

3차원 구조광 스캐너를 이용한 식물의 잎 면적 측정 방법

남경희 · 고은미 · 문새로미 · 김창기*

한국생명공학연구원 바이오평가센터

Measuring Leaf Areas with a Structured-Light 3D Scanner. Nam, Kyong-Hee, Eun Mi Ko, Saeromi Mun and Chang-Gi Kim* (Bio-Evaluation Center, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, Cheongju 363-883, Korea)

Abstract We have developed a non-destructive, touch-free method for estimating leaf areas with a structured-light three-dimensional (3D) scanner. When the surfaces of soybean leaves were analyzed with both the 3D scanner and a leaf area meter, the results were linearly related ($R^2=0.90$). The strong correlation ($R^2=0.98$) was calculated between shoot fresh weights and leaf areas when the scanner was employed during growth stages V1 to V4. We also found that leaf areas measured by the scanner could be used to detect changes in growth responses to abiotic stress. Whereas under control conditions the areas increased over time, salt and drought treatments were associated with reductions in those values after 14 d and 12 d, respectively. Based on our findings, we propose that a structured-light 3D scanner can be used to obtain reliable estimates of leaf area and plant biomass.

Key words: 3D scanner, non-destructive measurement, phenotype, plant growth

서 론

식물의 생장에 대한 정확한 모니터링은 가뭄, 염분, 중금속 등 환경 스트레스에 대한 식물의 생리생태적 반응의 연구에 필수적이다(Seidel *et al.*, 2011). 식물의 성장 반응에서 가장 중요한 척도로 여겨지는 생체량의 경우 비파괴적인 측정이 불가능하므로, 여러 시기에 걸쳐 식물 생장의 변화를 관찰하고자 한다면 실험 초기부터 처리 별로 다수의 반복을 두고, 각 측정 시기에 따라 일정한 수의 식물체를 수확한 뒤 생중량 또는 건중량을 측정하는 것이 일반적인 방법이다. 이러한 경우 다수의 식물체 재료가 필요하며, 이들의 재배를 위한 보다 넓은 공

간 역시 필요하게 된다. 또한 무엇보다 일단 식물체를 수확하여 생체량을 측정하게 되면 그 시료는 더 이상 종자 수확 등 다른 목적으로 이용할 수 없게 된다. 연구자들은 따라서 상대생장법(allometry)을 이용하여 식물체를 수확하지 않고도 측정이 가능한 형질(초장, 절간 길이, 잎 면적 등)을 선발하고 그 지표와 생체량과의 관계를 구한 뒤 생체량의 변화를 추정하는 방법을 택하기도 한다.

초본식물의 경우 잎 면적이 지상부의 생체량과 밀접한 관계를 갖고 있으므로, 잎 면적을 용이하게 측정할 수 있다면 생체량의 변화를 추정하기 쉽게 된다. 잎의 일부를 채취한 뒤 스캐너를 이용해 디지털 이미지를 확보하여 잎 면적을 측정하거나 식물체를 촬영한 뒤 그 사진을 이용하여 2차원적으로 잎 면적을 측정하는 방법에 대한 보고가 있었다(Patty *et al.*, 2010). 식물의 잎 면적, 뿌리 길이, 수관 및 가지의 구조 등을 3차원으로 측정하

Manuscript received 1 September 2014, revised 16 September 2014, revision accepted 16 September 2014
* Corresponding author: Tel: +82-43-240-6543, Fax: +82-43-240-6549, E-mail: cgkim@kribb.re.kr

는 방법은 최근에 다양하게 연구되어 왔다. 3차원 레이저 스캐닝을 이용하여 가문비나무 근계의 3차원 구조를 촬영하여 실측한 뿌리의 부피와 이미지를 통해 측정한 부피가 유사함을 밝힌 연구(Gärtner *et al.*, 2009; Wagner *et al.*, 2010), 가뭄 스트레스로 인해 호박 잎이 시들어가는 과정을 3차원 레이저 스캐닝을 이용하여 관찰한 연구(Cai *et al.*, 2013), 포도의 잎과 줄기 및 밑 이삭과 줄기 등 서로 다른 조직을 3차원 이미지 상에서 구분하는 연구(Paulus *et al.*, 2013) 등이 보고된 바 있다.

