

X-ray 미세영상기법을 이용한 식물 목질부

내부 수액 유동의 계측

김 양 민* · 이 상 준†

In Vivo Visualization of Flow in Xylem Vessels of a Bamboo Using X-ray Micro-imaging Technique

Yang-Min Kim and Sang-Joon Lee

Key Words : Bamboo (대나무), X-ray Micro imaging (엑스레이 미세영상), Water Refilling (물의 충전), Xylem (물관)

Abstract

Synchrotron X-ray micro-imaging technique was employed to monitor non-invasively the refilling process of water inside the xylem vessels in bamboo leaves. The consecutive phase-contrast X-ray images clearly show both plant anatomy and the transport of water inside the xylem vessels. Traces of water-rise, vapor bubbles and variations of contact angle between the water front and the xylem wall were measured in real time. During the refilling process, air bubbles are removed when the rising water front halts at a vessel end for a while. Subsequently, it starts rising again at a higher velocity than the normal refilling speed. Repeated cavitation seems to deteriorate the refilling ability in xylem vessels. In dark environment, the water refilling process in xylem vessels is facilitated more effectively than in bright illuminated conditions. Finally, X-ray micro-imaging was found to be a powerful, high resolution, real time imaging tool to investigate the water refilling process in xylem vessels.

1. 서 론

식물에서 수액 이동은 물관을 통해 이루어지며, 영양분과 생체신호 전달에 있어서 매우 중요한 역할을 한다. 최근 들어, 이러한 식물 물관 내부의 수액 이동을 핵자기 공명 단층 촬영법인 MRI(magnetic resonance imaging)를 이용하여 연구하고 있다.⁽¹⁻³⁾ MRI 위상영상법을 이용하면 유체의 속도도 함께 측정할 수 있다.⁽⁴⁾ Holbrook 등⁽⁵⁾은 물이 채워진 물관과 캐비테이션(cavitation)으로 인해 비어 있는 물관이 구분되는 것을 이용하여 수액이 물관내에 충전되는 과정을 연구하였다.

그러나, MRI 로 얻을 수 있는 영상의 공간분해능에 제한이 따르며, 작은 물관의 경우, 물관 하나 하나를 구분할 수 없다. 또한, MRI 의 경우, 특정 양자(photon)를 공명시켜 FID(free induction decay)를 측정하는 방식이므로 측정 가능한 식물에 제한이 따른다. 따라서 식물 내부구조를 연구하는데 있어 MRI 의 사용은 제한적이다. 또한 MRI 영상 한 장을 얻는 데 걸리는 시간이 수십 초 단위로 실시간 측정에 어려움이 있다.

반면, X-ray 미세영상기법은 내부가 보이지 않는 물체의 내부를 자세하게 관찰하는데 유용하다. 이러한 X-ray 미세영상기법으로 곤충의 내부구조를 찍어 곤충의 호흡 메카니즘을 밝힌 연구가 2003 년 1 월 Science 지에 발표되었다.⁽⁶⁾ 국내 연구로 홍진오 등⁽⁷⁾은 synchrotron X-ray 미세영상기법을 이용하여 치아샘플의 투사영상과 단층촬영영상을 획득하고자 하였다. 이밖에 Jenneson 등⁽⁸⁾은 토양 속에서 자라는 식물의 구조를 X-ray 토

† 포항공과대학교 기계공학과

E-mail : sjlee@postech.ac.kr

TEL : (054)279-2169 FAX : (054)279-3199

* 포항공과대학교 기계공학과 대학원

모그래피(tomography) 기법을 이용하여 연구하기도 하였다.

이러한 X-ray 미세영상기법은 염료(dye)를 수액에 첨가하지 않아도 되며, MRI 에 비해 공간 분해능이 우수하고, 실시간 영상취득과 저장이 가능하다. 또한, 기계식 셔터(mechanical shutter)를 이용하여 아주 짧은 시간 동안 영상을 받거나, 단색광장치(monochromator)를 사용하여 특정 파장대의 단색광을 취함으로써, 피폭량을 줄여서 비파괴적으로 생체에 대한 X-ray 영상을 취득할 수 있다.

