

RESEARCH ARTICLE

# 파프리카 묘의 저온과 고온 스트레스 진단을 위한 초분광 영상 분석

장성혁<sup>1</sup>, 김용현<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>국립농업과학원 농업공학부

<sup>2</sup>전북대학교 바이오산업기계공학과

## Hyperpectral image analysis for low and high temperature stress diagnosing of paprika seedlings

Sung-Hyeok Jang<sup>1</sup>, Yong-Hyeon Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Agricultural Engineering, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju-gun, Republic of Korea

<sup>2</sup>Department of Bioindustrial Machinery Engineering, Jeonbuk National University, Jeonju, Republic of Korea

\*Corresponding Author: yhkim@jbnu.ac.kr

### Abstract

The objective of this study was to diagnose the temperature stress of paprika seedlings based on visible/near-infrared (VIS/NIR) hyperspectral image and chlorophyll content data. As the partial least squares (PLS) regression model was applied to the calibration data, seven significant wavelengths of 477, 501, 543, 647, 680, 704, and 751 nm were selected and in the stepwise multiple linear regression (SMLR) model, three wavelengths of 680, 704, and 803 nm were selected. The coefficients of determination of the PLS regression model and SMLR model for validation data were 0.70 and 0.59, respectively. The root mean square deviations of the PLS regression and SMLR model were 6.89 and 8.01, respectively. These results show the potential of VIS/NIR hyperspectral imaging technology with a proper model as a nondestructive method for detecting temperature stress of paprika seedlings.

**Keywords:** Chlorophyll content, Hyperspectral imaging, Paprika, Temperature stress, VIS/NIR

### Introduction

생물학적 또는 무생물학적 요인에 의해서 나타나는 작물 스트레스는 작물의 생장, 생리 및 수량 등에 영향을 미친다(Suzuki et al., 2014). 작물이 지속적으로 스트레스를 받게 되면 황화, 반점 등 여러 형태의 증상이 앞에 나타난다. 때문에 정상적인 생장을 유지하거나 생산성의 저하를 방지하려면 작물 스트레스의 조기 진단이 필요하다.



### OPEN ACCESS

DOI: <https://doi.org/10.12972/jame.20210006>

Received: December 25, 2021

Revised: December 27, 2021

Accepted: December 28, 2021

Copyright: © 2021 Journal of Agricultural Machinery Engineering



This is an Open Access article distributed under the terms of

the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

작물의 잎은 엽록소 또는 크산토펜과 같은 색소들에 의해서 가시광 영역의 복사에너지를 흡수하며, 근적외광 영역의 복사에너지를 반사시킨다. 때문에 작물이 스트레스를 받게 되면 광합성에 유효한 복사에너지를 흡수가 줄어들면서 가시광 영역의 반사율은 증가하나, 근적외광 영역의 반사율은 줄어든다(Katsoulas et al., 2016).

이제까지 묘 생산자들은 작물의 온도 스트레스를 경험에 기초하여 진단하였으나, 빠르고 정확한 진단을 목적으로 균락 온도(Wang and Gartung, 2010), 균락의 투영면적(Kacira et al., 2002), 열영상(Sepulcre-Canto et al., 2006) 등의 여러 가지 방법이 적용되고 있다. 최근 들어 픽셀별 분광 정보를 지니고 있는 초분광영상이 작물의 수분스트레스 진단(Jang et al., 2018a; Kim et al., 2011; Mo et al., 2015), 엽록소함량 예측(Jang et al., 2018b), 병충해 진단(Lee et al., 2016; Lee et al., 2019) 등을 포함한 농업 생산에 활용되고 있다. 초분광영상에 데이터 처리 기술이 적용될 경우 작물의 성장 특성은 물론 스트레스 형태에 따른 작물의 변형, 특정한 화합물의 축적, 구조 변화 등의 진단이 가능할 것으로 기대된다.

파프리카, 오이, 토마토 등의 과채류 육묘는 온실 내에서 이루어진다. 일반적으로 육묘 기간에 온도, 광, 수분 등의 환경 요소가 적정 수준으로 관리되기 때문에 작물이 과도한 저온 또는 고온에 노출되기가 쉽지 않다. 그럼에도 불구하고 이상 기후로 인한 급격한 온도 저하 또는 고온에 따른 시설재배 작물의 피해가 늘어나고 있는 바 이를 최소화하기 위한 노력이 필요하다.

