

대추나무 마친病에 關한 研究(II)

—葉 維管束構造에 미치는 解剖學的 影響에 對해서—

洪 淳 佑

(高麗大學校 生物學敎室)

ABSTRACT

HONG, Soon-Woo (Korea U. Seoul, Korea): *A study of virus disease on Chinese date tree (II) On the anatomical effects of the shoot cluster disease on the vascular structure of the infected plants.* Kor. Jour. Bot. Vol.3 (2) 29—34 1960 From the view point of phytopathological anatomy, the author has tried to study the effect of the shoot cluster disease virus on the internal structure of vascular tissues of chinese date tree (*Ziziphus jujuba var. inermis* Rehd.) comparing healthy checks and diseased plants.

The materials were collected at the several sites, Kumgock-Ri, Masuc-Ri, Kyungi-Do, and near the campus of Korea University and around the area of Chongam-Dong, Seoul City, from August 15th to September 5th 1959. The leaf materials of healthy and diseased plants are fixed and aspirated in two kinds of killing solutions, formalin-acetic acid alcohol solution and Craff III solution. Sections were cut at 5-10 μ thickness and stained with the double staining reagents of safranin and fast green.

In this experiment the author has observed that there are marked structural changes in infected plants in contrast of healthy checks. As figures 3-7 show that the following characteristic changes have taken place on infected plants: 1) the arrangement of irregularly developed sieve elements in phloem, 2) the degeneration of phloem elements, 3) the irregular arrangement of epidermis in mid-vein, 4) more necrosis is observed among the parenchymatous cells, 5) abundant accumulation of starch grains in parenchymatous cells. In contrast to the above irregularities caused by the virus disease, the healthy checks appear normal structures as shown in figures 1 and 2. In adding to the all features noted above, the author could also observe an interesting feature that the xylem elements in mid-vein vascular bundle tissues are considerably disorganized to show the unspecialized vessel elements, the irregularly arranged xylem elements. However, this kind of irregularities which occur in xylem under the virus infection has not been reported previously.

The features noted on the internal structure of vascular bundle under the condition of infection by the shoot cluster disease on chinese date trees appear to be more or less closely similar to the symptoms of the bunchy-top of banana and the yellow dwarf disease of barley in respect to the fact that whether phloem necrosis takes place as a primary symptom or a secondary symptom. In all these disease, primary histological changes of hypoplasia and hypertrophy are preceded by the necrosis of phloem.

I 緒 言

植物病理解剖學的見地에서 일찌기 Esau (1938) 는 Virus 病源體가 植物體內에 侵入하였을때 어떠한 解剖學的 變化를 招來하느냐 하는 것을 觀察하였으며 其後에도 繼續해서 이 方面에 關한 報文(Esau, 1938, 1948, 1956, 1957) 등을 發表한바 있으며 같은 方面에 또한 Bennett (1940b, 1956) 등의 著名한 報文이 있다. 이러한 方向으로 學問의

한 潮流는 發展되어 나왔으며 近來에는 植物病理學에서 그 病原의 診斷方法으로서도 이 解剖學的 諸般特徵 即 內部構造에 미치는 여러 病徵勢를 들면 罹病植物體의 細胞크기의 變化(hypertrophy와 Hypotrophy), 細胞數의 增減에 따른 變化(hyperplasia와 Hypoplasia) 또한 細胞 或은 組織 등이 죽어지는 現象(Necrosis) 및 澱粉粒이 蓄積 其他 X-Body의 生成等 諸般特徵이 引用되며 그 診斷에 使用되어 왔다.

