對草酸鈣結晶的影響

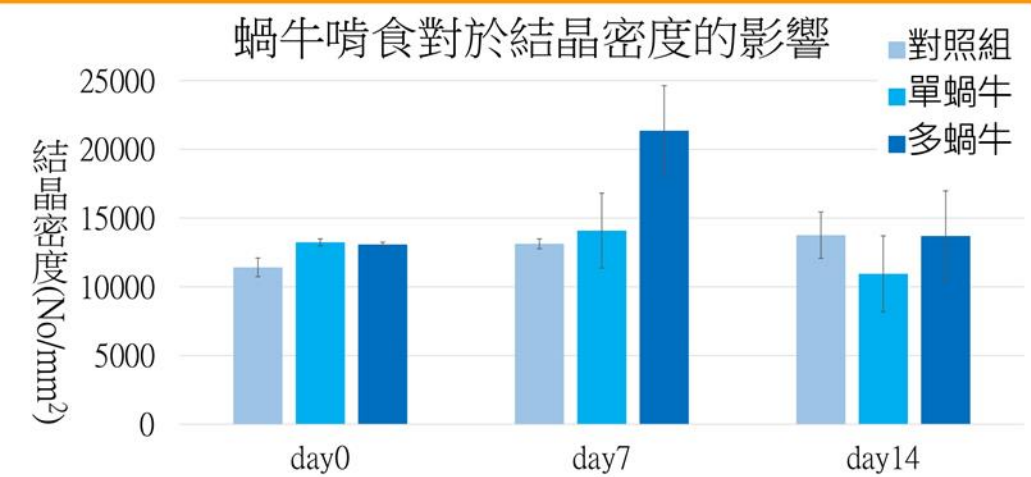
不同土壤濕度下結晶密度



為確保乾組溼度低，一周前停止澆水，使土壤漸乾，觀察到第0、7天乾組結晶密度明顯較低，顯示溼度低下，草酸鈣結晶密度較低。第14天乾組數值回升，推測是植物快枯死，陸續補水所致。

