Journal of Life Science 2005, Vol. 15. No. 6. 889~894 ©JLS

애기장대의 shoot 생장과 내부조직에 미치는 인공산성비의 영향

박 종 범*

신라대학교 자연과학대학 생물과학과

Received August 31, 2005 / Accepted November 16, 2005

Effects of Simulated Acid Rain on the Shoot Growth and Internal Tissue of *Arabidopsis thaliana*. Jong-Bum Park*. *Dept. of Biological Science, Silla University, Busan 617-736, Korea* – This experiment was carried out to investigate the effects of simulated acid rain (SAR) in the shoot growth and internal structure of *Arabidopsis thaliana*. In the shoot growth, the plants treated with SAR (pH 3.0) for 15 days showed no morphological change compared to the control plants. Some change was observed in the internal structure of the stems: the epidermis and cortex tissues of the stems treated with SAR were partly damaged. The plants treated with SAR showed no noticeable difference compared to the control plants, but morphological changes were observed in the leaf. The leaves of the plants treated with SAR showed many white necrotic spots on the part of upper epidermis. A light microscopic examination of the leaves with necrotic spots showed that the upper epidermis was severely compressed with the damaged cuticle layer and the mesophyll cells were also damaged and compressed. However, noticeable structural change of vascular bundle cells was not observed.

Key words – *Arabidopsis thaliana*, simulated acid rain, morphology, internal structure

산성비는 빗물의 정상 수소이온농도(pH)인 5.6보다 낮은 상태의 강산성의 비를 말하는데, 공장이나 자동차 배기가스에서 배출되는 아황산가스와 질소산화물이 대기중의 습기와 작용해 황산과 질산으로 변하여 공중에 떠 있다가 비에 섞여 내리는 것이다. 산성비는 토양의 산성화를 유도하여 자연 생태계를 파괴시킬 뿐만 아니라 직접적으로 식물의 줄기와 잎 생장과 내부구조 변화에 커다란 영향을 끼친다. 산성비가 식물의 생장과 내부구조 변화에 미치는 영향에 관한 연구는 인공산성비를 사용하여 약 20년 전부터 시작되었으며 생장에 미치는 영향은 매우 다양하다. pH 3.0~4.0 범위의 인공산성비에 노출된 송백류 식물과 강남콩, yellow birch 등의 식물에서 생장이 감소되었음이 보고되었으며[6,7,10], 또한 여러 작물에서 생장과 수확량이 감소되었음을 보고하였다[4]. 그리고 산성비에 오랜 기간 노출된 수목에서도 생장이 감소되거나 고사현상을 일으키는 것으로 보고되었다[1,20].

인공산성비에 의한 식물의 구조변화 연구는 주로 잎 표면의 관찰로 이루어졌다. pH 2.3~3.1 범위의 인공산성비를 처리하였을 때 나타나는 잎에서의 손상을 조사한 결과, 대부분의 손상은 유관속조직, 기공 그리고 모용근처에서 나타났다[3]. 특히 pH 3.0~3.2의 인공산성비를 처리한 식물에서는 잎의 큐티클층을 손상시켜 표피에 피해를 주고, 잎으로부터 칼슘, 마그네슘, 칼륨 등과 같은 잎 성분을 파괴시켜 괴사현상이 관찰되었음이 보고되었다[3,13]. 인공산성비는 또한 엽육조직 세포의 파괴로 잎 조직을 비정상적인 구조로 변화시키는 것으로 보고되었다[11]. 인공산성비 처리에 의한 잎 조직의 변화에 대한 조직학적 관찰은 옥수수(*Zea may*) 잎에서 조사되었다[13]. pH 3.0의 인공산성비를 3주 동안 처리한 옥수수 잎 표면에서 조직상해로 인하여 직경 1 mm 크기의 흰 괴사반점이 관찰되었는데, 이러한 조직상해는 유관속조직과 기공 근처에서 주로 일어남에 따라 괴사 반점은 잎 표면의 선택적 압착현상에 의하여 형성된다고 보고되었다[13].