그럼으로 著者は 本研究 第一報에서 이미 外部形態學의 特徵 및 一部 澱粉粒蓄積 그리고 잎의 一般의 構造變化 等 여러 徵勢를 考慮, 判斷해서 現在 韓國에 있어서 原因모르게 癩瘡하고있는 대추나무의 病因이 一見 萎黃病이라고(尹國柄 教授1958), 또는 몇가지 徵勢가 Sandal Spike Virus (Rangaswami and Griffith 1940), Venkata (1943)와도 비슷한바 있었으나 이를 調査한 結果 그 特有한 徵勢로서, 대추나무病을 俗稱 그레로 Shoot cluster disease 라고 命名한바 있다. 今般에는 上記 Shoot cluster disease가 健全한 植物에 侵入하였을때 第一 먼저 葉 維管束內 諸構造에 어떠한 變化를 가지고 오는가 하는 問題에 對해서 또한 이들 病徵勢가 解剖學的으로 考察할때 只今까지 많은 病理解剖學者에 따라서 發表된 이는 Virus病에 가까운 病徵勢를 나타내느냐 하는 것을 調査 究明하기 爲하여 一連의 實驗을 試圖하기로 하였다.

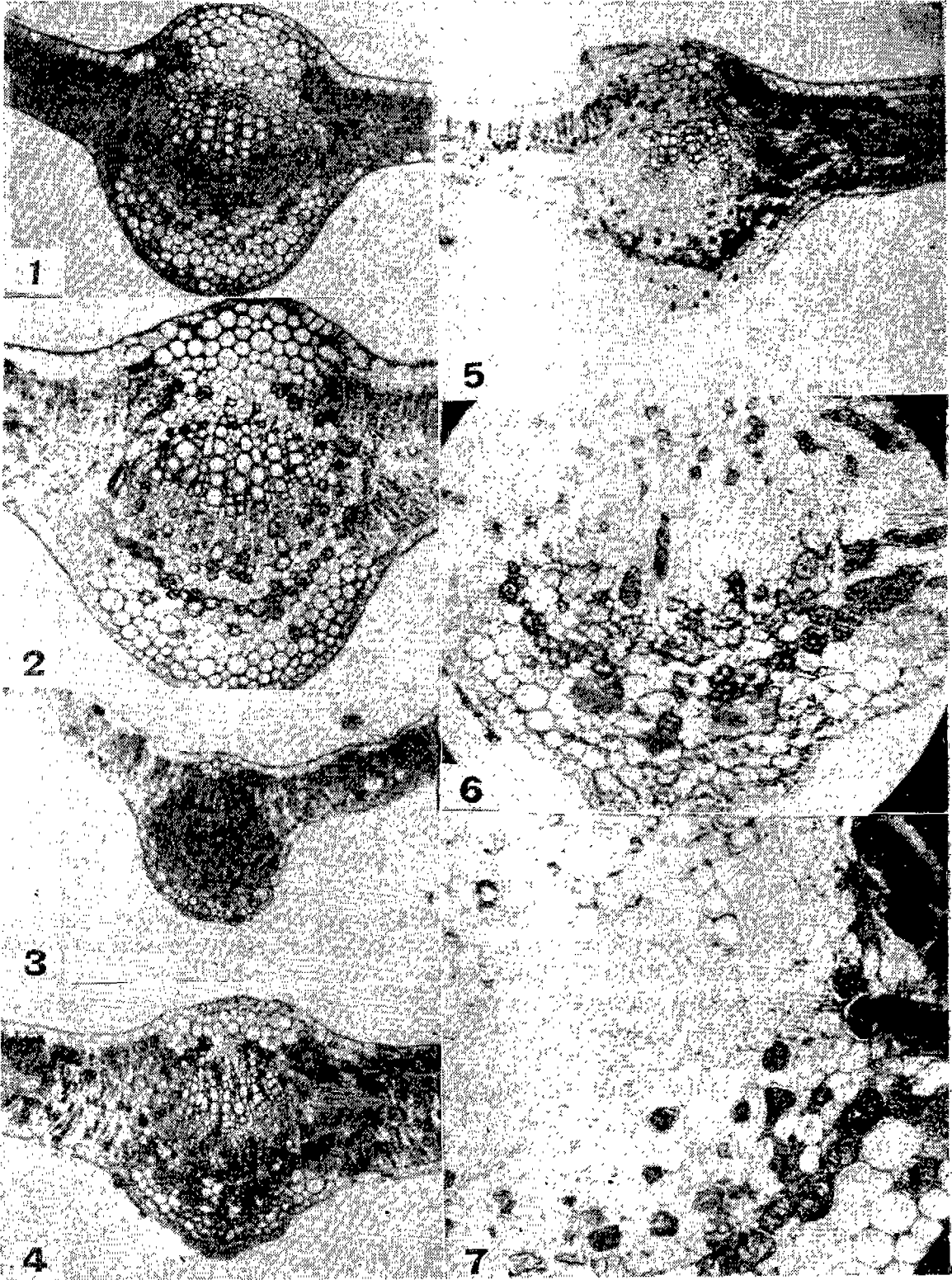
II 材料 및 方法

實驗에 使用한 材料는 京畿道 金谷里 및 磨石里村 落民家에서 主로 採集하였으며 一部는 市內 鍾岩洞一帶民家에서 植栽하고 있는 罹病植物을 1959年 8月 20일부터 9月 5日 사이에 걸쳐 採集하였으며 採集에 있어서는 developmental stages가 重要한 材料인 健全葉 및 罹病葉을 各各 發育程度에 따라서 3區分하였다. 採集된 材料는 現地에서 直時 미리 準備하였는 3가지 固定液 formalin acetic acid溶液, Nawashin溶液 및 Crof. III 溶液에 固定하였으며 Nawashin 溶液에 固定한것은 歸校하여 數時間後에 水洗하고 次 dehydration serie에 干열하였다. 