

Research Article



CrossMark

Open Access

비파괴적 RGB 이미지 분석을 활용한 들잔디 ‘제니스’에서의 답압으로 인한 마모 스트레스 정량적 분석

정재경^{1,2}, 정은설^{1,3}, 진언주¹, 윤준혁¹, 전권석¹, 김진중¹, 배은지^{1*}

¹국립산림과학원 산림바이오소재연구소, ²충남대학교 생명과학과, ³경상국립대학교 응용생명과학부

Quantitative Evaluation of Wear Stress Due to Traffic in *Zoysia japonica* cv. ‘Zenith’ Using Non-Destructive RGB Imagery Analysis

Jae Gyeong Jung^{1,2}, Eun Seol Jeong^{1,3}, Eon Ju Jin¹, Jun Hyuck Yoon¹, Kwon Seok Jeon¹, Jin Joong Kim¹ and Eun Ji Bae^{1*}
(¹Forest Biomaterials Research Center, National Institute of Forest Science, Jinju 52817, Korea, ²Department of Biological Science, Chungnam National University, Daejeon, 34134, Korea, ³Department of Horticulture, Division of Applied Life Science (BK21 Four), Graduate School, Gyeongsang National University, Jinju, 52828, Korea)

Received: 7 June 2023/ Revised: 15 June 2023/ Accepted: 22 June 2023

Copyright © 2023 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Jae Gyeong Jung
<https://orcid.org/0009-0005-8244-7141>

Eun Seol Jeong
<https://orcid.org/0000-0003-4644-8102>

Eon Ju Jin
<https://orcid.org/0000-0001-6544-8787>

Jun Hyuck Yoon
<https://orcid.org/0000-0003-4467-777X>

Kwon Seok Jeon
<https://orcid.org/0000-0001-9313-4611>

Jin Joong Kim
<https://orcid.org/0009-0008-4125-7175>

Eun Ji Bae
<https://orcid.org/0000-0003-4597-8873>

Abstract

The RGB (red, green, and blue) imagery analysis is an important remote sensing tool, which estimates the effect of environmental stress on turfgrass growth and physiology. Therefore, this study investigated the effect of continuous wear stress treatment on *Zoysia japonica* through RGB imagery analysis. The results of the growth measurement showed that the plant height substantially decreased, after nine hours of treatment with no considerable difference thereafter. Dry weight measurement showed a substantial difference in the morpho-

logical growth characteristics of the aerial part of the turfgrass, but none in the stolon and root zone. This could be attributed to the short period of compaction treatment. The ROS (reactive oxygen species) analysis showed that ROS rapidly increased due to wear stress treatment. The MDA content increased during the traffic process, whereas the green pixels increased and decreased repeatedly; however, overall, the trend declined but the overall trend decreased. Thus, this study confirmed that MDA was effective in reflecting the wear stress of turfgrass; however, it could through RGB image analysis.

* Corresponding author: Eun Ji Bae
Phone: +82-55-760-5032; Fax: +82-55-759-8432;
E-mail: gosorock@korea.kr

Key words: MDA(malondialdehyde), RGB(red, green, and blue) image, Traffic stress, Wear stress, *Zoysia japonica*

서론

잔디 품질 평가에는 다양한 방법이 존재한다. 해외에서 잔디 품질 평가에는 NTEP (National Turfgrass Evaluation Procedure) 평가 기준을 주로 이용하고 있고, 한국에서도 잔디를 평가하기 위한 수단으로 연구자나 현장 전문가가 주관적으로 시각적 평가(visual ratings)하는 NTEP를 도입해 사용하고 있다[1-3]. 하지만 NTEP 평가는 평가자의 경험이나 훈련 정도에 따라 결과가 달라지고, 여러 잔디를 동시에 평가하는데 한계가 있어 객관적인 평가가 수행되기 힘들다.

지질과산화물(malondialdehyde, MDA)는 식물에서 저온, 양액 온도, 중금속 독성 등의 스트레스에서 생체 내 스트레스 정도를 나타내는 대표적인 지표물질이다[4-6]. Bae et al. [7]은 잔디의 품질과 내마모성 등을 객관적으로 평가하기 위한 도구로 MDA 분석을 이용할 수 있다고 보고하였다. 하지만 MDA 분석은 정확한 시료 채취와 정밀한 고가의 분석 기기가 필요하며 많은 시간과 인력의 투입이 요구된다.

최근 비파괴적이며 신속한 원격 진단 기술이 빠르게 발전함에 따라 다양한 연구가 수행되어지고 있다[8]. RGB (red, green, and blue) 이미지 촬영은 고가의 사진 촬영 장비 없이 스마트폰으로도 촬영이 가능하고, 복잡하고 전문적인 기술이 요구되지 않는다. 또한 NTEP 평가에 비해 RGB 이미지를 활용한 평가 방법은 녹색 픽셀(green pixel) 수치를 통해 작물의 형태적 특성을 보다 객관적으로 진단할 수 있고 재현성이 높으며, 비파괴적으로 잔디의 생육특성을 평가할 수 있는 장점을 지니고 있다[9]. 농업에 화상 기반 기술이 적용, 활용된 예는 최근 급증하고 있으며, 대표적인 예로는 드론 이미지를 통한 바이오매스 추정, RGB 카메라를 통한 바이오매스 추정과 밀 피복 밀도 추정 등이 있다[10-12]. 이처럼 저렴하고 간편하게 작물의 형질을 수집하고 평가할 수 있는 이미지 분석이 최근 각광받고 있다. 머신러닝 및 빅데이터 기술이 농업 연구에 차지하는 중요도가 더욱 커지고 있어 농업에 이를 적용하기 위한 기초적인 표현형 형질 수집 및 분석 기술 연구가 필요하며, 잔디에서 이러한 형태적 특성에 관한 이미지 분석 기법에 관한 연구가 부족한 실정이다.

골프장에 식재된 잔디는 이용객에 의한 답압과 스트레스에도 많은 예산을 투입하여 집중적인 잔디관리와 병해충 방제를 통해 우수한 잔디품질을 유지하고 있다[13]. 반면 학교 운동장 잔디는 골프장과 달리 운동장 면적 대비 학생 수가 많아 답압(traffic)으로 인한 마모 스트레스(wear stress)가 높고 관리 예산과 관리 인력이 많지 않아 잡초 제거, 병해충 관리 등 잔디 품질 관리가 잘 이루어지지 않는다[14,15]. 따라서 학교 운동장에서 적은 예산과 최소한의 관리로 잔디를 효과적으로 조성하고 유지하기 위해서는 생물적 혹은 비생물적 스트레스를 받은 잔디의 형태적 특성을 쉽고 빠르게 진단하여 이에 대한 관리와 조치가 필요하다.

