

Synchrotron X-ray 미세영상기법을 이용한 식물 목질부 내부 수액 유동의 계측

김 양 민* · 이 상 준†

(2003년 5월 26일 접수, 2003년 9월 5일 심사완료)

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

Yang-Min Kim and Sang-Joon Lee

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

Abstract

Synchrotron X-ray micro imaging technique was employed to non-invasively monitor the water flow inside xylem vessels in a bamboo leaf. The phase contrast X-ray images clearly visualized plant anatomy and the rise of a water front inside the vessels. Consecutive X-ray images taken for 60 seconds revealed water rise kinetics against gravity in the xylem of a cut dry leaf taken from a bamboo tree. For the first time, traces of water rise, variation of contact angle between water and xylem wall as well as the internal structure of xylem were obtained. In xylem vessels, a repeating flow pattern has a typical flow velocity of $30.7\mu\text{m/s}$ and faster flow is established intermittently. It is concluded that the transmission type of X-ray micro imaging can be used as a powerful tool to investigate the ascent of sap in the xylem vessels at a resolution higher than that of MRI.

1. 서 론

식물에서 수액 이동은 물관을 통해 이루어지며, 영양분과 생체신호 전달에 있어서 매우 중요한 역할을 한다. 최근 들어 이러한 식물 물관 내의 수액 이동을 핵자기 공명 단층 촬영법인 MRI(magnetic resonance imaging)를 이용하여 연구하고 있다.⁽¹⁻³⁾ MRI 위상영상법을 이용하면 유체의 속도도 측정할 수 있다.⁽⁴⁾ 또한 물이 채워진 물관과 캐비테이션(cavitation)으로 인해 비어 있는 물관을 구분할 수 있어 Holbrook⁽⁵⁾ 등은 수액이 물관 내에 충전되는 과정을 연구하였다. 그러나, MRI로 얻을수 있는 영상의 공간 분해능에는 제한이 따르

며, 작은 물관의 경우, 물관 하나하나를 구분할 수 없는 경우도 있다. 또한, MRI의 경우 특정 양자(photon)를 공명시켜 FID(free induction decay)를 측정하는 방식이므로 측정 가능한 식물에 제한이 따르며, 수분 함유량이 MRI 영상취득에 영향을 미치기도 한다. 따라서 식물 내부구조를 연구하는데 있어 MRI의 사용은 제한적이다. 또한 MRI 영상 하나를 얻는 데 걸리는 시간을 줄이려는 많은 노력이 있어 왔지만, 여전히 시간 분해능이 수십 초 단위로 실시간 측정에 어려움이 있다.

반면, synchrotron X-ray 미세영상기법은 내부가 보이지 않는 물체의 내부를 자세하게 관찰하는데 유용하다. 이러한 X-ray 미세영상기법으로 곤충의 내부구조를 찍어 곤충의 호흡 메카니즘(mechanism)을 밝힌 연구가 2003년 1월 Science지에 발표되었다.⁽⁶⁾ 국내 연구로 홍진오⁽⁷⁾ 등은 synchrotron X-ray 미세영상 기법을 이용하여 치아

* 포항공과대학교 대학원 기계산업공학부
† 책임저자, 회원, 포항공과대학교 기계공학과
E-mail : sjlee@postech.ac.kr
TEL: (054) 279-2169, FAX: (054) 279-3199

샘플의 투사영상과 단층촬영 영상을 획득하고자 하였다. 그 외 Jenneson⁽⁸⁾ 등은 토양 속에서 자라는 식물의 구조를 X-ray 토모그래피(tomography) 기법을 이용하여 밝히기도 하였다. 이와 같이 X-ray 미세영상기법을 이용하면 식물 내부의 물관에서 물이 충전되는 과정을 관찰할 수 있으며, 물관 및 식물의 내부구조에 대한 정보도 얻을 수 있어 물관을 통한 물의 이동과 식물 내부구조와의 상관성을 보다 정확히 연구할 수 있다.

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

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

본 연구에서는 synchrotron X-ray 미세영상기법을 이용하여, 대나무 잎에 있는 물관 내부의 수액 이동을 가시화하고 유속변화를 측정하였다. 또한 식물 내부구조를 함께 가시화하여, 식물 내부구조와 수액 이동 사이의 상관관계에 대한 정보도 얻고자 한다.