그리고 長時間固定이 必要한時는 70% Alcohol 溶液에 保全하였다가 必要時에 用途에 使用하였다. 固定의 끝난 材料는 普通 흔히 使用되고 있는 Ethyl Alcohol dehydration 方法에 依하여 脫水하였으며 paraffin 誘導를 한後 材料는 永久 slide를 만들기 爲하여 mid. vein을 中心으로 해서 橫斷 및 從斷切片 5~10 μ 의 厚로 切斷하다. 染色에는 Fast green과 Safranin을 使用한 double staining(sass, 1951)을 主로 하였으며 一部 澱粉粒組織에는 iodo-iodo 加壓反應을 이르게 보았다. 그리고 또 維管束附近 柔細胞內에는 鐵物性結晶體같은 것이 有하였기에 이것을 究明키 爲하여 diluted Nitric acid 및 hydro chloric acid를 處理함으로 metaplastic inclusion의 하나인 炭酸石灰質을 調査할 수 있었다.

III 觀察 및 考察

健全葉과 罹病葉의 發育過程에 따른 今般의 植物解剖學의 觀察는 흔히 使用되는 用語인 正常的發育이라는 한마디로 말할 수 있으며 여러 組織은 規則性있는 配列의 程度를 나타내는 것이었다. 그리고 發育程度에 따라 3區分된 3가지 材料中에서 第一 어린 先端部葉의 主脈을 中心으로한 것에서는 아직 成熟한 度를 認定할 수 있으며 成熟葉과의 사이에는 漸次로 그 分化의 程度를 觀察할 수 있으며 細胞의 數에는 別 큰 差異가 없었으나 細胞의 容積 即 크기에는 相當한 差異를 認定할 수 있었다. 그러나 根本的인 構造에는 健全葉인 만큼 아무런 變化도 發見할 수 없었다. 따라서 3區分으로 採集된 材料는 健全葉에서는 큰 意義가 없었으며 그 正常的 構造는 寫眞과 같다고 하겠다.

