

酸性雨, 乾燥 및 食鹽水 處理에 따른 잣나무와
은행나무 잎의 組織變化¹

金 甲 泰²

**Histological Changes in *Pinus koraiensis* Needles
and *Ginkgo biloba* Leaves Treated with
Simulated Acid Rain, Drought
and Salt Solution¹**

Gab Tae Kim²

要 約

本 研究는 잣나무와 은행나무에 대하여 人工酸性雨, 乾燥 및 食鹽水를 處理하여 可視的 葉被害를 誘發시켰을 때 樹種間 및 處理間의 葉被害에 대한 組織變化를 알아보고자 試圖되었다. 잣나무의 被害葉組織에서 共通의 觀察된 것은 葉肉組織의 破壞였으며, 酸性雨에 의한 被害葉組織에서는 表皮가 破壞되었으며, 乾燥에 의한 被害葉組織에서는 表皮, 葉肉組織 및 內皮가 수축되거나 變形되었으며, 食鹽水에 의한 被害는 節部와 移入組織(transfusion tissue)의 破壞 등이 각각 特異한 점으로 나타났다. 한편, 은행나무 被害葉組織에서 共通의 觀察된 것은 海綿組織의 破壞였으며, 酸性雨에 의한 被害로는 表皮와 柵狀組織의 破壞, 乾燥에 의한 被害로는 海綿組織의 수축·變形, 食鹽水에 의한 被害로는 內皮와 移入組織의 가벼운 肥大現象과 破壞 등이 각각 特異한 점이었다.

ABSTRACT

Anatomy of *Pinus koraiensis* needles and *Ginkgo biloba* leaves was investigated after exposure to simulated acid rain, drought and salt solution.

All of the stresses applied to the needle of *Pinus koraiensis* caused collapse of mesophyll tissues; epidermis was collapsed due to acid rain, severe compress and transformation of epidermis, mesophyll, and endodermis to drought, and collapse of phloem and transfusion tissue to salt solution.

Spongy mesophyll tissues, however, collapsed in the leaves of *Ginkgo biloba*; epidermis and palisade tissues collapsed due to acid rain, compress and transformation of spongy mesophyll tissues to drought, and hypertrophy and collapse of endodermis and transfusion tissues to salt solution.

Key words: Acid rain; drought; salt tolerance; *Ginkgo biloba*; *Pinus koraiensis*.

¹ 接受 6月 9日 Received on June 9, 1986.

² 尙志大學校 Sangji College, Wonju, Korea.

緒 論

大都市나 工團地域에서 흔히 볼 수 있는 可視的 葉被害, 早期落葉, 樹木의 生育不振 및 枯死木發生, 등은 公園樹나 街路樹를 포함한 綠地空間을 造成·管理하는 데 큰 問題인 데, 이러한 問題의 해결책을 강구하려면 먼저 正確한 被害原因을 糾明해야 할 것이다.

Carlson과 Gilligan³⁾은 乾燥, 鹽類, 冬期乾燥, 大氣汚染物質 등에 의한 몬데로사 소나무(Ponderosa pine)와 다글러스 잣나무(Douglas-fir)의 被害葉組織을 觀察, 比較했으며, 포플러⁵⁾ 동부와 허바라기^{6, 8)} 등의 酸性雨에 의한 被害葉組織이 觀察·報告되었다. SO₂나 O₃에 의한 被害葉組織에 대해 Evans와 Miller⁷⁾은 몬데로사 소나무, Smith와 Davis¹²⁾는 구주소나무를 대상으로 報告했으며, Hindawi 등¹⁰⁾은 자동차 배기가스에 의한 연초의, Bobrov²⁾는 Smog에 의한 귀리의 葉組織變化를 報告하였다. Hibben⁹⁾은 잎에서 즙을 빨아먹는 매미충(leafhopper)과 O₃에 의한 被害葉組織을 比較·觀察했으며, Linzon¹¹⁾은 針葉樹類의 病害에 의한 葉組織의 組織學的 變化를 比較·發表하였다. 한편, Carlson과 Gilligan,³⁾ 그리고 Stewart 등¹³⁾은 針葉樹의 각종 환경 stress에 의해서 나타나는 被害葉을 組織學的으로 比較함으로써, 被害診斷이 可能함을 說明하고 있으며, 많은 研究報告들^{7, 9, 12)}이 환경 stress別 被害葉의 組織學的 差異를 觀察·報告하였다.