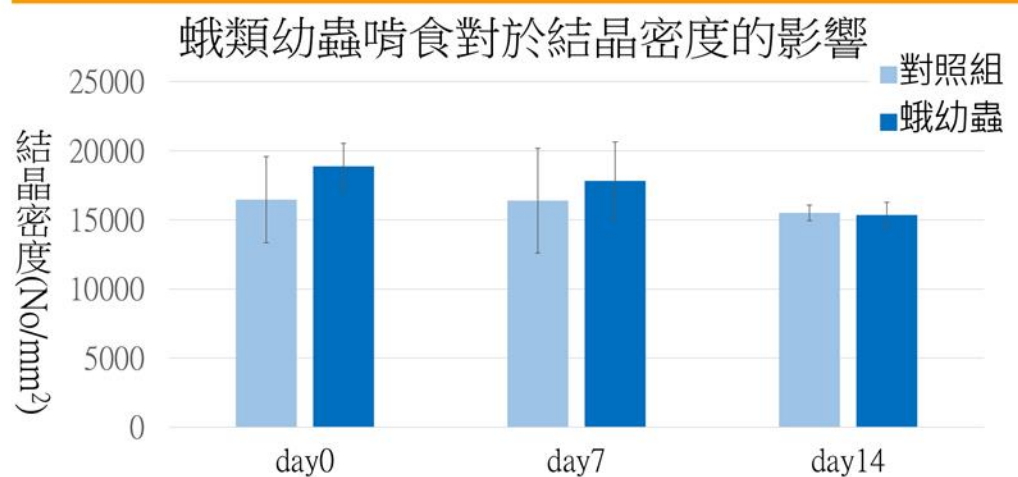
研究四：草酸鈣結晶和動物啃食的關係

實驗12：非洲大蝸牛啃食對草酸鈣結晶的影響



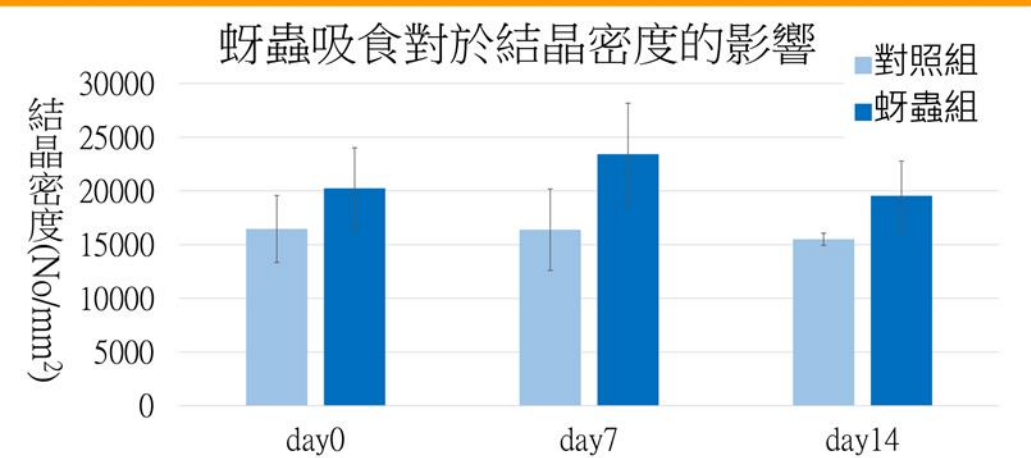
推測以多隻蝸牛啃食的方式，能夠在短期天內促使植物生成大量的結晶，並在14天降至正常水平，單隻蝸牛組可能因啃食程度低並無造成類似反應。

實驗13：蛾類幼蟲啃食對草酸鈣結晶的影響



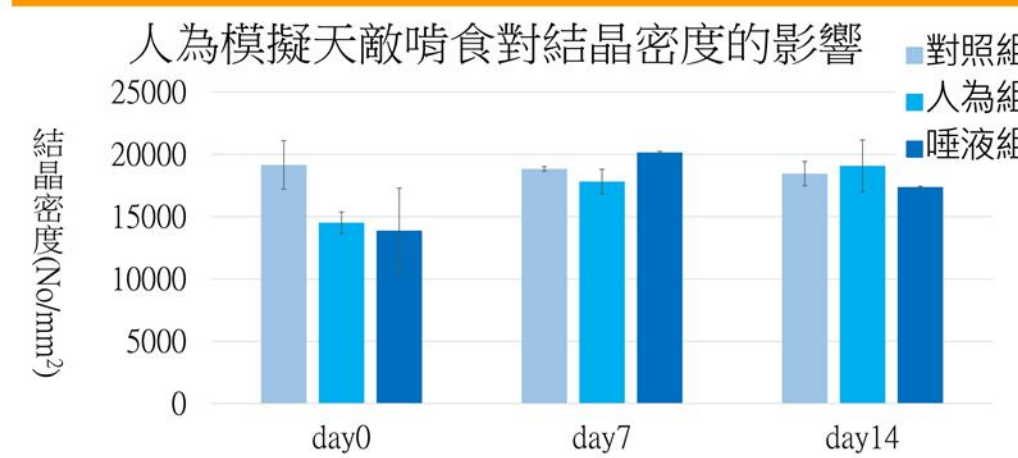
對照組與受蛾類幼蟲啃咬組的結晶密度相近，顯示蛾類幼蟲啃食對草酸鈣結晶的生成較無影響，推測可能是啃食程度較小所致。

