

ITS 영역의 염기서열을 이용한 먹물버섯류 및 주름버섯 유사 복균류와의 계통학적 유연관계

박동석* · 고승주 · 류진창

농업과학기술원 분자유전과

Phylogenetic Relationships of Coprinoid Taxa and an Agaric-like Gastroid Taxon Based on the Sequences of Internal Transcribed Spacer (ITS) Regions

Dong Suk Park*, Seung Joo Go and Jin Chang Ryu

Division of Molecular Genetics, National Institute of Agricultural Science and
Technology, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT: The phylogenetic relationships of black-spored basidioid taxa (mainly coprinoid taxa) and an agaric-like gastroid taxon were studied. The sequences of internal transcribed spacer regions (ITS) partially including 17S, 25S and 5.8S from 14 species (*Coprinus comatus*, *C. atramentarius*, *C. micaceus*, *C. cinereus*, *C. disseminatus*, *C. rhizophorus*, *C. radians*, *C. echinosporus*, *Psathyrella candolleana*, *Podaxis pistillaris*, *Conocybe lactea*, *Bolbitius demangei*, *Agaricus balzei*, and *Stropharia rugosoannulata*) were compared. The reciprocal homologies of ITS sequences among these species were in the range of 38.7~77.2%. Black-spored taxa were classified into four clusters. Cluster I comprised *C. micaceus*, *C. radians*, and *C. disseminata*. Cluster II is consisted of *C. cinereus*, *C. echinosporus*, *C. rhizophorus*, and *C. atramentarius*. On the other hand, *C. comatus* is in cluster III with *Agaricus balzei* and *Podaxis pistillaris* even though this species is belonging to the section *Coprinus* in morphological aspect. *Psathyrelloid* taxon is included in cluster II. The question of the origin of secotioid (agaric-like) fungi has been taken, though largely on theoretical suggestions as to whether gastroid taxa give rise to agarics with secotioid taxa as intermediates or whether secotioid taxa are evolutionary novelties arising from many distinct groups of agarics. In this relationship, it was shown that secotioid taxon evolved from within agaric species.

KEYWORDS: Coprinoid, Agaric, *Podaxis pistillaris*, Gastroid, Secotioid, ITS

먹물버섯(*Coprinus*)屬 균류는 분류학상 주름버섯목(Agaricales), 먹물버섯과(Coprinaceae)에 속하며 세계적으로는 45종, 국내에는 18종이 보고되어 있다. 이 균류는 형태적인 연구부터(Buller, 1922, 1924, 1931) 교잡 유전자형 연구(May *et al.*, 1991)에 이르기까지 균류 연구의 중심적 역할을 담당해 왔다. 이 그룹의 버섯은 다른 버섯류와는 달리 갓(cap)에서 액화 현상(Auto-digestion)이 일어나며 검은색의 포자를 갖고 있어 자실체가 완전히 액화된 후에는 먹물과 같은 잔존 물이 남는다. Fries(1821)는 이 액화현상을 주름버섯屬(*Agaricus*) 내에 *Coprinus* 節(section)을 설정하는 주된 특징으로 이용하였다. 먹물버섯류는 기내조건(*in vitro* condition)에서 배양이 용이하여 산업적으로 이용이 가능하나, 이들 그룹이 갖는 특성으로 인한 유통상의 어려움으로 식용버섯으로의 대중화는 어려운 실정이다.

지난 100여 년간 버섯 분류학자들은 분류의 기준으로 자실체의 형태 및 미세 구조적 특징, 시약을 이용한 조직의 색

반응, 기주 특이성, 개체의 발달 과정 등을 이용하여 왔다. 그러나 최근에는 분자 생물학적 방법을 이용한 새로운 분류학적 연구가 시도되고 있으며, 버섯 분류 분야에서 이러한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Hibbet and Vilgalys, 1993; Hopple, 1994; Johnson, 1997).