식물 내부 구조를 관찰할 수 있는 다른 방법으로 confocal laser microscopy(CLSM), optical coherence microscopy(OCM), electron tomography(ET)등이 있는데, 이러한 방법들은 X-ray 미세영상기법에 비해 공간 분해능은 우수하지만, 얇고 투명한 물체에만 적용이 가능하다는 단점이 있다.⁽⁹⁾

본 연구에서는 X-ray 미세영상기법을 이용하여, 대나무 잎에 있는 물관 내부에서 물이 충전되는 과정을 식물 내부구조와 함께 정량적으로 가시화하여, 식물 내부구조와 물관 내부를 흐르는 수액 이동 사이의 상관관계에 대한 정보를 연구하고자 한다.

2. 실험장치 및 방법

2.1 대나무

화단에 자라고 있는 대나무 줄기를 잘라, 하루 동안 물에 담구어 두었다가 실험 직전에 대나무 줄기에 달린 잎을 잘라 2 축 이송장치에 고정하였다. 대나무 잎을 자른 직후 잎의 물관에서 물이 빠져 나가는 과정을 X-ray 영상으로 관찰하였다. 그리고 다시 잎에 물을 공급한 후, 시간 경과에 따라 물관에 물이 충전되어 흐르는 과정에 대한 X-ray 영상을 연속적으로 취득하여 관찰하였다. 이번 실험에서는 편의상 빠른 시간 안에 물이 빠지고 다시 충전되는 과정을 관찰하기 위해, 대나무 잎만을 대상으로 실험하였지만, 뿌리와 줄기를 포함한 식물 전체에 대한 *in vivo* 계측도 가능하다.

2.2 X-ray 미세영상기법

식물의 내부구조와 물관에서의 수액 이동을 가시화하기 위하여 X-ray 미세영상기법을 적용하였다. X-ray 미세영상기법은 X-ray 빔이 물체를 통과하면서 생기는 빛의 위상차(phase difference)를 이용하여 물체 내부 형태를 투과방식(transmission method)으로 가시화 하게 된다. 기본 원리는 원

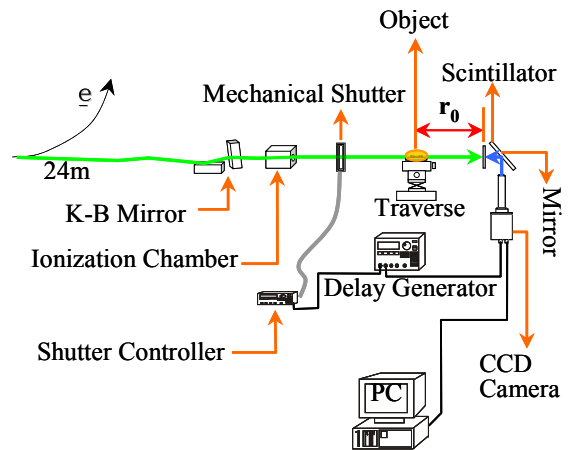


Fig. 1 Schematics of X-ray micro imaging system

자크기 정도의 매우 짧은 파장의 X-ray 빛이 물체를 지날 때 생기는 굴절(refraction)과 물체 모서리에서의 회절(diffraction)에 기초하고 있다.⁽¹⁰⁾

Fig. 1 은 본 연구에 사용되어진 synchrotron X-ray 미세영상 시스템의 개략도를 나타낸 것이다. 광원으로는 포항가속기 연구소(PAL)의 1B2 라인에서 나오는 백색광을 사용하였다. 빔 라인에서 나오는 빔은 K-B 미러에 의해 집속되고, 측정하고자 하는 물체를 투과하게 된다. 이때 X-ray 는 물체를 통과하면서 물체의 구조에 따라 위상차 정보를 제공하게 된다. 이러한 위상 정보를 가진 X-ray 빔은 scintillator 라는 일종의 크리스탈을 통과하게 되면 가시광선 빛으로 바뀌게 된다. 이러한 위상차 정보를 가지고 있는 가시광선은 금으로 코팅된 거울(gold coated mirror)을 통하여 굴절되어 CCD 카메라에 영상이 맺히게 된다.