물체의 3차원 이미지를 구현하는 3차원 스캐너는 근래에는 주로 비접촉식으로 개발되고 있으며, 특히 광학식은 높은 정밀도와 빠른 데이터 프로세싱으로 우수한 기술로서 자리잡고 있다. 광학식은 레이저 방식과 구조광 방식으로 나눌 수 있는데, 레이저 방식은 외부의 광원에 영향을 받지 않으며 광택이 있는 표면에도 이용할 수 있는 반면 눈에 안전하지 않을 수 있는 레이저 광원을 이용하는 문제점이 있으며, 다양한 패턴을 수 차례 조사하는 구조광 방식은 보다 높은 정밀도를 가진 데이터를 빠르게 얻을 수 있으나 백색광원의 출력에 의존하기 때문에 실내환경에서는 문제가 없으나 광택이 있는 표면이나 야외 환경에서 사용하였을 때 데이터의 손실이 발생할 수 있다(Sansoni *et al.*, 2009). 광학식 스캐너(optical scanner)를 이용하는 연구는 이미 법의학(Buck *et al.*, 2007), 조각상 등 문화재(Rocchini *et al.*, 2001), 고고학 유물(McPherron *et al.*, 2009)의 3차원 형상 기록에 이용되어 왔다. 그러나 아직까지 국내외에서 3차원 구조광 스캐너를 이용한 식물체 연구는 보고된 바 없다.

본 연구에서는 3차원 구조광 스캐너를 이용하여 식물 잎을 스캐닝한 뒤 이미지 데이터를 이용하여 식물의 생체량을 추정하는 것이 타당한지를 살펴보고자 하였다. 그리고 가뭄 및 염분 스트레스를 가한 환경에서 재배한 식물체의 잎 면적을 측정함으로써, 식물의 생장 변화 측정에 적용해보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 3차원 구조광 스캐너를 이용한 스캐닝과 이미지 분석

본 연구에 사용된 3차원 구조광 스캐너는 3D Solutions사(Canada)의 FlexScan3D 스캐너이다(Fig. 1A). 광원은 할로겐 램프이고, 측정영역은 230 mm × 330 mm × 150 mm이며 측정방식은 위상 측정 형상 측정법이었다.

스캔 속도와 정확도는 각각 0.89 sec, 0.025~0.1 mm이며, 스캔 거리는 730 mm이다.

Calibration board를 이용하여 calibration을 하였으며(Fig. 1B), 식물체가 들어 있는 화분을 회전테이블 위에 올려놓고 테이블을 360° 회전하며 여러 각도에서 촬영을 실시하였다(Fig. 1C). 각 각도에서 확보된 이미지들은 스캐너와 연결된 컴퓨터 내의 소프트웨어(FlexScan3D V3.1, 3D3 Solutions, Canada)에 의해 이전에 촬영된 부분 이미지와 자동적으로 결합하여 스캔 파일들을 형성하였으며, 이 파일들은 alignment 과정(Fig. 1D)을 통해 하나의 입체적인 이미지로 완성되었다(Fig. 1E). 최종 이미지는 Geomagic Qualify 프로그램(Geomagic, USA)을 이용하여 보정하였다(Fig. 2A, B). 다른 잎에 가려지거나 그림자로 인해 잎의 형태가 온전하지 않은 부분은 mesh 편집 기능을 이용하여 모양을 최대한 보정하였으며, 보정작업이 끝난 이미지는 프로그램 상의 Analysis 메뉴를 이용하여 면적을 계산하였다(Fig. 2C).