實驗14：蚜蟲吸食對繁星花草酸鈣結晶的影響



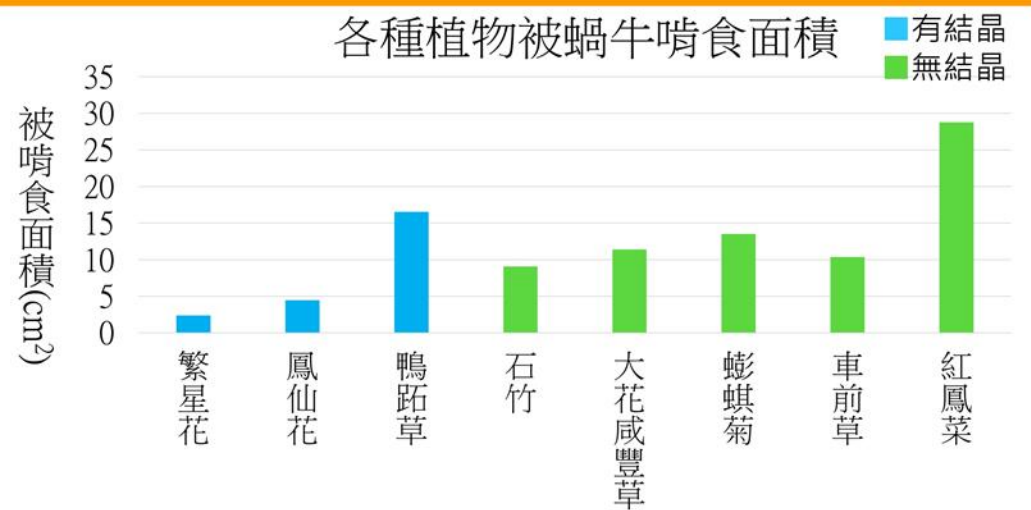
實驗7天後，蚜蟲組結晶密度有上升的趨勢，成長幅度不如蝸牛明顯，與蛾類幼蟲造成結果不同，推測因兩種昆蟲口器不同，攝食方式不同，造成的損傷亦不同。

實驗15：人為模擬天敵啃食對植物結晶的影響



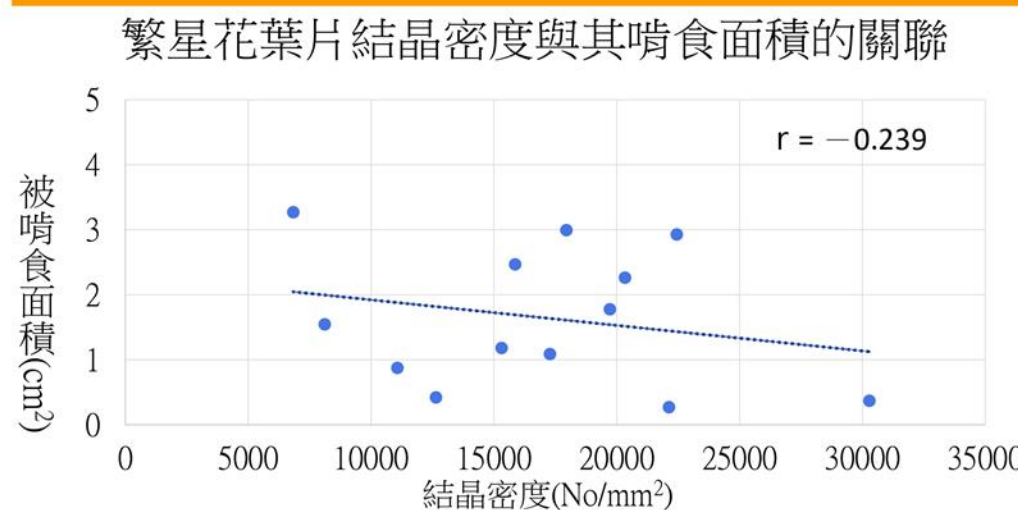
人為模擬破壞組與唾液組結晶密度差距也都不大，經統計分析後，發現無太大關聯，表示使用打洞的方式模擬啃食無法誘導植物生成結晶。

實驗16：草酸鈣結晶是否影響動物攝食傾向



比較質地接近數種植物，其中結晶密度較高的繁星花和鳳仙花，被啃食的面積都不到5cm²，遠低於其他植種，鴨跖草雖有結晶，但結晶密度極低，單一樣區內僅個位數，由此可見動物攝食傾向結晶少的植種。