본 연구의 목적은 기온 처리에 따른 파프리카 묘의 초분광영상과 엽록소함량에 기초하여 온도 스트레스 진단에 필요한 유효 파장을 선택하고, 통계적 모델을 이용하여 온도 스트레스의 진단 가능성을 제시하는 데 있다.

## Materials and Methods

### 공시 품종

본 실험에 사용된 공시 품종은 파프리카(*Capsicum annuum* L.) ‘Sirocco’ (Enza Zaden, The Netherlands)이었다. 플라스틱 온실 내에서 45일간 육묘된 파프리카 육묘를 상토가 충전된 40공의 플러그트레이에 이식하였다. 이식된 파프리카 묘는 광주기 16/8 h, 광합성유효광양자속  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 상대습도 70%로 조절되는 폐쇄형 묘생산 시스템내에서 성장되었다. 기온 처리에 따른 파프리카 묘의 초분광영상을 획득하고자 명기와 암기로 구분하여 각각 10/5°C(저온), 25/20°C(대조구), 35/30°C(고온)의 3수준을 설정하여 처리하였다. 이 때 광원으로 적색 및 청색 LED를 7:3의 비율로 사용하였고, 2일 간격으로 저면관수를 실시하였다.

### 초분광영상 측정 및 데이터 전처리

본 연구에서는 가시광 및 근적외선(visible/near-infrared, VIS/NIR) 영역에서 파프리카 묘의 초분광 영상을 획득하였다. VIS/NIR 시스템은 영상 획득부, 시료 이송부 및 광원부로 구성되었다. 영상 획득부는 영상분광기(VNIR, Headwall photonics, USA)와 electron multiplying charge-coupled device(EMCCD) camera(Luca DL-604M, Andor Technology, USA)로 구성되었으며, 시료 이송부는 스텝모터(Vexta PK264, Oriental Motor, Japan)와 모터제어기(VXM-1, Velmex, USA)로 구성되었다. 광원부는 2개의 150W 할로겐램프(93638EKE, Osram, Germany), 광섬유(DC950, Dolan-Jenner Industries, USA) 및 라인광케이블(QF5548, Dolan-Jenner Industries, USA)로 구성되었다. 가이드에 의해서 조사 각도가 조절되는 할로겐램프로부터 조사된 빛은 반사광의 불균일성을 최소화하고자 45°의 각도를 유지하였다. VIS/NIR 시스템은 Visual Basic 6.0을 이용하여 제어하였으며, 렌즈의 노출시간을 설정하면 카메라에서 자동으로 스텝모터의 이동거리와 속도가 계산된다. 렌즈에 투사된 영상은 25 $\mu\text{m}$  두께의 슬릿을 통과하면서 라인스캔되고 분광기에 의하여 각 파장별 분광이 이루어진다. 분광된 정보는 EMCCD 카메라

에 의해 증폭되어 영상으로 저장된다. 본 연구에서는 영상 촬영 시 노출시간을 5.0 ms로 설정하였고 스텝모터의 이동 간격은 0.64 mm로서 총 20 cm를 이동하면서 초분광영상을 획득하였다.

파프리카 묘에 대한 기온 처리 0일째부터 18일째까지 매일 15주(5주 × 3처리)에 대한 VIS/NIR영상을 측정하였다. 이 때 반사율이 99%인 백색 기준판(SRT-99100, Labsphere, USA)을 사용하였다. 측정된 영상의 범위는 378.1-1,002.2 nm로서 4.7 nm 간격으로 133개의 밴드가 사용되었다. 이 가운데 VIS/NIR 영역의 경계에서는 각 센서로부터의 출력이 낮기 때문에 분석 단계에서 제외하였다. 때문에 분석된 VIS/NIR 영상 범위는 400-950nm이다.

본 연구에서는 flat field correction (FFC)을 적용한 분광 데이터에 Savitzky-Golay 필터를 이용한 평활화를 적용하여 전처리를 실시하였으며, 전처리 작업에 MATLAB (2019b, MathWorks, USA)을 사용하였다. 전처리가 이루어진 초분광 영상의 배경으로부터 파프리카 잎을 분리하고자 흑백 이진영상을 만들었다. 다음으로 이진영상에 침식 마스크를 적용하여 잎의 관심영역을 추출하였다.