2. 3차원 스캐너와 엽면적 측정기로 측정한 잎 면적의 비교

콩 품종 'Bert'를 실험 재료로 이용하였다. 콩 종자를 5% NaClO 혹은 베노람 수화제를 사용하여 소독한 후 원예용 상토가 채워진 트레이에 파종하고 한국생명공학연구원 유리온실에서 재배하였다. 발아 후 자엽과 본엽이 나온 식물체는 0.8 L 화분에 옮긴 후 관리하였다. 3차원 스캐너를 이용한 잎 면적과 엽면적 측정기를 이용한 잎 면적을 비교하기 위하여 콩의 생장단계 중 V1 단계(첫 삼출엽이 완전히 전개된 상태)에 있는 10주를 스캔하였으며, 스캐닝이 끝난 식물체는 잎 88장을 수확한 뒤 바로 엽면적 측정기(LI-3100 Leaf Area Meter, USA)를 이용하여 잎 면적을 구하였다. 또한 3차원 스캐너를 이용하여 측정한 잎 면적과 콩 지상부 생중량과의 관계를 비교하기 위하여 콩의 생장단계 V1~V4 단계까지 각 단계별로 식물체 10주를 촬영하여 잎 면적을 측정하였으며, 측정이 완료된 식물체는 지표에서 줄기를 절단하여 지상부 전체를 수확한 후 생중량을 측정하였다. V2 단계는 두 번째 삼출엽이 완전히 전개된 상태이며, V3과 V4 단계는 각각 세 번째와 네 번째 삼출엽이 완전히 전개된 상태를 의미한다.

