

흑백화상처리에 의한 씨감자 조직배양 공정의 생육상태 모니터링

Growth Status Monitoring on Tissue Culture of Potato Microtuber by B/W Image Processing

최계완*

정광조*

문정기**

정희원

J. W. Choi

G. J. Chung

J. G. Moon

1. 서론

조직배양방법에 의한 인공씨감자(Potato Microtuber)의 증식방법은 이미 오래전에 학계에 보고되어 왔으나 기존의 실험실적인 방법으로는 만족할 만한 생산성이 보장되지않아 실용화에 어려움을 겪다가 1986년도부터 KIST 부설 생명공학연구소에서 기존의 삼각 플라스크 대신 petridish를 사용한 대량생산방법을 개발하여 실용화가 가능하게 되었다.

그러나 현재 이 방법은 개발초기의 실험실적 생산환경을 그대로 유지하고 공정의 대부분을 수작업에 의존하고 있어서 기업화 및 수익성 보장에 한계가 있다. 이러한 한계를 타파하는 것은 인공씨감자의 조직배양과정을 실험실이 아닌 생산공장의 환경으로 전환시킴으로서 가능할것이고 이것은 바로 기존의 여러 산업분야에서 활용되고있는 첨단 자동화기술의 도입으로 해결될 것이다. 본 논문은 이러한 인공씨감자의 생산공정을 자동화하는데 필요한 요소기술중 영상처리 및 분석기술을 이용하여 배양용기 내의 씨감자 생육상태를 인식, 판단하는 모니터링 기술을 개발함으로써 공정의 무인화 기반을 구축하는데 그 의의가 있다.

2. 인공씨감자 대량증식기술

생명공학연구소의 방법에 따르면 인공씨감자의 증식은 대략 그림 1과 같은 4단계의 배양실(Culturing Chamber)을 거치면서 이루어진다. 1단계의 급속경정 배양실(Rapid Shoot Tip Culturing Chamber)에서는 3-4주정도 씨감자의 곁가지와 뿌리를 증식시키고 그 중 앞과 줄기가 정상적으로 균형하게 전개되어 있고 곁가지와 뿌리의 발달이 왕성하여 인공씨감자를 대량 생산해 수 있는 인공씨감자 형성용 경정(Micro Tubergenic Shoot)을 취하여 2단계 고온처리실(High Temperature Treatment Chamber)과 3단계의 저온처리실(Low Temperature Treatment Chamber)을 거친후 밀폐시켜 최종 4단계의 씨감자형성배양실(Microtuber Generation Chamber)로 옮겨져 6-7주만에 용기당 평균 10개 정도의 씨감자를 생산하게 되며 각 배양실마다 각각의 일조량, 온도, 광도, 배양기간 등의 제어조건을 달리하게 된다. 이 과정에서 각 배양실에서의 생육상태의 감시와 배양용기의 공급, 이송, 적재, 폐기 등 공정의 모든 흐름은 작업자의 개입에 의하여 이루어 짐으로서 전반적으로 생산효율이 저하되고 청정을 요구하는 환경에서 박테리아나 바이러스, 곰팡이 등에 의한 오염의 확

* 한국기계연구원 자동화연구부

** 한국기계연구원 산업설비연구부

률이 높아지게 된다. 특히 대량의 용기를 작업자가 일일이 수시 검사하는데에는 수익성 저하때문에 많은 인력을 투입할 수 없으므로 일정한 배양기간이 경과하면 일괄적으로 추출하여 다음 공정, 배양실로 보내거나 폐기하는 수동적 공정관리(Passive Process Control)에 의존하고 있어 더욱 생산효율을 저하시키고 있다.

