

프로젝트 최종실적보고서

(뒷면)

(앞면)

과
제
번
호

213002-0
4-3-SBY
10

초
고
속

표
현
형

검
정
시
스
템

서
비
스

농
림
축
산
식
품
부

발간등록번호

11-1543000-001639-01

초고속 표현형 검정시스템 서비스 (High throughput phenotyping system service)

충남대학교

농림축산식품부

주 의

제 출 문

농림축산식품부장관 귀하

이 보고서를 “초고속 표현형 검정시스템 서비스” 프로젝트(세부프로젝트 “초고속 표현형 검정시스템 서비스”)의 보고서로 제출합니다.

2017 년 03 월 31 일

프로젝트 연구기관명 : 충남대학교
산학협력단

프로젝트 책임자 : 조 병 관

세부프로젝트 연구기관명 : 충남대학교
산학협력단

세부프로젝트 책임자 : 조 병 관

보고서 요약서

과제고유번호	213002-04-3 -SBY10	해 당 단 계 연 구 기 간	42개월	단 계 구 분	1/1
연구사업명	단 위 사 업 명	농식품기술개발(R&D)			
	세부 사업명	Golden Seed 프로젝트			
연구과제명	프로젝트명	초고속 표현형 검정시스템 서비스			
	세부 프로젝트명 (주관 연구기관 /연구책임자)	초고속 표현형 검정시스템 서비스(충남대학교/조병관)			
연구책임자	조병관	해당단계 참 여 연구원 수 49명	총: 49 명 내부: 49 명 외부: 0 명	해당단계 연 구 개 발 비	정부: 426,000천원 정부외: 300,000천원 계: 726,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수 49명	총: 49 명 내부: 49 명 외부: 0 명	총 연구개발비	정부: 426,000천원 정부외: 300,000천원 계: 726,000천원
연구기관명 및 소속부서명	충남대학교			참여기업명	-
위탁연구	-				-
요약				보고서 면수	
<ul style="list-style-type: none"> ● 초고속 육종을 위한 표현형 검정시스템의 핵심 다차원 영상기술(입체영상, NIR영상, 적외선영상, 형광영상)을 개발하고 작물별(고추, 배추, 무, 수박, 파프리카) 생리적 반응의 비파괴 측정인자 발굴 및 측정방법을 개발함 				총 175면	

요 약 문

I. 제 목

프로젝트명	초고속 표현형 검정시스템 서비스		
세부프로젝트명	초고속 표현형 검정시스템 서비스		
프로젝트 책임자	(성 명) 조병관	(과학기술인 등록번호)	
	(소속기관명)	(E-mail)	(전화번호)
	(지역)	(세부전공)	(학위)

II. 연구성과 목표 대비 실적

성과목표	특허		논문		기술이전	인력양성	분석 서비스(점)	
	출원	등록	SCI	비 SCI				
최종목표	1	1	2	2	0	4	0	
전체연도	목표	1	1	2	2	0	4	0
	실적	1	1	6	5	0	4	349
달성율(%)	100	100	300	250	0	100	34900	

III. 연구개발의 목적 및 내용

- 수량성 등 기본적인 농업형질이 우수하면서 환경스트레스 내성을 갖는 품종 개발을 효과적으로 추진하기 위해서는 자연환경과 유사한 조건에서 작물의 whole plant수준의 반응(phenome)을 효율적이고 효과적으로 검정할 수 있어야 함. 이러한 표현형 검정기술은 작물 품종 분자유종의 효율을 혁신적으로 향상시킬 수 있음. 따라서 본 연구에서는 변화하는 기후환경과 다양한 스트레스 환경에 적응할 수 있는 품종의 개발을 위해 우량 유전자원 및 계통의 선발에 활용할 수 있는 작물의 생리생화학적 반응, 스트레스환경 적응성 및 내성 진단, 농업적 주요 형질을 손쉽게 평가할 수 있는 고속대량 표현형 다차원 분석 기술 및 HTS (High Throughput Screening) 시스템을 개발하여 개량 목표형질의 선발을 최적화할 수 있는 기반기술 개발을 목표로 함.
- 초고속 육종을 위한 표현형 검정시스템의 핵심 다차원 영상기술(입체영상, NIR영상, 적외선 영상, 형광영상)을 개발하고 작물별(고추, 배추, 무, 수박, 파프리카) 생리적 반응의 비파괴 측정인자 발굴 및 측정방법을 개발함
- 4차년도에는 사업단 구조개편으로 고추품목에 집중하며 고추의 수분스트레스 표현형 지

표를 본 연구에서 개발한 실시간 다차원 HTS (High Throughput Screening) 시스템을 활용하여 측정하고 시스템의 활용도를 검증함

IV. 연구개발성과

- 정량적 성과

- 본 연구에서는 초분광 영상 기술을 활용하여 채소작물의 환경스트레스에 대한 표현형 인자들을 비파괴적으로 검출할 수 있는 기술을 개발하였음. 대량고속 표현형 검정을 위해 HTS (High Throughput Screening) 시스템 프로토타입을 개발하였음. 성과목표로 특허, 논문, 인력양성 등 총 10건을 목표로 하여, 특허 등록 1건, SCI 논문 6편, 비SCI논문 5편, 인력양성 4명, 분석서비스 349점으로 당초 목표를 상회하는 성과를 달성함

- 정성적 성과

가. 초분광 영상장치 구축

- 초분광 Vis/NIR, SWIR, 형광 측정 시스템을 개발하고, 현장활용을 위해 각각의 시스템의 영상 노이즈 제거와 보정을 위한 측정 방법을 개발함
- 식물의 경우 다양한 외부 조건에 따라 영상에 노이즈가 첨가되는 경우가 많으므로, 열차된 광조건, 형광의 암조건 등이 필요함을 구명하였음

나. 품목별 표현형 비파괴 측정 지표 발굴

- 고추 : 한발스트레스의 경우 558 nm(형광)과 1449 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 683 nm/731 nm(형광)에서 정상 고추작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
- 배추 : 한발스트레스의 경우 558 nm, 708 nm/ 746 nm(형광)과 1456 nm, 1397 nm/ 1456 nm(SWIR)에서, 온도(고온)스트레스 경우 555 nm, 713 nm/746 nm(형광), 1449 nm, 1382 nm/1426 nm(SWIR)에서 정상 배추작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
- 파프리카 : 한발스트레스의 경우 683 nm(형광), 731 nm/688 nm(형광)에서, 온도(고온)스트레스 경우 683 nm, 712 nm/688 nm(형광), 1441 nm, 1545 nm/1449 nm(SWIR)에서 정상 파프리카 작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
- 수박 : 한발스트레스의 경우 755 nm/664 nm(형광), 1732 nm/1620 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 560 nm, 707 nm/670 nm(형광), 1447 nm(SWIR), 1732 nm/1583 nm(SWIR)에서 정상 수박작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
- 무 : 한발스트레스의 경우 750 nm/717 nm(형광), 1583 nm/1426 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 703 nm/684 nm(형광), 1441 nm, 1560 nm/1426 nm(SWIR)에서 정상 무작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
- 컬러 : 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 감소하는 경향성을 보임
- 엽면적 : 최소 24시간 이후 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 감소하는 경향성을 보임
- 무게중심 : 최소 24시간 이후 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 증가하는 경향성을 보임 (값이 증가할수록 무게중심이 아래로 내려감)

- 3차원 영상 구축 : 1개의 카메라를 이용하여 10 ° 간격으로 회전 촬영한 영상을 이용하여 3차원 영상을 구축하였음

다. 표현형 검정을 위한 최적 광 환경 구명

- 광원별 (플라즈마-PL, 고압나트륨-HPS, 형광등-FL) 청양과 피망의 형태형성과 관련된 생육지표는 엽폭과 엽장의 경우 5주후 FL, HPS, PL 순으로 증가하는 경향성을 보였음
- 광원별 (플라즈마, 고압나트륨, 형광등) 피망 품종의 화아분화는 피망의 경우 처리 후 3주차부터 유의적으로 화아분화수가 증가함을 보임

라. 자동 이송 영상측정 장치 개발

- Small-scale HTS 표현형 검정시스템 프로토타입을 구축하기 위하여 작물별 표현형 지표 4가지(3차원 영상, NIR 영상, 열영상, 형광 영상)를 자동 측정하기 위한 챔버를 구성하고, 자동으로 영상 측정 및 이송이 가능하도록 구축함

V. 연구성과의 활용 계획

- 발굴된 비파괴 표현형 지표는 대상 작물의 한발, 온도스트레스에 대한 표현형 정량화 측정 인자로 활용될 수 있음
- 개발된 비파괴 HTS시스템은 작물 분자유종의 목표형질 평가 및 선발의 시간과 노력절감 및 형질의 체계적인 평가로 신규 품종개발에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구과제로 개발된 채소류 표현형 다차원 분석 방법은 다른 작물을 위한 표현형 다차원 분석 방법 개발에도 적극 활용될 수 있을 것으로 기대됨
- 수량성 증가, 환경스트레스 내성 등 목표형질 평가 및 선발을 위한 고속대량 표현형 검정시스템의 활용으로 채소종자 신규 품종개발의 소요시간 및 비용이 획기적으로 단축될 수 있을 것으로 기대됨

SUMMARY

I . Purpose & Contents

- Food security has been considerable from last several centuries and recently it has become a serious matter of concern because of rapid growth in world population as well as fluctuation in global climate throughout the crop production. For this purpose, many research groups have been studied to develop food crops that can survive during climate change.
- However, it requires lots of time and effort to obtain expected result because plants growth is highly influenced by a large number of environmental factors which are not easy to maintain at a same time. Therefore, a fast, accurate, and reliable Phenotyping technique is needed to analyze the effect of environmental factors on the crop breeding.
- Development of core technologies (e.g., RGB, NIR, Infrared and fluorescence imaging) based on Phenotype measurement system for high-speed breeding, and non-destructive measurement for physiological responses by vegetables such as; pepper, cabbage, radish, watermelon and paprika plants.
- Establishment of small-scale, real-time/high throughput Phenotype screening measurement system, and core technology for non-destructive automatic measurement by using water stress phenotypic index obtained from non-destructive spectroscopic measurement technique.

II . Results

- Quantitative results: 1 patent, 6 SCI articles 6 SCI journal papers and 5 non-SCI journal papers, educational direct 4 times, employment 2 people, Analysis serviced 349 points.
 - Qualitative results
- (a) Development of hyperspectral imaging system device
- Developed Hyperspectral Vis / NIR, SWIR, and fluorescence measurement system.
 - In order to measure ultra-structural images of plants, we observed that heat-blocked light conditions, dark conditions for fluorescence, etc. were necessary.
- (b) Detection of nondestructive measurement index for Phenotype measurement
- Rad Pepper : Drought stress was significantly different from normal at 558 nm (fluorescence) and 1449 nm (SWIR), and temperature stress at 683 nm / 731 nm (fluorescence)
 - Chinese cabbage : Drought stress was significantly different from normal at 558 nm, 708 nm/ 746 nm(fluorescence) and 1456 nm, 1397 nm/ 1456 nm (SWIR), and temperature stress was 555 nm, 713 nm/746 nm (fluorescence) and 1449 nm,1382 nm/1426 nm (SWIR)
 - Paprika : Drought stress was significantly different from normal at 683 nm(fluorescence) and 1449 nm,1382 nm/1426 nm(SWIR), and temperature stress was 683 nm, 712 nm/688 nm (fluorescence) and 1441 nm, 1545 nm/1449 nm(SWIR)

- Watermelon : Drought stress was significantly different from normal at 755 nm/664 nm((fluorescence) and 11732 nm/1620 nm(SWIR), and temperature stress was 560 nm, 707 nm/670 nm(fluorescence) and 1447 nm, 1732 nm/1583 nm(SWIR)
- Radish : Drought stress was significantly different from normal at 750 nm/717 nm(fluorescence) and 1583 nm/1426 nm(SWIR), and temperature stress was 703 nm/684 nm(fluorescence) and 1441 nm, 1560 nm/1426 nm(SWIR)
- Color : The value decreases when exposed to drought and high temperature stress conditions.
- Leaf area : After a minimum of 24 hours, there is a tendency to decrease in exposure to drought and high temperature stress conditions.
- Center of mass : After a minimum of 24 hours, there is a tendency to increase in exposure to drought and high temperature stress conditions.
- 3D image construction : One camera could be used to rotate images at 10-degree intervals to acquire images and construct three-dimensional images.

(c). Optimal light environment survey for phenotype measurement

- The leaf width and leaf length of 'Cheongyang' and bell pepper were increased in order of FL, HPS and PL after 5 weeks (Plasma-PL, High Pressure Sodium-HP, Fluorescent-FL)
- The number of flower buds was significantly increased in the bell pepper cultivars from the 3rd week after treatment

(d). Development of high throughput screening (HTS) image measuring device

- Four types of phenotypic indicator chambers(3D reconstruction, NIR imaging, thermal imaging, fluorescence imaging)were constructed and manufactured to enable automatic image measurement and transfer.

III. Expected Contribution

- It is possible to quantify through non-destructive phenotypic indicators that have been uncovered and to be used in other crops.
- The developed non-destructive HTS system is expected to contribute to the development of new varieties by evaluating target traits of crop molecular breeding, reducing the time and effort of selection, and systematically evaluating various traits.
- It is expected to be used for the development of phenotype for other crops, which can contribute to the efficiency of molecular breeding of other crops
- Reduce the time and cost of developing new varieties of vegetable seeds

CONTENTS

Chapter 1. Overview of Research and Development	10
Section 1. Objectives and Necessity of R&D	10
Section 2. Research achievement	11
Chapter 2. R&D status in domestic and abroad	14
Section 1. Domestic R&D	14
Section 2. Abroad R&D	14
Section 3. Research Status & Required Fields	16
Chapter 3. Results and Discussion	18
Section 1. Final objective and detailed objectives of R&D	18
Section 2. R&D methods and results	23
Chapter 4. Achievement and Contribution	170
Section 1. Achievement of goals	170
Section 2. Contribution to related parts	170
Chapter 5. Achievement potential of R&D	172
Chapter 6. International Science and Technology Information	173
Chapter 7. References	174

목 차

제 1장 연구개발과제의 개요 및 성과목표.....	10
제 1절 연구개발의 목적 및 필요성.....	10
제 2절 연구 성과 목표 대비 실적.....	11
제 2장 국내외 기술개발 현황.....	14
제 1절 국내 연구 현황.....	14
제 2절 국외 연구 현황.....	14
제 3절 국내외 연구현황 비교 및 필요 연구 분야.....	16
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과.....	18
제 1절 연구개발의 최종 목표 및 주요내용.....	18
제 2절 연구개발 수행 내용 및 결과.....	23
제 4장 목표달성도 및 관련분야 기여도.....	170
제 1절 목표달성도.....	170
제 2절 관련분야 기여도.....	170
제 5장 연구개발 성과활용가능성.....	172
제 6장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보.....	173
제 7장 참고문헌.....	174

제 1장 연구개발과제의 개요 및 성과목표

제 1절 연구개발의 목적 및 필요성

- 국내 종자시장은 약 5,810억원으로 추정되며 그 중에서 채소류가 25.8%로 가장 높은 비중을 차지하고 있음. 채소종자 중에서는 고추(약 443억원, 18.9%), 무(약 397억원, 16.2%), 양파(약234억원, 10.0%), 배추(약 196억원, 8.4%), 토마토(약 161억원, 6.9%), 수박(약 113억원, 4.8%) 순으로 매출을 기록하고 있음(한국종자협회, 2011). 채소종자 사업에서 고추, 배추, 무, 수박 4개 품목은 이미 국내 육종기술이 세계 수준에 올라와 있어 앞으로 수출국 현지에 적합한 고품질 종자 개발이 병행된다면 수출 전략 품목으로 육성될 가능성이 큼
- 세계적으로 고품질, 고기능성 농산물에 대한 수요가 증가하고 있고, 지구 온난화 등으로 인한 이상기후 현상 및 병충해 발생 등이 증가하고 있어 전통적으로 중시되어 왔던 생산성 높은 단일 품종의 종자 개발 및 생산만으로는 더 이상 경쟁력을 보장받지 못하게 되었음. 전 세계 종자시장을 장악하고 있는 글로벌 종자회사는 이러한 세계적인 흐름을 파악하고 초고속 육종을 위한 첨단 유전자 발현 및 표현형 검정시스템 등 신품종 개발을 위한 대규모 인프라 구축에 적극적인 투자를 하고 있음. 다국적 기업들은 거대한 자금력과 유통망을 내세워 군소 종자기업들을 인수합병하며 더욱 특화되고 대형화되고 있으므로 경쟁력 있는 국내 종자기업의 육성을 위해서는 국내 기업에서 초기 투자하기 어려운 육종관련 인프라 구축 및 연구개발 지원이 매우 중요함
- 신품종 개발의 “최종목표 달성여부”의 평가는 표현형 검정임. Plant phenomics는 유전적 돌연변이나 환경적 요소에 영향을 받는 식물의 생리생화화학적 특성인 phenome을 검정하는 것으로 유전체연구에 이은 기능유전체 및 대사체 연구의 방법으로 사용되기도 하는 새로운 연구방법론으로 주요 농업형질에 대한 유전적 기초를 규명하고 다양한 유전적 변이를 갖는 유전자원들의 선발에 필수적으로 사용됨

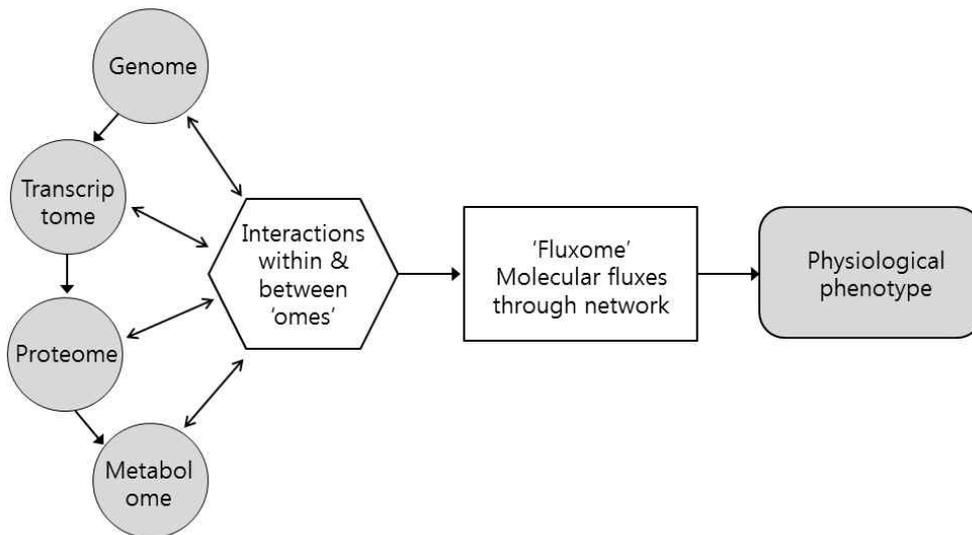


그림 1. 작물의 생리적 표현형질과 유전적 형질과의 관계 모식도

- 채소종자의 신품종의 개발을 위한 육종 고도화를 위해서는 성분측정을 통한 기능성 품종 검정(채소사업단 타 공동기반에서 수행)과 환경적응성 검정 과정이 필요함. 특히 세계 여러 지역으로의 국내 개발 종자를 수출하기 위해서는 수출대상국의 다양한 환경자극(환경 스트레스 등)에 적응이 가능한 종자의 개발 및 검정이 필수적임. 환경스트레스에 대한 내성 품종의 개발을 위해서는 교배, 돌연변이, 형질전환 등으로 개발된 계통들을 환경스트레스 환경에서 평가 선발해야하나 이러한 환경스트레스 조건을 자연환경에서 인위적으로 부여하여 평가 선발하기에는 비용과 시간이 많이 소요되며, 유전자수준에서 관련 유전자 등의 발현정도로만 선발하기는 어려운 실정임
- 수량성 등 기본적인 농업형질은 우수하면서 환경스트레스 내성을 갖는 품종 개발을 효과적으로 추진하기 위해서는 자연환경과 유사한 조건에서 작물의 whole plant수준의 반응(phenome)을 효율적이고 효과적으로 대량평가할 수 있는 기술개발이 필요하며, 이러한 기술은 작물 품종 분자유종의 효율을 혁신적으로 향상시킬 수 있음
- 따라서 변화하는 기후환경과 다양한 스트레스 환경에 적응하는 품종의 개발을 위한 우량 유전자원 및 계통의 선발을 위해서 작물의 생리생화학적 반응, 스트레스환경 적응성 및 내성 진단, 농업적 주요 형질을 손쉽게 평가할 수 있는 고속대량 표현형 다차원 분석 기술인 HTS (High Throughput Screening) 시스템을 구축하여 개량 목표형질의 선발을 최적화하는 것이 필요함

제 2절 연구 성과 목표 대비 실적

1. 연구개발의 목표 및 연구개발 실적

가. 정성적 목표

구분 (연도)	세부프로젝트명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
1차년도 (2013)	초고속 표현형 검정시스템 서비스	환경스트레스 표현형 비파괴 측정 지표 발굴 및 초분광 영상측정 시스템 구축	100	○ 초분광 영상측정시스템 구축 (최적측정법 4개 이상 개발)
				○ 한발/온도스트레스에 대한 채소품종별(고추, 배추) 생 리적 반응 지표 발굴 - 품목별(2개) 표현형 비파괴 생리적 측정지표 5개 이상 총 10개 이상 발굴
2차년도 (2014)	초고속 표현형 검정시스템 서비스	환경스트레스 표현형 검정을 위한 초분광 NIR 및 형광 영상측정 분석기술 개발	100	○ 한발/온도스트레스에 대한 채소품목별 표현형 비파괴 생리적 측정지표 발굴(무,

				<p>수박, 파프리카)</p> <p>- 품목별(3개) 표현형 비파괴 생리적 측정지표 5개 이상 총 15개 이상 발굴</p> <p>○ 환경스트레스 초분광 영상 측정기술 개발 (최적측정법 6개 이상 개발)</p>
3차년도 (2015)	초고속 표현형 검정시스템 서비스	환경스트레스 표현형 비파괴 측정 지표 발굴 및 입체 영상측정 시스템 구축	100	<p>○ 한발/온도스트레스에 대한 채소품종별(고추, 배추) 형태적 반응 지표 발굴 (크기, 색깔 등)</p> <p>○ 품목별(2개) 표현형 비파괴 형태적 측정지표 3개 이상 총 6개 이상 발굴</p> <p>○ 입체 영상시스템 구축 및 표현형 측정을 위한 최적화</p>
4차년도 (2016)	초고속 표현형 검정시스템 서비스	고추의 비파괴 표현형검정을 위한 최적 환경과 지표 영상 신속 측정 기술 개발 및 Small-scale HTS 프로토타입 개발	100	<p>○ 고추의 비파괴 표현형 지표 영상 신속측정 기술 개발 (3D영상, 형광영상, 열영상, NIR 영상)</p> <p>○ 고추의 생육 및 품질 표현 검정을 위한 최적 광환경 구명</p> <p>○ 3D영상, 형광영상, 열영상, NIR 영상의 연속 측정을 위한 자동 이송, 개폐장치 구축</p>

나. 정량적 목표

성과목표	특허		논문		인력양성	분석 서비스(점)	
	출원	등록	SCI	비 SCI			
최종목표	1	1	2	2	4	0	
전체연도	목표	1	1	2	2	4	0
	실적	1	1	6	5	4	349
달성율(%)	100	100	300	250	100	34900	

제 2장 국내외 기술개발 현황

제 1절 국내 연구 현황

- 비파괴적으로 작물의 생육을 진단하기 위한 몇몇 방법이 시도되었는데, 가장 보편적으로는 SPAD를 이용하여 작물 잎의 엽록소함량을 측정하여 작물의 생육을 진단하고 이를 이용한 질소비료 시비량 추천에 활용하는 연구가 다수 수행되었음
- 디지털 카메라 칼라영상 분석에 의한 유수분화기 벼 군락의 건물 중 및 질소흡수량 추정 모델, 유수분화기 질소흡수량과 질소 시비량에 따른 유수분화기 이후 질소 흡수량 추정 모델, 유수분화기 질소 흡수량과 유수분화기 이후 질소 흡수량에 따른 수량 및 쌀 단백질함량 추정 모델을 구축하였으며 이를 종합하여 목표 수량 또는 단백질 함량에 이를 수 있도록 질소 시비량을 추천하는 원시 프로그램을 개발하였음(Chi et al., 2010; 이 등, 2011)
- 식물의 제초제 반응을 효과적으로 진단 평가하고 특히 제초제 저항성을 효율적으로 단기간에 진단할 수 있는 growth pouch법이 개발되었으며 (Zhang et al., 2011), 엽록체의 광합성 전자전달계에서 발생하는 엽록소형광(chlorophyll fluorescence)반응을 측정하여 환경스트레스 또는 제초제 반응을 평가하기 위한 연구가 일부 연구팀에서 진행되고 있음. 표현형과 관련된 연구는 주로 식량작물 위주의 기초적인 연구만 진행되었음
- HTS 시스템에 활용될 수 있는 비파괴 측정기술인 디지털 칼라영상, 근적외선 영상, 적외선 열영상, 형광영상 등은 농산물 수확 후 비파괴 선별에 부분적으로 활용이 되고 있으나 Plant Phenomics 분야에의 활용은 전무한 실정임

제 2절 국외 연구 현황

- 디지털 칼라 카메라가 범용화 되면서 이를 작물의 영양 및 생육상태 진단과 시비처리에 활용하려는 시도가 이루어지고 있음. 디지털 영상의 RGB 값을 추출하여 이로부터 식물체 개엽(Kawashima & Nakatani, 1998)과 작물 군락(Jia et al., 2004; Liangliang et al., 2004)의 영양 및 생육상태 진단에 관한 연구가 보고되고 있으나 RGB영상의 경우 근적외선(NIR)에 대한 광반사값을 직접 얻을 수 없어 생육량에 대한 정보를 얻기 어렵고 촬영시의 기상조건에 따라 RGB값이 달라지는 등의 문제점이 있었음
- 전통적인 육종 방법을 통해 작물의 수광성을 개량하기 위한 최적의 초형을 선발할 수 있는데 이러한 전통적인 방법을 쉽게 이용하도록 광 추적 모델을 이용하는 방안이 제시되었으며(Long et al., 2004), 작물의 육종에 활용할 수 있는 작물의 3차원 구조를 모의하는 기능 구조적 작물 모델(Functional-Structural Crop model)이 개발되어왔음(Cieslak et al., 2010; Dornbusch et al., 2010; Han et al., 2010; Postma & Lynch, 2010; Wang et al., 2010; Ma et al., 2010)
- 분자마커를 이용한 MAS (Marker Assisted Selection)은 작물분자유종에 가장 보편적으로 활용되는 기술로 광범위하게 사용되고 있으나 Plant phenomics기반 HTS 방법의 개발은 선진국에서도 아직은 초기단계이나 활발한 투자가 진행 중에 있음. 따라서 Plant

phenomics기반 HTS 방법들이 개발 운용되면 작물의 분자유종 기간을 단축시킬 수 있을 것으로 기대됨. 특히 HTS에 활용되는 비파괴적인 측정방법들은 작물의 수량성과 비생물적 스트레스 내성 작물유전자원 및 계통선발에 있어 분자마커를 이용하는 MAS (Marker Assisted Selection)와 병행할 경우 보다 효과적으로 작물 분자유종을 지원할 수 있으나 선진국에서도 이러한 시도가 아직은 초보단계임. 그러나 다국적 기업에서 HTS에 대한 투자를 활발히 진행하고 있어 앞으로 이 분야의 혁신적인 발전과 주도권 장악을 위한 치열한 경쟁이 있을 것으로 예상됨

- 스트레스로 인한 식물의 반응 중 가장 빠르게 나타나는 기공전도도의 변화를 측정하는 방법으로 Infrared thermography를 이용하여, 환경조절조건(Qiu et al., 2009; Sirault et al., 2009)과 포장조건(Jones et al., 2009)에서 생육초기 측정을 통해 수량과 같은 생육후기 반응을 예측할 수 있음이 보고됨. 또한 Infrared thermography 기술이 한밭(Chaerle et al., 2009) 및 염(Tullio et al., 2010) 스트레스 내성 작물의 HTS의 가능성이 있음을 보고한 연구가 있었음
- 다양한 분광분석적인 방법을 통해 비파괴적으로 작물의 광합성과 초관형성 및 생육에 대한 HTS 가능성이 제안되었으며, 스트레스환경에서 엽록소의 형광반응을 엽분광분석기(Kiirats et al., 2009)를 이용하여 측정하므로 광합성 효율과 활성 및 생화학적 반응과정을 밝히려는 연구가 진행되었음(Ac et al., 2009; Busch et al., 2009; Siebke & Ball, 2009)
- 엽록소 형광반응은 작물의 스트레스에 대한 반응을 측정하는데 적합한 지표로서 2-D 이미지분석과 결합하여 식물의 스트레스 내성 선발에 사용되었으며(Jansen et al., 2009), 3-D 이미지분석(Hosoi & Omasa, 2009)을 통해 식물에 대한 제초제 효과 분석에(Konishi et al., 2009)이용되었음. 또한 엽록소형광 이미지분석을 통해 광호흡 돌연변이체 선발에도 이용된 사례가 있음(Badger et al., 2009)
- 스트레스 내성 선발을 위한 HTS의 파괴적 방법으로서, Abscisic acid (ABA) 및 Jasmonate (JA) 등과 같은 특정 호르몬 양을 측정하는 방법이 시도되었음(Forcat et al., 2008). 또한 한밭 및 고온 스트레스로 인한 주요 호르몬(Auxin, Gibberellin 등)의 변화를 측정하기 위한 파괴적 방법이 연구되었으며 HTS 활용의 가능성을 제시한 사례가 있음(Müller and Munné-Bosch, 2011)
- 다양한 광도 조건에서 분광분석법에 의한 작물의 3-D 이미지 분석을 통하여 작물의 생리적인 반응의 연구는 물론 스트레스내성 작물의 선발에 활용할 수 있는 상용화 시스템을 독일회사인 LemnaTec에서 개발하고 있음(<http://www.lemnatec.com>). 그러나 고가 하드웨어 기술개발 속도에 비해 작물 생리적 반응과 분광분석과의 연관성에 관한 연구는 아직 기초 연구단계에 머물고 있음. 개발된 장비의 수출을 적극적으로 추진하고 있지만 기술에 비해 장비의 가격이 매우 고가임

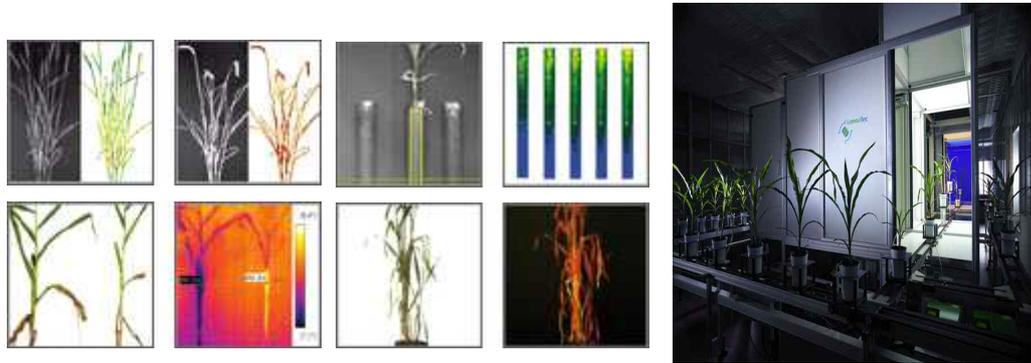


그림 2. LemnaTec의 식물형질 분석용 3D scanner

- 호주에서는 Phenomics 기반연구를 위해 Australian Plant Phenomics Facility를 5,000만불의 투자로 구축하였으며 International Plant Phenomics Initiative 를 통해 국제적인 네트워크를 구축하고 있음
- 미국 Monsanto사에서는 GeneFunction factory (TM)라는 최첨단 Phenomics platform을 구축하여 생산성 증가 및 재해저항성 품종 개발에 활용하고 있음
- 유럽의 경우 Phenomics 기반연구가 활발한데 벨기에의 BASF plant science 연구소에서는 자체적으로 phenomics center를 구축하여 옥수수, 벼 등 곡물류의 생산량을 증가시키는 농업형질에 대한 연구를 진행하고 있음. 영국의 Aberystwyth대학, 프랑스의 INRA, 독일의 Julich Plant Phenotyping Center (JPPC), 이태리 Bologna 대학, 네덜란드의 Wageningen 대학 등에서 Plant phenomics 연구시설 구축 및 분자유종에의 활용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있음

제 3절 국내외 연구현황 비교 및 필요 연구 분야

- Phenomics는 작물유전체 및 분자생물학적 지식과 작물육종을 연결할 수 있는 학문으로 이를 기반으로 한 HTS의 분자유종학적 활용에 관한 국내의 연구는 전무한 실정인데 국외의 경우 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 최근 작물의 분자유종연구에 적극적으로 활용되고 있으므로 국내에서도 이에 대한 연구 및 국내 작물분자유종연구에 적극 활용하는 것이 필요함
- Phenomics기반으로 한 HTS 시스템 개발에 있어서는 독일회사인 LemnaTech이 주도하고 있으며 이들의 HTS 시스템이 선진 주요각국에 설치 운영되고 있으나 국내는 자체 또는 도입된 HTS 시스템이 구축되어있지 않음
- 호주, 벨기에, 네덜란드, 독일, 프랑스, 영국, 미국 등에서는 Phenomics센터를 설립하여 Phenomics를 기반으로 한 HTS 시스템의 구축하여 분자유종에의 활용을 적극 추진하고 있으나 국내는 이에 대한 연구나 시스템 구축이 전무한 실정임
- Phenomics시스템 구축을 위해서는 막대한 예산이 소요되며, 현재 개발 운용되고 있는 시스템은 국내의 주요작물에 직접 적용하여 사용하기에는 어려우므로 선진국의 시스템을

그대로 도입구축하기보다는 한국의 상황에 맞는 HTS 시스템(하드웨어 & 소프트웨어)의 자체개발이 필요함

- 선진국의 Phenomics기반 HTS 시스템의 운용에 있어서는 가시광선 영상을 기반으로 작물의 생육을 진단 예측하는 수준으로 NIR영상, 형광영상 등을 통한 작물의 스트레스반응에 대한 진단 예측은 아직 기초단계임. 한국이 작물의 환경 스트레스반응에 대한 영상분석 및 진단의 핵심 기술을 확보할 경우 관련기술을 바탕으로 한 시스템의 국산화와 국내 분자육종에 활용함을 통해 종자개발의 경쟁력 확보는 물론 관련분야에 대한 연구 및 산업의 주도권을 확보할 수 있음
- 선진국에서도 현재 기초연구 단계를 거쳐 실용화에 집중 투자하고 있는 HTS 시스템의 핵심기술인 비파괴 표현형 측정기술 구축을 위해서 입체영상, 근적외선 영상, 적외선 열영상, 형광영상을 실시간으로 획득하고 통합 분석할 수 있는 국내 기반기술 개발이 필요함. 현재 국내(본 연구팀 포함)에서 요소기술로 활용되고 있는 영상기술 들을 Plant Phenomics를 기반으로 한 HTS 시스템으로 통합 구축하여 작물의 영상정보를 획득하고 작물의 생리생태적 그리고 생화학적 반응지표와의 연관성을 정량화하므로 작물 표현형을 조기 대량신속 검정할 수 있는 핵심 기반기술 확립이 필요함. 또한 개발된 HTS 시스템을 활용하여 국내 종자개발을 위한 표현형 검정서비스를 제공함으로써 종자산업의 경쟁력을 획기적으로 제고할 필요가 있음

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1절 연구개발의 최종 목표 및 주요내용

1. 연구개발의 최종 목표

- 본 연구에서는 초고속 육종을 위한 표현형 검정시스템의 핵심 영상측정기술(입체영상, NIR영상, 적외선영상, 형광영상)을 개발하고 작물별(고추, 배추, 무, 수박, 파프리카) 생리적 반응의 비파괴 측정인자 발굴 및 측정기술을 개발하고자 함. 또한 small-scale HTS 표현형 검정시스템을 구축하여 작물별 표현형 지표를 실시간 비파괴 자동 계측할 수 있는 핵심 기반기술을 확립함

2. 연구 개발의 주요 내용

가. 환경 스트레스 지표 발굴을 위한 비파괴 측정용 초분광 영상 측정시스템 구축

- 초분광 영상획득을 위한 line-scan 초분광 Vis-NIR/SWIR 시스템 구축
- 대상물의 물리·화학적 분석을 최적으로 수행할 수 있는 파장영역 분석을 위해 **그림 3, 그림 4**와 같이 초분광 가시광 및 근적외선 영역 (400-1000 nm)과 단파적외선 영역 (1000-2500 nm)을 동시에 활용할 수 있도록 시스템을 구성함

- 시스템 구성 : Spectrograph, CCD 및 MCT 카메라, 할로젠 램프, 형광램프
- 주요사양 : 검출과장 400~1000 nm (EMCCD) 및 1000~2500 nm (MCT), Spectral Resolution 5~20 nm, 고속 영상프레임 (170 line/sec 이상)획득

- 파장별 영상 조합을 통한 최적 스트레스 지표 발굴을 위한 초분광 영상 시스템 구축
- 가시광, 근적외선 및 형광영역과 단파적외선 영역의 판별정확도 분석 후 최적 파장영역 선정

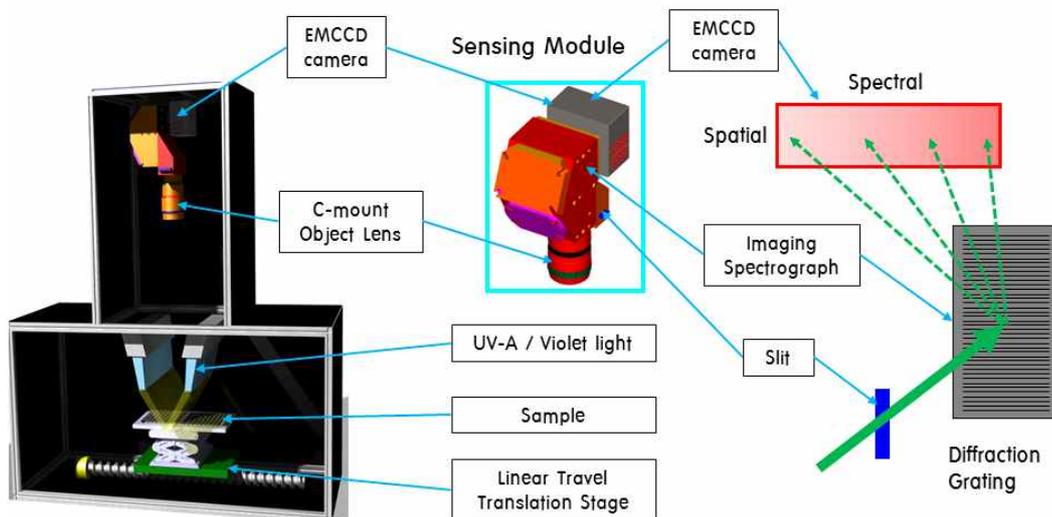


그림 3. 초분광 형광, Vis/NIR 영상 시스템 개략도

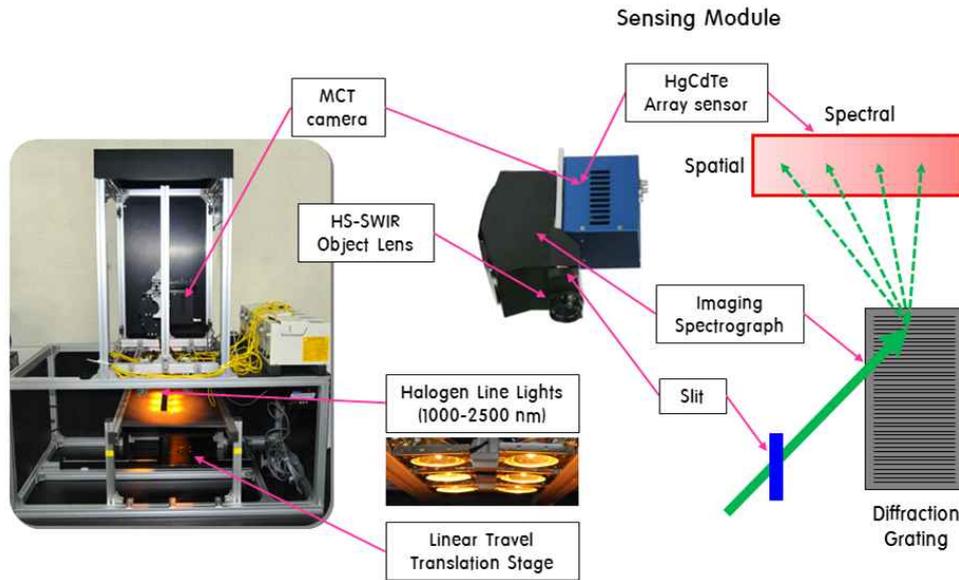


그림 4. 초분광 NIR 영상 시스템 개략도

나. 품목별 표현형 비파괴 측정지표 발굴

- 초분광 영상 측정을 통하여 수분 및 온도스트레스와 상관성이 있는 파장 영역을 선정하였음

(1) 생리적 표현형 측정 지표 발굴(결과 요약)

(가) 고추

- 한발스트레스 : 558 nm(형광), 1449 nm(SWIR)
- 온도스트레스(저온) : 679 nm(형광), 683 nm/731 nm(형광)

(나) 배추

- 한발스트레스 : 555 nm(형광), 708 nm/746 nm(형광), 1456 nm(SWIR), 1397 nm/1456 nm(SWIR)
- 온도스트레스(고온) : 555 nm(형광), 713 nm/746 nm(형광), 1449 nm(SWIR), 1382 nm/1426 nm(SWIR)

(다) 파프리카

- 한발스트레스 : 683 nm(형광), 731 nm/688 nm(형광)
- 온도스트레스(저온) : 683 nm(형광), 712 nm/688 nm(형광), 1441 nm(SWIR), 1545 nm/1449 nm(SWIR)

(라) 수박

- 한발스트레스 : 755 nm/664 nm(형광), 1732 nm/1620 nm(SWIR)
- 온도스트레스(저온) : 560 nm(형광), 707 nm/670 nm(형광), 1447 nm(SWIR), 1732 nm/1583 nm(SWIR)

(마) 무

- 한발스트레스 : 750 nm/717 nm(형광), 1583 nm/1426 nm(SWIR)
- 온도스트레스(저온) : 703 nm/684 nm(형광), 1441 nm(SWIR), 1560 nm/1426 nm(SWIR)

(2) 형태적 표현형 측정 지표 및 3차원 영상 시스템 구축

(가) 색깔

- 한발스트레스
 - 고추 : 전체적인 RGB 값이 감소하는 경향성이 나타남
 - 배추 : 경향성이 없었음
- 고온스트레스
 - 고추: RGB 값의 경향성이 나타나지 않음
 - 배추 : 전체적인 RGB 값이 감소하는 경향성이 나타남

(나) 엽면적

- 한발스트레스
 - 고추 : 24시간 이후 면적값이 감소하는 경향성이 나타남
 - 배추 : 48시간 이후 면적값이 감소하는 경향성이 나타남
- 고온스트레스
 - 고추: 노출 이후 지속적으로 면적값이 감소하는 경향성이 나타남
 - 배추 : 48시간 이후 면적값이 감소하는 경향성이 나타남

(다) 무게중심

- 한발스트레스
 - 고추 : 24시간 이후 무게중심 값이 증가하는 경향성이 나타남
 - 배추 : 48시간 이후 급격히 무게중심 값이 증가하는 경향성이 나타남
- 고온스트레스
 - 고추: 24시간 이후 무게중심 값이 증가하는 경향성이 나타남
 - 배추 : 48시간 이후 급격히 무게중심 값이 증가하는 경향성이 나타남

(라) 식물 입체 영상 획득 시스템 개발

- 측정방법 : 1개의 카메라를 이용하여 촬영하고, 모터를 통하여 대상체 식물을 10 ° 간격으로 식물을 회전시켜 영상 획득
- 입체 영상 획득 및 영상처리 : 3차원 모델로 만들어주는 Photoscan Professional(Agisoft CO., Russia) 프로그램을 이용하여 식물의 입체 영상을 그림 5와 같이 획득 하였다. 획득 된 영상을 처리하기 위해 Matlab 코드를 이용하여 분석 소프트웨어를 제작함

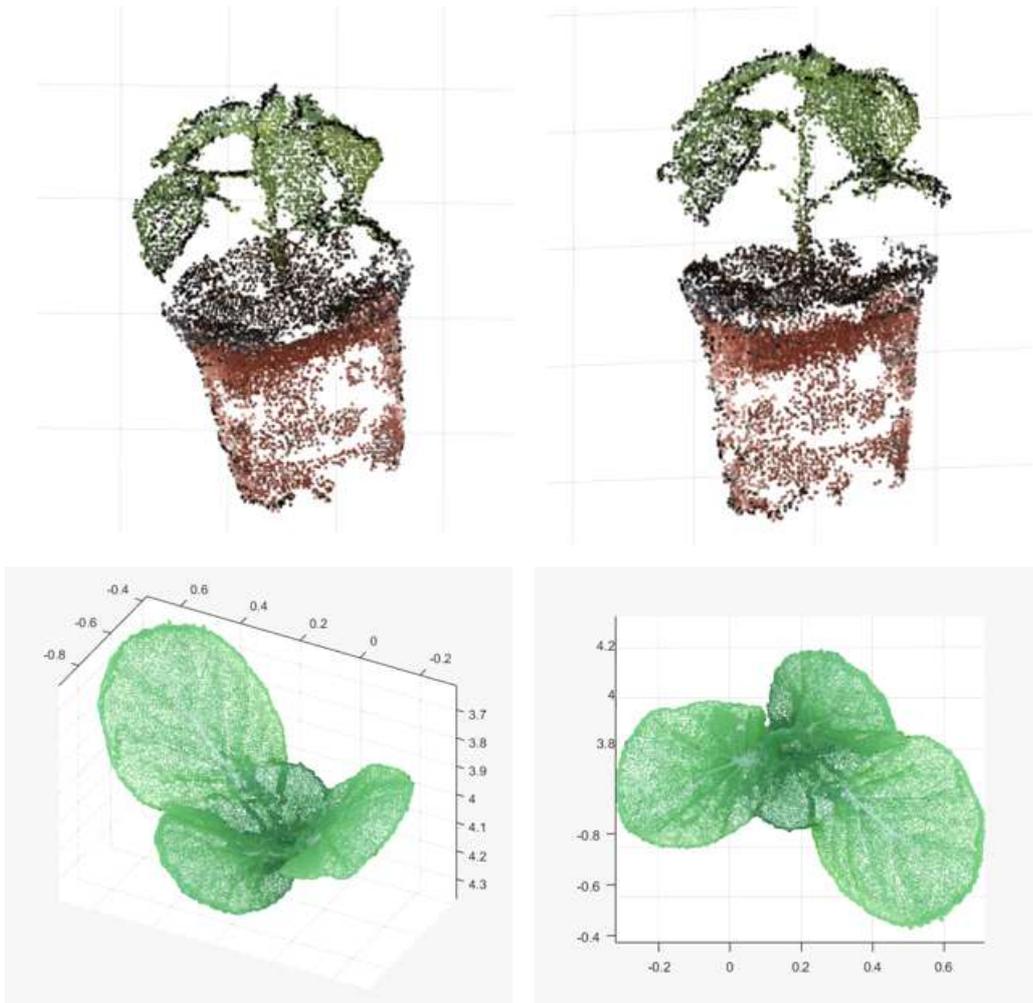


그림 5. MATLAB 프로그램을 이용하여 획득한 고추 및 배추의 입체 영상

다. 표현형 검정을 위한 최적 환경 구명(4차년 추가 연구)

(1) 광원별 파장 특성에 따른 청양과 피망 품종의 형태형성과 화아분화의 변화

- 광원별 (플라즈마-PL, 고압나트륨-HPS, 형광등-FL) 청양과 피망의 형태형성과 관련된 생육지표는 이식 후 5주후에 엽장과 엽폭의 경우 FL, HPS, PL 순으로 증가하는 경향을 보였으며, 초장의 경우 유의적인 차이를 모두 보이지 않았으며 엽수의 경우 FL처리에서 HPS와 PL처리구 보다 증가하는 경향을 나타내었음
- 광원별 (플라즈마, 고압나트륨, 형광등) 청양과 피망 품종의 화아분화는 청양의 경우 유의적 차이가 발생하지 않았으나, 피망의 경우 처리 후 3주차부터 유의적으로 화아분화수가 증가하였으며, 이러한 이유는 플라즈마 램프가 갖는 광질의 차이에서 오는 것인데, 타 광원과 비교하여 FR비율이 증가된 결과라고 판단됨

- (2) R:FR의 비율에 따른 ‘구워먹네’와 ‘녹광꽃고추’ 품종의 생육과 화아분화의 변화
- R:FR의 비율이 30W로 처리된 Treatment 1처리구에서 두 품종 모두에서 생육중 엽면적에 대한 유의적인 증가가 관찰되었으며, 나머지 생육인자에 대해서는 큰 차이를 보이지 않았음. 이러한 초기 엽면적 증가에 기여한 것은 초기 수광면적을 증가시켜 향후 생육발달에 큰 기여를 할 수 있을 것으로 사료됨
 - R:FR의 비율이 낮은 Treatment 1과 2의 처리에 대해서 두 품종 모두에서 처리 후 5주차에 화아분화의 유의적 차이는 보이지 않았으며, 이러한 이유로 처리시간이 짧은 경우와 추가된 FR광에 의해서 Pr형태의 피토크롬은 두 품종에 대해 화아분화를 증가시키는데 관여하지 않을 수 있음

라. 고추의 비파괴 표현형 지표 측정용 small-scale HTS 프로토 타입 개발

- 환경스트레스에 노출된 식물의 형태학적, 생화학적 표현형 지표를 적용하여 실시간으로 지표 영상을 측정할 수 있는 장치를 개발함
- 고추의 수분스트레스(가뭄) 측정 지표를 기준으로 실시간 비파괴 영상 측정할 수 있는 장비를 구축함
- 최종 목표인 small-scale 표현형 검정시스템 프로토타입을 구축하기 위하여 작물별 표현형 지표 4가지(3차원 영상, NIR 영상, 열영상, 형광 영상)를 선정함
- 각각의 선정된 지표를 측정할 수 있는 4개의 챔버를 구성하고, 내부에 특수 광과 카메라를 설치하여 영상을 획득할 수 있게 구축함
- 시료를 자동 이송하기 위하여 이송 레일 및 모터를 설치하였으며, 이송 시 챔버 내부로 들어가기 위한 자동 개폐장치를 구축함 자세한 구상도는 그림 6과 같음

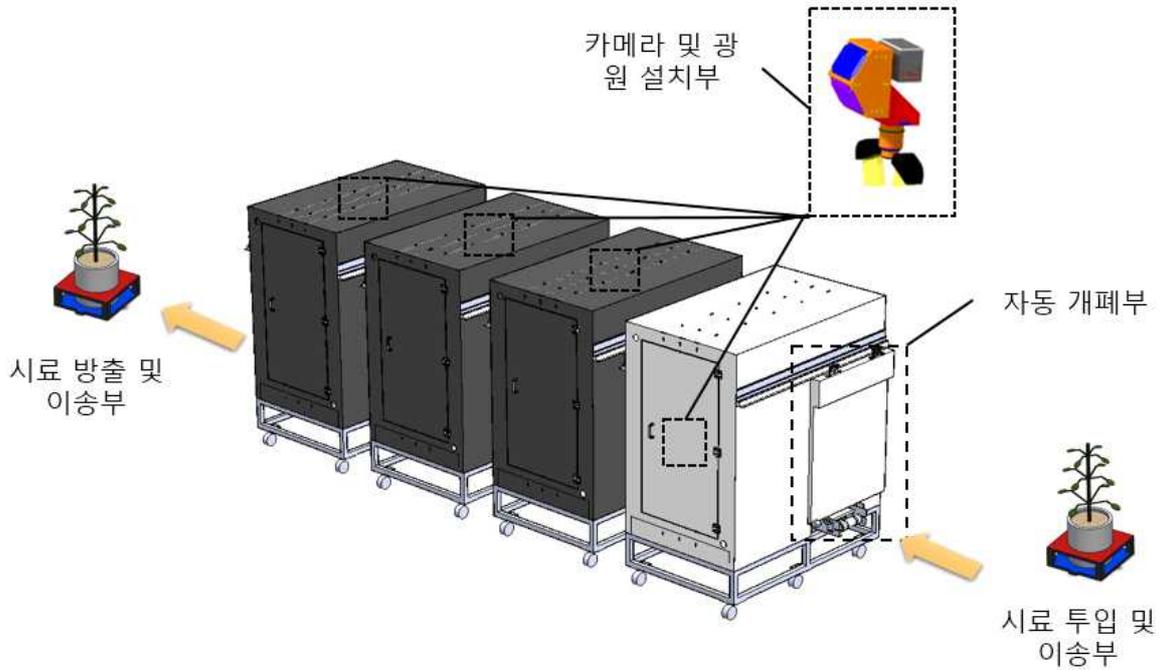


그림 6. Small-scale HTS 프로토타입 구상도

제 2절 연구개발 수행 내용 및 결과

1. 초분광 영상측정시스템 구축

가. 초분광 형광 영상시스템

○ 초분광 영상시스템 원리

- 초분광 영상 기술은 빛의 각 파장별 전자기적 정보를 이용하여 영상을 분석하는 기술로 원격탐사, 환경, 의학, 과학 수사, 군사 등의 분야에서 널리 이용되고 있으며 특히 농업분야에서 농축산식품의 품질 및 안정성 계측 등에 활발히 이용되고 있다.
- 초분광 영상은 각 파장별 연속적으로 획득된 영상을 말하며, 획득원리는 **그림 7**과 **그림 8**에 나타난 것과 같다. 렌즈에 투사된 영상은 slit을 통과 하면서 1차원 정보가 되고 spectrograph에 의해 각 파장별로 분광이 생성되며 1차원 영상정보가 분광정보를 포함하는 2차원 정보로 변환된다. 시료가 움직이며 연속적으로 측정되는 라인 영상들이 최종적으로 합쳐지면 **그림 8**에서 보는 것과 같이 3D hypercube라는 대용량 정보를 구성하게 된다. 3D hypercube는 2차원의 영상 정보와 각 픽셀 별 스펙트럼 정보를 동시에 가지게 된다. 따라서 초분광 영상 기술은 분광에 영상을 융합한 기술로 기존의 분광기술이 대상물 전체의 분광정보를 제공하는 것과는 달리 대상물 세부 공간 영역에 대한 미세 영역별 분광정보를 제공하므로 대상물의 공간영역별 물리, 화학적 분석이 가능하다.

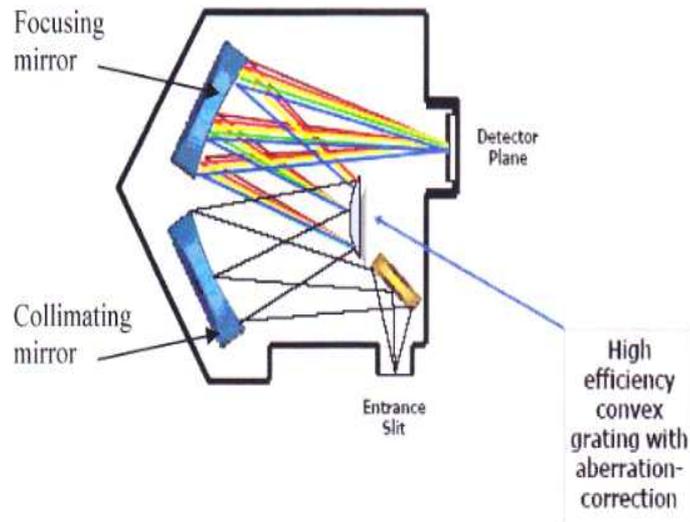


그림 7. 초분광 영상 획득 원리

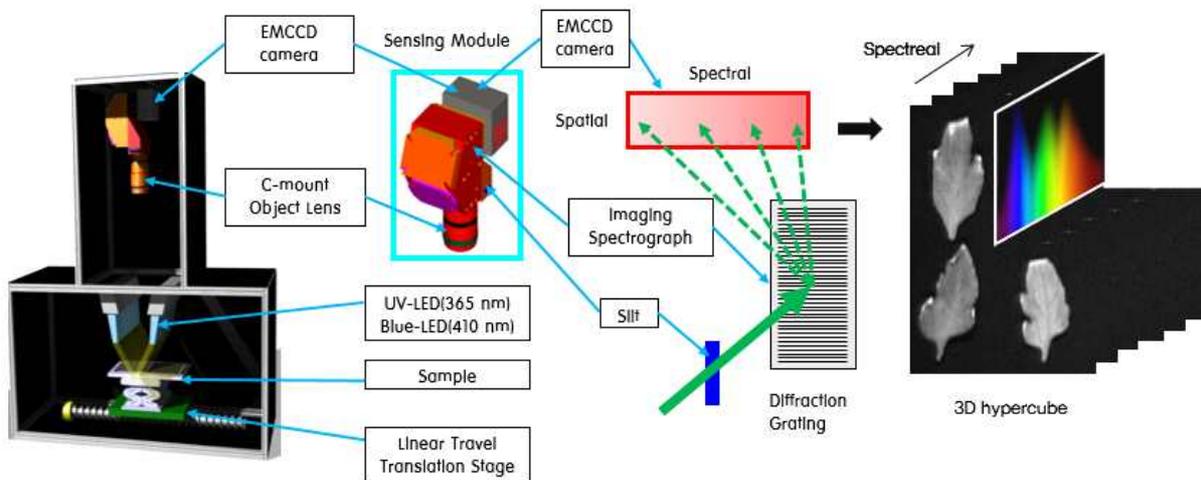


그림 8. 초분광 형광 시스템 구조와 이미지화 과정

(1) 초분광 형광 영상시스템 구축

- 본 연구에서 사용한 초분광 영상장치는 그림 8과 같이 초분광 영상을 획득하기 위한 장치인 Electron multiplying charge-coupled device(EMCCD) 카메라(Luca RDL-604M, Andor Technology, USA)와 Imaging spectrograph(VNIR, Headwl photonics, Fitchburg, MA, USA)를 이용하여 구축하였다. 분광영역은 400-1000 nm이다.
- 라인스캔을 위해 시료 이송부에 쓰일 장치는 속도 제어가 용이해야 하며, 정교하고 위치 오차가 누적되지 말아야 한다. 또한 시료의 무게를 견딜 수 있어야 한다. 본 장치는 전자의 요건에 적합한 step moter(XNN10-0180-M02-21, VELMEX INC, USA)를 장착하여 시료의 움직임을 조절 할 수 있게 구성하였으며(그림 9, 10), 자세한 사양은 표 1, 2와 같다.