SPAD 값으로 표시되는 파프리카 잎의 엽록소함량을 측정하고자 휴대용 엽록소계(SPAD-502, Minolta Co., Japan)를 사용하였다. 제1본엽 표면 선단의 좌측, 우측 및 중앙의 3부위에서 엽록소함량을 측정하였고, 측정된 SPAD의 평균값을 통계적 모델 개발 및 검증에 사용하였다.

### 통계적 모델 개발 및 검증

전처리 작업이 이루어진 분광 데이터에서 파프리카 묘의 엽록소함량을 기준으로 온도 스트레스에 영향을 미치는 유효 파장을 결정하고자 단계적 다중회귀(stepwise multiple linear regression, SMLR)와 부분최소제곱(partial least square, PLS) 회귀 모델을 적용하였다. 모델 개발에 사용된 270개의 데이터를 교정용(calibration) 202개, 검증용(validation) 68개로 구분한 후 통계소프트웨어 SAS(V9.4, SAS Institute Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. SMLR 분석에서는 통계적 유의수준에 기초하여 엽록소함량을 설명하는 데 필요한 분광반사율의 해당 파장이 선택된다. PLS회귀 분석에서는 각 독립변수의 영향을 표시하는 계수  $\beta$ 가 결정된다. 이때  $\beta$  값의 절대값이 클수록 해당 파장이 PLS회귀 모델에 큰 영향력을 미친다(Min and Lee, 2005). PLS 분석에서 적절한 인자의 개수를 결정하고자 교차검증 과정에서의 예측오차제곱합(predicted residual error sum of squares, PRESS)이 최소값을 갖는 모형을 적용하였다. PRESS는 실측치와 PLS 회귀식의 예측치 사이의 잔차를 제곱하여 합한 것으로서, PRESS 값이 작을수록 모델의 예측 능력이 우수하다. 궁극적으로 SMLR과 PLS 분석 결과에서 공통적으로 포함되는 파장을 온도스트레스 진단에 필요한 유효 파장으로 선택하였다.

68개의 validation 데이터를 사용하여 개발된 모델을 검증하였으며, 모델의 적합도를 평가하고자 변수의 선형적인 적합성을 나타내는 결정계수(coefficient of determination,  $R^2$ )를 사용하였다. 또한 개발된 모델의 표준오차를 비교하고자 standard error of calibration (SEC), standard error of validation (SEV) 및 root mean square difference (RMSD)을 계산하였다. 이를 식으로 표현하면 다음과 같다.

$$SEC = \sqrt{\frac{1}{n-p-1} \sum_{i=1}^n e_i^2} \quad (1)$$

$$SEV = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})^2} \quad (2)$$

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n e_i^2} \quad (3)$$

여기서, n: 시료의 개수, p: 독립변수의 수,  $e_i$ : 예측값과 측정값의 차,  $\bar{e}$ :  $e_i$ 의 평균이다.

## Results and Discussion

### 파프리카 묘의 엽록소함량

휴대용 엽록소계로 측정된 25/20°C(대조구)의 엽록소함량은 온도 처리 기간에 따른 변화가 거의 없었다. 한편 10/5°C(저온)과 35/30°C(고온) 처리구에서는 처리 후 6-8일째 전후로 엽록소함량이 줄어들었으며, 그 후에는 저온 처리구에서 감소 현상이 조금 더 크게 나타났다(Fig. 1). 온도 처리 일수가 경과하면서 저온 또는 고온 처리구의 잎에 황화 현상이 나타나기 시작하였고, 이러한 현상은 저온 처리구에서 분명하게 나타났다(Fig. 2).