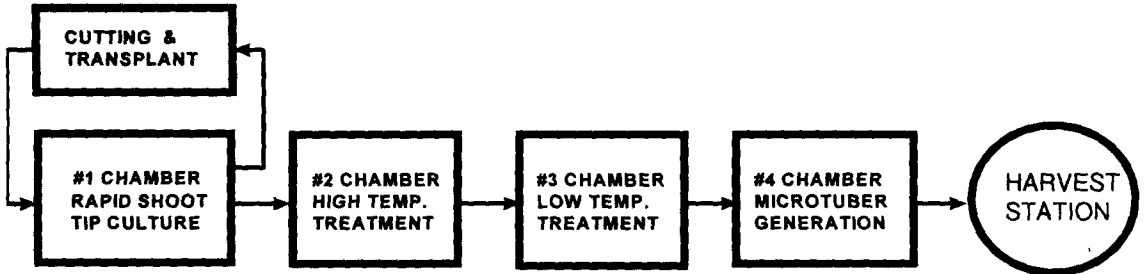


그림1 ; 인공씨감자 조직배양공정

이러한 공정상의 문제점을 개선시키는 방안은 공정의 자동화 및 무인화와 능동적인 공정관리개념이 필요하며 이를 도식적으로 나타내면 그림 2와 같이 각 배양실 또는 공정 사이에 화상처리(Image Processing) 방법에 의한 검사 및 처리 station을 설치함으로써 가능하다.

각 배양실에서 인출된 대상용기는 이 station에 옮겨져서(Tray Incoming) 화상처리 및 생육도 판별 그리고 씨감자 형성률인식 등의 판단과정을 통해, 정상적이고 미성숙된 용기는 되돌리고(Tray Returning), 정상적으로 완전히 성숙된 용기는 다음 공정으로 넘기고(Go to Next Process), 오염되었거나 정상적인 생육결과가 기대되지 않는 용기는 폐기(Tray Discard)시키는 과정을 수행하게 된다.

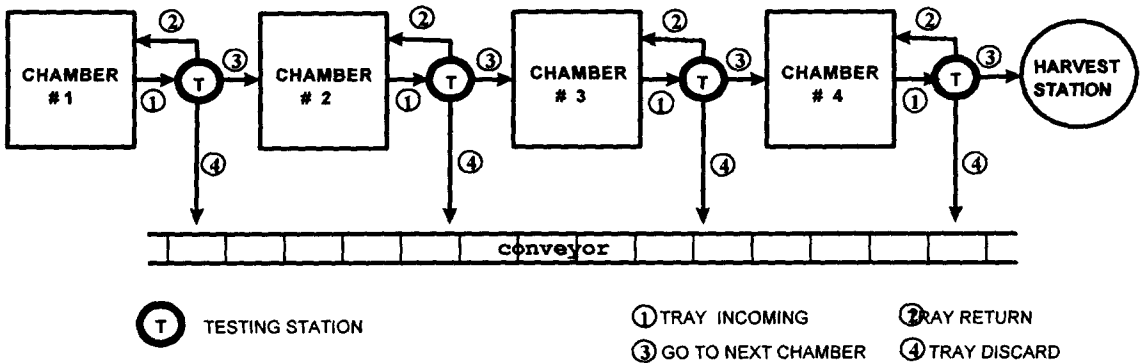


그림 2. 조직배양공정의 능동제어 개념도

그림 2의 능동 조직배양공정 중 화상처리기술이 핵심이 되는 검사 및 처리 station 에서 다음의 공정을 결정하기 위하여 필요한 판단기준은 #1,#2,#3 배양실에서는 착상된 줄기의 생육상태, 결가지의 수, 잎의 생육상태, 세균에 의한 오염여부 등이고 #4 배양실에서는 인공 씨감자의 형성수 및 평균 크기와 세균에 의한 오염여부 등이 될것이다.

일반적인 식물의 성장은 지면에서부터 상부로 입체적으로 전개되기 때문에 이러한 판단 기준들을 화상처리 방법으로 해석하는데 최소한 2개이상의 카메라를 이용한 입체영상 해석법이 요구되지만 생명공학연구소의 인공씨감자 배양 방법은 전술한 바와 같이 삼각플라스크 대신에 납작한 형태의 특수한 투명 petridish를 사용함으로써 씨감자 줄기 및 곁가지의 증식은 평면적으로 이루어 지게 된다. 그러므로 이러한 곁가지 및 줄기의 증식은 투명용기내에서 수평적으로 진전되어 나간다고 볼수 있으므로 이를 모니터링하기위한 화상처리방법도 하나의 카메라를 이용한 2차원적인 방법으로 충분하다고 볼 수 있다.