한국잔디(*Zoysiagrass*) 중 들잔디(*Zoysia japonica* Steud.)는 축구장, 놀이터, 공원 등에서 인기 있는 난지형 잔디 중 하나이며, 한지형 잔디에 비해 녹화기간이 짧지만 비생물적 스트레스에 강해 온·난대 지역에서 재배면적이 늘어나고 있다

[16,17]. 본 연구는 내환경성이 우수하여 운동장에 사용하기에 적합하다 여겨지는 들잔디 '제니스'의 답압에 의한 마모 스트레스를 기존의 형태적, 생리적 분석과 더불어 RGB 이미지 분석을 통한 잔디 생육 특성을 보다 정량적이며 객관적으로 평가하기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

잔디 식재 및 관리

본 연구는 경상남도 사천시 곤명면 조매동길 75 (35°6'14.54'N, 127°58'13.45'E)에 위치한 국립산림과학원 산림바이오소재연구소 잔디유전자원보존원에서 수행되었다. 들잔디 '제니스'를 2022년 05월 10일에 9 cm × 9 cm 화분에 마사토를 채운 뒤 75개체를 식재하였다. 생육 촉진을 위해 잔디는 온실에서 재배하였으며, Hoagland 시액(Hoagland's No.2 Basal Salt Mixture, Kansas, USA) 1.63을 1의 증류수에 용해하여 수용액을 제조한 후 이식 스트레스를 받는 생육 초기인 2022년 6월 20일에 50 mL, 안정적 생육기인 7월 1일, 8일에 25 mL씩 관주하였다.

답압 처리 기간의 온실 환경 조건은 온도 최저 25.68°C, 최고 36.10°C, 평균 30.97°C, 상대습도 55-70%였다.

마모 스트레스 처리

무게 40 kg, 직경 21.6 cm, 길이 110 cm, 원형 돌기 507개가 부착된 알루미늄 소재 마모용 답압 기계를 제작하고, 일정한 힘으로 구동할 수 있도록 모터를 부착해서 정해진 구획을 왕복할 수 있게 누르는 압력과 함께 마모 기기를 이용하여 마모 스트레스를 처리하였다. 마모 스트레스는 7월 13일부터 28일까지 하루 3시간, 시간당 2,400 J의 운동에너지를 가하였다. 16일간 누적된 마모 스트레스는 총 48시간으로, 운동에너지는 총 115,200 J을 마모 수준으로 처리하였다.

상대 수분 함량 분석

마모 스트레스로 인한 잔디 잎의 수분 함량에 미치는 영향을 평가하고자 잔디 경엽 중 상대 수분 함량(relative water content, RWC)을 측정하였다. 먼저 마모 스트레스 처리 직후 잔디 잎 2~3장을 채취하여 현장에서 무게(W_1)를 측정하였다. 이후 증류수에 담가 하루 이상 냉장 보관한 뒤 다시 꺼내 잔디 잎 표면의 물을 제거하고 무게(W_2)를 재측정하였으며 건조기(DS-80-5, Dasol Scientific Co. Ltd., Korea)을 이용하여 65°C에서 72시간 이상 완전 건조 후 실온에서 최종 무게(W_3)를 측정하였다. 잔디의 RWC는 다음 공식으로 계산되었다.

$$RWC(\%) = \frac{(W_1 - W_3)}{(W_2 - W_3)}$$

MDA 분석

답압으로 인한 마모 스트레스를 정량화하기 위해 MDA 분석을 실시하였다. MDA 함량 분석은 Health and Pacher [18]가 제시한 방법에 준하여, 마모 스트레스 처리 직후 0.1 g을 측정하고, 20% 트리클로로아세트산(Trichloroacetic acid,

TCA) 2.5 mL에 침지시켰다. 침지된 샘플은 분쇄기(Schwingmühle Tissue Lyser, Retsch, Haan, Germany)를 통해 완전히 균질화시킨 후 원심분리기(Centrifuge 5810R, Eppendorf, Hamburg, Germany)에 넣어 3,000 rpm, 10분 동안 가동하였다. 원심분리 후 균질화된 식물체 잔사를 제외하고 2 mL의 TCA 용액을 추출하였다. 해리된 MDA 측정을 위해 추출된 용액에 2 mL의 티어바르비톨산(Thiobarbituric acid, TBA)를 첨가한 뒤 80°C 항온 수조에서 15분간 가열하여 반응을 유도하였다. 반응된 MDA-TBA 용액을 분광광도계(Multiskan Skyhigh, Thermo Fisher scientific, Massachusetts Waltham, USA)를 통해 450 nm (A450), 532 nm (A532), 600 nm (A600)의 흡광도를 측정하였다. 각 파장 흡광도를 기반으로 아래 공식을 통해 MDA 함량을 추정하였다 [19].

$$MDA \text{ (nmol/g)} = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$$

RGB 분석

답압에 의한 마모 스트레스 누적에 따른 식물 지상부 형태 형성 요인을 기존의 주관적인 NTEP 평가보다 더 객관적인 수치로 비교 분석하고자 하여 RGB 이미지를 이용하였다. 나무상자를 제작하여 광원과 카메라 촬영 높이를 고정하여 이미지 분석에 외부 요인이 미치는 영향을 최소화하였다. 나무상자는 40 cm (W) × 50 cm (D) × 60 cm (H) 크기로 제작되었으며 광원은 42개의 LED (light emitting diode)가 내장된 21 W 주광색(6,500 K) 조명 2개를 사용하였다. 각 이미지는 마모 스트레스 직후 촬영되었으며, RGB 이미지는 잔디의 녹색 잎이 프로그램에 쉽게 인식되도록 Photoshop 프로그램(Adobe systems Inc., San Jose, CA, USA)에서 원본 이미지를 색반전한 후, 색조, 채도, 밝기를 일괄적으로 변환한 뒤 Python 프로그램(Version 3.8, Python software Foundation, Beaverton, OR, USA)으로 녹색 픽셀수를 분석하였다.

마모 스트레스 이후 잔디가 회복되는 정도를 알아보기 위해 마모 스트레스 실험이 끝난 잔디의 지상부를 실험 종료 후 4주차까지 매주 동일한 방법으로 촬영하였다.

잔디 생육 분석

답압에 의한 마모 스트레스 누적에 따른 잔디 지상부 생육을 비교하기 위해 잔디 초장(plant height)과 건물중(dry weight)을 측정하였다. 또한 마모 스트레스 누적에 따른 잔디 지하부에 미치는 영향을 알아보기 위해 WinRhizo (Regent Instruments Inc., Quebec, Canada) 프로그램을 활용하여 총 뿌리길이(total length of root), 뿌리 표면적(root surface area), 평균 근경(average of root diameter), 근장 밀도(root length density, RLD)와 뿌리 부피(root volume)를 확인하였다.