애기장대(*Arabidopsis thaliana*)는 십자화과 초본식물로서 그 크기가 작아서 좁은 공간의 실험실내에서나 멸균된 배양배지에서도 배양이 가능하고, 한 식물로부터 많은 종자를 생산하며(about 10,000 seeds per plant), 6~8주의 짧은 생활사를 가지고 있어서 식물학의 여러 연구 분야에서 model plant로 많이 이용되고 있다[2,5]. 이러한 장점을 이용하여 본 실험에서는 애기장대를 실험재료로 사용하여 인공산성비 처리 후 식물에 직접적인 피해가 나타나는 줄기와 잎의 생장 변화와 외형적인 손상여부를 조사하였고, 또한 줄기와 잎의 내부 구조 변화를 광학현미경으로 관찰하여 산성비가 식물의 shoot 생장과 내부조직에 어떠한 영향을 미치는가를 연구하였다.

재료 및 방법

실험재료

애기장대(*Arabidopsis thaliana*) 종자는 미국 Ohio State University의 Arabidopsis Biological Resource Center (ABRC)에서 분양받아 실험재료로 사용하였다.

애기장대 재배

애기장대 종자를 시판 중인 원예용상토(상품명; 만석꾼)가

***Corresponding author**
Tel : +82-51-999-5472, Fax : +82-51-999-5176
E-mail : jbpark@silla.ac.kr

담긴 육묘판에 파종한 후 랩을 씌워 2일 동안 4℃에서 저온처리한 다음 항온항습배양기(growth chamber)에 옮겨서 재배하였다. 항온항습배양기내의 환경조건은 16시간의 명처리와 8시간의 암처리로 조정된 광주기하에서 온도는 22±1℃로, 습도는 50~80%로 유지되도록 조절하여 주었다. 배양 약 2주 후면 싹이 나오는데 이때 랩을 제거하고 적절한 습도가 유지되도록 2~3일 마다 수시로 수분상태를 점검하여 증류수를 공급하여 주었다.

인공산성비처리 및 shoot 생장 측정

인공산성비 처리는 식물에 직접 분무하는 방법으로 처리하였다. 파종 후 40일이 경과하여 어느 정도 성숙한 애기장대에 pH 3.0의 인공산성비 용액(Table 1)을 25개 식물이 들어있는 육묘판에 250 mL씩 하루에 한번, 15일 동안 식물체의 선단으로부터 50 ㎝ 높이에서 분무기로 분무하여 주었다. shoot 생장을 측정하기 위하여 15일동안 산성비를 처리한 식물 50 개체와 산성비를 처리하지 않은 정상식물 50 개체의 줄기 길이와 직경 및 잎 개수와 표면적을 측정하였고 동일한 실험을 3번 반복하여 평균치를 구하였다.

내부조직 관찰

인공산성비를 처리한 애기장대 줄기와 잎의 내부구조 관찰을 위하여 산성비를 처리한 5일, 10일, 15일 후 줄기와 잎을 0.8 cm 크기로 절단하여 FAA 고정액으로 줄기는 48 시간, 잎은 24 시간 동안 4℃에서 고정하면서 탈기하였다. 고정이 끝난 재료는 알코올 상승농도 순으로 탈수하여 잎은 xylene으로 치환한 다음 paraffin을 침투, 매몰시켜서 block을 만들었고, 줄기는 LR White를 침투, 매몰시켜 65℃에서 2일 동안 열중합반응시켜 block을 만들었다. 제조된 paraffin block은 rotary microtome을 사용하여 10 ㎛ 두께로 절단하였으며, LR White block은 유리칼과 ultramicrotome을 사용하여 2~3 ㎛ 두께로 절단하였다. 절단된 재료들은 0.05% toluidine blue로 염색하여 광학현미경 관찰하고 사진촬영하였다. 산성비 처리 후 괴사 반점이 나타난 잎은 잘 말려서 주사전자현미경으로 관찰하여 촬영하였다.