이 研究는 大都市 및 工團地域에서 자라는 樹木에 흔히 發生하는 乾燥害와 鹽類被害, 發生 가능한 酸性雨에 의한 被害 등을 溫室內에서 2年生 은행나무와 4年生 잣나무에 人爲的으로 處理하여 可視的 葉被害를 誘發시킨 후, 葉組織을 採取하여 健全葉과 被害葉間의 組織學的 差異를 比較·觀察하고자 試圖되었다.

材料 및 方法

1. 材 料

試驗에 使用된 材料는 林木育種研究所에서 養苗된 4年生 잣나무(京畿 45號)와 서울大學校 農科大學 苗圃場에서 養苗된 2年生 은행나무 實生苗를 1984年 4월에 混合土壤(perlite: vermiculite: sand, 1:1:1, v/v)을 채운 plastic pot(上部直徑 23 cm, 높이 17 cm, 下部 直徑 16 cm)에 移植시켜 溫室內

에서 管理하다가 8月 初旬부터 人爲的 stress 處理을 하였다.

2. Stress 處理

잎이 充分히 成熟되었다고 생각되는 8月 12日부터, sulfuric acid를 수도물로 沸힌 酸性水(pH 2.5)를, NaCl을 수도물에 녹여 만든 0.4% 소금물을, 그리고 對照區로 수도물을, 각각 2日 1回 3分間 5 mm/cm²의 量을 물뿌리개를 使用하여 處理하였다. 乾燥處理로는 試驗始作日로부터 灌水를 중단하였다. 이와 같은 處理는 葉組織의 可視的 被害가 충분히 나타날 때까지 계속하였으며, 壞死斑이 形成된 葉組織을 採取하여 試料로 使用했다.

3. 현미경 檢鏡

採取된 葉組織을 F. A. A. 溶液에 固定시킨 후, Ethanol series로 脫水시키고 Xylene으로 試料를 옮겨 paraffin에 埋沒시켰다. 埋沒된 試料를 Rotary-microtome으로 12 μm 두께로 자르고, Xylene으로 paraffin을 除去한 후, safranin-fastgreen으로 二重染色하여 葉組織의 橫斷面을 400倍의 光學顯微鏡으로 觀察·比較하였으며, Berlyn과 Miksche¹⁾의 方法에 따랐다.

結果 및 考察

1. 잣나무 被害葉組織의 比較

健全葉과 被害葉의 組織을 觀察한 結果를 Table 1에 보였다. 健全葉組織은 被害葉組織에 비해 많은 部分들이 녹색으로, 그리고 一部는 검붉은 색으로 각각 염색되었다. 검붉게 염색된 細胞質은 葉綠體가 붉게 염색되고 세포질이 녹색으로 염색되는 safranin-fastgreen의 二重染色¹⁾으로 보아, 葉綠體가 多量 포함되어 있는 것으로 보여진다. 表皮組織은 붉게 염색되었으며, 內皮, 移入組織, 節部와 木部細胞들도 치밀하게 배열되어 있고, 樹脂溝는 2尺의 epithelial 細胞로 원형으로 배열되어 있다(Photo. A).

酸性雨에 의한 被害葉組織은 表皮의 破壞가 뚜렷하였으며, 氣孔周邊의 葉肉組織細胞들이 集中的으로 破壞되었다. 葉肉組織과 內皮의 細胞壁이 검붉게, 그리고 細胞質도 붉게 염색되었다. 이러한 結果는 safranin-fastgreen이 chromatin과 lignin을 붉게 염색하는 것¹⁾으로 보아, 葉綠體가 溶解·漏出되었으며, 細胞壁이 木化된 것에 起因한 것으로 보

Table 1. Qualitative characters between normal tissues and tissues injured by abiotic stress of *Pinus koraiensis* needle.