초장은 지면으로부터 가장 높게 자란 잎의 높이까지 측정하였고, 건물중은 처리가 종료된 후 건조기를 이용하여 65°C에서 72시간 이상 완전 건조 후 실온에서 조사하였다.

상기 모든 형태적 생육 특성 조사는 5반복(n=5)조사하였다.

ROS 분석

답압으로 인한 마모 스트레스 반응에 대한 신호 분자와 이에 대한 시각적 평가 지표 간의 유사성을 확인하고자 답압 처리가 끝난 직후 잔디 지상부를 채취하여 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 확인하였다. ROS 함량을 평가하기 위해 50 µg의 ROS 형광 시약(CM-H₂DCFDA, ThermoFisher scientific, Oregon, US)에 866 µL의 100% 에탄올을 첨가하여 약 0.1 mmol의 농도로 사용하였다. 잔디 잎은 약 2 cm로 잘라 ROS 형광 시약에 담가 암조건에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 잔디 잎을 슬라이드 글라스에 올려 형광현미경(Leica DMi8, Leica Microsystems, Germany)으로 3반복하여 이미지를 저장하였다. 저장된 이미지는 ImageJ 프로그램(Version 1.53a, US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 통해 각 잎당 5개의 관심 영역(region of interest, ROI)을 지정하여 형광의 정도를 측정하였다.

통계분석

통계분석은 SAS 프로그램(SAS 9.4, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA)을 이용하여 분산분석(Analysis of variance, ANOVA)을 하였고, ROS, 건물중, 지하부 생육은 t-test를 실시하였으며, 평균 간 비교는 Tukey' HSD를 통해 5% 유의수준에서 각 처리 간 유의성을 검증하였다. 각 요인 별 상관분석은 Pырthon 프로그램을 이용해 분석하였다.

결과 및 고찰

마모 처리에 따른 잔디 생육 변화

잔디 초장은 무처리에서 7.3 cm에서 답압 처리 누적 9시간에 4.7 cm로 35.6% 감소하여 유의한 차이를 보였고, 이후 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 1). 답압 처리로 잔디의 잎몸과 엽초가 끊어지거나 타공되는 등 물리적 손상을 입기는 하지만 잔디의 생장 습성이 수평방향으로 낮게 자라므로 단기간의 답압처리로는 회복 밀도는 낮아질 수 있으나 초장에 미치는 영향은 적었다.

잔디의 각 부위별 건물중을 확인하였을 때, 잎의 건물중은 무처리 0.962 g에서 마모 스트레스 누적 48시간에 0.633 g으로 34.2% 감소하여 유의한 차이를 보였다. 포복경의 건물중은 0.787 g에서 0.871 g으로 증가하였으며, 뿌리의 건물중은 0.439 g에서 0.357 g으로 감소하였지만 포복경과 뿌리에서는 마모 처리 간 유의한 차이가 없었다(Fig. 2).

잔디의 RWC는 무처리에서 99%였으며, 마모 스트레스가 누적될수록 감소하였지만, 본 연구에서는 마모 스트레스와 RWC 간의 유의성을 확인하기 힘들었다(Fig. 3). 본 연구의 RWC의 결과는 식물종, 토양 및 환경조건의 누적 효과에 영향을 받지만, 수분 스트레스나 마모 스트레스의 원인을 규명하는 지표로는 확인할 수 없었다.

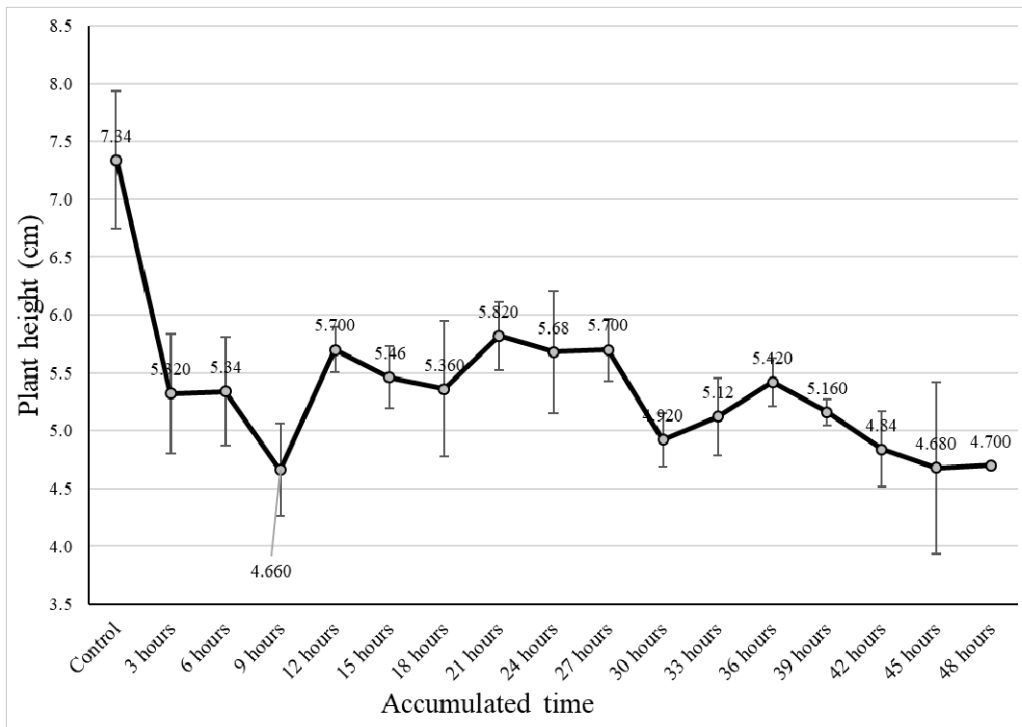


Fig. 1. Effect of wear stress on the plant heights of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Error bars indicates standard deviation.