그림 9. Step moter(XNN10-0180-M02-21, VELMEX INC, USA) controller



그림 10. Step moter(XNN10-0180-M02-21, VELMEX INC, USA)

㉟ 1. Specifications of the hyperspectral imaging system

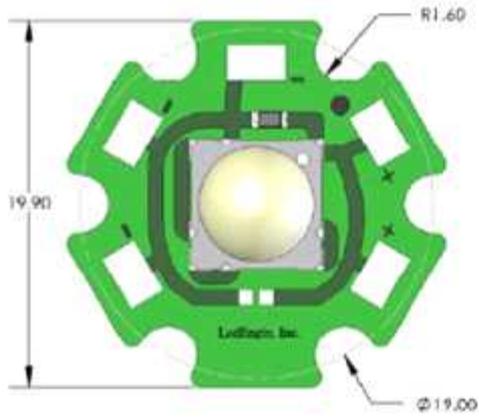
Part	Item	Specification
Vision System	EMCCD camera	Active pixels : 1004 × 1002 Pixel Size : 8 × 8 μm Image area : 8 × 8 mm Max readout rate : 13.5 MHz Frame rate : 12.4 fps Pixel readout rate : 13.5 MHz Digitization : true 14 bit Peak quantum efficiency : 65% Cooling : -20°C @ Air-cooled
	Spectrograph	Spectral range = 400-1000 nm Spectral dispersion = 100 nm/mm Aperture = F/2*1 Includes the choice of one slit assembly (12, 25, 40 or 60 μ × 18 mm)
	Lens	Lenses are designed for 400 - 1000 nm precision imaging and are useful while prototyping.
	Slit	25 μm slit
	Vision controller	Quad core(2.4 GHz) CPU, 2 Gbyte main memory

㉟ 2. Specification of the conveying unit of the hyperspectral imaging system

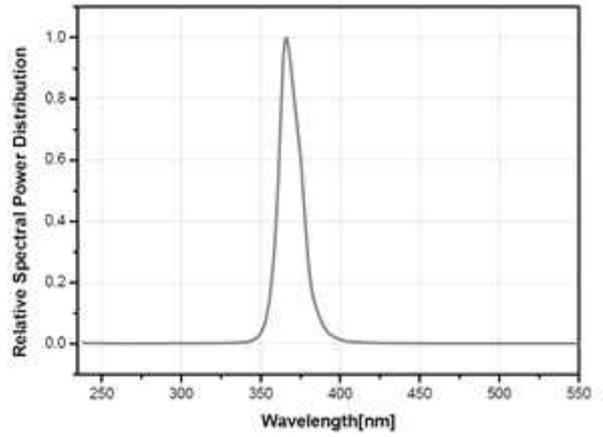
Part	Item	Specification
Conveying unit	Motor	Step : 0.9°
	Controller	Operation : RS-232 interface, 9600, 19200, 38400 baud rate settable Weight : 1.2 kg Electrical requirements : 24 VDC, 2.5 A
	Slide Assembly	Repeatability (short term) : 0.0025 mm Straight line accuracy : 0.025 mm / 25 cm Screw lead accuracy : 0.76 mm / 25 cm

(2) 초분광 형광 광원부 구축

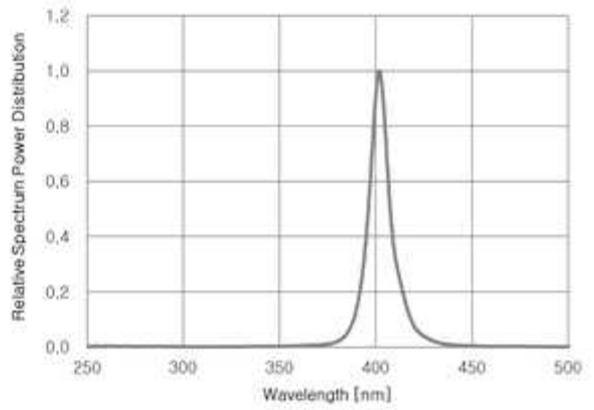
- 형광은 일정한 파장의 빛을 조사하면 조사된 빛의 파장보다 긴 파장에서 빛이 방출되는 현상이다. 특히 작물의 형광반응은 광합성 상태와 세포벽 내의 성분변화에 따라 달라진다. 작물의 형광반응을 측정하기 위해서는 조사되는 광의 선택이 가장 중요한데, 정확한 형광반응을 측정하기 위해 주로 자외선 또는 청색광을 이용하여 광합성을 유도한다.
- 본 연구에서는 **그림 11**과 같이 중심파장이 365 nm인 10 W급 power LED(UV-LED)와 중심파장이 405 nm인 10 W급 power LED(Blue-LED)를 한 라인에 각각 4개씩 8개의 광원을 설치(**그림 12, 13**)하였다.
- 두 종류의 LED 광원에서 식물의 형광반응을 보기 위해서는 중심파장의 강한 광을 제거해야 작물의 형광반응을 볼 수 있다. 중심파장이 365 nm인 UV광과 405 nm인 Blue광의 강한 반사광을 제거하기 위해 420 nm의 high-pass filter를 사용하여 작물의 형광영상만 촬영 되도록 구성하였다.



(a)



(b)

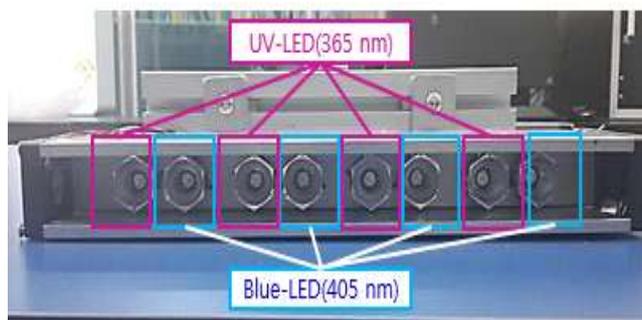


(c)

그림 11. Schematics of the power LED (a) and typical spectrum of the power LED of 365 nm (b) and 405 nm (c).



(a)



(b)

그림 12. 형광 광원부 라인의 모습 (a) 및 광원 배치(b)

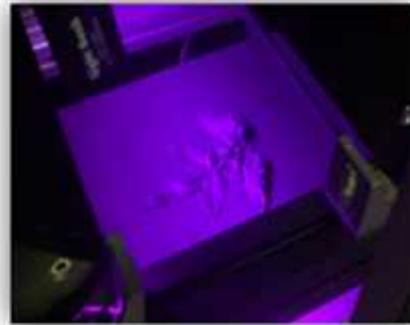
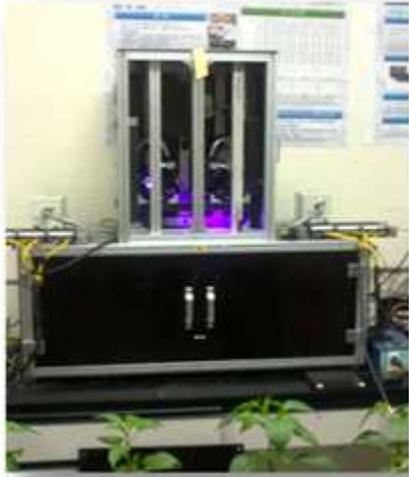


그림 13. 초분광 형광 시스템을 이용한 측정

(3) 초분광 형광 영상 측정 방법

- 식물의 엽록소는 빛 에너지를 흡수하여 광합성에 이용한다. 잎에 빛을 비추면 엽록소가 녹색으로 보이는데 이는 빛의 가시광선영역에서 녹색영역을 제외한 나머지 파란색(420 nm)과 적색(660 nm) 부분을 흡수하기 때문에 나타나는 현상이다. 광에너지를 흡수하면 엽록소 분자들은 ground state에서 excited state로 변하게 되는데, 에너지 수준에 따라서 excited state 1, 2, 3 으로 분류된다. 그림 14 (a)에서 볼 수 있듯이 청색광은 많은 에너지를 포함하여 excited state 2까지 상승시키게 되는데, excited state 1로 다시 떨어지면서 열에너지를 방출하게 된다. 적색광은 excited state 1까지 상승시키며 ground state로 떨어지면서 형광(fluorescence)을 방출하게 된다. 잎에서 광합성 작용을 할 때 가장 효과적인 광원의 파장은 적색광이지만 이 파장은 엽록소에서 발생하는 형광의 파장영역인 680 nm와 유사하므로 광원의 파장과 엽록소의 형광을 구분하기 어렵게 한다. 따라서 적색광 대신에 짧은 파장영역대인 청색광이나 자외선 영역의 광원을 사용하여 형광을 측정하게 된다. 이러한 원리를 이용하여 광합성의 활성 상태를 짧은 파장의 광을 조사하여 발생하는 형광의 방출 세기로 측정할 수 있게 된다.
- 우선 잎의 엽록소가 ground state에 있도록 만들기 위해 15분 정도 암실에 적응을 시킨 후, 정상군과 비정상군을 형광 광원으로 조사하여 형광을 측정하였다. 잎이 광원에 노출되면 그림 14 (b)와 같은 형광 반응이 일어나며 이 현상을 Kautsky 효과 또는 형광유도 (fluorescence induction)과정이라고 부른다. 암적응 상태에서 바로 광을 조사하면 형광이 'O'(the level of constant fluorescence)상태에서 증가하기 시작하여 'I'(inflection or intermediary peak)와 'D'(dip)를 거쳐 형광방출이 가장 강한 'P'까지 2초 이내로 일어난다. 이후 10초 이내에 값이 떨어지기 시작하여 'S'에 도달하고, 60초 이후에는 steady state인 'T'와 같이 유지된다.
- 반사광과는 달리 형광신호는 매우 미약하여 카메라 노출시간을 증가시켜 광량을 증폭시켜 영상을 얻어야 한다. 또한 시간에 따라 변하는 60초 이내의 형광반응을 제외하고 steady state인 'T'구간에서 발생하는 형광을 측정하여야 안정된 형광정보를 얻을 수 있

다. 본 연구에서는 2분간 UV또는 Blue 광원에 식물의 잎을 노출시킨 후 초분광 영상을 측정하였다.

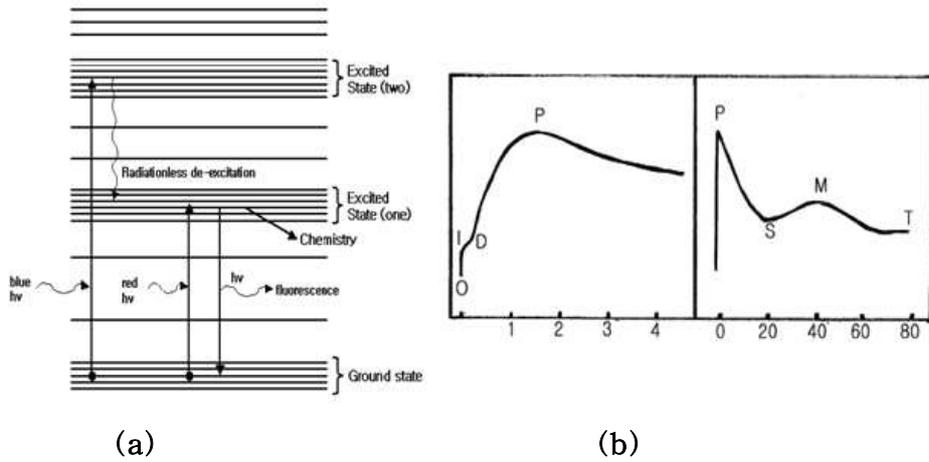


그림 14. Fluorescence principle of chlorophyll (a) and fluorescence induction kinetics (b).

나. 초분광 NIR 영상시스템

(1) 초분광 영상측정 장치 구축

- 본 연구에서 사용된 초분광 영상장치는 그림 15 와 같이 초분광 단파적외선 영상을 획득할 수 있는 Mercury cadmium telluride sensor(MCT) 카메라(Xeva-2.5-320, Xenics, Belgium)와 Imaging spectrograph(SWIR, Headwall photonics, Fitchburg, MA, USA)를 이용하였다. 초분광 영상을 라인스캔으로 획득하기 위해 시료 이송부에는 초분광 형광 측정 장치와 같은 step motor를 장착하여 시료의 이송 속도를 조절 할 수 있도록 구성하였다. 자세한 내용은 표 3 과 같다.

표 3. Specifications of the hyperspectral imaging system.

Part	Item	Specification
Vision System	CMT sensor	Array Type : HgCdTe Spectral band 850 nm ~ 2500 nm #Pixels : 320 × 256 Pixel Pitch : 30 μm Array Cooling : TE2 Pixel operability : >99%
	Imaging performance	Frame rate: Video rate : 100 Hz Integration type : Snapshot Exposure time range : 100 μsec up to 20 msec Noise level : 9.3 AD counts S/N ratio : 64 dB A to D conversion resolution : 14 bit
	Lens	Focal length : 16 mm f/1.4 Optical interface : C-Mount, spectrograph fixation holes (Broad selection of lenses are available)
	Interfaces	Camera control : USB 2.0 Image acquisition : CameraLink Trigger : TTL levels Graphical User Interface (GUI) : Xeneth Advanced
	Physical characteristics	Camera cooling : Forced convection cooling Cool-down time : < 300 sec Ambient operating temperature : 0 to 50 °C
	Lighting	100 W halogen lamp × 3 (2 Set)
	Slit	25 μm slit
	Vision controller	Quad core(2.4 GHz) CPU, 2 Gbyte main memory

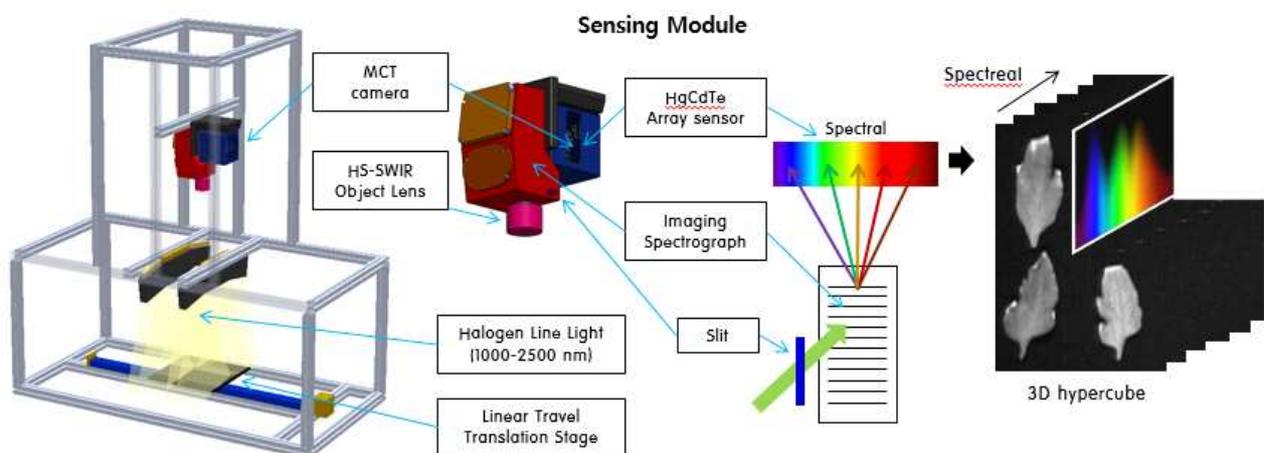


그림 15. 초분광 SWIR 시스템 구조와 이미지화 과정

(2) 초분광 반사광 영상 광원부 구축

- 본 장비에 쓰인 광원은 할로젠램프이다. 할로젠램프는 그림 15 와 같이 가시광에서 적외선 영역까지 폭넓은 연속 스펙트럼을 지녀 특수조명, 분석기기, 교정용 표준 광원, 계측기기, 광치료 등 다양한 용도에서 활용되고 있다. 장점으로는 수명 말기까지 파장의 변화가 거의 없으며 출력도 안정되고, 경량·컴팩트로 취급이 용이하며, 가격도 저렴하다. 본 연구에 사용될 파장 영역 대는 400 nm ~ 2500 nm이므로 할로젠 램프가 적합하다. 하지만 1500 nm 이후로 출력이 약해지므로 그림 10과 같은 금코팅 된 광원을 써서, 긴파장의 출력을 높게 하였다. 광원은 6개의 100 W 할로젠 램프를 사용하여 측정 대상물에 광이 고르게 분포될 수 있도록 구성하였다.
- 100 W급의 6개 할로젠 램프를 직접 시료에 비추게 되면 시료가 강한 열을 받아 변성이 일어나게 된다. 이러한 할로젠 램프의 열 전달을 줄이기 위해 그림 16 과 같은 optic fiber 를 이용하여 광을 비추도록 설계하였다. 광은 샘플을 고르게 비출 수 있도록 조정하였다 (그림 18)

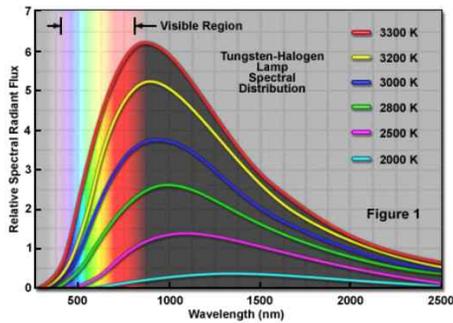


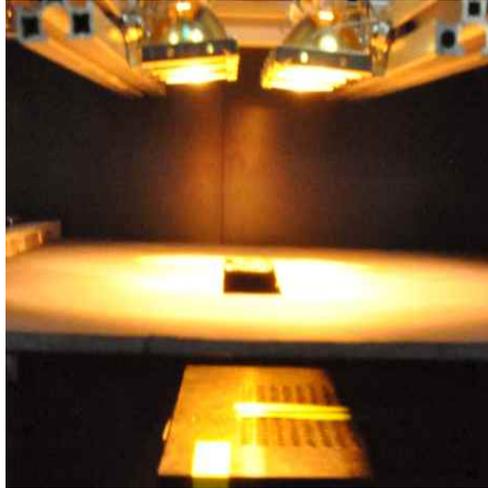
그림 15. 할로젠램프 파장 영역



그림 16. 금코팅 할로젠램프



(a)



(b)

그림 17. Lighting sources with (a) and without (b) optic fibers.

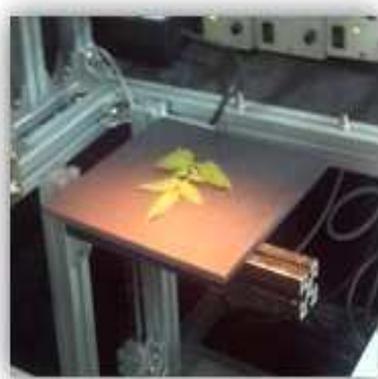
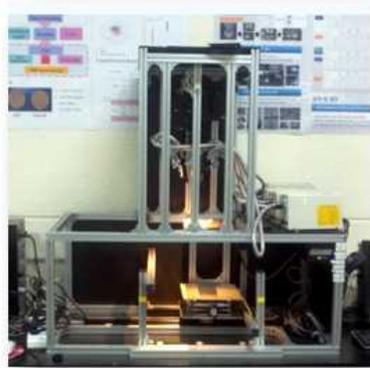


그림 18. 초분광 SWIR 시스템을 이용한 측정

(3) 초분광 영상 측정 방법

(가) 선명한 영상을 위한 초점조절

- 초분광 영상을 획득 할 때 아웃 포커스 현상을 방지하기 위해 조리개 값을 1.9로 고정한 후 렌즈의 초점거리(화각)을 조절하여 가장 선명한 영상을 획득할 수 있도록 하였다. 초분광 영상의 초점조절은 그림 19(a)와 같은 초점조절용 그림을 이용하였다. 초점이 조정된 상태에서 초점조절용 그림의 가로 한 줄만 스캔하면 그림 19(b)와 같은 결과가 출력된다. 초분광 영상에서 초점조절용 그림은 검정색과 백색만 존재하므로 이 두 가지 색이 명확히 대비되는 위치를 기준으로 초점을 조절하였다.

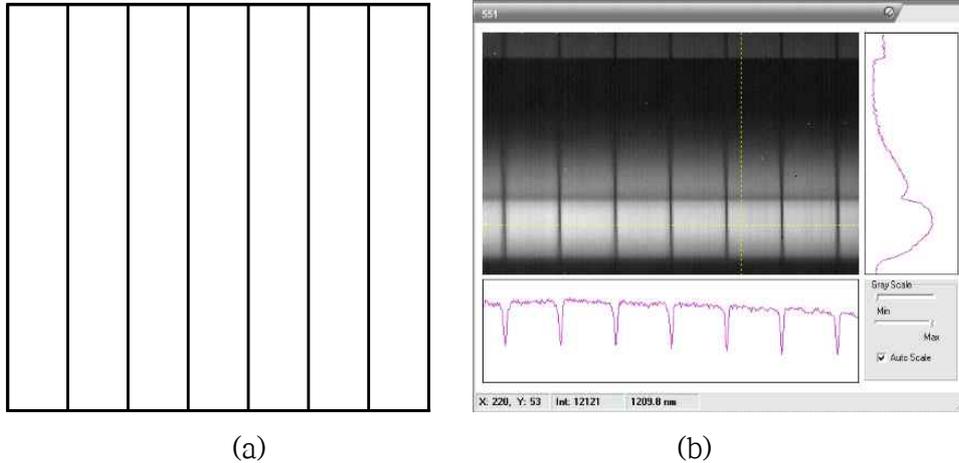


그림 19. Reference image used for adjusting lens focus.

(나) 영상보정을 위한 처리

- 초분광영상을 측정하면, 측정 환경(온도, 광원의 광량 등)에 따라 오차가 발생할 수 있다. 이러한 오차를 줄이기 위해 특정한 물질을 기준으로 이미지 프로세싱을 한다면 오차를 크게 줄여 영상을 보정할 수 있다. 초분광 영상을 촬영한 후 white reference와 dark reference를 촬영하여 각각의 초분광 영상에서 노이즈 값을 제거하고 white reference의 반사값을 100%로 하는 상대값으로 변환한다. White reference로는 그림 20와 같이 광 반사율이 99% 이상인 teflon white board를 이용하고, dark reference는 그림 21와 같이 카메라 렌즈부에 덮개를 씌워 빛을 완전히 차단한 상태로 촬영한 영상 값을 이용하였다. White reference를 기준으로 산출한 대상물의 상대반사값(%)은 아래의 식 [1]과 같은 공식을 이용하였다.

$$R = \frac{R_i - D}{W - D} \times 100(\%) \quad \text{-----[1]}$$

여기서, R 은 상대반사값, R_i 는 샘플을 측정한 픽셀값, D 는 dark reference값, W 는 white reference값이다.

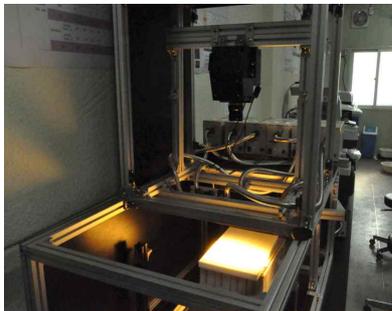


그림 20. White reference 측정

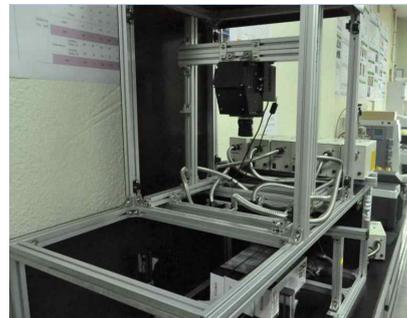


그림 21. Dark reference 측정

2. 표현형 비파괴 생리적 측정지표 발굴

가. 고추

(1)한발스트레스

- 한발스트레스에 노출시키기 이전에 ‘홍진주’ 고추품종의 모종을 화분에 정식한 후, 10 일 동안 충분한 물을 공급하여 환경에 적응시킨 후 실험에 사용 하였다. 충분한 물을 공급한 정상군 9개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 9개를 나누어 실험을 수행 하였다.
- 물 공급을 중단한 후 시간에 따라 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다. 화분의 수분량 측정을 위해 매일 텐시오미터로 측정하였으며, 텐시오미터가 흔들려서 발생하는 화분 내 토양수분량의 측정 편차를 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센서를 위치시켜 3번 측정한 값을 평균하여 사용하였다. 수분공급을 중단한 후 5일째부터 측정실험을 수행하였다.
- 고추의 수분장력을 측정한 결과 **그림 22** 와 같이 수분공급이 중단된 5일부터 9일까지 수분장력이 꾸준히 감소하였다. 수분공급이 중단된 9일 이후는 수분장력이 -50 kPa 이상의 수치를 가지며, 한발스트레스 증상이 고춧잎표면에 명확하게 나타나기 시작하여 육안으로 판별하는 것이 가능하였다. 이러한 명확한 한발스트레스 증상을 토대로 토양흡착수압 측정 이후 해당 화분의 고춧잎을 채취하여 초분광 형광과 단파적외선 영상을 촬영하였다.

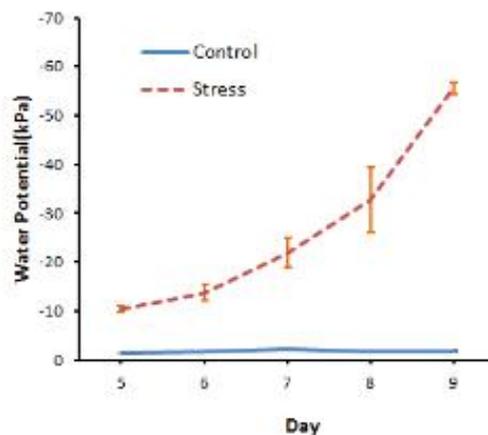


그림 22. Water potential values (kPa) of red pepper plants.

(가) 고춧잎의 형광 특성 분석

- **그림 23** 은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 500 ~ 600 nm와 650 ~ 700 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다. 500 ~

600 nm는 Green yellow fluorescence 영역이며, 650 ~ 700 nm는 Chlorophyll-a의 형광 발생영역으로 알려져 있다. 잎의 수분 공급이 부족해지면서 세포내 단백질 효소량의 변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값의 변화가 스펙트럼으로 표출된 것으로 판단 된다.

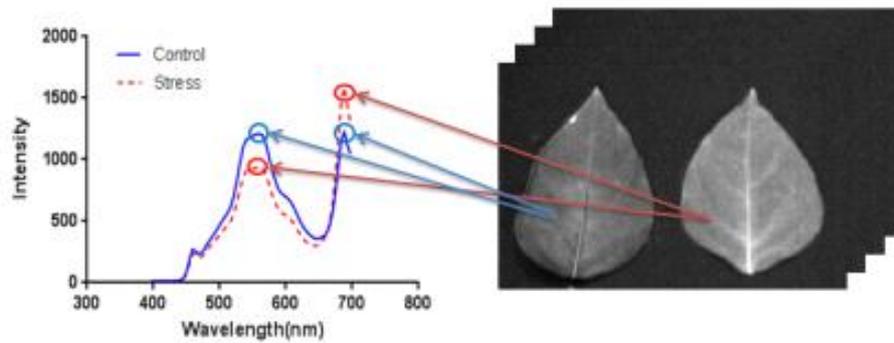


그림 23. Mean spectra of control and water stressed red pepper leaves and their hyperspectral fluorescence images.

(나) 분산분석(ANOVA)을 이용한 고춧잎의 수분스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 고춧잎으로부터 초분광 형광영상을 획득하여 형광데이터를 분석하였다. 두 그룹의 형광영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. **그림 24**와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 558 nm에서 가장 높게 나타났다.
- 획득된 영상에서 고춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 형광값을 이진화하였다. 형광값을 이진화하기 위해서는 두 그룹을 구분할 수 있는 최적의 임계값을 선정하여야 한다. 임계값 선정을 위해 정상군과 스트레스군을 **그림 25(a)**와 같이 히스토그램으로 표현하였다. 히스토그램의 X축은 558 nm에서의 형광값을 의미하며, Y축은 각 파장 영역 당 픽셀 값의 빈도수를 의미한다.
- **그림 25(b)**에서 정상군과 스트레스군으로 나누어지는 것을 알 수 있으며, 여기에 가우시안 회귀식을 적용하여 정상군과 스트레스군의 곡선이 접치는 부분을 임계점으로 선택하였다. **그림 26(a)**는 고춧잎의 컬러영상이고 **그림 26(b)**는 558 nm 형광영상이며 **그림 26(c)**는 임계점을 적용하여 이진화한 영상을 나타낸다. **그림 26(c)**는 형광 반응이 강한 위치를 붉은색으로, 약한 위치를 하얀색으로 나타내었다. 고춧잎이 수분 스트레스를 받으면 558 nm에서 형광반응이 크게 감소하는 것을 알 수 있다.
- **표 4**는 **그림 26**의 결과를 수치화한 결과이다. 정상군에서 고춧잎 영상의 전체 픽셀 수는 8441개였으며, 이중 임계값 이상의 값을 갖는 픽셀 수는 8206개로 97%가 정상 값으로 나타났다. 스트레스군에서 고춧잎 영상의 전체 픽셀 수는 9124개였으며, 이중 임계값 이상의 값을 갖는 픽셀 수는 889개로 9%가 정상군에 포함되는 것으로 나타났다.

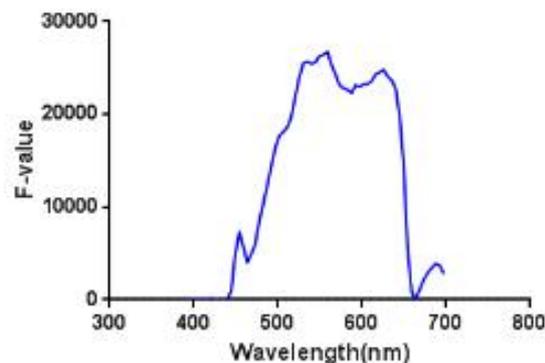


그림 24. F-values of one-way ANOVA for the discrimination between control and water stressed(-50 kPa) leaves.

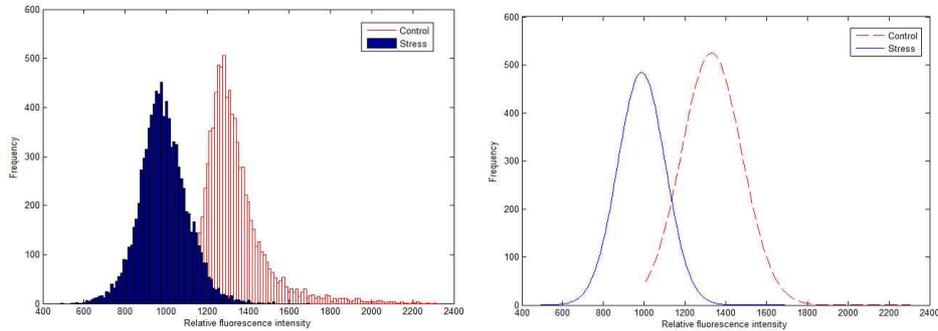


그림 25. Histogram (a) and Gaussian model (b) for relative fluorescence intensity (558 nm) of control and water stressed red pepper leaves.

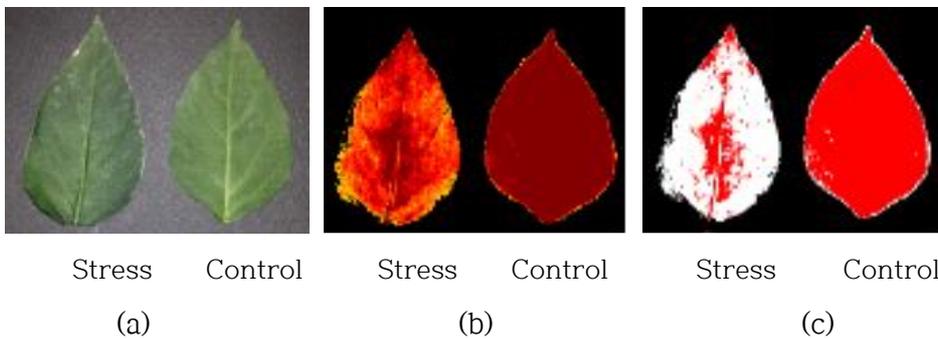


그림 26. Color image (a), fluorescence image (558 nm) (b) and binary image (c) of control and stressed red pepper leaves.

표 4. Result of classification between control and water stressed red pepper leaves using an optimal threshold value (558 nm).

Calibration	Total*	Above threshold*	Below threshold*	Above/Total(%)
Control	8441	8206	235	97%
Stress	9124	889	8235	9%

*Number of pixels

(다) 고춧잎의 SWIR 영상 특징 분석

- 그림 27은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 SWIR 스펙트럼을 나타낸다. 근적외선 영역에서 작물 스트레스와 관련된 영역으로는 O-H 작용기가 반응하는 셀룰로오스와 물 반응대역, 그리고 N-H 작용기가 반응하는 protein 반응대역이 있다.
- 셀룰로오스 반응대역은 1200, 1490, 1780, 1820, 1940, 2100, 2270, 2280, 2340, 그리고 2350 nm이다.

- 수분 반응대역은 760, 970, 1410, 1450, 1930 nm는 물이 흡수하는 영역이며(김용호, 2004), protein 반응대역은 910, 1020, 1510, 1690, 1940, 1980, 2060, 2180, 2240, 2300, 2350 nm로 알려져 있다.
- 그림 27은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼에서 차이가 보이긴 하나, 명확하게 차이가 나는 부분을 알 수는 없었다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

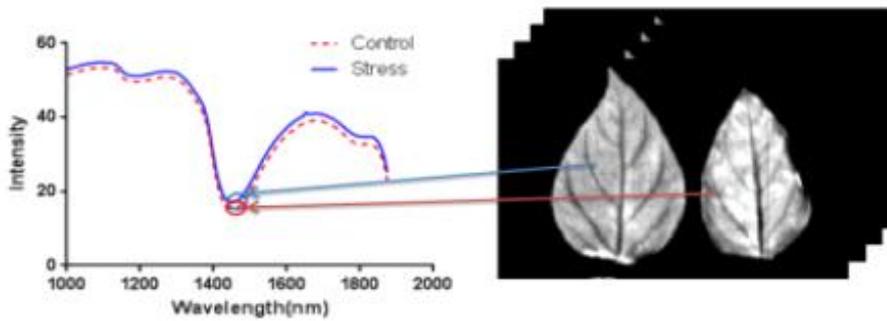


그림 27. Mean spectra of control and water stressed red pepper leaves and their hyperspectral SWIR images.

(라) 분산분석을 이용한 고춧잎의 수분스트레스 판별 주요 파장분석

- 정상군과 스트레스군의 고춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 28과 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1449 nm에서 가장 높게 나타났다.
- 획득된 영상에서 고춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 SWIR영상값을 이진화하였다. SWIR영상값을 이진화하기 위해서는 두 그룹을 구분할 수 있는 최적의 임계값을 선정하여야 한다. 임계값 선정을 위해 정상군과 스트레스군(-50 kPa)을 그림 29(a) 와 같이 히스토그램으로 표현하였다.
- 그림 29(b) 에서 정상군과 스트레스군으로 나누어지는 것을 알 수 있으며, 여기에 가우시안 회귀식을 적용하여 정상군과 스트레스군의 곡선이 겹치는 부분을 임계점으로 선택하였다. 그림 30(a) 는 고춧잎의 컬러영상이고 그림 30(b)는 1449 nm SWIR영상이며 그림 30(c)는 임계점을 적용하여 이진화한 영상을 나타낸다. 그림 30(c)는 픽셀값이 큰 위치를 붉은색으로, 작은 위치를 하얀색으로 이진화한 영상을 나타낸다. 고춧잎이 수분스트레스를 받으면 1449 nm에서 픽셀값이 크게 증가하는 것을 알 수 있다.
- 표 5는 그림 30의 결과를 수치화한 결과이다. 정상군에서 고춧잎 영상의 전체 픽셀 수는 3985개였으며, 이중 임계값 이상의 값을 갖는 픽셀 수는 1121개로 28%가 비정상 값으로 나타났다. 스트레스군에서 고춧잎 영상의 전체 픽셀 수는 5710개였으며, 이중 임계값 이상의 값을 갖는 픽셀 수는 4797개로 84%가 정상 값으로 나타났다.

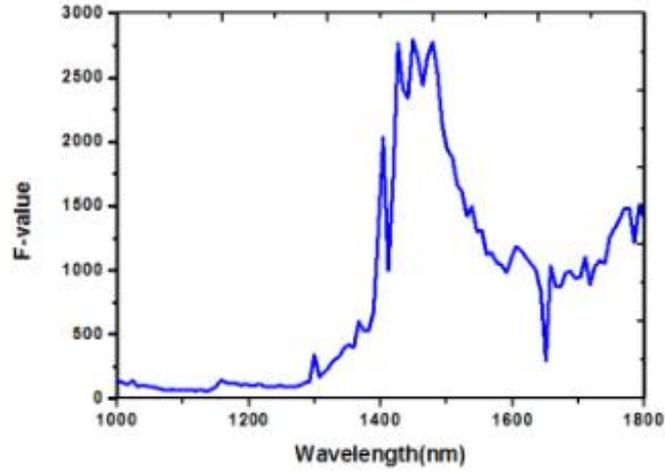


그림 28. F-values of one-way ANOVA for the discrimination of controlled and water stressed red pepper leaves.

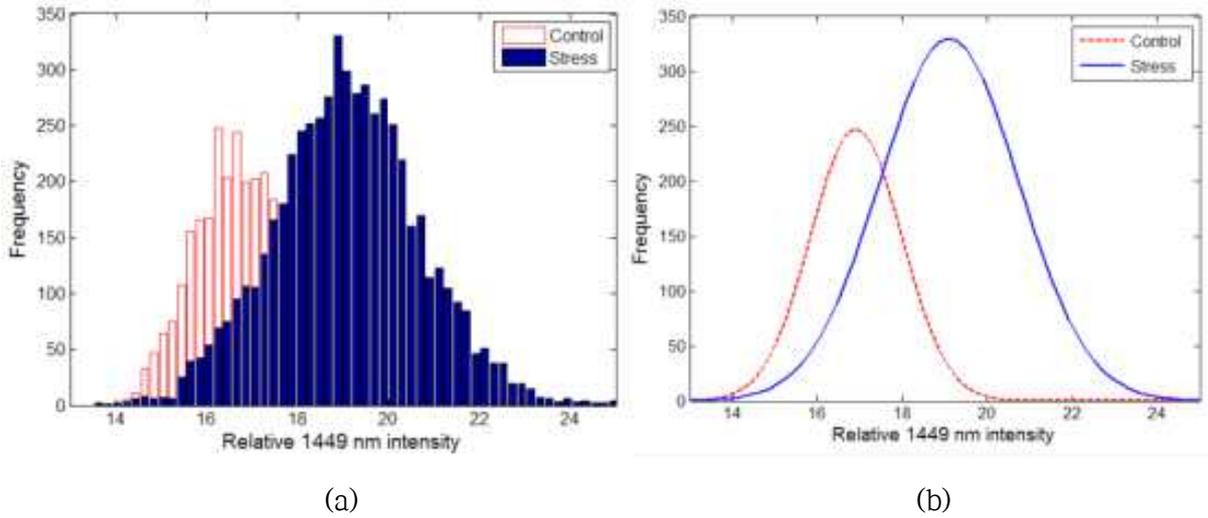


그림 29. Histogram (a) and Gaussian model (b) for relative SWIR intensity of controlled and water stressed (-50 kPa) red pepper leaves at the wavelength of 1449 nm.



그림 31. Growth chamber를 이용한 생육환경조절

(나) 실험 결과

① 초분광 형광 영상

- 그림 32는 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 650 ~ 760 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다. 650 ~ 760 nm는 Chlorophyll-a의 형광 영역으로 알려져 있다. 식물이 저온스트레스(5°C)에 놓이면서 효소변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값의 변화가 스펙트럼으로 표출된 결과로 판단된다.

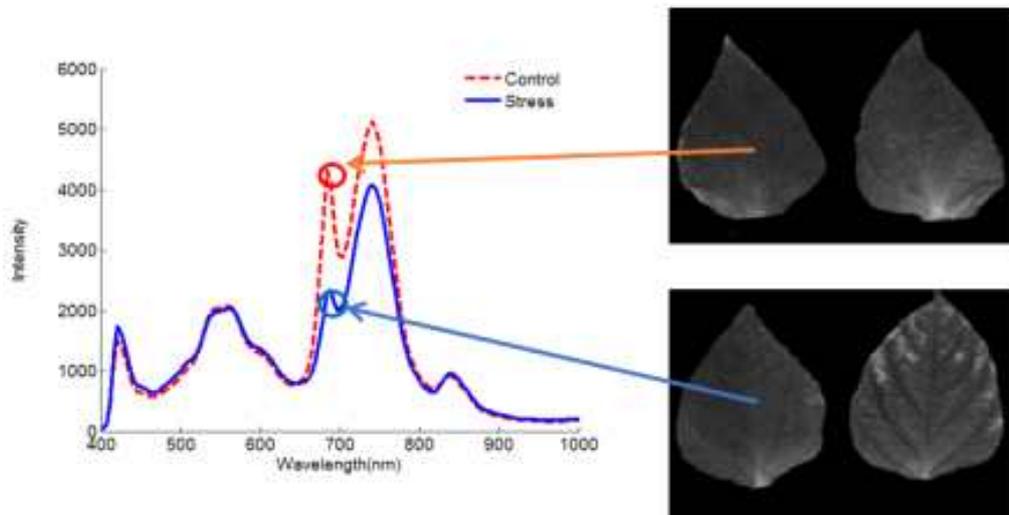


그림 32. Mean spectra of control and chilling stressed red pepper leaves and their hyperspectral fluorescence images.

- 그림 34에서는 679 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 고춧잎보다 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 89% 다르게 나타남을 알 수 있었다. 또한 48시간동안 저온스트레스를 받으면 형광반응이 떨어짐을 명확히 알 수 있었다.
- 그림 32의 평균그래프를 보면 708 nm 영역과 746 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 한 개의 파장만 사용했을 때보다 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 25와 같이 F값이 683 nm와 731nm에서 가장 큰 차이를 보였다.

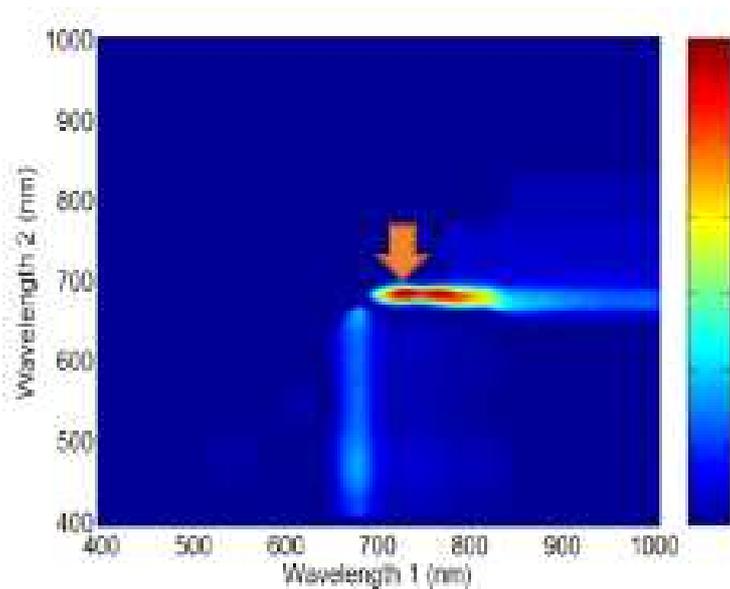


그림 35. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed red pepper leaves(683 nm/731 nm).

- 그림 36은 683 nm와 731 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 고춧잎보다 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 97% 정도 다르게 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 678 nm 파장만 사용하는 것 보다 두 개의 파장 (683 nm, 731 nm)을 사용하는 것이 8% 더 높은 정확도로 구분이 가능함을 알 수 있었다.

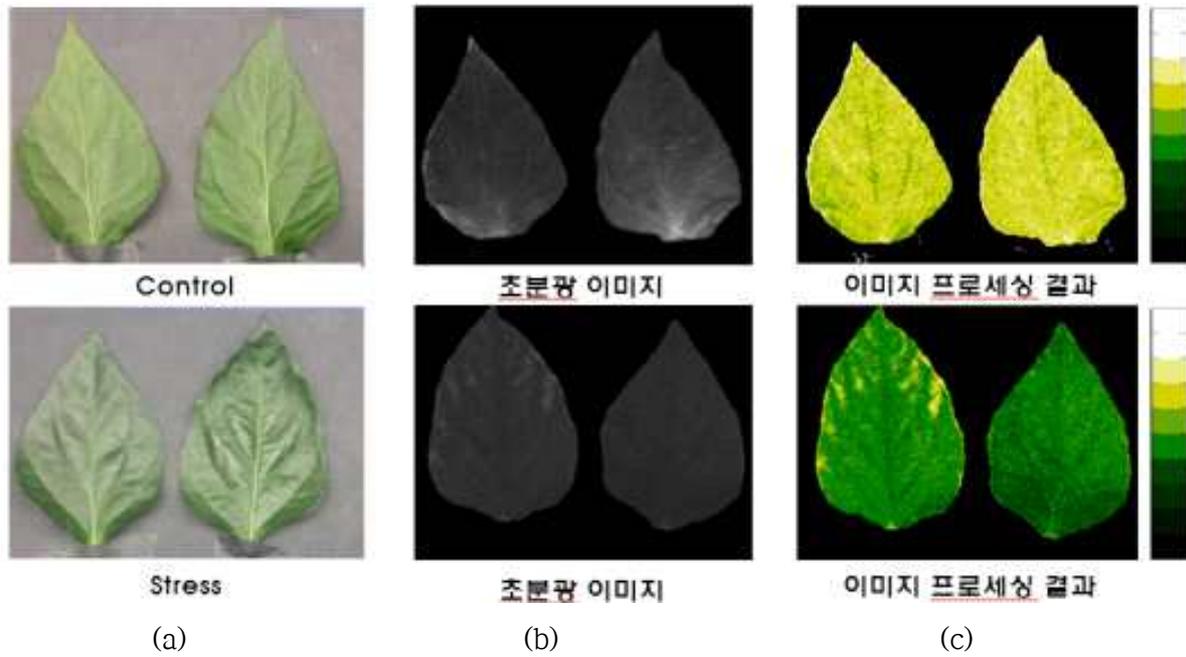


그림 36. Original image (a), hyperspectral fluorescence image (b) and color map image (c) of control and chilling stressed red pepper leaves (683 nm/731 nm).

② 초분광 SWIR 영상

- 정상군과 스트레스군의 고춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였으나 큰 차이를 보이지 않았다. 온도스트레스에 대한 반응은 단파적외선 영상보다 형광영상이 더 좋은 결과를 나타내었다.

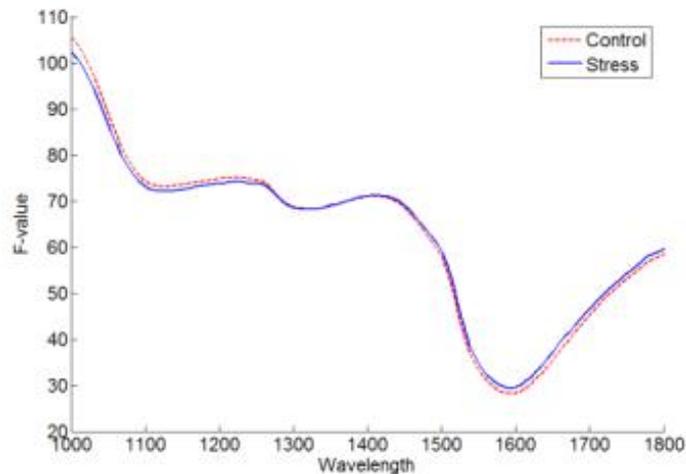


그림 37. Mean SWIR spectra of control and chilling stressed red pepper leaves.

나. 배추

(1) 한발스트레스

- 한발스트레스를 주기 이전에 ‘노란봄배추’ 품종의 모종을 화분에 정식한 후, 10일 동안 충분한 물을 공급하여 환경에 적응시킨 후 실험에 사용 하였다. 충분한 물을 공급한 정상군 12개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 12개를 나누어 실험을 수행하였다.
- 물 공급을 중단한 후 시간에 따라 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다. 화분의 수분량 측정을 위해 매일 텐시오미터를 이용하였으며, 텐시오미터가 흔들려 화분 내 토양수분량의 측정 편차가 발생하는 것을 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센서를 위치시켜 3번 측정한 값을 평균하여 사용하였다. 수분공급이 중단된 후 4일 ~ 5일까지 실험을 수행하였다.
- 배추의 수분장력을 측정한 결과 수분공급이 중단된 4일째부터 수분장력이 -30 kPa로 감소하였고, 5일째부터는 -50 kPa로 급격히 감소하였다. 수분공급이 중단된 5일 이후는 배춧잎의 경우 수분스트레스 증상이 잎표면에 명확하게 나타나기 시작하여 육안으로 판별하는 것이 가능하였다. 토양흡착수압 측정 이후 해당 화분의 배춧잎을 채취하여 초분광형광과 단파적외선 영상을 촬영하였다.

(가) 배춧잎의 형광 특징 분석

- 그림 38은 측정된 정상군과 스트레스군(-50 kPa)의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 500 ~ 600 nm와 680 ~ 740 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다. 500 ~ 600 nm는 Green yellow fluorescence 영역이며, 680 ~ 740 nm는 Chlorophyll-a의 형광 영역으로 알려져 있다. 이전 고추작물의 경우와 비슷하게 잎의 수분 공급이 부족해지면서 세포내 단백질 효소량의 변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값의 변화가 스펙트럼으로 나타난 것으로 판단된다.

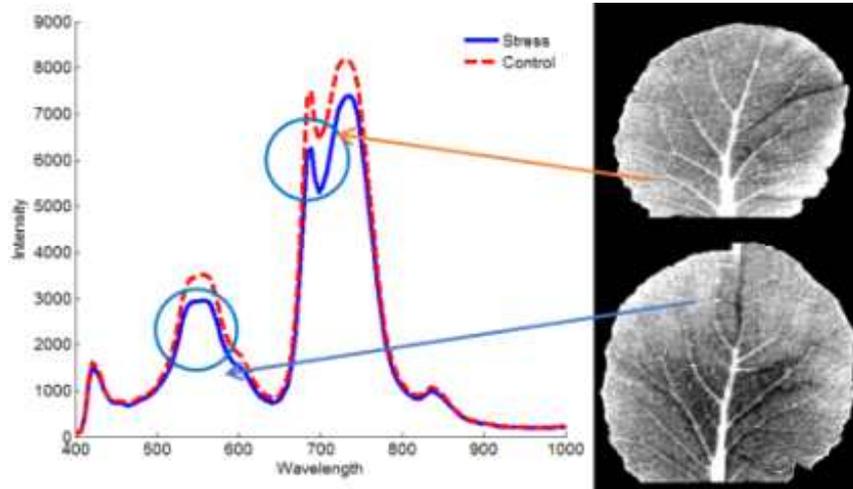


그림 38. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) chinese cabbage leaves and their hyperspectral fluorescence images.

(나) 분산분석(ANOVA)을 이용한 배춧잎의 형광 특징 판별

- 정상군과 스트레스군의 배춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 39와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 555 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 배춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 555 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.

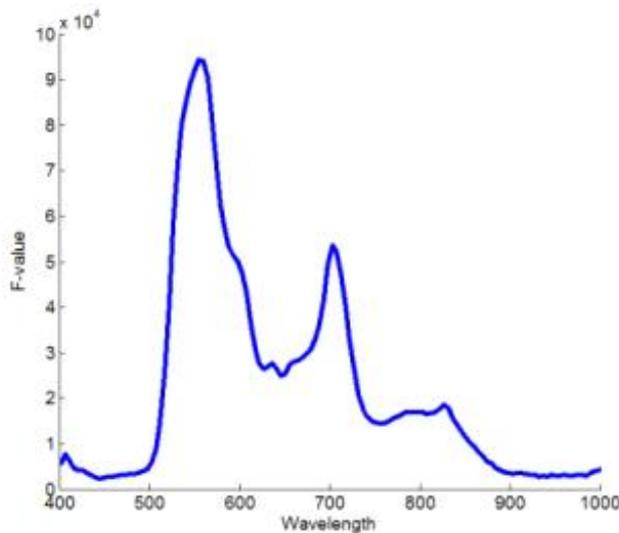
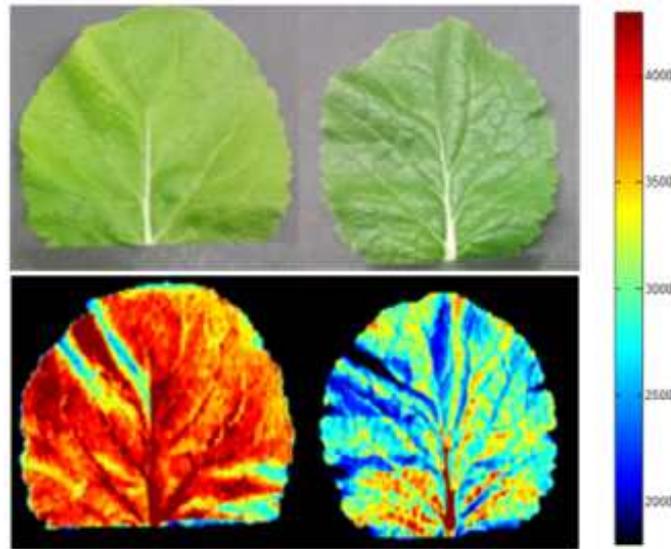


그림 39. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) chinese cabbage leaves.



(a) Control (b) -50 kpa

그림 40. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) chinese cabbage leaves (555 nm).

- 그림 40는 555 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 72% 정도 나타남을 알 수 있었다. 또한 -50 kPa 이상의 스트레스를 받으면 형광반응이 감소함을 알 수 있다.
- 그림 38의 평균그래프를 보면 680 nm 영역과 730 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 2개의 파장을 사용하였을 때 한 개의 파장만 사용했을 때보다 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 41 과 같이 F값이 708 nm와 746 nm의 ratio에서 가장 큰 차이를 보였다.

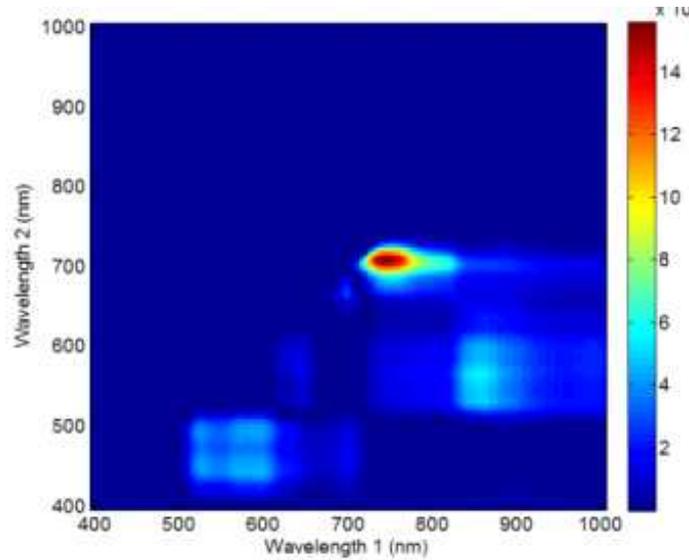
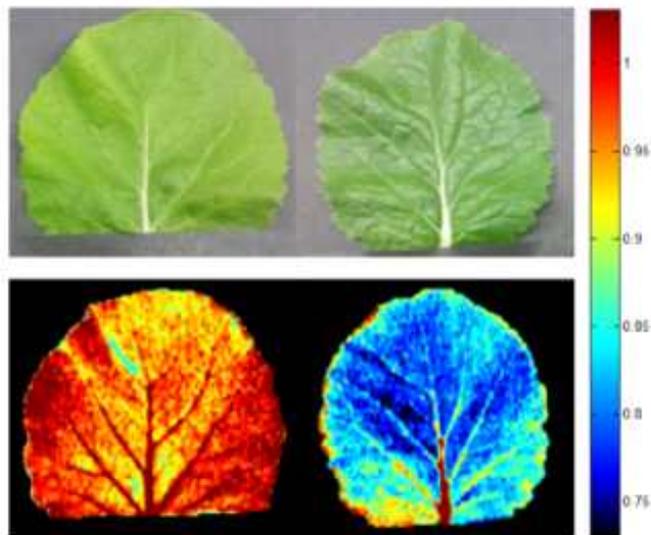


그림 41. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed(- 50 kPa) chinese cabbage leaves (708 nm/746 nm).



(a) Control (b) -50 kpa

그림 42. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) chinese cabbage leaves (708 nm/746 nm).

- 그림 42는 708 nm와 746 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 한발스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 74%임을 알 수 있었다. 한 개의 555 nm영역을 쓰는 것 보다 두 개의 파장비 (708 nm/746 nm)를 사용하는 것이 2% 더 높은 구분 정확도를 보였다.

(다) 배춧잎의 SWIR 영상 특징 분석

- 그림 43은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 SWIR 스펙트럼을 나타낸다. 근적외선 영역에서 작물 스트레스와 관련된 영역으로는 O-H 작용기가 반응하는 셀룰로오스와 물 반응대역, 그리고 N-H 작용기가 반응하는 protein 반응대역이 있다.
- 셀룰로오스 반응대역은 1200, 1490, 1780, 1820, 1940, 2100, 2270, 2280, 2340, 그리고 2350 nm이다.
- 수분 반응대역은 760, 970, 1410, 1450, 1930 nm는 물이 흡수하는 영역이며(김용호, 2004), protein 반응대역은 910, 1020, 1510, 1690, 1940, 1980, 2060, 2180, 2240, 2300, 2350 nm로 알려져 있다.
- 그림 43은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼에서 차이가 보이긴 하나, 명확하게 차이가 나는 부분을 알 수는 없었다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

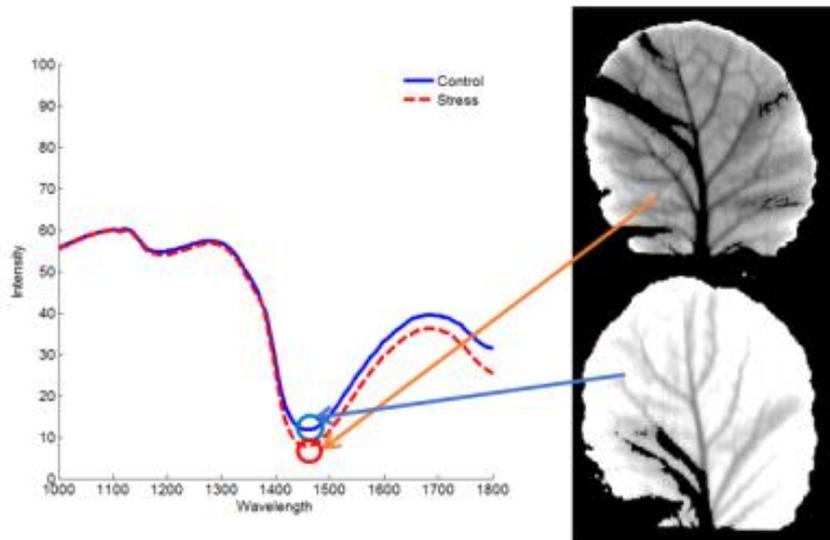


그림 43. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) chinese cabbage leaves and their hyperspectral SWIR images.

