

간벌처리에 따른 외생균근균의 군집 변화

최재욱¹ · 이은화¹ · 아주경¹ · 구창덕² · 엄안흠^{1*}

¹한국고원대학교 생물교육과, ²충북대학교 산림학과

Community Changes of Ectomycorrhizal Fungi by Thinning in a Forest of Korea

Jae-Wook Choi¹, Eun-Hwa Lee¹, Ju-Kyeong Eo¹, Chang-Duck Koo² and Ahn-Heum Eom^{1*}

¹Department of Biology Education, Korea National University of Education, Cheongwon 363-791, Korea

²Department of Forest Science, Chungbuk University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT: This study was conducted to investigate the effect of thinning on ectomycorrhizal fungal communities in a forest. Ectomycorrhizal root tips were collected from forest soils in thinning and non-thinning sites and identified using morphological characteristics and molecular analysis of ITS rDNA sequences. As a result, species richness of ectomycorrhizal fungi was significantly increased and ectomycorrhizal fungal community composition was changed by thinning. These results suggest that forest management such as thinning, could be an important factor affecting mutualistic relationships and belowground microorganisms in forest ecosystems.

KEYWORDS : Disturbance, Ectomycorrhiza, *Russula*, Species diversity, Thinning

서론

외생균근균(ectomycorrhizal fungi)은 현대에서 온대에 이르는 넓은 기후대에서 목본 식물들, 특히 참나무와 소나무의 뿌리에서 식물과 상리공생 관계를 형성한다[1]. 외생균근을 형성하는 대부분의 균류는 담자균류에 속하지만 일부 자낭균류도 외생균근을 형성하는 것으로 알려져 있다[2]. 외생균근균은 식물 뿌리 내부의 피층 세포 사이에 Hartig net이라는 망상구조의 균사형태를 가지고 있으며, 뿌리 외부에는 균투(mantle)를 형성하는데[1], 균투는 기주 식물과 외생균근균의 종류에 따라 분지 형태, 색깔, 표면의 상

태 및 균사의 형태 등이 매우 다양하며 균투의 형태적 특성에 따라 외생균근을 분류하기도 한다[3,4]. 외생균근균은 기주 식물과 상리 공생 관계를 통해 광합성 산물을 제공받는 대신, 식물의 무기 양분과 수분의 흡수 효율을 높이고 뿌리 병원균이나 환경 스트레스에 대한 내성을 증가시킴으로써 기주 식물의 성장을 돕는다[5].

많은 연구를 통해, 산림 생태계에서 외생균근균의 군집 구조에 영향을 미치는 다양한 생물적, 비생물적 요인이 밝혀졌다. 토양의 물리 화학적 특성[6], 산림의 유형[7], 기주 식물의 다양성[8] 등이 외생균근균의 군집 구조에 영향을 미칠 수 있음이 확인되었고, 이외에도 기후 환경[9], 교란[10,11] 등이 외생균근균 군집의 구조를 변화시키는 것으로 밝혀졌다.

일반적으로 산림 생태계에서 교란은 산림 내 생물종 다양성을 감소시킬 것으로 생각되지만, 실제 교란이 생태계에 미치는 영향은 교란의 종류, 강도, 빈도 및 영향을 받는 생물종에 따라 다양하게 나타날 수 있다. 산림 생태계는 산사태나 산불 등과 같은 자연적 요인으로 인한 교란에 노출되어 있기는 하지만, 간벌과 같이 인위적인 교란에 보다 빈번하게 노출된다. 따라서 간벌을 수행한 지역은 비간벌지에 비해 우세종의 성장 속도와 식생 구조가 달라질 수 있고, 이러한 변화들은 간벌지 지하부의 중요 산림 미생물인 외생균근균의 군집 구조를 변화시킬 수 있다.