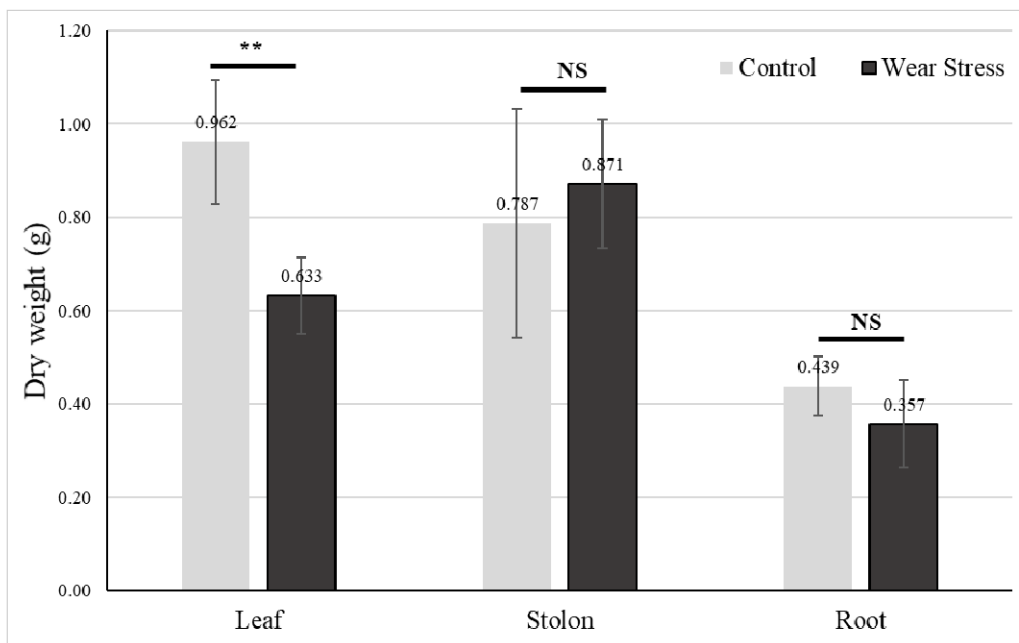


Fig. 2. Effect of wear stress on the dry weight of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Vertical bars are means \pm S.E. (n=5). NS, **: Non-significant or significant at $p \leq 0.01$, respectively.

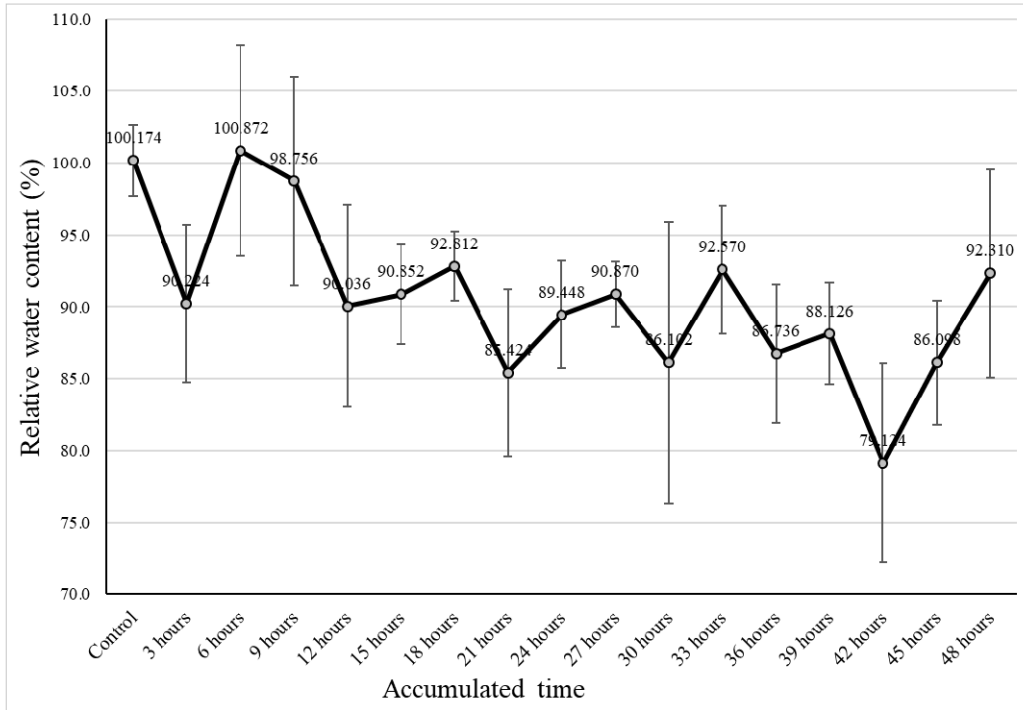


Fig. 3. Effect of wear stress on the relative water content (RWC) of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Error bars indicates standard deviation.

WinRhizo를 통해 마모 처리 전후 뿌리 발달 상태를 확인했을 때, 총 뿌리길이, 뿌리 표면적, 평균 근경, 뿌리 부피가 감소하였으나 유의한 차이가 없었고, 근장밀도는 무처리에 비해 답압 처리에서 유의하게 감소하였다(Table 1).

답압 시간이 길어질수록 잔디 품질과 밀도가 떨어지는 반면 뿌리 길이는 큰 변화가 없었다는 보고[16]를 통해 답압으로 인한 마모 스트레스가 지하부보다 지상부에 미치는 영향이 더 크다는 것을 알 수 있었다. Dest and Ebdon[17]은 마모와 답압 스트레스 모두가 뿌리의 바이오매스에는 큰 영향을 주지 못하지만 마모 스트레스가 잔디의 발근 능력을 크게 감소시킨다고 보고하였으며 Seo et al.[20]는 답압이 잔디의 엽록소 형광과 함량, 엽수와 뿌리 건물중을 감소시킨다고 보고하였다. 본 연구에서는 답압 처리의 기간이 짧아서 지상부의 형태적 생육특성 저하가 지하부의 생육저하 여부는 확인할 수 없었다. 답압으로 인한 마모 스트레스는 단기적으로 지

상부에 물리적 손상을 입혀 광합성 효율 및 바이오매스 축적에 부정적인 영향을 미치고, 장기적으로 뿌리 발달 및 뿌리 바이오매스 감소를 통해 잔디의 회복력을 떨어뜨릴 것이라고 판단되었다.

마모 처리에 따른 잔디 생리적 변화

마모 스트레스의 정량적 평가를 위해 마모 스트레스 누적 시간 별 MDA 변화와 형광 분석을 통해 활성산소를 확인하였다. MDA는 무처리에서 0.126 nmol/g 이었으나, 누적 9시간에 0.240 nmol/g으로 약 2배 증가하였으며 이후 42시간까지 완만하게 증가하다 48시간에 0.739 nmol/g로 가장 높은 것을 알 수 있었다(Fig. 4).

형광현미경으로 관찰된 ROS 수치는 무처리에서 0.456 A.U. (arbitrary unit)이었으나 마모 스트레스 실험이 종료된 48시간에서 20.802 A.U.로 약 45.6배 높은 형광을 나타냈

Table 1. Effect of wear stress provided 2,400 J kinetic energy for 3 hours everyday on root morphological characteristics of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' measured at 16 days after treatment

Treatment	Total length of root (cm)	Root surface area (cm ²)	Average of root diameter (mm)	Root length per volume (cm/m ³)	Root volume (cm ³)
Control	2,275.27±323.0 ^z	185.73±29.3	0.57±0.1	4,235.89±1,005.2	1.21±0.2
Wear stress	1,820.75±726.4	143.20±55.0	0.40±0.1	1,820.75±726.4	0.90±0.3
T-test ^y	NS	NS	NS	**	NS

^z Mean ± Standard error.