(라) 분산분석을 이용한 배춧잎의 수분스트레스 판별 주요 파장분석

- 정상군과 스트레스군의 배춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 44와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1456 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 배춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1456 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

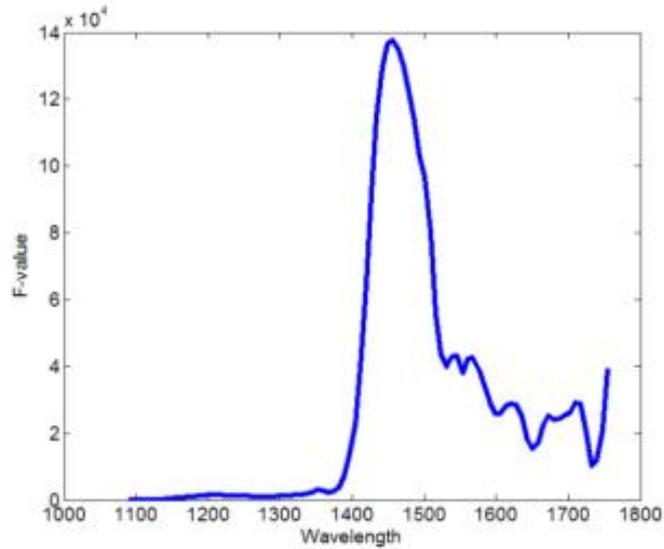
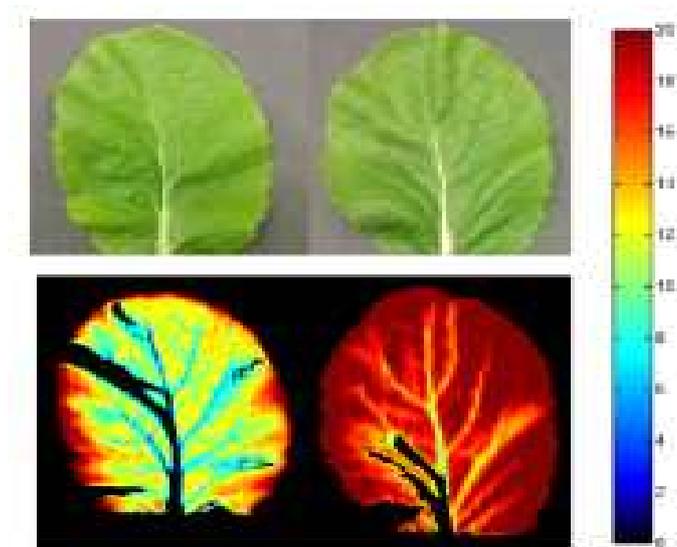


그림 44. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) chinese cabbage leaves.



(a) Control (b) -50 kpa

그림 45. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and water stressed (b) chinese cabbage leaves (1456 nm).

- 그림 45는 1456 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 수분스트레스를 받은 잎의 반사값 차이가 약 79% 정도 나타남을 알 수 있었다. 또한 -50 kPa 이상의 스트레스를 받으면 반사값이 증가함을 알 수 있었다.
- 그림 43의 평균그래프를 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분

석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 46과 같이 F값이 1397 nm와 1456 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

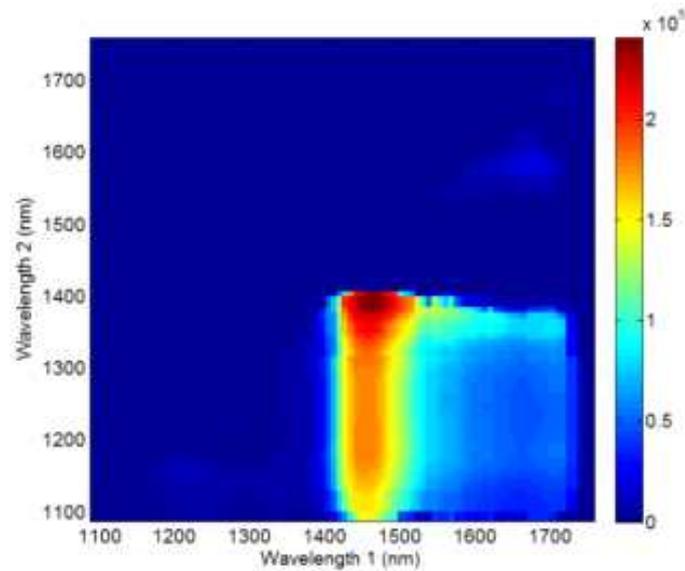
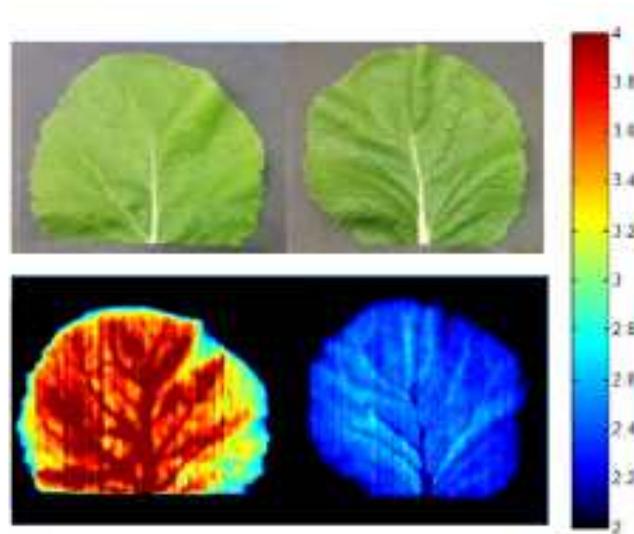


그림 46. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed chinese cabbage leaves (1397 nm/1456 nm).

- 그림 47은 1397 nm와 1456 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 수분스트레스를 받은 잎의 차이가 약 87% 나타남을 알 수 있었다. 한 개 파장인 1456 nm 영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio(1397 nm/1456 nm)를 사용하는 것이 8% 더 높은 구분 정확도를 보였다.



(a) Control (b) -50 kpa

그림 47. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) chinese cabbage leaves (1397 nm/1456 nm).

(2) 온도스트레스

- 고온스트레스는 식물에 따라 약간의 차이가 있지만 생육적온인 환경을 넘어서는 온도인 약 35°C 사이에서 일어난다. 대부분의 배추는 밭아에서 정식 전까지 온실에서 키워지는 경우가 대부분이기 때문에 온도장해를 받지 않는다. 하지만 정식 후에 갑작스러운 기상 변화로 고온상해를 입을 수 있기 때문에 정식 이후의 단계로 실험을 실시하였다.

(가) 환경조건

- 13개의 정상군과 13개의 스트레스군을 대상으로 35°C에서 16시간 동안 광을 주고, 30°C에서 8시간 동안 어두운 환경에 노출시켰다. 고온의 환경에 노출된 후로 24시간 및 48시간이 지난 상태의 배춧잎을 채취하였다.

(나) 실험 결과

① 초분광 형광 영상

- 그림 48은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 550 ~ 600 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다. 550 ~ 600 nm는 Green yellow fluorescence 영역으로 세포활성과 관련 있음이 알려져 있다. 식물이 고온스트레스(35°C)에 노출되면서 효소와 엽록소 활성이 변화하면서 형광스펙트럼값이 변한 것으로 판단된다.

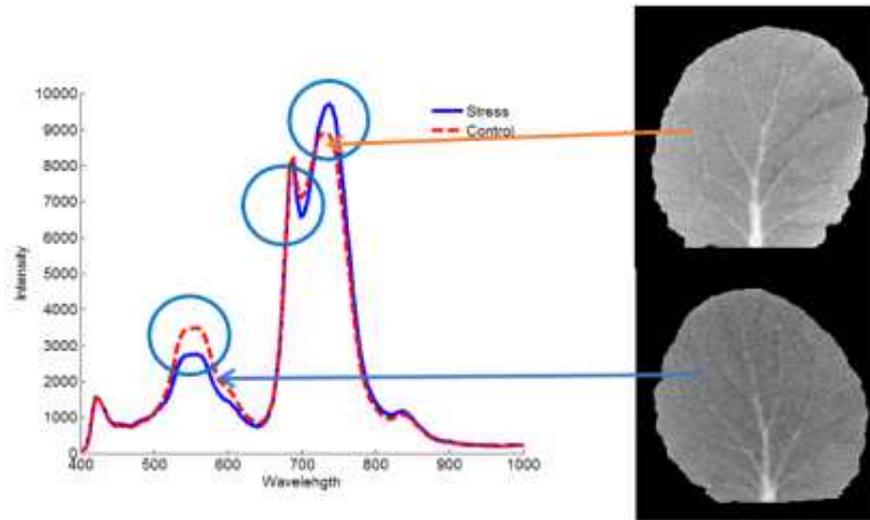


그림 48. Mean spectra of control and heat stressed (48 hour) chinese cabbage leaves and their hyperspectral fluorescence images.

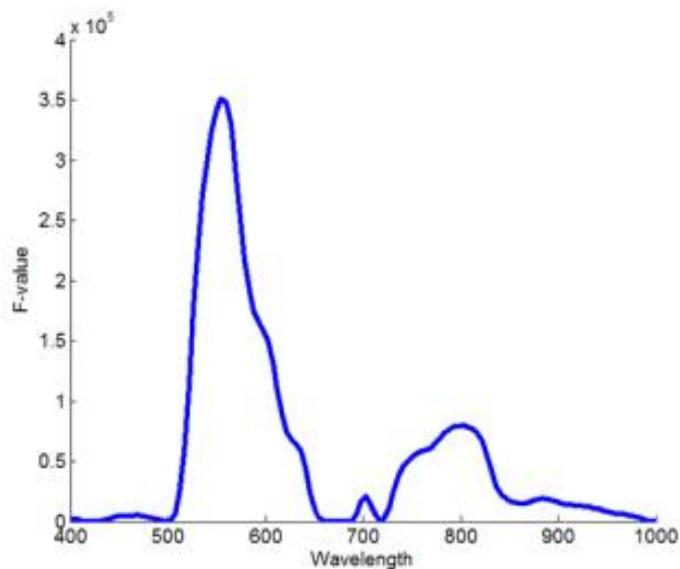
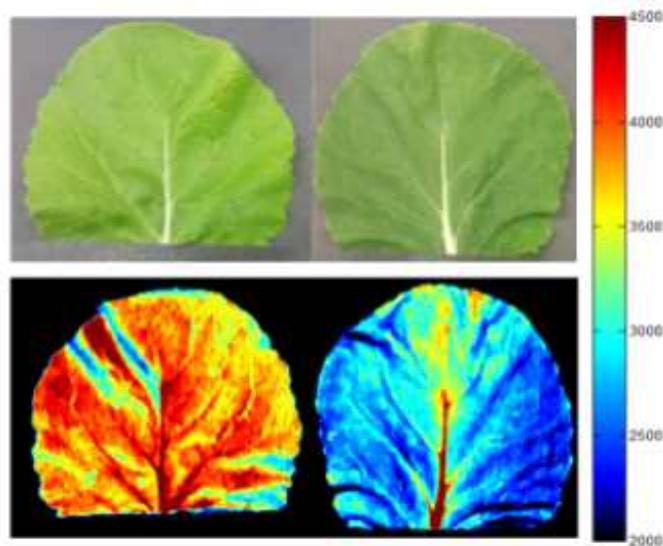


그림 49. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and heat stressed (48 hour) chinese cabbage leaves.

- 정상군과 스트레스군의 배춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 49와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 555 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 배춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 555 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.



(a) Control (b) 35°C 48 hour

그림 50. Original image (up), hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and heat stressed (b) chinese cabbage leaves (555 nm).

- 그림 50은 555 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 고온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 82% 정도 나타났다. 또한 48시간동안 고온스트레스를 받으면 형광반응이 떨어짐을 알 수 있었다.
- 그림 48의 평균 스펙트럼을 보면 700 nm ~ 800 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 51과 같이 F값이 713 nm와 746nm의 ratio에서 가장 큰 차이를 보였다.

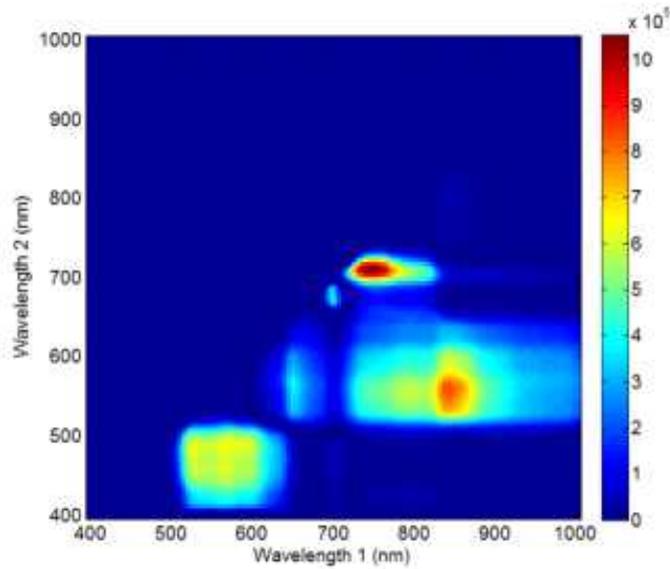
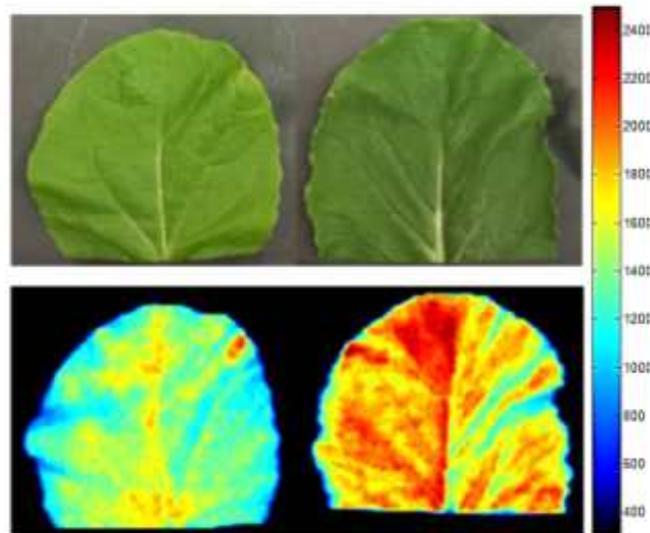


그림 51. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and heat stressed chinese cabbage leaves (713 nm/746 nm).



(a) Control (b) 35°C 48 hour

그림 52. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and heat stressed (b) chinese cabbage leaves (713 nm/746 nm).

- 그림 52는 713 nm와 746 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎보다 고온스트레스를 받은 잎의 형광반응이 약 89% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 한 개 파장(555 nm) 영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio (713 nm/746 nm)를 사용하는 것이 7% 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있었다.

② 초분광 SWIR 영상

- 그림 53은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼에서 차이가 보이긴 하나, 명확하게 차이를 구분하기는 어려웠다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

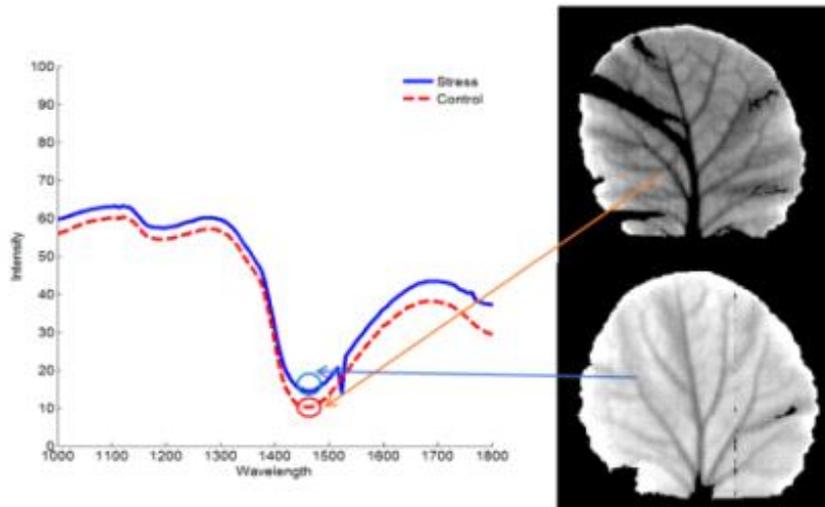


그림 53. Mean spectra of control and heat stressed (48 hour) chinese cabbage leaves and their hyperspectral SWIR images.

(다) 분산분석을 이용한 배춧잎의 고온스트레스 판별 주요 파장분석

- 정상군과 스트레스군의 배춧잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 54와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1449 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 배춧잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1449 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

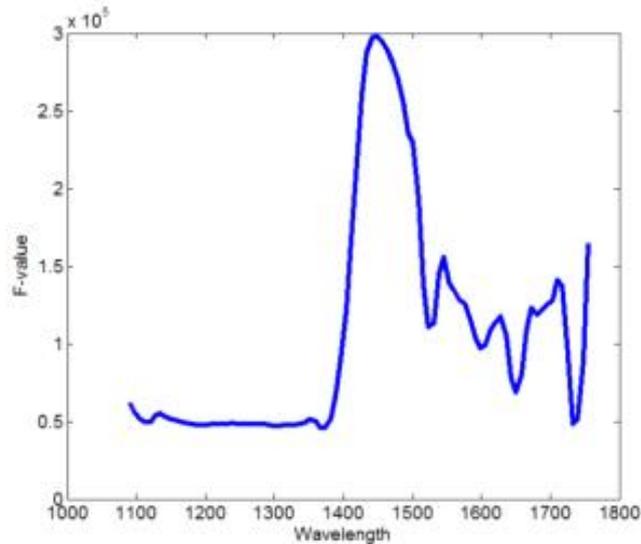
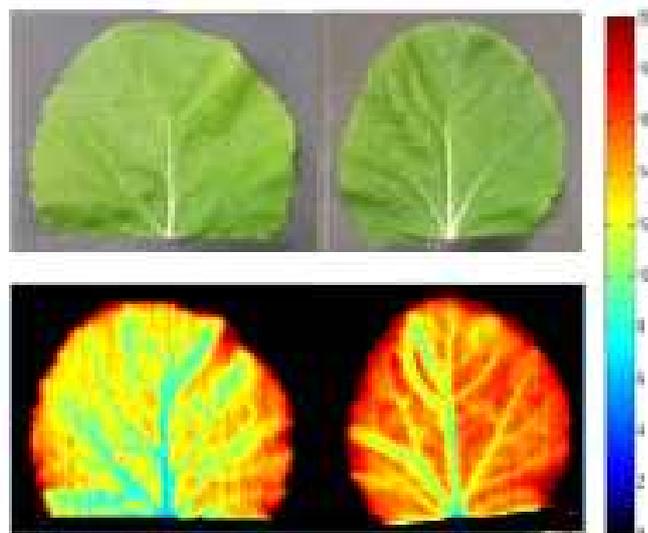


그림 54. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and heat stressed (48 hour) chinese cabbage leaves.

- 그림 55는 1449 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎과 고온스트레스를 받은 잎의 반사값 차이가 약 77.5% 정도 나타남을 알 수 있었다. 또한 48시간 이상의 스트레스를 받으면 반사값이 증가함을 알 수 있었다.



(a) Control (b) 35°C 48 hour

그림 55. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and heat stressed (b) chinese cabbage leaves (1449 nm).

- 그림 53의 평균그래프를 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게

구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 56과 같이 F값이 1382 nm와 1426 nm의 ratio 일때 가장 큰 차이를 보였다.

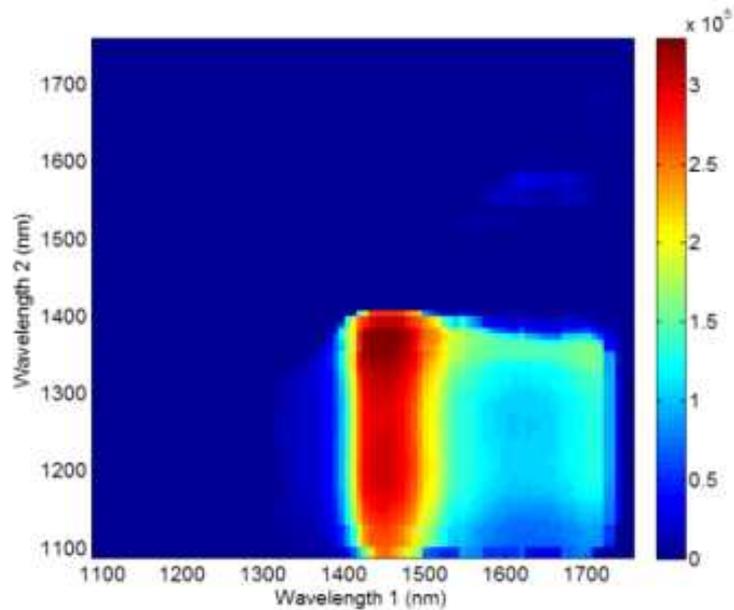


그림 56. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and heat stressed chinese cabbage leaves (1382 nm/1426 nm).

- 그림 57은 1382 nm와 1426 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 배춧잎과 고온스트레스를 받은 잎의 차이가 약 82% 나타남을 알 수 있었다. 한 개의 파장(1449 nm) 영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio (1397 nm/1456 nm)를 사용하는 것이 4.5% 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있었다.

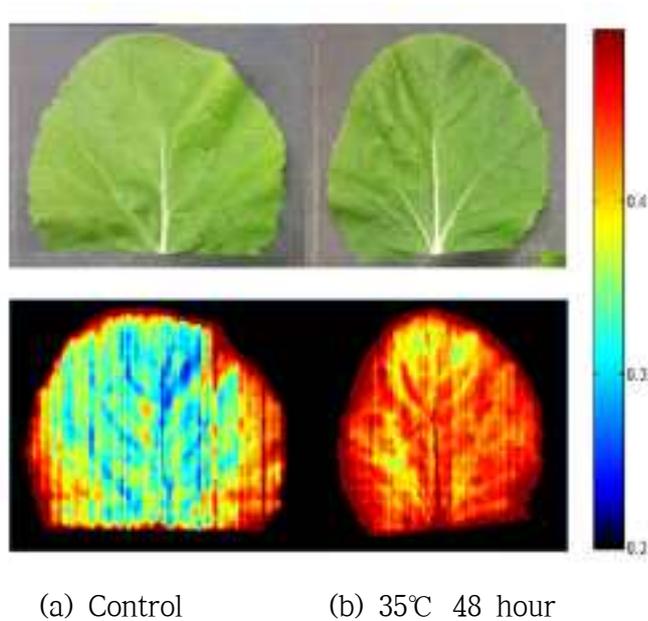


그림 57. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and heat stressed (b) chinese cabbage leaves (1382 nm/1426 nm).

라. 무

(1) 한발스트레스

- 특수 제작한 실내온실의 환경(25°C, 낮 16시간, 밤 8시간)에서 과중하여 30일 동안 자란 ‘세계시레기무’ 품종을 정상군 6개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 6개로 나누어 실험을 수행하였다.
- 물 공급을 중단한 후 시간에 따라 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 매일 측정하였다. 화분 내 토양수분량의 측정 편차를 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센서를 위치시켜 3번 측정한 값을 평균하여 사용하였다.
- 무 화분 내의 토양수분장력이 -50 kPa로 감소하였을 때 한발스트레스 증상이 잎표면에 명확하게 나타나기 시작하여 육안으로 판별하는 것이 가능하였다. 이때 무의 비파괴 생리적 지표를 알아보기 위해 초분광 형광과 단파적외선 영상을 촬영하였다.

(가) 무잎의 형광 특징 분석

- 그림 58은 획득된 정상군과 스트레스군(-50 kPa)의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸 것이다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 500 ~ 600 nm와 680 ~ 760 nm에서 차이가 나타났다. 500 ~ 600 nm는 Green yellow fluorescence 영역이며, 680 ~ 740 nm는 Chlorophyll-a의 형광 영역이다. 잎의 수분 공급이 부족해지면서 세포내 단백질 효소량의 변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값에 변화가 나타난 것으로 판단된다.

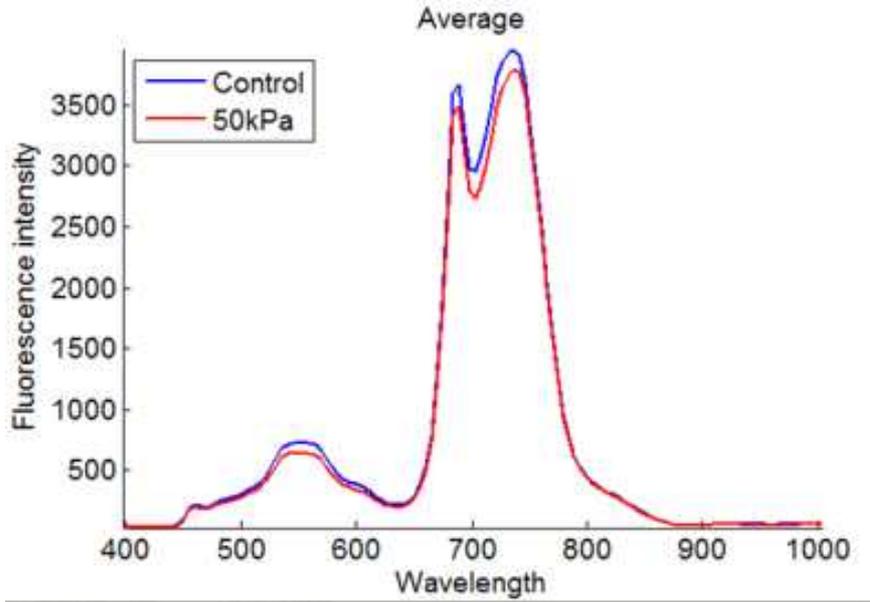


그림 58. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) daikon leaves.

(나) 분산분석(ANOVA)을 이용한 무잎의 형광 특징 판별

- 정상군과 스트레스군의 무잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 59와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 540 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 무잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 540 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

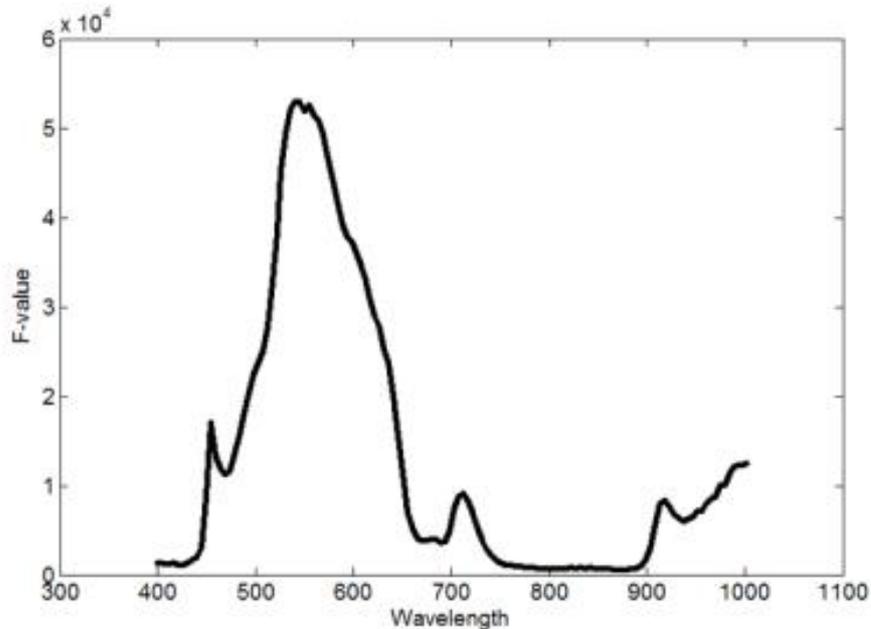
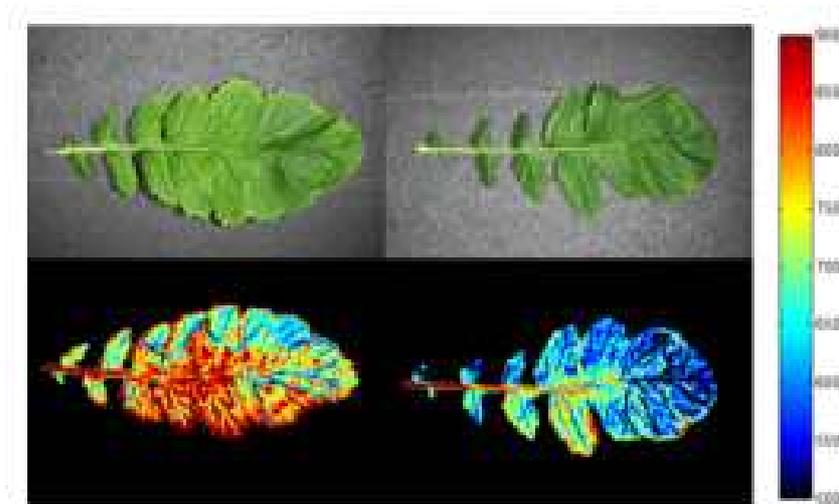


그림 59. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) daikon leaves.



(a) Control

(b) -50 kpa

그림 60. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) daikon leaves (540 nm).

- 그림 60은 540 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎과 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응이 약 67% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 또한 -50 kPa 이상의 스트레스를 받으면 형광반응이 감소함을 알 수 있었다.
- 그림 58의 평균그래프를 보면 680 nm 영역과 730 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 61과 같이 F값이 750 nm와 717 nm의 ratio에서 가장 큰 차이를 보였다.

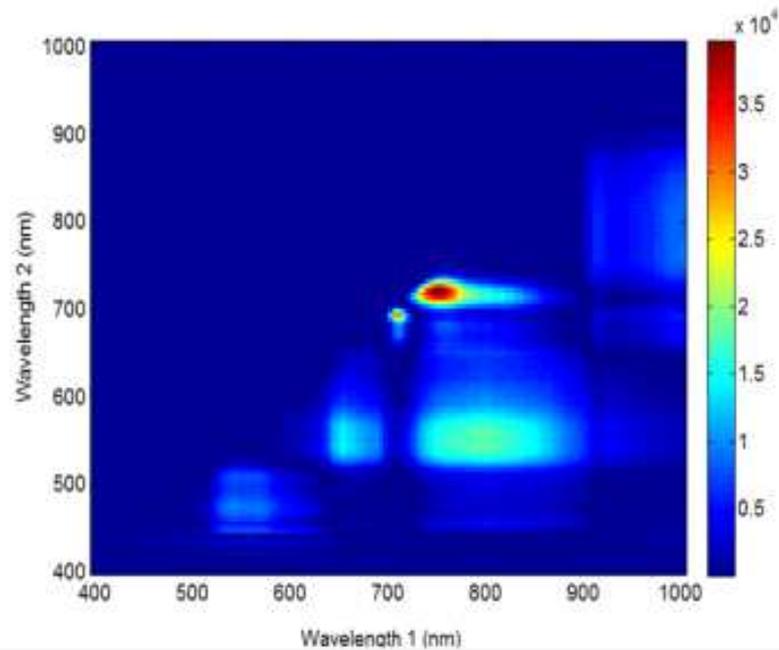
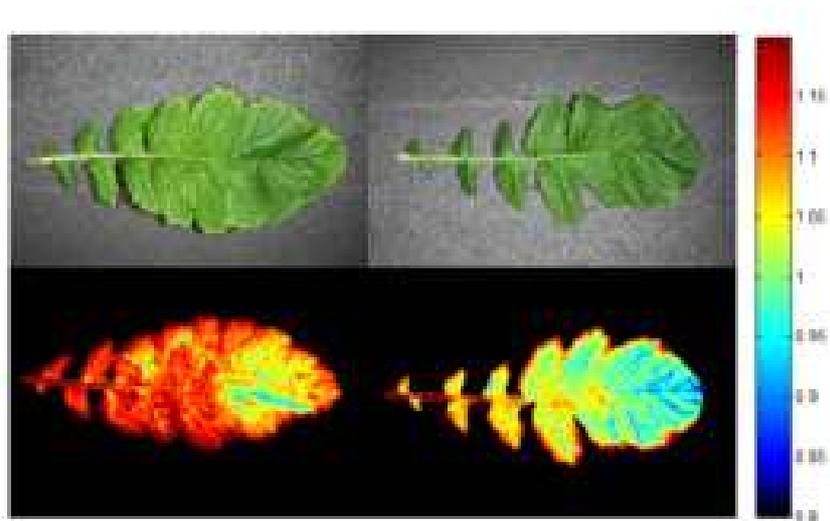


그림 61. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed daikon leaves (750 nm/717 nm).



(a) Control (b) -50 kpa

그림 62. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) daikon leaves (750 nm/717 nm).

- 그림 62는 740 nm와 717 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎과 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 64% 정도 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 파장(540 nm) 영역을 쓰는 것이 두 개의 750 nm와 717 nm를 사용하는 것보다 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있어 한 개의 형광파장만으로 무잎의 수분 스트레스를 구분할 수 있다는

결과를 보여주었다.

(다) 무잎의 SWIR 영상 특징 분석

- 단파적외선 영상의 광파장 특징을 보기위해 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼을 **그림 63**에 나타내었다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

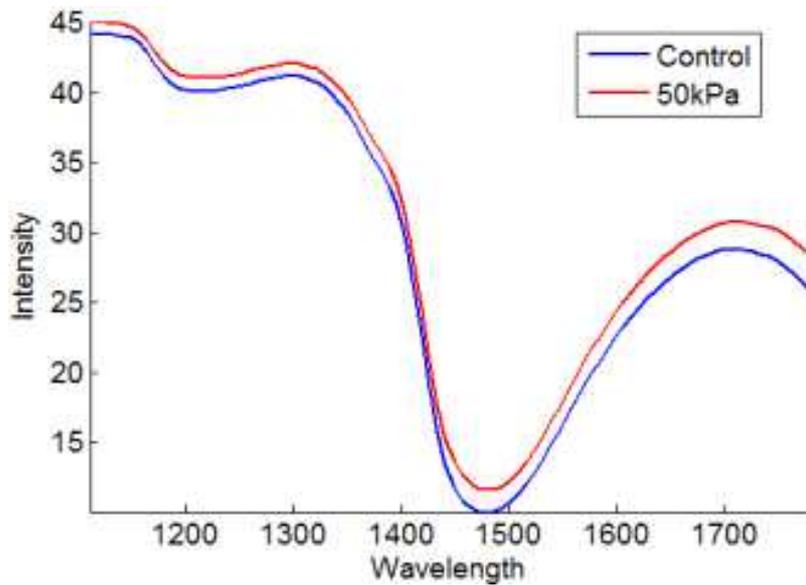


그림 63. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) daikon leaves.

(라) 분산분석을 이용한 무잎의 수분스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 무잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. **그림 64**와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1441 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 무잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1441 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

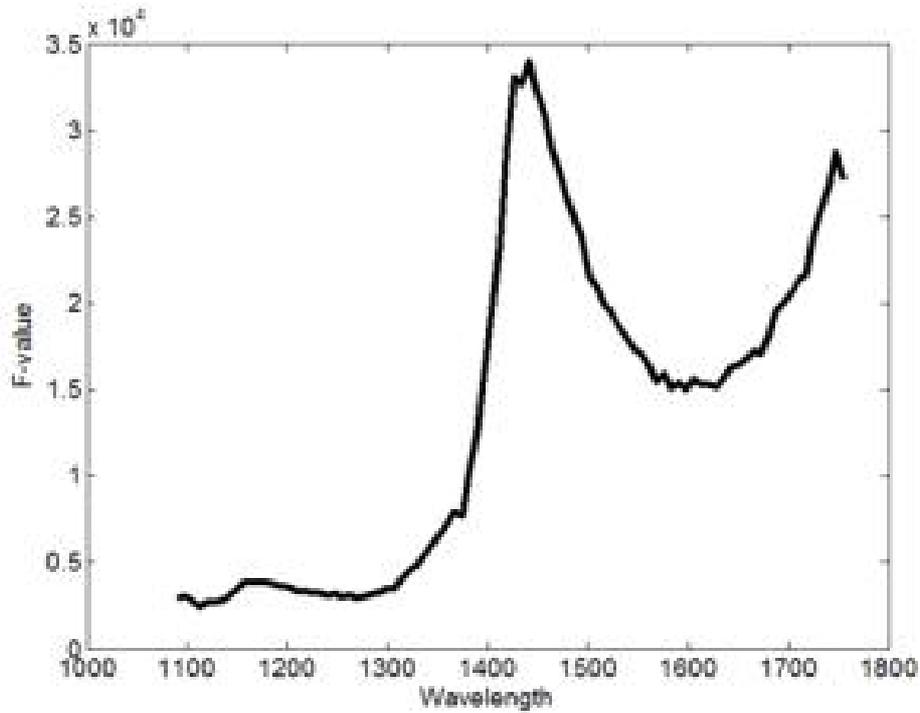


그림 64. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) daikon leaves.

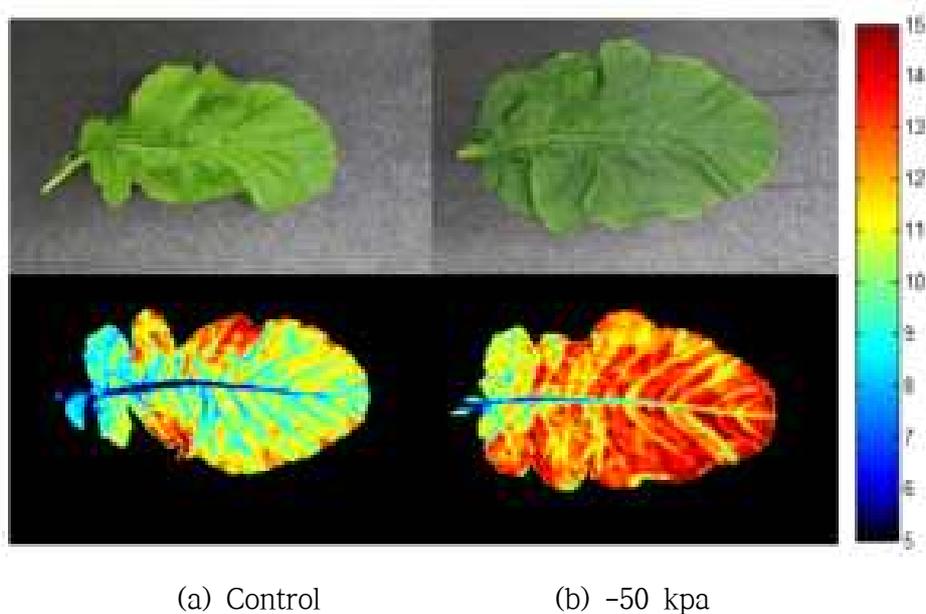


그림 65. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and water stressed (b) daikon leaves (1441 nm).

- 그림 65는 1441 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎보다 수분스트레스를 받은 잎의 반사값이 약 67% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 또한 -50 kPa 이상의 스트레스를 받으면 반사광 값이 증가함을 알 수 있는데 이는 수분이 상대적으로 적은 스트레스 노출 앞에서 수분

에 의한 흡수도가 낮기 때문이라 판단된다.

- 그림 63의 평균 스펙트럼을 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 파장들이 차이를 많이 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 66과 같이 F값이 1583 nm와 1426 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

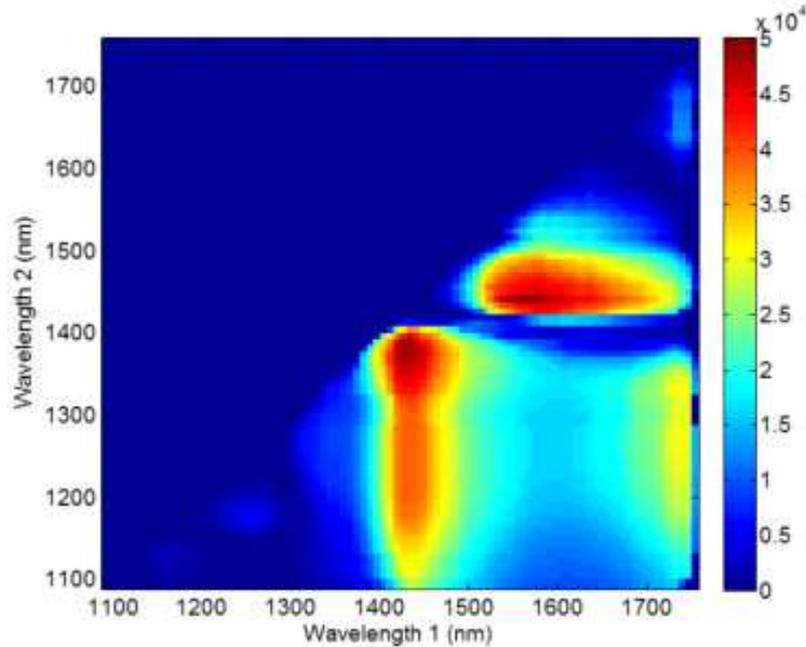
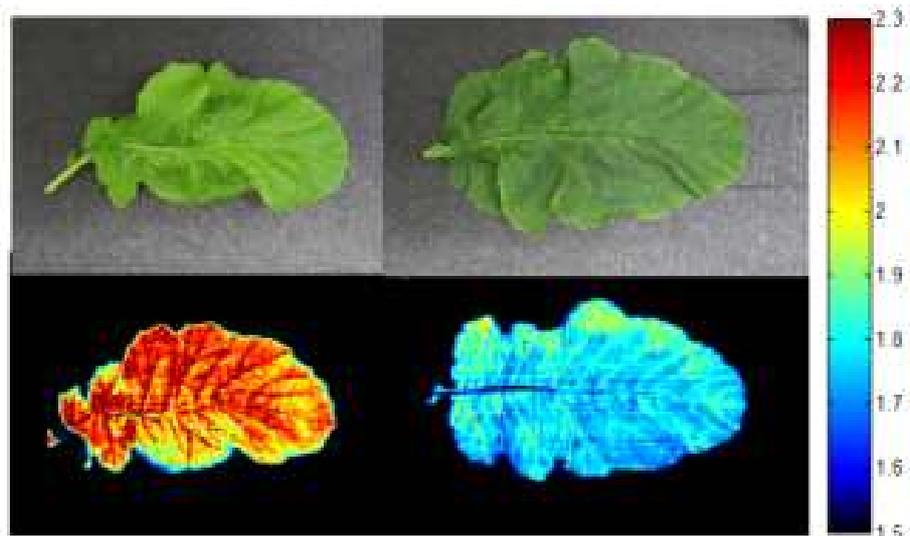


그림 66. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed daikon leaves (1583 nm/1426 nm).



(a) Control

(b) -50 kpa

그림 67. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and water stressed (b) daikon leaves (1583 nm/1426 nm).

- 그림 67은 1583 nm와 1426 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎과 수분스트레스를 받은 잎의 차이가 약 70% 정도 나타남을 알 수 있다. 이는 한 개의 1441 nm영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio(1583 nm/1426 nm)를 사용하는 것이 근소한 차이(3%)로 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있는 결과이다. 그러나 차이가 매우 적으므로 한 개의 파장영상을 사용해도 무방한 것으로 판단된다.

(2) 온도스트레스

- 저온스트레스(chilling stress)는 식물에 따라 약간의 차이가 있지만 물이 얼지 않는 정도의 온도인 약 0~15℃ 사이에서 일어난다. 대부분의 무는 발아에서 정식 전까지 온실에서 키워지는 경우가 대부분이기 때문에 온도장해를 받지 않는다. 하지만 정식 후에 갑작스러운 기상변화로 저온상해를 입을 수 있기 때문에 정식 이후의 단계를 대상으로 실험을 실시하였다.

(가) 환경조건

- 저온스트레스 환경을 만들기 위해 스트레스 그룹의 growth chamber 내부의 온도를 5℃ 유지하고, 나머지 내부 환경은 정상 상태의 환경과 동일하게 유지하였다. 정상 환경에서 보관하고 있던 무 6개를 저온환경의 growth chamber에 48시간 동안 노출하여 저온스트레스를 부여하였다. 이후 무의 잎을 추출하여 초분광 영상을 측정하였다.

(나) 실험 결과

① 초분광 형광 영상

- 그림 68은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 평균 형광값이 680 ~ 750 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다.

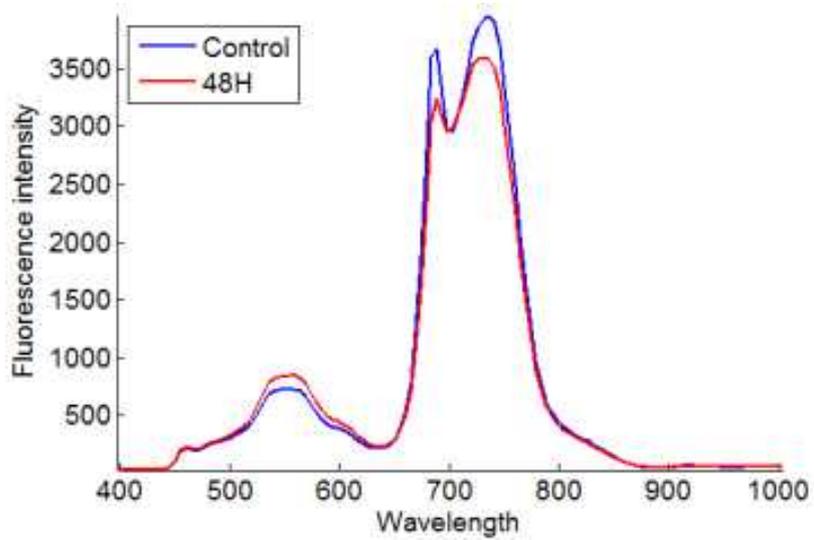


그림 68. Mean spectra of control and chilling stressed (48 hour) daikon leaves.

- 정상군과 스트레스군의 무잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 69와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 560 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 무잎의 저온스트레스 정도를 구분하기 위해 560 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.

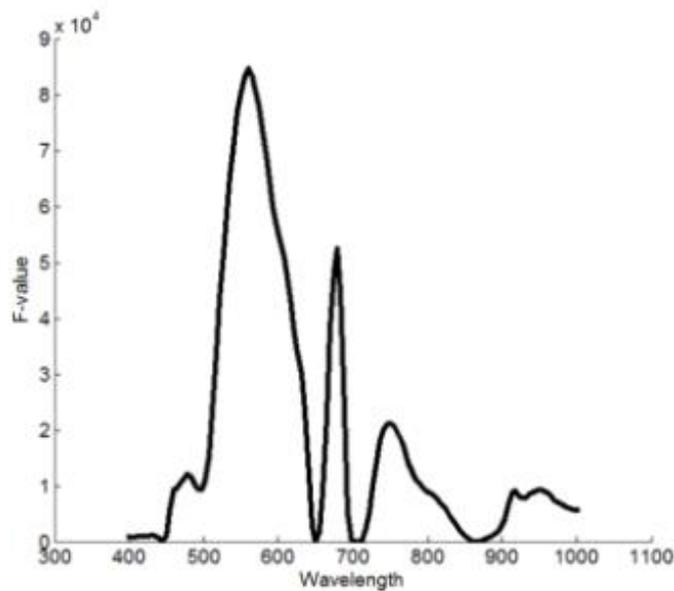
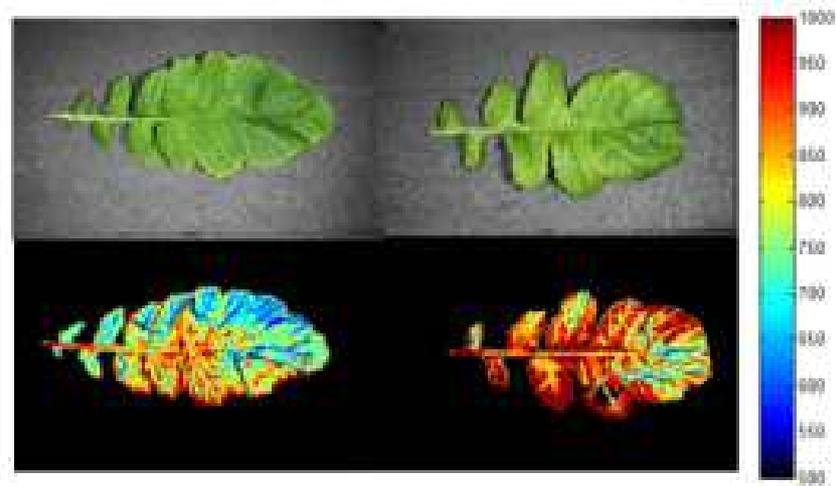


그림 69. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed (48 hour) daikon leaves.



(a) Control

(b) 5°C 48 hour

그림 70. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and chilling stressed (b) daikon leaves (560 nm).

- 그림 70은 560 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎보다 저온스트레스를 받은 잎의 형광 반응 차이가 약 66%가 나타남을 알 수 있었다. 48시간동안 저온스트레스를 받으면 형광반응이 증가함을 알 수 있었다.
- 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 잘 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법으로 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 71과 같이 F값이 703 nm와 684 nm의 파장비 값에서 가장 큰 차이를 보였다.

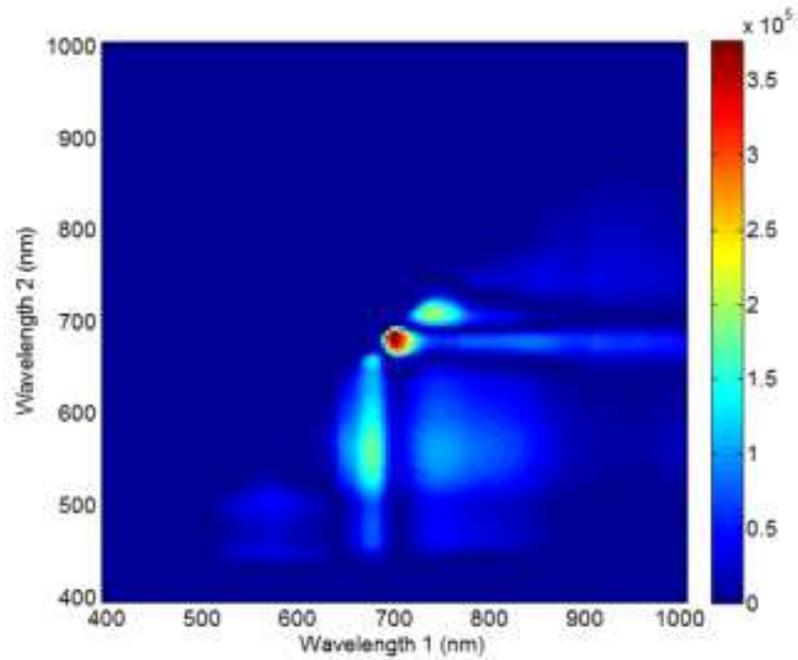


그림 71. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed daikon leaves (703 nm/684 nm).

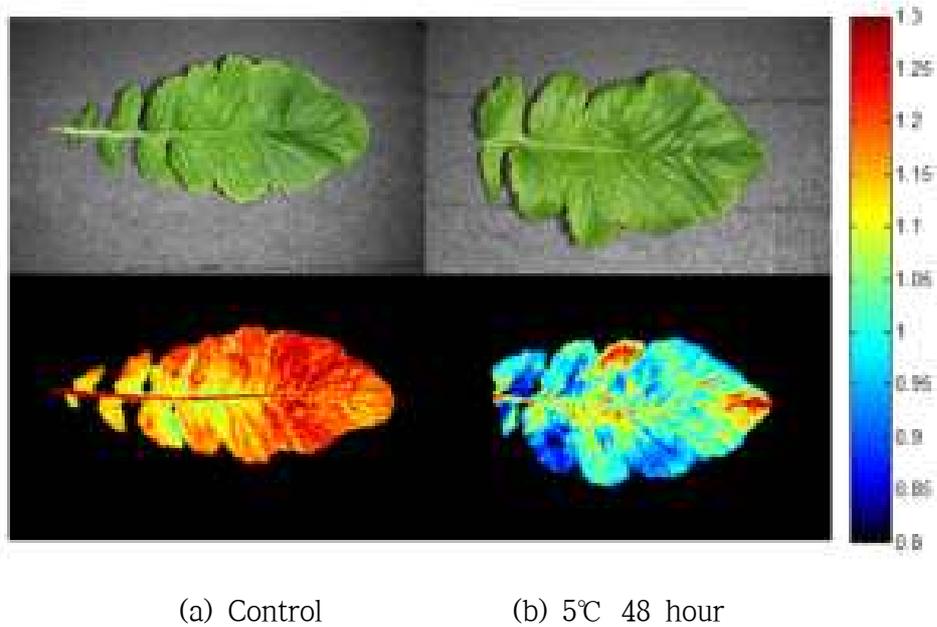


그림 72. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and chilling stressed (b) daikon leaves (703 nm/683 nm).

- 그림 72은 703 nm와 683 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎보다 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응이 약 83% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 560 nm 영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio(713 nm/683 nm)를 사용하는 것이 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있는 결과이다.

① 초분광 SWIR 영상

- 그림 73에 나타나듯이 정상군과 스트레스군의 평균 스펙트럼은 차이가 보이긴 하나, 명확하게 파장의 패턴이 차이가 나는 것을 확인하기 어렵다. 이 파장들 중에서 스트레스 증상을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

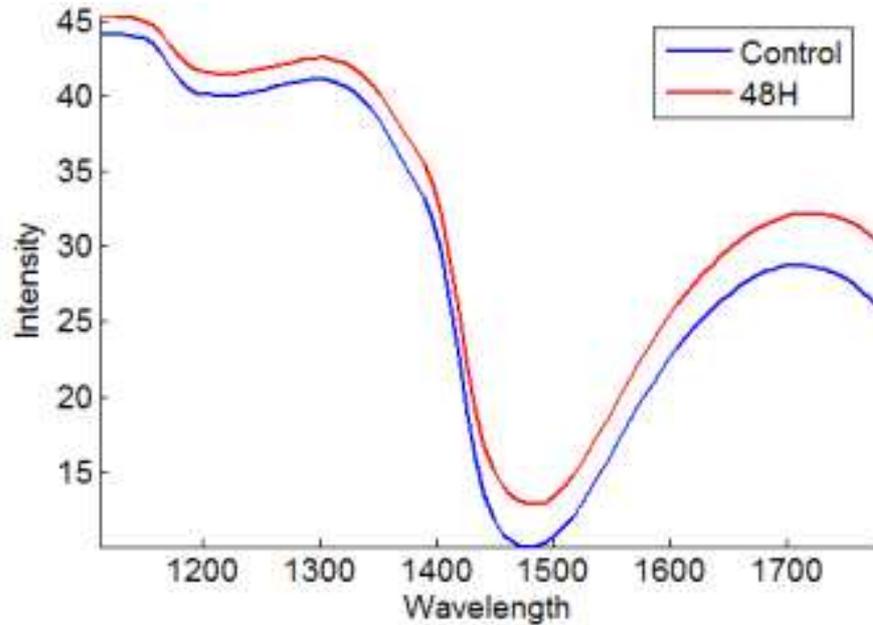


그림 73. Mean spectra of control and chilling stressed (48 hour) daikon leaves.

(다) 분산분석을 이용한 무잎의 저온스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 무잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 74와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1441 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 무잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1441 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.

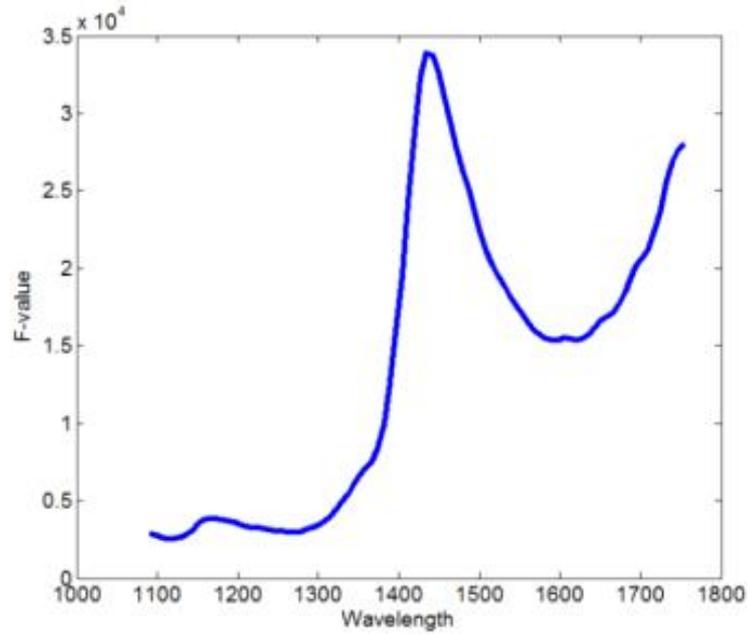
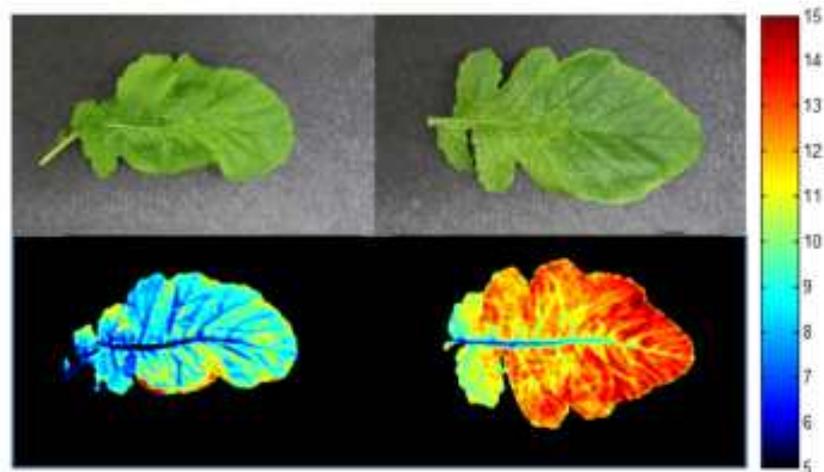


그림 74. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed (48 hour) daikon leaves.



(a) Control (b) 5°C 48 hour

그림 75. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and chilling stressed (b) daikon leaves (1441 nm).