본 연구에 사용 되어진 12bit cooled CCD 카메라는 1024 × 1280 pixels 의 공간분해능을 가지고 있다. CCD 카메라로 취득한 영상은 디지털 화상 처리 과정이 용이하다. CCD 카메라에 10 배 배율의 줌 렌즈를 부착하였는데, 관찰 영역의 크기(field of view)는 0.686 mm × 0.858 mm이었다. 그리고 실험 모델 전방에 기계식 셔터를 설치하여 실험 모델에 X-ray 빔이 조사되는 시간을 10ms 이내로 줄이도록 하였다. 만약 이 기계식 셔터가 없다면 식물과 같은 생체가 고에너지의 X-ray 빔을 오랫동안 쬐게 됨으로써 해를 입을 수 있다. 고에너지의 X-ray 빔을 오래 쬐는 경우 기포들이 발생하고, 물관에 채워져 있는 물기둥이 끊어지게 되어 물관에서 물이 빠져나가 관이 비게 되는 현상을 관찰할 수 있었다. 기계식 셔터와 CCD 카메라는 동기장치에 연결되어, 셔터가 열리는 짧은

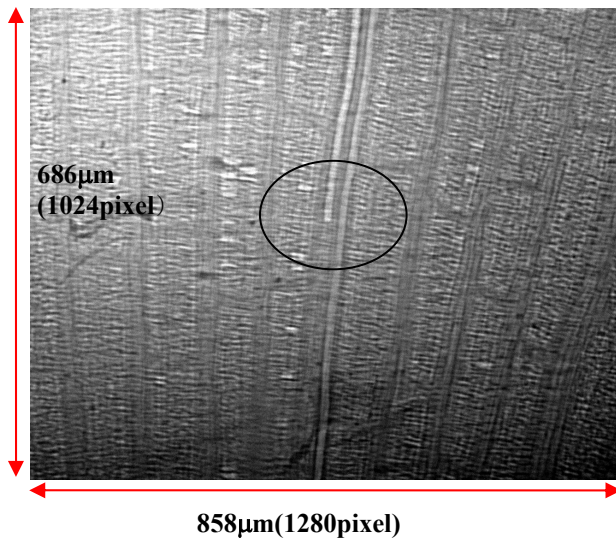


Fig. 2 A typical X-ray image of bamboo leaf showing xylem vessels

시간 동안 X-ray 영상을 CCD 카메라로 취득할 수 있도록 동기시켰다.

3. 결과 및 토의

3.1 X-ray 영상

Fig. 2 는 대나무 잎 내부 구조를 X-ray 미세영상 기법으로 취득한 영상이다. 이 X-ray 영상으로부터 대나무 잎 내부 물관 조직과 함께 원으로 표시한 부분에서 물관을 채워나가고 있는 수액 거동을 관찰할 수 있다. 이러한 영상을 통해서 물관의 모양, 물기둥의 선단(water front)이 물관과 접촉하는 접촉각에 관한 정보를 얻을 수 있다.

3.2 세포벽의 작용

Fig. 3 는 인접한 두 개의 물관을 충전하고 있는

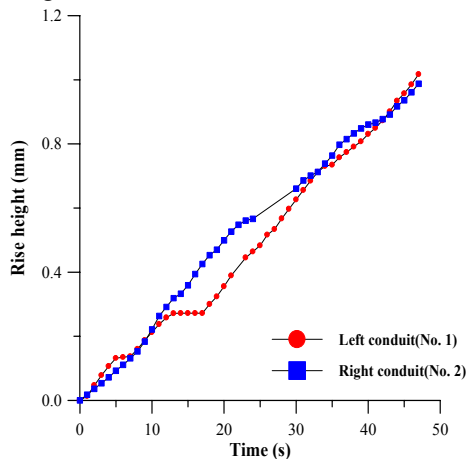


Fig. 3 Water rise kinetics in two vessels of bamboo leaf

물의 선단 위치를 경과시간의 함수로 나타낸 그림으로, 물기둥의 선단이 1 초 간격으로 얼마나 이동했는지를 보여주고 있다. 초기에는 두 개의 물관에서 거의 비슷한 속도로 수액이 올라가지만, 물관 1 에서는 13~17 초 사이 약 5 초간 물이 움직이지 못하고 정지한 후, 다시 이전과 비슷한 속도로 물이 상승하였다. 반면 물관 2 에서는 물관 1 에서 수액 상승이 멈춘 동안에도 거의 일정한 속도로 수액이 지속적으로 상승하였다.