^y NS and ** represent not significant, and a significance at the 0.01 probability by T-test..

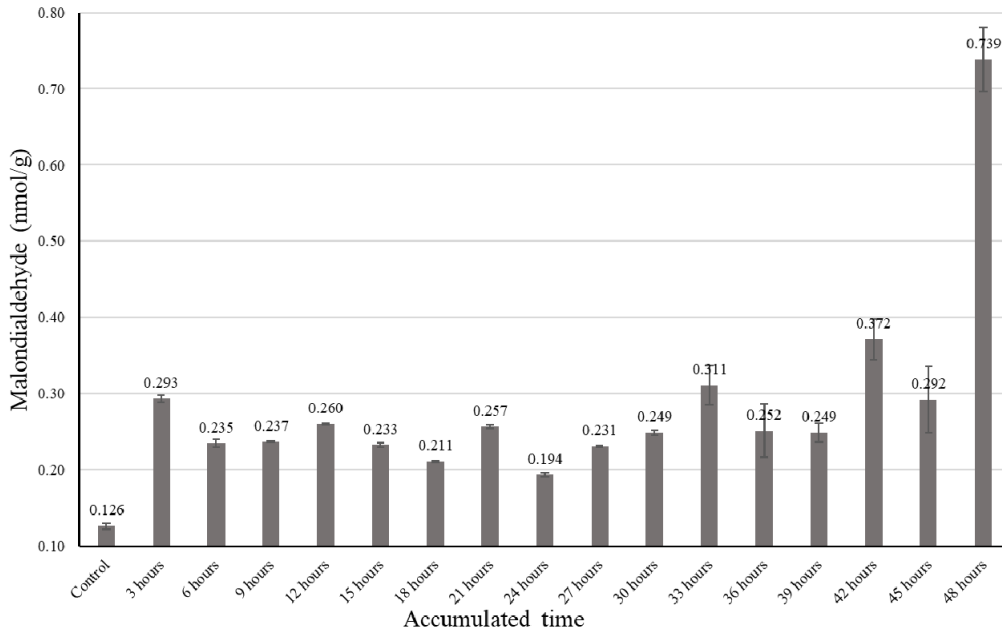


Fig. 4. Effect of wear stress on malondialdehyde (MDA) of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Vertical bars are means \pm S.E. (n=3).

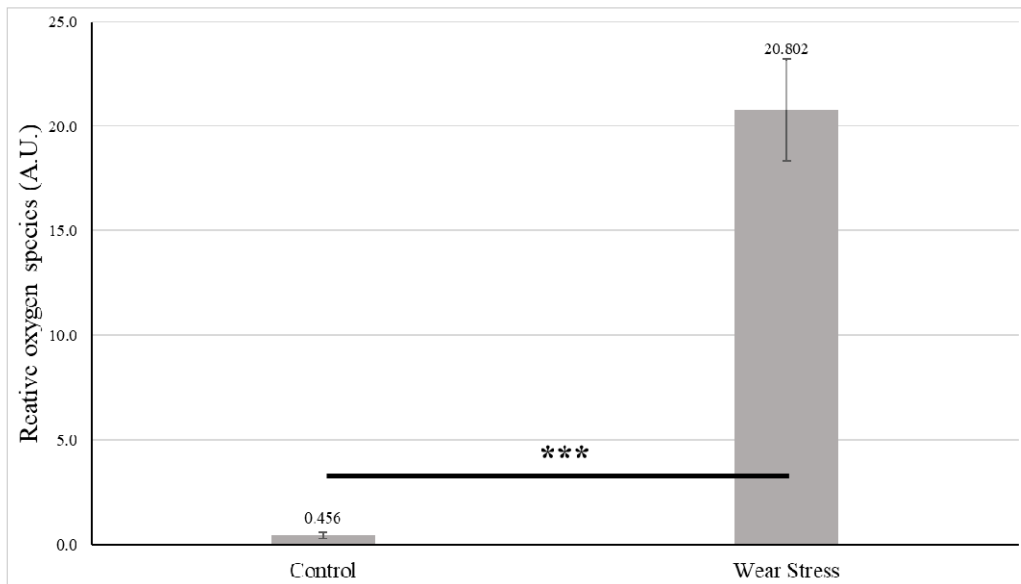


Fig. 5. Effect of wear stress on reactive oxygen species (ROS) stain values of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Vertical bars are means \pm S.E. (n=10). *** : Significant at $p \leq 0.001$.

다(Fig. 5).

답압에 의해 잔디 밀도와 품질이 떨어지고, 전해질 유출 (electrolyte leakage, EL)과 MDA, 초과산화물 불균등화효소(superoxide dismutase, SOD) 활성이 증가하였다는 보고하였으며[21], Han et al.[22]은 잔디에서 답압은 잔디 앞에 상처를 입혀 EL이 증가하고 활성산소 제거 능력이 떨어진

고 보고하였다. 이를 통해 잔디에서 마모 스트레스는 지상, 지하부 발달을 저해시키는 것뿐만 아니라 잎에 손상을 유도하여 쉽게 병이 감염될 수 있게 하고, 잔디의 품질을 떨어뜨리는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구에서 마모 스트레스 이후 ROS 형광과 MDA 함량이 증가한 것은 단순한 활성산소의 증가뿐만 아니라 잔디가 상대적으로 병에 취약해지고, 품질이 떨어진

것을 의미한다.

마모 처리에 따른 잔디 RGB 변화

마모 스트레스 평가를 위한 수단으로 RGB 이미지 분석을 실시하였다. 무처리에서는 평균 128,797 px이었으나 답압 누적 9시간에서 82,918 px로 크게 감소하였다. 이후 답압 누적

21시간부터 42시간까지 약 50,000 px을 유지하였으며 답압 누적 48시간에서 17,863 px로 무처리 대비 86.13% 감소하였다(Fig. 6).