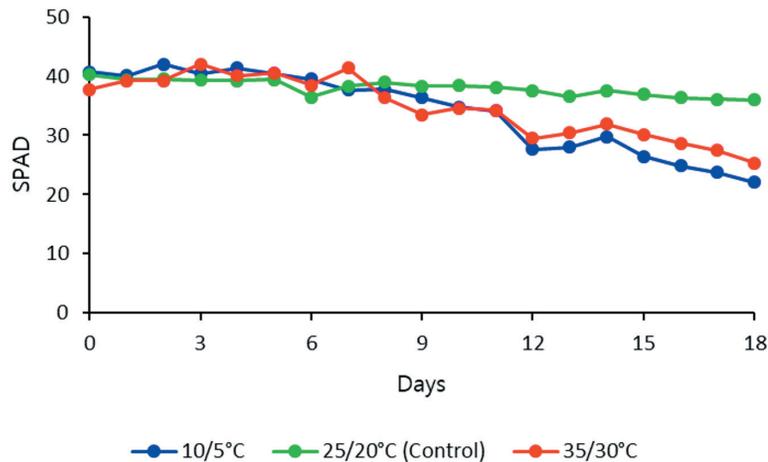


Fig. 1. Variation of SPAD values in paprika leaves for 18 days after temperature treatment.

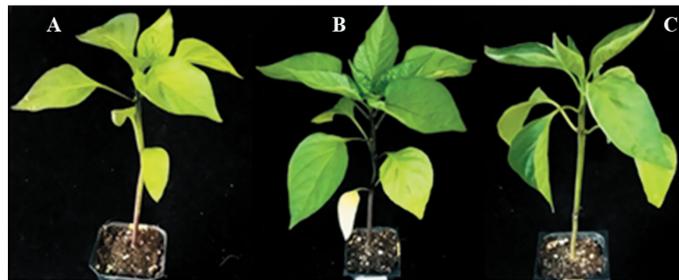
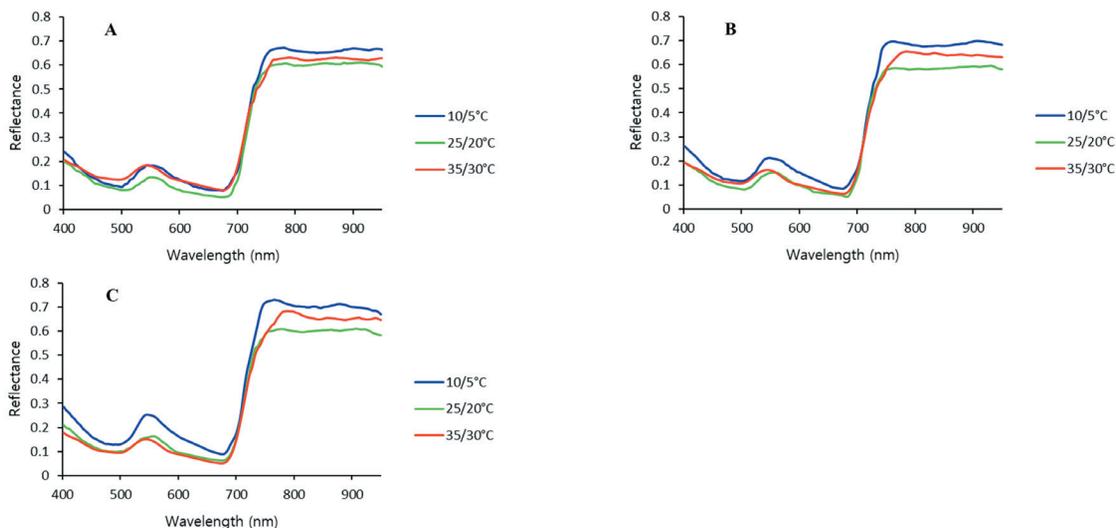


Fig. 2. Leaf color of paprika seedlings grown for 18 days after temperature treatment. (A) 10/5°C, (B) 25/20°C, (C) 35/30°C