2. 실험장치 및 방법

2.1 대나무

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

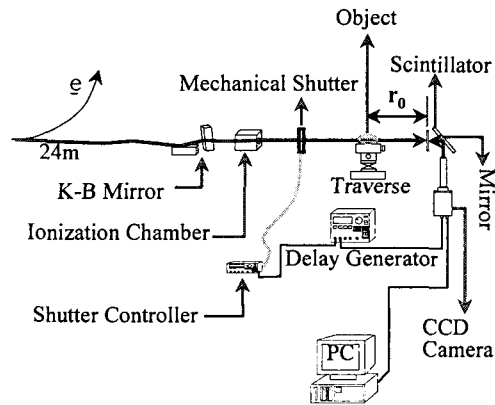


Fig. 1 Schematics of synchrotron X-ray micro imaging system

2.2 Synchrotron X-ray 미세영상기법

식물의 내부구조와 물관에서의 수액 이동을 가시화하기 위하여 synchrotron X-ray 미세영상기법을 이용하였다. Synchrotron X-ray 미세영상기법은 X-ray 빔이 물체를 통과하면서 생기는 빛의 위상차를 이용하여 물체 내부 형태를 투과방식(transmission method)으로 가시화 하게 된다. 기본 원리는 원자크기 정도의 매우 짧은 파장의 X-ray 빛이 물체를 지날 때 생기는 굴절(refraction)과 물체 모서리에서의 회절(diffraction)에 기초하고 있다.⁽¹⁰⁾

Fig. 1은 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-ray는 물체를 통과하면서 물체의 구조에 따라 위상차(phase difference) 정보를 제공하게 된다. 이러한 위상 정보를 가진 X-ray 빔은 scintillator 라는 일종의 크리스탈을 통과하게 되면 우리가 볼 수 있는 가시광선 빛으로 바뀌게 된다. 이러한 위상차 정보를 가지고 있는 가시광선은 금으로 코팅된 미러(gold coated mirror)를 통하여 굴절되어 CCD 카메라에 영상이 맺히게 된다.

본 연구에 사용 되어진 12bit cooled CCD 카메라는 1024×1280 pixels의 공간분해능을 가지고 있다. 이러한 디지털 CCD 카메라로 취득한 영상은 디지털 화상 처리과정이 용이하다는 장점이 있다. CCD 카메라에는 10×배율의 줌렌즈를 부착하였는

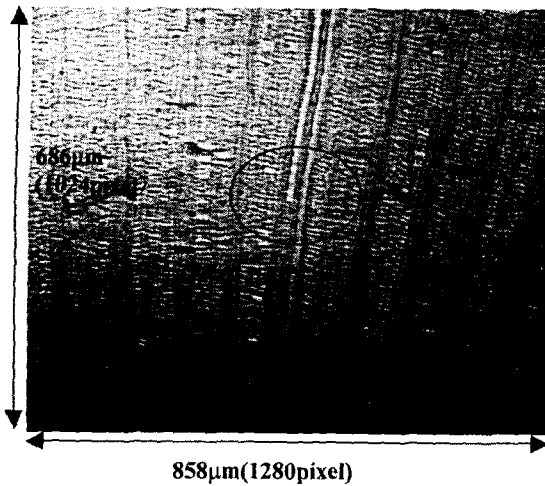


Fig. 2 A typical X-ray image of bamboo leaf showing xylem vessels

데, 이 때 관찰 영역의 크기(field of view)는 $0.686 \text{ mm} \times 0.858 \text{ mm}$ 이었다. 그리고 실험 모델 전방에 기계식 셔터를 설치하여 실험 모델에 X-ray 빔이 조사되는 시간을 5ms 이내로 줄이도록 하였다. 이러한 셔터가 없으면 식물과 같은 생체가 고에너지의 X-ray 빔을 오랫동안 쬐게 됨으로써 해를 입을 수 있다. 고에너지의 X-ray 빔을 오래 쬐는 경우 기포들이 생성되고, 물관에 채워져 있는 물기둥이 끊어지게 되어 물관에서 물이 빠져나가 관이 비게 되는 현상을 관찰할 수 있었다. 기계식 셔터와 카메라는 동기장치를 이용하여, 셔터가 열리는 짧은 시간 동안 X-ray 영상을 CCD 카메라로 취득할 수 있도록 동기시켰다.