다양한 품종에서 답압으로 인한 마모 스트레스로 인해 잔디의 품질과 밀도가 감소했다는 보고와[23] 한지형 잔디에서 답압으로 잔디의 품질, 색, 밀도가 감소했다는 보고가 있고

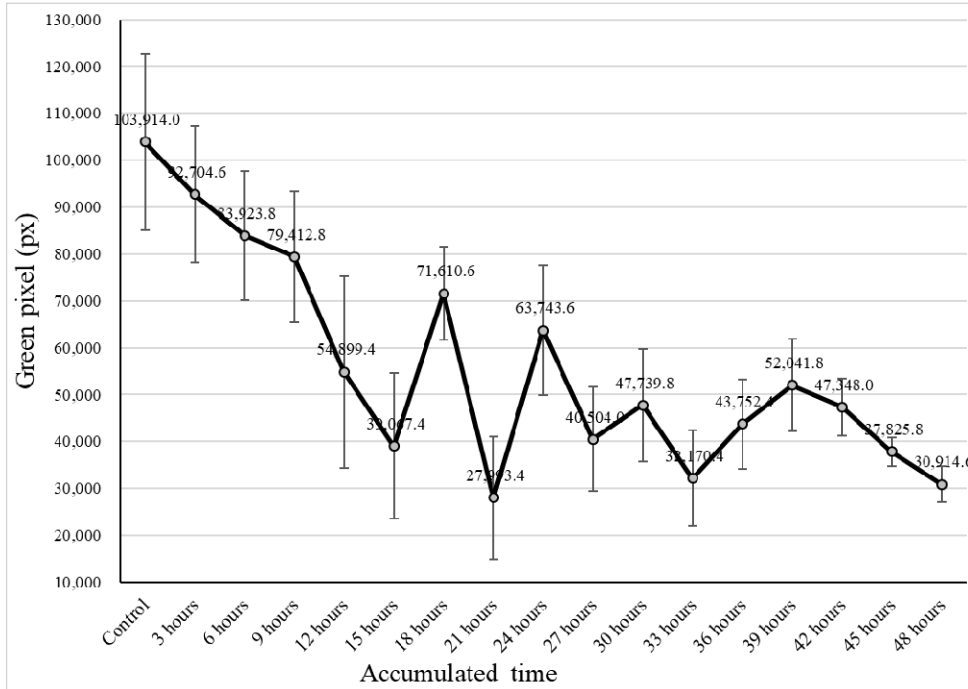


Fig. 6. Effect of wear stress on green pixels of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Treatments were as follows; control (no traffic treatment), traffic treatment (The compaction kinetic energy was 2,400 J, and it provide for 3 hours everyday during 16 days.). Error bars indicates standard deviation.

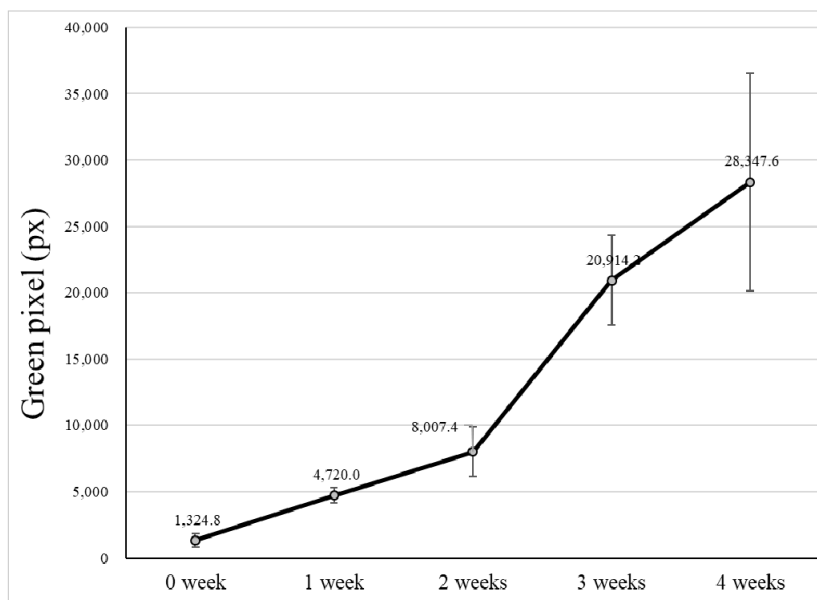


Fig. 7. Green pixels measured weekly for 4 weeks to check the growth recovery level of *Zoysia japonica* cv. 'Zenith' after traffic treatment. Vertical bars are means ± S.E. (n=5).

[24], 본 연구에서도 답압으로 인한 마모 스트레스로 인해 잔디의 피복 밀도가 줄어든 것을 녹색 픽셀값으로 직관적으로 알 수 있었다. 따라서, 잔디 평가에 RGB 이미지 분석이 도입되면 신속하고 NTEF 평가에 비해 객관적인 평가가 가능하다.

마모 처리 직후 잔디는 1,324.8 px이었으며, 처리 이후 2주차까지 8,007.4 px로 회복이 더뎠다. 마모 스트레스 처리 이후 3주차에 20,914.2 px, 4주차에 28,347.6 px로 2주차에서 3주차로 넘어갈 때 잔디의 회복이 빨라지는 것을 알 수 있었다(Fig. 7).

마모 스트레스와 상관분석

마모 스트레스 누적 시간과 잔디 각 인자별 상관성을 알아보기 위해 상관분석을 실시하였다. 답압에 따른 잔디의 마모 스트레스에 대한 상관성을 조사한 결과, MDA는 잔디 마모 스트레스와 정의 상관관계($r^2=0.9131^{***}$, $p<0.001$)를 나타냈고, 녹색 픽셀은 부의 상관관계를 나타냈다. 이를 통해 MDA와 녹색 픽셀은 잔디의 마모 스트레스 정도를 측정하는데 우수한 지수로 평가되었다. 이 중에서도 RGB 분석은 MDA 분석보다 간편하고 누구나 수행할 수 있는 장점을 지니고 있어 마모 스트레스 진단에 유용한 지표가 되었다.

RWC는 잔디 마모 스트레스와 부의 상관성($r^2=-0.4714^*$, $p<0.05$)을 나타내어 답압에 따라 수분이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 답압에 의해 잔디 경엽 조직이 마모되어 수분의 손실이 일어나는 것으로 생각된다[20](Fig. 8).

잔디 마모 스트레스와 부의 상관성을 나타내는 RWC와

녹색 픽셀 간의 상관관계 조사 시 정의 상관성($r^2=0.6280^{***}$, $p<0.001$)을 나타냈다. 이는 잔디에 답압 시 경엽의 손실로 수분 손실과 엽록소 파괴가 함께 일어나기 때문으로 판단되며[20], 추후 연구에서 RWC와 녹색 픽셀 및 엽록소 함량 간의 관계를 확인할 필요가 있었다.

난지형 잔디는 내병성, 내충성, 내한성, 내서성, 내마모성 등 생물적, 비생물적으로 인한 스트레스에 대하여 내성이 강하며 관리가 용이하다는 장점이 있는 반면 동시에 성장 속도가 늦으며, 상해 후 더딘 회복 속도, 봄철 그린업(green up) 지연과 같은 단점을 가지고 있다[25].