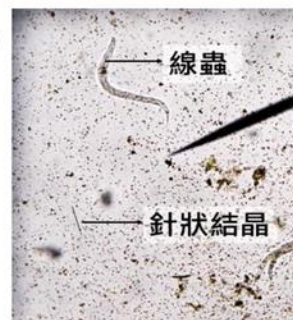
實驗17：結晶密度與動物攝食傾向的關係



在上圖資料中，相關係數 r 值約為 -0.23 ，表示繁星花葉片結晶密度與其被啃食面積成負相關，結晶密度越高的葉片受蝸牛啃食面積較低。若想得出更確切的結果，需要蒐集更多筆資料來分析。

討論

- 我們推測因草酸鈣針狀結晶結構簡單容易分辨，模型表現優異，至於其他型態的草酸鈣結晶，如柱狀結晶、多面體狀、菱形狀、晶簇狀等，能不能有同樣的辨識效果，令人期待。
- 實驗8由於受測植物個體群均種植於學校，每組2~3株個體，操作不易，僅測試早上9時至晚上9時，共12小時，結晶的數量增減趨勢是否與日夜週期相關，或是因應植物夜間的生理反應，協調離子間的平衡，而導致結晶數量變化，值得深入研究。
- 在餵食蝸牛繁星花葉片之後，我們利用顯微鏡觀察蝸牛的糞便，發現其中存在少量的草酸鈣結晶，我們推測結晶大多被消化掉了，但仍會殘存一些於糞便中。



▲ 蝸牛糞便中存有少數結晶

結論

- 經過資料增強後可有效解決模型過擬合問題
- 自行訓練結晶辨識模型表現優異，mAP平均精度為0.948。
- 四等分切割後及銳化處理後的照片，模型辨識正確率較高。
- 繁星花各部位結晶密度不同，結果為根>葉>莖>花。
- 葉片不同區域(尖部、中部、基部)的結晶數量相近。
- 新生葉的結晶數量大於舊葉；小葉的結晶密度大於大葉。
- 結晶數量在晚間略多於白天；潮濕多於乾燥。
- 多隻蝸牛啃食後，能在7天內促使植物生成較多的結晶。
- 蛾類幼蟲啃咬對植物的草酸鈣結晶密度較無影響。
- 蚜蟲吸食後，能在7天內少量促使植物生成結晶。
- 人為模擬啃食無法誘導植物生成結晶。
- 草酸鈣結晶的存在的確會影響到動物的攝食傾向。
- 繁星花葉片結晶密度與其被啃食面積成負相關。

【未來展望】

- 新增不同型態的草酸鈣結晶做為辨識類別，觀察模型性能。
- 不同植物種類中出現特定形態的草酸鈣結晶，其生理功能相近嗎？是否均對動物具有威懾作用？
- 被啃食之後，植物如何取捨生長與防禦的投資呢？多少啃食比例可能引起植物產生更多的草酸鈣結晶？
- 萃取出草酸鈣結晶，施灑於農作物上，取代農藥，開發為天然的驅蟲劑。
- 誘導生成或體外合成結晶，跨領域發展，有利於為晶體材料開發。

參考資料

- Anna Kuznetsova(2020).Detecting Apples in Orchards Using YOLOv3 and YOLOv5 in General and Close-Up Images. Advances in Neural Networks -ISNN 2020,233–243
- Yunong Tian (2019).Apple detection during different growth stages in orchards using the improved YOLO-V3 model. Computers and Electronics in Agriculture Volume 157, 417-426
- 陳子戩等(2019)。「鹽」「菱」討論~探討菠菜草酸「鈣」與鹽逆境間的關聯。全國科學探究競賽。
- 劉怡君等(2010)。葉裡的秘密-鈣離子對結晶形成的影響。中華民國第五十屆中小學科學展覽會參賽作品專輯(高中組生物生命科學科)
- 黃玲瓏(2002)。金線蓮與彩葉蘭之草酸與鈣的組織定位。行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告。
- 朱育聖(2020)。運用類神經網路進行植物病害影像檢測—以蘭花為例。朝陽科技大學資訊管理系
- 朱廣龍等(2009)。植物晶體的形態結構、生物功能及形成機制研究進展。山西師範大學生命科學學院