- 그림 75는 1441 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎과 저온스트레스를 받은 잎의 반사값이 약 74% 차이가 나타남을 알 수 있다. 저온스트레스를 받았을 경우 반사값이 증가함을 알 수 있다.
- 그림 73의 평균그래프를 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확히 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여

F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 76과 같이 F값이 1382 nm와 1426 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

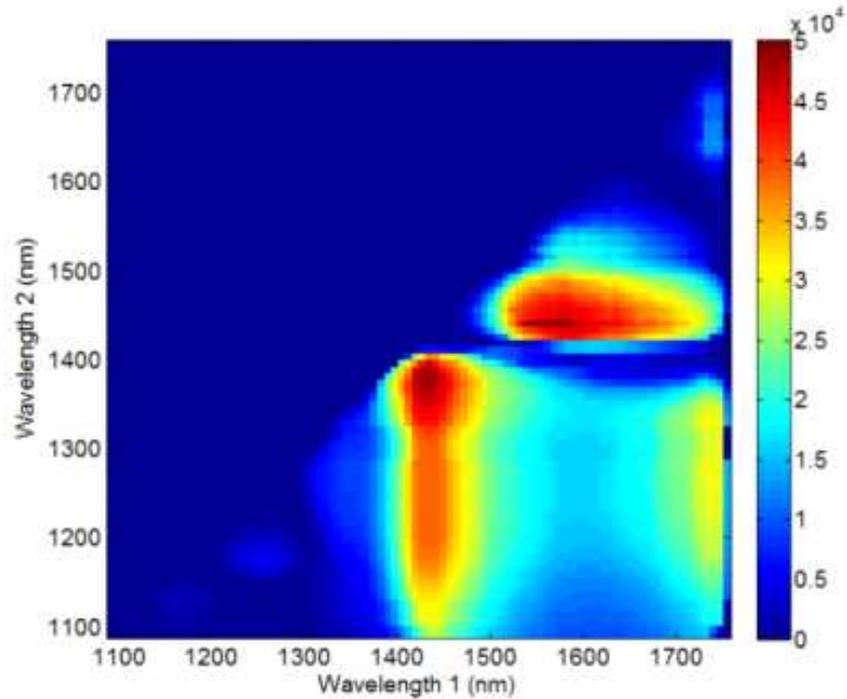
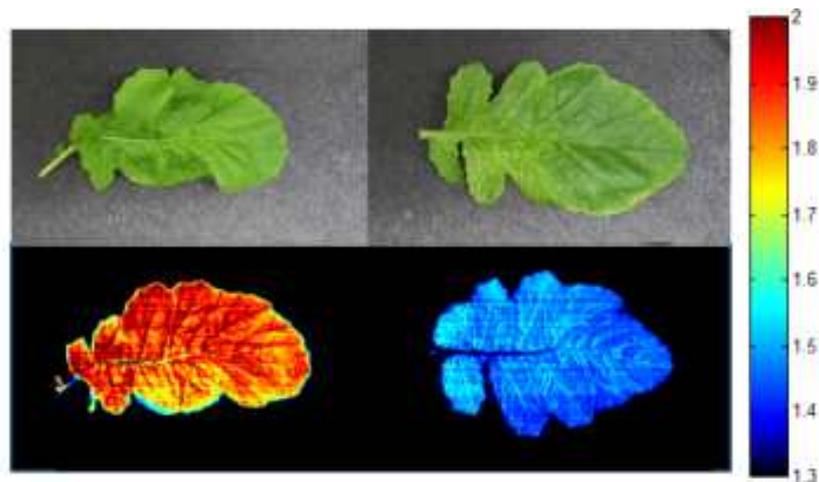


그림 76. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed daikon leaves (1382 nm/1426 nm).



(a) Control

(b) 5°C 48 hour

그림 77. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and stressed (b) daikon leaves (1382 nm/1426 nm).

- 그림 77은 1382 nm와 1426 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 무잎과 저온스트레스를 받은 잎의 차이가 약 78% 정도 나타남을 알 수 있다. 이는 한 개의 파장(1441 nm)영역을

쓰는 것 보다 두 개의 파장비 (1560 nm/1426 nm)를 사용하는 것이 근소한 값(4%)으로 더 높은 구분 정확도를 보이는 결과였다.

라. 수박

(1) 한발스트레스

- 특수 제작한 실내온실의 환경(25°C, 낮 16시간, 밤 8시간)에서 파종하여 30일 동안 자란 수박을 정상군 6개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 6개로 나누어 실험을 수행하였다.
- 물 공급을 중단한 후 시간에 따라 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다. 화분의 수분량 측정을 위해 매일 텐시오미터를 이용하였으며, 화분 내 토양수분량의 측정 편차를 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센서를 위치시켜 3번 측정한 값을 평균하여 사용하였다.
- 수박 화분 내의 토양수분장력이 -50 kPa로 감소하였을 때, 수분스트레스 증상이 잎표면에 명확하게 나타나기 시작하여 육안으로 판별하는 것이 가능하였다. 이때 수박의 생리적 지표를 알아보기 위해 초분광 형광과 단파적외선 영상을 획득하였다.

(가) 수박잎의 형광 특징 분석

- 그림 78은 획득된 정상군과 스트레스군(-50 kPa)의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 500 ~ 600 nm와 680 ~ 760 nm에서 차이가 나타났다. 500 ~ 600 nm는 Green yellow fluorescence 영역이며, 680 ~ 740 nm는 Chlorophyll-a의 형광 영역이다. 잎의 수분 공급이 부족해지면서 세포내 단백질 효소량의 변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값의 변화가 나타난다.

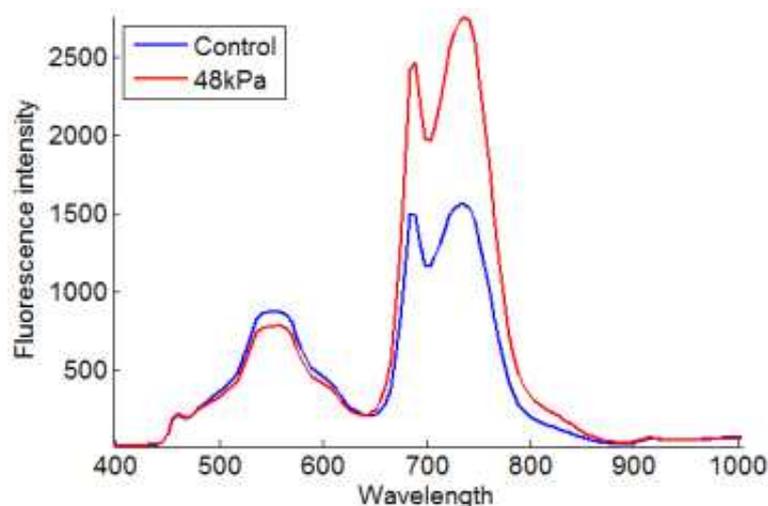


그림 78. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) watermelon leaves.

(나) 분산분석(ANOVA)을 이용한 수박잎의 형광 특징 판별

- 정상군과 스트레스군의 수박잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. **그림 79**와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 765 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 수박잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 765 nm의 영상을 추출하여 **그림 80**과 같이 영상으로 표현하였다.

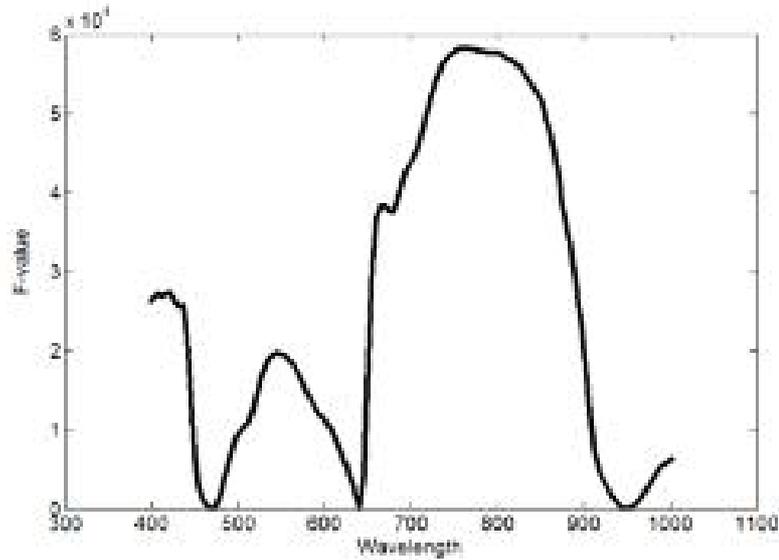
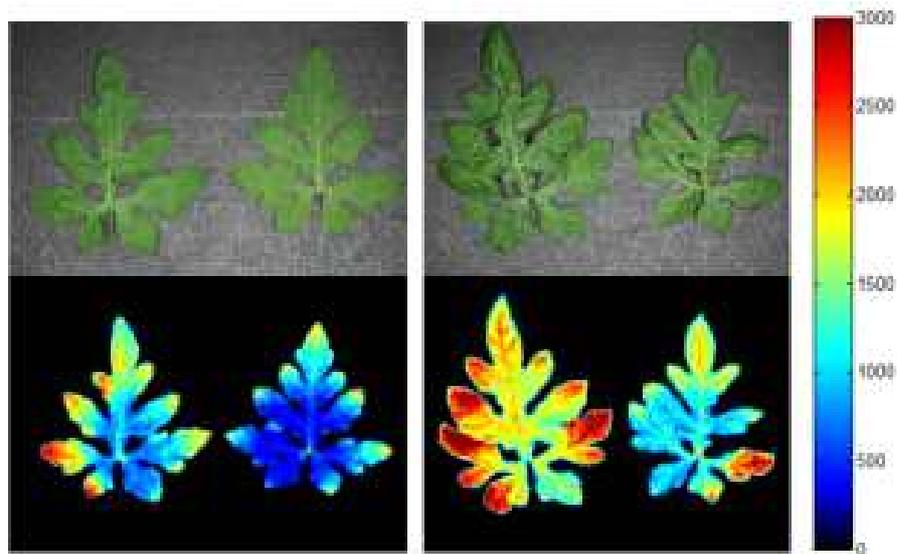


그림 79. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) watermelon leaves.



(a) Control

(b) -50 kpa

그림 80. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) watermelon leaves (765 nm).

- **그림 80**은 765 nm의 파장에서 정상군과 스트레스군의 형광반응을 이미지로 표현한 것

이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 수박잎과 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 66% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 수분스트레스를 -50 kPa 이상으로 받으면 형광반응이 증가함을 알 수 있다.

- 그림 78의 평균 스펙트럼을 보면 680 nm 영역과 730 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 81과 같이 F값이 755 nm와 664 nm의 파장비값에서 가장 큰 차이를 보였다.

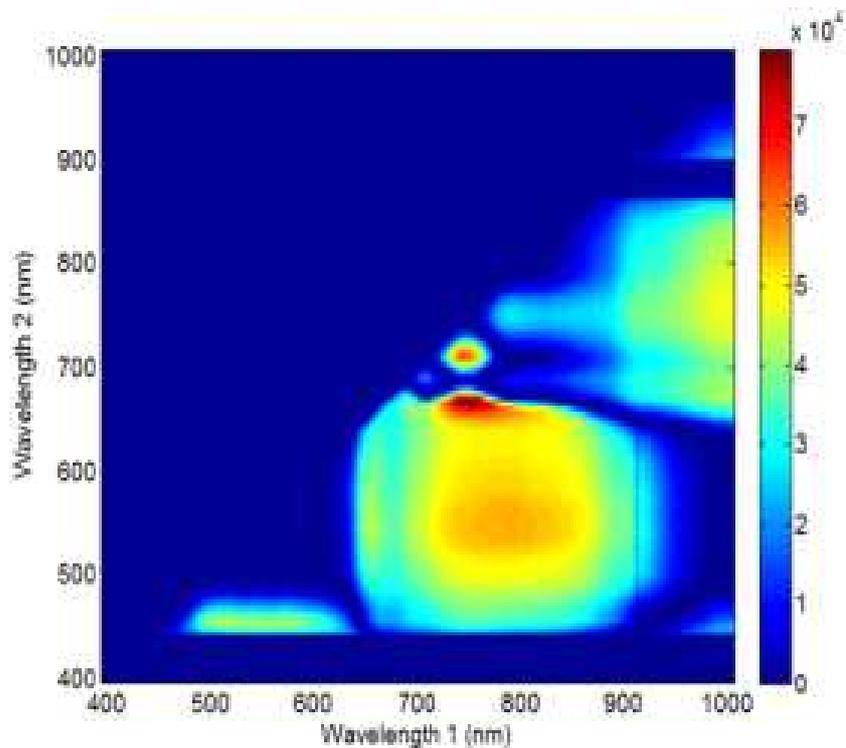
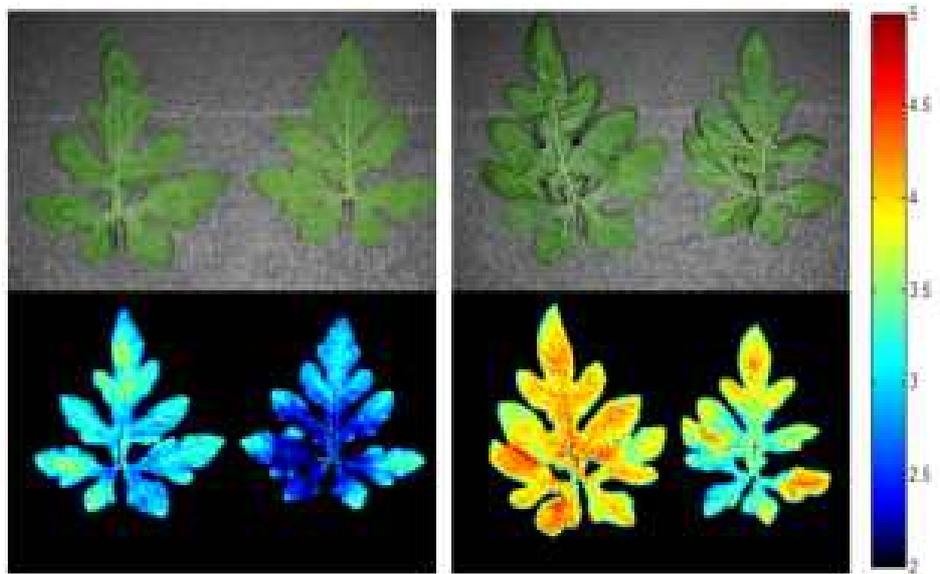


그림 81. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed watermelon leaves (755 nm/664 nm).



(a) Control

(b) -50 kpa

그림 82. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and water stressed (b) watermelon leaves (755 nm/664 nm).

- 그림 82는 755 nm와 664 nm의 파장비를 이용한 형광반응 이미지를 정상군과 스트레스 군으로 나누어 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 수박잎보다 수분스트레스를 받은 잎과 형광반응 차이가 약 71% 정도 나타남을 알 수 있다. 765 nm 영역의 파장을 하나 사용하는 것 보다 755 nm와 664 nm의 두 개 파장을 사용하는 것이 근소한 값(4%)으로 더 높은 구분 정확도를 보였다.

(다) 수박잎의 SWIR 영상 특징 분석

- 그림 78에 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼을 나타내었다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

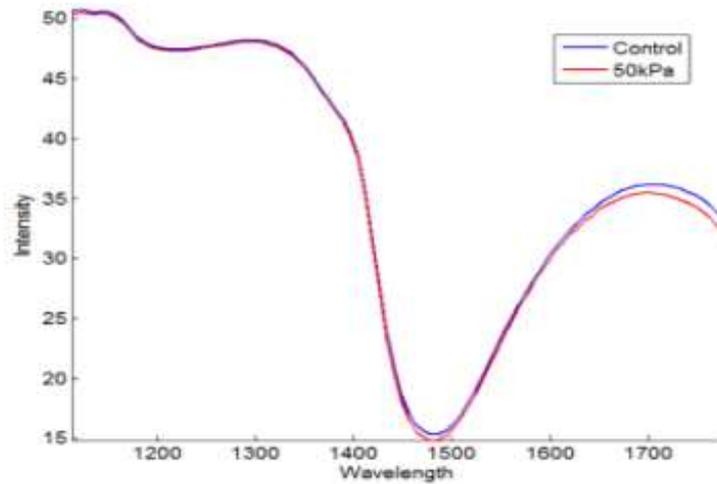


그림 83. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) watermelon leaves.

(라) 분산분석을 이용한 수박잎의 수분스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 수박잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 83과 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1747 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 수박잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1747 nm의 영상을 그림 84에 나타내었다.

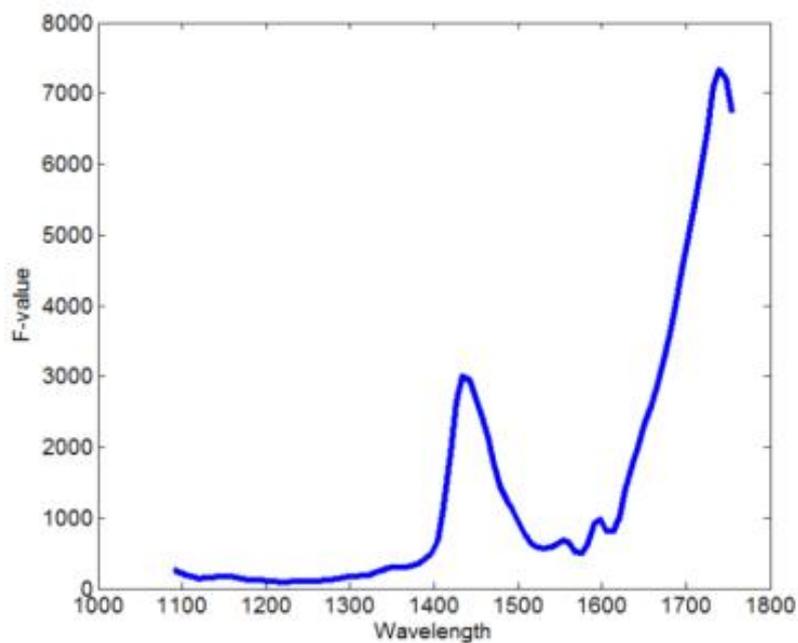


그림 84. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) watermelon leaves.

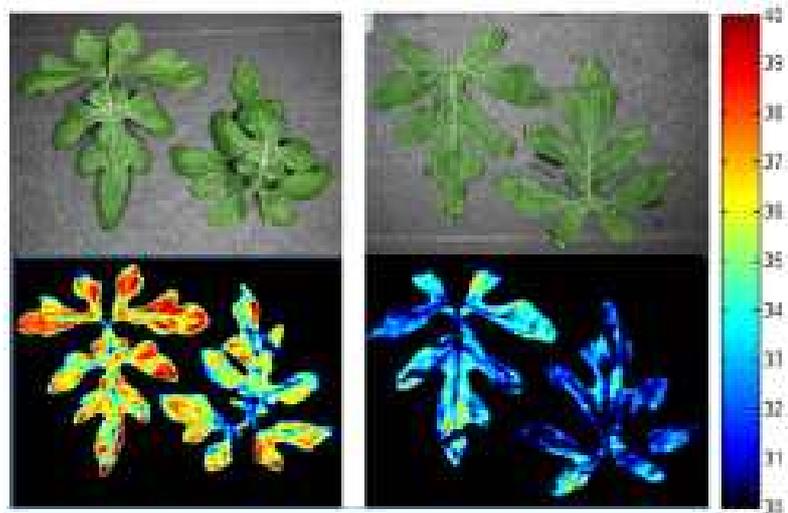


그림 85. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and water stressed (b) watermelon leaves (1747 nm).

- 그림 85은 1747 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 수박잎과 수분스트레스를 받은 잎의 반사값 차이가 약 60% 정도 나타남을 알 수 있었다. -50 kPa 이상의 스트레스를 받으면 반사광값이 증가함을 알 수 있었다.
- 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 86과 같이 F값이 1732 nm와 1620 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

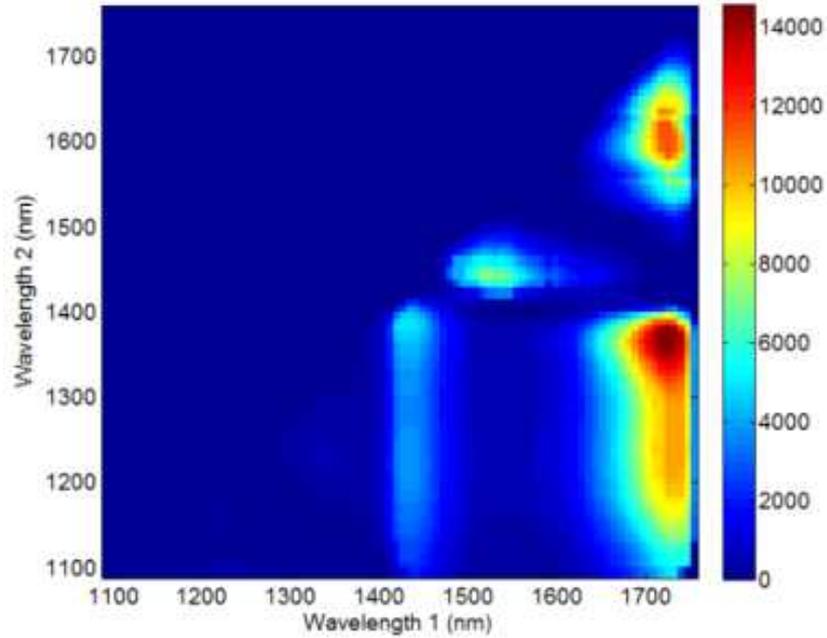


그림 86. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed watermelon leaves (1732 nm/1620 nm).

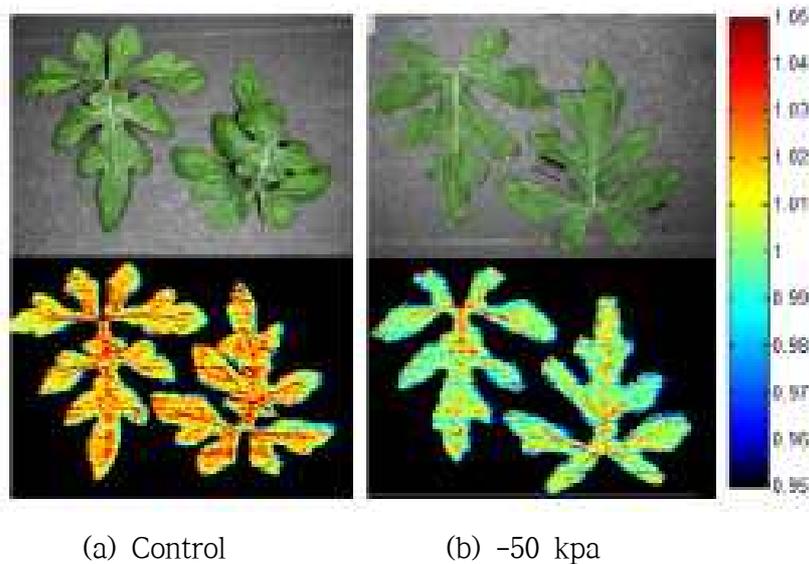


그림 87. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and water stressed (b) chinese cabbage leaves (1732 nm/1620 nm).

- 그림 87은 1732 nm와 1620 nm의 반사광 영상을 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 수박잎과 수분스트레스를 받은 잎의 차이가 약 66% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 파장(1732 nm)영역을 쓰는 것 보다 두 파장의 ratio (1732 nm/1620 nm)를 사용하는 것이 더 높은 구분 정확도를 보여주는 결과이다.

(2) 온도스트레스

- 저온스트레스(chilling stress)는 식물에 따라 약간의 차이가 있지만 물이 얼지 않는 정도의 온도인 약 0~15°C 사이에서 일어난다. 대부분의 수박은 밭에서 정식 전까지 온실에서 키워지는 경우가 대부분이기 때문에 온도장애를 받지 않는다. 하지만 정식 후에 갑작스러운 기상변화로 저온상해를 입을 수 있기 때문에 정식 이후의 단계를 대상으로 실험을 실시하였다.

(가) 환경조건

- 저온스트레스 환경을 만들기 위해 다른 growth chamber 환경을 5°C로 유지하고, 나머지 환경은 정상 상태의 환경과 동일하게 유지하였다. 정상 환경에서 보관한 수박 6개를 저온환경의 growth chamber에 48시간 동안 보관하여 저온스트레스에 노출시켰다. 이후 수박의 잎을 추출하여 초분광 영상을 획득하였다.

(나) 실험 결과

① 초분광 형광 영상

- 그림 88은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸 것이다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 평균 형광값이 680 ~ 750 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다.

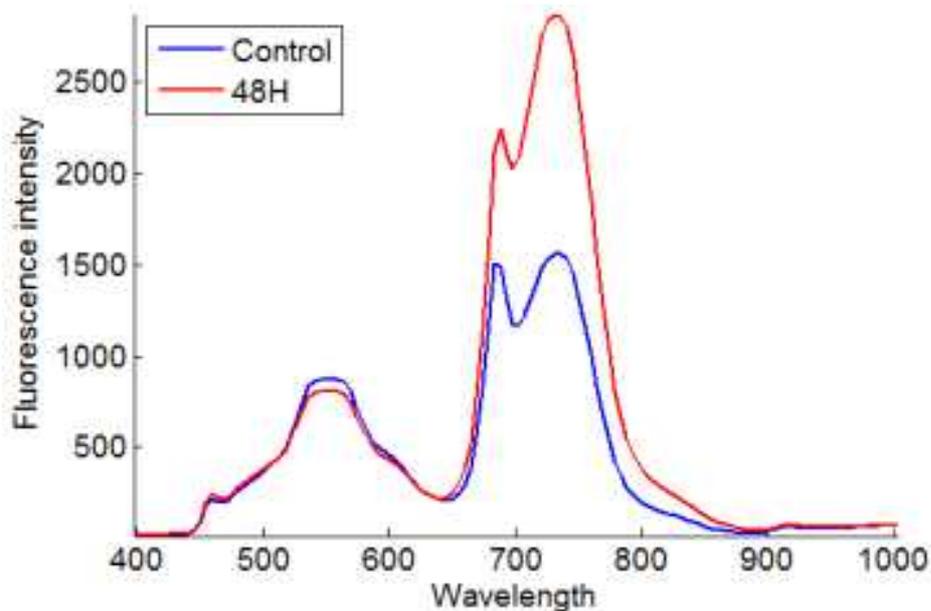


그림 88. Mean spectra of control and chilling stressed (48 hour) watermelon leaves.

- 정상군과 스트레스군의 수박잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 89와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 793 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 수박잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 793 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.

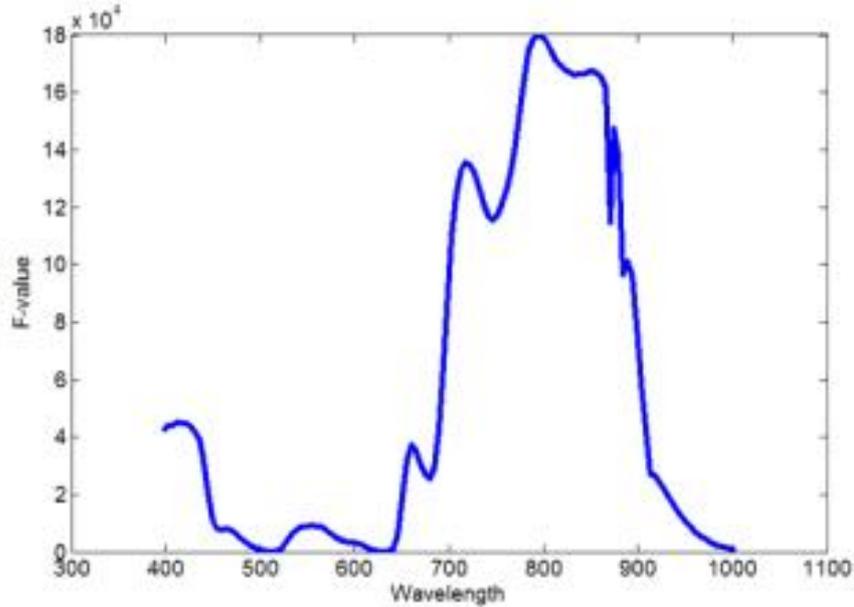


그림 89. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed (48 hour) watermelon leaves.

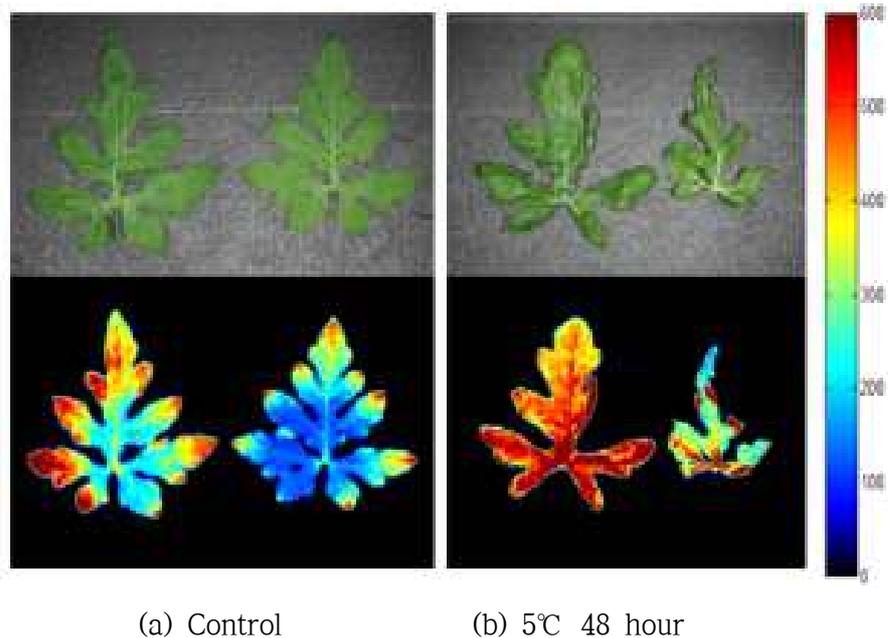


그림 90. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) watermelon leaves (793 nm).

- 그림 90는 793 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 수박잎과 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 79% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 저온스트레스를 받으면 형광반응이 증가함을 보였다.
- 그림 88의 평균그래프를 보면 680 nm ~ 750 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 확인하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 91과 같이 F값이 707 nm와 670 nm의 ratio 값에서 가장 큰 차이를 보였다.

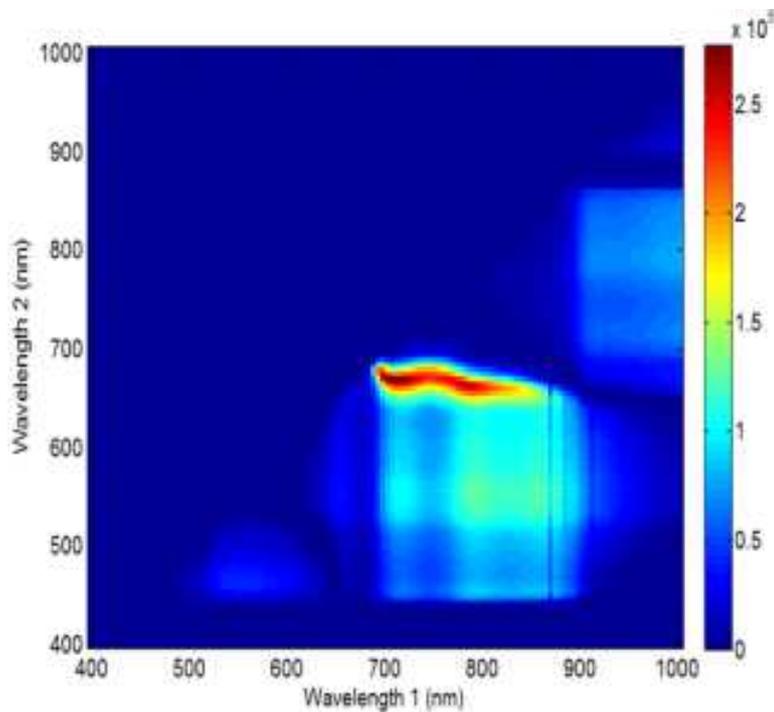
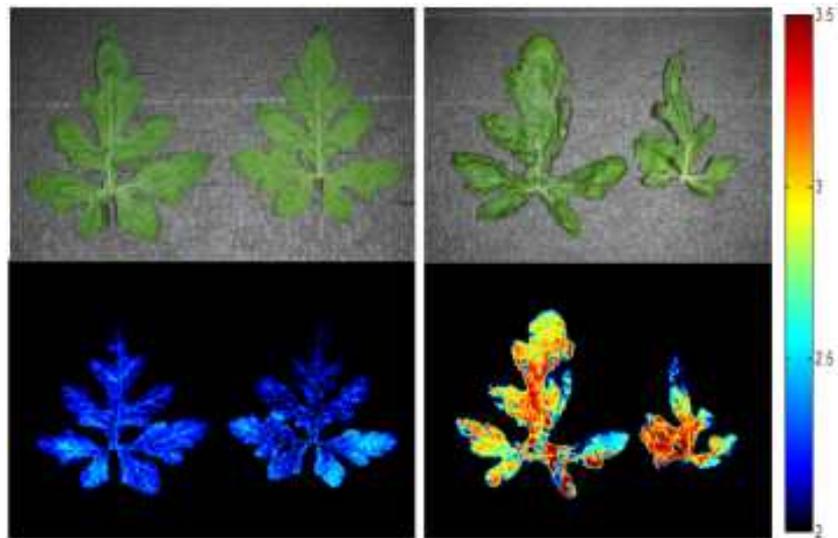


그림 91. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed watermelon leaves (707 nm/670 nm).



(a) Control

(b) 5°C 48 hour

그림 92. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) watermelon leaves (707 nm/670 nm).

- 그림 92는 707 nm와 670 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 수박잎과 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 87% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 793 nm 영역만을 사용하는 것 보다 두 개의 707 nm와 670 nm 영상을 비율로 사용하는 것이 더 높은 구분 정확도를 보여주는 결과이다.

② 초분광 SWIR 영상

- 그림 93은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼에서 1400 nm ~ 1500 nm에서 차이를 보이는 것을 알 수 있다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

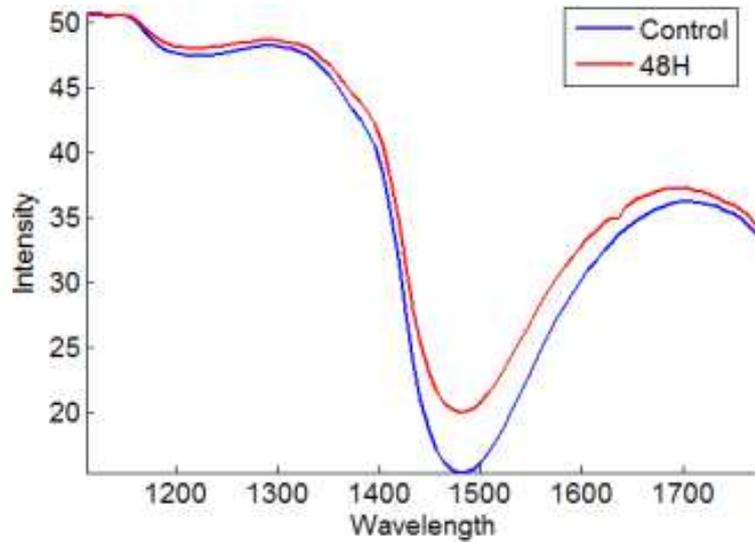


그림 93. Mean spectra of control and chilling stressed (48 hour) watermelon leaves.

(라) 분산분석을 이용한 수박잎의 저온스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 수박잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 94와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1471 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 수박잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1471 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

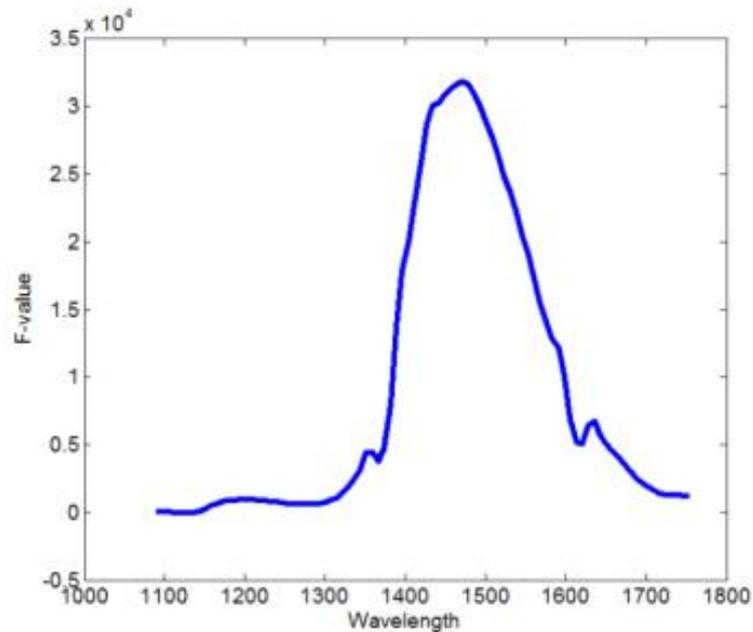
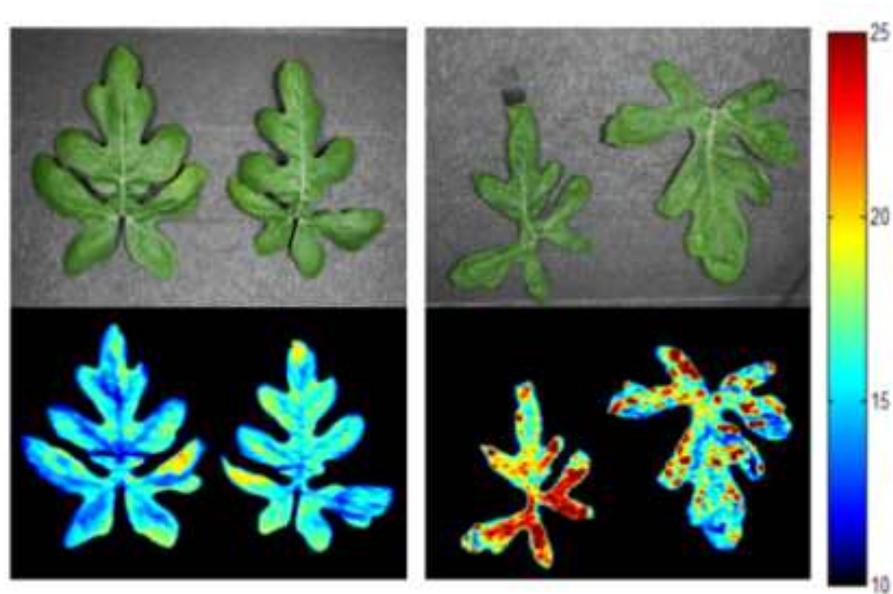


그림 94. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed (48hour) watermelon leaves.



(a) Control

(b) 5°C 48 hour

그림 95. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and chilling stressed (b) watermelon leaves (1471 nm).

- 그림 95는 1471 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 수박잎과 저온스트레스를 받은 잎의 반사값 차이가 약 72% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 저온스트레스를 받으면 반사값이 증가함을 알 수 있었다.
- 그림 93의 평균그래프를 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 96과 같이 F값이 1732 nm와 1583 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

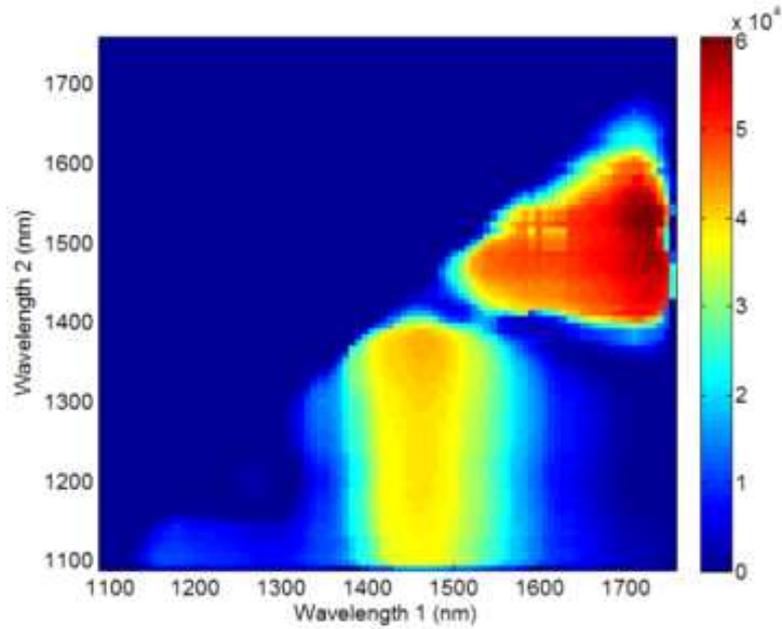


그림 96. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed watermelon leaves (1732 nm/1583 nm).

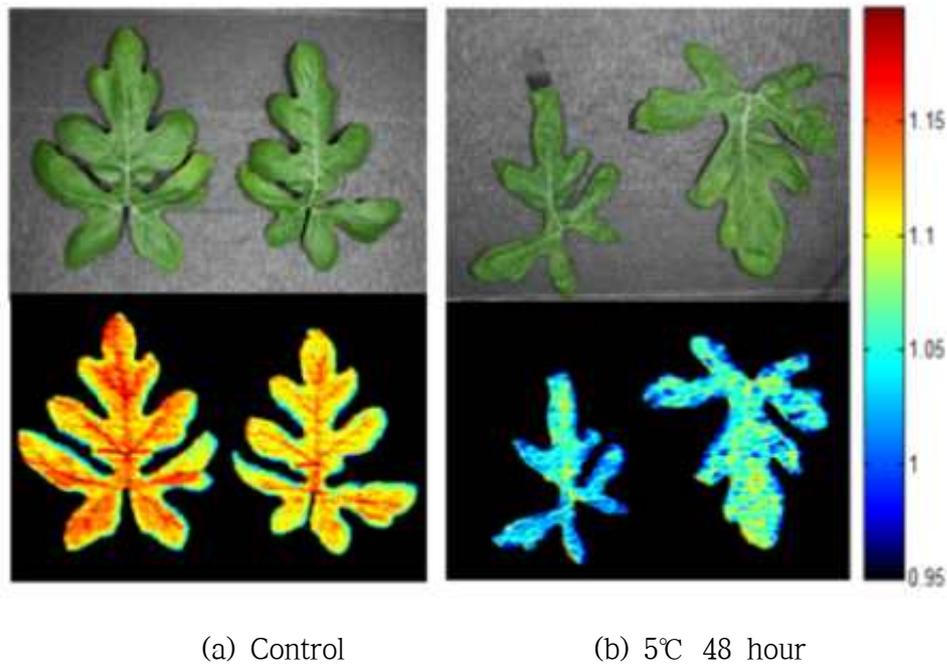


그림 97. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and chilling stressed (b) watermelon leaves (1732 nm/1583 nm).

- 그림 97은 1732 nm와 1583 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현한 것이다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 수박잎보다 저온스트레스를 받은 잎의 차이가 약 78% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 1471 nm 영역의 파장을 이용하는 것 보다 두 개 파장영상, 즉 1732 nm와 1583 nm의 영상을 사용

하는 것이 더 높은 구분 정확도를 보여주는 것이다.

마. 파프리카

(1) 한발스트레스

- 특수 제작한 실내온실의 환경(25℃, 낮 16시간, 밤 8시간)에서 파종하여 30일 동안 자란 파프리카를 정상군 6개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 6개로 나누어 실험을 수행하였다.
- 물 공급을 중단한 후 시간에 따라 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다. 화분의 수분량 측정을 위해 매일 텐시오미터를 이용하였으며, 화분 내 토양수분량의 측정 편차를 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센서를 위치시켜 3번 측정한 값을 평균하여 사용하였다.
- 파프리카 화분 내의 토양수분장력이 -50 kPa로 감소하였을 때 수분스트레스 증상이 잎표면에 명확하게 나타나기 시작하여 육안으로 판별하는 것이 가능하였다. 이때 파프리카의 생리적 지표를 알아보기 위해 초분광 형광과 단파적외선 영상을 촬영하였다.

(가) 파프리카잎의 형광 특징 분석

- 그림 98은 획득된 정상군과 스트레스군(-50 kPa)의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸 것이다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 형광값이 500 ~ 600 nm와 680 ~ 760 nm에서 차이가 나타났다. 잎의 수분 공급이 부족해지면서 세포내 단백질 효소량의 변화와 엽록소 활성이 변화하면서 형광값의 변화가 스펙트럼으로 표출된 것으로 판단된다.

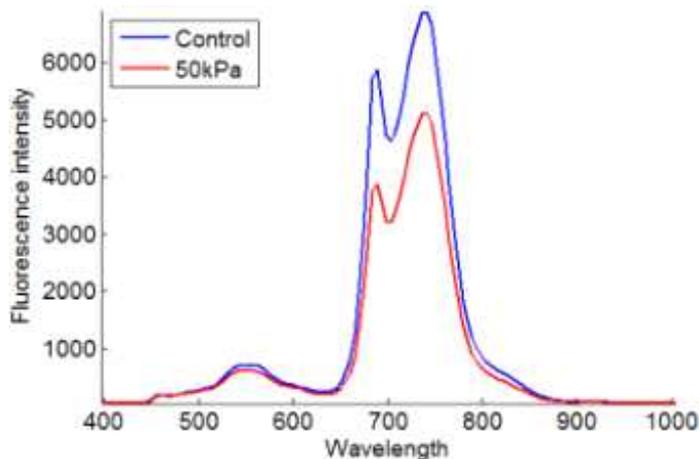


그림 98. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) paprika leaves.

(나) 분산분석(ANOVA)을 이용한 파프리카잎의 형광 특징 판별

- 정상군과 스트레스군의 파프리카잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규

명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 99와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 683 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 파프리카잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 683 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

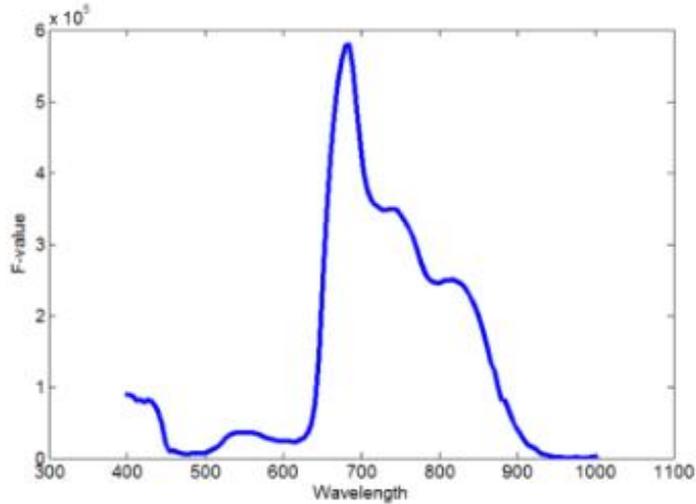


그림 99. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) paprika leaves.

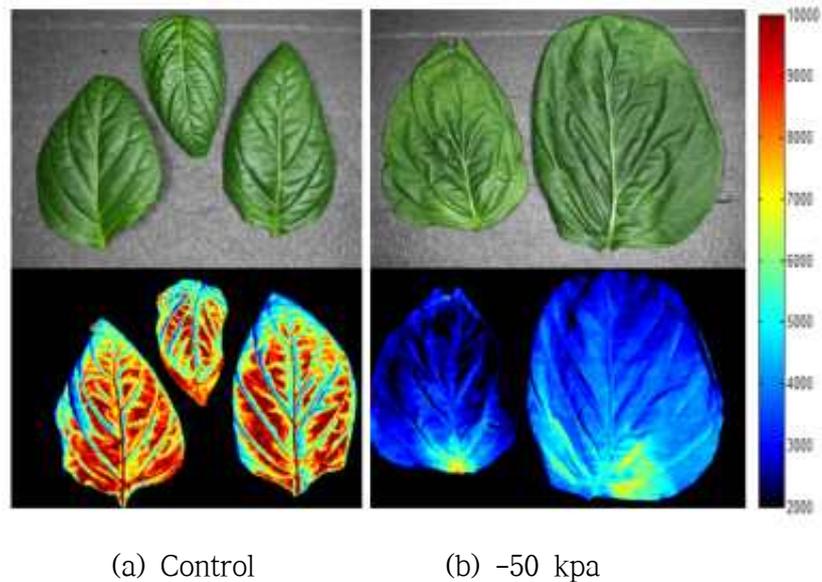


그림 100. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (683 nm).

- 그림 100은 683 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 파프리카잎과 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 83% 차이가 나타남을 알 수 있었다. -50 kPa 이상의 수분스트레스를 받으면 형광반응이 증가함을 알 수 있었다.

- 그림 98의 평균스펙트럼 그래프에서 680 nm 영역과 730 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지를 분석하였다. 분석을 위해 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산 분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 101과 같이 F값이 731 nm와 688 nm의 파장비값에서 가장 큰 차이를 보였다.

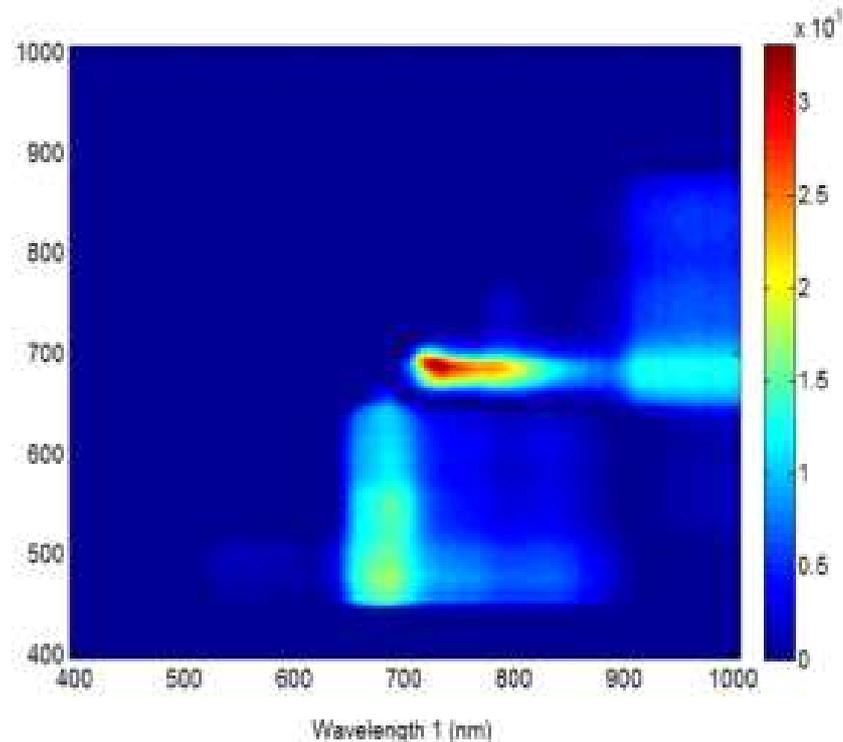
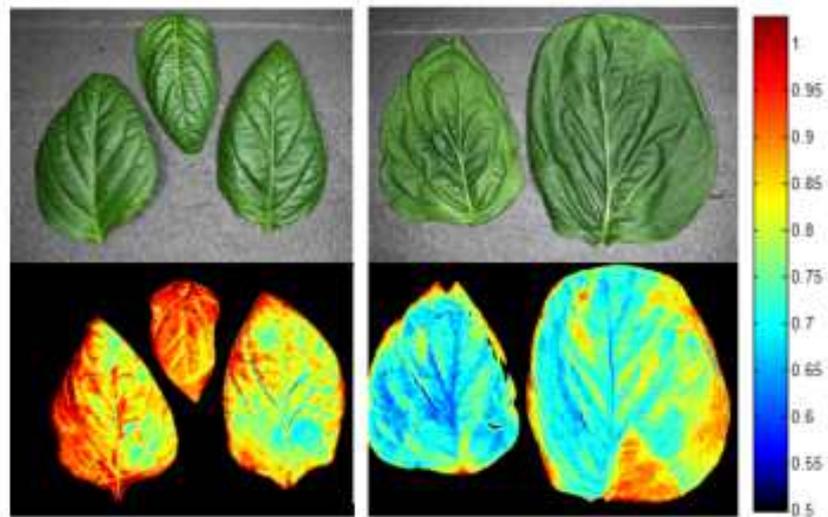


그림 101. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and water stressed paprika leaves (731 nm/688 nm).



(a) Control

(b) -50 kpa

그림 102. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (731 nm/688 nm).

- 그림 102는 731 nm와 688 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 파프리카잎보다 수분스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 76% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 683 nm 영역의 파장 한 개를 사용하는 것이 두 개의 파장영상, 731 nm와 688 nm를 사용하는 것보다 더 높은 구분 정확도를 보여주는 것이다.

(다) 파프리카잎의 SWIR 영상 특징 분석

- 그림 103은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼을 나타낸 것이다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

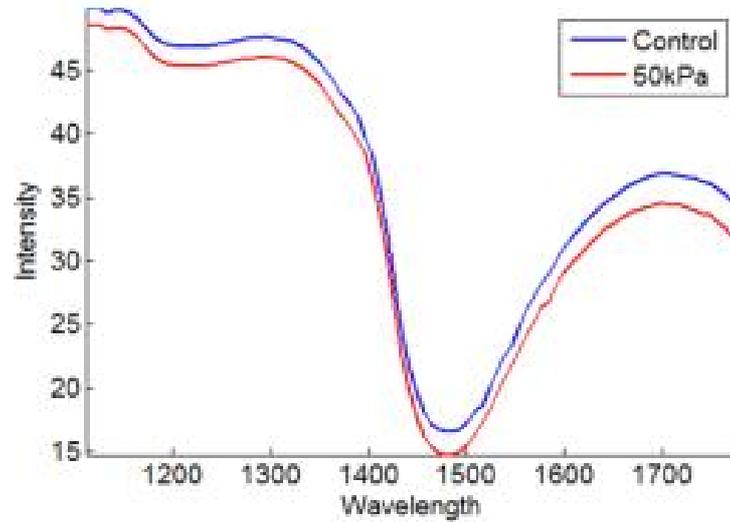


그림 103. Mean spectra of control and water stressed (-50 kPa) paprika leaves.

(라) 분산분석을 이용한 파프리카잎의 수분스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 파프리카잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 104와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1737 nm에서 가장 높게 나타났다. 하지만 구분율이 60% 미만이기 때문에 파프리카잎의 수분스트레스 정도를 구분하기 어렵다는 판단을 하였다.

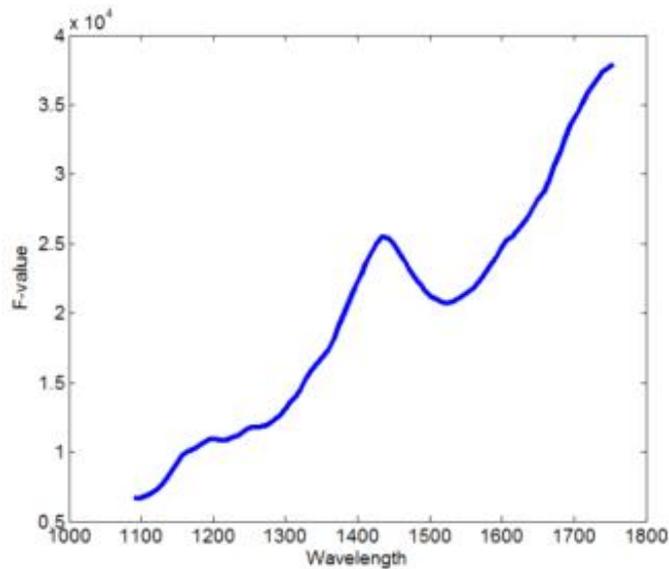


그림 104. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and water stressed (-50 kPa) paprika leaves.

- 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 확실하게 구분할 수 있

는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 100과 같이 F값이 1519 nm와 1463 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였으나, 수분스트레스 구분율이 60%으로 명확한 차이를 보이지는 못하였다.

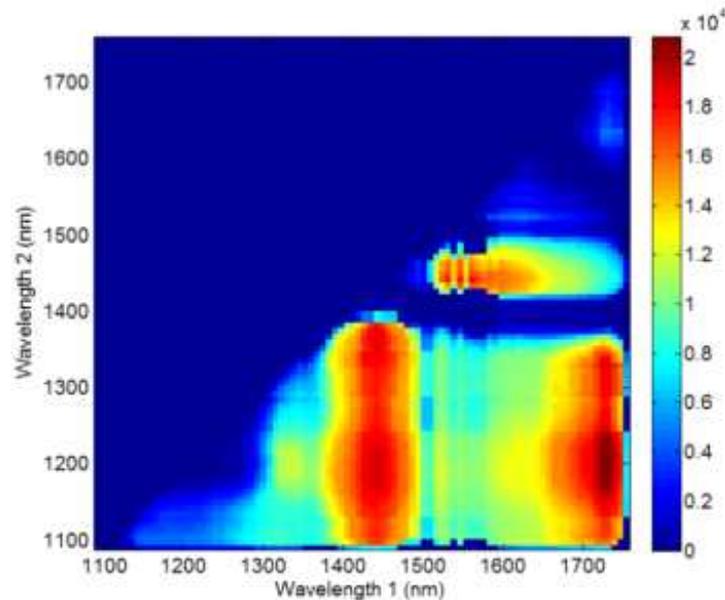


그림 105. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminate control and water stressed paprika leaves (1519 nm/1463 nm).

(2) 온도스트레스

- 대부분의 파프리카는 밭에서 정식 전까지 온실에서 키워지는 경우가 대부분이기 때문에 온도장해를 받지 않는다. 하지만 정식 후에 갑작스러운 기상변화로 저온상해를 입을 수 있기 때문에 정식 이후의 단계를 대상으로 실험을 실시하였다.

(가) 환경조건

- 저온스트레스 환경을 만들기 위해 다른 growth chamber 환경의 온도를 5°C로 유지하고, 나머지 환경은 정상 상태의 환경과 동일하게 유지하였다. 정상 환경에서 보관한 파프리카 6개를 저온환경의 growth chamber에 48시간 동안 보관하여 저온스트레스에 노출시켰다. 이후 파프리카 잎을 추출하여 초분광 영상을 획득하였다.

(나) 실험 결과

① 초분광 형광 영상

- 그림 106은 획득된 정상군과 스트레스군의 평균 형광 스펙트럼을 나타낸 것이다. 그림에서 UV광원을 조사했을 때의 평균 형광값이 680 ~ 750 nm에서 가장 높게 나타났으며 이 두 영역에서 정상군과 스트레스군의 차이가 가장 크게 나타났다.

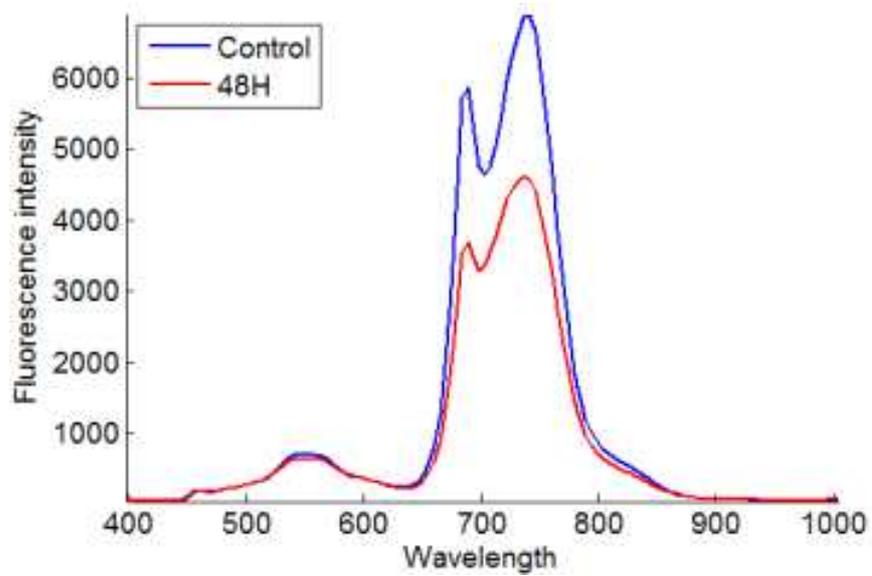


그림 106. Mean spectra of control and chilling stressed (48hour) paprika leaves.

- 정상군과 스트레스군의 파프리카잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 형광영상을 분석하였다. 형광 영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 107와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 683 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 파프리카잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 683 nm의 영상을 추출하여 영상으로 표현하였다.