3. 화상처리에 의한 경정의 생육도 판별

화상으로 입력된 경정의 생육상태를 인식할 수 있는 모델을 만들기위해 입력화상을 분석해 보면 경정의 성장이 왕성한 상태에서는 뿌리의 발육정도나 곁가지의 수를 알아내는 것은 불가능하다. 따라서 본 연구에서는 생육정도의 정량화가 가능한 왕성한 잎줄기 성장에 따른 잎과 줄기의 면적을 생육도 인식의 특징점으로 하였다. 그리고 이 특징점을 이용한 생육도 판별 모델을 개발하였고 이때 생육도는 식(1)과 같이 표현할 수 있다.

$$a = \frac{\sum_I f(x,y)}{A} \times 100 \quad (1)$$

a : 생육도(%)

A : 경정의 증식배지 면적내의 전체화소수

$f(x,y)$: 경정 증식배지내 화소값(Pixel Intensity)

여기서 $f(x,y)$ 는 입력화상을 X-Y 평면으로 투영시킨 증식배지영역내의 화소값으로 만일 잎, 줄기가 있는 영역은 1의 값을 가지고 아닌 영역은 0의 값을 가진다

경정의 증식배지안에서 잎 줄기의 영역을 쉽게 표현하기위해 후면조명(Background Light)을 사용하였다. 이런 조명방법은 입력화상의 이진화시 잎줄기영역과 더욱 검게 나타나고 배양액만이 존재하는 영역은 더욱 희게 강조하여 두 영역 분리가 용이하도록 하여 잎 줄기 면적에 대한 손실을 최소화 하였다. 이런 입력화상을 이용하여 생육도를 구하기 위해 잎줄기 영역과 나머지 영역으로 나누는 이진화를 한다. 그리고 잎줄기 영역의 화소수를 계수하여 상수인 배지의 면적으로 나누어 생육도를 계산한다. 그림 3은 경정의 생육도를 계산하기 위한 화상처리방법을 도식적으로 표현하였다.

4. 화상처리에 의한 씨감자 생성을 인식

인공씨감자 형성배지에 입력된 화상에서 인공씨감자를 영역을 찾는 이진화를 위한 수식적 모델은 다음과 같다.

$$f(x,y) \geq Th \quad f(x,y) = 1 \quad (2)$$

$$f(x,y) < Th \quad f(x,y) = 0 \quad (3)$$

위 (2), (3)식을 이용하여 입력된 화상을 처리하고 각각의 인공씨감자 영역을 분리한다. 그리고 분리된 영역에 서로 다른이름을 부여하는 명칭화(Labeling)작업은 아래 그림 4의 마스크를 이용한다.