罹病葉材料에 있어서는 發見過程에 따른 異常의 程度가 顯著하였다. 가장 어린葉 則 幅 1~2mm되는 罹病枝 先端葉에 있어서는 아직 未熟하기는 하나 9月 5日 採集된 材料인 경우 같은것에서는 殆히 成熟되어 있었다고 하겠다. 木質部 및 篩管部의 構成은 이미 分化가 完全에 가까우리만큼 이어나고 있었으며 그 證據로서는 이렇게 어린 材料일지라도 分裂原基에서의 分裂 依한 新生細胞는 더 이상 만들어짐이 없었으며 老葉과의 사이에는 細胞數의 差異도 別差없었다. 다만 Specialization of tissues 라는 見地에서 維管束이란 것을 構成하고 있는 複合組織인 篩管部 및 導管部組織이 構成要因別로 完全한 分化를 이룩하고 있지 못한듯 觀察되었다. 다시 말하면 많은 disorganized 한 細胞가 維管束構成要素中에 多數發見되었다. 이것이 實例로서는 先端部 일에서는 Xylem element의 specialization이 매우 不規則하며 篩管細胞의 直徑도 大小 各色의 것이 不規則하게 秩序없이 配列되어있으며 작은 것은 直徑 5 μ 에서 불어, 큰것은 15 μ 의 것이 測定되었으며 그 差는 10 μ 程度로서 넘어 甚한 差를 보여주었다. Protoxylem에 있어서는 annular vessel와 spiral type vessel element가 많이 觀察되었는데 이들은 殆半이 5 μ 內외의 直徑을 가진 vessel elements였다. metaxylem에 있어서는 5~15 μ 程度의 直徑을 가진 篩管들이며 甚한 差를 나타낸



다. 寫眞 參照. 篩管部에 있어서는 木質部에서 볼수 있었던 變化보다도 훨씬 더 큰 disorganization을 發見할 수 있었다. 即 篩管部全體의 發育는 健全葉의 先端部材料에 比해서 激甚한 差異를 나타내며 不整한 配列 및 그 構成을 쉽게 觀察할수 있다. 먼저 細胞의 크기에 있어서는 先端部材料에서는 大略 Isotonic size를 나타냈다. sieve element의 直徑은 約 5.2μ 內外이며 健全葉先端材料에서 測定한 值의 約 半程度의 크기에 不過하였다. 그리고 Companion cell의 數도 sieve elements의 數의 減少에 따라서 적어졌으며 其他 構成要素도 分化가 不完全하며 配列狀態도 그 規則性을 喪失하고 있었다. 篩管部에 있어서는 이밖에 重要な 特徵으로서 二次的 生成物인지는 確認되지 않았으나 많은 Necrosis 現象이 先端部 어느 材料에서나 觀察할 수 있었다.

다음 罹病枝의 中間部에서 採集한 材料(葉幅 7~10mm) 및 基部에서 採集한 材料(葉幅 15~25mm)(寫眞 參照)는 程度의 差異는 多少 있었으나 根本的인 構造異常 即 irregular specialization of tissues라는 見地에서 볼때는 비슷한 바가 많았다. 예를 들면 xylem의 配列에 있어서 不規則한 配列, xylem elements의 數 및 크기에 있어서, 自體의 작은 形相에 比例해서 작은 것이었으며 이와같은 事實은 篩管部에 있어서도 같은 程度로 不規則性을 나타내고 있다. 그리고 中間部 或은 基部材料에서 特히 興味있으며 留意할 特徵으로서 先端葉에 比해서 Necrosis한 部分이 두런하게 더 많이 觀察되는 것이며 이 徵勢는 本實驗에 있어서 主要 考察對象이 된다.

以上 觀察한 諸事實 即 維管束內 諸組織이 virus에 侵入을 當하였을때 外觀의 由로 族生技葉을 많이 發生하며 一見 witch's broom virus의 徵勢와도 같으며 또 一見 葉色이 黃變하는 것으로서 萎黃病과도 같은 誤認을 받을수 있으며 또한 一面 몇가지 形狀이 印度에서 發生하였는 sandal spike (virus) disease 와도 類似한 徵象이 있다. 그러나 이미 前般實驗 第一報에서 發表한바와 같이 이 대추나무의 病原性 virus는 特異한 것이라고 規定지을수 있다. 그러한 點에 비추어 本實驗은 只今까지 調査된 植物病理解剖學의 比較觀察 特히 virus 罹病體의 諸病의 特徵이 發表된 諸報文과 比較하려고 하였다.