최근, 먹물버섯류도 소수의 계통분류학자들에 의해 계통분류학적 연구가 진행되면서 기존 형태적 분류와의 상이점이 발견되어 분류적 이견이 제시되고 있고(Heim., 1971; Smith, 1971; Park *et al.*, 1999), 진화상의 정보를 내재하고 있는 ribosomal RNA(rRNA)를 이용하여 그 사실을 증명하고 있다(Hopple *et al.*, 1994; Johnson *et al.*, 1997; Park *et al.*, 1999). 그러나 지금까지, 먹물버섯류를 절(section)별로 종들을 선별하여 이들의 염기서열 자료를 이용한 계통학적 유연관계를 연구한 결과는 없다. 따라서 본 연구는 박 등(1999)이 보고한 자료에 근거하여 먹물버섯류의 기준 종인 먹물버섯(*Coprinus comatus*)의 계통학적 위치를 구체적으로 확인, 구명하기 위해 주름버섯목(Agaricales) 내에 먹물버섯과(Coprinaceae)와 포자 색 등의 형태적 유연관계가 가

*Corresponding author

가운 것으로 알려진 독청버섯科(Strophariaceae)의 *Stropharia rugosoannulata*(GBDS 2488), 소똥버섯科(Bolbitiaceae)의 *Conocybe lactea*(GBDS 1111), *Bolbitius demangei*(GBDS 6927), 주름버섯科(Agaricaceae)의 *Agaricus blazei*(ATCC 76739) 등 및 먹물버섯과 형태적으로 유사한 복균류인 *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)를 선발한 뒤 rDNA의 ITS 영역(25S, 5.8S, 17S 일부 포함)에 대한 염기서열을 분석하여 상호간에 진화적 유연 관계를 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

공시균주 및 배양조건

본 실험에 사용된 균주는 Table 1에 나타나 있다. 균의 배양을 위해 이용된 배지는 SAB(Sabouraud Dextrose broth)로서 Difco Co.의 제품을 이용하였다. 25°C에서 120 rpm으로 진탕 배양을 하였으며 약 15일간을 배양하였다.

Table 1. The list of species and Genbank accession number of Coprinoid taxa and its allies used in this study

Species	Strains	Geographical	Accession
<i>Coprinus comatus</i>	GBDS 536	Mt. Kwanggyo, Kyunggi-do	AF043656 AF059584
<i>C. atramentarius</i>	GBDS 1008-1	Seoul	AF044060 AF059599
<i>C. cinereus</i>	GBDS 2249	Nepal	AF043666 AF059593
<i>C. disseminatus</i>	GBDS 2221	Nepal	AF043665 AF059592
<i>C. echinosporus</i>	GBDS 1669	Kwangneung, Kyunggi-do	AF043667 AF059594
<i>C. rhizophorus</i>	ASI 20013	Haenam, Cheollanam-do	AF043668 AF059595
<i>C. micaceus</i>	GBDS 2112	Suwon, Kyunggi-do	AF043663 AF059590
<i>C. radians</i>	GBDS 1075	Seoguipo, Jaeju-do	AF043669 AF059596
<i>P. candolleana</i>	GBDS 2191	Nepal	AF060082 AF060082
<i>Podaxis pistillaris</i>	ATCC 38868	USA	AF039407 AF059285
<i>Agaricus blazei</i>	ATCC 76739	USA	AF081463 AF080441
<i>Bolbitius demangei</i>	GBDS 6927	Suwon	-
<i>Conocybe lactea</i>	GBDS 1111	Suwon	-
<i>Stropharia rugosoannulata</i>	GBDS 2488	Suwon	AF059597 AF043670

*GBDS: GenBank Dried Specimen, Molecular Genetics Division, NIAST, Suwon; ASIS: Agricultural Science Institute Seok, Suwon; ASI: Agricultural Science Institute, Suwon; ATCC: American Type Culture Collection, Maryland, USA.

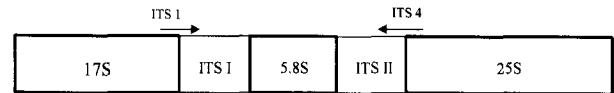


Fig. 1. A structure of rRNA gene cluster of higher fungi and primer design for PCR amplification and sequencing of ITS region used in this study.