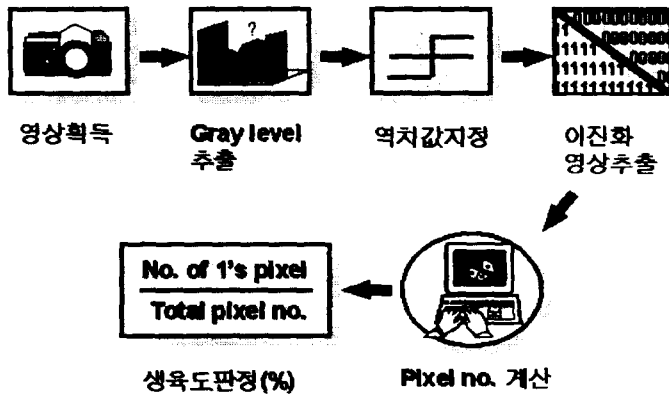


그림 3. 생육도 계산을 위한 화상처리 알고리즘의 개략도

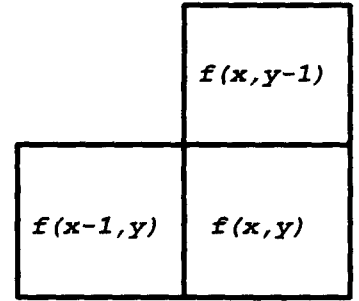


그림 4. 명칭화 마스크

그리고 인공씨감자 형성배지에서 각각의 인공씨감자영역에 부여된 명칭(R_n)을 이용하여 수확가능한 표본크기 인공씨감자(M_s)의 총인공씨감자수(T_n)를 결정하는 모델은 아래와 같다

$$G(R_n) = \sum f(x, y) \quad (4)$$

where,

R_n : 각각의 인공씨감자영역

A : 인공씨감자 형성배지영역의 총 화소수

$f(x, y)$: 임의 위치의 화소값

$$G(R_n) \geq M_s \quad (5)$$

이때 $G(R_n)$ 의 화소수가 식(5)를 만족하면 인공씨감자 크기로 볼 수 있다. 그러나 이것은 크기만의 정보를 인식한 결과이고 같은 크기의 줄기영역일 수도 있으므로 이영역의 형태적인 정보를 이용하기위해 다음과 같은 원형도(C_s)도 측정하여야 한다.

$$C_s = \frac{H_{\max}(R_n) - H_{\min}(R_n)}{W_{\max}(R_n) - W_{\min}(R_n)} \quad (6)$$

$$C_s \geq 0.75 \quad (7)$$

식(7)의 조건을 만족했을 때 이영역이 인공씨감자영역이라고 인식할 수 있고 형성배지안의 총 인공씨감자수(T_n)도 한계가 증가한다.

인공씨감자를 수와 크기를 인식하기위해 화상입력시 조명은 생육도판별때와는 반대로 인공씨감자는 희게 나타내고 잎은 빛을 흡수함으로써 검게 나타나도록 전면조명을 한다. 그러나 이때 줄기는 되도록 검게 표현되는것이 좋지만 희게 나타남으로써 인식율을 저하시키는 문제를 발생시킨다. 인공씨감자의 영역을 찾기위해 이진화를 하고 각각의 인공씨감자영역에

다른 명칭을 부여하는 명칭화작업을 한다. 그결과 인공씨감자의 수와 각각의 크기는 결정되지만 줄기로 인한 오인식을 줄이기위해 원형도를 검사한다. 인공씨감자를 찾기위한 화상처리방법을 도식적으로 표현하면 그림 5와 같다

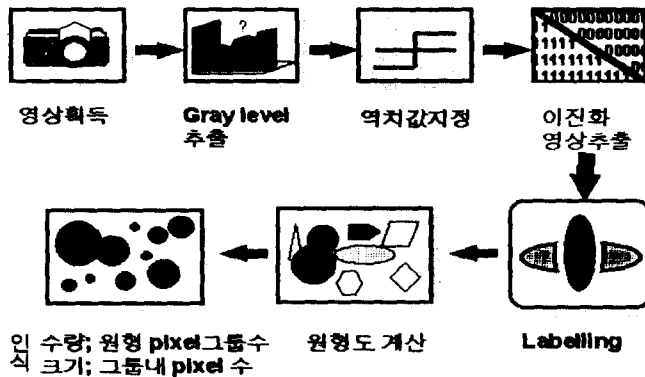


그림 5. 인공씨감자의 생성율을 계산하기위한 화상처리 알고리즘의 개략도

5. 실험 및 결과분석

5.1 실험장치의 구성

인공씨감자의 생육상태 모니터링을 위한 화상처리시스템은 IBM호환기종의 PC와 B/W camera 및 image grabber, 그리고 냉광조명장치로 구성된다.

또한 인공씨감자 생육제어용 파라메타 추출을 위하여 그림 6과 같은 프로그램을 개발하였다. 이 프로그램은 DOS환경에서 C언어를 이용하여 개발하였고, 프로그램의 기능은 입력된 화상을 PCX, BMP등 여러형태로 저장하는 일반기능과 이진화, 라벨링등 각각의 영상처리방법의 구현기능, 인공씨감자의 생성율계산 알고리즘 등의 기능이다.