일찍이 Schreider (1954)에 依해서 發表된 buckskin disease of peach and cherry 또는 그 以前에 亦是 氏(1945)에 依해서 發表된 leaf-roll disease of potato等은 罹病植物의 徵初의 徵勢로서 篩管部構造의 disorganization 現象을 들었으며 이것이 第一次의 徵象인 Necrosis에 起因한다고 하였다. 여기 反하여 Necrosis는 第二次的인 徵象으로서 나타나며 먼저 組織內에 specialization에 異狀이 생기게 되고 其後에 Necrosis 온다고 하는 Curly top disease Esau (1940) 또는 aster yellows Girolami (1955), bunchy top of banana mage (1940)이 알려져 있다. 이밖에 後者에 屬하는 例로서는 Mc lean (1944)에 依해서 觀察된 Phloem Necrosis of elm이란 것이 發表되어 있으며 이들은 먼저 組織內異狀 即 構造에 있어서 分化에 不整이 생긴 다음에 全體的인 necrosis 또는 部分的인 Necrosis가 이어나서 Mc lean 이 觀察한바와 같은 느티나무의 篩管部破壞같은 現象이 第二次的으로 發生하게 된다고 하였다.

여기에 著者는 本病이 上述한 前後者中 어느쪽에 屬하는 것인가를 究明하려고 하였는데 本대추나무 미친병 shoot cluster disease는 即 順序의 由로 維管束內의 複合組織構成에 있어서 基本的 構成에는 根本的인 差異를 健全葉과 比較할때 發見할수 없었으며 다만 先端葉에서 基部葉으로 갈수록 原生篩管部의 Necrosis는 激甚하였으며 이미 先端部의 小葉에서 第一次的인 徵象으로서 Specialization에 異狀이 생긴後에 Necrosis가 發見된다고 하는 諸特徵을 參작 할때 또한 더어나가서 Hypotrophy 現象으로서 先端罹病葉의 細胞 크기가 매우 적다든지 或은 一部 減少된 細胞數 Hypoplasia 등 現象을 觀察할수 있었으며 이러한 變化에 이어 罹病基部葉일수록 더 많은 Necrosis가 이어나갔다고 認定됨으로 이것은 後者에 屬하는 病이 豈인가 生覺되었다.

그리고 今般의 實驗에서 特히 興味있게 觀察된 徵象은 木質類에 異狀을 가져오는 變化였다. 現在까지 많은 病理解剖學의 報文中 virus 病原性인 경우에는 大部分 維管束에 미치는 影響中에서도 特히 篩管部에 끼치는 影響이 全部를 찾아 하고 있다 실이 되어 있으며 一部 Houston, Esau, Hewitt (1947) 氏들이 포도나무에 發生하는 Pierce's disease와 Alfafa 에 發生하는 dwarf disease에 있어서는 xylem element에도 變化가 發生한다고 發表한 것이있으며 導管細胞內에 tylosis가 생겨서 水分上昇에 支障을 招來한다고 하였다.

대추나무미친병에 걸린 枝葉에서는 寫眞에서 볼수 있는 바와 같이 導管細胞의 配列이 不規則하며 어떤 導管細胞에 있어서는 第二膜의 形成이 如혹치 않은 것도 發見되었다. 그리고 葉維管束에 있어서 木質部內 導管配列 Radial arrangement를 하고 있는것 중에서 그 序列이 고르지 못하며 健全葉에 있어서는 둥근 圓을 그리게 되는데 比하여 凹凸가 甚한 配列을 나타낸다. 이러한 特徵은 確實히 本病原 Virus가 特異한 것이며 第一報에서 命名한 바와같이 shoot cluster disease of chinese data tree라고 하는것을 더한층 強力하게 肯定해 주는것이라고 믿어진다.