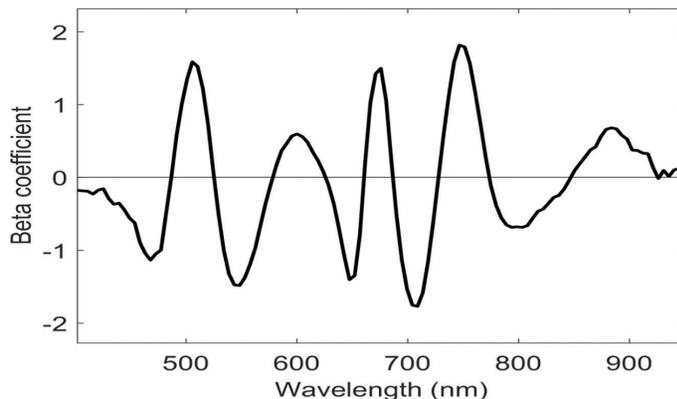
### 파프리카 묘의 초분광 특성

400-950 nm의 VIS/NIR 영역에서 파프리카 묘 제1본엽의 분광반사율은 녹색 식물의 분광반사 특성과 유사하다. 즉 400-700 nm의 가시광 영역에서는 파장에 따른 반사율의 차이가 있었으나 대부분 0.2 이하로 낮게 나타났다(Fig. 3). 한편, 680-730 nm의 red edge에서는 반사율이 급격하게 상승하였고, 730-950 nm의 근적외광 영역에서는 0.6-0.7 정도를 유지하였다. 저온 처리구에서의 반사율은 대조구에 비해서 높게 나타났으며 이러한 결과는 온도 처리 경과 일수가 증가할수록 가시광 및 근적외광 영역에서 분명하게 나타났다. 가시광 영역에서 고온 처리구의 반사 특성은 대조구와 비교할 때 큰 차이가 없었으나, 근적외광 영역에서는 대조구에 비해서 높게 나타났다.

교정용 데이터에 Savitzky-Golay 필터를 이용하여 전처리를 실시한 후 SMLR을 분석한 결과 680, 704, 803 nm의 유효 파장이 선택되었다. 다음으로 전처리가 이루어진 데이터에 PLS 회귀 모델을 적용하여 계수  $\beta$ 를 결정하였다(Fig. 4)



**Fig. 3.** Spectral reflectance of the first true leaf of paprika seedlings according to different temperature treatment and number of days. (A) 6 days, (B) 12 days, (C) 18 days



**Fig. 4.**  $\beta$ -coefficients determined from calibration dataset using partial least square analysis

온도스트레스 진단에 유효한 파장을 선택하고자 본 연구에서는 계수  $\beta$ 의 절대값이 1.0 이상의 기준을 적용하였다. 그 결과 477, 501, 543, 647, 680, 704, 751 nm의 7개 파장이 선택되었다. 본 연구에서 적용된 SMLR과 PLS 회귀 모델 분석에서 680 nm와 704 nm가 공통적인 유효 파장으로 나타났다.

이제까지 분광데이터로부터 식생의 건강 상태를 표시하거나 농작물의 수량을 추정하기 위한 지수로서 정규식생지수 (normalized difference vegetation index, NDVI), 엽록소지수(chlorophyll vegetation index, CVI)를 기본 형태로 사용하고 이를 변형한 여러 종류의 지수가 사용되고 있다(Gitelson et al., 2003; Jiang et al., 2006). NDVI는 적색광 영역과 근적색광 영역에서의 반사율을 이용한 값으로서 일반적으로 680 nm와 800 nm에서의 반사율이 지수 계산에 사용되며(Wang et al., 2016), 작물의 종류에 따라 680 nm 대신에 640 nm 또는 670 nm가 사용되기도 한다(Katsoulas et al., 2016). 작물의 엽록소합량과 525-630 nm, 640-660 nm, 705 nm, 730 nm, 930 nm에서의 반사율 사이에 높은 상관관계가 존재한다(Vigneau et al., 2011). 때문에 CVI를 결정할 때에는 550 nm, 670 nm, 700 nm 및 760 nm에서의 반사율이 사용된다(Quemada et al., 2014; Vincini et al., 2008). 한편 본

연구에 사용된 휴대용 엽록소계는 650 nm와 940 nm에서의 흡수도를 측정하여 엽록소함량을 결정한다(Ling et al., 2011). 따라서 작물의 종류 또는 잎의 구조에 따라 엽록소함량의 예측에 사용되는 유효 파장은 다를 수 있다.