Kor. J. Mycol. 2014 June, 42(2): 133-137
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.2.133>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: eomah@knue.ac.kr

Received June 12, 2014
 Revised June 17, 2014
 Accepted June 24, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

본 연구는 간벌이 수행된 지역에서 간벌에 의한 외생균 근균의 군집 구조 및 종 다양성의 변화를 조사하였다. 이를 통해 간벌 처리가 외생균근균의 군집 구조에 미치는 영향에 대해 규명하고, 앞으로의 산림 생태계의 조성 및 관리에 대한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

외생균근의 채집

본 연구의 외생균근균은 2013년 10월 충청북도 괴산군 문광면 광덕리(N 36°46' E 127°48')에 소재한 야산의 6개 연구지에서 수집되었다. 연구지는 간벌 처리구와 비간벌 처리구로 나누어져 있으며 2개의 연구지는 비간벌 처리한 대조군, 4개의 연구지는 간벌 처리한 실험군이다. 연구지역은 2010년에 흉고 수준의 간벌, 즉 숲아베기가 수행된 곳으로 대조군과 간벌 처리구당 10 m × 10 m 방형구를 설치하고 각각의 방형구에서 무작위적으로 5개 지점을 선정한 후 토양 채취기를 이용하여 토양을 정량적으로 채취하였다. 채취한 토양을 실험실로 가져와 흙과 식물 뿌리를 체를 이용해 분리한 후, 분리한 식물의 뿌리를 체에 받쳐 흐르는 물에 1차로 씻어낸 다음, 0.1 M Sodium pyrophosphate를 이용하여 뿌리에 남은 흙을 제거하였다. 다시 체에 받쳐 흐르는 물로 뿌리를 깨끗이 세척한 후, 각각의 뿌리를 petri-dish에 담아 해부현미경을 이용하여 뿌리의 외생균근의 형태적 특징을 관찰하였다[3]. 식물의 뿌리를 해부현미상으로 관찰하면서 각각의 균투의 분지형태, 색깔, 표면의 특징, 균사의 형태 등을 이용하여 서로 다른 형태형(morphotype)으로 구분한 후, 간벌 처리구와 비간벌 처리구의 전체 외생균근의 수(number of ectomycorrhizal root tips), 각 형태형의 상대수도(relative abundance)를 측정하였다.

외생균근균의 ITS rDNA 분석

서로 다른 형태형의 외생균근을 분류한 후, 각 형태형의 외생균근 중 육안상 건강하고 깨끗한 균투를 이용하여 외생균근균의 분자생물학적 동정을 실시하였다. 식물 뿌리에서 분리한 균투를 멸균수를 이용하여 수 차례 세척한 후 DNeasy Plant mini kit (Qiagen Science, USA)를 이용하여 유전체 DNA를 추출하였다. 이후 균 특이 프라이머인 ITS1F와 ITS4를 이용한 PCR을 수행하여 외생균근균의 ribosomal DNA의 ITS (Internal transcription spacer) 지역을 증폭하였다[12]. PCR 반응이 끝난 후 1.5% 아가로스 젤을 이용한 전기 영동과정에서 약 550 bp에 해당하는 밴드를 확인한 후 염기서열 분석을 의뢰하였다(Solgent, Korea). 분석된 염기 서열은 NCBI (<http://ncbi.nlm.nih.gov/>)의 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)를 이용하여 가장 유사도가 높은 종을 확인한 후, Mega (v.5.0) 프로그램을 이용하여 계통수(Neighbour-joining tree)를 작성하였다[13]. 계통 분석에 이용된 참고 서열은 GenBank로부터 내려 받아

사용하였으며, *Rhizophus stolonifer*를 outgroup으로 이용하였고 계통수의 지지도를 확보하기 위해 bootstrap (1000 replicates)을 수행하였다. 각 형태형의 외생균근은 BLAST 결과와 계통수를 이용하여 최종적으로 동정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 충북 괴산지역의 비간벌지와 간벌지로부터 토양을 채취하여 간벌에 의한 외생균근균의 군집 구조 변화를 조사하였다. 비간벌 지역인 대조군과 간벌 처리구 당 5개의 토양 샘플을 정량적으로 채취하였고, 채취한 토양의 식물 뿌리에서 발견되는 외생균근의 분지형태, 색깔, 표면, 균사의 형태와 같은 특징을 이용하여 수집한 외생균근을 총 19개의 형태형으로 구분한 후, 분자생물학적 방법을 이용하여 각 형태형의 ITS 지역의 염기서열을 분석하였다.