본 연구는 집중적이며 단기간의 답압으로 인한 마모 스트레스 처리가 난지형 잔디인 들잔디의 생육 및 생리에 미치는 영향을 알아보고 알아보고자 수행되었으며, 들잔디 ‘제니스’ 품종(*Zoysia japonica* cv. ‘Zenith’)으로 형태적, 생리적 측정과 이미지 분석을 진행하였다. 답압으로 인한 마모 스트레스로 인해 지상부는 크게 영향 받은 것에 비해 지하부에 미치는 영향은 확인되지 않았다. 정상적인 환경 조건 하에서 식물체는 세포의 대사과정에서 수산화기(hydroxyl radical, -OH), 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂) 및 초과산화물 음이온기(superoxide anion radical, O₂⁻) 등과 같은 ROS를 생성하게 되고, 생성된 ROS는 세포기관들의 효소적 혹은 비효소적 항산화체계에 의해 제거되면서 세포 내의 항산화 방어체제와 ROS 간의 균형을 유지한다[26]. 그러나 여러 가지 환경적 요인이 식물체에 스트레스로 작용하여 ROS가 과다 축적되고, 세포 내부의 항산화 방어체제의 균형이 깨지게 되

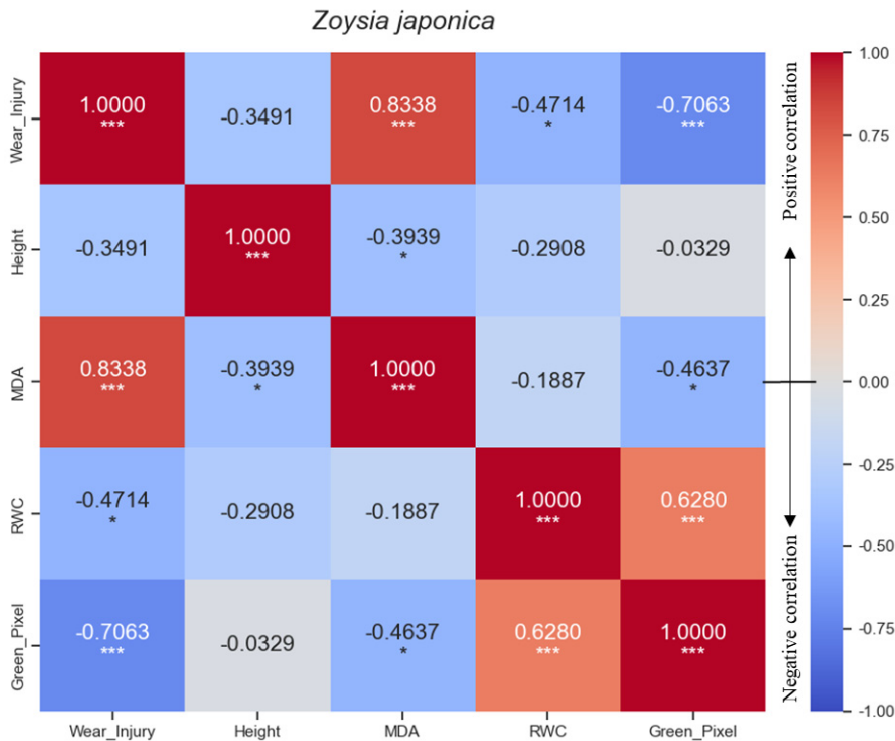


Fig. 8. Pearson correlation coefficient heatmap analysis of each factor in *Zoysia japonica* cv. ‘Zenith’. NS, *, ** and *** represent not significant, and a significance at the 0.05, 0.01, and 0.001 probability by Pearson correlation analysis (n=3).

면 축적된 ROS에 의해 세포막에 존재하는 지질의 과산화가 일어날 수 있고, 이로 인해 세포막이 손상을 입게 되면 세포 내에 존재하는 폴리페놀 산화효소에 의해 페놀 화합물이 산화되어 중합체를 형성함으로써 생리장해가 발생하는 것으로 알려져 있다[27, 28]. 답압으로 인한 마모 스트레스가 들잔디 내 ROS 수치와 MDA 함량을 크게 증가시켰다. RGB 이미지 분석 결과 답압 처리가 진행되는 동안 녹색 픽셀은 증가와 감소를 반복하면서도 전체적인 경향은 감소하였다. 답압 직후 회복세를 분석 결과 답압 직후 2주차까지의 초기 회복은 더뎠으나, 3주차부터 회복세가 강해지는 것을 확인하였다. 마모 스트레스와 각 인자들 간의 상관성을 검토한 결과 MDA가 0.8338로 매우 높은 정의 상관관계를 보였으며, 녹색 픽셀은 -0.7063의 높은 부의 상관관계를 보여주었다. 본 연구를 통해 잔디의 마모 스트레스 반응에 MDA가 효과적이고, RGB 이미지 분석을 확인하였을 때 MDA 분석을 대체할 수 있음을 확인하였다. 향후 RGB 이미지 분석기술이 보다 발달하게 되면 작물 스트레스 진단에 신속하고 정확한 도구로 이용될 것이다.

잔디의 마모 스트레스는 잔디 생육에 다양한 영향을 미친다. 본 연구에서는 마모 스트레스로 인한 잔디의 초장 감소로 인해 지상부 바이오매스와 녹색 픽셀이 유의하게 감소하였다. WinRhizo 결과를 확인하였을 때 지상부와 달리 지하부는 유의한 차이는 없었지만, 마모 스트레스가 누적됨에 따라 뿌리 발달이 저해되는 것을 확인할 수 있었다. 마모로 인해 잔디 앞에 손상되어 MDA와 ROS 함량이 증가하였고 잔디 품질이 하락하였음을 보여준다. MDA와 녹색 픽셀의 상관분석 결과 마모 스트레스와 높은 상관성을 보여 두 지표 모두 스트레스 정량화에 우수한 성능을 지녔음을 알 수 있었다. 그 중 RGB 이미지를 활용한 잔디의 마모 스트레스 평가는 보다 직관적이고 신속하며 정량적으로 진단할 수 있는 방법이다. 이를 바탕으로 관리자가 조금 더 손쉽게 잔디의 품질을 평가하여 즉각적인 피드백을 통해 운동장 잔디의 품질 유지가 가능할 것이라 기대할 수 있다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

This research was funded by the Forest Biomaterial Research Center, National Institute of Forest Science (Project No. FG0900- 2020-01).