### 통계적 모델 검증

VIS/NIR 영역에서 선택된 유효 파장을 독립변수로 설정하여 엽록소함량을 예측한 결과는 Table 1과 같다. 3개의 파장이 독립변수로 선택된 SMLR 모델의 교정용과 검정용 데이터에 대한 결정계수는 각각 0.71, 0.59로 나타났고, SEC와 SEP는 각각 6.98, 8.03이었다. 한편 7개의 파장이 사용된 PLS 회귀 모델의 교정용과 검정용 데이터에 대한 결정계수는 각각 0.84, 0.70 이었고, SEC와 SEP는 각각 5.71, 6.79 로 나타났고. 그러므로 엽록소함량에 기초하여 온도 스트레스를 진단하고자 시도된 본 연구에서 PLS 회귀 모델을 적용한 경우에 개선된 결과가 나타났다. 이밖에 SMLR 모델의 RMSD는 교정용과 검정용에 대하여 각각 6.76, 8.01로 나타났으며, PLS 회귀 모델의 RMSD는 각각 4.94, 6.89이었다.

파프리카 묘의 초분광영상과 엽록소함량에 기초하여 온도 스트레스를 진단하고자 시도된 본 연구에서 통계적 모델을 이용하여 파프리카 묘의 엽록소함량 예측에 필요한 유효 파장이 선택되었다. SMLR 모델을 적용한 경우 680, 704, 803 nm의 유효 파장이 선택되었고, PLS 회귀 모델에서는 477, 501, 543, 647, 680, 704, 751 nm의 7개 파장이 선택되었다. 이러한 유효 파장을 이용하여 엽록소함량을 예측한 결과 PLS 회귀 모델에서의 결정계수가 SMLR 모델에 비해서 높게 나타났고, 예측 오차가 작게 나타났다. 상기의 결과를 종합하면 파프리카 묘의 초분광영상과 엽록소함량에 기초하여 온도 스트레스 진단이 가능할 것이다. 또한 PLS 회귀 모델을 이용한 엽록소함량의 예측이 파프리카묘의 온도 스트레스 진단에 효과적일 것으로 판단된다.

### Conclusion

본 연구에서는 파프리카 묘의 온도스트레스를 진단하고자 VIS/NIR 영역의 초분광영상과 엽록소함량 데이터에 기초하여 통계적 모델에 따른 유효 파장을 선택하였다. 교정용 데이터에 PLS 회귀 모델을 적용한 결과 477, 501, 543, 647, 680, 704, 751 nm의 유효 파장이 선택되었고, SMLR 모델에서는 680, 704, 803 nm의 3개 파장이 선택되었다. 검정용 데이터에 대한 PLS 회귀 모델과 PLS 모델의 결정계수는 각각 0.70, 0.59로 나타났다. 또한 PLS 회귀 모델과 PLS 모델의 RMSD는 각각 6.89, 8.01로 나타났다. 따라서, VIS/NIR 영역에서 파프리카 묘의 초분광영상과 엽록소함량에 기초하여 온도스트레스 진단이 가능할 것이다. 또한 통계적 모델 중에서 PLS 회귀 모델이 파프리카묘의 온도스트레스 진단에 효과적일 것이다.

**Table 1.** Results of statistical models for predicting chlorophyll content of paprika seedlings.

Model	Selected	R <sup>2</sup>		SEC	SEV	RMSD	
		Calibration	Validation			Calibration	Validation
SMLR <sup>x</sup>	3	0.71	0.59	6.98	8.03	6.76	8.01
PLS <sup>y</sup>	7	0.84	0.70	5.71	6.79	4.94	6.89