Table 1. Compound of simulated acid rain

Compound	mg/L
$(NH_4)_2SO_4$	47.40
Na_2SO_4	48.00
$MgSO_4$ $7H_2O$	35.50
KNO_3	27.20
$Mg(NO_3)_2$ $6H_2O$	22.00
$CaCl_2$ $2H_2O$	72.00

결과 및 고찰

Shoot 생장 및 외부형태 변화

애기장대 식물에 인공산성비를 직접 처리한 후, 산성비를 처리하지 않은 정상식물과의 전체적인 줄기 생장과 외부 형태 변화를 조사하기 위하여 줄기 길이와 직경을 측정하였다. pH 3.0의 인공산성비를 15일 동안 처리한 애기장대의 줄기 길이는 산성비를 처리하지 않은 정상식물의 줄기보다 약 0.8% 정도 감소되어 전체적으로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 1). 또한 줄기 직경을 측정한 결과, pH 3.0의 인공산성비를 15일 동안 처리한 애기장대의 줄기 직경은 산성비를 처리하지 않은 정상식물에 비하여 거의 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 2). 산성비를 처리한 식물과 정상식물의 줄기 외부형태도 거의 차이가 없는 것으로 관찰되었다. 따라서 산성비를 처리한 식물과 정상식물과의 줄기 생장과 외부형태 변화를 관찰한 결과, 줄기 생장은 전체적으로 큰 차이는 관찰되지 않았으며 외형적인 형태 변화도 나타나지 않았음을 알 수 있었다.

인공산성비를 애기장대에 처리한 후 정상식물과 전체적인 잎 생장을 비교하기 위하여 잎 개수와 표면적을 측정하였다. 인공산성비를 처리한 식물과 정상식물의 잎 개수를 측정한 결과, pH 3.0의 인공산성비를 15일 동안 처리한 애기장대의 잎 개수는 산성비를 처리하지 않은 정상식물과 전체적으로 거의 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 3). 또한 잎 표면적을 측정한 결과, pH 3.0의 인공산성비를 15일 동안 처리한 애기장대의 잎 표면적은 산성비를 처리하지 않은 정상식물의 잎 표면적에 비하여 약 4.8% 정도 감소되어 약간의 차이가 있는 것으로 나타났다(Fig. 4). 애기장대 식물에 15일 동안 pH 3.0

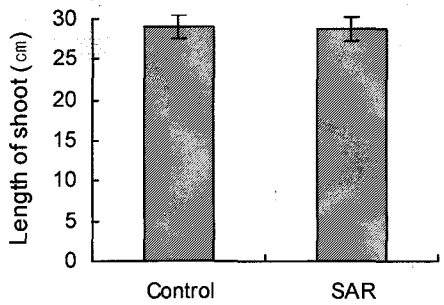

Fig. 1. Shoot length of *A. thaliana* treated with simulated acid rains for 15 days.

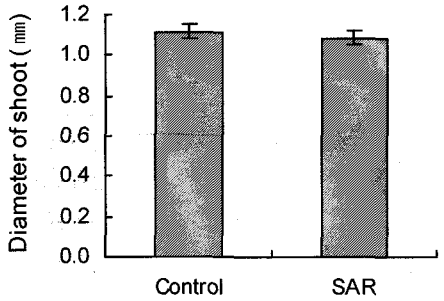

Fig. 2. Shoot diameter of *A. thaliana* treated with simulated acid rains for 15 days.