분석 결과, 간벌 처리구와 비간벌 처리구에서 총 7속 13종의 외생균근균이 확인되었으며 이들은 계통학적으로 연관되어 있음이 확인되었다(Fig. 1); *Cladophialophora yegresii*, Helotiales sp.1, Helotiales sp.2, Helotiales sp.3, *Laccaria amethystine*, *Oidiodendron maius*, *Russula mairei*, *Russula romellii*, *Russula* sp.1, *Russula* sp.2, *Russula* sp.3, *Thelephora terrestris*, *Tomentella stiposa*. 총 19개의 형태형 중 *C. yegresii*, *O. maius*, *R. mairei* 및 *R. romellii* 은 두 가지 이상의 형태형으로부터 발견되는 것으로 보아, 이들이 서로 다른 기주 식물에 감염되어 각각 독특한 형태형을 형성한 것으로 생각된다(Table 1).

간벌 처리구와 비간벌 처리구에서 모두 *Russula* 속에 속하는 외생균근균이 우점하고 있는 것으로 확인되었다. 특히 두 지역 모두 *R. mairei*가 우점하는 것으로 나타났으며, 간벌 처리는 *R. mairei*의 우점도에 유의미한 차이를 나타내지 못했다(Table 2). 일반적으로 *Russula* 속의 균들은 안정적인 온대의 산림 생태계에서 흔히 발견되는 외생균근균으로 알려져 있으며[14], 간벌 처리에 따른 우점종의 상대수도가 유의미한 차이를 보이지 않는 것으로 보아 본 연구의 간벌 처리는 산림의 안정성에 영향을 미칠 수 있는 수준은 아닌 것으로 생각된다.

본 연구에서 확인된 외생균근균 가운데 *C. yegresii*, Helotiales sp.2, Helotiales sp.3, *T. stiposa*는 간벌 처리에 의해 상대수도가 증가하였고, 반대로 *L. amethystine*, Helotiales sp.1, *Russula* sp.1, *Russula* sp.3은 간벌 처리 후 상대수도가 감소하는 것으로 나타났다(Table 2). 또한 간벌 처리가 외생균근균의 군집 구조에 미치는 영향을 알아보기 위해 종 다양성 지수(Shannon's index), 종 수, 균등도, 외생균근(ectomycorrhizal root tip) 수를 비교한 결과, 간벌 처리 후 토양 내 외생균근균의 종 수가 증가함을 확인하였다(Table 3). 따라서 간벌 처리가 토양 내 외생균근균 군집의 종 구성과 다양성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 생각된다. 그러나 종 균등도와 외생균근 수에서는 유의미한 차이를 나타