3. 3차원 스캐너를 이용한 식물의 생장 반응 측정

염분 스트레스 실험을 위해 파종 2주 후 생장이 균일한 개체들을 골라 펠라이트가 채워진 1.3 L 화분에 이식

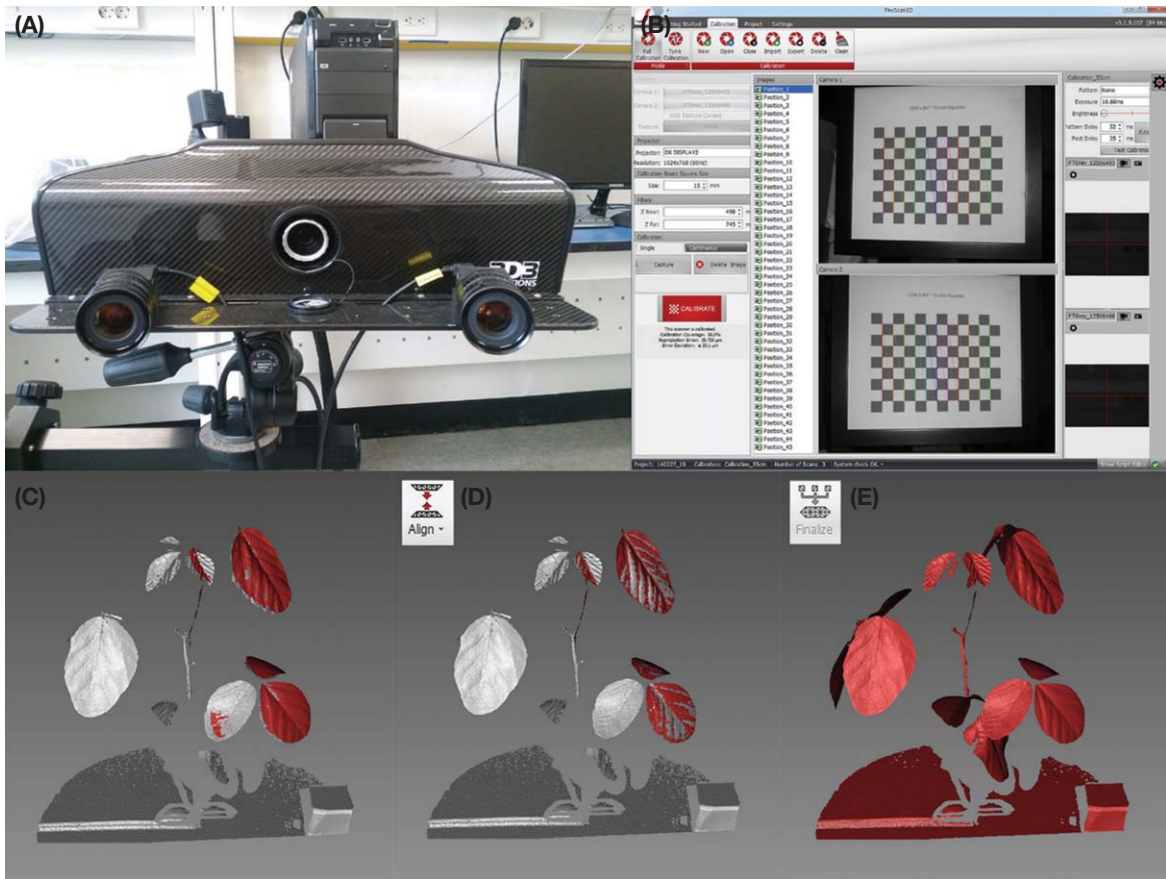


Fig. 1. 3D-scanning of leaves from soybean plants. (A) Structured-light scanner, (B) calibration, (C) data overlapped from first scanning (grey color) and second scanning (red color), (D) data alignment and combine process, and (E) final data.

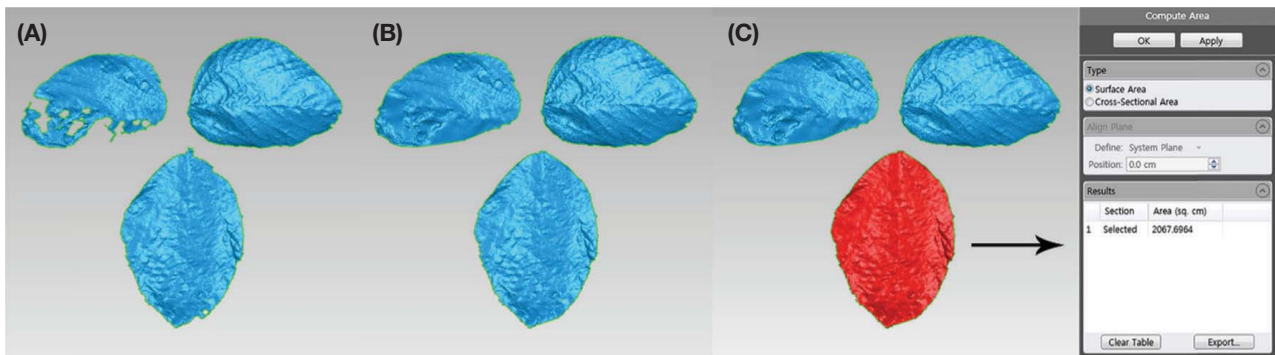


Fig. 2. Analysis of leaf areas. (A) Scanned data, (B) mesh-editing, and (C) computation of leaf areas.

한 다음 6주씩 대조구와 염처리구의 두 그룹으로 나누어 관리하였다. 염 처리는 식물체가 V1 단계에 도달하였을 때 시작하였으며, 대조구에는 매일 200 mL (약 90% pot capacity)의 Hoagland 용액 (pH 6.0~6.5)을 공급한 반면 염처리구에는 이 용액에 NaCl을 첨가하여 공급하

였다. NaCl은 처음 50 mM로 시작해서 일주일 간격으로 150 mM, 250 mM로 농도를 높여 주었다. 식물체의 스캐닝은 염분처리 후 0, 3, 7, 10, 14, 17일째에 실시하였다.