끝으로 本實驗에는 組織化學의 實驗으로 많은 鑛物性結晶體가 卽 炭酸石灰의 結晶體가 健全葉 및 罹病葉에도 發見되었으며 그 比較觀察을 試圖하였으나 量의 差를 調査할수 없었으며 다만 簇生部小葉에는 小量이 있다고 認定하였는데 그 理由에 關해서는 今明 實驗에서는 重要視할 必要性을 느끼지 않았으므로 其以上 進展하기를 回避하였으며 推論컨데는 이 石灰質結晶體는 後形的 產物임으로 老葉에 對하여 後形副產物의 生成을 할수 있는 時間이 짧았다는데 原因을 두고 說明할수 있다고 보았다. 그리고 澱粉粒의 蓄積에 關한 實驗으로서는 罹病老葉일수록 더 많은 量을 iodoido 加里 反應으로서 便宜하게 鑑識할수 있었는데 이것은 罹病老葉일수록 篩管部의 여러 細胞間의 Necrosis가 甚해지는 것이니 同化澱粉의 移動이 如意치 않은 탓이라고 生覺할수 있었다.

IV 結 論

植物病理解剖學의 見地에서 볼때 대추나무가 미친病(shoot cluster disease)에 걸리게 되려는 여러 組織內變化 特히 Histogenetic 한 而으로 變化를 招來하게 되는데 于先 今般 實驗에서 觀察할수 있는바와 같이 維管束內에 있어서는 다음과 같은 異狀의 構造를 調査할수 있다. 1) 篩管細胞의 退化 2) 不規則하게 發育한 篩管構成要因細胞의 出現 3) 不規則하게 配列한 下面藥脈表皮細胞의 出現 4) 많은 Necroses 現象을 柔細胞層에서 觀察할수 있다. 5) 多量의 澱粉粒의 出現, 等等 諸特徵을 들수 있다.

以上 例舉한 特徵外에 또하나 本實驗에서 特히 興味있게 觀察한 것은 今般의 대추나무 미친病에 있어서는 只今까지에 調査된 數 많은 病理解剖學的인 報文中에서 보기 드문 한 現象 卽 本質部에도 顯著한 變化를 볼수 있었다는 點이다. 植物이 virus 病에 걸렸을때 흔히 나타나는 維管束組織內의 變化로서는 篩管部에 끼치는 影響이 가장 重要한 것이라고 하고 있는데 今般 材料에서는 xylem elements의 Specialization에 또 vessel elements의 arrangement에 特異한 組織發生學的 變化를 가져온다는 것이 留意할만한 點이었다.

그리고 植物病理解剖學에 關한 많은 報文中 特히 virus 罹病植物內의 組織變化에 關해서 Necroses 現象이 第一次의 病徵로서 나타내 組織에 不規則性(disorganization)이 생겨서 異狀組織이 되느냐 혹은 이와 反對로 Necroses 現象은 오히려 4次的인 것이며 植物이 virus에 걸리게 되려는 第一次의으로는 組織內細胞의 크기의 增減 또는 細胞數의 增減現象이 생기게 되고 第二次의으로 Necroses 現象이 이룬다고 하는 2種의 型을 區別할수 있다.

著者에 依해서 觀察된 當材料는 後者에 屬하는 大麥의 Yellow dwarf 病(Esau 1957) 및 Magee가 發表한 하나나이의 bunchy top disease와 그 解剖學的症狀이 가까운 것을 알수 있었다.

끝으로 著者는 現在南韓에 猖獗하고 있는 대추나무 미친病(第一報)이 農家의 經濟的 資源植物의 하나로서 重要한 位置에 있는 健全한 대추나무를 驅逐하고 있는데 이것은 組織內에 끼치는 諸特徵으로 미루어 봐서라도 이것이

Fig. 1. The material of young leaf, collected near the top of the newly developed branchlet. The cross section of the mid. portion of main vein in healthy check shows regularly developed xylem and phloem portion. This is comparable to the diseased young leaf of Fig. 3. (10×10)

Fig. 2. Fully matured leaf collected at the base of new branchlet of healthy check, regularly arranged xylem and phloem portion are clearly observed. (12×10)

Fig. 3. Diseased young leaf, collected at the apex of the new branchlet. The shape of lower epidermis are irregularly differentiated. The differentiation of xylem and phloem portion is not show the normalities which compared to Fig 1. Mechanical cells are also showing the disorganized structure. (10×10)