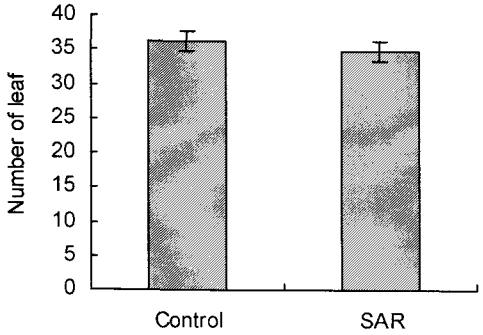

Fig. 3. Leaf number of *A. thaliana* treated with simulated acid rains for 15 days.

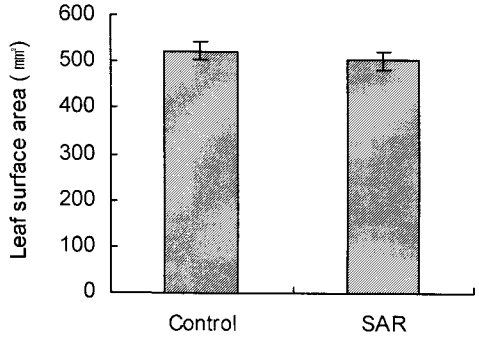

Fig. 4. Leaf area of *A. thaliana* treated with simulated acid rains for 15 days.

의 인공산성비를 직접 처리한 후, 산성비를 처리하지 않은 정상식물의 잎과 외부형태를 비교한 결과, 인공산성비를 처리한 식물의 대다수 잎에서는 표면에 직경 약 1 ㎜ 크기의 괴사반점이 여러개 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 5). 산성비 처리에 의해 잎에 형성된 괴사반점은 병원성 미생물에 의한 생물학적 요인이나 오존과 같은 무생물학적인 요인에 의해서 관찰되는 현상인데, 이 과정에 관여하는 유전자의 발현양상과 신호전달물질에 의해서 유도되는 것으로 추측된다[19]. 정상적인 잎에 비해 인공산성비를 처리한 식물의 잎은 잎 표면이 매우 거칠었으며 엽신의 끝부분에 황화현상이 관찰되기도 하였다. 이와같이 인공산성비를 처리한 식물의 잎에서 황화현상이 나타나는 것은 인공산성비가 잎의 엽록소를 파괴한 결과로 생각된다[11]. 따라서 산성비를 처리한 식물과 정상식물과의 잎 생장과 외부형태 변화를 관찰한 결과, 잎 생장은 전체적으로 큰 차이가 관찰되지 않았으나 외부 형태에는 황화현상과 괴사반점이 관찰되는 등 뚜렷한 변화가 나타났음을 알 수 있었다. 애기장대에 인공산성비를 처리하였을 때 줄기보다는 잎이 외형적으로나 내부적으로 변화가 뚜렷하게 관찰되었는데, 이는 잎이 줄기보다 산성비에 직접 노출되는 면적과 빈도가 상대적으로 매우 높기 때문인 것으로 생각된다.

Fig. 5. Leaf morphology and necrosis spot formation on the leaves of *A. thaliana* treated with simulated acid rains for 15 days. A, normal leaves; B, leaves treated with simulated acid rains.

Shoot 내부조직 변화

애기장대 식물에 인공산성비를 직접 처리한 후 줄기와 잎의 내부구조 변화를 광학현미경으로 관찰하였다. 인공산성비를 처리한 애기장대의 줄기는 외형적으로는 뚜렷한 변화가 관찰되지 않았으나 내부구조에서 변화가 나타났음이 관찰되었다. 인공산성비를 처리하지 않은 정상식물의 줄기 내부구조를 관찰한 결과, 표피와 피층, 유관속 및 수(pith) 등 모든 조직이 정상적인 구조를 하고 있었다(Fig. 6A). 반면에 pH 3.0의 인공산성비를 5일 동안 처리한 식물 줄기에서는 표피조직이 일부 압착되어 있음이 관찰되었고(Fig. 6B), 10일 동안 산성비를 처리한 식물의 줄기에서는 표피세포와 일부 피층 세포의 파괴가 관찰되었다(Fig. 6C). 특히 15일 동안 산성비를 처리한 식물의 줄기에서는 표피세포와 피층 세포 일부분이 많이 파괴되었음이 관찰되었으나, 유관속 조직과 수 부위는 정상적인 구조를 하고 있었다(Fig. 6D). 이러한 결과는 pH 3.0과 같은 강한 산도의 산성비가 줄기의 내부구조에 영향을 미칠 수 있음을 나타낸다. 또한 pH 3.0의 인공산성비에 노출된 식물의 줄기에서는 표피와 일부 피층 부위는 산성비가 침투하여 손상을 받으나 피층 안쪽에 위치하고 있는 조직들은 산성비가 더 이상 안쪽으로 침투하지 못하여 영향을 받지 않은 것으로 생각된다.