Treatment	Epidermis	Mesophyll	Resin duct	Endodermis	Transfusion tissue	Vascular tissue	
						Xylem	Phloem
Control (Normal)	Red cuticle, intact, turgid, light green cell wall	Fully turgid, light green cell wall, dark reddish or green cytoplasm	Intact, turgid, two layered cell, light green cell wall	Intact, turgid, light green cell wall	Intact, turgid, light green cell wall	Intact, red cell wall	Intact, light green cell wall
Acid rain	Some cuticle & epidermis were collapsed	Severely collapsed, dark reddish cell wall, reddish cytoplasm	Severely shrunked, dark reddish cell wall	Intact, turgid, light green cell wall	Some cells were collapsed, dark green cell wall	Intact, red cell wall	Intact, green cell wall, compressed
Drought	Red cuticle, intact, turgid dark greenish cell wall	All of the cells were nearly collapsed and shrunked	Severely shrunked, collapsed	Compressed, dark reddish & greenish cell wall	Compressed, dark reddish & greenish cell wall	Intact, red cell wall	Intact, green cell wall, severely compressed
Salt solution	Red cuticle, intact, turgid dark greenish cell wall	Some cells were collapsed, dark reddish cell wall, reddish cytoplasm	One layer cells were shrunked and collapsed, dark reddish or greenish cell wall	Intact, turgid, dark reddish or greenish cell wall	Some cells were collapsed, dark greenish or reddish cell wall	Intact, red cell wall	Some cells were collapsed, green cell wall

여진다. 樹脂溝는 심하게 수축·변형되었으며, 세포벽도 붉그스레하게 염색되었다. 移入組織과 內皮의 일부細胞가 破壞되었으며, 節部和 木部는 크게 손상을 입지 않은 것으로 나타났다(photo. B).

이와 같은 결과는 酸性雨에 의한 葉組織의 被害가 表皮→柵狀組織→海綿組織의 順으로 進전된다는 報告들^{4,5,6)}과 일치되는 것으로 보이나, 酸性雨에 의한 被害가 일어나기 전에 세포가 肥大해진다는 報告^{4,5)}와는 달리 本 研究에서는 세포의 肥大現象(cell hypertrophy)이 관찰되지 않았다. 이는 활엽과 침엽의 차이로 보여지나 앞으로 더욱 研究해 보아야 할 것으로 보인다. 本 研究에서의 酸性雨에 의한 被害는 大氣汚染에 의한 침엽수류의 被害葉組織을 보고한 Evans 와 Miller⁷⁾, Hibben⁹⁾ 등의 결과와는 달리, 內皮와 移入組織의 일부까지 被害가 나타났는데, 이 것은 處理酸性雨의 pH가 낮고, 處理가 오랫동안 지속되어 被害가 심하게 나타났기 때문으로 보인다.

乾燥에 의한 被害葉組織에서 表皮는 큰 손상을

입지 않았으나 全體가 심하게 수축·변형되었으며, 葉肉組織과 樹脂溝細胞들의 破壞, 수축·변형이 심하여 하나 하나의 세포들을 區分하기가 어려웠고, 葉肉組織의 細胞質은 대체로 검붉게 염색되었으며, 內皮와 移入組織의 세포도 또한 수축·변형되었으나, 節部, 木部세포들은 크게 손상을 입지 않았다(Photo. C). 건조에 의한 침엽수의 피해영조직을 관찰·보고한 Carlson 과 Gilligan³⁾의 결과와는 달리, 內皮와 移入組織에까지 被害가 나타난 것은 供試土壤의 通氣性이 좋아 被害가 심하게 나타난 것으로 보인다. 乾燥에 의한 被害葉組織은 다른 환경 stress에 의한 被害葉組織에 비해 表皮, 葉肉組織 및 內皮가 심하게 수축·변형된 것이 特異한 점이었다.

鹽類에 의한 被害葉組織은 表皮는 큰 손상이 없었으나, 氣孔周邊의 葉肉細胞들이 더러 破壞되었으며, 이는 鹽類에 의한 被害葉組織을 報告한 Carlson 과 Gilligan³⁾, 및 Stewart¹³⁾의 결과와 같았다. 葉肉組織과 內皮의 細胞質이 검붉게 염색되었으며, 細胞壁이 검붉게 또는 짙은 녹색으로 염색되었다. 移

入組織과 節部의 一部細胞들이 破壞되었으며, 細胞壁의 염색이 조금 다르게 나타났다(Photo. D).鹽類에 의한 被害葉組織의 特徵은 表皮나 內皮에서는 組織變化가 나타나지 않았으나 節部와 移入組織에서 一部細胞들이 破壞되어 觀察된 점이였다. 內皮에 被害가 없었다는 점은 Carlson 과 Gilligan³⁾의 報告와 일치하나 節部와 移入組織에서 被害가 나타난 것은 相異한 結果였다.