물관의 조직구조가 대나무 잎 내부 수액 상승 속도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 대응하는 X-ray 영상과 자세히 비교하여 보았다.

Fig. 4 는 물관 1 과 물관 2 에서 물이 충전되어 가는 과정을 보여주는 X-ray 영상이다. Fig. 4(a)는 $t=11$ 초에 얻은 영상으로, 물관 1 과 2 모두에서

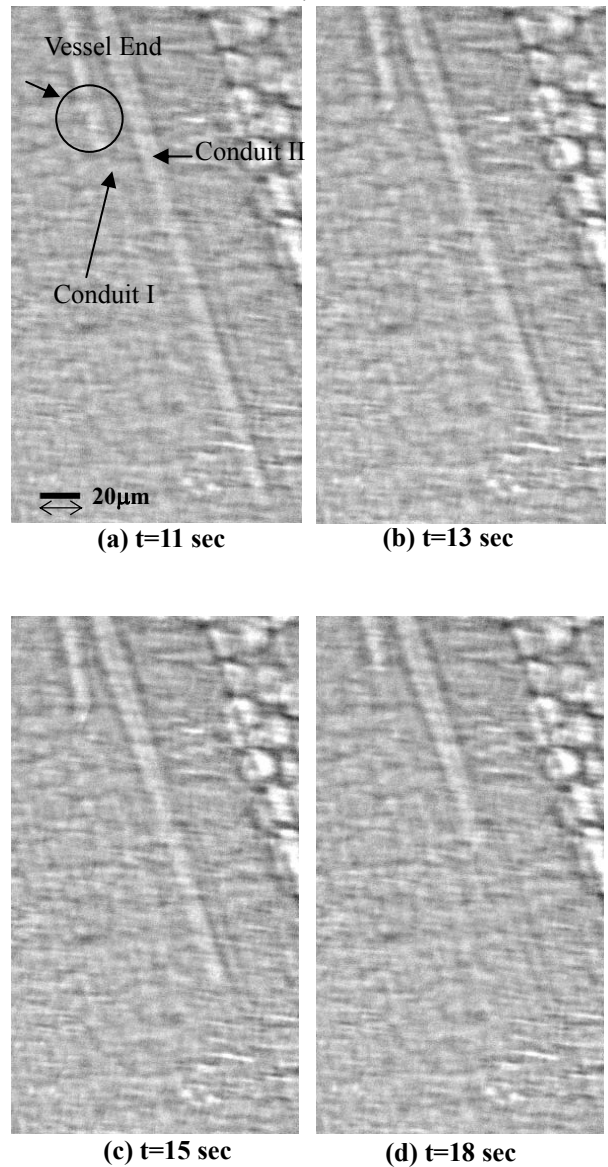


Fig. 4 A typical flow motion in xylem vessels

대체로 비슷한 속도로 물이 채워져 올라간다. 시간 $t=13$ 초에 왼쪽에 위치한 물관 1 에서는 유동이 멈추고 움직이지 않는다(Fig 4(b)). 그런데, Fig. 4(a)의 원 내부를 자세히 보면, Fig. 4(b)에서 수액의 선단이 멈추어 있는 부분에 기울어진 형상의 판이 하나 위치해 있다. 이것은 물관을 이루는 세포와 세포 사이에 존재하는 세포벽(vessel end)이다. Fig. 4(c)를 보면, 세포벽의 기울어진 형상으로 인하여, 물관 1 의 왼쪽 부분에서는 물이 이미 다 채워져 있으나, 오른쪽 부분에서는 물이 비어 있는 영역을 채우고 있다. 5 초 정도의 시간이 경과하게 되면 세포벽 존재에 기인한 유체저항을 이겨내고 다시 움직이기 시작하여 세포벽 구간을 유체가 통과하게 된다(Fig. 4(d)). 일단 세포벽을 지나간 후에는 이전과 비슷한 속도로 물이 상승하는 과정을 반복하였다. 반면에 오른쪽에 위치한 물관 2 에서는 중간에 멈추지 않고 지속적으로 물이 상승하고 있음을 보여주고 있다. 이러한 결과로부터 물관의 내부구조가 물의 흐름을 결정하는 주요 요소로 작용하고 있음을 알 수 있다. 이처럼 X-ray 미세영상 기법을 이용하여 식물의 내부구조와 수액의 흐름을 동시에 가시화함으로써, 이들 상호간의 상관관계를 밝힐 수 있다.