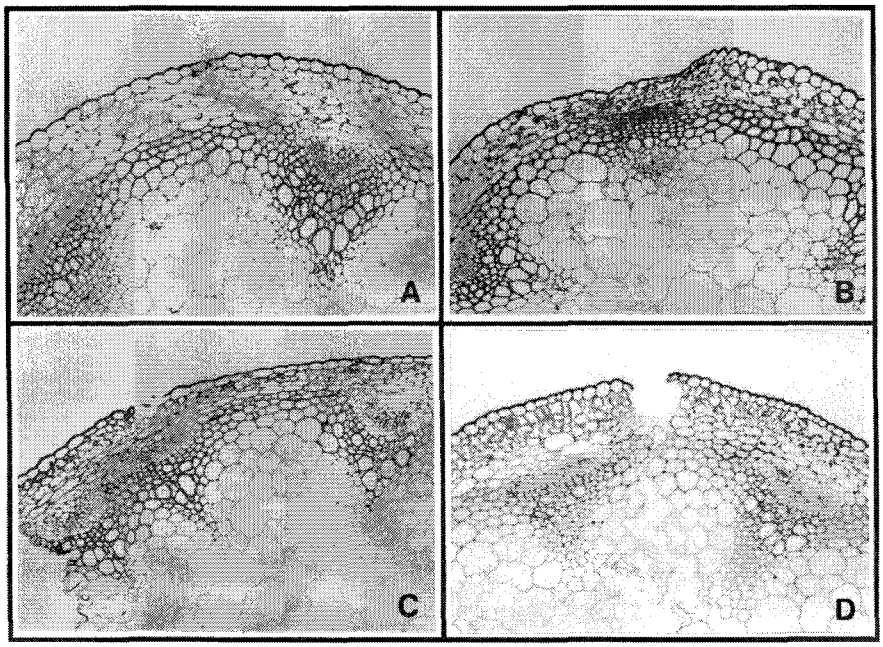

Fig. 6. Light micrograph of *A. thaliana* stems treated with simulated acid rain. ×100. A, normal stem; Stem treated with simulated acid rains for 5[B], 10[C], 15[D] days.