이러한 고에너지 조사에 기인한 문제점을 해결하는 또 다른 방법은 단색광장치를 사용하여 특정 파장의 단색광 X-ray 빔을 만들어 사용하는 것이다. 단색광의 사용으로 생체에 가해지는 피폭 에너지를 크게 줄일 수 있다. 이 경우에는 셔터를 사용하지 않고, 아날로그 카메라를 이용하여 실시간으로 영상을 찍어 비디오테이프에 기록할 수 있다.

그러나, 단색광을 사용할 경우에는 백색광에 비해 에너지 강도가 약해 X-ray 영상의 화질이 다소 떨어지는 단점이 있다. 따라서, 단색광을 사용할 경우에는 적절한 단색광 파장대를 찾는 노력이 필요하다. 이러한 노력의 일환으로 본 연구실에서는 X-ray 렌즈를 개발하고 있으며, 고배율의 카메라로 깨끗한 X-ray 영상을 취득하려는 시도가 이루어지고 있다.

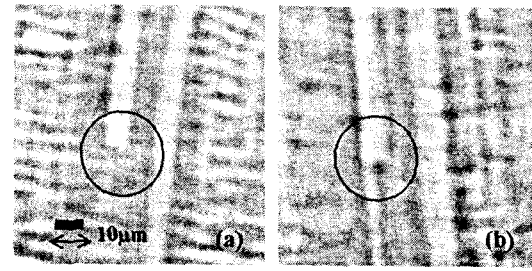


Fig. 3 X-ray micrographs showing water contact angle

3. 결과 및 토의

3.1 X-ray 영상

Fig. 2 는 대나무 잎의 내부를 synchrotron X-ray 미세영상기법으로 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 접촉각

Fig. 3 은 물관을 따라 상승하는 물의 선단이 물관과 접촉하고 있는 양상, 특히 접촉각에 관한 정보를 제공하고 있다. 물이 물관을 따라 이동하는 동안에 접촉각은 다양한 형태의 변화를 보여주고 있다.

Fig. 3(a)에서는 접촉각이 90° 보다 작은 오목한 경우를 보여준다. 일반적으로 친수성(hydrophilic) 표면을 가진 모세관 내부 유체의 경우 선단이 오목한 모양을 가진다. 반면, Fig. 3(b)에서 보는 바와 같이, 물의 이동 중 접촉각이 90° 보다 커지는 경우도 나타났다. 이러한 결과는 물관 내부 표면에 소수성(hydrophobic)을 지닌 부분이 존재하는 것으로 추측되어진다. 또한 이렇게 큰 접촉각은 불균일한 물관 내부의 표면 조건에 기인하여 발생할 수도 있다.⁽¹⁾

3.3 물관 내부 유동

Fig. 4 는 인접한 두 개의 물관을 충전하고 있는 물의 선단 위치를 경과시간의 함수로 나타낸 그래프로, 물기둥의 선단이 1 초 간격으로 얼마나 이동했는지를 보여주고 있다. 초기에는 두 개의 물관에서 거의 비슷한 유속으로 수액이 올라가지만,

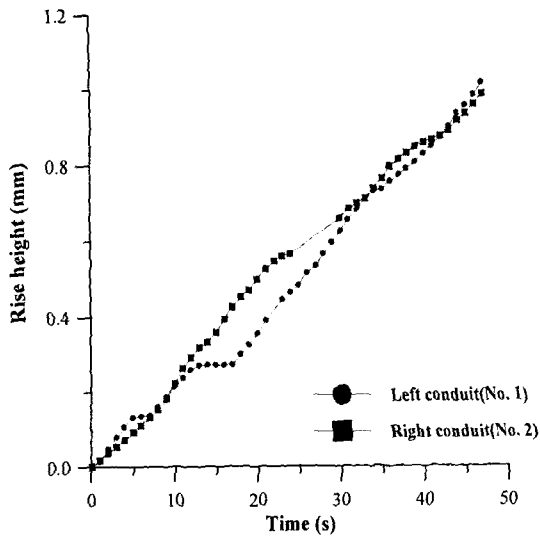


Fig. 4 Water rise kinetics in two vessels of bamboo leaf

물관 1에서는 13~17 초 사이 약 5 초간 물이 움직이지 못하고 정지하였고, 그 후 이전과 비슷한 속도로 물이 상승하였다. 반면 물관 2에서는 물관 1에서 수액 상승이 멈춘 동안에도 거의 일정한 속도로 수액이 상승하였다.