가뭄 스트레스 실험을 위해 파종 1주 후 생장이 균일한 개체들을 골라 1L의 화분에 이식한 다음 5주씩 대

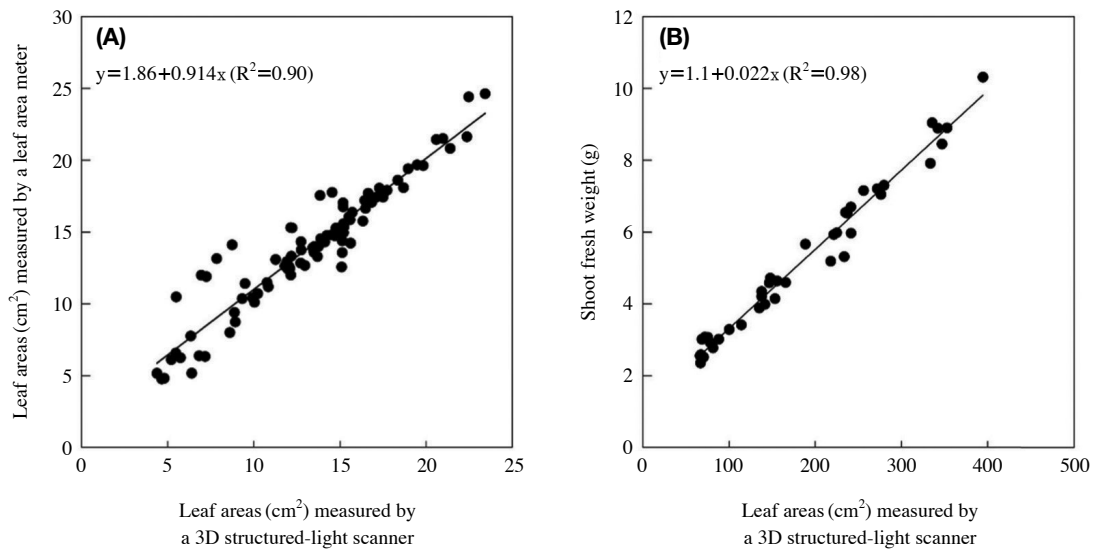


Fig. 3. (A) Relationship between leaf areas measured by structured-light 3D scanner and leaf area meter ($n=88$). (B) Relationship between scanned leaf areas and shoot fresh weights ($n=127$).

조구와 가뭄처리구로 나누어 관리하였다. 식물체를 이식하기 전 토양 포화시의 흙의 무게를 계산하여 적정관수량을 설정해 주어 대조구에는 매일 화분당 43 g의 물을 관수한 반면 가뭄처리구에는 물을 공급하지 않았다. 식물체의 스캐닝은 가뭄처리 후 5, 12, 19일째에 실시하였는데, 촬영 시 대조구의 토양수분함량은 80~100% (% volume)를 유지한 반면 가뭄처리구의 토양수분함량은 5, 12, 19일에 각각 약 60%, 20%, 10%로 낮아졌다.

결과 및 고찰

3차원 구조광 스캐너를 이용하여 측정된 V1 단계의 콩의 잎 면적 값은 잎을 수확한 후 엽면적 측정기를 이용하여 구한 잎 면적 값과 양의 상관관계를 보였으며, R^2 값이 0.90으로 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 3A). 이로써 스캐너를 이용하여 비파괴적, 비접촉적인 방법으로 잎 면적을 측정된 결과가 파괴적, 접촉적인 엽면적 측정기를 이용하여 측정된 결과와 유사함을 확인할 수 있었다. 콩의 V1~V4까지의 성장단계마다 3차원 스캔 이미지를 이용하여 측정된 잎 면적과 각 성장단계별로 스캐닝한 뒤 지상부를 수확한 후 측정된 생중량은 R^2 값이 0.98로 매우 높은 상관관계를 나타내었다(Fig. 3B). 따라서 3차원 스캐너로 측정된 잎 면적 결과로부터 식물체 지상부의 생체량 추정이 가능한 것으로 판단된다.

염분 혹은 가뭄과 같은 환경 스트레스를 받은 식물체

는 잎이 시들고 마침내 고사하게 된다(Bettina *et al.*, 2007). 본 연구에서는 환경 스트레스 하의 식물체의 잎 면적의 변화를 3차원 구조광 스캐너를 이용하여 비교하였다. 먼저 대조구와 염처리구에서 자란 콩 식물체의 시간에 따른 생장의 변화를 관찰하였는데 대조구의 식물체는 정상적인 성장 양상을 보였으나, 염처리구의 식물체는 염처리가 진행될수록 생장이 점차 둔화되고 잎이 마르면서 고사되어 갔다(Fig. 4).