인공산성비를 처리한 애기장대의 잎에서는 외형뿐만 아니라 내부 구조도 변화가 뚜렷하였다. 인공산성비를 처리하지 않은 정상식물의 잎에서는 표피세포가 정상적인 구조를 하고 있었으며 책상조직과 해면조직을 포함하는 엽육조직의 세포 배열이 치밀하였고 유관속 조직은 정상적인 구조를 하고 있었다(Fig. 7A). 그러나 pH 3.0의 인공산성비를 5일 동안 처리한 잎의 내부구조를 관찰한 결과, 상표피 세포와 바로 아래 책상조직 세포의 부분적인 붕괴가 관찰되었다(Fig. 7B). 산성비를 처리한 10일 후의 잎에서는 책상조직과 해면조직의 붕괴가 관찰되었으며(Fig. 7C), 산성비를 처리한 15일 후의 식물에서 괴사반점이 나타난 잎의 내부구조를 관찰한 결과, 표피세포는 압착되었고 책상조직을 포함한 엽육조직의 세포들도 심하게 파괴되어 수축된 반면에 유관속 조직의 구조적 변화는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 7D). 이러한 결과는 산성비에 노출된 잎에 피해를 일으키는 산성비의 pH는 일반적으로 3.0~3.2의 범위라는 연구보고[15,17]와 거의 일치한다. 그런데 은행나무 잎에 pH 2.5의 인공산성비를 처리한 실험에서는 표피세포와 유관속 조직세포가 현저히 파괴되었다는 보고[16]도 있는데, 유관속 조직의 파괴 원인은 아직까지 명확하게 설명되지 않고 있다. 산성비를 처리하지 않은 정상식물 잎과 pH 3.0의 인공산성비 처리에 의하여 괴사반점이 나타난 잎의 표면을 주사전자현미경으로 관찰한 결과, 정상식물의 잎에서는 상표피와 모용이 정상적인 구조를 하고 있었으나(Fig. 8A), 괴사 반점은 산성비에 직접적으로 노출되는 상표피의 모용 부위에서 주로 나타났으며, 그 부위는 조직이 파괴되어 움푹 패인 것으로 관찰되었다(Fig. 8B). 산성비에 의한 조직 상해의 일종인 이러한 괴사반점은 잎 표면에

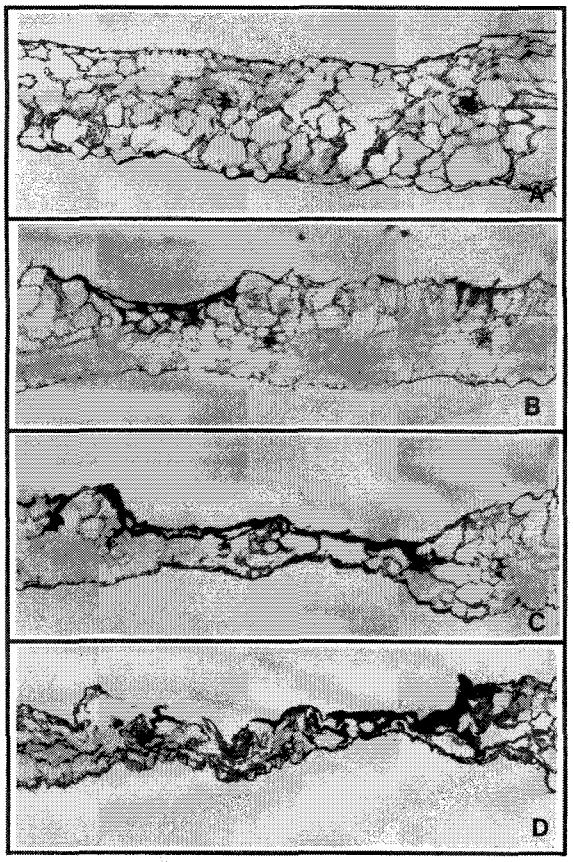

Fig. 7. Light micrograph of *A. thaliana* leaves treated with simulated acid rain. ×100. A, normal leaf; Leaf treated with simulated acid rains for 5[B], 10[C], 15[D] days.