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

Fig. 5는 물관 1과 물관 2에서 물이 충전되어 가는 과정을 보여주는 X-ray 미세 영상이다. Fig. 5(a)는 11 초에 얻은 영상으로, 물관 1과 2 모두에서 대체로 비슷한 속도로 물이 채워져 올라간다. 13 초에 왼쪽에 위치한 물관 1에서는 유동이 멈추고 움직이지 않는다(Fig 5(b)). 그런데, Fig. 5(a)의 원 내부를 자세히 보면, Fig. 5(b)에서 수액의 선단이 멈추어 있는 부분에 기울어진 형상의 판이 위치해 있다. 이것은 물관을 이루는 세포와 세포 사이에 존재하는 천공판(perforation plate)이다. Fig. 5(c)를 보면, 천공판의 기울어진 형상으로 인하여, 물관 1의 왼쪽 부분에서는 물이 이미 다 채워져 있으나, 오른쪽 부분에서는 물이 덜 채워진 부분을 마저 채우게 된다. 보다 시간이 경과하게 되면 천공판 존재에 기인한 유체저항을 이겨내고 움직이기 시작하여 천공판 구간을 유체가 통과하게 된다(Fig. 5(d)). 일단 천공판을 지나간 후에는 이전과 비슷한 속도로 물이 상승하는 과정을 반복하게 된다.

반면에 오른쪽에 위치한 물관 2에서는 물관 1에서 수액이 흐름을 멈추고 있는 동안에도 계속적

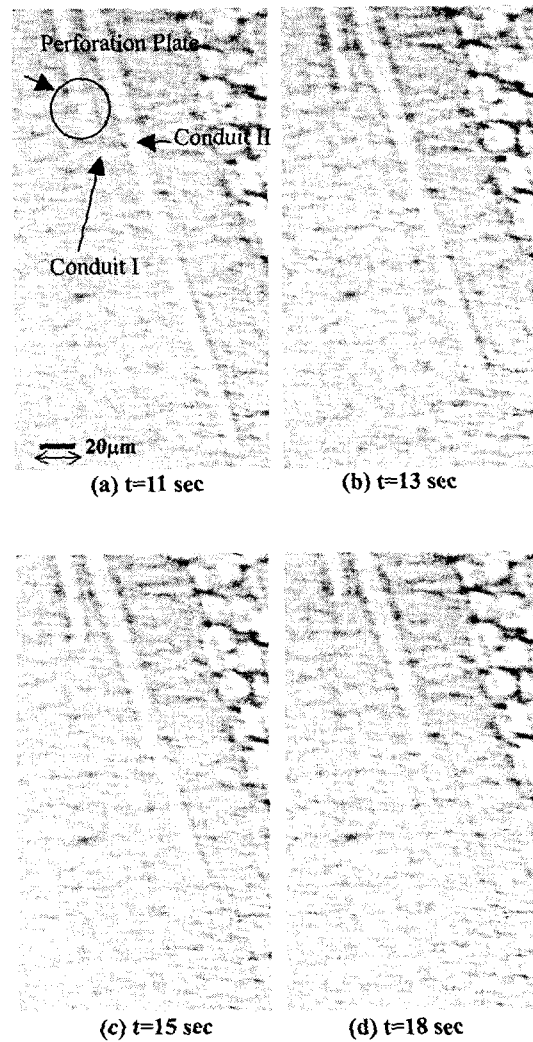


Fig. 5 A typical flow motion in xylem vessels

으로 물이 상승하고 있음을 보여주고 있다. 이러한 결과로부터 물관의 내부구조가 물의 흐름을 결정하는 주요 요소로 작용하고 있음을 알 수 있다.

이처럼 X-ray 미세영상기법을 이용하여 식물의 내부구조와 수액의 흐름을 동시에 가시화하게 되면, 상호간의 상관관계를 밝힐 수 있을 것이다.