촬영된 3차원 스캔 이미지를 이용하여 측정된 대조구와 염처리구 식물체의 잎 면적의 변화는 Fig. 5A와 같다. 대조구의 식물체 잎 면적은 시간이 경과할수록 증가한 반면, 염처리구의 식물체 잎 면적은 염처리 후 3일부터 14일까지는 완만한 증가를 보이다가 250 mM NaCl을 처리한 14일 이후에는 감소하였다. 이러한 결과는 염분 스트레스로 인한 식물체의 성장 감소를 직접적으로 보여주는 결과이다.

한편, 가뭄처리구에서는 처리 후 5일부터 12일까지 잎 면적이 완만하게 증가하였지만, 토양수분함량이 10% 이하로 떨어지는 12일 이후에는 잎 면적이 감소하였다(Fig. 5B). 반면 가뭄처리를 하지 않은 대조구의 경우 시간이 경과할수록 잎 면적이 증가하였으며, 특히 12일 이후부터 19일까지는 급격한 증가를 나타내었다. 이상과 같이 3차원 구조광 스캐너를 이용하여 염분 및 가뭄 스트레스를 받은 식물체의 잎 면적을 측정함으로써 환경 스트레스 하의 식물체에 대한 비파괴적인 성장 모니터링이 가능하였다. 이러한 생장의 변화 측정은 식물의 생리적