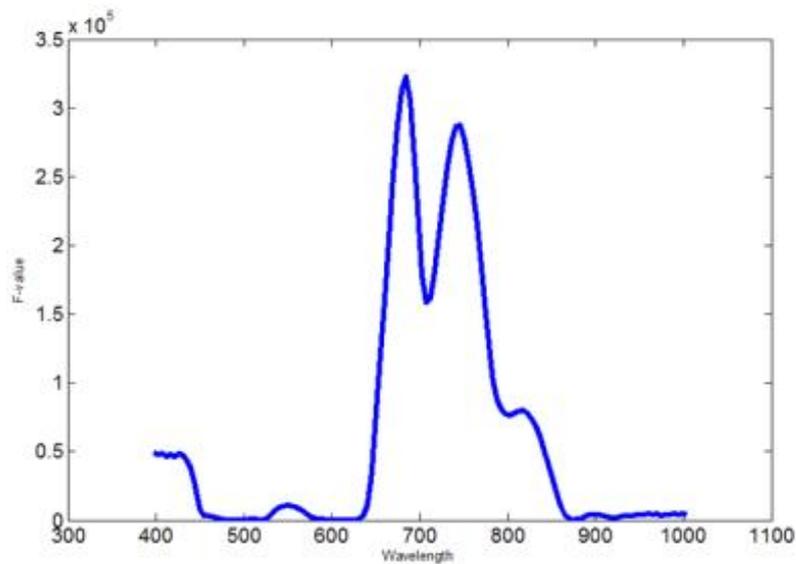
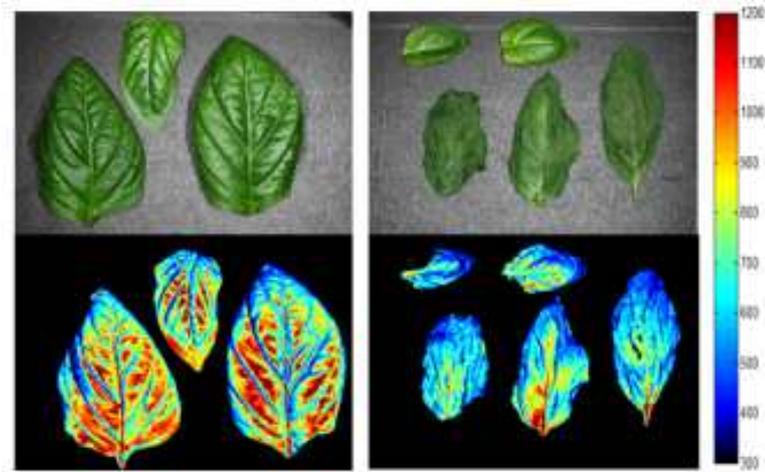


그림 107. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed(48hour) paprika leaves.



(a) Control

(b) 5°C 48 hour

그림 108. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (683 nm).

- 그림 108은 683 nm의 파장에서 형광반응을 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현하였다. 영상처리 결과 정상인 파프리카잎과 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 84% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 저온스트레스를 받으면 형광반응이 감소함을 알 수 있었다.
- 그림 106의 평균 스펙트럼을 보면 680 nm ~ 750 nm 영역에서 가장 큰 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 분석 방법은 두 파장의 ratio를 구한 후 이를 일원분산분석을 실시하여 F값을 구하였다. 일원분산분석결과 그림 109과 같이 F값이 712 nm와 688 nm의 파장의 ratio에서 가장 큰 차이를 보였다.

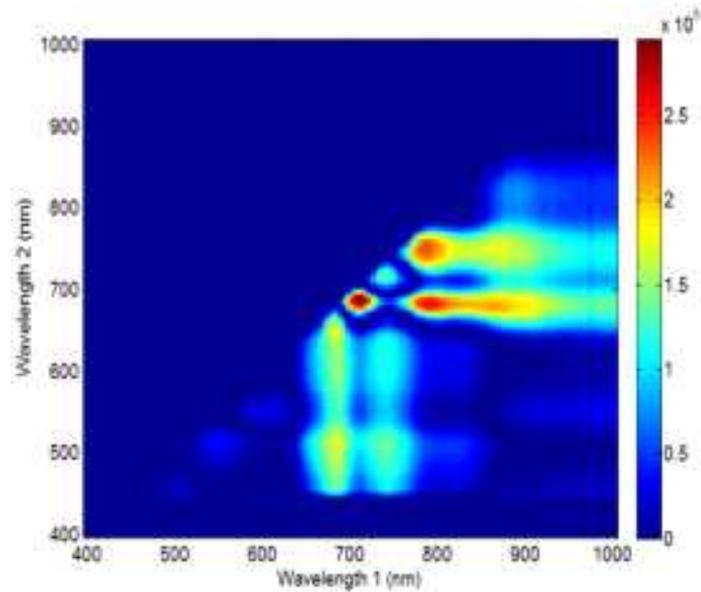


그림 109. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed paprika leaves (712 nm/688 nm).

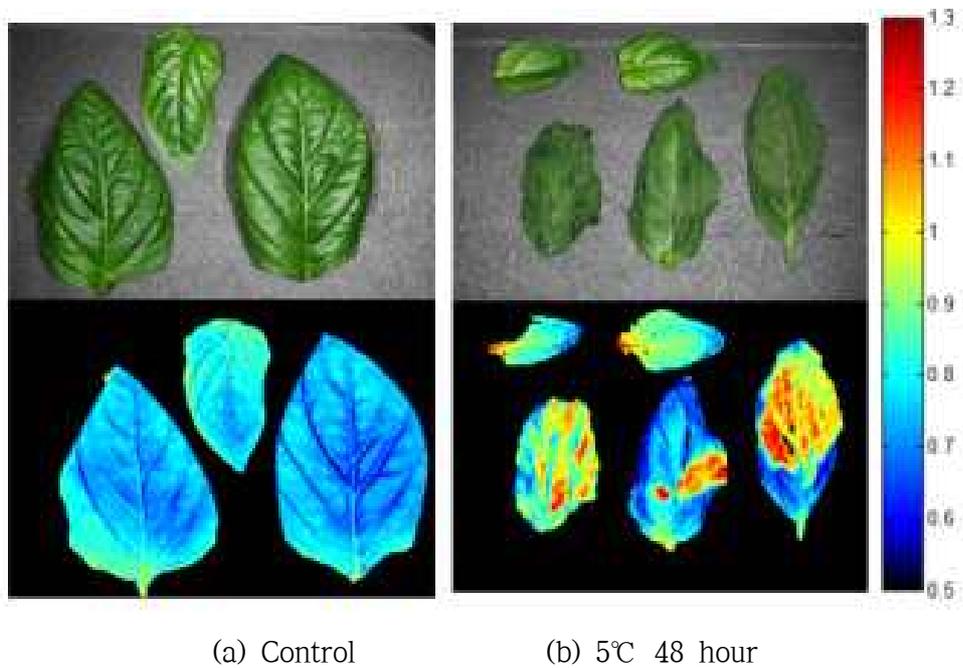


그림 110. Original image (up) and hyperspectral fluorescence image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (712 nm/688 nm).

- 그림 110는 712 nm와 688 nm의 형광반응 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 파프리카잎과 저온스트레스를 받은 잎의 형광반응 차이가 약 80% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이 결과는 한 개의 683 nm 영상을 이용하는 것이 두 개의 파장비 영상을 사용하는 것보다 더 높은 정확도로 저온스트레스를 구분할 수 있다는 것을 보여주는 것이다.

② 초분광 SWIR 영상

- 그림 111은 정상군과 스트레스군의 평균스펙트럼을 나타낸 것이다. 이 파장들 중에서 각 그룹을 판별하기 용이한 파장을 찾기 위해 각 파장별로 ANOVA 분석을 실시하였다.

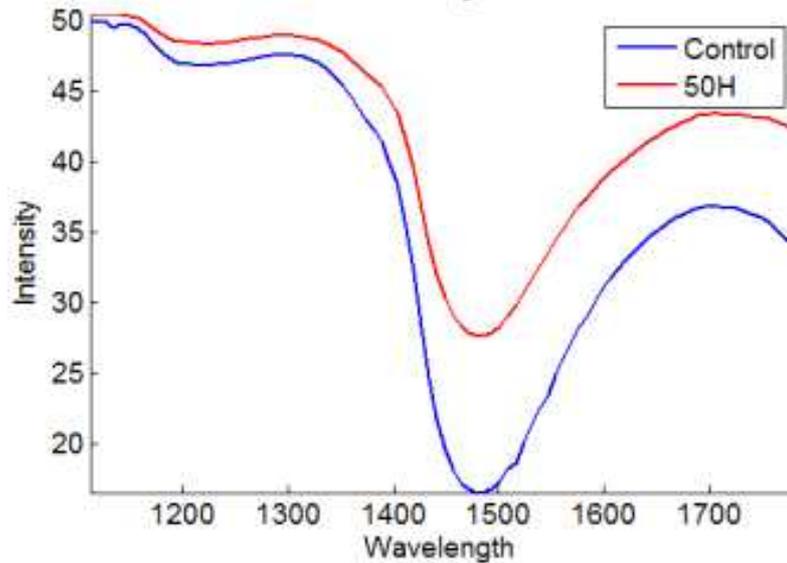


그림 111. Mean spectra of control and chilling stressed (48 hour) paprika leaves.

(라) 분산분석을 이용한 파프리카잎의 저온스트레스 판별

- 정상군과 스트레스군의 파프리카잎으로부터 영상을 추출하여 초분광 SWIR영상을 분석하였다. 두 파장의 SWIR영상을 이용하여 정상군과 스트레스군을 구별할 수 있는 최적의 파장을 규명하기 위해 일원분산분석을 실시하였다. 그림 112와 같이 일원분산분석 결과는 정상군과 스트레스군의 F값이 1441 nm에서 가장 높게 나타났다. 획득된 영상에서 파프리카잎의 스트레스 정도를 구분하기 위해 1441 nm의 영상을 추출하여 분석하였다.

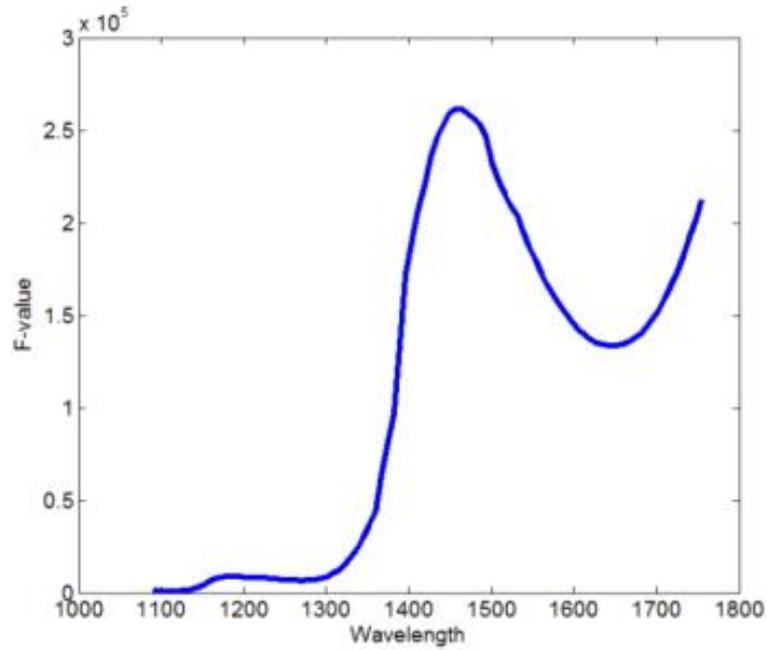


그림 112. F-values of one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed (48 hour) paprika leaves.

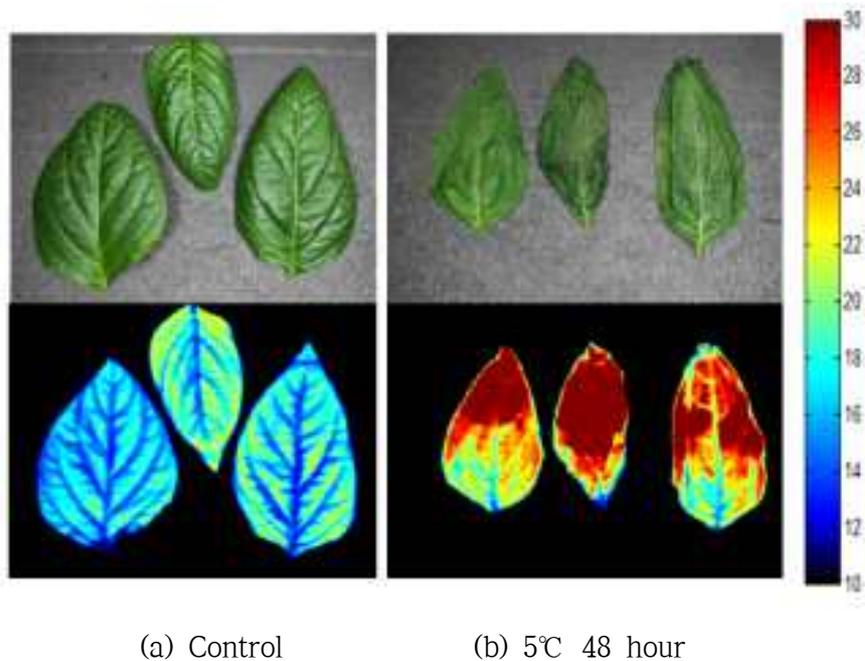


그림 113. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (1441 nm).

- 그림 113은 1441 nm의 파장에서 반사광을 정상군과 스트레스군으로 나누어 이미지로 표현하였다. 이미지 프로세싱 결과 정상인 파프리카잎과 저온스트레스를 받은 잎의 반사값 차이가 약 88% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 저온스트레스를 받으면 값이 증가함을 명확히 알 수 있었다.

- 그림 114의 평균그래프를 보면 1400 nm ~ 1500 nm 영역에서 차이를 보인다. 이를 바탕으로 2개의 파장을 사용하였을 때 정상잎과 스트레스잎의 차이를 더 명확하게 구분할 수 있는지 분석하였다. 일원분산분석결과 그림 114와 같이 F값이 1545 nm와 1449 nm의 ratio 영역에서 가장 큰 차이를 보였다.

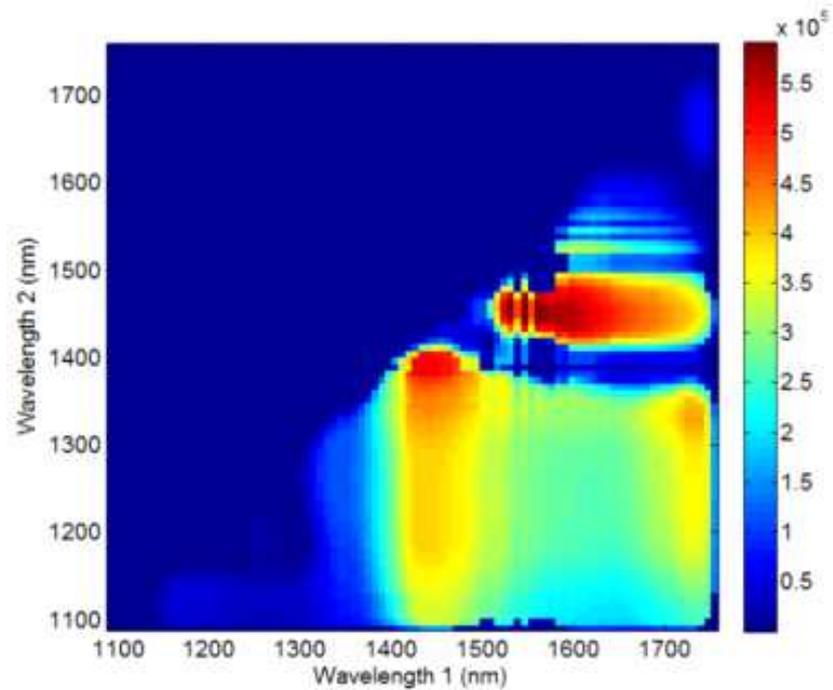


그림 114. F-value of 2 ratio one-way ANOVA for discriminating control and chilling stressed paprika leaves (1545 nm/1449 nm).

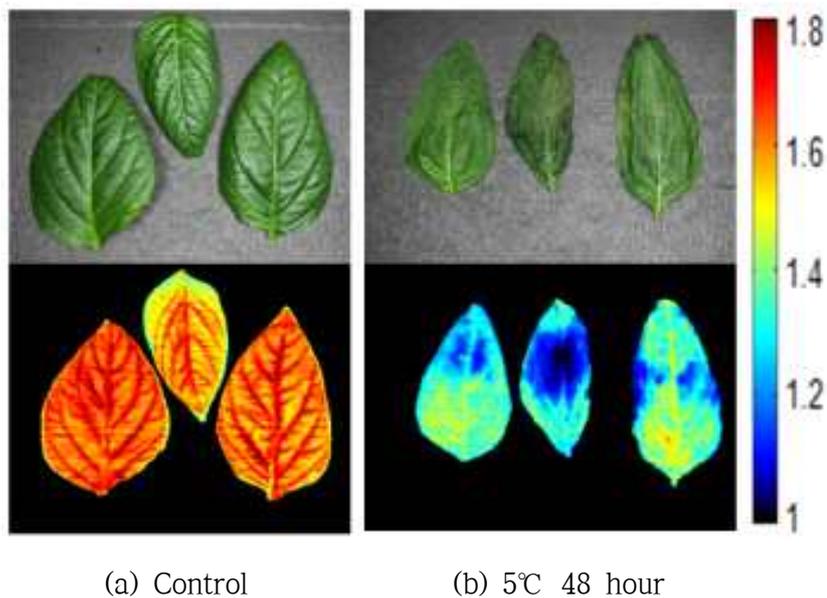


그림 115. Original image (up) and hyperspectral SWIR image (down) of control (a) and stressed (b) paprika leaves (1545 nm/1449 nm).

- 그림 115 는 1545 nm와 1449 nm의 반사광 이미지를 ratio하여 정상군과 스트레스군으로 나누어 영상으로 표현한 것이다. 영상처리 결과 정상인 파프리카잎과 저온스트레스를 받은 잎의 차이가 약 96% 차이가 나타남을 알 수 있었다. 이는 한 개의 1441 nm 영상을 쓰는 것 보다 두 개의 1545 nm와 1449 nm의 영상을 사용하는 것이 더 높은 구분 정확도를 얻을 수 있음을 보여주는 것이다.

바. 품목별 생리적 지표 정리

- 본 과제에서 수행하여 발굴한 대표적 한발, 온도(고온(35℃) : 배추, 저온(5℃) : 고추, 무, 파프리카, 수박) 스트레스의 표현형 생리적 지표를 표 6과 같이 정리하였다. 품목별 스트레스 노출 시기는 주로 발아 이후 40일이며, 이는 대략 정식 이후 안정화되는 시기이다.
- 정상과 스트레스를 준 각각의 품목들의 초분광 형광 및 SWIR 영상 측정하고, 통계적 분석을 통하여 정상과 스트레스를 구분할 수 있는 파장을 선정하였고 이를 영상화하였다.
- 선정된 파장들의 영상값을 통하여 한발, 온도 스트레스 지수를 파악할 수 있으리라 사료된다.

표 6. 초분광 형광, SWIR 영상을 통해 획득한 대표적 표현형 지표

품목	발굴된 지표				
	한발		온도		
	형광	SWIR	형광	SWIR	
고추	정상				유의성 낮음
	스트레스				
	지표	558 nm (세포내부의 단백질)	1448 nm (수분)	683 nm / 731 nm (엽록소 활성)	
배추	정상				
	스트레스				
	지표	708 nm/746 nm (엽록소 활성)	1396 nm/1456 nm (수분)	712 nm/745 nm (엽록소 활성)	1381 nm/1426 nm (수분)
무	정상				
	스트레스				
	지표	717 nm/750 nm (엽록소 활성)	1426 nm (수분)/ 1583 nm (글루코오스)	683 nm/703 nm (엽록소 활성)	1426 nm (수분)/ 1567 nm (단백질)
수박	정상				
	스트레스				
	지표	664 nm/755 nm (엽록소 활성)	1620 nm/1732 nm (셀룰로오스)	669 nm/ 707 nm (엽록소 활성)	1583 nm (글루코오스)/ 1732 nm (셀룰로오스)
파프리카	정상		유의성 낮음		
	스트레스				
	지표	688 nm/731 nm (엽록소 활성)		688 nm/712 nm (엽록소 활성)	1448 nm (수분)/ 1575 nm (단백질)

4. 작물의 표현형 생리적 측정지표 측정을 위한 문헌 조사

가. 고추 작물의 표현형

(1) 생리장해 측정(영양결핍증상)

○ 질소, 인산, 칼리, 칼슘, 붕소, 철 망간 등은 결핍 또는 과잉에 따라 생리장해를 일으킨다.

● 질소

- 결핍 : 생육이 늦고 잎 수도 적어지며 황색으로 변하여 낙엽이 되고 병피해를 받기 쉽다.
- 과잉 : 식물체가 연약 도장(가늘고 길게 크고 잎이 황화)하여 한발, 도복 등에 약하고 수확시기가 늦어진다.

● 인산

- 결핍 : 뿌리 발육 저하, 잎의 광택이 없어지고 줄기는 가늘고 반점이 생기며 낙엽이 생긴다.
- 과잉 : 성숙이 촉진된다.

● 칼리

- 결핍 : 생육 억제, 성엽은 회록색으로 변함. 잎수가 적어짐 황화. 하엽은 심한 크로루시스 현상이 나타나면서 낙엽이 진다.

● 염해

- 원인 : 비료성분이 뿌리에 직접적으로 닿거나 매년 시비하는 비료성분의 축적을 예로 들 수 있다.
- 증상 : 활착불량, 근모가 갈색으로 부패, 잎은 짙은 녹색을 띄면서 잎 주변 황색으로 변한다.

(2) 병해

- 풋마름병 : 잎이 마름, 줄기 갈변증상이 나타난다.
- 탄저병 : 황갈색 둥근 반점이 생기며 심하면 잎이 마르고 낙엽이 진다.
- 시들음병 : 식물체가 시들고 심화되면 고사한다.
- 모잘록병 : 줄기의 기부가 암갈색으로 변하고 잘록하게 되어 구부러진다. 심해지면 말라 죽는다.
- 더뎡이병 : 감염초기에 잎이 회갈색의 원형 또는 부정형의 작은 점무늬가 나타나도 주위로 담황색띠가 나타난다. 이후 병반의 중심부가 흰색으로 변하며 잎이 말라죽는다.

(3) 충해

뿌리선충 : 뿌리에 둥근 혹을 만들며 그 혹에 잔뿌리가 생긴다.

담배나방 등 곤충류 : 잎을 갉아먹어 구멍이 생기고 과실에 구멍이 생겨 썩는다.

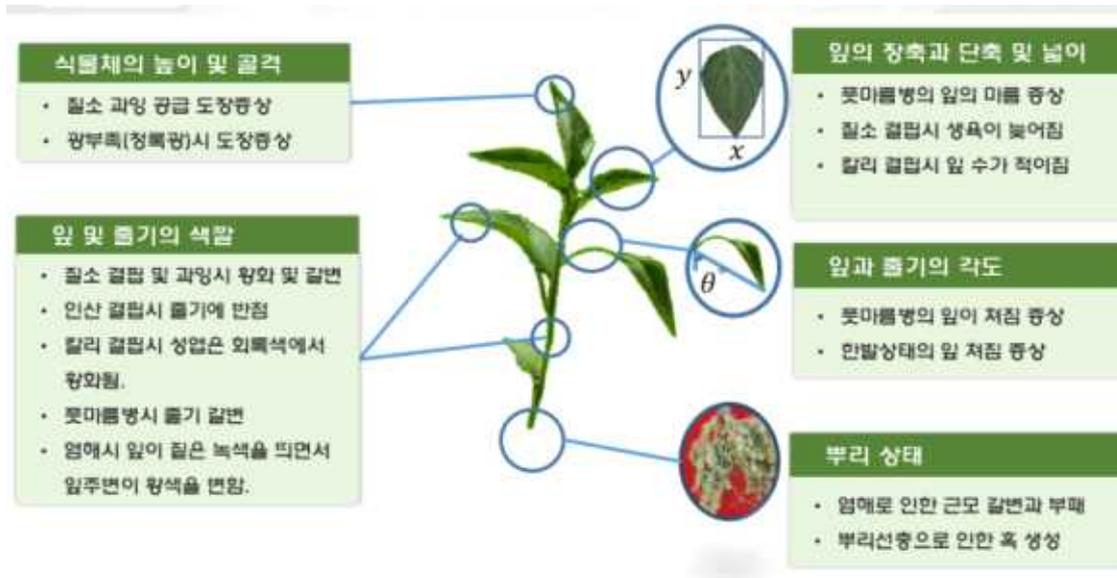


그림 116. 고추의 비파괴 생리적 지표별 생리장해, 병해 그리고 충해 표현증상

나. 배추의 표현형

(1) 생리장해 측정(영양결핍증상)

○ 배추의 주요 생리장해는 석회, 붕소, 마그네슘, 칼륨이 있다.

- 석회 : 어린잎의 가장자리가 마르거나 가장자리가 마르고 썩어 들어간다.
- 붕소 : 잎자루 안쪽에 진한 갈색 반점이 생김. 심하면 흑갈색으로 썩어 들어간다. 늙은 조직이 코르크화 되며 구멍이 생긴다.
- 마그네슘 : 겉잎의 엽록소 파괴로 누렇게 변하며 심하면 하얗게 되다가 말라 죽는다.
- 칼륨 : 겉잎에 나타나며 주로 뺨뺨하고 주름이 많이 생김. 잎의 끝부분이 황변 또는 갈변하여 말라죽는다.

(2) 병해

- 무름병 : 잎자루에 병반이 생기며 갈변이되고 악취가 나고, 뿌리와 잎자루 근처에서 나타난다.
- 노균병 : 성숙한 잎에 황록색 반점이 생기고 잎 뒷편에 곰팡이, 잎끝에 황록화 갈변, 괴사한다.
- 무사마귀병 : 초기 시들음 증상, 외엽이 벗겨지는 증상, 뿌리에 흑과 썩음증상이 나타난다.
- 바이러스병 : 잎에 담록색의 모자이크 표시가 생김, 흑갈색 모자이크 증상. 발육이 나쁘고 썩음 증상이 나타난다.

(3) 충해

- 배추좀나방 : 구멍이나고 커져서 잎육만 남는다.

- 파밤나방 : 잎 전체 구멍. 세계적으로 피해가 크다.



그림 117. 배추의 비파괴 생리적 지표별 생리장애, 병해 그리고 충해 표현증상

다. 무의 작물의 표현형

(1) 생리장애 측정(영양결핍증상)

- 질소, 인산, 칼리, 칼슘, 붕소, 철 망간 등은 결핍 또는 과잉에 따라 생리장애를 일으킴
- 마그네슘
 - 결핍 : 오래된 잎에서 주로 나타남. 주로 뿌리의 비대가 시작될 무렵 발생한다. 황화가 진행된다.
- 붕소
 - 결핍 : 생육 최성기-후반에 나타난다. 잎이 담녹색을 띠며 위축되어 격눈이 나오기 시작한다. 심한 경우 잎의 심부가 검게 변하고 말라 죽으며 뿌리는 균열이 생기고 검은 문신이 생긴다.
- 바람들이
 - 무의 뿌리내부에 세포액이 없고 세포막만 남아 공허한 부분이 생기는 것을 의미한다.
 - 일종의 노화현상이며 잎에서 생산된 동화양분이 적어 뿌리 중심부까지 양분이 공급이 부족한 상태임
 - 생육중기 이후 고온 건조한 상태 또는 일조부족 등이 원인이 된다.

(2) 병해 및 충해

- 무름병 : 무의 근수부 및 엽병에 반점이 생성되고 점점 확대된다.
- 세균성 검은무늬병 : 잎에 작은 원형의 병반이 형성되고 확대된다. 이후 담갈색 또는 흑갈색의 부정형 또는 다각형 병반을 형성한다.
- 흰녹가루병 : 잎 표면에 흰색 작은 반점이 생기며, 갈수록 잎 표면이 퇴색되어 황색으로 변한다. 줄기와 화경은 배대해지면서 기형이 된다.
- 노균병 : 잎의 표면에 불규칙한 황색의 반점이 생기고 담갈색으로 확대된다. 이후 습기가 높으면 흰색의 곰팡이를 형성한다.
- 검은무늬병 : 잎, 줄기에 담갈색 원형 병반이 형성되고 병반의 중심부에 구멍이 생긴다.
- 담배나방 등 곤충류 : 잎을 갉아먹어 구멍이 생기고 과실에 구멍이 생겨 썩는다.

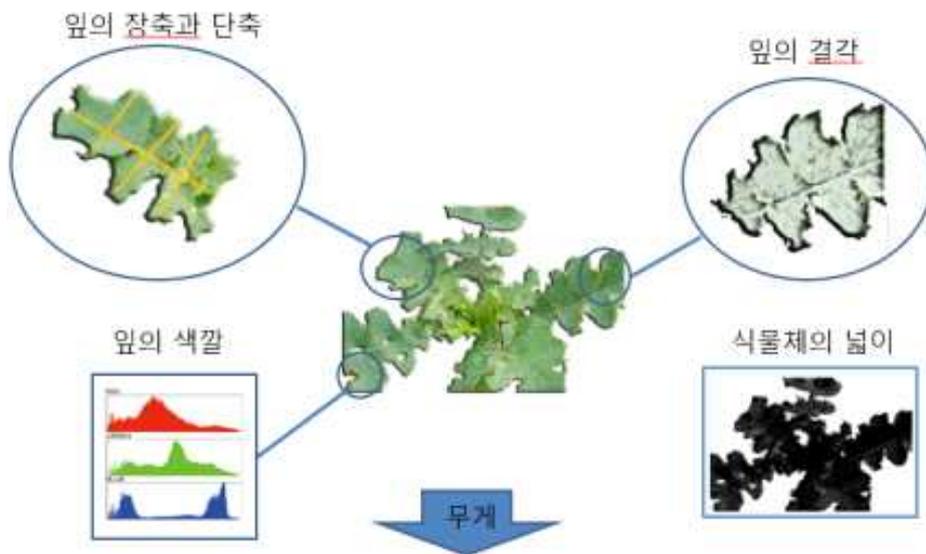


그림 118. 무의 비파괴 생리적 표현증상

라. 수박의 작물의 표현형

(1) 생리장애 측정(영양결핍증상)

• 칼슘

- 결핍 : 결핍증상은 새로운 잎의 생육이 정지되고 전체적으로 위축현상이 나타나 성장점 부위의 잎이 황화증상을 보인다. 또한 잎이 뒷쪽으로 말리고 잎 주위가 갈변되며 심하면 잎이 말라죽는다. 수박덩굴에는 위축현상이 나타나고 생육 후기에 과일의 배꼽이 썩으면서 뿌리의 색깔이 갈변하기도 한다.

• 칼리(K)

- 결핍 : 생육 초기에는 잘 나타나지 않지만, 자세히 살펴보면 잎의 내부에 백화 현상이 약간 나타나다가 과일이 비대하면서 잎의 가장자리가 갈변하기 시작한다. 증상이 심하면

잎이 말라죽어 낙엽이 되고 과일의 비대가 늦어지며 수량도 감소하게 되는데 아랫잎에 심하게 나타나고 윗쪽 잎에 결핍증이 나타나는 경우는 드물다.

- 마그네슘(Mg)

- 잎에 반점이 생기면서 마르는 증상이다. 마그네슘은 엽록소를 구성하는 요소로, 결핍되면 식물체의 잎이 황변하고 광합성작용이 나빠진다.

초기에 잎줄기 사이에 흑갈색의 깨와 같은 작은 반점이 나타났다가 서서히 확대되어 잎 가장자리가 말려 올라가면서 잎 전체가 말라 죽는다.

- 웃자람(과번무)

수박 줄기나 잎이 정상보다 훨씬 크게 자라는 증상으로 줄기가 웃자라면 끝부분이 굽어지고 위로 솟으며 털이 뺏뺏이 나고, 착과기에는 인공수분 시 착과가 되지 않아 착과율이 떨어진다.

(2) 병해

- 넝쿨마름병

- 덩굴 : 지표면 부위에 침해가 쉽고, 마디가 수침 상으로 퇴색하고 갈색점액 유출되고 다갈색, 회백색으로 갈라지며 심할 때는 말라죽는다.

- 잎 : 잎 가장자리에 병반(바늘귀모양의 작은 흑점이 형성)이 형성되며 잎, 잎자루, 덩굴 침입하면 마르고 부서진다.

- 균핵병 : 수박의 꽃이 달렸던 열매부위에 솜털 같은 곰팡이가 발생한다. 과습 시 수박에서 진물이 흘러나오는 경우도 있다. 줄기가 무름 증상과 함께 마르게 되며 흰곰팡이가 피다가 검은색의 균핵이 생긴다.

- 흰가루병 : 수박에는 발생이 적은 것으로 보고되고 있으나, 시설재배와 터널재배에서 특히 여름과 가을 재배 시 많이 발생한다. 하우스 재배 시 4월 상순부터 아랫잎에서 윗잎으로 잎의 표면과 뒷면, 잎자루와 덩굴 등에 백색의 가루가 덮이고 나중에는 얼룩무늬가 되며 심하게 발생하면 변색하여 말라죽게 된다.

- 노균병 : 잎의 표면에 불규칙한 황색의 반점이 생기고 담갈색으로 확대된다. 이후 습기가 높으면 흰색의 곰팡이를 형성한다.

- 탄저병 : 떡잎, 어린 덩굴에 방추형이나 원형의 암백색반점이 생기며, 병이 진전되어 병무늬(병반) 부위가 마르면 동심원상의 작은 겹무늬, 또는 검은점이 생기고 심하면 구멍이 생긴다. 잎자루, 덩굴, 과일 꼭지에 움푹 꺼진 암갈색의 타원형이나 방추형의 병반이 생기며 점차 병환부 끝부분이 말라 들어간다. 과일은 작은 반점이 생기다가 점차 움푹 꺼지며, 병환부에서 담록색의 점질물질(포자덩어리)이 분비되기도 하며 연화되어 부패한다.

- 역병 : 잎에는 유침상 암록색 병반이 생기다가 중앙부가 적갈색으로 변하며 강우기에는 전체가 연화하여 부패한다. 덩굴은 흙과 닿는 부분이 연화 부패하고, 발병부위 위쪽이 말라죽으며 논에서 재배할 때 덩굴 끝이 이랑에 놓여 물과 닿게 되면 많이 발병한다. 과일은 2cm 이상 크기의 병반이 형성되어 암갈색 유침상 대형병반으로 확대되다가 결국은 과실 전체가 연화하여 부패한다.

(3) 충해

- 총채벌레 : 발생초기에 잎맥을 따라서 굵힌 듯한 작은 반점이 생긴다. 어린 모종일 때 새로 나오는 잎의 전개가 불완전하여 말리고 위축되며, 덩굴의 자람이 나쁘게 된다. 많이 발생할 때는 잎 전체에 작은 반점이 생기고 어린잎은 자람이 정지되며, 점차 엽록소가 파괴되어 갈변하며 말라 죽는다
- 진딧물 : 오이 모자이크바이러스와 수박 모자이크바이러스의 매개충으로 심할 경우 잎이 위축되고 줄기의 신장이 억제되며, 그을음 증상이 발생한다.
- 응애 : 수박에 피해를 주는 것은 점박이 응애가 대부분이고 차응애도 발생하는 것으로 알려져 있다. 초기에는 밀도가 낮아 발견이 곤란하며 잎 표면에 백색의 작은 반점이 나타나고, 밀도가 증가하면 잎 뒷면에 성충과 약충이 무리지어 기생하기 때문에 잎이 위축 또는 기형으로 되거나 누렇게 변색되어 말라죽고 아랫 잎에서 발생하여 윗 잎으로 이동한다.
- 아메리카 잎굴파리 : 유충이 잎 조직 속에서 굴을 파고 다니면서 갹아먹는다. 피해 부위는 흰색의 줄모양이 생기고 점차 갈색으로 변색되며 심하면 잎 전체가 말라죽는다. 성충에 의한 피해는 산란관이나 구기(口器)로 잎 표면에 상처를 내고 즙액을 빨아먹기 때문에 피해 부위에 1mm 정도의 흰색의 작은 반점이 생긴다.
- 담배나방 등 곤충류 : 잎을 갹아먹어 구멍이 생기고 과실에 구멍이 생겨 썩는다.

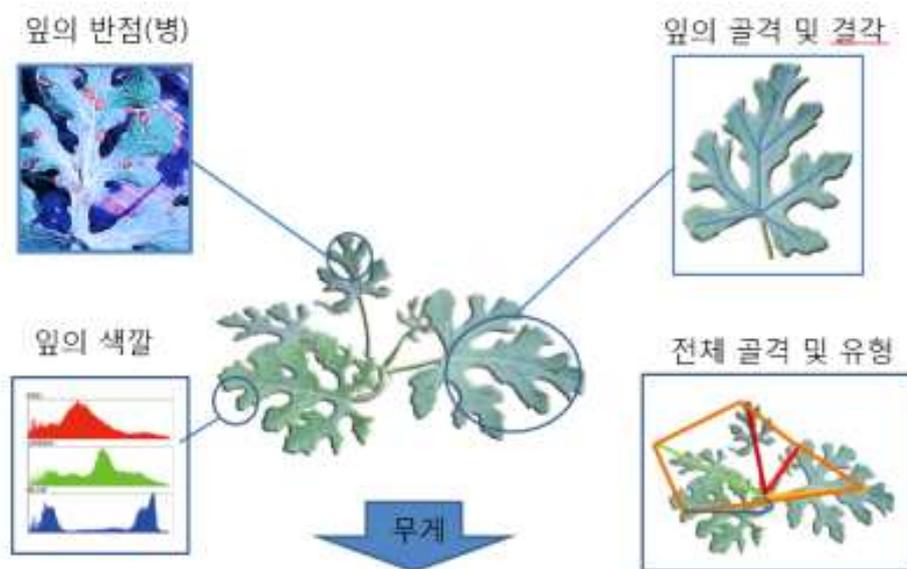


그림 119. 수박의 비파괴 생리적 표현증상

마. 파프리카 작물의 표현형

(1) 생리장해 측정(영양결핍증상)

- 질소, 인산, 칼리, 칼슘, 붕소, 철 망간 등은 결핍 또는 과잉에 따라 생리장해를 일으킴
- 질소
 - 결핍 : 생육불량, 잎 끝부터 황화, 엽맥 황화, 개화 및 착과 불량, 단백질 함량 저하, 성숙

지연, 노화가 가속화됨, 암록색 잎, 낙엽

- 과잉 : 잎이 암록색, 성숙지연, 조직이 연해져 저항성 감소, 바람들이

• 인산

- 결핍 : 생장억제, 개화성숙 지연, 잎이 암록색으로 되고 괴사, 뿌리발육이 지연, 단백질합성 불량, 비타민 함량 감소, 보랏빛 잎

- 과잉 : 생장억제, 과잉증이 잘 나타나지 않으며, 과다시 K, Fe, Zn, Cu와 길항작용을 함

• 칼리

- 결핍 : 잎선단이 위축되고 황화, 황변한 부분과 정상인 부분의 경계가 뚜렷, 맛과 저항성 저하, 백색반점, 탄수화물과 단백질이 감소, 잎맥이 적자색, 내건성이 약화됨

- 과잉 : 과실의 착색불량, 단맛이 떨어지고 표면이 거칠어짐

(2) 병해

• 풋마름병 : 잎이 마름, 줄기 갈변증상이 나타난다.

오이 모자이크바이러스 : 잎이 누렇게 되면서 모자이크증상, 잎이 가늘고 마르거나 쭈그러듦. 과실엔 반점이 나타난다.

• 흰가루병 : 잎 뒷면에 회색곰팡이 발생 후 잎 전체로 확장되며, 마지막으로 잎이 누렇게 되어 아랫잎부터 떨어진다.

• 역병 : 포기 전체가 시들다가 말라 죽는다.

• 잿빛곰팡이병 : 줄기와 잎에 곰팡이가 발생한다.

• 줄기마름병 : 방아다리 또는 줄기가 검붉게 썩어 들어가고, 후에 흑색으로 단단하게 마르며 포기 전체가 죽는다.

(3) 해충

• 꽃노랑총채벌레 : 건조할 때 발생하며 잎의 중심 엽맥 주위가 갈색을 띄며 마른다. 잎이 위로 말리며 뒤틀리거나 기형이 됨.

• 점박이 응애 : 잎의 표면에 백색반점, 잎이 작아지거나 기형 이 되며 잎이 누렇게 되고 말라 죽는다.

• 온실가루이 : 잎과 과일의 표면에 감로가 쌓여 흑갈색이 되며 그을음병이 발병한다.

아메리카 잎굴파리 : 잎에 흰색의 줄 모양이 생겨 점차 갈색으로 변색되며, 심하면 말라 죽는다.

• 복숭아혹진딧물 : 잎이 위축되거나 기형이 되고 생육이 정지한다. 잎 뒷면에서 진딧물의 배설한 감로가 떨어지고, 감로에 그을음병균이 번식한다. 그 밖에도 100여종 이상의 바이러스를 가해한다.

• 차면지응애 : 생장점 부위를 가해하여 잎이 위축되고 가장가리가 말려들어간다. 심하면 잎이 딱딱하게 굳고 광택이 나며 갈변한다. 생장점 부근이 흑색으로 변하며 생장이 정지된다.

- 담배나방 등 곤충류 : 잎을 갉아먹어 구멍이 생기고 과실에 구멍이 생겨 썩는다.

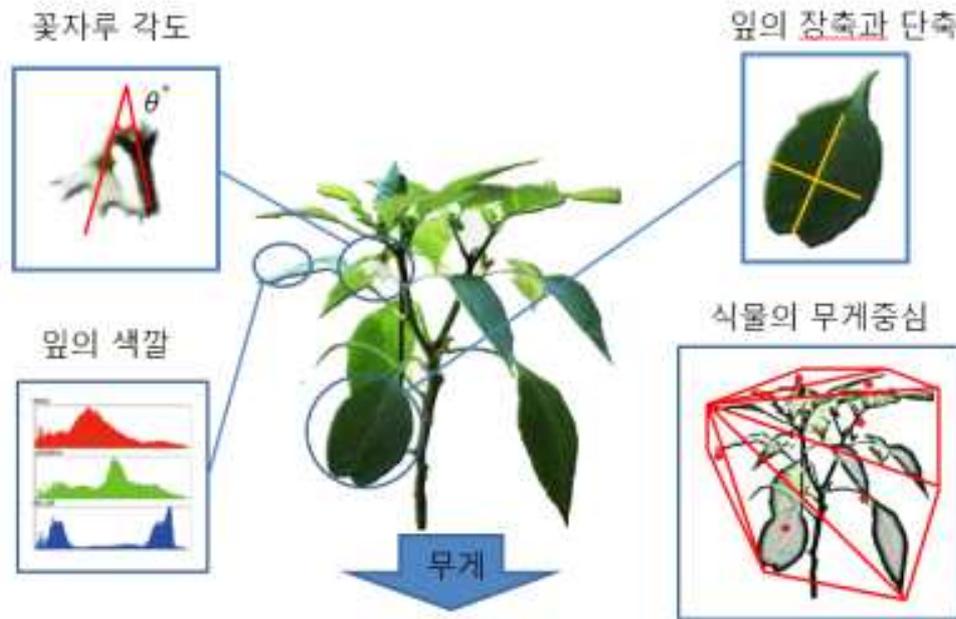


그림 120. 파프리카의 비파괴 생리적 표현증상

4. HTS용 자동이송 예비 시스템 구축

- 본 과제의 최종 목표는 품목별 고속대량 표현형 검정서비스 제공하는 것이다. 서비스를 제공하기 위해선 자동화된 HTS 장비가 필요한데, 이를 위해선 작물의 자동 이송과 비파괴 측정을 하기 위한 환경이 구축되어야 한다. 이를 개발하기 위한 기초 연구로 그림 121 과 같이 온라인으로 자동측정할 수 있는 HTS용 자동이송 시스템을 구축하였다. 실제 현장에서 활용할 수 있는 HTS 시스템은 뒷부분에 기술하였다.
- 기존의 연구 결과를 토대로 685 nm band pass filter를 사용한 고감도 CCD 카메라를 이용하여 작물의 형광 이미지를 자동으로 획득하도록 하였다.

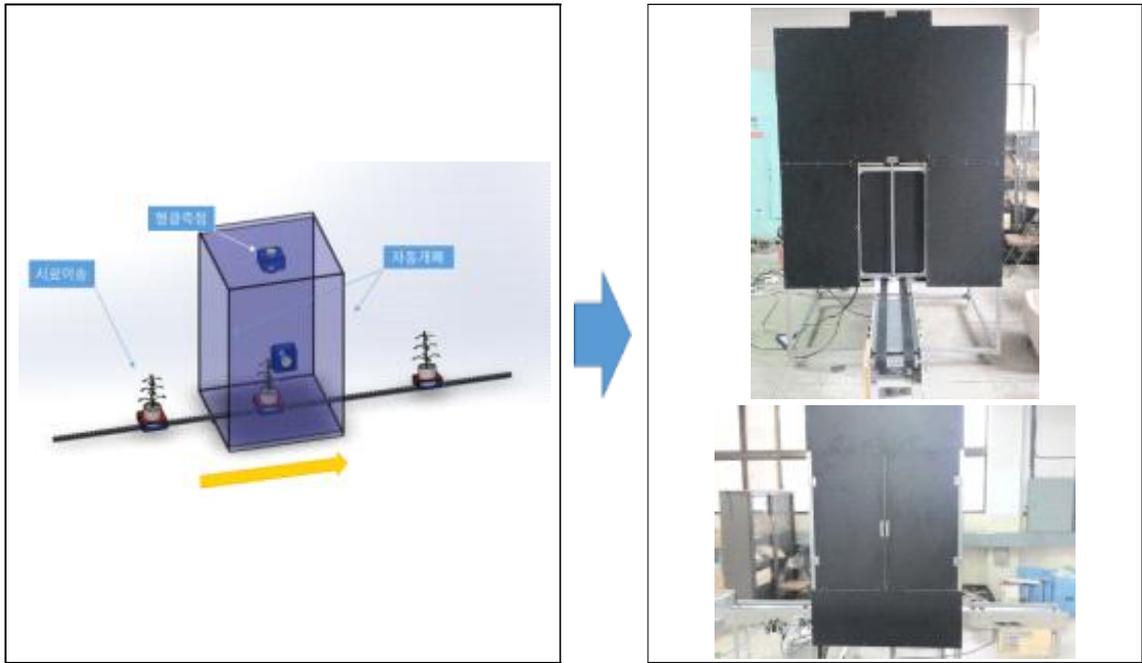


그림 121. HTS용 자동이송 예비 시스템 계획 도안

가. 시스템 구성

(1) Convey belt system: 그림 123과 같이 2개의 벨트를 이용한 직선형 이송장치를 이용하여 작물 이송을 실시하였다.

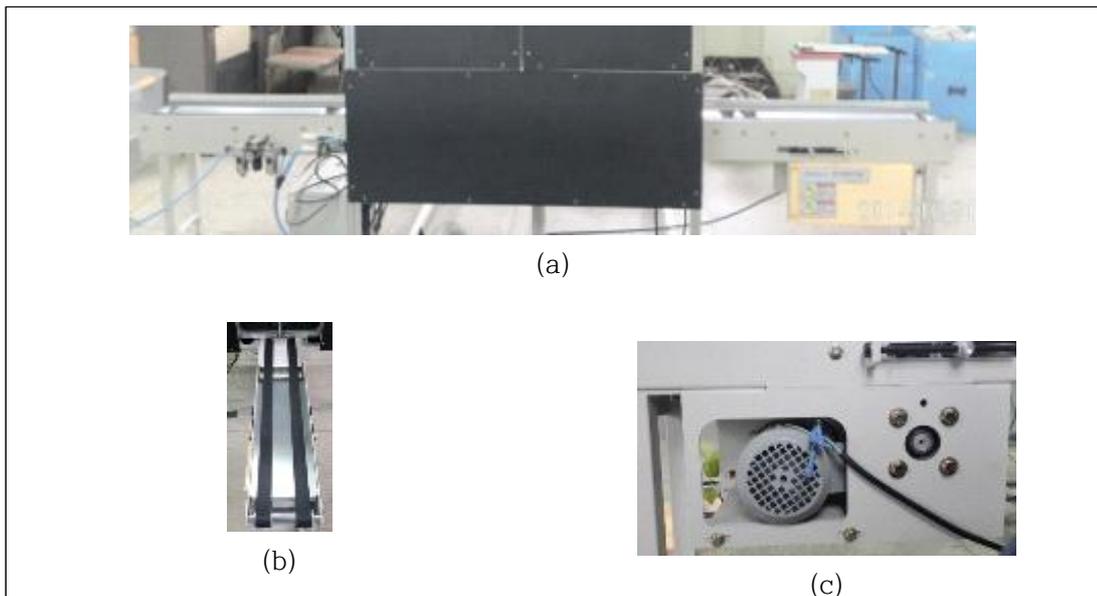


그림 123. Convey belt system (a) 총 컨베이어 시스템, (b) 벨트, (c) 모터부

(2) 영상 촬영용 암실

- 외부의 광으로부터 간섭받지 않기 위해서 전체적으로 검은 계열의 암실을 제작하였다. 그림 124(a)와 같이 암실 내부의 상태 관리와 추가 개발의 편의성을 위해 전 후면부에 문

을 제작하였다. 그림 124(b)와 같이 작물이 암실 내부로 들어올 수 있도록 공압식 개폐장치를 설치하였다. 암실의 내부는 그림 124(c)와 같이 685 nm band pass filter를 장착한 카메라 및 형광조명(UV-365 nm)을 설치하여 작물의 형광반응을 보고자 하였다.

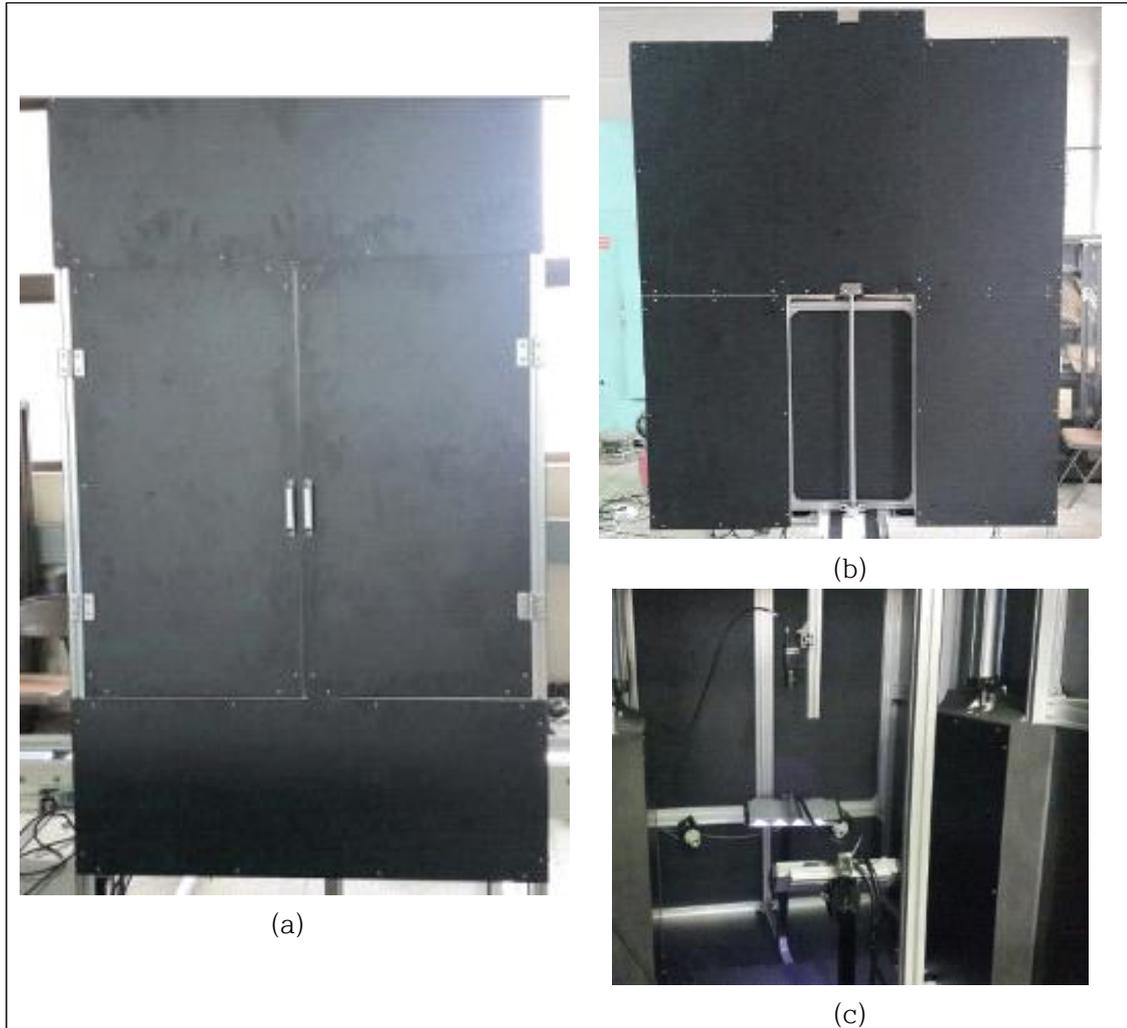


그림 124. 영상촬영용 암실 (a) 암실 정면부, (b) 암실 측면부, (c) 암실 내부

(3) 자동 개폐장치 및 작물 이송 속도 조절

- 그림 125(a)와 같이 작물이 컨베이어를 따라 암실 문 앞까지 이동하면 이송 감지 센서가 이를 감지하여 정지한다. 이후 문이 자동으로 열리고, 작물이 암실내부로 들어간 후 닫히게 된다. 암실 내부에 들어간 작물은 그림 125(b)와 같이 카메라 촬영위치에 정지하게 되고, 형광이미지를 촬영하게 된다.

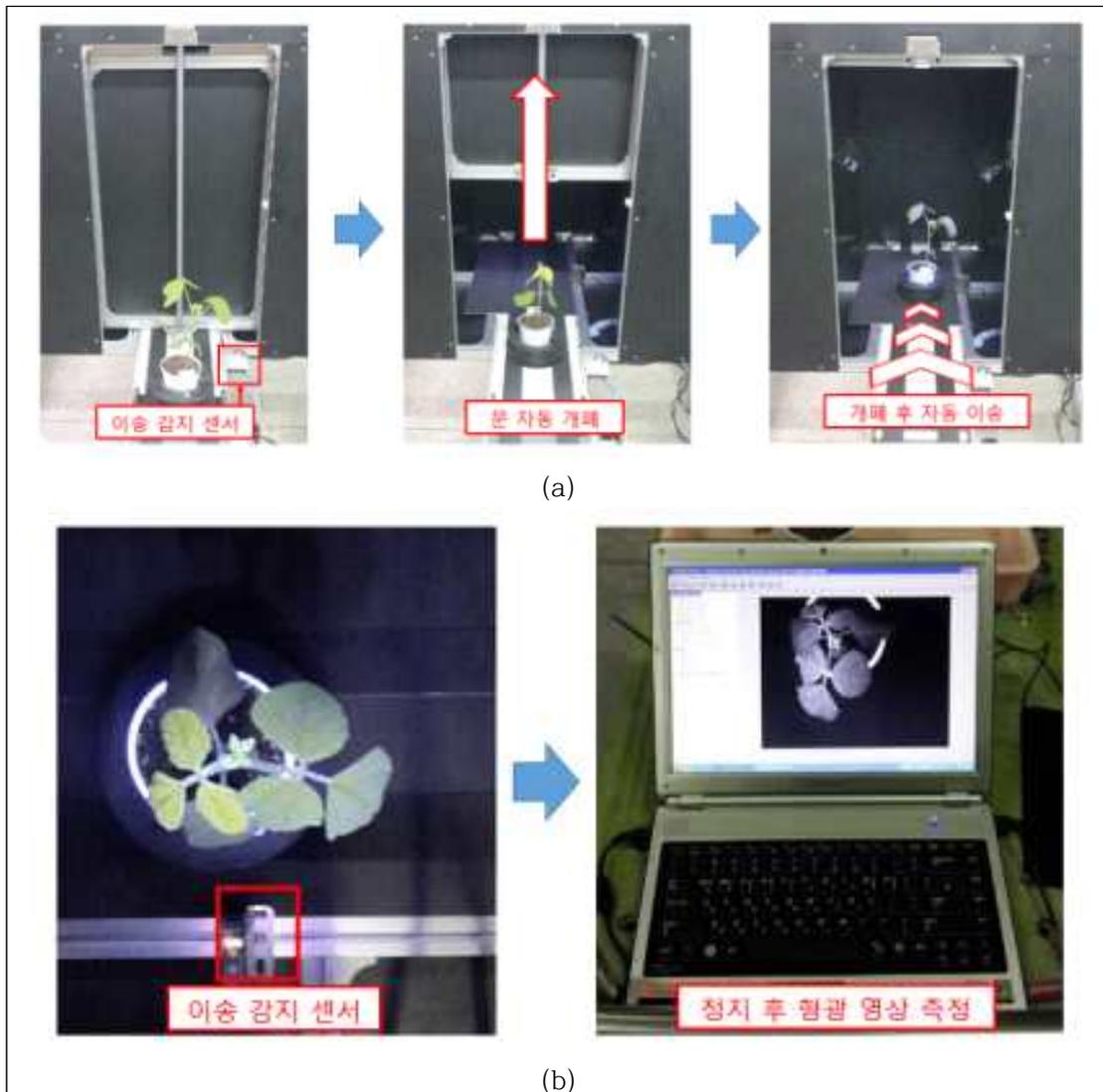


그림 125. 작물 이송 및 영상촬영 장치 (a) 자동 개폐 과정, (b) 형광 촬영

5. 표현형 비파괴 형태적 측정 지표 발굴

가. 형태적 표현형 측정 시스템 구축 및 표현형 측정을 위한 최적화

(1) 표현형 영상 시스템 구축

- 작물의 생육 상태를 측정하기 위하여 다양한 영상기법이 사용되고 있으며, 그 중 가장 기본적으로 활용되고 있는 RGB 영상은 인간의 시각으로 볼 수 있는 정보를 측정할 수 있다. 빛의 3원색인 적·녹·청(Red·Green·Blue)을 혼합하여 주로 컬러 모니터 등에서 색을 구현할 때 사용되고 있다. 식물 표현형 측정에서 활용할 경우 일반 광상태에서 식물체를 촬영한 후, 그 이미지를 분석하여 식물체의 형태(morphology), 구조(architecture), 생체량(biomass), 잎면적(leaf area) 등을 측정하게 된다. 이 기술은 기존에 정해진 작물 검정 표준안이나 전문 육종가들이 경험을 통해 알고 있는 표현형을 쉽게 측정할 수 있다는 장점이 있다. 따라서 RGB 영상을 통하여 환경 변화에 따른 작물의 변화과정을 측정 한 후, 데이터분석을 통하여 정량화된 형태적 표현형 지표를 발굴하고자 하였다.