5.2 생육도 판별 실험

경정의 생육기간에 따라 생육도의 차이를 알아보기위해 다음과 같은 실험을 하였다. 먼저 그림 7은 배양실에서 1주, 2주, 3주된 경정의 증식배지를 임의로 표본 추출하여, 개발된 생육도 인식 화상처리 알고리즘을 이용하여 생육기간에 따른 생육도의 차이를 알아보았다. 그 결과 생육기간별 생육도의 차이는 상당히 크다는 사실을 얻을 수 있었다. 따라서 본 연구에서 제안하고자 하였던 화상인식방법을 이용한 경정의 생육도의 판별이 가능하다는 것을 확인하였다.

5.3 인공씨감자 인식실험

인공씨감자의 형성기간에 따른 인공씨감자의 생성율을 알아보기 위해 다음과 같은 실험을 하였다. 그림 8은 배양실에서 인공씨감자 형성기간이 2, 4, 6주된 표본을 대상으로 화상처리방법을 이용한 인공씨감자 생성율 인식작업에 적용해본 결과를 나타내고 있다. 그 결과 형성기간에 따른 인식율의 차이가 있으며, 그 이유로는 2주때는 잎의 생육도가 크기때문에 줄기의 영향이 작으나 점차 줄기의 영향으로 인한 인식율의 저하를 초래하고있다.