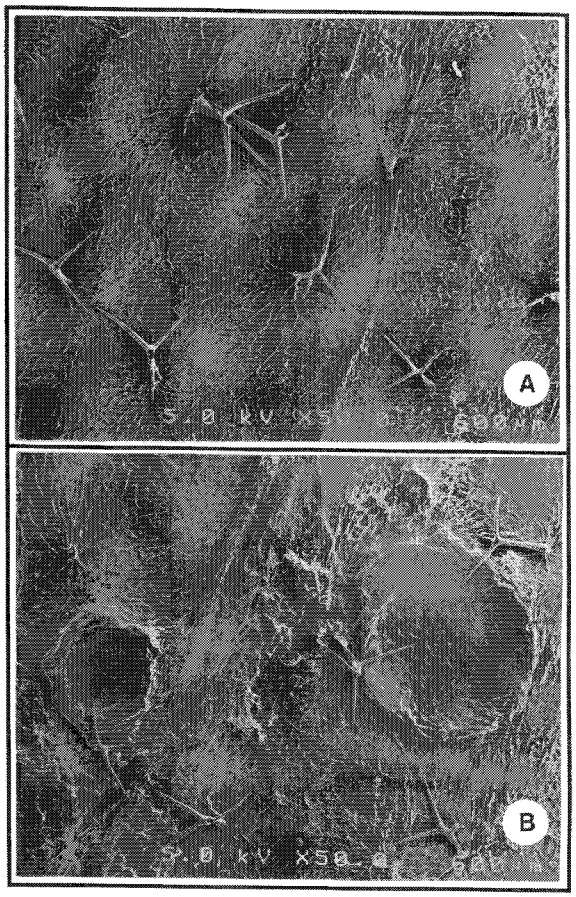

Fig. 8. Scanning electron micrograph of upper leaf surface of *A. thaliana* treated with simulated acid rain. ×50. A, normal leaves; B, leaves treated with simulated acid rains.

나타나는 특징적인 현상으로 해바라기 및 밀이나 옥수수와 같은 작물의 잎에서도 유관속 조직, 모용과 기공 가까운 부위에서 나타났다는 보고와 일치하는 결과이다[8,13,14]. 한편 강낭콩에서는 모용과 기공이 관련없다는 보고를 한 바 있는데[18], 이와 같은 차이는 표피세포의 구조와 관련이 있을 것으로 생각되며 피해의 정도는 인공산성비의 산도와 잎 면적, 잎의 습윤도 등에 따라 영향을 다르게 받을 것으로 사료된다. 또한 참나무과 식물의 일종인 *Quercus palustris*나 자주닭개비에 인공산성비를 처리하면 엽육조직 세포의 이상 비대현상이 관찰되었다는 보고[3]와는 달리 본 실험에서는 엽육조직에서 세포의 이상 비대현상은 관찰되지 않았다. 이런 결과는 산성비를 처리한 잣나무와 은행나무 및 곰솔 잎에서 엽육조직의 이상 비대 현상이 나타나지 않은 보고[9,12]와 일치하는 결과이다. 그러므로 산성비에 의한 엽육조직 세포의 비대현상은 종에 따라 다른 것으로 생각된다.

요 약

인공산성비를 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)에 처리하였을 때 나타나는 줄기와 잎의 생장 변화와 내부구조의 형태변화를 광학현미경으로 관찰하였다. pH 3.0의 인공산성비를 애기장대에 15일 동안 직접 처리한 식물의 줄기 생장은 산성비를 처리하지 않은 정상식물의 줄기 생장과 거의 차이가 없었으며, 외형적인 형태변화도 관찰되지 않았다. 인공산성비를 처리한 식물 줄기의 내부구조는 정상식물 줄기에 비하여 표피조직과 피층 조직이 일부분 파괴되어 산성비에 의한 피해가 있었음이 관찰되었다. 인공산성비를 처리한 식물의 잎 생장은 정상식물 잎 생장과 비교하여 차이가 거의 나타나지 않았으나, 외형적인 형태에서는 변화가 관찰되었다. 인공산성비를 처리한 식물의 잎 표면에서는 상표피의 많은 부위에서 흰 괴사반점이 뚜렷하게 관찰되었다. 인공산성비에 의하여 괴사반점이 나타난 잎의 내부조직을 광학현미경으로 관찰한 결과, 잎 표피세포는 큐티클층이 파괴되어 압착되었고 엽육조직의 세포들도 역시 심하게 파괴되어 수축된 반면에 유관속 조직의 구조적 변화는 거의 관찰되지 않았다.