References

1. Yue C, Wang J, Watkins E, Xie Y, Shekhar S, Bonos SA, Patton A, Morris K, Moncada K (2019) User preferences for accessing publicly available turfgrass cultivar performance data. *HortTechnology*, 29, 599-610. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH04390-19>.
2. Kim YS, Lee TS, Cho SH, Lee GJ (2018) Application of liquid fertilizer containing humate improving rhizosphere activation and favoring turfgrass quality. *Weed Turfgrass Science*, 7(11), 62-71. <https://doi.org/10.5660/WTS.2018.7.1.62>.
3. Sung CH, Lee JH, Koo JH, Hong JK, Youn JH, Chang SW (2016) Different responses of *Zoysiagrass* (*Zoysia* spp.) ecotypes against *Puccinia zoysiae* causing rust disease in field. *Weed & Turfgrass Science*, 5(4), 256-259. <https://doi.org/10.5660/WTS.2016.5.4.256>.
4. Im HJ, Yong SH, Choi MS, Kim SG, Kim YS, Yi JS, Song KS (2022) Cold tolerance and physiological response of *Camellia sinensis* cultivars by low-temperature treatment. *Journal of Korean Society of Forest Science*, 111(2), 251-262. <https://doi.org/10.14578/jkfs.2022.111.2.251>.
5. Cherif J, Derbel N, Nakkach M, BergmannHV, Jernal F, Lakhdar ZB (2010) Analysis of in vivo chlorophyll fluorescence spectra to monitor physiological state of tomato plants growing under zinc stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 101(3), 332-339. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.08.005>.
6. Giannakoula A, Therios I, Chatzissavvidis C (2021) Effect of lead and copper on photosynthetic apparatus in citrus (*Citrus aurantium* L.) plants the role of antioxidants in oxidative damage as a response to heavy metal stress. *Plants*, 10(1), 155. <https://doi.org/10.3390/plants10010155>.
7. Bae EJ, Cho HM, Yoon JH, Jin EJ, Lee GJ (2021) Correlation analysis between MDA content morphological characteristics of *Zoysia* grass accessions as an index of wear tolerance. *Weed & Turfgrass Science*, 10(4), 387-395.
8. Tao H, Xu S, Tian Y, Li Z, Ge Y, Zhang J, Wang Y, Zhou G, Deng X et al. (2022) Proximal and remote sensing in plant phenomics: 20years of progress, challenges, and perspectives. *Plant Communications*, 3(6), 100344. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100344>.
9. Richardson MD, Karcher DE, Purcell LC (2001) Quantifying turfgrass cover using digital image analysis. *Crop Science*, 41(6), 1884-1888. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.1884>.
10. Niu Y, Zhang L, Zhang H, Han W, Peng X (2019) Estimating above-ground biomass of maize using features derived from UAV-based RGB imagery. *Remote Sensing*, 11(11), 1261. <https://doi.org/10.3390/rs11111261>.

11. Khun K, Tremblay N, Panneton B, Vigneault P, Lord E, Cavayas F, Codjia C (2021) Use of oblique RGB imagery and apparent surface area of plants for early estimation of above-ground corn biomass. *Remote Sensing*, 13(20), 4032. <https://doi.org/10.3390/rs13204032>.
12. Jin X, Liu S, Baret F, Hemerlé M, Comar A (2017) Estimates of plant density of wheat crops at emergence from very low altitude UAV imagery. *Remote Sensing of Environment*, 198(1), 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.06.007>.
13. Yoo MJ, Lee JP, Joo YK, Kim DH (2009) Analysis of maintenance expense in various golf courses. *Asian Journal of Turfgrass Science*, 23(1), 61-76.
14. Chang SW, Bae EJ, Kim KD, Lee JH (2020) Investigation of turfgrass growth environment in natural turfgrass playgrounds of 22 elementary, middle, and high schools in South Korea. *Weed & Turfgrass Science*, 9(2), 159-168. <https://doi.org/10.5660/WTS.2020.9.2.159>.
15. Han SW, Soh HS, Won SY, Ju YC (2015) Present state of turf management of school playgrounds in Gyeonggi province of Korea. *Weed & Turfgrass Science*, 4(4), 405-412. <https://doi.org/10.5660/WTS.2015.4.4.405>.
16. Lee SW, Lee JP, Kim DH (2008) The influence of traffic time and fertilizer type on the quality of golf course putting greens. *Asian Journal of Turfgrass Science*, 22(1), 65-74.
17. Dest WM, Ebdon JS (2017) The effect of wear and soil compaction on Kentucky bluegrass sod rooting and plant recovery. *International Turfgrass Society Research Journal*, 13(1), 338-345. <https://doi.org/10.2134/itsrj2016.05.0366>.
18. Heath RL, Pacher L (2022) Reprint of: Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 726, 109248. <http://doi.org/10.1016/j.abb.2022.109248>.
19. Lee GJ, Lee HJ, Ma KY, Jeon YJ, Kim IK (2011) Antioxidant enzyme activity and cell membrane stability of Korean bermudagrass genotypes different in ploidy at dormant stage. *Asian Journal of Turfgrass Science*, 25(1), 17-21.
20. Seo JY, Chung JI, Kim MC, Chung JS, Shim DB, Song SH, Oh JH, Shim SI (2015) Effects of trampling on growth and development in *Zoysia japonica*. *Weed & Turfgrass Science*, 4(3), 256-261. <https://doi.org/10.5660/WTS.2015.4.3.256>.
21. Wei H, Yang W, Wang Y, Ding J, Ge L, Richardson M, Liu T, Zhang J (2022) Correlations among soil, leaf morphology, and physiological factors with wear tolerance of four warm-season turfgrass species. *Hortscience*, 57(4), 571-580. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16453-21>.
22. Han LB, Song GL, Zhang X (2008) Preliminary observations on physiological responses of three turfgrass species to traffic stress. *Horttechnology*, 18(1), 139-143. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.18.1.139>.
23. Samaranyake H, Lawson TJ, Myrphy JA. (2008) Traffic stress effects on bentgrass putting green and fairway turf. *Crop Sci.*, 48(3), 1193-1202. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.09.0613>.
24. Martiniello P (2007) Effect of traffic stress on cool-season turfgrass under a mediterranean climate. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 293-301. <https://doi.org/10.1051/agro:2007029>.
25. Schwartz BM, Kenworthy KE, Engelke MC, Genovesi AD, Quesenberry KH (2009) Heritability estimates for turfgrass performance and stress response in *Zoysia* spp. *Crop Science*, 49(6), 2113-2118. <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.12.0705>.
26. Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12), 909-930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>.
27. Ma Y, Yang M, Wang J, Jiang CZ, Wang Q (2020) Application of exogenous ethylene inhibits postharvest peel browning of 'Huangguan' pear. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02029>.
28. Lee UY, Wang MH, Bae TM, Kim SJ, Choi JH, Ahn YJ, Chun JP (2018) Effects of pre-drying, delayed cooling, and carbon dioxide on skin blackening disorder in Asian pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) 'Chuhwangbae'. *Horticultural Science and Technology*, 36(3), 370-379. <https://doi.org/10.12972/kjhst.2018.0036>.