(2) 형태적 표현형 영상 획득 시스템 구축

● 표현형 영상 획득 시스템 구성

- 식물의 영상정보를 정확하게 획득하기 위해서는 주변 환경의 변수를 최대한 줄여야 한다. 따라서 식물 영상을 제외한 잡음 및 배경 제거를 위해 통제된 환경이 필요하다. 본 연구에서 사용된 형태적 표현형 영상 획득 시스템은 다음과 같다.

(가) 카메라 구동부

- 식물의 영상정보는 카메라의 사양에 따라 상당한 편차가 존재한다. 카메라 해상도가 높을수록 영상정보의 정확도가 올라가지만, 데이터 용량이 증가하므로 분석시간 증가와 저장 공간의 한계가 생긴다. 또한 대상 식물의 다양한 각도에 대한 영상정보를 획득해야 하는 만큼 필요에 따라서 여러 카메라가 필요한데, 이 때 고사양의 카메라를 사용할 경우 구축비용이 증가하며 영상처리에 지연이 발생할 수 있다.
- 본 연구에서 형태적 표현형 영상을 구성하기 위해서 **그림 126**과 같은 Lifecam Studio(Microsoft Corporation, USA) 카메라 2개를 이용하여 식물의 옆면과 상단을 측정하였다. 카메라는 디지털, 일반 반사식이며 이미지 센서로는 CMOS 센서가 장착되어 있고, 최대 1920×1080 해상도 지원이 가능하다. 또한 Auto Focus 기능이 제공되어 이미지의 선명도를 유지할 수 있다. 상세한 사양은 **표 5**와 같다.



그림 126. Lifecam Studio (Microsoft Corporation, USA)

표 5. Lifecam Studio의 제품 사양

항목	내용
형식	디지털, 일안 반사식, AF/AE 카메라
해상도	Sensor Resolution: 1920 x 1080 Still Image: 5 megapixel (2560 x 2048 pixel, interpolated) photos
이미지센서형식	CMOS 센서
Field of View	75° diagonal
이미지형식	JPEG, WMV
Image Features	Automatic face tracking Digital pan, digital tilt, and 3x digital zoom Auto focus from 0.1 m to ≥ 10 m Automatic image adjustment with manual override
Frequency Response	100 Hz - 18 kHz
Frames Per Second	Up to 30 frames per second at 720p

(나) 영상 주변 장치

- 형태적 표현형 측정에서 식물의 잎과 줄기의 색깔, 형태 등의 왜곡을 최소화하여 이미지화 하는 것이 중요하다. 따라서 식물의 촬영이 외부의 영향으로부터 간섭받지 않기 위해서 흰색 계열의 배경이 포함된 촬영부를 그림 127과 같이 제작하였다. 또한 형광등 및 주변의 광으로부터의 영향을 줄이고 그림자로부터 발생하는 데이터의 왜곡 및 손상을 방지하기 위해 7.4W급 화이트(8K~10K) LED(5050 Chip Aluminum LED Bar-White, SS LIGHT, Korea)를 설치하였다.



그림 127. 제작된 형태적 지표 영상 촬영부

나. 한발/온도스트레스에 대한 고추, 배추의 형태적 반응 지표 발굴

(1) 고추의 한발/온도스트레스 형태적 반응 지표 발굴

(가) 고추의 형태학적 분석법

- 식물의 상태를 형태학적으로 판별하기 위한 방법은 각 품종마다 특성평가 기준 표준안이 제시되어있다. 하지만, 이 표준안을 기초로 평가항목을 평가할 때 개인의 주관적인 판단이 요구되며, 이러한 평가에서 도출된 값들은 정량적이라 보기 어려운 한계가 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서는 통제된 환경에서 정확한 디지털 영상분석을 통해 정량화된 수치를 얻어야 한다. 본 연구에서는 구축된 디지털 영상장치와 영상처리기술을 활용하여 식물의 형태적 표현형 지표를 정량화하였다. 식물의 대표적인 형태적 표현형 지표인 색깔과 엽면적 그리고 잎의 각도와 관련된 값을 정량적으로 산출하였다. 구체적인 방법은 다음과 같다.

① 색깔

- 가시광선을 분광하면 색의 스펙트럼이 나타나는데 이런 스펙트럼은 분광된 광원의 파장 주기에 다른 결과이다. 장파장의 Red에서부터 단파장의 Violet까지, 파장에 따라 고유 컬러가 결정된다. 이중 Red, Green, Blue를 삼자극 이론에 기초하여 광원의 삼원색으로 정하고, RGB의 조합 정도에 따라 **그림 128**과 같이 광원의 컬러가 결정된다. 중첩 정도가 강해질수록 100% White에 가까워지며, 약할수록 Black에 가까워지는데 이를 가산혼합이라 한다. 카메라의 영상정보의 컬러 이미지 역시 삼자극 이론을 기초로 하여 표현된다.
- 식물의 색깔 변화 상태를 측정하기 위해서는 표면적으로 Green 영역의 변화를 관찰해야 하지만, **그림 129**와 같이 광합성이 이루어질 때 가장 많이 흡수하는 파장은 Red영역과 Blue영역이며 이는 광합성과 관련된 엽록소 성분의 광흡수도와 관련이 깊다. 따라서 정밀한 광파장을 이용한 이미지 값을 분석한다면, 기존의 3개 파장만 활용하는 RGB 이미지보다 효과적으로 식물의 상태를 판단할 수 있게 된다.

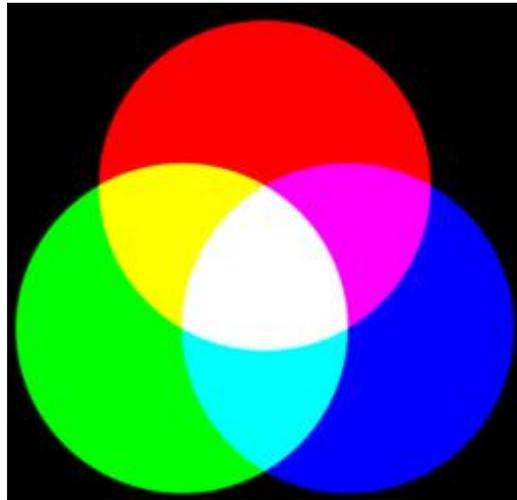


그림 128. RGB 가산 혼합

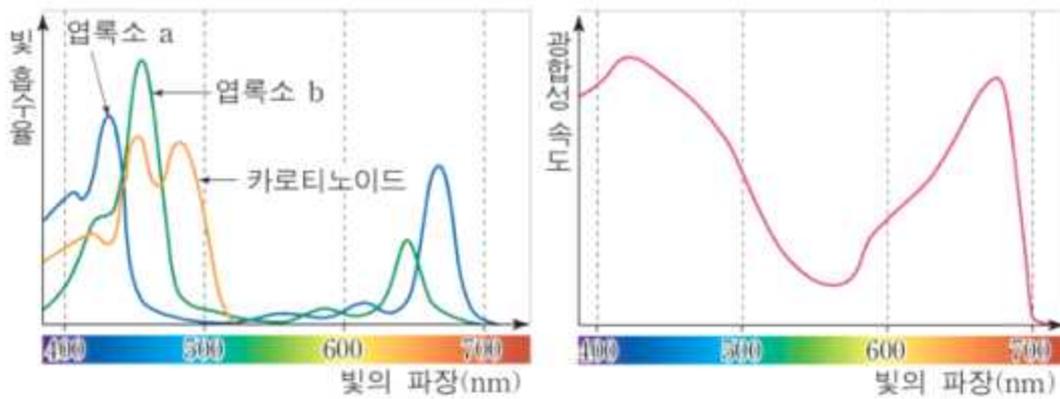


그림 129. 엽록소의 흡수스펙트럼과 작용스펙트럼

② 엽면적

- 식물의 형태적 표현형 지표 중 하나인 엽면적을 측정하기 위해서는 일반적으로는 RGB 이미지 상에서 Green 영역을 추출하여 해당 영역의 픽셀 개수를 계산하면 엽면적을 산출할 수 있다. 하지만 앞에서 언급한 RGB 이미지에서, 식물에 해당하는 Green 값의 범위가 상당히 모호하기 때문에 정확한 엽면적 계산을 위한 이미지 처리가 쉽지 않다. 따라서 파장기반에 의한 색깔 표현형식의 변화가 요구된다.
- CIE(국제조명위원회) Lab 색 공간은 우리 눈이 감지할 수 있는 색차와 색 공간에서 수치로 표현한 색차를 거의 일치시킬 수 있는 표현 형태이다. 디지털컬러에 대한 표시가 X, Y, Z 라는 인간의 눈에 Red, Green, Blue에 각각 유사한 색 공간으로 표시하여 왔지만 이러한 색 공간에서는 인간이 느끼는 두 색간의 색 차와 계산된 수치로 나타내는 색차가 색상에 따라서 많은 차이를 보이는 반면 CIE Lab는 균일한 색 공간 좌표로서 눈과 매우 근사한 차이를 보여주기 때문에 현재 세계적으로 표준화되어 있는 색 공간이다.

- CIE Lab에서의 색 좌표는 그림 130과 같이 L^* , a^* , b^* 로 표시하게 되며 L^* 는 명도, a^* 는 Red와 Green의 정도, b^* 는 Yellow와 Blue의 정도를 나타내는 입체 좌표이다. 즉 수학에서의 입체공간 X, Y, Z와 유사하다. 그러나 CIE Lab공간은 완전한 구의 형태는 아니다. Green 계통은 중심으로부터 거리가 짧고 Red 계통은 중심으로부터 거리가 Green보다는 훨씬 멀다. 명도를 나타내는 수치 L^* 는 영어로는 Lightness로서 $L^*=100$ 은 흰색(흰색이라기 보다는 광원의 색에 가깝다.)이며 $L^*=0$ 은 검은색이다. $a^*=80$ 은 $a^*=50$ 보다 더 붉게 보이며 $b^*=50$ 은 $b^*=20$ 보다 Yellow가 많이 보인다. 이 공간에서 색의 차이란 구에 가까운 색 공간에서의 두 색의 위치간의 입체적인 거리라고 할 수 있다. 입체적으로 거리가 서로 멀면 색 차이가 많이 나는 것이고 거리가 거의 차이가 없으면 동일한 색으로 인지된다. 표준이 되는 색상의 좌표를 L_1, a_1, b_1 으로 좌표상에 나타내고 비교가 되는 색상의 좌표를 L_2, a_2, b_2 로 나타낼 때 이 두 색의 차이는 표 7 과 같이 계산한다.

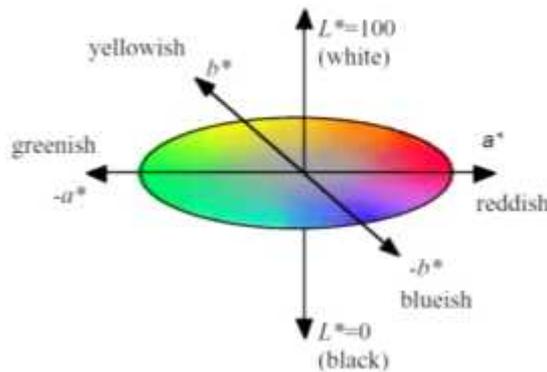


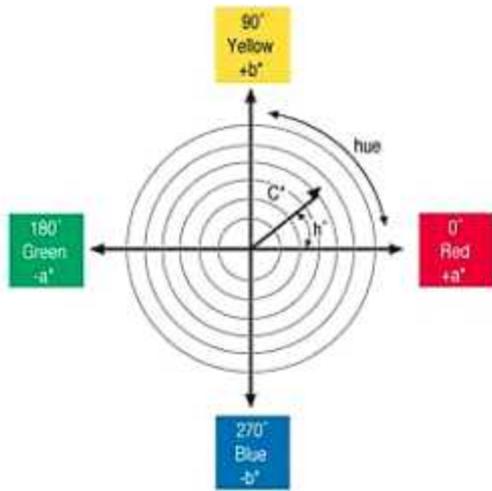
그림 130. CIE Lab 색공간

표 7. CIE LAB 색공간

$\Delta L^* = L_2^* - L_1^*$	명도차
$\Delta a^* = a_2^* - a_1^*$	Red-Green
$\Delta b^* = b_2^* - b_1^*$	Yellow-Blue
$\Delta E^* = (\Delta L^{*2} - \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$	색 차

- CIE Lab과 색상공간은 동일하지만 CIE Lab로는 채도나 색상에 대한 표시 정도가 부족하기 때문에 Lab를 기초로 한 LCH 즉 명도, 채도, 색상으로 표시할 수 있는 체계가 만들어 졌다. Lab와 비교하면 LCH가 훨씬 현장성이 있다. 눈으로 측정할 수 있는 계통이 명도, 채도, 색상이므로 LCH를 사용하게 되면 이해가 쉽다는 장점이 있다. LCH는 그림 6과 같이 L^* , C^* , h^* 로 표시하며 L^* 는 Lab의 L^* 와 동일한 명도를 나타내고 C^* 는 Chroma(채도)의 표시이며 구의 중심에서 바깥으로 얼마나 떨어져 있나 하는 거리를 수

치로 나타낸다. h^* 는 Hue(색상)의 표시이며 0-360도의 각도로 표시하며 0도는 Yellow, 90도는 Red, 180도는 Green, 270도는 Blue, 다시 360도 즉 0도는 Red의 색상 방향이다.



ΔL^*	(+)	Light 하다	(-)	Dark 하다
ΔL^*	(+)	Redder	(-)	Greener
ΔL^*	(+)	Yellower	(-)	Bluer
ΔL^*	(+)	Bright 하다	(-)	Dull 하다

그림 131. CIE LCH 색공간

- LCH 방법을 이용하여 식물에 해당하는 채도와 녹색영역을 추출하면 그림 131과 같다. RGB 영상을 Lab 영상으로 바꾼 후, Lab 영상을 LCH 영상으로 바꾼다. 여기에서 L(명도)값을 제외한 C(채도)와 H(색상) 값을 조합하여 대상식물의 색에 해당하는 영역(C와 H의 녹색 영역 교집합 부분)을 찾는다. 그 후 해당하는 영역을 마스킹 영상으로 만들어 RGB영상에 대입하면 대상식물의 잎사귀 부분만 추출할 수 있다. 타깃 영상이 획득이 되면 대상식물의 잎사귀에 해당하는 픽셀의 개수와 영상 RGB값을 계산할 수 있게 된다.

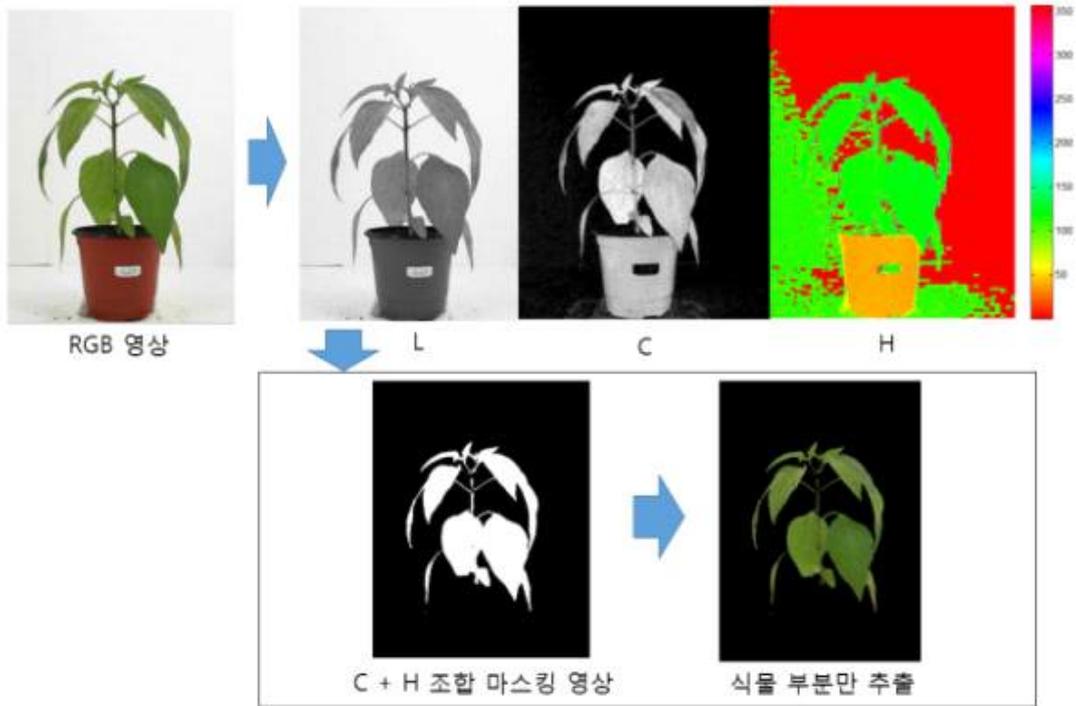


그림 132. LCH 방법을 이용한 녹색영역 추출

③ 잎의 기울기

- 식물 잎의 기울기는 식물의 활력상태를 나타내는데 대표적으로 광합성 효율과 관련성이 있다. 대부분의 잎들은 직사광선하에서 광포화가 되는데, 변화하는 태양의 고도변화에 따라 엽각이 변화하도록 진화해 온 것으로 보고되고 있다. 따라서 엽각의 변화는 작물의 생장을 또는 활력에 관계가 깊다.
- 식물 엽각 측정법은 수평을 기준으로 각도를 관측하는 것이다. 식물의 무수한 잎들의 엽각을 수작업으로 측정하기에는 시간과 인력이 매우 많이 소요되므로 이를 자동으로 계측할 수 있는 표현형 계측기술이 필요하다. 본 연구에서는 엽각의 측정을 위해 다음과 같은 방법을 개발하였다.

● 식물 이미지의 질량중심 측정을 통한 잎의 엽각 측정

- 이미지에 타킷으로 하는 객체(식물)들은 다양한 형태적 특성에 해당하는 데이터를 내포하고 있다. 객체를 이루고 있는 각각의 픽셀들은 영상의 컬러를 표현하는 RGB 값을 가지고 있으며, 측정된 영상 지도를 기준으로 특정한 공간정보인 X-Y좌표가 할당되어있다. 따라서, [2]와 같은 계산을 통하여 객체의 X-Y픽셀 좌표정보들을 취합하여 평균값을 산출하면, 질량중심을 구할 수 있다. 객체의 형태(픽셀의 분포)가 변하면 이에 따른 객체 질량중심이 변화하게 되는데, 이러한 원리로 전체적인 식물의 잎의 엽각 상태를 유추할 수 있다. 그림 133과 같이 정상(a)과 수분스트레스를(b) 받은 고추를 대상으로 질량중심(별모양)을 표시한 결과 정상보다 수분스트레스 받은 식물의 질량중심이 아래쪽으로 움직인다는 것을 확인할 수 있다.

질량중심 (X, Y)는

$$X = \frac{\sum_{k=1}^n x_k}{n}, Y = \frac{\sum_{k=1}^n y_k}{n} \dots\dots\dots [2]$$

x_k 는 객체 픽셀의 x좌표

y_k 는 객체 픽셀의 y좌표

n은 객체 픽셀의 총 개수



(a) 정상 고추

(b) 수분스트레스를 받은 고추

그림 133. 객체(고추 식물부분)의 변화에 따른 질량중심 위치 변화

(나) 고추의 한발 스트레스와 고온스트레스의 형태적 반응 지표 발굴

① 재료 및 방법

㉠ 한발스트레스

- 한발스트레스를 주기 이전에 ‘홍진주’ 품종을 13일 동안 발아시킨 후 직경 10 cm인 플라스틱 포트에 정식하였다. 정식한 고추를 광주기(16시간-낮/8시간-밤), 습도: 70%, 온도(낮 28-30, 밤 21), 오후 2시 30분경 자동 급수하는 환경에서 15일 동안 성장시킨 고추를 대상으로 실험하였다.
- 그림 135와 같이 정상군 9개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 9개로 나누어 실험을 수행하였다. 물 공급을 중단한 후 24시간 간격으로 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다. 텐시오미터의 흔들림을 최소화하여 화분 내 토양수분량의 측정 편차를 줄이기 위해 토양표면에서 7 cm 깊이에 센

서를 위치시키고 3번 측정 한 값을 평균하여 사용하였다.

- 샘플의 토양흡착수압을 측정한 후 그림 127과 같이 구성된 영상 측정 시스템에 놓고 0, 24, 48, 72시간(총 4회)이 경과한 샘플의 정면과 상단을 측정하였다.



그림 134. 고추 생육 온실



(a) 정상군

(b) 스트레스군

그림 135. 한발 스트레스를 적용할 샘플(고추)

㊤ 고온스트레스

- 고온스트레스의 경우 그림 136과 같이 9개의 샘플을 챔버에 넣고 낮 온도 35℃, 밤 온도 30℃로 설정하였다. (나머지 조건은 정상과 동일)



(a) 고온 챔버



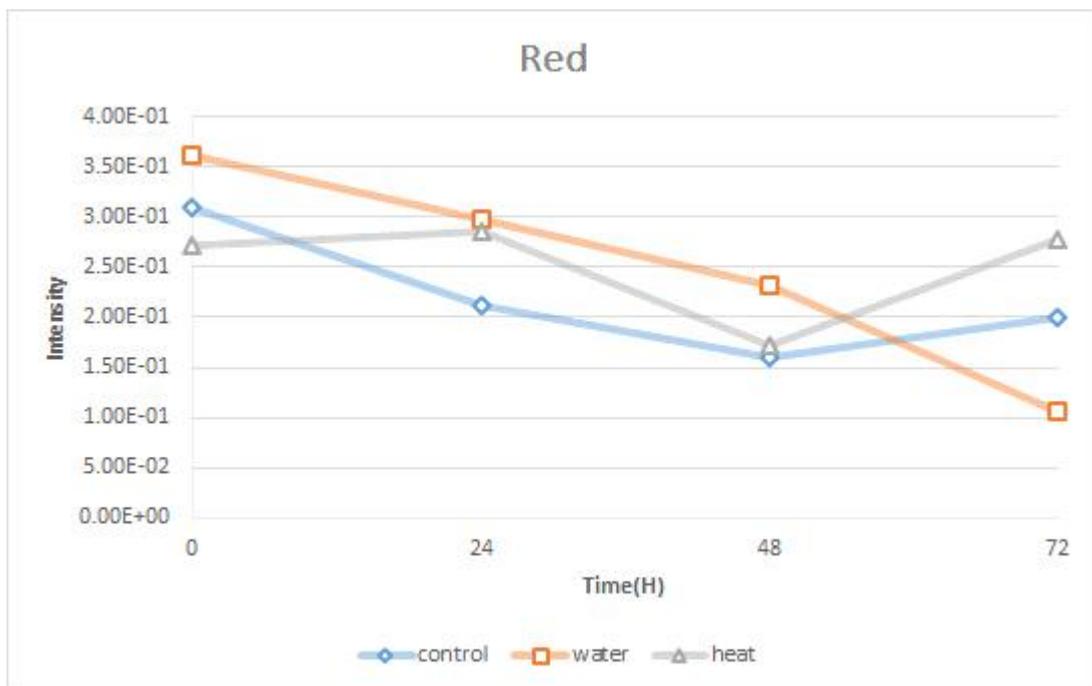
(b) 고온 챔버 내부 고추들

그림 136. 고온 스트레스 설정 환경

① 고추의 형태학적 분석 결과

㉞ 색깔

- 그림 137에 RGB 값의 변화 추이를 나타내었다. 모든 RGB 값은 다르나, 각 군별로 값의 변화 패턴이 비슷하다는 사실을 알 수 있다. 정상과 고온스트레스의 경우 값의 변화가 비슷하여 특별한 경향성을 찾을 수 없었지만, 한발스트레스의 경우 RGB값이 모두 지속적으로 하향하는 패턴을 보였다. 그림 138과 비교해보면, 스트레스가 가중되는 구간인 72시간 이후 RGB 값이 급격히 하향하였으며, 이러한 패턴을 그림 140에서도 확인할 수 있다.



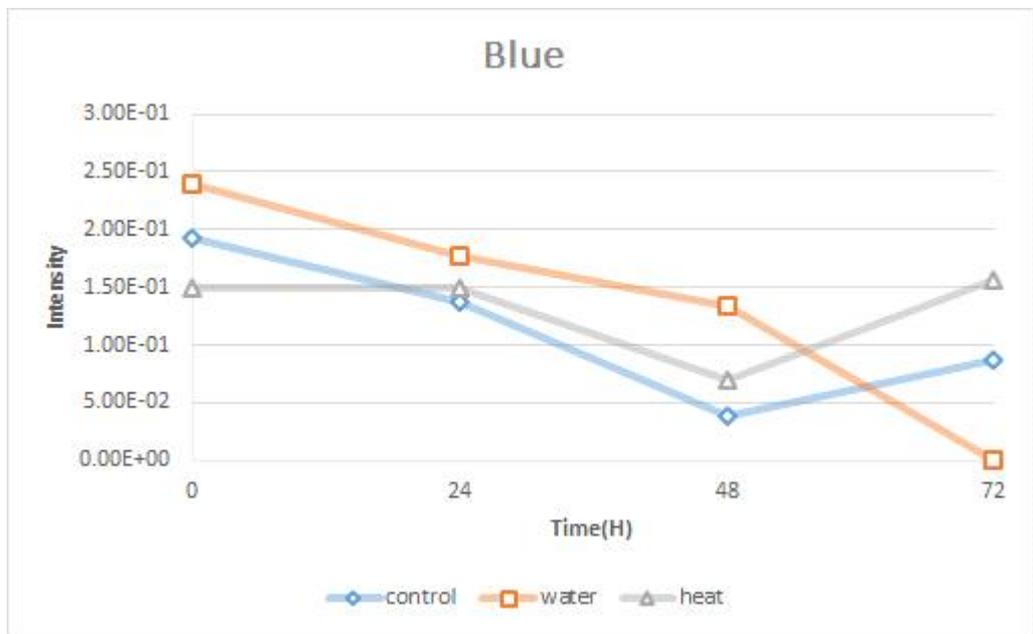
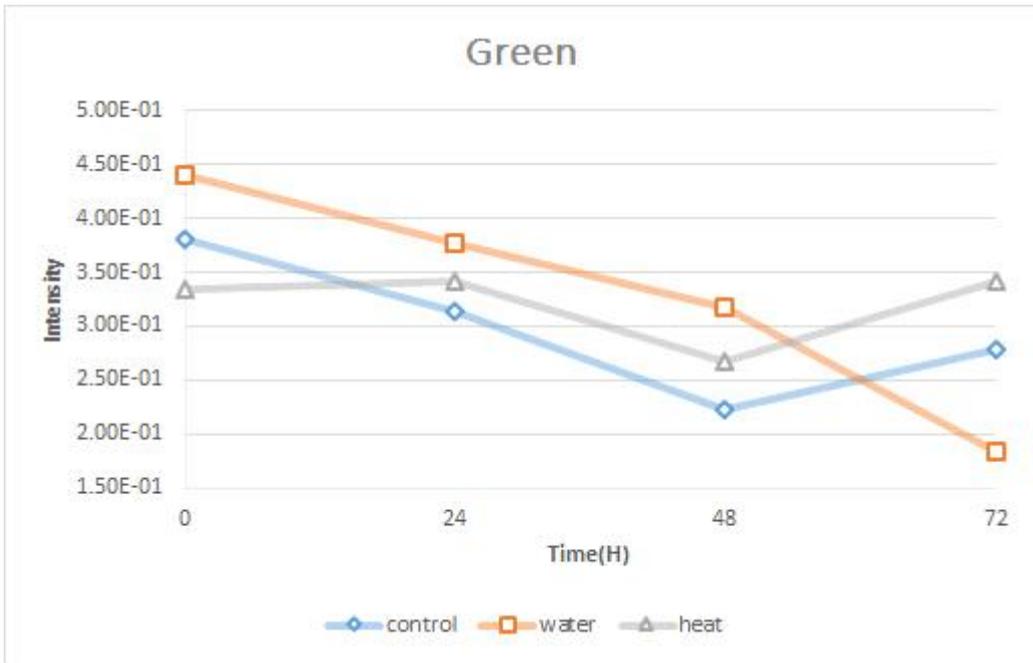


그림 137. 고추의 한발, 고온스트레스를 받은 잎의 R,G,B 영역의 강도의 평균값 (표준편차 0에 가까움)

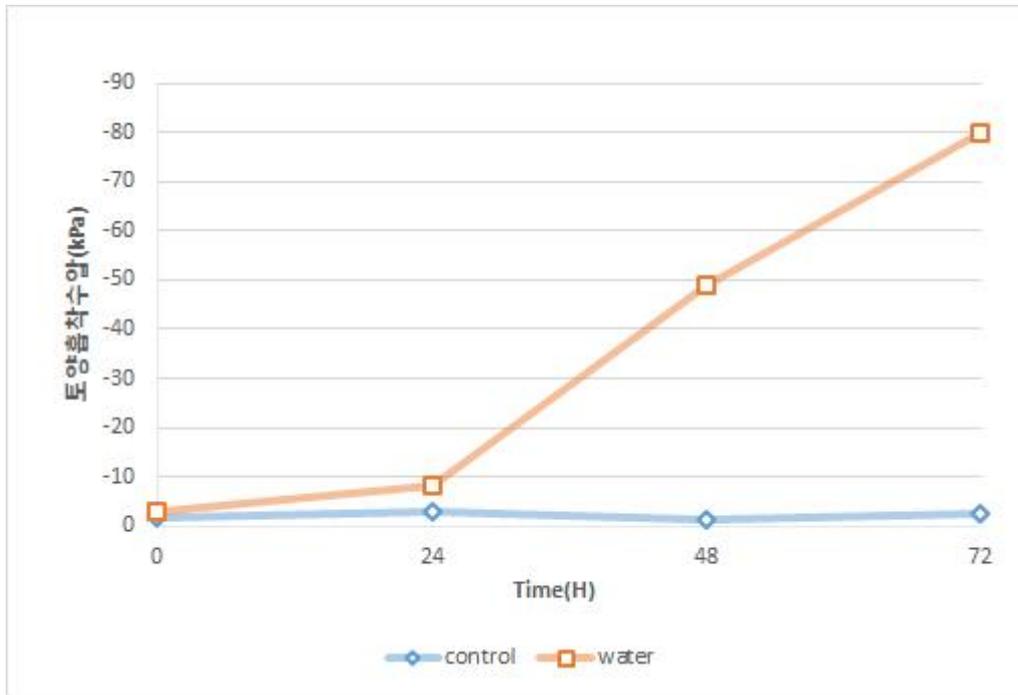


그림 138. 정상과 한발스트레스의 시간별(H) 수분포텐셜(kPa)

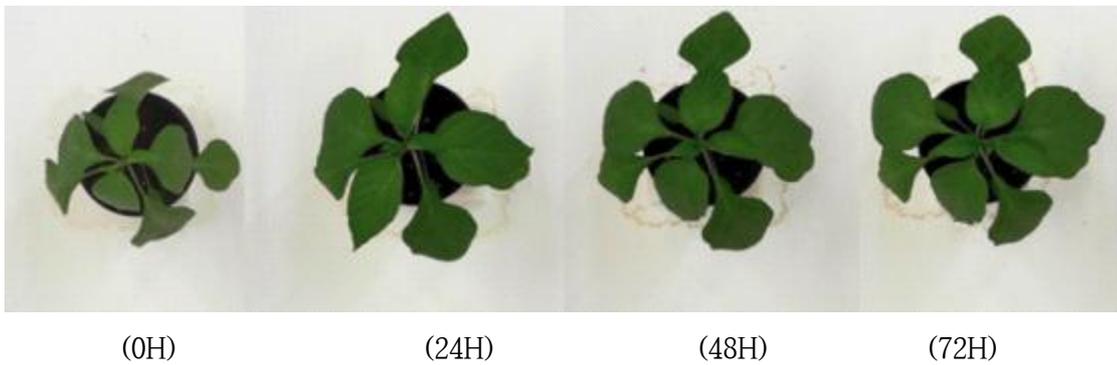


그림 139. 정상 고추의 시간별(H) 변화

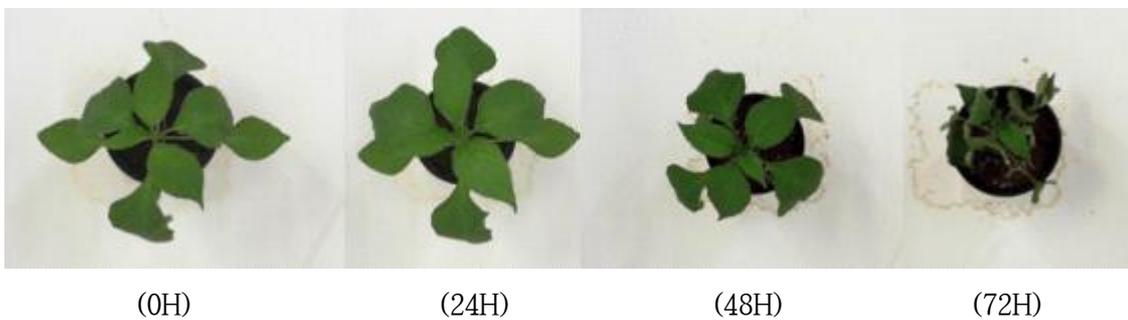


그림 140. 한발스트레스 받은 고추의 시간별(H) 변화



그림 141. 고온스트레스 받은 고추의 시간별(H) 변화

㉠ 엽면적

- 그림 139와 그림 142를 보면, 상단에서 촬영 시 정상 고추는 시간에 따라서 엽면적이 증가함을 알 수 있다. 이는 시간에 따라 생육이 증가되므로 잎이 커지고, 잎의 각도가 증가함을 나타낸다. 하지만 그림 140과 같이 수분 처리가 있는 경우 수분스트레스를 강하게 받기 시작하는 24시간 이후로 엽면의 감소가 명확하게 일어남을 확인할 수 있다(그림 140, 142). 그리고 고온의 경우 고온스트레스에 노출된 직후부터 계속해서 엽면의 감소가 이어짐을 확인할 수 있다(그림 141, 142).
- 상단 영상으로 엽면적은 정상, 수분 고온의 패턴을 명확하게 구분할 수 있는 지표가 될 수 있을 것으로 사료된다.

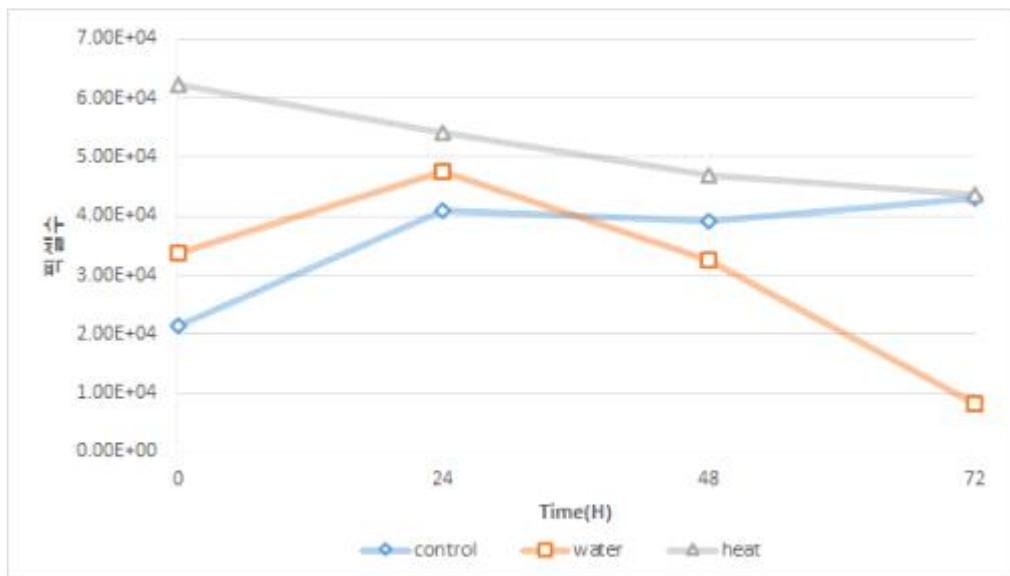


그림 142. 상단에서 RGB 영상 촬영 시 정상, 한발, 고온스트레스의 시간에 따른 엽면적 변화

㉠ 잎의 기울기

- 잎의 무게중심은 식물의 측면부 데이터를 이용하여 산출하였다. 이미지의 XY 축은 그

림 134과 같이 이미지의 상단을 기준으로 측정되므로, Y값이 증가하면, 식물의 무게중심이 낮아짐을 의미한다.

- 그림 144에서와 같이 정상외의 경우 질량중심이 증가함을 알 수 있는데, 그림 142의 정상외의 엽면적 변화와 같이 동일하게 해석이 가능하다. 한발스트레스의 경우 24시간 이후로 질량중심이 감소함을 알 수 있으며 이 때 부터 한발에 의한 영향이 시작됨을 알 수 있다. 고온스트레스의 경우도 24시간 이후 무게중심이 감소됨을 알 수 있다.

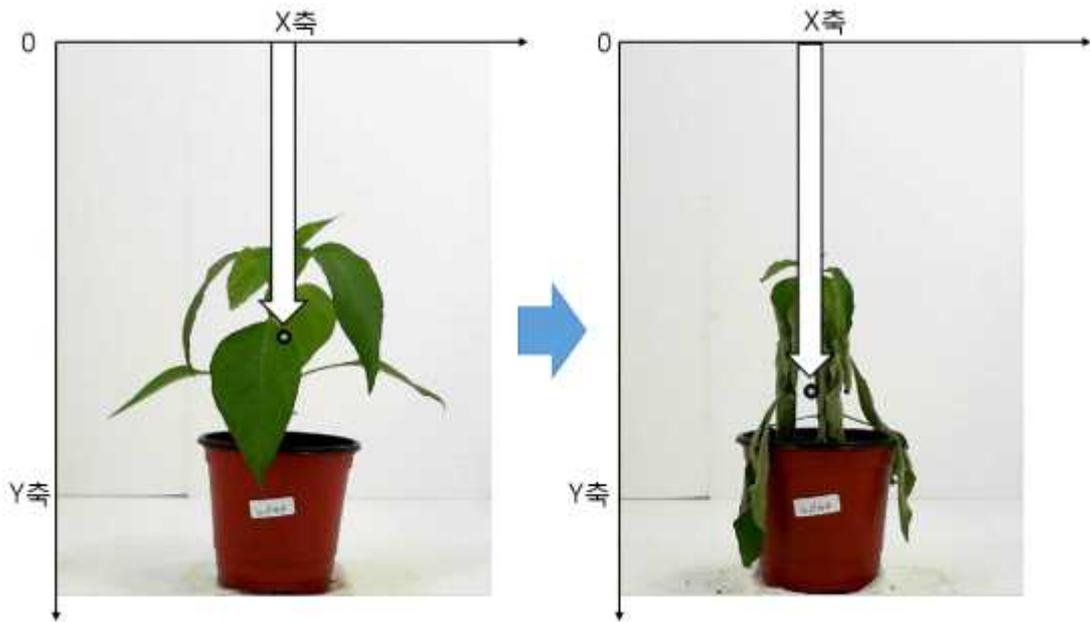


그림 143. 이미지에서 질량중심과 Y축 값의 상관관계

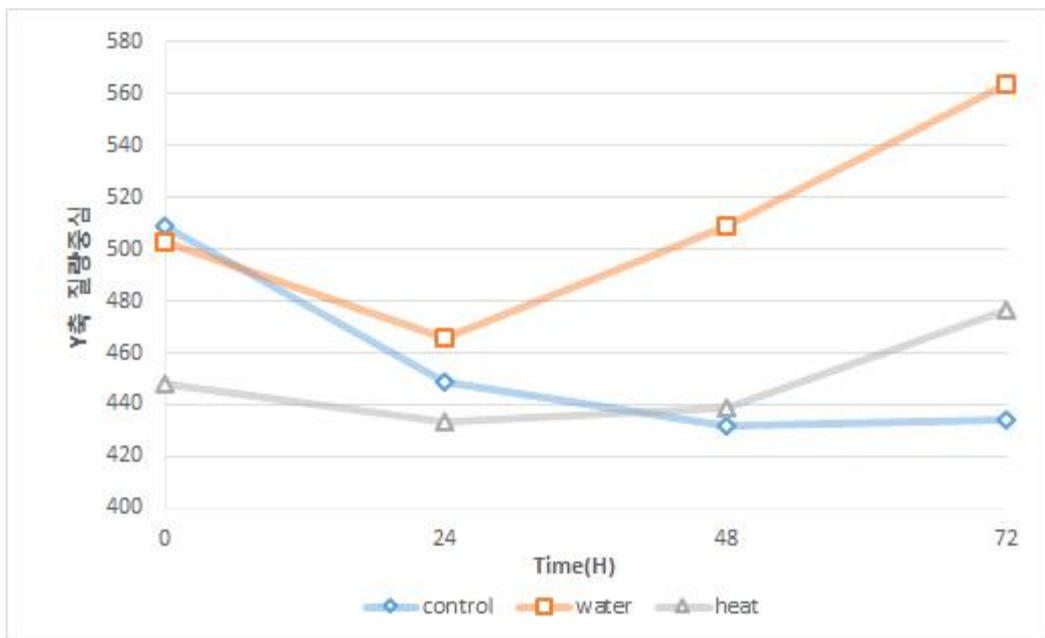


그림 144. 정상, 한발, 고온스트레스의 질량중심 그래프(Y값이 증가할수록 질량중심은 감소)

(2) 배추의 한발/온도스트레스 형태적 반응 지표 발굴

(가) 배추의 형태학적 분석법

- 색깔, 넓이, 기울기를 구하는 방법은 선행으로 제시한 고추분석방법과 동일하다.

(나) 배추의 한발 스트레스 형태적 반응 지표 발굴

① 한발스트레스

- 한발스트레스에 노출하기 이전에 ‘황복배추’ 품종을 13일 동안 발아시킨 후 직경 10 cm인 플라스틱 포트에 정식하였다. 정식한 배추를 광주기(16시간-낮/8시간-밤), 습도: 70%, 온도(낮 21~23℃, 밤 18℃), 오후 2시 30분경 자동 급수하는 환경에서 15일 동안 성장시킨 배추를 대상으로 실험하였다(그림 145).
- 그림 146과 같이 정상군 9개와 인위적으로 물 공급을 중단한 스트레스군 9개로 나누어 실험을 수행하였다. 물 공급을 중단한 후 24시간 간격으로 화분의 토양수분량과 밀접한 토양흡착수압(kPa)을 측정하였다. 토양흡착수압은 텐시오미터(Tensiometer, Infield7c T5 set, UMS, Germany)를 이용하여 측정하였다.
- 샘플의 토양흡착수압을 측정한 후 그림 127과 같이 구성된 영상 측정 시스템에 놓고 0, 24, 48, 72시간(총 4회)이 경과한 샘플의 정면과 상단을 측정하였다.



그림 145. 배추 생육 온실



(a) 정상군



(b) 스트레스군

그림 146. 한발 스트레스에 노출된 샘플(배추)

② 고온스트레스

- 고온스트레스의 경우 그림 147과 같이 9개의 샘플을 챔버에 넣고 낮온도 35℃, 밤온도 30℃로 설정하였다(나머지 조건은 정상과 동일).



(a) 고온 챔버



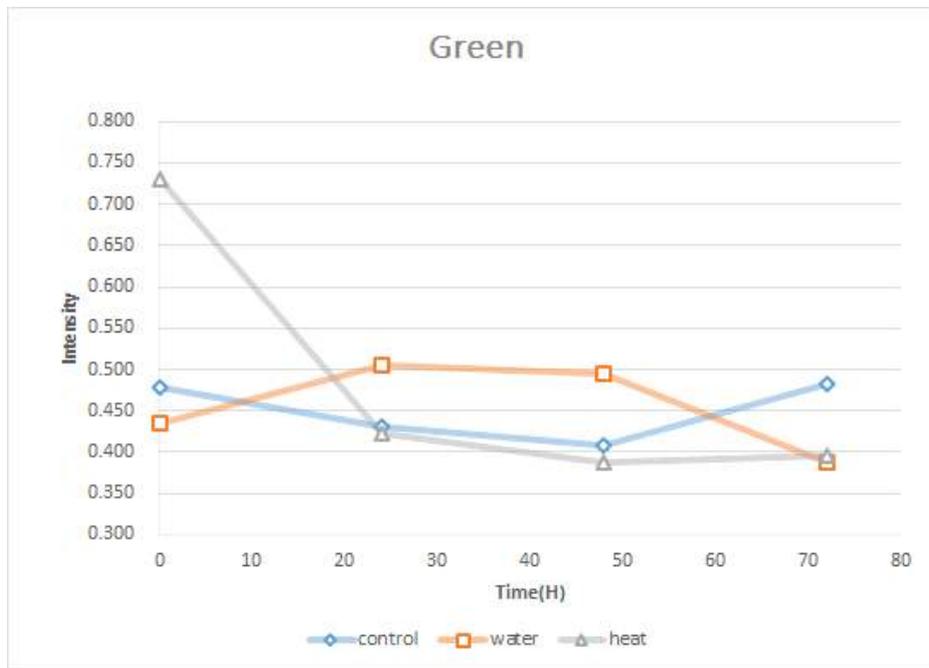
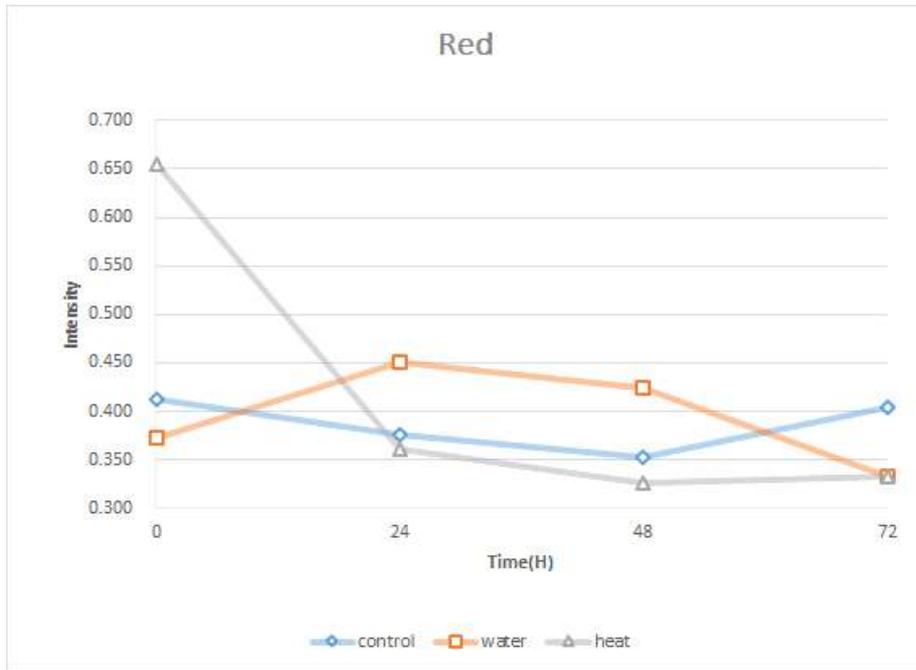
(b) 고온 챔버 내부 배추들

그림 147. 고온 스트레스 설정 환경(배추)

③ 배추의 형태학적 분석 결과

㉠ 색깔

- 그림 148은 배추가 스트레스에 노출되었을 때의 RGB 값의 변화 추이를 보여준다. 모든 RGB 값은 상대적으로 다르나, 각 군별로 값의 변화 패턴이 비슷하다는 사실을 알 수 있다. 정상과 한발스트레스의 경우 값의 변화가 비슷하여 특별한 경향성을 찾을 수 없었지만, 고온스트레스의 경우 RGB값이 모두 지속적으로 하향하는 패턴을 보였다. 고온 스트레스에 노출된 처음부터 24시간동안 급격히 하향하였으며 이후는 안정되는 것을 알 수 있는데, 이는 24시간 이내 가장 큰 손상을 받았기 때문이라 사료된다.



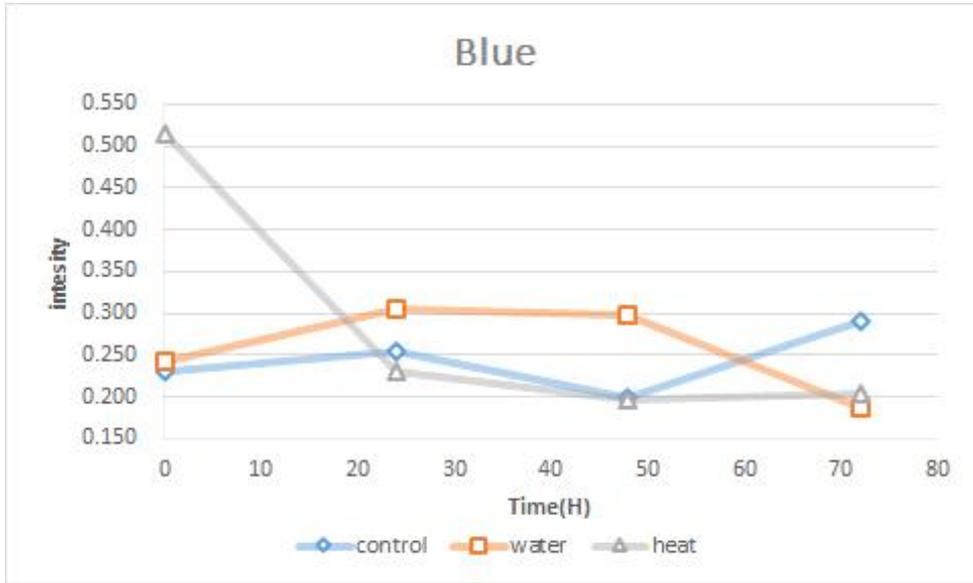


그림 148. 배추의 정상, 한발, 고온스트레스를 받은 잎의 R,G,B 영역의 강도의 평균값 (표준편차 0에 가까움)

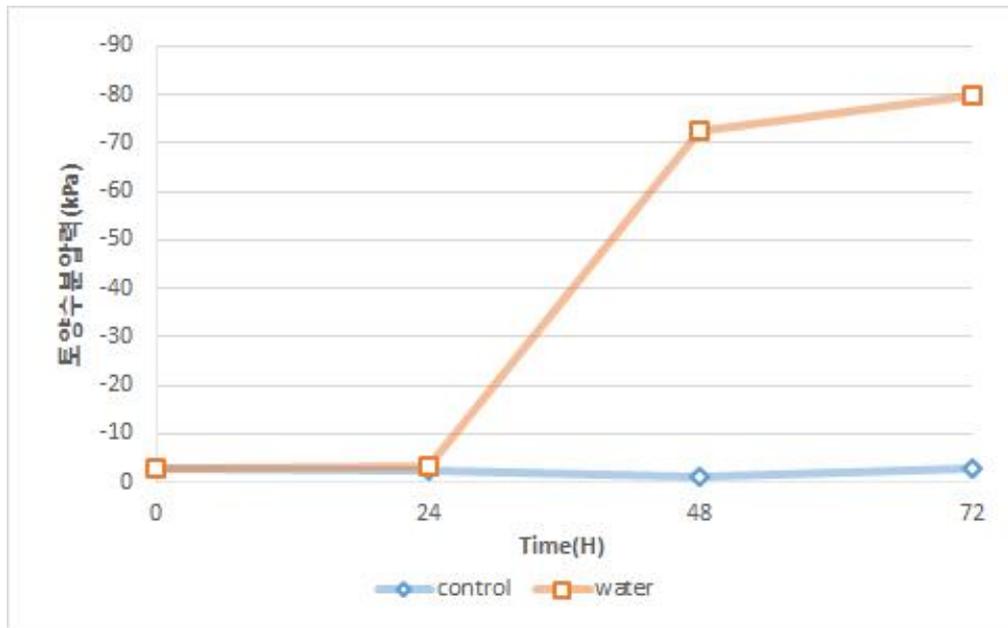


그림 149. 배추의 정상, 한발스트레스의 시간별(H) 토양수분압력(kPa)

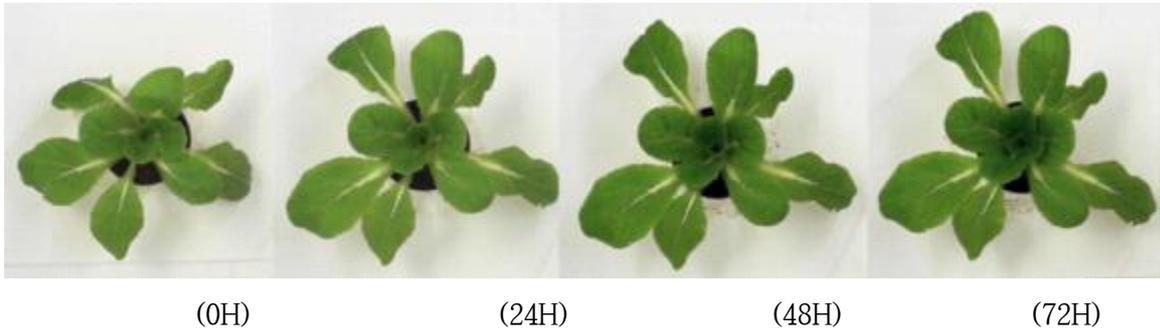


그림 150. 정상 배추의 시간별(H) 변화



그림 151. 한발스트레스 배추의 시간별(H) 변화

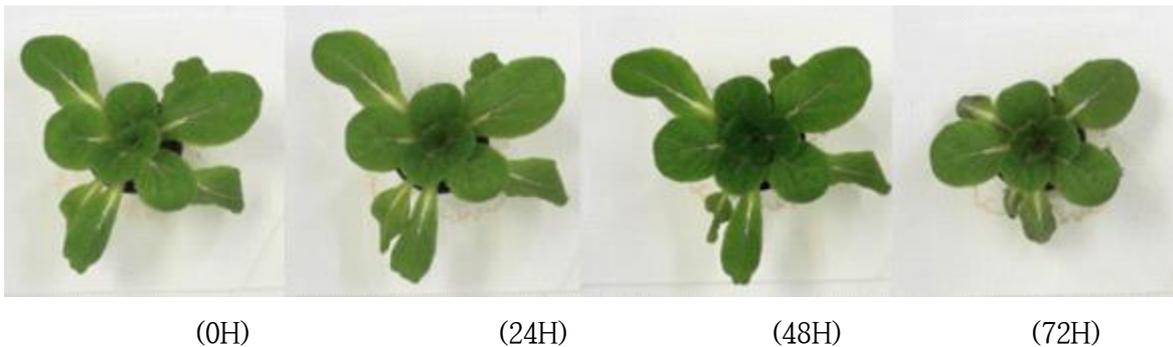


그림 152. 온도스트레스 배추의 시간별(H) 변화

㉠ 엽면적

- 그림 150와 그림 153에서 볼 수 있듯이 상단에서 촬영 시 정상배추는 시간에 따라서 엽면적이 증가함을 알 수 있다. 이는 시간에 따라 생육이 증가하여 잎이 커지고 잎의 각도가 증가하기 때문이다. 하지만 수분의 경우 그림 151 과 비교하여 수분스트레스를 받기 시작하는 24시간 이전에는 토양수분압력이 정상과 수준이 비슷하여 감소가 없다가, 48시간 이후로 면적의 변화가 생김을 알 수 있었다(그림 151, 153). 그리고 고온의 경우 한발스트레스와 비슷한 패턴을 보였다(그림 152, 153).
- 상단에서 본 엽면적은 정상과 수분 및 고온 스트레스의 패턴을 구분할 수 있는 방법으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

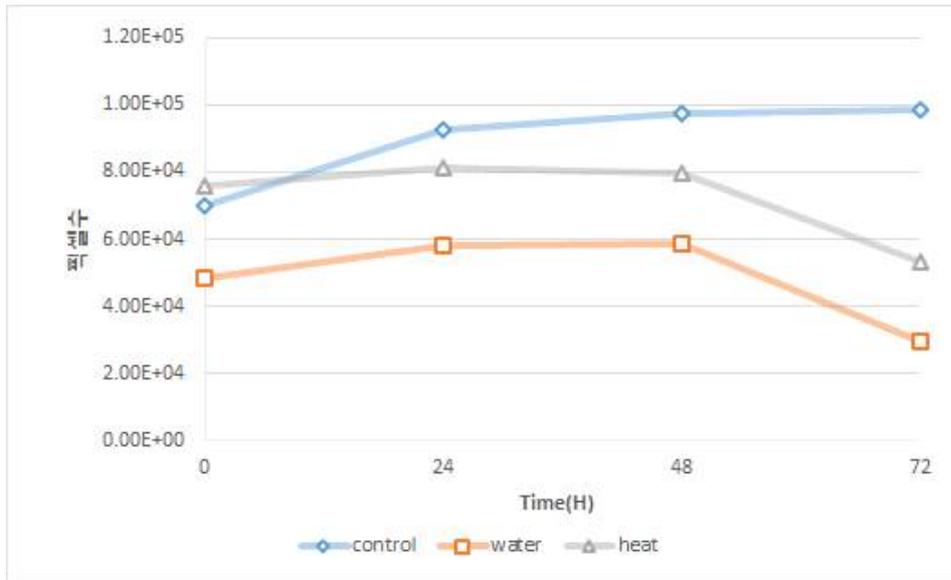


그림 153. 온도스트레스 배추의 시간별(H) 면적(픽셀수) 변화

㉔ 잎의 기울기

- 잎의 무게중심은 식물의 측면부 데이터를 이용하여 산출하였다. 이미지의 XY 축은 그림 143과 같이 이미지의 상단을 기준으로 측정되므로, Y값이 증가하면, 식물의 무게중심이 낮아짐을 의미한다.
- 그림 154와 같이 정상외의 경우 질량중심이 증가함을 알 수 있는데, 그림 153의 정상외의 엽면적 변화와 동일하게 해석이 가능하다. 한발스트레스의 경우 48시간 이후로 질량중심이 감소함을 알 수 있으며 이 때 부터 한발의 영향이 시작됨을 판단할 수 있다. 고온스트레스의 경우도 48시간 이후 무게중심이 감소되어 스트레스가 시작됨을 알 수 있다.