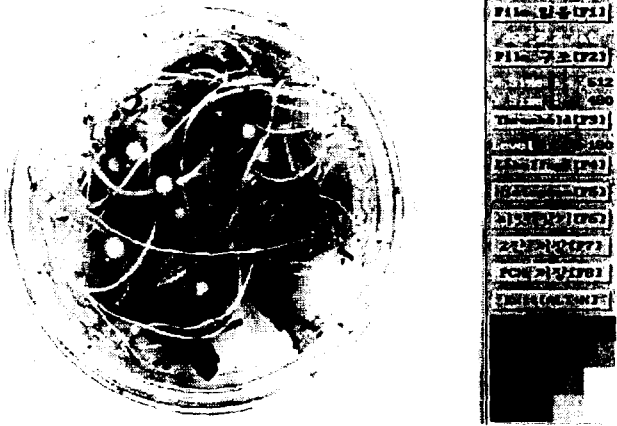


그림 6. 개발된 인공씨감자 생육상태 모니터링용 프로그램

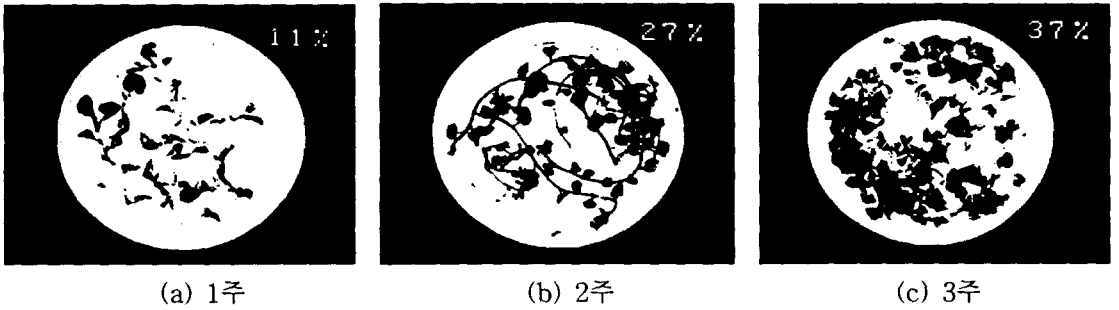


그림 7. 생육기간에 따른 생육도

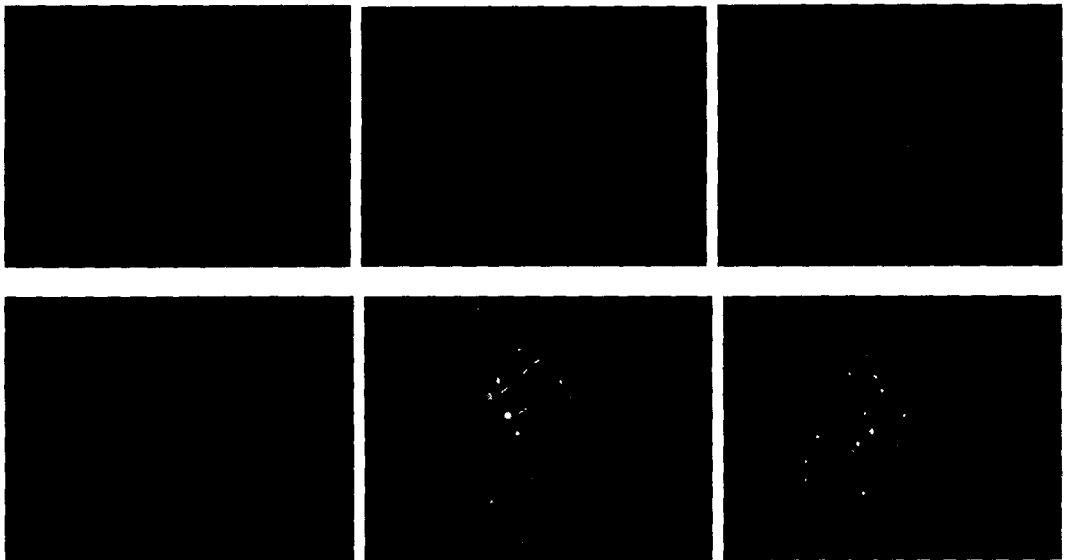


그림 8. 인공씨감자 형성기간에 따른 인식율(위;원화상, 아래; 화상처리결과)

6. 결론

본 연구는 인공씨감자의 생산공정을 자동화하는데 필요한 요소기술중 화상처리 및 분석 기술을 이용하여 배양용기 내의 씨감자 생육상태를 인식, 판단하는 모니터링기술을 개발함으로써 공정의 무인화를 구축하기위해서 행하여졌다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 화상입력된 증식배지영역에 경정의 생육상태를 판단하기위해 정량화가 가능한 잎과 줄기의 면적을 생육도 인식의 특징점으로 하는 생육도 판별모델을 개발하였고, 생육기간에 따른 생육도를 계산해본결과 화상처리방법을 이용한 경정의 생육도 판별이 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.
- 2) 인공씨감자 형성배지안에 인공씨감자의 크기와 수를 인식하는 화상처리방법을 개발하였고, 개발된 인공씨감자 형성율인식 방법을 적용한 결과 인식율은 생육기간에 상관없이 70% 이상 인식할 수 있다.
- 3) 인공씨감자의 생산공정을 자동화하기위한 인공씨감자 생육상태 모니터링 프로그램을 개발하였다.

7. 참고문헌

1. Rafael C. Gonzalez, Paul Wintz, Digital Image Processing, Addison Wesley, 1987
2. Robert M. Haralick, Linda G. Shapiro, Computer and Robot Vision, Addison Wesley, 1992
3. 홍원학, HVS기반 분할법에 의한 영상부호화 경북대학교 석사학위 논문, 1990
4. 정혁, 유장렬, 홍주봉, 페트리디쉬를 사용한 새로운 배양기법에 의한 무병, 우량 인공씨감자의 급속대량 생산방법, 대한민국 특허, 1992
5. P. C. Debergh, R. H. Zimmerman, Micropropagation Technology and Application, Kluwer Academic Publishers, 1991
6. J. D. Ivins, F. L. Milthorpe, The Growth of The Potato, London Butterworths
7. J. G. Hawkes, The Potato Evolution, Biodiversity and Genetic Resources, Belhaven Press, 1989
8. 서정해, 백영관, 도해 식물조직배양 입문, 전원문화사, 1986