2. 은행나무 被害葉組織의 比較

은행나무 健全葉과 被害葉의 組織을 比較한 結果를 Table 2에 보였다. 酸性雨와 乾燥에 의한 被害葉組織은 試料가 不完全하여 endodermis와 vascular tissue를 觀察하지 못하였다. 健全葉組織은 氣孔部位를 제외하고는 모든 세포들이 치밀하게 배열되어 있으며, 木部를 제외한 모든 세포들의 細胞壁이 녹색으로 염색되었다. 葉肉細胞의 일부는 細胞質이 녹색으로 다른 일부는 검붉게 염색되었는데 이는 safranin-fastgreen의 염색반응¹⁾으로 보아 葉綠體가 多量 포함되어 있음을 보이는 것으로 보여진다. 녹색으로 염색된 세포질에서 葉綠體粒들이 세포내에

고르게 분산되어 있으며, 內皮, 移入組織, 本部 및 節部의 세포들도 치밀하게 배열되어 있다(photo. E).

酸性雨에 의한 被害葉組織의 경우는 表皮細胞의 細胞壁이 적녹색으로 염색되었으며, 일부는 심하게 破壞되었으며, 대체로 柵狀組織보다 海綿組織에서 被害가 심하게 나타났다. 이러한 결과는 酸性雨에 의한 葉組織의 被害가 表皮→柵狀組織→海綿組織의 順으로 진전된다는 報告들^{4, 5, 6)}로 미루어 볼 때 은행나무의 잎에서는 海綿組織이 柵狀組織보다 더 酸性物質에 약하다는 것을 보여주는 것이라 판단된다. 세포들의 原形質分離現象과 세포의 수축·변형이 심하게 나타났으며 대부분의 세포에서 葉綠體粒들이 엉기어 있는 것이 관찰되었으며, 건전엽조직에 비해서 세포의 크기가 상대적으로 작게 나타났다. 여기서 葉綠體粒들이 엉기어 나타난 것은 Evans와 Miller⁷⁾가 O₃에 의한 몬테로사 소나무 피해엽에서 보고한 것과 유사한 결과였으며, 세포의 크기가 상대적으로 작게 나타난 것은 Ferenbaugh⁸⁾가 동부에 산성우를 처리해서 나타난 피해와 같은 결과이나, 피해가 일어나기 전에 세포가 비대해졌음을 밝힌 Evans 등^{4, 5)}의 보고와는 다른 경향이였다. 이러한

Table 2. Qualitative characters between normal tissues and tissues injured by abiotic stress of *Ginkgo biloba* leaves.

Treatment	Epidermis	Mesophyll tissue	Endodermis	Vascular tissue	
				Xylem	Phloem
Control (Normal)	Intact, turgid, light green cell wall, light green or dark reddish cytoplasm	Intact, fully turgid, light green cell wall, reddish green plastids, dispersed	Intact, turgid, light green cell wall	Intact, red cell wall	Intact, light green cell wall
Acid rain	Some cells were collapsed, reddish green cell wall	Most cells were collapse, shrunked, plasmolysis, clumping of plastids, most cells relatively small	—*	—	—
Drought	Intact, some cells were plasmolyzed light green cell wall	Mainly spongy cells were collapsed, most cells were shrunked, plasmolysis, relatively small, dark reddish or greenish cytoplasm	—	—	—
Salt solution	Intact, trugid, light green cell wall	Spongy cells were mainly collapsed, shrunked, plasmolyzed hypertrophied	Hypertrophied, light green cell wall	Intact, dark reddish cell wall, hypertrophy of transfusion tissues	Compressed, green cell

* Indicates that it was not observed.

사실로 볼 때 산성우치리에 의해 나타난 세포의 크기는 植物種에 따라 相異한 반응을 보일 수 있을 것으로 생각된다. 산성우에 의한 피해엽조직에서 다른 환경 stress 에 의한 피해엽조직과 구별되는 점은 表皮와 柵狀組織細胞들의 破壞가 가장 뚜렷하였다(Photo. F).

乾燥에 의한 被害葉組織에서 表皮의 손상은 크게 나타나지 않았으나 下層表皮의 일부세포에서 原形質分離現象이 관찰되었고, 海綿組織細胞들이 심하게 수축·변형되었으며, 破壞되었고, 柵狀組織細胞들이 질서정연하게 배열된 모양이 特異하였다. 대부분의 세포들이 건전엽조직에 비해서 훨씬 작은 것으로 나타났다. 따라서 은행나무에서 건조에 의한 被害葉組織의 特徵으로는 세포들의 크기가 작아졌으며, 柵狀組織細胞들이 질서정연하게 배열되었으며, 海綿組織細胞들이 심하게 수축·변형된 점 등이다(Photo. G).