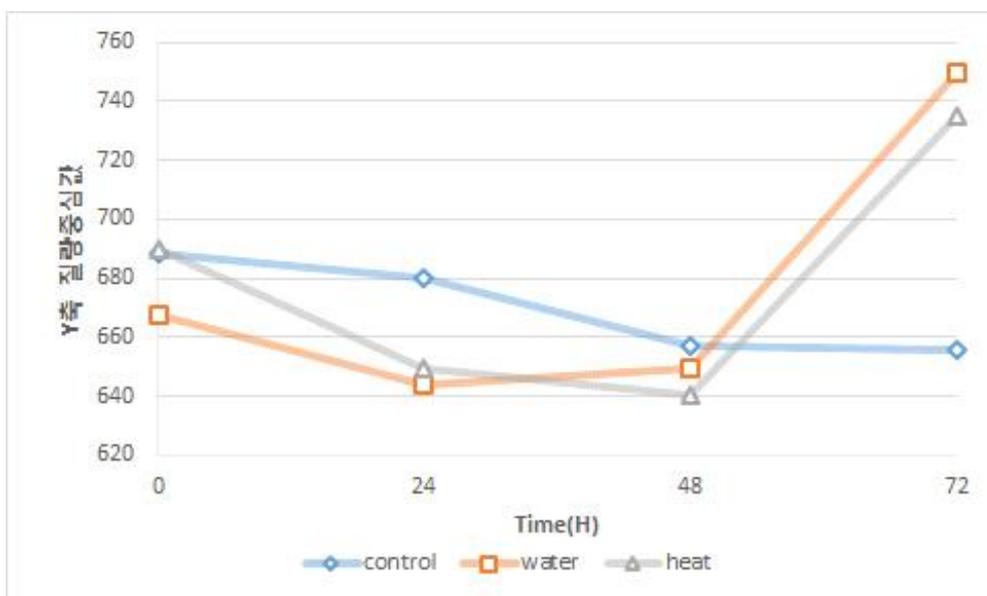


그림 154. 온도스트레스 배추의 시간별(H) 질량중심 변화

6. 입체 영상 시스템 구축 및 표현형 측정을 위한 최적화

가. 입체 영상 시스템 구축

- 본 과제의 최종 목표는 품목별 고속 대량 표현형 검정서비스를 제공하는 것이다. 본 서비스를 제공하기 위해서는 식물의 생장 과정을 정량적인 데이터로 획득하고, 획득된 데이터를 형태학적 정보로 분석해야 한다. 본 연구에서는 식물의 생장 과정을 정밀하게 측정하고 분석하기 위해 식물의 입체 영상 시스템을 구축하고 획득된 입체영상을 분석하고자 하였다.

(1) 식물의 입체 영상 획득 시스템 개발

● 입체 영상 획득 시스템 구성

- 식물의 입체 영상 획득 시스템 개발에 앞서 입체 영상 획득에 관한 기존의 연구들을 시스템 구성에 참고하였다. 기존의 연구들은 레이저 스캐너, 스테레오 카메라 등 다양한 장비를 이용하여 대상의 입체 영상을 획득하였다. 그러나 레이저 스캐너는 식물에 손상을 야기할 수 있어 사용하기에 부적합하고 스테레오 카메라를 이용한 방법은 두 카메라의 기계적 오차 및 오류의 변수가 단일 카메라를 사용한 경우보다 더 크다고 판단하였다. 따라서 본 연구에서는 단일 카메라를 사용하여 대상체를 회전시키며 다양한 각도에서 촬영한 이미지를 바탕으로 입체 영상을 구축하고자 하였다.
- 본 연구에서 사용된 식물의 입체 영상 획득 시스템은 카메라 구동부, 모터 구동부, 그리고 영상 촬영부로 구성하였다. 구축된 입체 영상 획득 시스템의 전체적인 모습은 **그림 155**와 같다.



그림 155. 입체 영상 획득 시스템의 전반부

(가) 카메라 구동부

- 입체 영상 획득 시스템에서 가장 중요한 부분은 식물을 정확하게 이미지로 저장시키는 카메라 구동부이다. 카메라 구동부에서도 적절한 카메라의 선택이 중요한데 카메라의 해상도가 높을수록 식물의 데이터를 유실 없이 획득할 수 있지만 데이터 용량의 증가로 분석시간이 늘어나게 된다. 따라서 데이터의 유실을 최소화하고 분석 시간도 단축할 수 있는 최적의 카메라를 선택하는 것이 필요하다.
- 본 연구에서 사용된 카메라는 EOS 700D(CANON INC., Japan)로 디지털, 일안 반사식이다. 이미지 센서로는 CMOS 센서가 장착되어 있고, 이미지 센서의 크기는 약 22.3 x 14.9 mm 이다. 유효 화소수는 약 1800만 화소로 식물의 측정에 사용됨에 큰 무리가 없다고 판단된다. 표 8 은 사용된 모델의 사양을 나타낸다. 이미지 측정에 사용된 렌즈는 EF-S18-55 mm(CANON INC., Japan) 모델이다. 초점거리는 18 ~ 55 mm이고 구경비는 1 : 3.5 ~ 5.6 이다. 필터 구경은 58 mm 이고 최단 촬영 거리는 0.25 m, 최대 촬영 배율은 0.36배이다.

표 8. EOS 700D의 제품 사양

항목	내용
형식	디지털, 일안 반사식, AF/AE 카메라
이미지센서크기	약 22.3 x 14.9 mm
이미지센서형식	CMOS 센서
유효화소수	약 1800만 화소
화면비율	3 : 2
이미지형식	JPEG, RAW
셔터스피드	1/4000에서 30초
모니터크기 및 도트수	와이드 약 7.7 cm. 약 104만 도트
크기 (W x H x D)	약 133.1 x 99.8 x 78.8 mm
무게	약 525 g

- 표 9 은 사용된 렌즈의 사양이다.

표 9. EF-S18-55mm의 제품 사양

항목	내용
초점거리/구경비	18 ~ 55 mm / 1 : 3.5 ~ 5.6
필터구경	58 mm
최대직경	69 mm
최단촬영거리	0.25 m
최대촬영배율	0.36 배
길이	75.2 mm
무게	약 205 g

(나) 모터 구동부

Isolated Object (Correct)

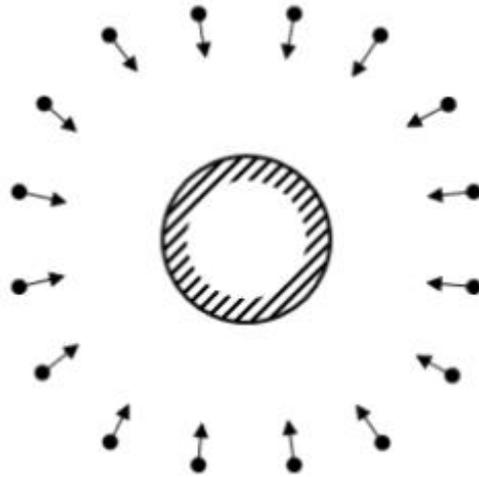


그림 156. 입체 영상 획득을 위한 이미지 촬영 방법의 한 예

- 2차원인 이미지로부터 입체 영상을 획득하기 위해서는 그림 156과 같이 다양한 각도에서 촬영한 이미지들이 필요하다. 본 연구에서는 카메라를 고정하고 모터를 이용하여 식물을 회전시키며 이미지를 획득하였다.
- 본 연구에 사용된 모터는 PK243-01B(ORIENTAL MOTOR CO., Japan)이다. 2상 스텝모터로 1 스텝당 이동 각도는 1.8° 이고 기어가 장착되지 않은 모터이다. 스텝 정확도는 $\pm 0.05^\circ$ 이다(그림 157).

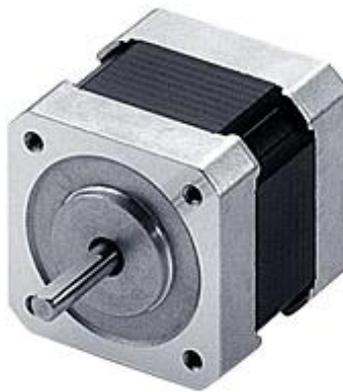


그림 157. 스텝모터

- 스텝모터에서 발생하는 회전력을 로테이션 스테이지를 이용해 회전축을 90° 변경하여 사용하였다. 로테이션 스테이지를 사용함으로써 회전의 정밀도를 향상시키고 안정된 회전을 유지할 수 있다. 스텝모터와 로테이션 스테이지의 기어비는 1:110 이다. 사용된 모터 로테이션 스테이지는 MRC-80-L(JAEWON CO., Korea)로 웬기어 방식이고 알루미늄

으로 제작되었다. 정확도는 0.02 °이고 최대 허용 부하는 9 Kgf 이다. 그림 158은 MRC-80-L이고 표 10 은 로테이션 스테이지의 사양이다.



그림 158. 로테이션 스테이지

표 10. MRC-80-L의 제품 사양

항목	내용
모터	42 step 또는 SERVO
테이블직경	80 mm
기계형식	Worm&Gear
가이드	Ball bearing
정확도	0.02 °
구성자재	Aluminum
허용부하	9 kgf

- 위의 모터를 이용하여 약 10 ° 간격으로 식물을 회전시켜 이미지를 획득하였다. 모터의 회전과 영상측정을 위해 MATLAB(The MathWorks, INC., USA) 소프트웨어를 이용하여 구동 프로그램을 구축하였다. 그림 159는 MATLAB 프로그램을 통해 개발된 모터와 카메라의 구동 프로그램이다.

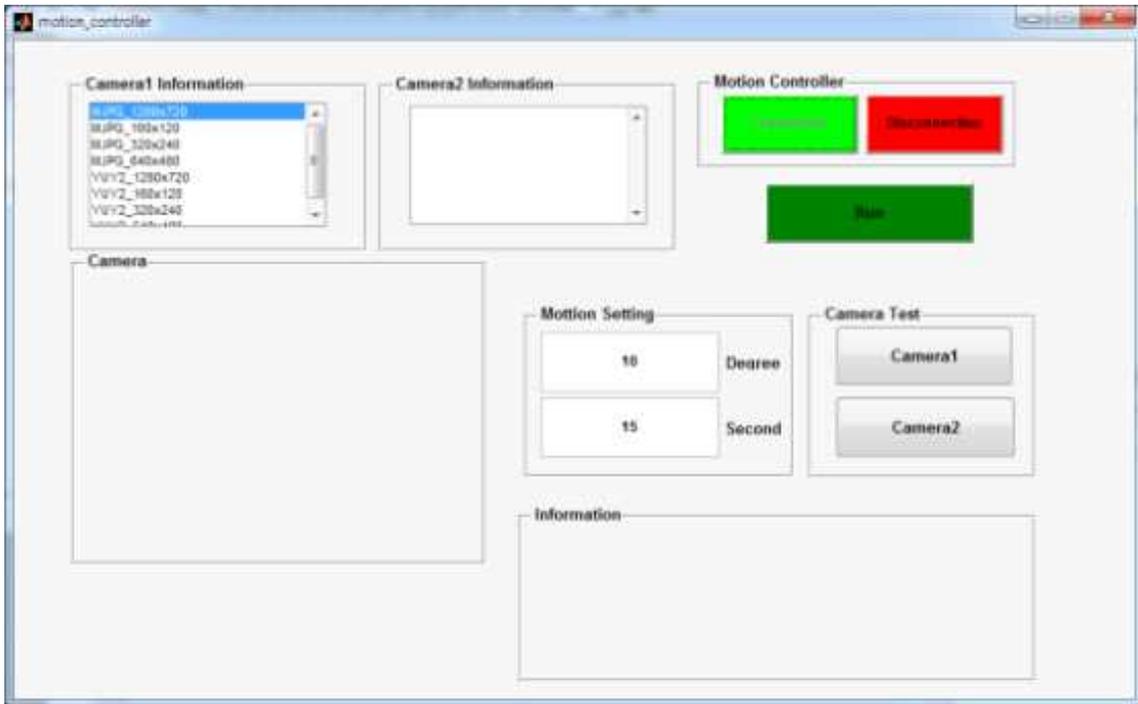


그림 159. MATLAB을 이용하여 개발된 모터와 카메라의 구동 프로그램 인터페이스

- 구동 프로그램에서는 카메라와 모터를 연동시켜 일정 각도의 모터 회전 후 자동으로 이미지를 촬영하고 촬영된 이미지를 자동으로 저장하는 기능을 수행하게 된다. 모터와 카메라 연동의 프로그램을 통해 더 균일하고 안정된 환경에서의 식물의 이미지 촬영이 가능하며 촬영의 자동화로 측정시간이 줄어드는 장점이 있다.

(다) 영상 촬영부

- 표현형 측정에서 식물의 잎과 줄기의 색깔, 형태 등의 정보에서 왜곡을 최소화하여 이미지화 하는 것이 중요하다. 따라서 식물의 촬영이 외부의 영향으로부터 간섭받지 않도록 백색 계열의 바탕으로 구성된 촬영부를 제작하였다. 또한 형광등 및 주변의 광으로부터 영향을 줄이고 그림자로부터 발생하는 데이터의 왜곡 및 손상을 방지하기 위해 7.4 W급 화이트(8K~10K) LED(5050 Chip Aluminum LED Bar-White, SS LIGHT, Korea)를 설치하였다. 그림 160은 제작된 백색 계열의 촬영부와 LED를 설치한 모습이다.



그림 160. 제작된 입체영상 촬영부

(2) 입체 영상 획득 및 영상처리

- 본 연구에서는 다양한 각도에서 촬영한 사진을 3차원 모델로 만들어주는 Photoscan Professional(Agisoft CO., Russia) 프로그램을 이용하여 식물의 입체 영상을 획득 하였다. 사용된 Photoscan Professional 프로그램의 일반적인 작업과정은 그림 161과 같다.

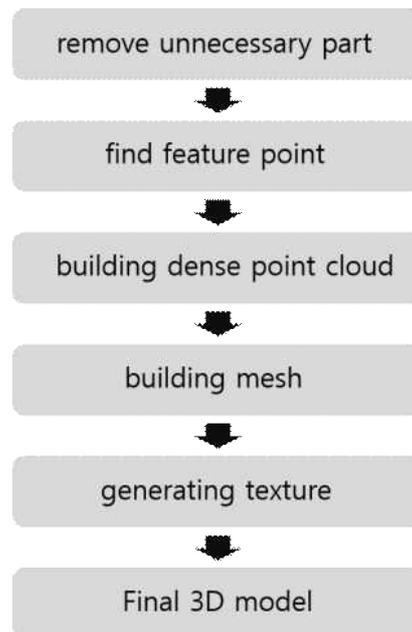


그림 161. Photoscan Professional 프로그램의 작업과정

- 작업과정은 대상 이미지에서 불필요한 부분을 제거하여 최종 입체 영상의 정확도를 향상시킨다. 위의 작업을 거친 후 이미지들의 관계를 이용하여 특징점을 찾는다. 찾은 특징점을 바탕으로 dense point cloud 모델을 형성한다. 특징점을 찾는 과정과 dense point cloud 모델의 형성 과정에서 카메라에 대한 정확한 정보가 필요하다. 이때 필요한 정보로는 각 이미지의 촬영 위치와 방향, 카메라의 내부 정보이다. 이 과정들이 진행됨에 따라 이미지들의 관계로부터 깊이를 추정하여 3차원 좌표로 나타낸다. 계산된 3차원 좌표들을 이용하여 표면을 만들고, 표면에 질감을 추가하여 최종 3차원 모델을 완성한다.
- 본 연구에 사용된 고추의 입체 이미지는 총 111장의 평면 이미지로 구성된다. 중첩된 것으로부터 데이터의 손실을 방지하기 위하여 3가지 각도를 설정하여 이미지를 획득하였다. 앞서 제작된 입체 영상 획득 시스템으로부터 획득한 고추의 이미지의 일부는 **그림 162**와 같다.



그림 162. 입체 영상 획득에 사용된 고추의 각도별 이미지

- **그림 163** 은 획득한 고추의 최종 입체 영상이다.



그림 163. 획득한 고추의 입체 영상

- 배추 모델 획득에 사용된 이미지는 총 74장이다. 배추의 경우 중첩된 것으로 인한 데이터의 손실이 고추의 경우보다 적다고 판단되어 작업 속도를 향상하기 위해 2가지 각도에서만 측정하였다. 그림 164 는 제작된 입체 영상 획득 시스템으로부터 획득한 배추 사진의 일부이다.



그림 164. 입체 영상 획득에 사용된 배추의 각도별 이미지

- 그림 165 는 획득한 배추의 최종 입체 영상이다.



그림 165. 획득한 배추 샘플의 입체 영상

나. 표현형 측정을 위한 최적화

(1) MATLAB 프로그램을 통한 분석의 시도

- 획득한 고추와 배추의 입체 영상으로부터 대상의 형태학적 데이터를 추출하고자 MATLAB 프로그램을 이용하였다. 현재 Photoscan Professional을 이용하여 획득한 입체 영상을 MATLAB 프로그램에서 인식이 가능하도록 하였다. 배추의 입체 영상 모델을 대상으로 잎의 전체 면적을 계산 하였다. 그림 166은 획득한 배추의 입체 영상을 MATALB으로 추출하여 나타낸 모델이다.

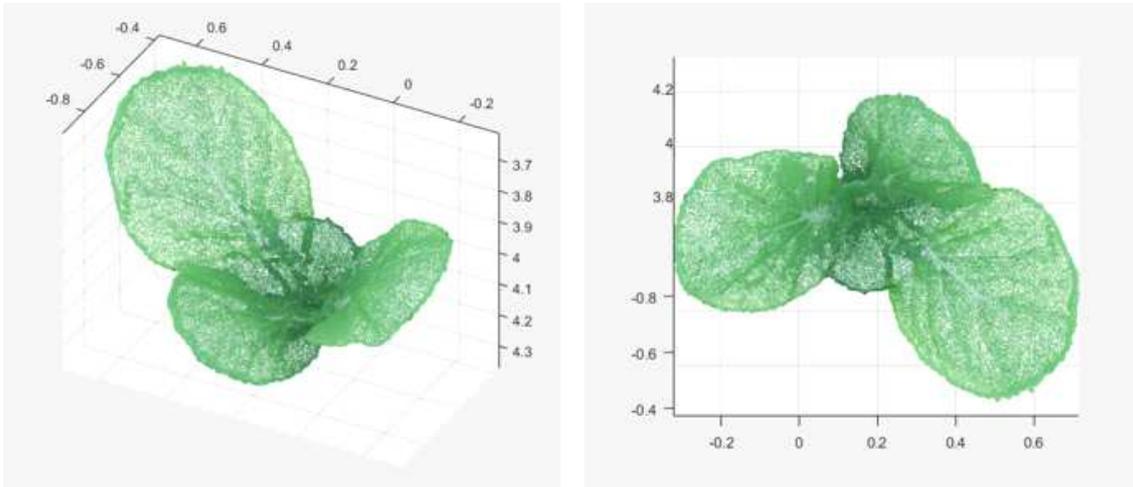


그림 166. MATLAB 프로그램을 이용하여 획득한 배추의 입체 영상

- 위의 그림에서 표현된 3차원 점들을 이용하여 잎의 면적을 계산한다. 계산된 잎의 면적은 35.59 cm^2 으로 확인되었다. 계산된 면적과 실제 면적의 오차를 줄이는 알고리즘은 지속적인 개발이 필요하다.

7. 고추의 표현형 검정을 위한 최적 환경구명

가. 광원별 파장 특성에 따른 고추의 성장/형태형성에 미치는 영향 및 phenotype 상관분석

(1) 실험 방법 : 전문 육묘장에서 파종하여 육성시킨 고추묘를 구입하여 형광등에서 약 3일간 광순화를 시킨 후에, 처리하고자 하는 광원(플라즈마램프-PL, 고압나트륨램프-HPS, 형광등-FL)이 설치된 재배 시스템에 정식하여 약 5주간 재배하였다.

○ 5주간의 재배환경

- 온도 및 습도 : $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$
- 광강도 및 일장 : 작물 군락위에서 $250 \pm 20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 조절, 16/8h 주기
- 재배 상토 : 원예용 상토 + 펄라이트 (7:3-v:v)
- 배양액 및 관수 : 네덜란드 PBG배양액으로 2일에 1회씩 저면관수
- 이식 : 직경 12cm 플라스틱포트에 이식 후 3일간 FL광으로 광순화 후 크기가 유사한 묘를 선발하여 8주씩 처리
- 대상 품종: 청양, 피망



그림 167. 청양, 피망의 이식 시 묘 상태

(2) 실험 조건



그림 168. 생육 시스템에서 재배 중인 청양과 피망 품종의 모습 PL(좌상), HPS(우상), FL(하)

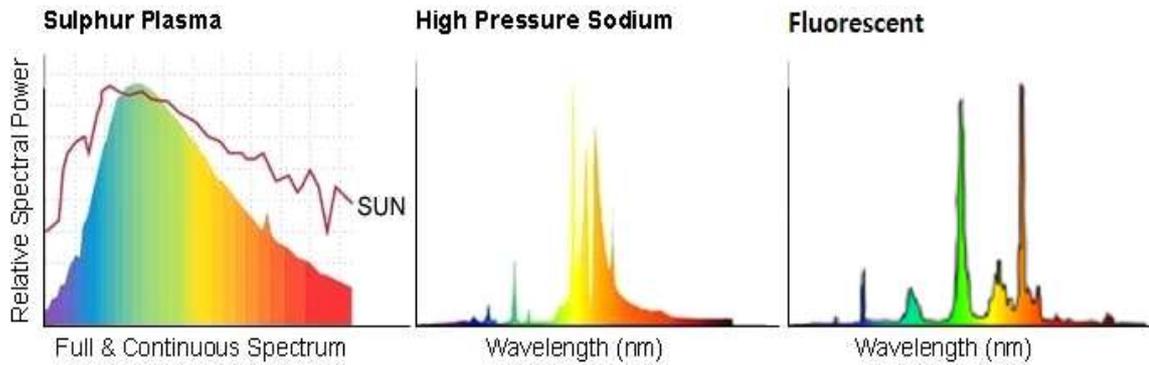


그림 169. 각 광원(PL, HPS, FL)의 스펙트럼(Spectrum) 분포

- 위의 스펙트럼 결과를 보면 광원에 따른 파장의 변화는 매우 크고, 이러한 파장은 식물의 광합성과 형태형성, 화아분화에 영향을 미칠 수 있다.
- PL광원은 가장 태양광과 가장 유사한 스펙트럼을 보이며, 태양광과 유사한 형태형성을 나타낼 것으로 사료되며, HPS는 전기에너지의 PAR변환 효율이 가장 높은 방전등으로 알려져 효율이 좋으며, FL 광원은 3파장 (적색, 청색, 녹색) 등, 특정 스펙트럼에서 그 비율이 높아지는 것을 관찰 할 수 있었다.

(3) 실험 결과



그림 170. 1주일 간격으로 측정된 묘의 형태형성의 변화

(가) 광원에 따른 화아 분화

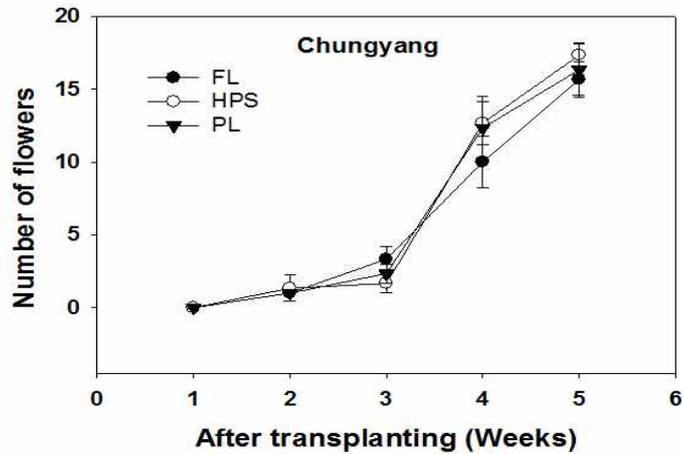


그림 171. 청양 품종에서의 광원에 따른 화아수의 차이

- 청양 품종은 광원의 차이에 따른 화아분화 유의미한 차이가 이식 후 5주 동안에는 유의적으로 관찰되지 않았다.

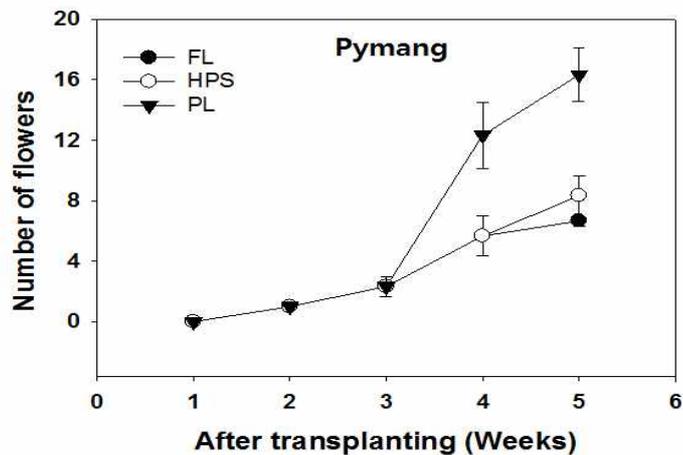


그림 172. 피망 품종에서의 광원에 따른 화아 개수의 차이

- 청양 품종과 달리, 피망 품종에서는 이식 후 3주까지의 분화된 화아 개수 차이는 거의 없으나, 이후 4주차에 들어서면서 다른 두 광원보다 PL광원은 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 마지막 5주차에는 그 차이가 더욱 크게 증가하는 것으로 나타났다.
- PL광원은 태양광과 유사한 스펙트럼 분포를 보이고 있기 때문에 적색광과 근적색광의 비율(R:FR)이 1.1 수준을 나타내며, $\phi = Pfr/(Pr+Pfr)$ 값이 식물체에 중요하다.
- 660 nm의 빛을 비추면 80 % 정도의 피토크롬이 Pfr로 되고($\phi = 0.8$), 근적외선으로는 모든 Pfr가 Pr로 변하기 때문에 $\phi = 0$ 이 된다. 햇빛에는 적색광이 근적외선보다 약간 많아서 잎의 ϕ 값은 대략 0.6으로 유지된다. 한편, 특정한 ϕ 값이 얼마동안 유지될 때 특정 생

물학적 효과의 발현이 결정되는 것으로 알려져 있다.

- PL광원은 ϕ 값이 약 0.6-0.7 수준을 유지해 주지만 그러나 HPS와 FL의 경우 근적색광원이 비율이 매우 낮기 때문에 ϕ 값은 거의 0.8 수준을 유지한다고 할 수 있다.
- 이러한 피토크롬의 활성형태에 따라서 피망 품종의 경우 광처리 4주차에서 유의적인 화아분화에서 차이를 보인 것으로 분석되었다.

(나) 광원에 따른 생육 차이

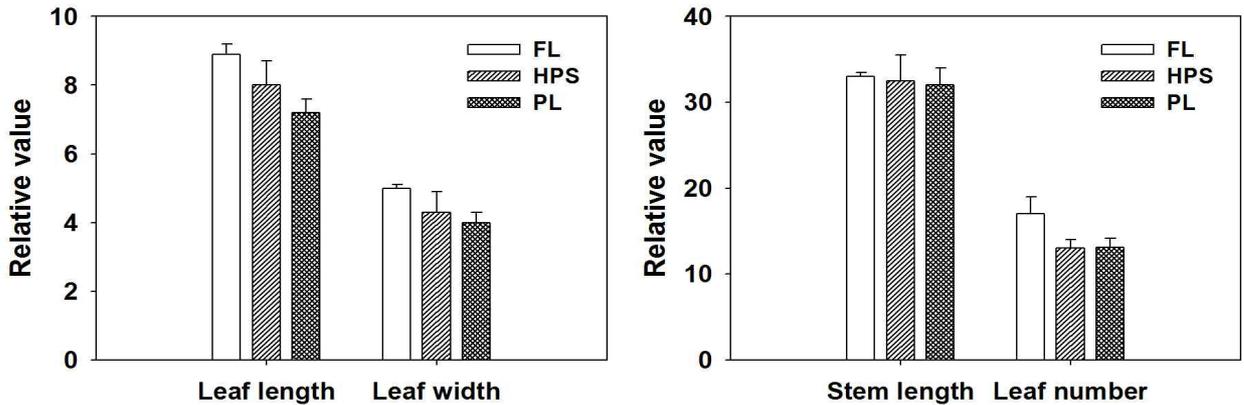


그림 173. 이식 5주 후, 광원에 따른 청양과 피망의 초장과 엽수, 엽장, 엽폭 변화

- 두 품종 모두 각 광원에 대한 반응으로 형광등에서 가장 엽장 엽폭이 커, 엽면적의 유의하게 컸고, 다음으로는 HPS, PL순서로 엽면적이 넓었다. 초장은 세 광원 모두에서 유의미한 차이없이 비슷한 결과를 보여줬으며, 엽수는 형광등에서 가장 많았다.

나. 광원의 R:FR 비율이 화아분화에 미치는 영향 분석

(1) 실험 방법: 아시아종묘에서 3종류의 품종의 종자를 구매 (녹국춧고추, 구워먹네, 드셔보라)

○ 파종

- 240공 암면 파종판(Grodan Co. Ltd.)을 이용하여 파종하였으며 암상태에서 발아시켜 약 2주 동안 육묘하여 본엽 2매 전개 시, 실험1 조건의 배지와 포트를 이용하여 정식 하였다.

○ 재배환경

- 온도 및 습도 : $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$
- 광강도 및 일장 : 작물 균락위에서 형광등(FL)광원으로 $200 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 조절, 16/8h 광주기
- 재배 상토 : 원예용 상토 + 펄라이트 (7:3-v:v)
- 배양액 및 관수 : 네덜란드 PBG배양액으로 2일에 1회씩 저면관수
- 이식 : 직경 12cm 플라스틱포트에 본엽 2매 전개 시, 이식하였음

- 대상 품종 : 녹국춧고추, 구워떡네, 드셔보라



그림 174. 파종 후 본엽 2매 전개된 상태에서 포트에 이식된 고추묘

- 이식 후 일주일의 순화기간을 거친 뒤, 파종 3주후부터 형광등과 LED를 조합하여, R:Fr 비율을 달리하여 처리한 실험이 진행되었다.

- 광 처리구 : Control(FL), Treatment 1(FL+Red/Far-red LED 30W), Treatment 2(FL+Red/Far-red LED 60W)으로 설정하였으며, 각 광처리구는 14W 형광등의 개수를 조절하여 30W, 60W R:Fr 혼합광의 총광량(PPFD)을 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 으로 조절한 후, 소모전력량을 기준으로 Red:Far-red 비율을 계산하였다.

(2) 실험조건

표 11. 각각의 광처리구에서 사용된 형광등의 개수 및 소비 전력량

	A: 형광등의 개수	B: 소비전력량(W/EA)	처리구당 광소비 전력량 (A*B)
Control	18개	14w	252w
Treatment 1	15개	14w	210w
Treatment 2	13개	14w	182w

표 12. 실험에 사용된 형광등의 파장대별 에너지 비율

	PPF (400-700nm)	Blue (400-500nm)	Red (C) (600-700nm)(C)	Far-red (D) (700-800nm)
Fluorescent	100%	29%	27%	4%

- 표 11 은 각 처리군의 광도를 $200 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 설정했을 때, 가감되어진 형광등의 최종적인 개수를 나타낸 것으로, 총 전력량을 계산하여 표10의 내용인 형광등의 파

장대별 에너지 비율을 종합하여 계산하여 총 Red/Far-red 비율을 계산하였다.

표 13. 표 11과 12를 통하여 나온 값에 추가적인 LED 소비전력을 합하여 계산된 Red와 Fr의 비율

	Red 소비전력량	Far-red 소비전력량	Red:Far-red LED 소비전력 (E)	Red/Fr 비율
Control	68.04w	10.08w	미사용	6.75
Treatment 1	56.7w	8.4w	15w:15w (Total 30w)	3.06
Treatment 2	49.14w	7.28w	30w:30w (Total 60w)	2.12

- 표 11의 결과에 따라서 본 실험은 6.75(Control), 3.06(Treatment 1), 2.12(Treatment 2) R:F r비율로 실험이 설계되었다.

(3) 실험 결과

(가) R:FR의 비율에 따른 고추의 표현형 분석

① R:FR의 비율에 따른 품종별 초장 분석

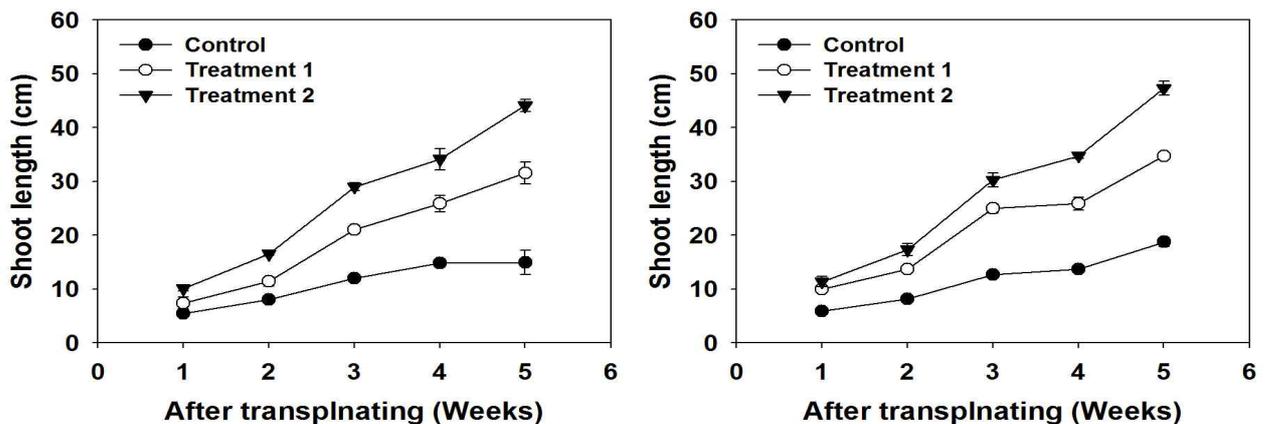


그림 175. 이식 5주 후, 광원에 따른 구위떡네(좌)와 녹국꽃고추(우) 품종의 초장 변화

- R:FR의 비율에 따른 “구위떡네”와 “녹국꽃고추” 품종의 초장 변화는 R:FR의 비율이 감소할수록 초장이 증가하는 경향이 처리 후 2주차부터 유의적 차이를 보이며 뚜렷하게 관찰되었다.
- R:FR의 비율이 증성식물이라고 할 수 있는 가지과의 대표적인 작물인 고추에 있어 초장의 변화에 영향을 줄 수 있으며, 이러한 생장의 차이는 피토크롬의 Pfr과 Pr 형태의 발현 차이에 따른 것으로 사료된다.

- 예상외로 R:Fr비율이 가장 높은 형광등(Control)에서 가장 낮은 초장 증가율이 관찰되었으며 이에 대한 원인으로 형광등은 적색광의 비중이 높았지만 그와 비슷한 비율로 발생되는(적색 : 27%, 청색 : 29%) 청색광이 줄기신장을 억제 시키는 효과가 있을 수 있 것이라 예상된다.
- 또한, 적색광 대비 청색광의 비중이 낮아진 T1, T2에서 초장신장이 증가되었다는 것과, LED로 조사된 Red, Far-red의 파장이 피토크롬의 형태변화에 영향을 주어 초장 신장이 증가된 것으로 사료된다.

② R:FR의 비율에 따른 품종별 엽장과 엽폭 분석

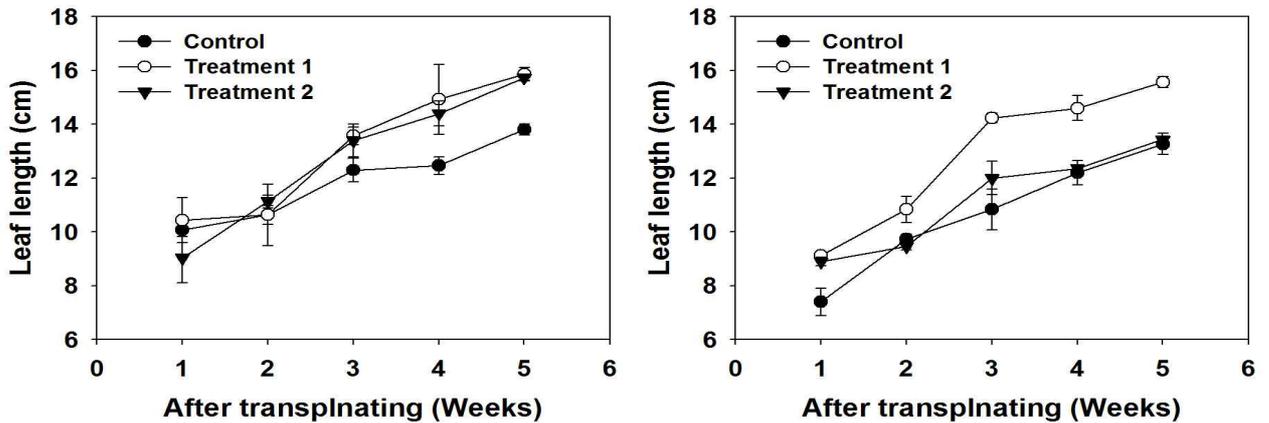


그림 176. 이식 5주 후, 광원에 따른 구워먹네(좌)와 녹국꽃고추(우) 품종의 엽장 변화

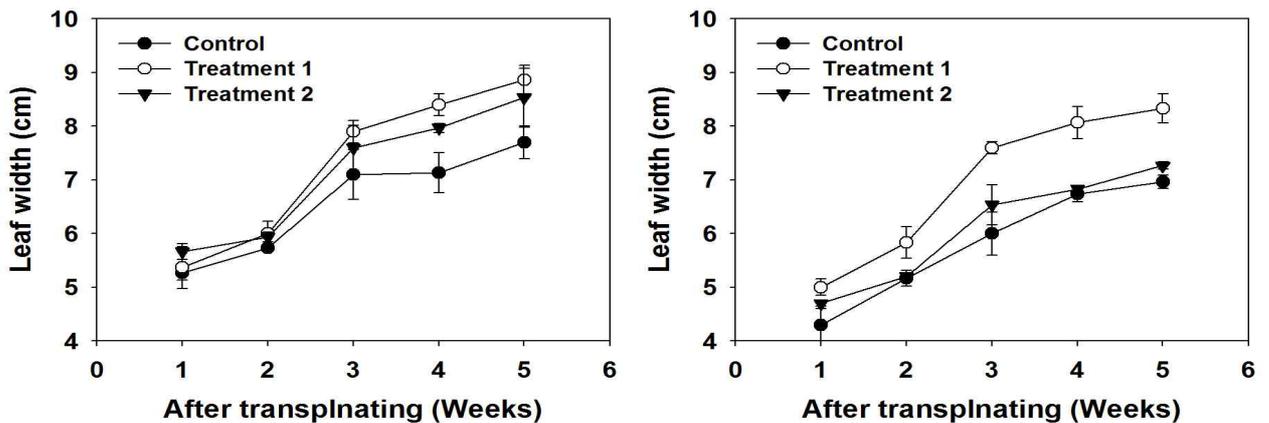


그림 177. 식 5주 후, 광원에 따른 구워먹네(좌)와 녹국꽃고추(우) 품종의 엽폭 변화

- 품종 구워먹네가 녹국꽃고추 보다 모든 처리구에서 같거나 유의하게 엽장, 엽폭 모두 큰 경향을 보였다.
- 구워먹네 품종의 경우 엽장은 대조구인 FL보다 FR을 추가한 Treatment 1과 2에서 처리 후 4주 이후에 유의적으로 높아지는 경향을 보인 반면, 녹국꽃고추의 경우 Treatment에서 처리후 4주 이후에 유의적으로 높아지는 경향을 보였다.

- 엽폭의 경우 두품종 모두 Treatment 1에서 대조구와 비교하여 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다.

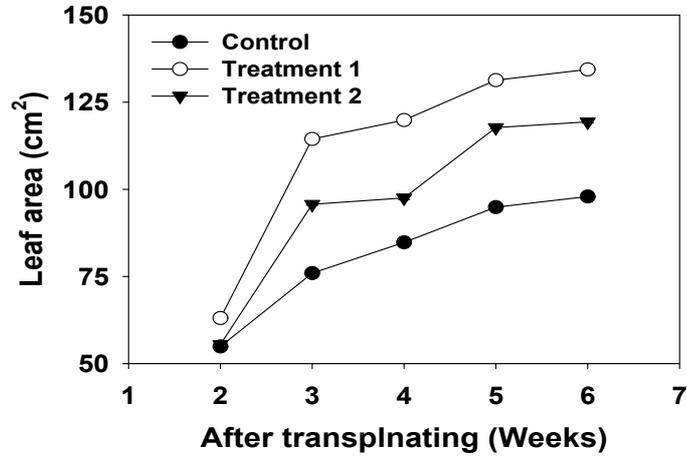


그림 178. 이식후 구워먹네와 녹과꽃고추의 엽면적지수의 변화

- 초장과 마찬가지로 엽면적 증가비율도 Control에서 가장 둔화되었으며, 반면 초장 신장이 가장 컸던 Treatment 2가 엽면적 증가율에선 Treatment 1이 Treatment 2보다 적었다.
- 고추의 성장과 관련하여, 초기 엽면적 증가율의 경우 매우 중요한 의미를 갖는데, Treatment 1과 같은 수준의 광질은 초기 엽면적 확보에 매우 긍정적이기 때문에 향후 생장이 증가되어 LAI 확보에 큰 기여가 가능할 것으로 사료된다.

③ R:FR의 비율에 따른 품종별 절간 분석

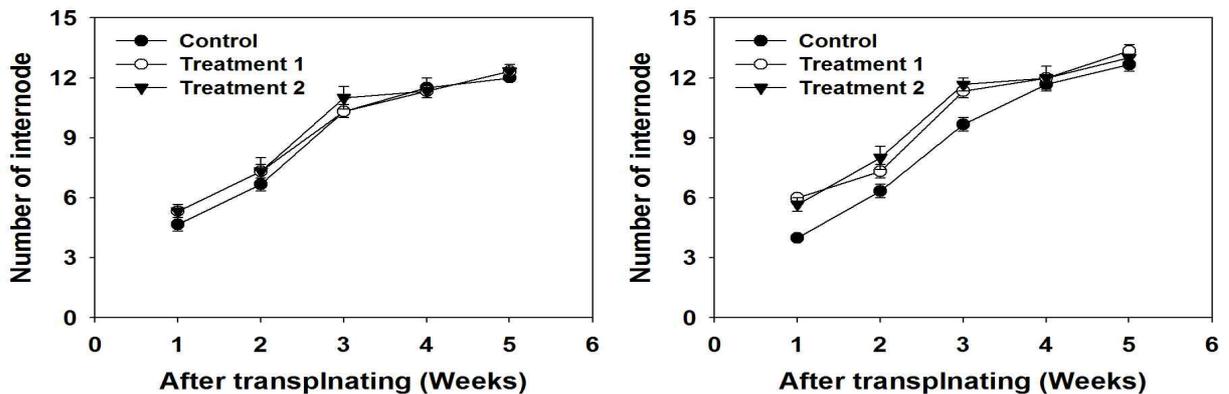


그림 179. 이식 5주 후, 광원에 따른 구워먹네(좌)와 녹국꽃고추(우) 품종의 절간 개수 변화

- 초장이나 엽면적에서 차이가 발생했던 것과는 달리, 절간개수의 분열 속도나 개수는 유의미한 차이가 없었다.
- 절간 개수는 엽수와 더불어 고추의 화아 분화를 예측할 때 사용되는 중요한 지표로서,

보통 품종에 따라 차이는 있지만 Y자형 분지가 발생한 이후 일정한 절간 혹은 엽수마다 화아가 발생한다고 알려져 있다.



그림 180. 생육 시스템에서 재배 중인 청양과 구워먹네, 녹국꽃고추의 생육 1개월 모습 Control (좌상), Treatment 1 (우상), Treatment 2 (하)

다. R:FR의 비율에 따른 고추의 화아분화에 미치는 영향

(1) 화아관찰 방법

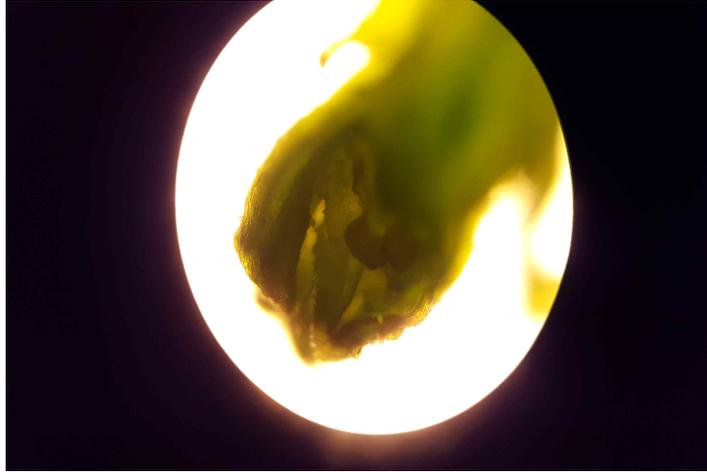


그림 181. 광학 현미경 20배율로 확대한 고추 정단부의 화아

- 앞선 실험 1에서 오직 시각적 관찰만을 통한 고추 화아분화 관찰에 어려움을 겪어 실험 2에서는 시각적 관찰 외에도 선정된 식물체를 직접 파괴분석하여 그 화아 부분을 현미경으로 관찰하여 분석하였다.

(2) 품종별 화아관찰

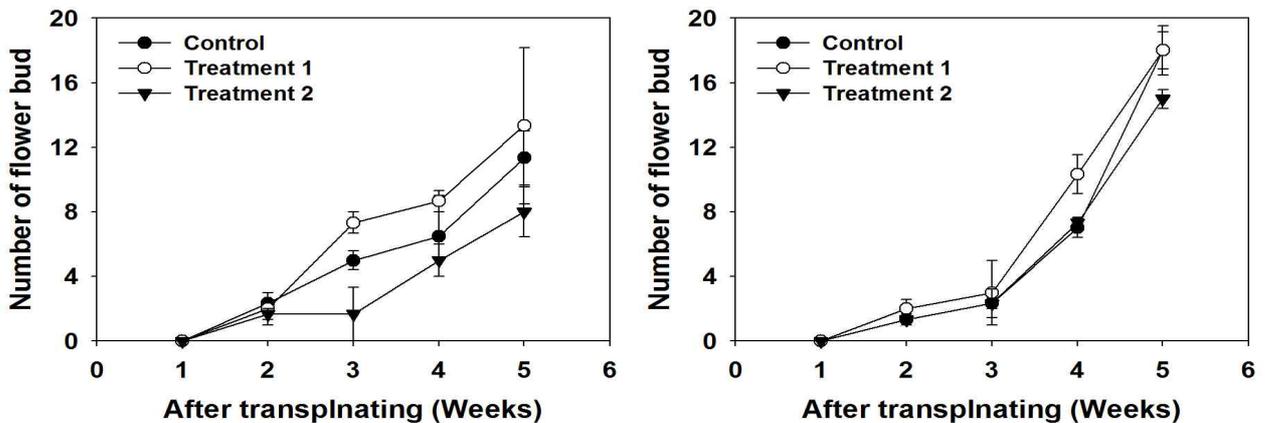


그림 182. 정식 후 5주간의 구워먹네(좌)와 녹색꽃고추(우)에 대한 R:FR의 조사광 비율에 따른 화아분화 개수 변화

- 구워먹네 품종이 전체적으로 녹색꽃고추 품종보다 화아분화가 일찍 발생하는 듯하나, 결국 5주차를 넘어서면 사라져 유의미한 차이는 발생하지 않았다.
- 구워먹네 품종의 경우 Treatment 1처리에서 5주차에 가장 많은 화아수가 관찰되었으나 유의적 차이는 발생되지 않았으며, 녹색꽃고추의 경우 대조구와 Treatment 1과 같은 수의 화아분화가 발생되었고, Treatment 2에서 약간 낮은 값을 나타내었다.

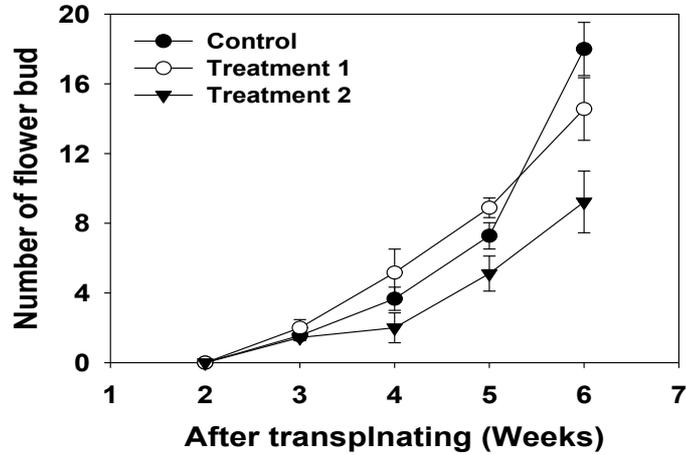


그림 183. R:FR의 비율에 따른 두 개 품종의 화아분화의 변화

- 화아발생의 품종별 차이는 미미했으나, 처리별로 본다면, 6주차에 화아분화가 많이 관찰된 대조구를 제외하면 T1이 T2보다 3주차 이후로 유의미하게 많은 화아가 관찰되었다.

라. 결론

(1) 광원별 파장 특성에 따른 청양과 피망 품종의 형태형성과 화아분화의 변화

- 광원별 (플라즈마-PL, 고압나트륨-HPS, 형광등-FL) 청양과 피망의 형태형성과 관련된 생육지표는 이식 후 5주후에 엽장과 엽폭의 경우 FL, HPS, PL 순으로 증가하는 경향을 보였으며, 초장의 경우 유의적인 차이를 모두 보이지 않았으며 엽수의 경우 FL처리에서 HPS와 PL처리구 보다 증가하는 경향을 나타내었다.
- 광원별 (플라즈마, 고압나트륨, 형광등) 청양과 피망 품종의 화아분화는 청양의 경우 유의적 차이가 발생하지 않았으나, 피망의 경우 처리 후 3주차부터 유의적으로 화아분화수가 증가하였으며, 이러한 이유는 플라즈마 램프가 갖는 광질의 차이에서 오는 것인데, 타 광원과 비교하여 FR비율이 증가된 결과로 판단된다.

(2) R:FR의 비율에 따른 구워먹네와 녹광꽃고추 품종의 생육과 화아분화의 변화

- R:FR의 비율이 30W로 처리된 Treatment 1처리구에서 두 품종 모두에서 생육중 엽면적에 대한 유의적인 증가가 관찰되었으며, 나머지 생육인자에 대해서는 큰 차이를 보이지 않았음. 이러한 초기 엽면적 증가에 기여한 것은 초기 수광면적을 증가시켜 향후 생육발달에 큰 기여를 할 수 있을 것으로 사료된다.
- R:FR의 비율이 낮은 Treatment 1과 2의 처리에 대해서 두 품종 모두에서 처리 후 5주차에 화아분화의 유의적 차이는 보이지 않았으며, 이러한 이유로 처리시간이 짧은 경우와 추가된 FR광에 의해서 Pr형태의 피토크롬은 두 품종에 대해 화아분화를 증가시키는데 관여하지 않을 것으로 예상된다.

8. 고추의 비파괴 표현형 지표 측정용 small-scale HTS 프로토타입 개발

가. 고추의 비파괴 표현형 지표 영상 신속 측정 기술 개발

○ 앞에서 수행된 환경스트레스에 노출된 식물의 형태학적, 생화학적 표현형 지표를 적용하여 실시간으로 지표 영상을 측정할 수 있는 장치를 개발함

○ 고추의 수분스트레스(가뭄) 측정 지표를 기준으로 실시간 비파괴 영상 측정할 수 있는 장비를 구축함

(1) 3D 영상측정 장치 개발

- 본 연구에서는 식물의 성장 과정을 정밀하게 측정하고 분석하기 위해 식물의 입체 영상 시스템을 구축하고 획득된 입체영상을 분석하고자 하였다.

(가) 식물의 입체 영상 획득 시스템 개발

● 입체 영상 획득 시스템 구성

- 본 연구에서는 선행연구에 수행된 단일 카메라를 사용하여 대상체를 회전시키며 다양한 각도에서 촬영한 이미지를 바탕으로 입체 영상을 구축하고자 하였다.

- 본 연구에서 사용된 식물의 입체 영상 획득 시스템은 카메라 구동부, 모터 구동부, 그리고 영상 촬영부로 구성하였다. 구축된 입체 영상 획득 시스템의 전체적인 모습은 **그림 184**와 같다.

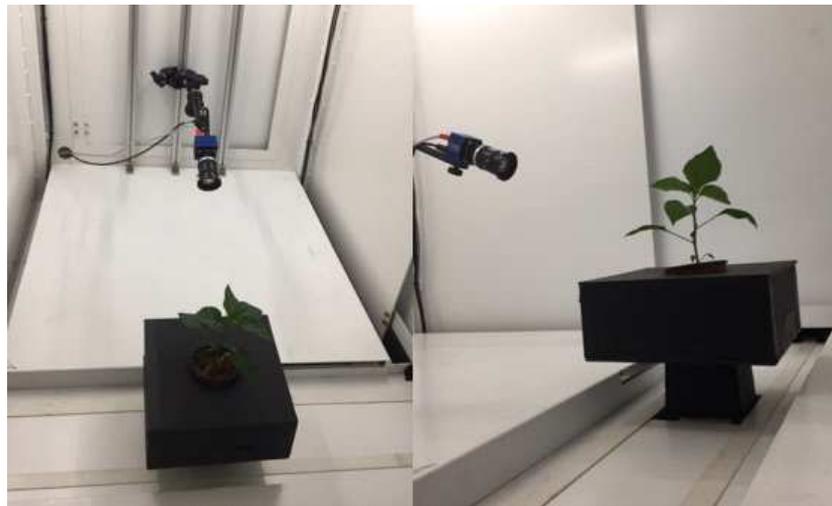


그림 184. 챔버 내부에 대상체 자동 이송 후 RGB 영상 측정 장면

① 카메라 구동부

- 선행연구에 사용한 카메라는 높은 화소가 장점이지만, 식물이 자동 이송되어 외부 환경의 노이즈를 제거한 특수한 챔버 내에서 원격으로 실시간 관찰 및 측정은 불가능하다. 이 때문에 장거리의 챔버에서 영상 정보의 손실 없이 높은 화소로 측정할 수 있는 랜선을 사용하는 Gigabit Ethernet 타입 카메라가 요구되었다.

- 일반적으로 영상의 품질과 영상의 크기는 비례 관계로 영상의 품질이 높을수록 영상의 크기가 증가한다. 또한 낮은 품질의 영상을 사용하면 소요되는 작업시간은 줄어들지만 최종적인 영상의 품질도 낮아진다. 반면 높은 품질의 영상을 사용하면 최종적인 영상의

품질은 향상 되지만 소요되는 작업시간이 증가한다. 본 연구에서는 수집 장의 영상을 사용하기 때문에 선행 연구된 결과를 통하여 4,148 x 2,765 pixel 해상도의 영상 그룹이 본 연구에 적합하다 판단되었고, 이와 적합한 카메라를 선정하였다.

- 본 연구에 사용된 카메라는 mvBlueCOUGAR-XD 129(MATRIX VISION GmbH, Germany)으로 해상도는 3,384 x 2,712 pixel이고, 1인치의 CCD 센서를 사용한다. 자세한 사양은 아래 표 14와 같다.
- 촬영될 고추 작물과 화분의 크기 및 카메라와 떨어진 거리를 경험적으로 설정한 뒤 영상으로 촬영되는 영역(Field of view)을 계산하는 과정을 통해 렌즈를 선택하였다. 선택된 렌즈(TC1216-21MP, Kenko Tokina Co. Ltd., Japan)의 Focal length는 12 mm로 약 521 mm × 418 mm 의 영역을 촬영 할 수 있는 렌즈이며, 렌즈의 자세한 사양은 표 15과 같다.

표 14. Specification of selected camera from results of comparative experiment

Items	Specifications
Resolution	3,384 x 2,712 (H x V pixels)
Sensor technology	CCD sensor (Sony ICX814)
Sensor size	1"
Pixel size	3.7 x 3.7 μ m
Frame rate	22.2
Readout type	Global
Protocol	Compliant to GigE Vision
Interface	Dual or single Gigabit Ethernet
Size of body	50 x 50 x 32 mm (W x H x L)
Weight	Approx. 200 g (without lens)
Operating temperature range	0 ~ 45 $^{\circ}$ C
Lens mounts	Back focus adjustable C/CS-mount lens holder

표 15. Specification of selected lens according to computation of field of view

Items	Specifications
Image format	1"
Mount	C mount
Focal length	12 mm
Aperture range	F1.6 - 22
Angle of view	57.1° x 44.1° (H x V)
Minimum object distance	0.2 m
Back focal length	13.54 mm
Dimensions	54 x 60.4 mm
Operating temperature range	-10 ~ +50 °C

② 모터 구동부

- Multiple view geometry 방식을 이용하여 3차원 영상을 측정하기 위해서는 하나의 식물을 여러 방향에서 촬영해야 하며, 많은 수의 영상이 필요하다. 또한 이웃한 영상에서 연관성 있는 부분들을 영상 내에서 특징들로 판단하기 쉬워야 한다.
- 식물을 자동으로 촬영하기 위해 모터의 중심에 화분을 위치시키고, 화분을 약 4° 씩 회전하여 영상을 획득하였으며, 화분이 1회전하는 동안 총 90장의 영상을 획득하였다. 화분의 회전 과정에서 회전의 정밀도와 안정성을 높이기 위해 모터를 회전 스테이지와 결합하여 사용하였다. 그림 185의 a는 사용된 모터(EzM-42S-A, FASTECH Co., Ltd, Korea)의 사진이고, b는 회전 스테이지(MRC-80-L, JAEWON, Korea)의 사진이다. 모터와 회전 스테이지의 자세한 사양은 표 16와 17에 나타내었다.



그림 185. Illustration of selected motor (a), and rotation stage (b).

표 16. Specification of selected motor

Items	Specifications
Drive method	Bi-polar
Number of phases	2
Voltage	3.36 VDC
Current per phase	1.2 A
Resistance per phase	2.8 Ohm
Holding torque	0.32 N · m
Weights	220 g
Operating temperature	0 to 55 °C

표 17. Specification of selected rotation stage

Items	Specifications
Table size	80
Travel range	360°
Mechanical type	Worm & Gear
Guide	Ball bearing
Accuracy	0.02°
Repeatability	0.005°
Load capacity	9 kgf

③ 실린더 구동부

- 자동 이송 장치로 이송된 대상체의 원활한 360도 회전을 위해선 이송장치와 대상체의 결착 상태를 분리하여 마찰저항을 줄일 필요가 있다. 이를 위해 이송된 대상체 하부 위치에 공압 실린더를 설치하여, 이송 장치위로 10 cm 분리된 위치에서 360도 회전을 수행하도록 제작하였다.

④ 이송 테이블

- 대상체를 360도 회전하여 영상 측정시 모터 구동부와 대상체의 결착 상태가 중요한데, 결착이 불량할 경우 모터 회전 정도와 실제 화분의 회전 정도의 오차가 발생하여 3차원 영상 구축에 오류가 발생하기 때문이다.
- 본 연구에서는 대상체와 모터 상태의 결착을 위하여 실린더 윗면에 자석을 설치하고, 그림과 같은 이송테이블 하부에 철판을 장착하여 실린더와 이송테이블의 결착을 강화하였다. 지름 25mm 페라이트 자석 3개를 실린더에 부착하였으며, 260×260×100 mm 크기의 이송 테이블 하부에 철판을 부착하였다.

(2) NIR 영상 측정 장치 개발

- 본 장치는 선행연구로 수행된 고추의 수분스트레스의 초분광 SWIR 연구 결과를 토대로 하여 NIR 카메라 렌즈부에 1450 nm band pass 필터를 장착하여 수분스트레스를 실시간으로 측정하기 위해 제작하였다.
- 그림 186과 같이 장치의 챔버 내부에 카메라, 광원부로 설계되어 고추 식물의 윗면부 영상을 측정할 수 있도록 설계되었다. 특수한 챔버 내부에 설치되어 자동 이송장치를 이용하여 대상체가 멈추었을 때, 영상 측정이 가능하다.