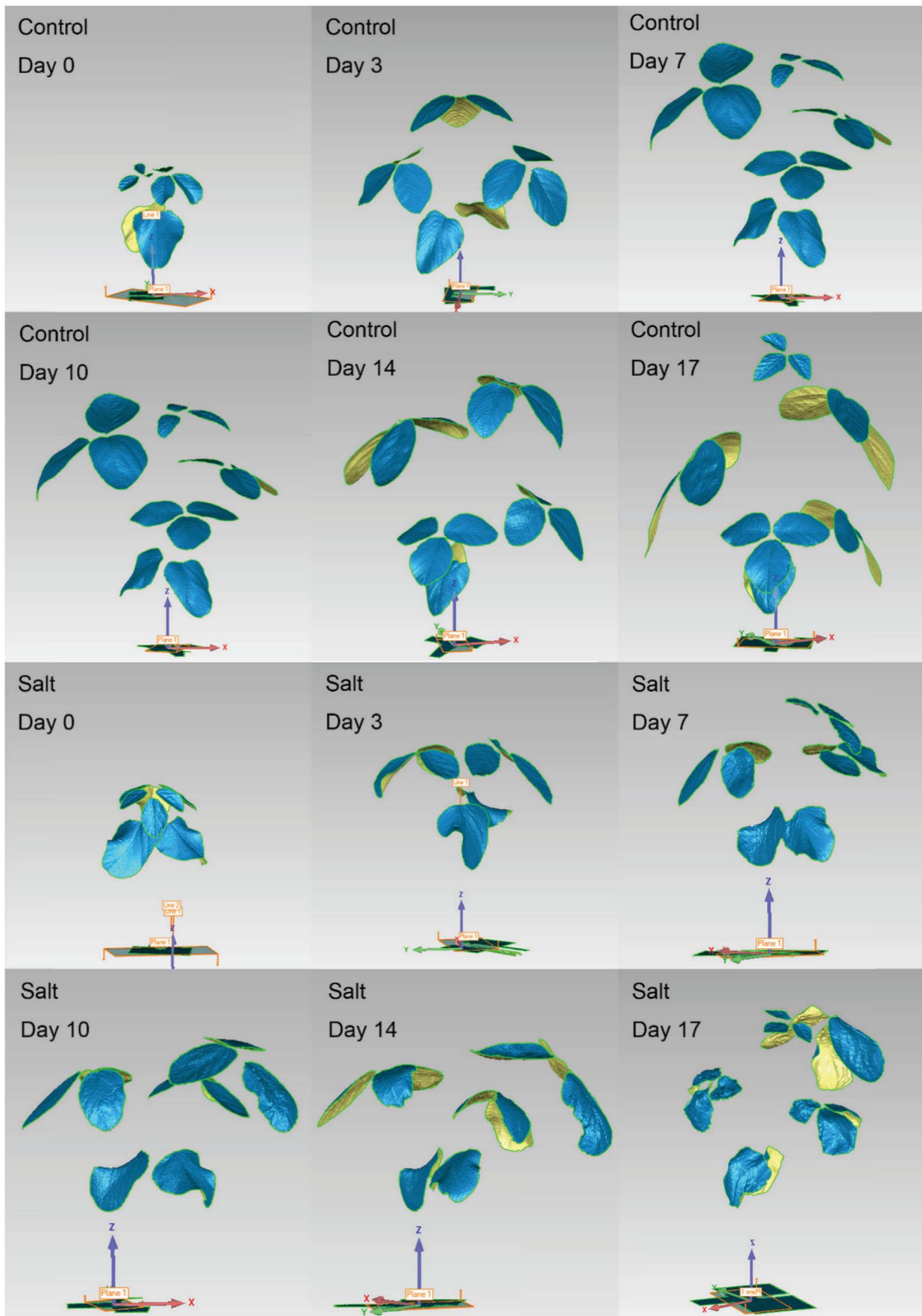


Fig. 4. Typical scans of soybean plant treated for 17 d with either 0 mM NaCl (control) or 250 mM NaCl (salt).

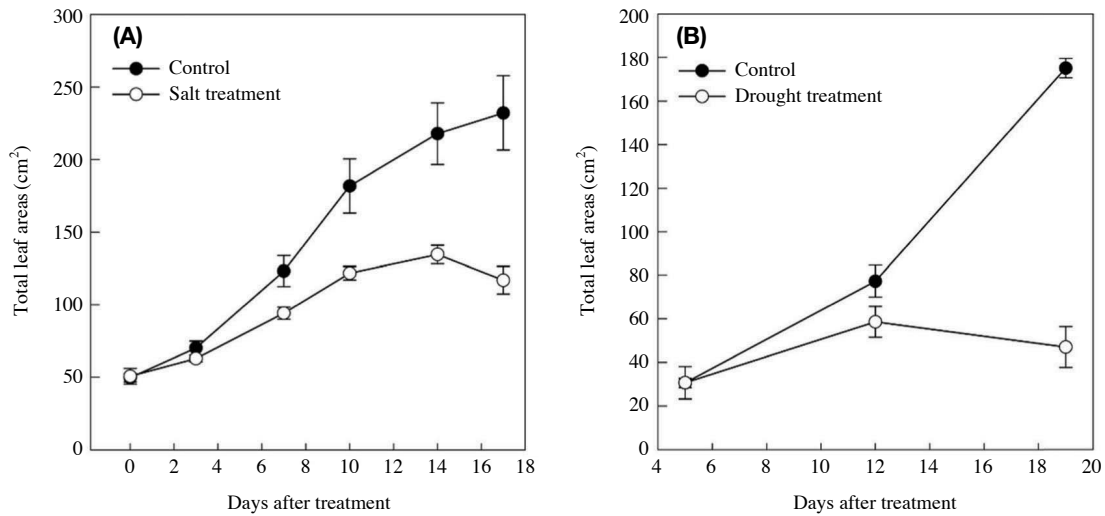


Fig. 5. Changes in total leaf areas from soybean under (A) salt and (B) drought treatments. Data are means ($n=6$) \pm standard errors.

반응을 연구하기 위해 주로 측정되었던 엽록소의 형광반응, 광합성능, 수분 포텐셜, 잎의 온도 (Grant *et al.*, 2007; Barker, 2008) 등의 지표와 함께 측정될 때 환경 스트레스에 의한 식물의 생리생태 연구에 추가적인 정보를 제공해 줄 수 있을 것이다.