Fig. 4. material collected as the middle aged leaf at the mid. portion of the diseased branchlet show more or less differentiated characteristics, but more abundant starch grains accumulated in parenchymatous cells are observed. (12×10)

Fig. 5. Fully matured leaf, collected at the base of diseased new branchlet, showing the typical abnormalities such as abundant necrosis occur in phloem parenchyma, dead cells caused by heavily accumulated starch grains are distinct. (12×10)

Fig. 6. Fully matured leaf magnified by high power 10 x 45, showing the disorganized cells in bundle sheath. The xylem arrangement as also distinctly showing the irregularities.

Fig. 7. Same material of Fig.6 is showing the disorganized phloem and xylem elements. Magnified by 12 x 45 韓國에서 endemic origin을 갖은 것이라고 生覺되며 特異한 virus 病이란 前報文을 더 強力하게 支持해 주는 것이라고 生覺된다.

REFERENCES CITED

- Artchwager, E., and R.C. Starett, 1936: Histological and cytological changes in sugar-beet seedlings affected by the curly top. *Jour. Agri. Res.* 53: 637-657
- Bennet, C.W. and K. Esau; 1936; Further studies on the relation of the curly top virus to plant tissues. *Jour. Agri. Res.* 53: 595-620
- Bennet, C., 1940b; The relation of virus to plant tissues *Bot. Rev.* 6: 427-473 1940b
- Bennet, C.W; 1956: Biological relations of plant viruses. *Ann. Rev. of plant physiology*, Vol. 17: 143-170 1956
- Cheadle, V. I., 1956; Research on xylem and phloem. *Amer. Jour. Bot.* Vol. 43 (9)
- Esau K., 1956; Some anatomical aspects of plant virus disease problems II *Bot. Rev.* 14: 413-449
- Esau, K. 1956; anatomists view of virus disease. *Amer. Jour. Bot.* 43 (9)
- Esau, K., 1937; Phloem degeneration in Gramineae affected by the barley yellow-dwarf virus. *Amer. Jour. Bot.* Vol. 44 (3)
- Girólami, Guido. 1955: Comparative anatomic effects of the curly-top and aster-yellow viruses on the flax plant. *Bot. Gaz.* 116: 305-322
- Hong, Soon-Woo and Chongchin Kim, 1960: A study of virus disease on chinese date tree I:—On the external and the internal morphological characteristics of the disease infected plants *Kor. Jour. Bot.* Vol. 3, No. 1 1960
- Lackey, C.F., 1953: Attraction of dodder and beet leaf -hopper to vascular bundle in the sugar beet as affected by curly top. *Amer. Jour. Bot.* Vol. 40: 221-225
- Magee, C.J.P., 1940: Pathological changes in the phloem and neighbouring tissues of the banana caused by bunchy-top virus. *Dept. Agri. New South Wales Scie. Bull.*, 67
- Mc Lean, D.M., 1944: Histopathologic changes in the phloem of american elm affected with the virus causing phloem necrosis. *Phytopathology* 43: 128
- Schreider, H., 1945: Anatomy of buck-skin disease peach and cherry. *Phytopathology* 43: 309-313
- Shiffiels, M.L., 1943: Value of phloem necrosis in the diagnosis of potato leaf-roll *Ann. Appl. Biol.* 30: 131-136
- Smith, F.H., and F.P. McWhorter, 1957: Anatomical effects of tomato ringspot virus in *Vicia faba*. *Amer. Jour. Bot.* Vol. 44 1957
- Smith, K., 1953: Textbook of plant virus disease 451-456
- Tepper S.S.; and M. Chessin *Amer. Jour. Bot.* Vol. 46(7) 1959: Effect of tobacco mosaic virus on early leaf development in tobacco *Amer. Jour. Bot.* Vol. 46 (7)
- cf. The reference of Rangaswami and Griffith 1940 and Venkata 1943 are referred from Smith K. 1953.