4. 결 론

X-ray 미세영상기법을 이용하여 비접촉식으로 내부가 보이지 않는 대나무 잎 내부구조와 수액의 이동과정을 실시간으로 관찰하였다.

X-ray 미세영상기법은 식물과 같은 생체의 내부구조와 함께 물관 내부를 흘러가는 유체 유동을 자세하게 가시화 함으로써, 향후 이 분야 연구에 큰 진보를 가져올 수 있을 것으로 기대된다.

후 기

본 연구는 NRL 프로그램의 지원을 통해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다

참고문헌

- (1) Schneider, H., Wistuba, N., Wagner, H.-J., Thurmer, F. and Zimmermann, U., 2000, "Water Rise Kinetics in Refilling Xylem after Desiccation in a Resurrection Plant", *New Phytologist*, Vol. 148, pp. 221~238.
- (2) Wagner, H.-J., Schneider, H., Mimietz, S., Wistuba, N., Rokkita, M., Krohne, G., Haase, A. and Zimmermann, U., 2000, "Xylem Conduits of a

- Resurrection Plant Contain a Unique Lipid Lining and Refill Following a Distinct Pattern after Desiccation", *New Phytologist*, Vol. 148, pp. 239~255.
- (3) Kockenberger, W., Pope, J. M., Xia, Y., Jeffrey, K. R., Komor, E. and Callaghan P. T., 1997, "A Non-invasive Measurement of Phloem and Xylem Water Flow in Castor Bean Seedlings by Nuclear Magnetic Resonance Microimaging", *Planta*, Vol. 201, pp. 53~63.
- (4) Lee, S. J., Chung, M. K., Mun, C. W. and Cho, Z. H., 1987, "Experimental Study of Thermally Stratified Unsteady Flow by NMR-CT", *Experiments in Fluids*, Vol.5, pp. 273~281.
- (5) Holbrook, N. M., Ahrens, E. T., Burns, M. J., and Zwieniecki, M. A., 2001, "In Vivo Observation of Cavitation and Embolism Repair Using Magnetic Resonance Imaging", *Plant Physiology*, Vol. 126, pp. 27~31.
- (6) Westneat, M. W., Betz, O., Blob, R. W., Fezzaa, K., Cooper, W. J., Lee, W.-K., 2003, "Tracheal Respiration in Insects Visualized with Synchrotron X-ray Imaging", *Science*, Vol. 299, pp. 558~560.
- (7) Hong, J. O., Jung, H. J., Hong, S. I., Na, Y. H., Kim, B. R., Je, J. H., and Kim, H. J., 2001, "High Resolution 3-D Medical Imaging Using Synchrotron X-ray", *J. KPACS*, Vol. 7, pp. 59~65.
- (8) Jenneson, P. M., Gilboy, W. B., Morton, E. J. and Gregory, P. J., 2003, "An X-ray Micro-tomography System Optimized for the Low-dose Study of Living Organisms", *Applied Radiation and Isotopes*, Vol. 58, pp. 177~181.
- (9) Stuppy, W. H., Maisano, J. A., Colbert, M. W., Rudall, P. J. and Rowe, T. B., 2003, "Three-dimensional Analysis of Plant Structure Using High-resolution X-ray Computed Tomography", *Trends in Plant Science*, Vol. 8, No.1, pp. 2~6.
- (10) Hwu, Y., Hsieh, H. H. and Lu, M. J., Tsai, W. L., Lin, H. M., Goh, W. C., Lai, B., Je, J. H., Kim, C. K., Noh, D. Y., Youn, H. S., Tromba, G. and Margaritondo, G., 1999, "Coherence-enhanced Synchrotron Radiology: Refraction Versus Diffraction Mechanisms", *Journal of Applied Physics*, Vol. 86, pp. 4613~4618.