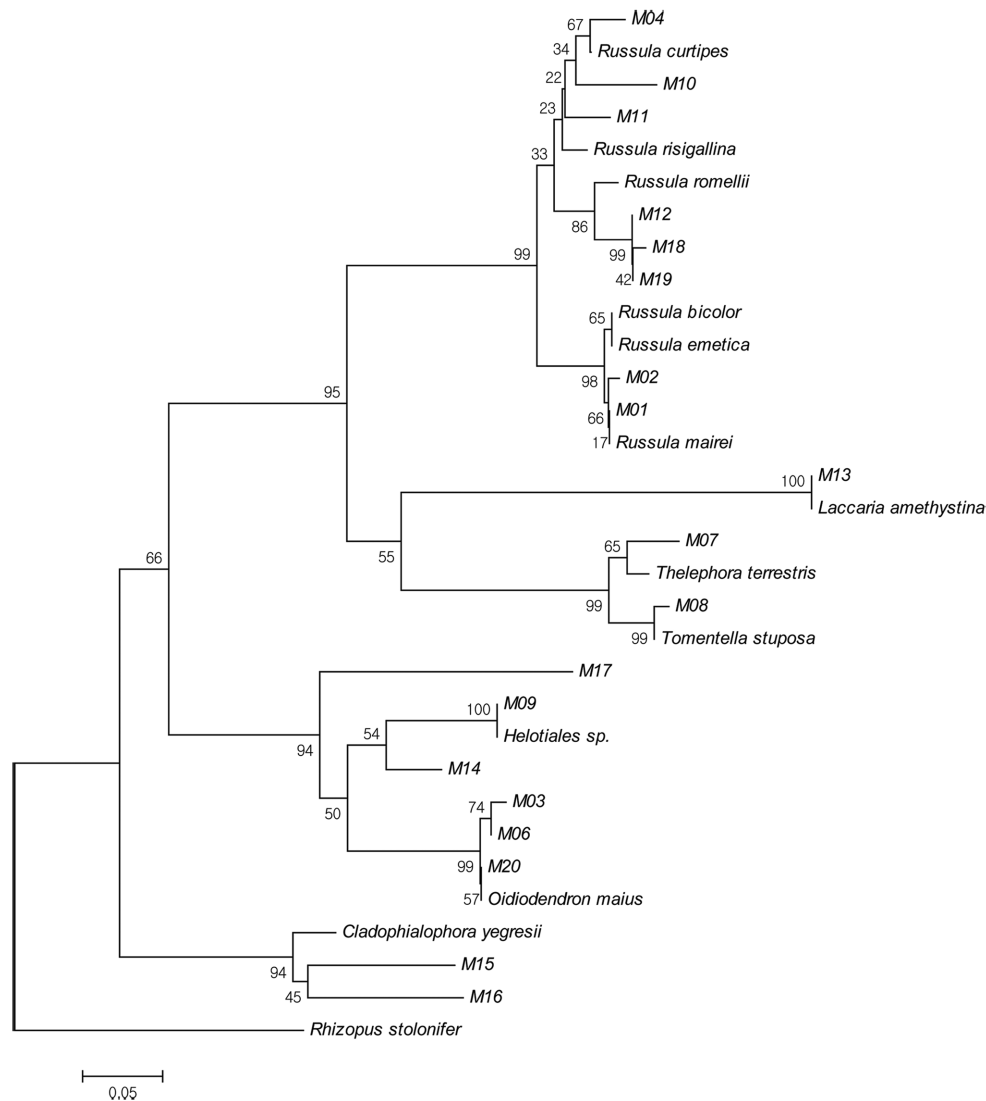


Fig. 1. Neighbour-joining tree of ITS rDNA sequences from ectomycorrhizal morphotypes and reference sequences obtained from GenBank. *Rhizopus stolonifer* was used as an outgroup and numbers at nodes indicate percent bootstrap support (1000 replicates).

내지 않았다(Table 3).

일반적으로 간벌 처리는 산림 내 외생균근균의 군집의 다양성을 감소시키는 것으로 알려져 있지만 간벌 처리의 효과는 실제로 다양한 수준으로 나타날 수 있다. 미국 소나무(Douglas-fir) 숲을 대상으로 한 연구에서, 외생균근균은 강한 수준의 간벌에 의해 종 수가 크게 감소하였으나 중간 수준의 간벌은 외생균근균의 군집에 유의미한 영향을 미치지 않은 것으로 보아[15], 외생균근균의 군집 구조는 간벌 강도에 직접적으로 영향을 받는 것으로 생각된다[16]. 그러나 간벌에 따른 외생균근균 군집 구조의 변화는 단순히 간벌의 강도에 의해서만 영향을 받는 것은 아니다. 강한 수준의 간벌로 인한 외생균근성 자실체의 생물량 감소가 보고되었으나 그 효과는 외생균근균 종에 따라 다르게 나타났으며 간벌 처리 이후 새로운 외생균근균이 출현하기도 했

다[17,18]. 이것은 아마도 간벌이 외생균근균의 군집에 있어서 일종의 교란으로 작용하여 주변으로부터의 새로운 외생균근균의 유입을 촉진하거나 혹은 교란에 내성이 있는 종이 선택됨으로서 군집 내 종 구성을 변화시킬 수 있는 기회를 제공하기 때문인 것으로 생각된다.