鹽類에 의한 被害葉組織에서는 表皮의 손상은 거의 찾아 볼 수 없었으며, 柵狀組織細胞들의 細胞質이 건전엽조직에 비해 불그스레하게 염색되었으며, 海綿組織細胞들이 심하게 破壞되었다. 또한 內皮와 移入組織의 細胞들 중에서 일부는 가벼운 肥大現象을 보이며, 일부는 破壞되었음이 관찰되었다(Photo. H). 따라서 鹽類에 의한 被害葉組織과 구별되는 점은 內皮와 移入組織의 일부세포들에서 가벼운 肥大現象과 破壞가 일어난 것이다.

結 論

酸性雨處理, 乾燥處理 및 鹽類處理 등의 人爲의 環境 stress 에 따른 被害葉組織이 健全葉組織과 어떠한 組織學的 差異가 있는가를 알아보고자 은행나무와 잣나무를 對象으로 溫室內에서 可視의 葉被害를 誘發시킨 후 組織을 檢鏡, 比較한 結果, 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 잣나무 被害葉組織에서 共通의으로 觀察된 것은 葉肉細胞들의 심한 被害이었다.
2. 잣나무 被害葉組織에서, 酸性雨處理에 의해서는 表皮가 破壞되었음이, 乾燥處理에 의해서는 表皮, 葉肉組織 및 內皮의 심한 수축·변형이 일어났음이, 그리고 鹽類處理에 의해서는 篩部와 移入組織의 일부細胞가 破壞되었음이, 각각 特異적인 現象이었다.
3. 은행나무 被害葉組織에서 共通의으로 觀察된

것은 海綿組織의 細胞들이 被害를 받았다는 점이다.

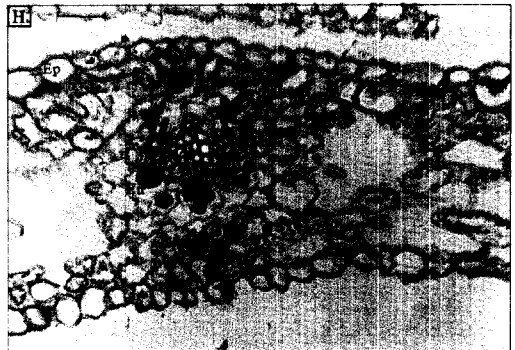
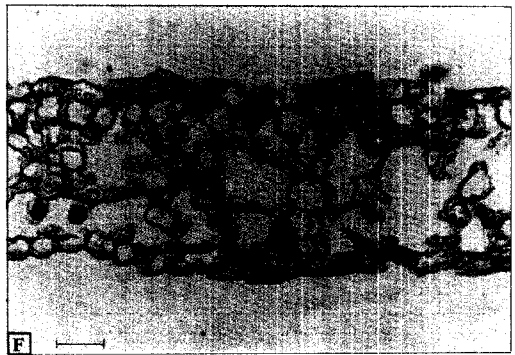
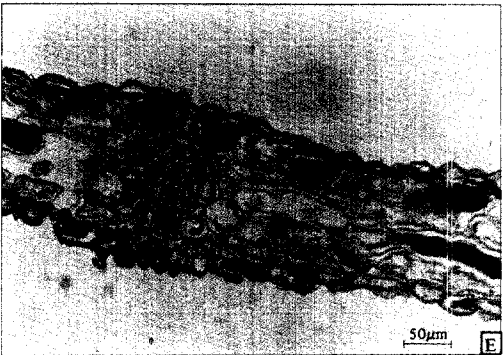
4. 은행나무 被害葉組織에서 酸性雨處理에 의해서는 表皮와 柵狀組織의 細胞들이 破壞되었음이, 乾燥處理에 의해서는 海綿組織細胞들이 심하게 수축·변형되었음이, 鹽類處理에 의해서는 內皮와 移入組織의 細胞들 중에서 일부가 가벼운 肥大現象과 손상을 입었음이 각각 特異적인 現象이었다.

5. 이상과 같이 溫室에서 人爲의 stress 를 處理했을 때, 어느 정도 組織學的으로 相異한 反應이 나타났으며, 이러한 점은 被害葉의 組織觀察이 被害原因을 밝히는 데 利用될 수 있음을 보여주는 結果라 생각된다.