<sup>x</sup>stepwise multiple linear regression

<sup>y</sup>partial least squares

## References

- Gitelson AA, Gritz Y, Merzlyak MN. 2003. Relationships between leaf chlorophyll content and spectral reflectance and algorithms for non-destructive chlorophyll assessment in higher plant leaves. *Journal of Plant Physiology* 160:271-282. doi:10.1078/0176-1617-00887
- Jang SH, Hwang YK, Lee HJ, Lee JS, Lee WS, Kim YH. 2018a. Shortwave infrared hyperspectral imaging can predict moisture content in grafted cucumber seedlings. *Horticultural Science and Technology* 36:831-840. doi:10.12972/kjhst
- Jang SH, Hwang YK, Lee HJ, Lee JS, Kim YH. 2018b. Selecting significant wavelengths to predict chlorophyll content of grafted cucumber seedlings using hyperspectral images. *Korean Journal of Remote Sensing* 34:681-692. doi:10.7780/kjrs.2018.34.4.10
- Jiang Z, Huete AR, Chen J, Chen Y, Li J, Yan G, Zhang X. 2006. Analysis of NDVI and scaled difference vegetation index retrievals of vegetation fraction. *Remote Sensing of Environment* 101:366-378. doi:10.1016/j.rse.2006.01.003
- Kacira M, Ling PP, Short TH. 2002. Machine vision extracted plant movement for early detection of plant water stress. *Transactions of the ASAE* 45:1147-1153. doi:10.13031/2013.9923
- Katsoulas N, Elvanidi A, Ferentinos KP, Kacira M, Bartzanas T, Kittas C. 2016. Crop reflectance monitoring as a tool for water stress detection in greenhouses: A review. *Biosystems Engineering* 151:374-398. doi:10.1016/j.biosystemseng.2016.10.003
- Kim Y, Glenn DM, Park J, Ngugi HK, Lehman BL. 2011. Effects of high temperature stress and traits associated with tolerance in wheat. *Computers and Electronics in Agriculture* 77:155-160. doi:10.15406/oajs.2018.02.00067
- Lee HJ, Jang DH, Lee YH, Kim YH. 2019. Near-infrared hyperspectral imaging for detection of Bacterial Fruit Blotch in watermelon seedlings. *Horticultural Science and Technology* 37:719-732. doi:10.7235/HORT.20190072
- Lee HS, Kim MS, Lim HS, Park ES, Lee WH, Cho BK. 2016. Detection of cucumber green mottle mosaic virus-infected watermelon seeds using a near-infrared (NIR) hyperspectral imaging system: Application to seeds of the "Sambok Honey" cultivar. *Biosystems Engineering* 148:138-147. doi:10.1016/j.biosystemseng.2016.05.014
- Ling Q, Huang W, Jarvis P. 2011. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research* 107:209-14. doi:10.1007/s11120-010-9606-0
- Min M, Lee WS. 2005. Determination of significant wavelengths and prediction of nitrogen content for citrus. *Transactions of the ASAE* 48:455-461. doi: 10.13031/2013.18308
- Mo CY, Kim MS, Kim GY, Cheong EJ, Yang JY, Lim, JG. 2015. Detecting drought stress in soybean plants using hyperspectral fluorescence imaging. *Korean Journal of Biosystems Engineering* 40:335-344. doi:10.5307/JBE.2015.40.4.335
- Quemada M, Gabriel JL, Zarco-Tejada P. 2014. Airborne hyperspectral images and ground-level optical sensors as assessment tools for maize nitrogen fertilization. *Remote Sensing* 6:2940-2962. doi:10.3390/rs6042940
- Sepulcre-Canto G, Zarco-Tejada PJ, Jimenez-Munoz JC, Sobrino JA, de Miguel E, Villalobos FJ. 2006. Detection of water stress in an olive orchard with thermal remote sensing imagery. *Agricultural and Forest Meteorology* 136:31-44. doi:10.1016/j.agrformet.2006.01.008

- Suzuki N, Rivero RM, Shulaev V, Blumwald E, Mittler R. 2014. Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist* 203:32–43. doi: 10.1111/nph.12797
- Vigneau N, Ecartot M, Rabatel G, Roumet P. 2011. Potential of field hyperspectral imaging as a non-destructive method to assess leaf nitrogen content in wheat. *Field Crops Research* 122:25–31. doi:10.1016/j.fcr.2011.02.003
- Vincini M, Frazzi E, D'Alessio P. 2008. A broad-band leaf chlorophyll vegetation index at the canopy scale. *Precision Agriculture* 9:303–319. doi:10.1007/s11119-008-9075-z
- Wang D, Gartung J. 2010. Infrared canopy temperature of early-ripening peach trees under postharvest deficit irrigation. *Agricultural Water Management* 97:1787–1794. doi:10.1016/j.agwat.2010.06.014
- Wang R, Cherkauer K, Bowling L. 2016. Corn response to climate stress detected with satellite-based NDVI time series. *Remote Sensing* 8:269-290. doi:10.3390/rs8040269