간벌은 특정한 조건의 수목을 제거함으로써 식물을 기주로 하는 다양한 토양 미생물의 군집 구조에 영향을 미칠 수 있다. 특히 외생균근균은 광합성 탄소를 기주 식물에 의존하므로 간벌을 통한 식물 군집의 변화는 외생균근균의 군집 구조와 직접적인 관계가 있다. 간벌은 식생을 건강하게 유지하고 관리하기 위한 하나의 방법이며, 본 연구에서는 간벌 처리가 식물과 상리공생 관계를 형성하고 있는 외생균근균의 군집의 종 수와 종 구성을 변화시킬 수 있음을 확인하였다. 외생균근균은 식물의 적응도를 증가시키고 산림

Table 1. Identification of ectomycorrhizal root tips collected in study sites using morphological characteristics and ITS rDNA sequences

Fungal species	Morphotype	BLAST Result		
		Best BLAST	Similarity (%)	Accession No.
<i>Russula mairei</i>	M1	<i>Russula mairei</i>	682/692(99%)	KF002786
<i>Russula mairei</i>	M2	<i>Russula mairei</i>	662/685(97%)	KF002786
<i>Oidiodendron maius</i>	M3	uncultured <i>Oidiodendron</i>	479/549(87%)	JF519596
<i>Russula</i> sp.1	M4	<i>Russula</i> sp.	599/599(100%)	GQ344560
<i>Oidiodendron maius</i>	M6	<i>Oidiodendron maius</i>	524/525(99%)	HQ608115
<i>Thelephora terrestris</i>	M7	uncultured <i>Thelephoraceae</i>	641/650(99%)	AB259150
<i>Tomentella stuposa</i>	M8	uncultured <i>Tomentella</i>	643/658(98%)	KC702624
Helotiales sp.1	M9	Helotiales sp.	531/533(99%)	KC180681
<i>Russula</i> sp.2	M10	<i>Russula</i> sp.	650/650(100%)	FJ614017
<i>Russula</i> sp.3	M11	<i>Russula</i> sp.	625/625(100%)	KC412162
<i>Russula romellii</i>	M12	uncultured <i>Russula</i>	136/141(96%)	JQ991815
<i>Laccaria amethystine</i>	M13	<i>Laccaria amethystina</i>	433/438(99%)	JN942783
Helotiales sp.2	M14	Helotiales sp.	574/574(100%)	JX981510
<i>Cladophialophora yegresii</i>	M15	<i>Cladophialophora</i> sp.	479/479(100%)	KC776601
<i>Cladophialophora yegresii</i>	M16	<i>Cladophialophora</i> sp.	417/454(92%)	EU139127
Helotiales sp.3	M17	Helotiales sp.	436/541(81%)	JF273525
<i>Russula romellii</i>	M18	<i>Russula</i> sp.	139/139(100%)	HE814170
<i>Russula romellii</i>	M19	uncultured <i>Russula</i>	136/141(96%)	JQ991815
<i>Oidiodendron maius</i>	M20	<i>Oidiodendron maius</i>	560/560(100%)	JN882306

Table 2. Relative abundance of ectomycorrhizal fungi of control and thinning sites

Fungal species	Relative abundance (%)		P
	Control	Thinning	
<i>Cladophialophora yegresii</i>	1.0 ± 0.43	4.5 ± 0.64	0.001
Helotiales sp.1	4.5 ± 0.93	0.9 ± 0.39	0.004
Helotiales sp.2	0.7 ± 0.37	2.8 ± 0.53	0.013
Helotiales sp.3	0.2 ± 0.19	2.7 ± 0.45	0.001
<i>Laccaria amethystina</i>	5.2 ± 2.39	0.3 ± 0.17	0.007
<i>Oidiodendron maius</i>	16.9 ± 3.91	19.7 ± 1.76	0.527
<i>Russula mairei</i>	47.1 ± 4.54	44.0 ± 2.62	0.573
<i>Russula romellii</i>	6.0 ± 1.62	8.8 ± 1.01	0.156
<i>Russula</i> sp.1	6.1 ± 1.61	2.9 ± 0.62	0.028
<i>Russula</i> sp.2	1.6 ± 0.84	3.1 ± 0.71	0.187
<i>Russula</i> sp.3	6.6 ± 2.39	2.5 ± 0.80	0.047
<i>Thelephora terrestris</i>	3.1 ± 0.97	2.3 ± 0.58	0.464
<i>Tomentella stuposa</i>	0.9 ± 0.52	5.5 ± 1.17	0.013

Table 3. Comparisons of ectomycorrhizal fungal communities of control and thinning sites