참 고 문 헌

1. Binns, W. O. and D. B. Redfern. 1983. Acid rain and forest decline in West Germany. Forestry Commission Res. Dev. Paper 131, 13.
2. Davis, K. R. 1992. *Arabidopsis thaliana* as a model host for studying plant-pathogen interactions, *In* Molecular Signals in Plant-Microbe Communications. D.P.S. Verma (ed.), CRC Press Inc., Boca Raton, pp. 393-406.
3. Evans, L. S. and T. M. Curry. 1979. Differential responses of plant foliage to simulated acid rain. Am. J. Bot. **66**, 953-962.
4. Evans, L. S., K. F. Lewin, E. M. Owen and K. A. Santucci. 1986. Comparison of yields of several cultivars of field-grown soybeans exposed to simulated acidic rainfall. New Phytol. **102**, 409-417.
5. Feldmann, K. A. 1991. T-DNA insertion mutagenesis in *Arabidopsis*: mutational spectrum. The Plant Journal **1**, 71-82.
6. Ferenbaugh, R. W. 1976. Effect of simulated acid rain *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). Am. J. Bot. **63**, 283-288.
7. Hindawi, I. J., J. A. Rea and W. L. Griffis. 1980. Response of bush bean exposed to acid mist. Am. J. Bot. **67**, 168-172.
8. Johnston, J. W. Jr. and D. S. Shriner. 1985. Response of three wheat cultivars to simulated acid rain. Environ. Exp. Bot. **25**, 349-353.
9. Kim, G. T. 1986. Effects of simulated acid rain on growth and physiological characteristics of *Ginkgo biloba* L. seedling and on chemical properties of the tested soil. Seoul National Univ., Ph.D. Dissertation.
10. Kim, G. T. 1991. Effect of artificial acid rain on seed germination and seedling growth of several conifers. J. Korean For. Soc. **80**, 237-245.
11. Kim, M. R. and W. Y. Soh. 1994. Growth response of *Ginko biloba* and *Pinus thunbergii* exposed on simulated

acid rain. J. Plant Biology **37**, 93-99.
12. Kim, M. R. and W. Y. Soh. 1995. Effect of simulated acid rain on foliar structural changes of *Ginkgo biloba* and *Pinus thunbergii*. J. Plant Biology **38**, 79-86.
13. Knittel, R. and J. Pell. 1991. Effects of drought stress and simulated acid rain on foliar conductance of *Zea mays* L.. Environ. Exp. Bot. **31**, 79-90.
14. Larsen, B. R. 1986. *In vivo* buffering of simulated acid rain drops on leaves of selected crops. Water, Air, and Soil Pollut. **31**, 401-407.
15. Lee, J. J., G. E. Neely, S. C. Perrigan and L. C. Grothaus. 1981. Effect of simulated sulfuric acid rain on yield, growth and foliar injury of several crops. Environ. Exp. Bot. **21**, 171-185.
16. Lee, K. H., G. C. Chung and J. S. Lee. 1993. Effects of simulated acid rain on stomatal resistance, wettability and anatomical changes in *Quercus acutissima* and *Ginkgo biloba* seedlings. J. Korean For. Soc. **82**, 337-346.
17. Mohamed, M. B. 1978. Response of vegetable crops to acid rain under field and simulated conditions. Ph. D. thesis. Cornell Univ., Ithaca, N.Y.
18. Paparozzi, E. T. and H. B. Tukey, Jr. 1983. Developmental and anatomical changes in leaves of yellow birch and red kidney bean exposed to simulated acid precipitation. J. Am. Soc. Hort. Sci. **108**, 890-898.
19. Sharma, Y. K. and K. R. Davis. 1994. Ozone-induced expression of stress-related genes in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. **105**, 1089-1096.
20. Zedaker, S. M., N. S. Nicholas and C. Eagar. 1988. Air Pollution and Forest Decline, IUFRO Press 334-338pp.