ITS 1(forward primer):5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3'(19mer), ITS 4(reverse primer):5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3'(20mer).

Total genomic DNA 분리

Graham(1994) 등의 방법에 따라 냉동 건조시킨 1 g 균사체를 액체 질소에 넣고 곱게 마쇄한 다음 1 ml의 추출 용액을(2%(wt/vol) hexadecyltrimethyl ammonium bromide, 100 mM Tris-HCl(pH 8.0), 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA)에 고르게 현탁한 후 58°C에서 50분간 열처리 하였다. 15,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 새 튜브로 옮긴 상등액에 phenol:chloroform(1:1)로 5~6회 추출한 다음 상등액을 에탄올 침전하여 DNA를 응집시켰다. 응집물을 70% 에탄올로 세척하고 200 μ l TE buffer(pH 8.0)에 녹여 사용하였다.

PCR primer 작성

*Coprinus*속 및 기타 균주의 ITS 영역을 증폭하기 위하여 White(1990) 등에 의해 보고된 곰팡이류의 ITS 영역 증폭 primer를 이용하였으며 이들의 oligomer의 염기서열은 Fig. 1과 같다. 위의 primer는 DNA synthesizer(Applied Biosystem Model 381A, CA, USA)를 이용하여 합성한 후 OPC™ cartridge를 이용하여 정제하였으며 합성된 primer량은 UV분광도계(O.D. 260 nm)로 측정하였다.

rDNA의 ITS 영역 증폭

PCR 반응은 0.5 ml microcentrifuge tube에서 실시하였고 2.5 mM dNTP, 100 pmol primer, 2.5 unit Taq DNA polymerase(Promega Co.), 5 μ l의 10x buffer(100 mM Tris pH 9.0, 50 mM KCl, 10% Triton X-100), 2.5 mM MgCl₂, 50 ng genomic DNA 등을 멸균수와 잘 섞어 총량을 50 μ l로 한 후 반응액의 증발을 막기 위해 30 μ l의 mineral oil을 첨가하였다. PCR 반응 조건은 annealing 온도를 58°C로 하였으며 cycle은 35회 반복하였다.

Cloning 및 sequencing

PCR로 증폭된 rDNA ITS 영역의 염기서열을 조사하기 위해서 먼저 이들 유전자 단편을 pGEM-T vector system(Promega Co.)을 이용해 재 조합하였다. 염기서열을 결정하기 위해서 Sanger(1977) 등의 dideoxy chain termination method를 응용한 T7 Sequencing Kit(Pharmacia Biotech.)를 사용하였다.

염기서열을 이용한 유연 관계 분석 및 염기서열 등록

계통 분류도 작성을 위해 이용된 rDNA ITS 부위의 염기

서열은 Clustral W 프로그램을 이용하여 정렬(alignment)시킨 후 수작업으로 보정하였다. Distance matrix는 Jukes & Cantor(1969)방법으로 작성되었으며, 계통분류도는 MEGA의 Neighbor-joining program(Saito and Nei, 1987)에 의해 작성되었다. 결정된 ITS 염기서열은 GenBank(National Center for Biotechnology Information, www.ncbi.nlm.nih.gov)에 등록하였으며 등록번호는 Table 1에 작성하였다.