	Mean ± S.E.		P
	Control	Thinning	
Shannon's index	1.49 ± 0.121	1.74 ± 0.051	0.086
Species evenness	0.78 ± 0.032	0.75 ± 0.023	0.385
Number of species	7.50 ± 0.792	10.45 ± 0.276	0.005
Number of ectomycorrhizal root tips	54.70 ± 2.300	54.40 ± 5.026	0.959

의 물질 순환을 돕는 중요 미생물이므로 본 연구 결과는 향후 효과적인 산림 관리를 위한 간벌 처리에 있어 중요한 자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

본 연구에서는 간벌 처리에 따른 외생균근균의 군집 구조의 변화를 확인하기 위해 간벌지와 비간벌지에서 정량적으로 토양을 채취하여 간벌에 따른 외생균근균의 종 다양성, 종 수, 외생균근 수, 군집 내 종 구성을 비교하였다. 분석 결과 간벌지와 비간벌지는 공통적으로 *Russula* 속이 우점하고 있으나, 간벌 처리 후 산림 토양의 외생균근균 군집의 종 구성이 달라지고 종 수가 증가되는 것을 확인하였다. 본 연구결과는 간벌이 산림 생태계의 지상부 뿐만 아니라 외생균근균과 같은 토양속의 미생물의 군집 구조에도 유의미한 영향을 미치는 중요한 요인이라는 것을 보여주고 있다.

감사의 글

본 연구는 ‘산림기술연구개발사업(자연산 산림버섯 균환의 분자생태학적 규명)’의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

REFERENCES

- Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal symbiosis. 3rd ed. New York: Academic Press; 2010.
- Alexopoulos C, Mims C, Blackwell M. Introductory mycology. 4th ed. New York: John Wiley & Sons; 1996.
- Agerer R. Colour atlas of ectomycorrhizae: Schwabish, Germany. Einhorn-Verlag Eduard Dietenberger; 1997.
- Goodman D, Durall D, Trofymow T, Berch S. A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae. Mycorrhiza 1998;8:57-9.
- Simard SW, Durall DM. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. Can J Bot 2004;82: 1140-65.
- Gehring CA, Whitham TG. Comparisons of ectomycorrhizae on pinyon pines (*Pinus edulis*; Pinaceae) across extremes of soil type and herbivory. Am J Bot 1994;1509-16.
- Goodman D, Trofymow J. Comparison of communities of ectomycorrhizal fungi in old-growth and mature stands of Douglas-fir at two sites on southern Vancouver Island. Can J For Res 1998;28:574-81.
- Ishida TA, Nara K, Hogetsu T. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer-broadleaf forests. New Phytol 2007;174:430-40.
- Ohenoja E. Effect of weather conditions on the larger fungi at different forest sites in northern Finland in 1967-1988 [dissertation]: University of Oulu; 1993.
- Kranabetter J, Wylie T. Ectomycorrhizal community structure across forest openings on naturally regenerated western hemlock seedlings. Can J Bot 1998;76:189-96.
- Lee EH, Eom AH. Ectomycorrhizal fungal communities of red pine (*Pinus densiflora*) seedlings in disturbed sites and undisturbed old forest sites. Mycobiology 2013;41:77-81.
- Gardes M, Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Mol Ecol 1993;2:113-8.
- Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol 1987;4: 406-25.
- Kernaghan G, Currah R, Bayer R. Russulaceous ectomycorrhizae of *Abies lasiocarpa* and *Picea engelmannii*. Can J Bot 1997;75:1843-50.
- Norvell LL, Exeter RL. Ectomycorrhizal epigeous basidiomycete diversity in Oregon Coast Range *Pseudotsuga menziesii* forests-preliminary observations. Memoirs-New York Botanical Garden 2004;89:159-90.
- Waters JR, McKelvey KS, Zabel CJ, Oliver WW. The effects of thinning and broadcast burning on sporocarp production of hypogeous fungi. Can J For Res 1994;24:1516-22.
- Meyer MD, North MP, Kelt DA. Short-term effects of fire and forest thinning on truffle abundance and consumption by *Neotamias speciosus* in the Sierra Nevada of California. Can J For Res 2005;35:1061-70.
- Colgan III W, Carey AB, Trappe JM, Molina R, Thysell D. Diversity and productivity of hypogeous fungal sporocarps in a variably thinned Douglas-fir forest. Can J For Res 1999;29: 1259-68.