3.4 이동속도의 규칙성

Fig. 6은 X-ray 영상을 해석하여 물관 내부에서 물이 얼마나 빨리 이동하고 있는지를 보여주는 결과이다. 여기서 보면, $v=30.7\mu\text{m/s}$ 의 일정 속도로 움직이는 구간이 세 군데 존재하고, 그 사이 구간에서는 이보다 빠른 속도로 수액이 이동하고 있다. 이러한 결과로부터 물의 이동에 있어서 어떤 일정한 규칙성이 있음을 유추할 수 있다. 물이 일정

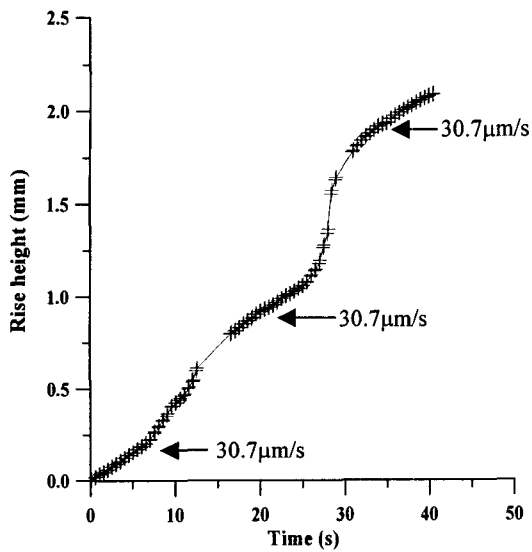


Fig. 6 Water rise kinetics in a xylem vessel of bamboo leaf

속도로 움직이다가, 갑자기 속도가 빨라진 후, 다시 예전의 일정 속도로 움직이고 있다. 연속적으로 촬영한 X-ray 영상을 연구실 홈페이지 (<http://efcl.postech.ac.kr/data/data.asp>)에 올려놓았는데, 여기서 보면 물관 내부에서 이와 같은 유동 패턴이 반복적으로 일어나고 있다. 이와 같이 특이한 유동 현상이 일어나는 원인에 대해서는 여러 가지 추론이 가능하지만 현재까지 얻은 결과 만으로는 단정하기 어렵다. 향후 가설을 세우고 이를 확인하여 근본 메커니즘을 밝히는 연구를 수행하고자 계획하고 있다.

3.5 횡 방향으로의 물의 이동

대나무 잎에 물을 공급하다가 어느 순간부터 물을 공급하지 않고 수액의 거동을 연속적으로 관찰한 결과, 물기둥이 연속성을 잃고 끊어져서 물기둥의 일부는 물관 아래쪽으로 빠져 나갔다. 반면 남은 일부의 작은 물기둥은 계속적으로 윗방향으로 올라갔는데, 올라가는 도중 점차 물기둥의 크기가 작아짐을 관찰하였다. 이것은 물관에서 물의 흐름이 수직 방향뿐 아니라, 물관에 붙어 있는 작은 크기의 구멍(pit)을 통해서 횡 방향으로도 흘러감을 알 수 있다.

3.6 수액 거동의 재현성

하나의 물관에 대해서 물관 내부에 물을 모두 빼 물관을 비운 후, 물을 공급하여 다시 물이 충전되어 가는 과정을 관찰하고 다시 물을 빠지게

하는 과정을 반복하였다. 하나의 물관에 대해 이와 같은 실험을 연속적으로 5 회 실험한 결과, 처음 2 번의 경우에는 비슷한 속도로 물관에 물이 충전되었지만, 3 번째 실험부터는 물이 다시 상승하는 속도가 현저히 떨어졌다. 그리고 5 번째 실험에서는 물이 올라가지 않았다. 이와 같은 실험을 통해 캐비테이션이 많이 일어났던 관일수록 물을 다시 빨아올리는데 어려움이 있다는 사실을 알 수 있었다.

4. 결 론

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

물관의 구조와 수액의 흐름을 동시 측정함으로써 이들 사이의 상관관계를 알 수 있었다. 물관 내부를 흘러가는 물의 선단이 물관 표면과 이루는 접촉각의 변화를 관찰하였으며, 물관 내부에 있는 천공관이 물의 이동을 일정시간 동안 방해하고 있음을 알 수 있었다.

대나무 잎 물관 내부에서는 한동안 $30.7\mu\text{m/s}$ 의 일정 속도로 움직이다가 간헐적으로 빠른 속도로 올라가는 것을 반복하는 유동패턴을 보여주었다. 그리고 한번 캐비테이션이 일어난 관에 물을 반복적으로 공급하게 되면 물을 빨아올리는 능력이 크게 떨어졌다.

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

후 기

본 연구는 POSRIP 사업의 지원을 통해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- (1) Schneider, H., Wistuba, N., Wagner, H.-J., Thurner, 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., Mimiety, 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 Zwienieki, 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.