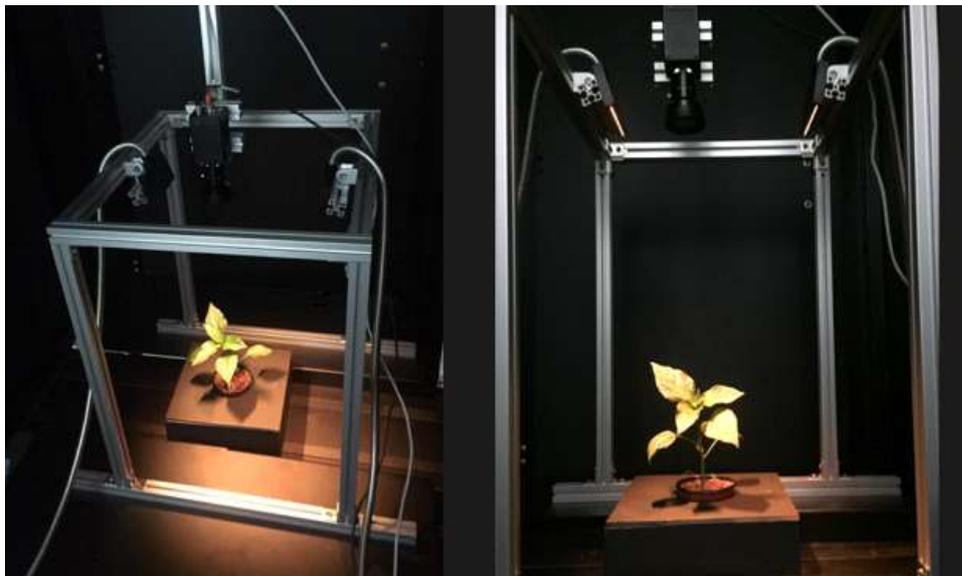


그림 186. 챔버 내부의 NIR 카메라와 할로젠 광원 설치 및 측정 장면

(가) 카메라 구동부

- 본 연구에 사용한 NIR카메라는 그림 과 같이 ABA-001IR-GE(Avaldata Corp. Japan)으로 320×256해상도 NIR 카메라 중 가격 대비 성능이 우수한 카메라이다. 측정 가능 영역은 950 nm ~ 1700 nm으로 수분 영역 측정 영역인 1450 nm 범위에 적합한 기종이다.
- 렌즈는 최적화된 GMTHR48014MCN-1-SWIR(GOYO OPTICAL Inc., Japan)렌즈로 200 nm ~ 1800 nm 범위 파장 투과 가능하며 중심 파장이 1450 nm이다. 자세한 사양은 그림 187과 표 18과 같다.
- 카메라에 측정되는 영상 중 1450 nm 파장의 영상만을 추출하기 위해 1450 nm band pass filter(BP1450-CWL,Edmund Optics, USA)를 사용하였으며, 렌즈의 앞부분에 결착하였다.



그림 187. NIR 카메라 : ABA-001IR-GE(Avaldata Corp. Japan)

표 18. ABA-001IR-GE 카메라의 주요 사양

항목	내용
인터페이스	Gigabit Ethernet (1000BASE-T)
촬상 소자	유효 화소 수 : 320H x 256V 화소 크기 : 20 μ m x 20 μ m 촬상 유효 라인 길이 : 6.40mm x 5.12mm
감지 파장대	950nm ~ 1700nm
픽셀 클럭주기	25MHz
작동 온도 / 습도	-5 $^{\circ}$ C ~ + 40 $^{\circ}$ C / 20 ~ 80 % (비 응축)
외형 치수	58 (W) x 58 (H) x 90 (D) mm (마운트 부 및 돌출 부 제외)
셔터	글로벌 셔터 방식
모니터크기 및 도트수	와이드 약 7.7 cm. 약 104만 도트
영상 S / N 비	55dB
프레임 속도 / 노출 시간	노출 시간 228 FPS시 : 1 μ sec

표 19. NIR 전용 렌즈(GMTHR48014MCN-1-SWIR)의 사양

항목	내용
Focal Length(mm)	8
Iris Range	F1.4 - 22
Angle of View (Hx V x D)	79.7 $^{\circ}$ x 62.9 $^{\circ}$ x 92.6 $^{\circ}$
MOD(m)	0.1
Filter Thread	M=55 , P=0.75
Dimention (D x L)	\varnothing 57 x 58
Notes	3Megapixel

(나) 광원부

- 광원은 선행연구로 초분광 SWIR 영상 측정에 사용된 금코팅 할로겐 램프를 사용하였다. 2개의 100 W 할로겐 램프에 Optic fiber를 사용하여 광이 고르게 대상체에 조사되도록 구성하였다.
- 광원이 빛이 너무 강하거나, 약하면 NIR 카메라 영상 데이터 획득에 부적합하므로 적절한 광원의 세기와 대상체와의 거리가 요구된다. 그림 186과 같이 500×500×600 mm 프로파일 구조물을 제작하여 2개의 광원을 연결하여 자동이송된 대상체가 통과 가능하며, 광원이 충분히 조사 가능하도록 설계하였다.

(3) 열영상 측정장치 개발

- 대상체 식물의 열영상을 획득하기 위해서 장치의 챔버 내부에 카메라가 설치되어 고추 식물의 윗면부 영상을 측정할 수 있도록 설계되었다. 그림 188과 같이 특수한 챔버 내부에 설치되어 자동 이송장치를 이용하여 대상체가 멈추었을 때, 영상 측정이 가능하다.
- 측정 장치에 사용된 카메라는 그림 189와 같은 A645 SC(FLIR Systems, Inc., USDA) 카메라이며, 그레이 스케일 영상이 아닌 온도 영상을 획득하도록 하였다.



그림 188. 챔버 내부에 이송된 대상체의 온도 측정 모습



A645 SC

- Infrared 640X480 @ 25HZ
- Field of view : 25°x18.8°
- Focallength 24.5mm
- Spectral range : 7.5um~13um
- Temperature range : -20° ~+150° Optional
- Gigabit, USB support
- Including Analysis Software

그림 189. 열영상 카메라와 간략한 사양정보

(4) 형광 영상 측정 장치 개발

- 그림 190과 같이 장치의 챔버 내부에 카메라, 광원부로 설계되어 고추 식물의 윗면부 형광영상을 측정할 수 있도록 설계하였다. 특수한 암실 챔버 내부에 설치되어 자동 이송장치를 이용하여 대상체가 멈추었을 때, 영상 측정이 가능하다.

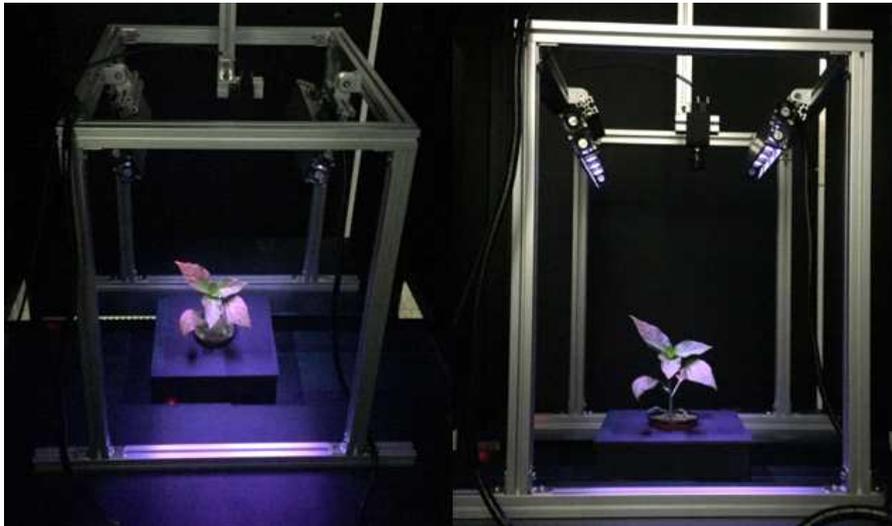


그림 190. 챔버 내부에 이송된 대상체의 형광 반응 측정 모습

(가) 카메라 구동부

- 본 장치는 선행연구로 수행된 고추의 수분스트레스의 형광 측정 연구 결과를 토대로 하여 500 nm ~ 600 nm 영역 감도가 높은 ICX674 2/3 인치 CCD센서가 탑재된 124aG mvBlueCOUGAR-XD124aG(MATRIX VISION GmbH, Germany) 카메라 렌즈부에 525 nm band pass 필터를 장착하여 수분스트레스와 관련된 형광 영상을 실시간으로 측정하기 위해 제작하였다. 자세한 사양은 그림 191과 표 20과 같다.

표 20. mvBlueCOUGAR-XD124aG 카메라의 주요 사양



그림 191. 형광 측정용 카메라

항목	내용
Resolution (H x V pixels)	1936 × 1460
Sensor size (optical)	2/3"
Pixel size (μm)	4.54 × 4.54
Frame rate	64.5
Sensor technology	CCD
Readout type	Global
ADC resolution / output in bits	14→8..16
Sensor	Sony ICX674

(나) 광원부

- 광원은 선행연구로 초분광 형광 영상 측정에 사용된 중심파장이 365 nm인 10 W급 power LED(UV-LED)인 10 W급 power LED(Blue-LED)를 한 라인에 각 각 4개씩 8개의 광원을 설치된 장비를 이용하였다.
- 광원이 빛이 너무 강하거나, 약하면 형광 카메라 영상 데이터 획득에 부적합하므로 적절한 광원의 세기와 대상체와의 거리가 요구된다. 그림 190과 같이 500×500×600 mm 프로파일 구조물을 제작하여 2개의 광원을 연결하여 자동이송된 대상체가 통과 가능하며, 광원이 충분히 조사 가능하도록 설계하였다.

나. Small-scale HTS 프로토타입 개발

- 본 연구의 최종 목표인 small-scale 표현형 검정시스템 프로토타입을 구축하기 위하여 작물별 표현형 지표 4가지(3차원 영상, NIR 영상, 열영상, 형광 영상)를 선정하였다. 각각의 선정된 지표를 측정할 수 있는 4개의 챔버를 구성하고, 내부에 광과 카메라를 설치하여 영상을 촬영할 수 있게 하였다. 또한 시료를 자동 이송하기 위하여 이송 레일 및 모터를 설치하였으며, 이송 시 시료가 챔버 내부로 들어가기 위한 자동 개폐장치를 구축하였다. 자세한 구상도는 그림 192와 같으며, 실제 구축 사진은 그림 193과 같다.

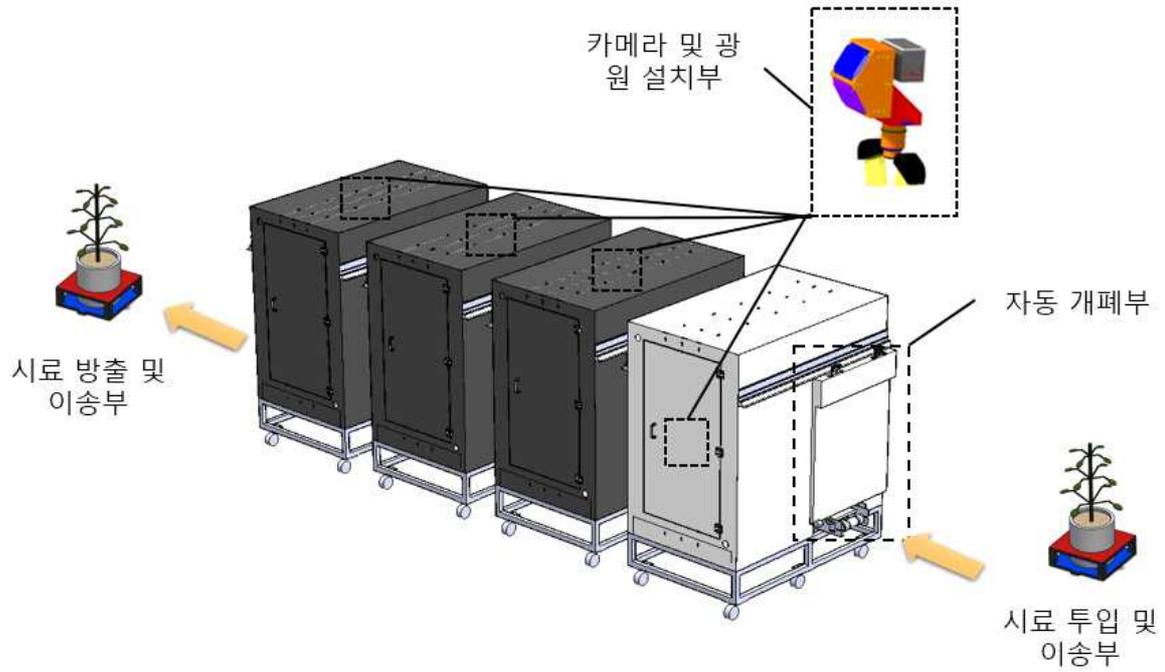


그림 192. Small-scale HTS 프로토타입 개략도



그림 193. Small-scale HTS 프로토타입 (4 챔버형) 실제 사진 (a) 외관, (b) 내부

(1) 영상 촬영용 챔버

- 각 영상 촬영용 챔버는 그림 192(흰색 챔버)와 같이 1600(W)×1000(L)×2000(H)의 크기로 스테인레스 철판으로 제작되었다. 그림 193과 같이 각 4개의 챔버 중 1개는 하얀색으로 도색하여 3차원 구조 제작을 위한 RGB카메라 촬영이 용이하게 제작되었다. 나머지 3개 챔버는 근적외선, 열영상, 형광영상 촬영용 챔버로, 광에 의한 내부 난반사의 노이즈를

줄이기 위해 흑색으로 도색하였다.

- 시료 투입부에는 **그림 194**과 같이 철판에 도어 오피레이터(MR-200-1600, Korea)를 결합하여 슬라이드형 자동 개폐시스템을 구축하였으며, 시료의 방출부에도 동일한 자재를 적용하였다.



그림 194. 시료 투입(방출)시 작동되는 자동개폐 시스템

(2) 시료 이송 장치

- 시료의 자동이송 장치는 **그림 195**와 같이 1600(W)×1000(L)의 크기의 챔버 바닥면에 각각 BLDC 모터(200W, 감속비 1:3.5)와 타이밍 벨트가 장착된 구조이다. 챔버 바닥 1600(W)의 1/3 지점에 설치하여 카메라와 광원의 설치공간을 확보하였다.
- **그림 195**와 같이 시료의 이송 시 카메라를 통한 영상 측정을 위하여 영상 초점 위치(가운데)에 동작 감시 센서를 부착하여 자동으로 운송이 멈추도록 하였다.

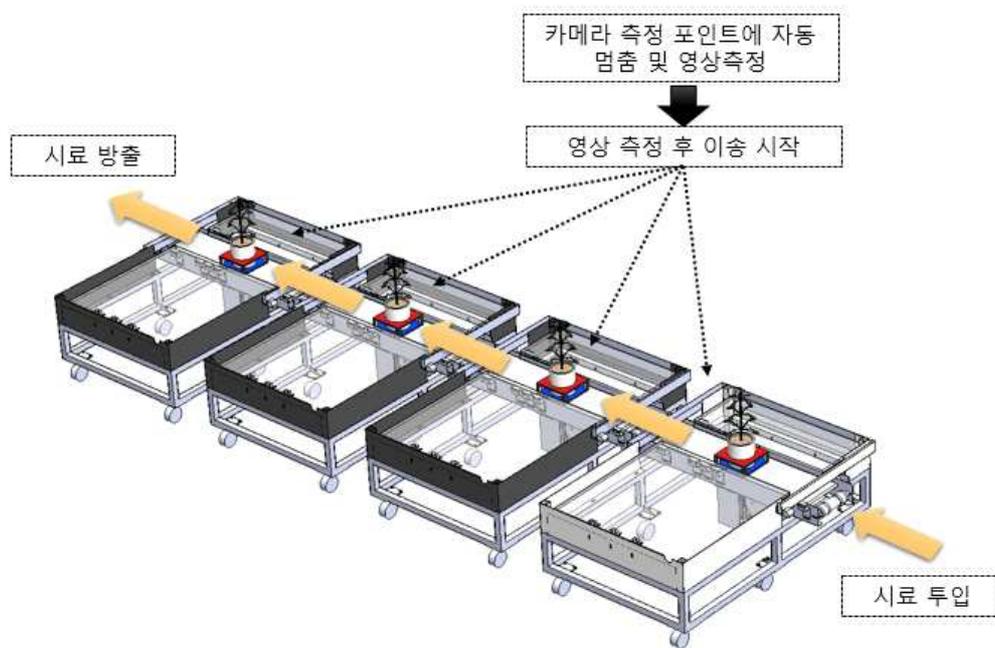


그림 195. 자동 시료 이송장치의 개략도

(3) HTS 프로토타입 개발 운영 소프트웨어 개발

- 구축한 Small-scale HTS 프로토타입 시스템을 더 효율적으로 구동하기 위하여 GUI(Graphic user interface)를 개발하였다. MATLAB 소프트웨어를 통하여 개발하였으며, 선행연구에서 개발된 GUI를 개선하여 RGB, NIR, 열영상 및 형광 카메라를 모두 제어하도록 개발하였다.
- 카메라뿐만 아니라 시료 이송 장치의 컨베이어 벨트, RGB 영상 획득에 필요한 회전 스테이지, 실린더 구동 및 촬영 이미지의 자동 저장 등 모든 제어를 가능케 하여 시료 측정에 소요되는 시간을 최소화하고, 작업 효율을 높이려고 하였다.
- RGB 영상 획득 시 시료를 4° 회전 후 카메라로 촬영하여 시료의 1회전 동안 총 90장의 영상을 촬영 후 원상 복귀하는 알고리즘으로 설정하였다.
- RGB 카메라를 제외한 NIR, 열영상 및 형광 영상의 촬영은 자동 이송된 시료가 완전히 멈추고, 각 카메라 - 포커스에 정확하게 잡히면 시료이송이 멈추고 영상파일이 측정 시간명 (년도_월_일_시간_분_초.bmp)으로 자동 저장되는 알고리즘으로 설정하였다.
- 시료 이송 장치의 컨베이어 벨트 및 실린더는 직렬통신의 한 방법인 RS-232 통신을 이용하여 구동부와 연결하였고, 이를 통해 원하는 제어를 실행하도록 설계하였다. 최종 개발된 영상 획득 GUI의 전체적인 구성은 그림196 과 같다.

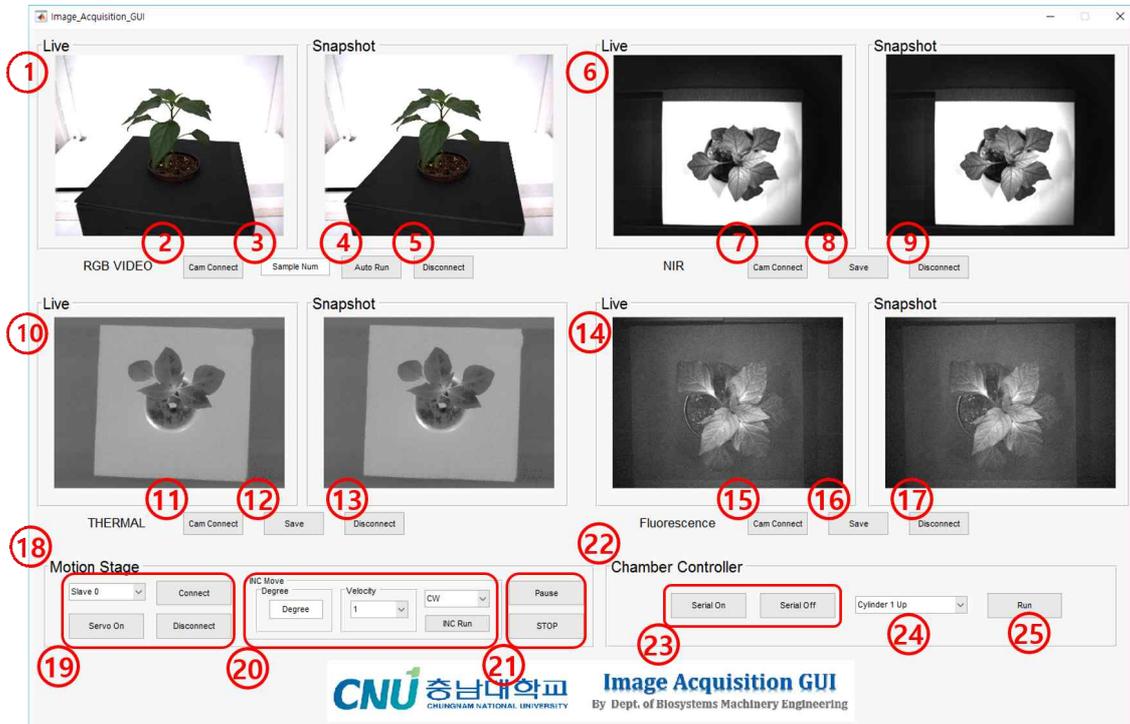


그림 196. 개발된 HTS 프로토타입 개발 운영 소프트웨어 GUI 화면

- 표시된 번호에 따른 각 기능 및 추가 설명은 다음과 같다.

- ① 영상 윈도우 : RGB 카메라의 실시간 영상 및 저장된 영상을 보여주는 영상 윈도우
- ② 카메라 연결 : RGB 카메라를 인식하고, 사용을 허가함
- ③ 텍스트 입력 : 촬영 시료의 이름을 상황에 맞게 입력하기 위한 입력 윈도우
- ④ 자동 촬영 : 시료를 4° 마다 한 번씩, 총 90장의 영상을 자동 획득 명령 버튼
- ⑤ 연결 종료 : RGB 영상 촬영 후 또는 미사용 시 카메라의 연결을 해지함
- ⑥ 영상 윈도우 : NIR 카메라의 실시간 영상 및 저장된 영상을 보여주는 영상 윈도우
- ⑦ 카메라 연결 : NIR 카메라를 인식하고, 사용을 허가함
- ⑧ 저장 : 자동으로 영상 저장 시 현재 년/월/일/시/분에 맞게 영상을 저장함
- ⑨ 연결 종료 : NIR 영상 촬영 후 또는 미사용 시 카메라의 연결을 해지함
- ⑩ 영상 윈도우 : 열영상 카메라의 실시간 영상 및 저장된 영상을 보여주는 영상 윈도우
- ⑪ 카메라 연결 : 열영상 카메라를 인식하고, 사용을 허가함
- ⑫ 저장 : 자동으로 영상 저장 시 현재 년/월/일/시/분에 맞게 영상을 저장함
- ⑬ 연결 종료 : 열영상 촬영 후 또는 미사용 시 카메라의 연결을 해지함
- ⑭ 영상 윈도우 : 형광 카메라의 실시간 영상 및 저장된 영상을 보여주는 영상 윈도우
- ⑮ 카메라 연결 : 형광 카메라를 인식하고, 사용을 허가함
- ⑯ 저장 : 자동으로 영상 저장 시 현재 년/월/일/시/분에 맞게 영상을 저장함

- ⑰ 연결 종료 : 형광 영상 촬영 후 또는 미사용 시 카메라의 연결을 해지함
- ⑱ 모션 스테이지 구동 패널 : RGB 영상 획득에 필요한 회전 스테이지의 작동을 제어하는 패널
- ⑲ 연결이 필요한 회전 모터의 물리적 ID, 모터의 연결 및 해지, 모터의 사용 여부를 설정
- ⑳ 연결된 회전 모터를 입력한 각도, 회전 속도 및 회전 방향으로 작동되는지 테스트 가능한 기능
- ㉑ RGB 영상 자동 획득 시 긴급 정지 및 포즈 기능 버튼, 모터 테스트에도 작동
- ㉒ 시료 이송 장치 컨트롤 패널 : 시료 이송에 필요한 각 컨베이어 벨트의 구동 및 실린더의 작동을 RS-232 통신을 이용하여 제어하는 패널
- ㉓ RS-232 통신의 연결 및 연결 해지 버튼
- ㉔ 시료 이송 및 회전 등 작동을 제어하는 선택 창, **그림 197** 과 같음

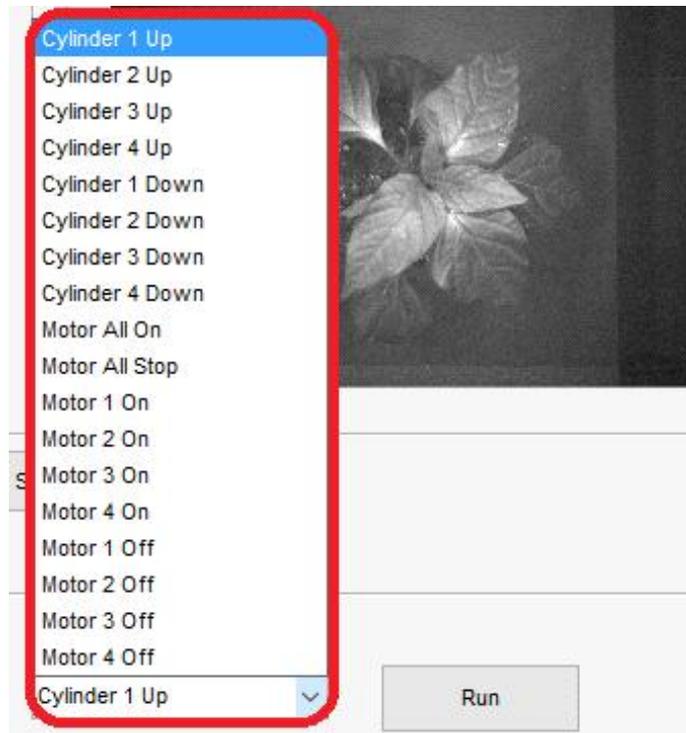


그림 197. 시료 이송 및 회전, 실린더 제어 창

- ㉕ 실행 : 선택한 명령을 RS-232 통신을 통하여 실행하는 버튼

9. 표현형 검정서비스

가. Vis/NIR 초분광 시스템을 이용한 고춧가루 색도 분석

○ 고추육종 연구기관에서 고춧가루 색깔 분석 의뢰

- 고춧가루의 품질 판정은 매운맛(캡사이신 함량)측정과 외관(적색소)을 측정함
- 색도 평가시 ASTA(American Spice Trade Association) color value 측정법을 이용함
 - 불투명한 125ml tube 에 곱게 빻아진 고춧가루 0.1g 을 아세톤 100ml 에 넣고 상온, 암 상태에서 16 시간 보관 후, UV-Vis Spectrometer 를 이용하여 460nm 의 흡광도 측정
- ASTA를 이용하여 측정시 시료 손실 및 최소 16시간의 긴 측정시간이 요구되며, 300개 샘플 측정 시 약 30 시간 이상이 소요됨
- Vis/NIR 초분광 시스템을 이용하여 측정 시간 감소 및 고춧가루의 색도 분석이 가능한지 검토함
- (1) 재료
 - 1차 총 49개 고춧가루 샘플
 - 2차 총 300개의 고춧가루 샘플
- (2) 실험방법 및 분석방법
- (가) 초분광 실험
- Vis/NIR 초분광 시스템을 이용한 고춧가루 색도 측정 (그림 196)

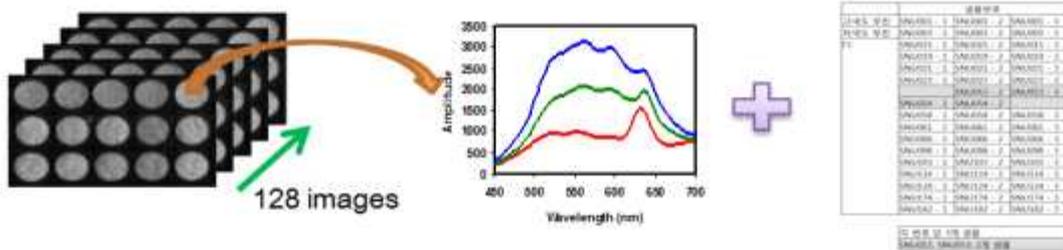


그림 198. Vis/NIR 초분광 시스템



그림 199. 고춧가루 시료의 초분광 영상 획득 방법

- 그림 197과 같이 직경 2 cm의 hole에 일정량의 고춧가루 시료를 넣고 초분광 영상을 획득함
 - Line scan 방식, 0.25mm step size
- 그림 198과 같이 초분광 영상으로부터 획득한 각 샘플별 스펙트럼과 UV-Vis Spectrometer를 이용하여 획득한 ASTA값을 이용하여 최적 색도 예측모델 개발
 - Patial least square regression 방법 이용



색도예측 모델개발
- Patial least square regression 이용 (부분최소자승법)

그림 200. 초분광 영상과 ASTA 값을 이용한 색도예측 모델 개발방법

나. 결과 및 고찰

- 1회 측정시 30개 시료를 동시에 측정하였으며(4분) 300개 샘플 측정 시 대략 40분 소요되어 기존의 ASTA 분석보다 빠른 측정이 가능하였다.
- 최적의 고춧가루 색도값을 예측할 수 있는 모델을 개발하기 위해 총 300개 시료 중 225개를 모델 개발에 사용하였고, 나머지 75개의 시료는 모델 성능을 평가하기 위해 사용하였다.
- 모델 개발시 7가지 전처리 기법을 사용하였고, 그 결과는 표 21과 같았다. 그 중 Range Normalization 결과가 가장 우수하였다.

표 21. 최적 모델 성능 결과

Measurement	Model	Calibration		Prediction		
		R_c^2	SEC	R_p^2	SEP	
Vis/NIR Hyperspectral system	Full wavelength	Mean-Normalization	0.747	7.191	0.809	6.260
		Maximum-Normalization	0.743	7.246	0.807	6.294
		Range-Normalization	0.747	7.190	0.815	6.157
		MSC	0.739	7.307	0.811	6.226
		SNV	0.742	7.256	0.813	6.202
		Savitzky-Golay 1st	0.726	7.485	0.755	7.073
		Savitzky-Golay 2nd	0.726	7.478	0.765	6.925
		Raw	0.745	7.217	0.767	6.892

제 4장 목표달성도 및 관련분야 기여도

제 1절 목표달성도

구분	비중 (%)	개발목표치	연구개발 내용	달성도
1차년도 (2013)	40	- 품목(2개) 당 5개, 총 10개	- 표현형 비파괴 생리적 측정 지표 16가지 측정 파장 구멍(고추, 배추)	100%
	30	- 품목당 2개, 총 4개	- 초분광 영상 시스템 구축 및 측정 방법 및 최적화 방법 4가지 개발(고추, 배추)	100%
	30	- 비SCI논문 1편	- 비SCI 2편	200%
2차년도 (2014)	40	- 품목(3개) 당 5개, 총 15개	- 표현형 비파괴 생리적 측정 지표 28가지 측정 파장 구멍(파프리카, 무, 수박)	186%
	30	- 품목(3개) 당 2개, 총 6개	- 초분광 영상 시스템 구축 및 측정 방법 및 최적화 방법 6가지 개발(파프리카, 무, 수박)	100%
	30	- 비SCI논문 1편	- SCI 2편, 비SCI 1편	300%
3차년도 (2015)	30	- 품목(2개) 당 3개, 총 6개	- 형태학적 측정지표 6개 구멍 및 3차원 재구성 모델 개발(고추, 개추)	100%
	30	- 1건	- 3차원 재구성 시스템 개발	100%
	20	- SCI논문 1편	- SCI 1편, 비SCI 2편	300%
	20	- 출원 1건	- 특허 출원 1건	100%
4차년도 (2016)	30	- 품목(1개) 당 4개	- 고추의 3가지 광원 환경별 생육 지표 및 성장 속도 패턴 분석 - 3차원, NIR, 열영상, 형광 분석을 위한 자동이송 영상측정장치 개발	100%
	30	- 1건	- Small-scale 표현형 검정 시스템 프로토타입 구축	100%
	20	- SCI논문 1편	- SCI 3편	300%
	20	- 등록 1건	- 특허 등록 1건	100%

제 2절 관련분야 기여도

1. 기대성과

가. 기술적 측면

- Plant phenomics는 현대 작물분자육종에 있어 가장 보편적으로 활용하고 있는 분자마커를 이용한 MAS (marker assisted selection)의 한계를 극복하고, MAS와 함께 활용될 경우

작물분자유종들의 효율성과 성공가능성 제고에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대됨

- Plant phenomics는 기존의 omics분야인 genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics를 아우를 수 있는 신규 분야로 이 분야 선도적인 위치에 있는 독일, 네덜란드, 호주 등도 연구의 초기단계에 있어서 본 연구를 통해 국제적인 리더십 확보가 가능함
- Plant phenomics기반 HTS를 통해 기존의 omics분야 연구를 직접 지원함은 물론 omics 기반기술의 작물분자유종의 연계로 신규 품종개발을 가속화할 수 있을 것으로 기대됨
- 환경스트레스에 대한 비파괴 HTS시스템은 작물 분자유종의 목표형질 평가 및 선발의 시간과 노력절감과 다양한 형질의 체계적인 평가로 신규 품종개발에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구과제로 개발될 채소류 표현형 다차원 분석 방법은 다른 작물을 위한 표현형 다차원 분석 방법 개발에도 적극 활용될 수 있을 것으로 기대됨으로 다른 작물의 분자유종 효율성 제고에도 기여할 수 있음

나. 경제·산업적 측면

- 수량성 증가, 환경스트레스 내성 등 목표형질 평가 및 선발을 위한 고속대량 표현형 검정시스템의 활용으로 채소종자 신규 품종개발의 소요시간 및 비용이 획기적으로 단축됨
- 수출대상국 맞춤형, 내재해성, 내병성 육종 소재를 이용한 지역별, 작형별 기호도에 맞는 품종의 육종종자개발 기간이 단축되어 국내 채소종자의 수출 경쟁력이 제고됨
- 채소류는 물론 다른 작물용 phenotyping HTS시스템 개발에도 기여함으로 작물분자유종의 효율성 제고 및 신품종개발에 기여할 것임
- 선진국의 HTS시스템 도입이 아닌 독자적인 phenotyping HTS시스템 확보로 수입대체효과는 물론 자체 시스템의 수출을 통한 해외시장확보의 계기가 될 수 있음

제 5장 연구개발 성과활용가능성

- 발굴한 비파괴 표현형 지표를 이용하여 대상 작물의 한발, 온도스트레스의 반응 부분의 표현형 측정 사례로 활용될 가능성이 높으며, 지속적인 연구개발을 통해 정량화가 가능할 것으로 사료되며 다른 작물에도 활용될 가능성이 있음
- 과제의 기술개발 과정에서 도출되는 형광, 열영상, 근적외선 분석기술은 작물의 기존 특성뿐 아니라 보이지 않는 특성도 정밀하게 정량적으로 측정하여 데이터화하므로 보다 과학적인 선발과 정보를 제공하여 육종기술, 식물병, 스트레스, 생리장해 진단 기술 수준을 포괄하여 응용될 수 있음
- 개발된 비파괴 HTS시스템은 작물 분자유종의 목표형질 평가 및 선발의 시간과 노력절감과 다양한 형질의 체계적인 평가로 신규 품종개발에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구과제로 개발될 채소류 표현형 다차원 분석 방법은 다른 작물을 위한 표현형 다차원 분석 방법 개발에도 적극 활용될 수 있을 것으로 기대됨으로 다른 작물의 분자유종 효율성 제고에도 기여할 수 있음
- 수량성 증가, 환경스트레스 내성 등 목표형질 평가 및 선발을 위한 고속대량 표현형 검정 시스템의 활용으로 채소종자 신규 품종개발의 소요시간 및 비용이 획기적으로 단축될 수 있음

제 6장 연구개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 표현형 고속탐색법으로 시스템을 구성하여 대량의 식물에 대한 표현형을 검정할 수 있다면 목표한 유전자가 발현된 품종을 선발하는데 있어 효율성을 극대화할 수 있어 초고속 육종이 가능하다(Lee 등, 2011)
- 초고속 육종을 위한 표현형 고속탐색 시스템은 작물의 다양한 생태 정보를 자동으로 획득하고, 이 정보와 식물의 유전자정보 사이의 연관성(Phenomics-genomics pipeline)을 분석하게 된다(Furbank and Tester, 2011). 표현형 고속탐색 시스템에 대한 연구는 바스프(BASF), 몬산토(Monsanto) 및 렘나텍(LemnaTec) 등의 해외기업에서 활발히 수행되고 있으며 일부는 상용화 되어있다.
- 표현형 고속탐색 시스템에서 일반적으로 사용되는 작물의 생육정보 측정 방법은 칼라영상, 근적외선영상, 열영상, 형광영상 등의 비파괴 영상측정기술이 있다. 특히 근적외선 영역에서 O-H 작용기가 반응하는 셀룰로오스(1200, 1490, 1780 nm)와 물 반응대역(1410, 1450 nm), 그리고 N-H 작용기가 반응하는 단백질 반응대역(1020, 1510, 1690 nm)은 작물의 생육상태를 나타내는 중요한 근적외선영상 파장영역으로 활용되고 있다(Annemarie 등, 2009; Kim, 2004).
- 가뭄에 잘 견디는 작물을 효율적으로 육종하기 위해서는 수분스트레스에 강한 작물을 신속 정확하게 선발해야 하는데 이를 위해서는 작물의 수분스트레스를 비파괴적으로 측정하기 위한 피노믹스 기술이 필요하다(Berger 등, 2010)
- 해외에서는 작물의 수분스트레스를 비파괴적으로 측정하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있으나 국내에서는 아직 미흡한 실정이다. Grant 등(2006)은 열화상 카메라와 토양수분장력을 이용하여 포도나무, 콩, 루핀(lupin)의 수분 스트레스를 측정하였다. Eitel 등(2006)은 포플러 나무의 스트레스 증상을 단파적외선(short wave infrared, SWIR) 영역인 1300 nm ~ 2500 nm 파장을 이용하여 영상을 측정하였고 1500 nm와 1750 nm 영역에서 가장 큰 상관관계를 보인다고 보고하였다.
- 초분광 영상기술은 기존의 분광기술과 영상기술을 융합하여 가시광선 및 근적외선 또는 형광의 연속적인 분광영상을 획득 할 수 있는 기술로서 대상물의 물리적 특성뿐만 아니라 생화학적 특성까지 종합적으로 분석하는 것이 가능하다. 초분광 영상시스템을 작물의 수분스트레스에 적용한 사례는 Zhou 등(2011)이 토마토 잎의 수분스트레스 반응을 측정한 연구결과가 있다.
- 작물의 전체 영상을 2차원 컴퓨터 영상으로 측정하기도 하지만 2차원 영상은 3차원 영상에 비해 물체 정보의 왜곡 및 누락으로 정확한 측정이 어렵다. 외국 기업에서는 이러한 문제를 해결하고자 3차원 영상 기술을 활용하고 있다.
- 레이저 스캐너를 이용하는 Phenospex사의 PlantEye 시스템, 다양한 영상 센서를 이용하여 3차원 영상을 구현하는 LemnaTec사의 Scanalyzer 시스템 등 다양한 방법으로 3차원 영상을 측정하고 활용하고 있지만, 국내에서는 식물의 정확한 측정에 관한 연구가 많이 미흡한 상황이다.

제 7장 참고문헌

- Auwerkerken A., W. W. Verstraeten, B. Somers, R. Valcke, S. Lhermitte, J. Keulemans and P. Coppin. (2009). Hyperspectral reflectance and fluorescence imaging to detect scab induced stress in apple leaves. *Remote Sens.* 1 : 858-874.
- Berger B., B. Parent and M. Tester. 2010. High- throughput shoot imaging to study drought responses. *Journal of Experimental Botany*, 61(13) : 3519-3528.
- Carter G.A., (1991). Primary and secondary effects of water content on the spectral reflectance of leaves. *Am. J. Bot.* 78(7), 916 - 924.
- Chang A., J.Y. Choi, S.W. Lee, D.H. Kim and S.C. Bae. (2011). Agricultural biotechnology: Opportunities and challenges associated with climate change. *Kor. J Plant Biotechnol.* 38 : 117-124 (in Korean).
- Eitel J.U.H., P.E. Gessler, A.M.S. Smith and R. Robberecht. (2006). Suitability of existing and novel spectral indices to remotely detect water stress in populus spp.. *Forest Ecology and Management.* 229(1) : 170-182.
- Fischler, M., & Bolles, R. (1981). Random sample consensus: a paradigm for model fitting with applications to image analysis and automated cartography. *Communications of the ACM*, 24(6), pp. 381-395.
- Furbank R.T. and M. Tester. (2011). Phenomics - technologies to relieve the pheotyping bottleneck. *Trends in Plant Science.* 16(12) : 635-644.
- Grant O.M., M.M. Chanves and H. G. Jones. (2006). Optimizing thermal imaging as a technique for detecting stomatal closure induced by drought stress under greenhouse condition. *Physiologia Plantarum.* 127(3) : 507-518.
- Gonzalez, R., Woods, R., & Eddins, S. (2009). *Digital image processing using MATLAB*, second edition. Gatesmark, LLC.
- Houle D., D.R. Govindaraju and S. Omholt. (2010). Phenomics: the next challenge. *Nature Reviews Genetics.* 11(12) : 855-866.
- Kim, L.Y.. (2002). Standard method of analysis and standardization of horticultural bed soil. *Proceedings of the Korean Society for Bio-Environment Control Conference 2002 Nov.* p. 131-186 (in Korean).
- Kim, Y.H. (2004). Evaluation of seed quality by near infrared spectroscopy analysis. *Korean J. Crop Sci.*, 49(1):250-258 (in Korean).
- Lowe, D. (1999). Object recognition from local scale-invariant features. In *computer vision, 1999. the proceedings of the sevrnth IEEE international conference on.* 2, pp. 1150-1157. IEEE.
- Lowe, D. (2004). Distinctive image features from scale-invariant keypoints. *International journal of computer vision*, 60(2), pp. 91-110.

- Lee, K.G., S.K. Kang and K.H. Choi. (2004). Nondestructive quality measure of fruits and vegetable using near-infrared spectroscopy. *Food Engineering Progress*. 8(3):158-169 (in Korean).
- Lee S.K., T.R. Kwon, E.J. Suh, and S.C. Bae. (2011). Current statues of phenomics and its application for crop improvement: Imaging systems for high-throughput screening. *Kor. J. Breed. Sci.* 43(4) : 165-172 (in Korean).
- Li, M., Zheng, D., Zhang, R., Yin, J., & Tian, X. (2015). Overview of 3D Reconstruction Methods Based on Multi-view. 2015 7th International Conference on Intelligent Human-Machine Systems and Cybernetics (pp. 145-148). IEEE.
- Lou, L., Liu, Y., Han, J., & Doonan, J. (2014). Accurate multi-view stereo 3D reconstruction for cost-effective plant phenotyping. In *International Conference Image Analysis and Recognition* (pp. 349-356). Springer International Publishing.
- Hartley, R. I. (1997). Triangulation. *Computer vision and image understanding*, 68(2), pp. 146-157.
- Hartley, R., & Zisserman, A. (2004). *Multiple view geometry in computer vision*. Cambridge.
- Muja, M., & Lowe, D. (2012). Fast matching of binary features. 2012 ninth conference on computer and robot vision (pp. 404-410). IEEE.
- Murali, S., & Govindan, V. (2013). Shadow detection and removal from a single image using LAB color space. *Cybernetics and information technologies*, 13(1), pp. 95-103.
- Paproki, A., Sirault, X., Berry, S., Furbank, R., & Fripp, J. (2012). A novel mesh processing based technique for 3D plant analysis. 12(1), 63. *BMC Plant Biology*.
- Raguram, R., Frahm, J.-M., & Pollefrys, M. (2008). A comparative analysis of RNASAC techniques leading to adaptive real-time random sample consensus. In *European conference on computer vision*, (pp. 500-513).
- Triggs, B., McLauchlan, P., Richard, H., & Fitzgibbon, A. (1999). Bundle adjustment-a modern synthesis. In *International workshop on vision algorithms* (pp. 298-372). Springer Berlin Heidelberg.
- Tsai, R. (1987). A versatile camera calibration technique for high-accuracy 3D machine vision metrology using Off-the-Shelf TV cameras and lenses. *IEEE Journal on Robotics and Automation*, 3(4), pp. 323-344.
- Zhang, Z. (1998). Determining the epipolar geometry and its uncertainty: A review. *International journal of computer vision*, 27(2), pp. 161-195.
- Zhang, Z. (2000). A flexible new technique for camera calibration. *IEEE Transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 22(11), pp. 1330-1334.
- Zhou. Y., H. Mao and X. Zang., (2011), Hyperspectral imaging technology for detection of moisture content of tomato leaves. *International Congress on image and signal processing*. 4(1): 167-171

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 Golden Seed 프로젝트 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 Golden Seed 프로젝트의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.

연구개발보고서 초록

프로젝트명	(국문) 초고속 표현형 검정 시스템 서비스				
	(영문) High throughput phenotyping system service				
프로젝트 연구기관	충남대학교 산학협력단		프 로 젝 트 책 임 자	(소속) 충남대학교	
참여 기업	-			(성명) 조 병 관	
총연구개발비 (726,000천원)	계	726,000	총 연구 기간	2013.07.25. ~ 2016. 12.31.(4년)	
	정부출연 연구개발비	426,000	총 참 여 수 원 구 원 수	총 인원	49
	기업부담금			내부인원	49
	정부외출연금	300,000		외부인원	

■ 연구개발 목표 및 성과

- ✓ 수량성 등 기본적인 농업형질이 우수하면서 환경스트레스 내성을 갖는 품종 개발을 효과적으로 추진하기 위해서는 자연환경과 유사한 조건에서 작물의 whole plant수준의 반응(phenome)을 효율적이고 효과적으로 검정할 수 있어야 함. 이러한 표현형 검정기술은 작물 품종 분자유종의 효율을 혁신적으로 향상시킬 수 있음. 따라서 본 연구에서는 변화하는 기후환경과 다양한 스트레스 환경에 적응할 수 있는 품종의 개발을 위해 우량 유전자원 및 계통의 선발에 활용할 수 있는 작물의 생리생화학적 반응, 스트레스환경 적응성 및 내성 진단, 농업적 주요 형질을 손쉽게 평가할 수 있는 고속대량 표현형 다차원 분석 기술 및 HTS (High Throughput Screening) 시스템을 개발하여 개량 목표 형질의 선발을 최적화할 수 있는 기반기술 개발을 목표로 함.
- 초고속 육종을 위한 표현형 검정시스템의 핵심 다차원 영상기술(입체영상, NIR영상, 적외선 영상, 형광영상)을 개발하고 작물별(고추, 배추, 무, 수박, 파프리카) 생리적 반응의 비파괴 측정인자 발굴 및 측정방법을 개발함

■ 연구내용 및 결과

가. 초분광 영상장치 구축

1. - 초분광 Vis/NIR, SWIR, 형광 측정 시스템을 개발하고, 현장활용을 위해 각각의 시스템의 영상 노이즈 제거와 보정을 위한 측정 방법을 개발함
2. - 식물의 경우 다양한 외부 조건에 따라 영상에 노이즈가 첨가되는 경우가 많으므로, 열차된 광조건,

형광의 압조건, 등이 필요함을 구명하였음

나. 품목별 표현형 비파괴 측정 지표 발굴

3. - 고추 : 한발스트레스의 경우 558 nm(형광)과 1449 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 683 nm/731 nm(형광)에서 정상 고추작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
4. - 배추 : 한발스트레스의 경우 558 nm, 708 nm/ 746 nm(형광)과 1456 nm, 1397 nm/ 1456 nm(SWIR)에서, 온도(고온)스트레스 경우 555 nm, 713 nm/746 nm(형광), 1449 nm, 1382 nm/1426 nm(SWIR)에서 정상 배추작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
5. - 파프리카 : 한발스트레스의 경우 683 nm(형광), 731 nm/688 nm(형광)에서, 온도(고온)스트레스 경우 683 nm, 712 nm/688 nm(형광), 1441 nm, 1545 nm/1449 nm(SWIR)에서 정상 파프리카 작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
6. - 수박 : 한발스트레스의 경우 755 nm/664 nm(형광), 1732 nm/1620 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 560 nm, 707 nm/670 nm(형광), 1447 nm(SWIR), 1732 nm/1583 nm(SWIR)에서 정상 수박작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
7. - 무 : 한발스트레스의 경우 750 nm/717 nm(형광), 1583 nm/1426 nm(SWIR)에서, 온도(저온)스트레스 경우 703 nm/684 nm(형광), 1441 nm, 1560 nm/1426 nm(SWIR)에서 정상 무작물과 구분되는 유의한 결과를 얻었음
8. - 컬러 : 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 감소하는 경향성을 보임
9. - 엽면적 : 최소 24시간 이후 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 감소하는 경향성을 보임.
10. - 무게중심 : 최소 24시간 이후 한발 및 고온스트레스 상태에 노출 시 값이 증가하는 경향성을 보임
11. - 3차원 영상 구축 : 1개의 카메라를 이용하여 10. 간격으로 회전 촬영한 영상을 이용하여 3차원 영상을 구축 하였음

다. 표현형 검정을 위한 최적 광 환경 구명

- 광원별 (플라즈마-PL, 고압나트륨-HPS, 형광등-FL) 청양과 피망의 형태형성과 관련된 생육지표는 엽폭과 엽장의 경우 5주후 FL, HPS, PL 순으로 증가하는 경향성이 보였음
- 광원별 (플라즈마, 고압나트륨, 형광등) 피망 품종의 화아분화는 피망의 경우 처리 후 3주차부터 유의적으로 화아분화수가 증가함을 보임

라. 자동 이송 영상측정 장치 개발

- Small-scale HTS 표현형 검정시스템 프로토타입을 구축하기 위하여 작물별 표현형 지표 4가지(3차원 영상, NIR 영상, 열영상, 형광 영상)를 자동측정하기 위한 챔버를 구성하고, 자동으로 영상 측정 및 이송이 가능하도록 구축함

■ 연구성과 활용실적 및 계획

- 발굴된 비파괴 표현형 지표는 대상 작물의 한발, 온도스트레스에 대한 표현형 정량화 측정 인자로 활용될 수 있음
- 개발된 비파괴 HTS시스템은 작물 분자유종의 목표형질 평가 및 선발의 시간과 노력절감 및 형질의 체계적인 평가로 신규 품종개발에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구과제로 개발된 채소류 표현형 다차원 분석 방법은 다른 작물을 위한 표현형 다차원 분석 방법 개발에도 적극 활용될 수 있을 것으로 기대됨
- 수량성 증가, 환경스트레스 내성 등 목표형질 평가 및 선발을 위한 고속대량 표현형 검정시스템의 활용으로 채소종자 신규 품종개발의 소요시간 및 비용이 획기적으로 단축될 수 있을 것으로 기대됨

자체평가보고서

사업단명	GSP 체소종자사업단	과제번호	213002-04-3-SBY10		
프로젝트명	초고속 표현형 검정시스템 서비스				
프로젝트연구기관	충남대학교				
연구담당자	프로젝트 연구책임자	조병관			
	세부프로젝트 연구책임자	기관(부서)	충남대학교	성명	조병관
		기관(부서)		성명	
		기관(부서)		성명	
		기관(부서)		성명	
연구기간	총 기간	2013.07.25.~2016.12.31.	당해연도 기간	2016.03.01.~ 2016.12.31	
연구비(천원)	총 규모	726,000	당해연도 규모	225,000	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행 계획대로 진행 계획대로 진행되지 못함

○ 계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

예상외 성과 얻음 어느 정도 얻음 얻지 못함

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	중자 수출액	기술 이전	인력 양성	분석 서비스 (점)
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표			1	1	2	2							4	0
연구기간내 달성실적			1	1	6	5							4	0
달성율(%)			100	100	300	250							100	349

3. 연구개발 성과 세부 내용

3-1 기술적 성과

- 개발된 비파괴 HTS시스템은 작물 분자유종목의 목표형질 평가 및 선발의 시간과 노력절감과 다양한 형질의 체계적인 평가로 신규 품종개발에 기여할 것으로 기대됨
- 본 연구과제로 개발될 채소류 표현형 다차원 분석 방법은 다른 작물을 위한 표현형 다차원 분석 방법 개발에도 적극 활용될 수 있을 것으로 기대됨으로 다른 작물의 분자유종 효율성 제고에도 기여할 수 있음

3-2 과학적 성과

- 본 연구에서 개발된 표현형 측정 지표는 목표 품목 형질의 유전적, 생리적 변화를 표현하는 중요한 요소가 될 것이라 판단되며, 추후 정량화를 통해 대량의 작물을 패턴을 다루는데 용이한 방법이 될 수 있음.

3-3 경제적 성과

- 수량성 증가, 환경스트레스 내성 등 목표형질 평가 및 선발을 위한 고속대량 표현형 검정시스템의 활용으로 채소종자 신규 품종개발의 소요시간 및 비용이 획기적으로 단축될 수 있음
- 개발될 비파괴 HTS시스템의 특허 및 제품화를 통한 기술적 독점권을 확보가 가능할 것으로 기대됨

3-4 사회적 성과

- 선진국의 HTS시스템 도입이 아닌 독자적인 phenotyping HTS시스템 확보로 수입대체효과는 물론 자체 시스템의 수출을 통한 해외시장확보의 계기가 될 수 있음
- 개발된 기술을 수출대상국 맞춤형, 내재해성, 내병성 육종 소재를 이용한 지역별, 작형별 기호도에 맞는 품종의 육종종자개발에 적용한다면 기간이 단축되어 국내 채소종자의 수출 경쟁력이 제고될 수 있음

3-5 인프라 성과

- Plant phenomics는 현대 작물분자유종목에 있어 가장 보편적으로 활용하고 있는 분자마커를 이용한 MAS (marker assisted selection)의 한계를 극복하고, MAS와 함께 활용될 경우 작물분자유종목의 효율성과 성공가능성 제고에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대됨
- Plant phenomics는 기존의 omics분야인 genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics를 아우를 수 있는 신규 분야로 이 분야 선도적인 위치에 있는 독일, 네덜란드, 호주 등도 연구의 초기단계에 있어서 본 연구를 통해 국제적인 리더십 확보가 가능할 것으로 기대됨
- Plant phenomics기반 HTS를 통해 기존의 omics분야 연구를 직접 지원함은 물론 omics 기반기술의 작물분자유종목의 연계로 신규 품종개발을 가속화할 수 있을 것으로 기대됨

4. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

5. 경제적인 측면에서 종자산업의 수출증대와 수입대체에 공헌했다고 보는가?

○ 감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오.

8. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

9. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(※ 아래사항은 기업참여시 기업대표가 기록하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?

- 만족 보통 미흡
(근거 : _____)

2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견

가. 연구성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

나. 연구성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?

- 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?

가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?

- 충분 보통 불충분

나. 향후 계속 참여 의사는? (※중간·단계평가에 한함)

충분 고려 중 중단

다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는? (※중간·단계평가에 한함)

확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?

즉시 기업화 가능 수년 내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
프로젝트 책임자	충남대학교	교수	조 병 관 (인)

연구결과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업단명	GSP 채소종자사업단	품 목	고추
프로젝트명	초고속 표현형 검정시스템 서비스		
프로젝트연구기관	충남대학교	프로젝트 책임자	조병관
연구개발비	정부출연 연구개발비	정부외출연금	연구기관부담금
	426,000,000	300,000,000	726,000,000
연구개발기간	2013.07.25. ~ 2016.12.31.		
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(기타 작물로 표현형 측정 활용 및 연구) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)		

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
환경스트레스 표현형 비파괴 측정 지표 발굴 및 초분광 영상측정 시스템 구축 (생리적 지표 10개, 시스템 최적화법 4개, 비SCI논문 1편)	<ul style="list-style-type: none"> - 표현형 비파괴 생리적 측정 지표 16가지 측정 파장 구명(고추, 배추) - 초분광 영상 시스템 구축 및 측정 방법 및 최적화 방법 4가지 개발(고추, 배추) - 비SCI 2편
환경스트레스 표현형 검정을 위한 초분광 NIR 및 형광 영상측정 분석기술 개발 (생리적 지표 15개, 시스템 최적화법 6개, 비SCI논문 1편)	<ul style="list-style-type: none"> - 표현형 비파괴 생리적 측정 지표 28가지 측정 파장 구명(파프리카, 무, 수박) - 초분광 영상 시스템 구축 및 측정 방법 및 최적화 방법 6가지 개발(파프리카, 무, 수박) - SCI 2편, 비SCI 1편
환경스트레스 표현형 비파괴 측정 지표 발굴 및 입체 영상측정 시스템 구축 (형태학적 지표 6개, 3차원 구성법 , SCI논문 1편)	<ul style="list-style-type: none"> - 형태학적 측정지표 6개 구명 및 3차원 재구성 모델 개발(고추, 개추) - 3차원 재구성 시스템 개발 - SCI 1편, 비SCI 2편 - 특허 출원 1건
고추의 비파괴 표현형검정을 위한 최적 환경과 지표 영상 신속 측정 기술 개발 및 Small-scale HTS 프로토타입 개발 (고추 광환경 환경 구명, 비파괴 표현형 지표 영상장치, Small-scale HTS 프로토타입 개발)	<ul style="list-style-type: none"> - 고추의 3가지 광원 환경별 생육 지표 및 성장 속도 패턴 분석 - 3차원, NIR, 열영상, 형광 분석을 위한 자동 이송 영상측정장치 개발 - Small-scale 표현형 검정 시스템 프로토타입 구축 - SCI 3편 - 특허 등록

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

구분	품종개발		특허		논문		분 자 마 커	유전자원		국내 매출액	중자 수출 액	기술 이전	인 력 양 성	분석 서비스 (점)
	출 원	등 록	출 원	등 록	SCI	비SCI		수 집	등 록					
최종목표			1	1	2	2							4	0
연구기간내 달성실적			1	1	6	5							4	349
달성율(%)			100	100	300	250							100	34900

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	고추 품목의 주요 표현형 지표 및 정량화 모델 개발
②	적외선, 형광, 입체 영상을 이용한 표현형 검정 다차원 비파괴 측정 핵심기술
③	고속대량 표현형 검정시스템 개발구축

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술		v								
②의 기술		v				v				
③의 기술		v				v	v			

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	표현형 검정은 분자육종의 한계를 보완할 수 있어 품종육종의 효율성과 성공가능성 제고에 기여할 수 있음
②의 기술	목표형질 평가 및 선발을 위한 비파괴 고속대량 표현형 검정시스템의 활용으로 채소 신품종 개발 소요시간 및 비용을 획기적으로 단축할 수 있음
③의 기술	선진국의 고속대량 표현형 검정시스템의 단순도입이 아닌 독자적인 한국형 고속대량 표현형 검정시스템 원천기술 확보로 수입대체효과 및 자체 시스템의 수출사업화 가능

7. 연구종류 후 성과창출 계획

구분	품종개발		특허		논문		분자 마커	유전자 원		국내 매출 액	중자 수출액	기술 이전	인력 양성	분석 서비스(점)
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI		수집	등록					
최종목표			1	1	2	2							4	0
연구기간내 달성실적			1	1	6	5							4	349
연구종료 후 성과창출 계획			0	0	0	0							0	0