引用 文 獻

1. Berlyn, G. P. and J. P. Miksche. 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa. 326 pp.
2. Bobrov, R. A. 1952. The effect of smog on the anatomy of oat leaves. Phytopath. 42: 558-563.
3. Carlson, C. E. and C. J. Gilligan. 1983. Histological differentiation among abiotic causes of conifer needle necrosis. USDA For. Ser. Res. Paper INT-298. 18pp.
4. Evans, L. S. 1980. Foliar responses that may determine plant injury by simulated acid rain. p 239-257. in Polluted Rain, ed. by Toribara, T. Y., Miller, M. W. and P. E. Morrow. Plenum Press, N. Y.
5. Evans, L. S., Gmur, N. F. and F. D. Costa. 1978. Foliar response of six clones of hybrid poplar to simulated acid rain. Phytopath. 68: 847-856.
6. Evans, L. S., Gmur, N. F. and F. D. Costa. 1977. Leaf surface and histological perturbations of leaves of *Phaseolus vulgaris* and *Helianthus annuus* after exposure to simulated acid rain. Amer. J. Bot. 64: 903-913.
7. Evans, L. S. and P. R. Miller. 1975. Histological comparison of single and additive O₃ and SO₂ injuries to elongating ponderosa pine needle. Amer. J. Bot. 62: 416-421.
8. Ferenbaugh, R. W. 1976. Effects of simulated

- acid rain on *Phaseolus vulgaris* L. (Fataceae). Amer. J. Bot. 63: 283-288.
9. Hibben, C. R. 1969. The distinction between injury to tree leaves by ozone and mesophyll-feeding leaf-hoppers. Forest Sci. 15: 154-157.
 10. Hindawi, I. J., Dunning, J. A. and C. S. Brandt. 1965. Morphological and microscopical changes in tobacco, bean, and petunia leaves exposed to irradiated automobile exhaust. Phytopath. 55: 27-30.
 11. Linzon, S. N. 1967. Histological studies of symptoms in semimature needle blight of eastern white pine. Can. J. Bot. 45: 133-143.
 12. Smith, H. J. and D. D. Davis. 1978. Histological changes induced in scotch pine needles by sulfur dioxide. Phytopath. 68: 1711-1716.
 13. Stewart, D., Treshow, M. and F. M. Harner. 1973. Pathological anatomy of conifer needle necrosis. Can. J. Bot. 51: 983-988.



- Photo. A.** Cross sectioned normal needle of *Pinus koraiensis*: phloem(Ph), xylem(Xy), transfusion tissue(Tt), endodermis(En), mesophyll tissue(Mt), resin duct(Rd), and epidermis(Ep). Cuticle and xylem were stained red and the other parts of the tissues green. Most cells were arranged intact and turgid.
- Photo. B.** Cross section of acid rain injured, *Pinus korainensis* needle. Epidermis, mesophyll tissue, resin duct, endodermis, and transfusion tissue were collapsed. Xylem was turgid and phloem compressed. Mesophyll cell wall was stained dark reddish and cytoplasm reddish.
- Photo. C.** Cross section of drought injured, *Pinus koraiensis* needle. All of the tissues, except for xylem, were compressed and transformed severely. Mesophyll tissue and resin duct were collapsed, and phloem tissue compressed.
- Photo. D.** Cross section of salt injured *Pinus koraiensis* needle. Mesophyll tissue, transfusion tissue, phloem, and resin duct were collapsed, but endodermis and epidermis were somewhat turgid. Mesophyll cell wall was stained dark reddish and cytoplasm reddish.
- Photo. E.** Cross section of normal *Ginkgo biloba* leaves: vascular tissue(Vt), endodermis(En), mesophyll tissue(Mt), and epidermis(Ep). Most of the cells, except for stomatal cavity, were arranged intact and turgid. plastids in mesophyll cells were dispersed.
- Photo. F.** Cross section of acid rain injured, *Ginkgo biloba* leaf. Epidermis and mesophyll cells were severely plasmolyged shrunk, and collapsed. Plastids in mesophyll cells were clumped. Most of the cells were relatively small.
- Photo. G.** Cross section of drought injured, *Ginkgo biloba* leaf. Spongy mesophyll cells were severely collapsed. Most of the cells were relatively small and plasmolyged.
- Photo. H.** Cross section of salt injured, *Ginkgo biloba* leaf. Mesophyll cells were severely collapsed and slightly hypertrophied. Endodermis and transfusion cells were hypertrophied, and some of them were collapsed.