본 연구에서는 3차원 구조광 스캐너를 이용하여 잎 면적만을 측정하였으나, 이외에도 식물체의 초장, 잎 길이, 절간 길이, 잎과 줄기 사이의 각도 등 다양한 표현형의 분석에 이용될 수 있으며, 기후변화 등으로 인한 식물체의 성장변화를 정확하게 파악하는 데 응용될 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

3차원 구조광 스캐너를 이용하여 비파괴적, 비접촉적으로 식물 잎 면적을 측정하는 방법을 고안하고자 하였다. 3차원 구조광 스캐너를 이용하여 측정한 콩의 잎 면적은 엽면적 측정기로 측정한 잎 면적과 높은 상관관계를 보였다. 또한 콩의 V1~V4까지의 각 성장단계마다 3차원 스캔 이미지를 이용하여 측정한 잎 면적은 지상부를 수확한 후 측정한 생중량 분석 결과와 매우 높은 상관관계 ($R^2=0.98$)를 나타내었다. 가뭄 및 염분 스트레스 환경에서 3차원 스캐너를 이용하여 시간에 따른 콩의 생장의 변화를 비교한 결과, 대조구의 식물체 잎 면적은 시간이 경과될수록 증가한 반면 가뭄 및 염분처리구의 식물체 잎 면적은 처리 12일과 14일 후 각각 감소하여 처리구 간 뚜렷한 차이를 나타내었다. 이러한 결과

를 통해 3차원 스캐너를 이용하여 다양한 환경에서 식물체의 잎 면적과 생체량을 효과적으로 추정할 수 있음을 확인하였다.

사 사

본 연구는 미래창조과학부 중견연구자 지원사업 (과제 번호: 20110028162)과 KRIBB 기관고유사업의 연구비 지원으로 수행되었습니다.

REFERENCES

- Barker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* **59**: 89-113.
- Bettina, M.J.E., T.T. Melvin and A.K. Thomas. 2007. Visual assessment of wilting as a measure of leaf water potential and seedling drought survival. *Journal of Tropical Ecology* **23**: 497-500.
- Buck, U., N. Albertini, S. Naether and M.J. Thali. 2007. 3D documentation of footwear impressions and tyre tracks in snow with high resolution optical surface scanning. *Forensic Science International* **171**: 157-164.
- Cai, X., Y. Sun, Y. Zhao, L. Damerow, P. Schulze Lammers, W. Sun, J. Lin, L. Zheng and Y. Tang. 2013. Smart detection of leaf wilting by 3D image processing and 2D Fourier transform. *Computers and Electronics in Agriculture* **90**: 68-75.
- Gärtner, H., B. Wagner, I. Heinrich and C. Denier. 2009. 3D-laser

- scanning: a new method to analyze coarse tree root systems. *Forest Snow and Landscape Research* **82**: 95-106.
- Grant, O.M., Ł. Tronina, H.G. Jones and M.M. Chaves. 2007. Exploring thermal imaging variables for the detection of stress responses in grapevine under different irrigation regimes. *Journal of Experimental Botany* **58**: 815-825.
- McPherron, S.P., T. Gernat and J.-J. Hublin. 2009. Structured light scanning for high-resolution documentation of in situ archaeological finds. *Journal of Archaeological Science* **36**: 19-24.
- Patty, L., S.R.P. Halloy, E. Hiltbrunner and C. Körner. 2010. Biomass allocation in herbaceous plants under grazing impact in the high semi-arid Andes. *Flora* **205**: 695-703.
- Paulus, S., J. Dupuis, A.-K. Mahlein and H. Kuhlmann. 2013. Surface feature based classification of plant organs from 3D laserscanned point clouds for plant phenotyping. *BMC Bioinformatics* **14**: 238.
- Rocchini, C., P. Cignoni, C. Montani, P. Pinci and R. Scopigno. 2001. A low cost 3D scanner based on structured light. *Computer Graphics Forum* **20**: 299-308.
- Sansoni, G., M. Trebeschi and F. Docchio. 2009. State-of-the-art and applications of 3D imaging sensors in industry, cultural heritage, medicine, and criminal investigation. *Sensors* **9**: 568-601.
- Seidel, D., F. Beyer, D. Hertel, S. Fleck and C. Leuschner. 2011. 3D-laser scanning: A non-destructive method for studying above-ground biomass and growth of juvenile trees. *Agricultural Forest Meteorology* **151**: 1305-1311.
- Wagner, B., H. Gärtner, H. Ingensand and S. Santini. 2010. Incorporating 2D tree-ring data in 3D laser scans of coarse-root systems. *Plant and Soil* **334**: 175-187.