결과 및 고찰

먹물버섯(*Coprinus comatus*)의 계통학적 위치를 구체적으로 확인, 규명하기 위해 주름버섯목(Agaricales) 내에 먹물버섯과(Coprinaceae)와 포자 색 등의 형태적 유연관계가 가까운 것으로 알려진 독청버섯과(Strophariaceae)의 *Stropharia rugosoannulata*(GBDS 2488), 소똥버섯과(Bolbitiaceae)의 *Conocybe lactea*(GBDS 1111), *Bolbitius demangei*(GBDS 6927), 주름버섯과(Agaricaceae)의 *Agaricus blazei*(ATCC 76739) 등을 선별하여 먹물버섯과의 균류 및 복균류인 *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)와 rDNA의 ITS 영역(25S, 5.8S, 17S 일부 포함)을 이용하여 비교 분석한 결과, *Stropharia rugosoannulata*(GBDS 2488), *Conocybe lactea*(GBDS 1111), *Bolbitius demangei*(GBDS 6927), *Agaricus blazei*(ATCC 76739), *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)의 ITS 영역 크기는 586 bp, 546 bp, 556 bp, 608 bp, 621 bp로 각각 밝혀졌다. 정렬된 염기서열에서 1~11 bp, 345~394 bp, 664~677 bp는 보존 부위로, 12~344 bp, 395~663 bp는 변이 부위로 밝혀졌다. 특히, *Coprinus comatus*(GBDS 536), *Agaricus blazei*(ATCC 76739), *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)는 변이가 심한 부위인 158~171 bp, 229~241 bp에서 다른 종은 모두 gap으로 조사되었으나 이들은 종간 염기서열 구조에서 매우 유사한 양상을 나타냈다(Table 2). ITS 염기서열 상동성에서 *Agaricus blazei*(ATCC 76739)는 조사된 분류군 중 *C. radians*(GBDS 1075)와 가장 낮은 37%의 상동성을 나타내었다. 전반적으로 박(1999) 등이 보고한 결과와 같이 동일節(section)에 속한 종들 사이에는 70% 이상의 상동성을 나타내었다(Table 2). 그러나 *C. comatus*(GBDS 536)는 조사된 분류군 중 *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)와 가장 높은 상동성(56.1%)을 나타내었고 다음으로 *A. blazei*(ATCC 76739)와 55.9%를 보여 주었다. Fig. 3의 계통학적 분지도의 결과에서는 *C. comatus*(GBDS 536)가 *Podaxis pistillaris*(ATCC 38868)와 87의 분지의 신뢰도(clade robustness)를 나타내었고, *Agaricus blazei*(ATCC 76739)와는 신뢰도 57을 보였으며 group III를 형성하였다. 한편, 기타 검정색 포자를 형성하는 종들(black-spored species) 중 소똥버섯과(Bolbitiaceae)의 종들간에는 신뢰도 49의 분지(clade)를 형성하였고, 독청버섯과(Strophariaceae)와 소똥버섯과(Bolbitiaceae)의 분지신뢰도는 57을 보여주었다. 먹물버섯과(Coprinaceae) 내의 속간(intergenous)의 분지 양상은 눈물버섯속이 독립적으로 먹물버섯속과 분리된 분

지를 형성하지 않고 먹물버섯속(*Coprinus*) 내에 한 분지를 형성하였고 먹물버섯 종들 중 *C. micaceus* GBDS 2112, *C. radians* GBDS 1075, *C. disseminatus* GBDS 2221와의 분지의 신뢰도는 100으로 밝혀졌다(Fig. 2).

본 연구에서 조사된 균류는 주로 주름버섯목(Agaricales) 내 먹물버섯과의 종들로서 계통학적으로 그간 다수의 학자들에 의해 단일계통진화에 많은 문제점이 제기되어온 바 있다. 또한, 주름버섯류와 형태적으로 유사한 복균류인 secotioid taxa를 계통학적으로 주름버섯목(Agaricales) 내에 포함시켜야 한다고 보고하였고(Jülich, 1981), 그 예로서 복균류인 Montagneaceae는 먹물버섯과에서 파생된 그룹이라 규정되었다. 또한 같은 복균류인 Podaxaceae도 소똥버섯과의 조상 종에서 파생된 것으로 보았고, 이들은 주름버섯과(Agaricaceae)와 먹물버섯과(Coprinaceae)와도 계통학적으로 깊은 유연 관계가 있을 것으로 추정하였다. 그리고 Secotiaceae도 주름버섯과에 파생되었음을 주장한 바 있다. 그러나 이러한 주장 이전에, Heim(1971)의 복균류와 담자균류와의 계통분류학적 연구에서 보면 그러한 주장이 세부적으로 언급되어 있지는 않지만 커다란 흐름에서는 그 맥을 이미 간파하고 있음을 확인할 수 있었다. 그는 주름버섯목의 조상을 이담자균류(Heterobasidiomycetes)로 보았고 이 균류가 진화된 것을 민주름버섯목(Aphyllophorales)으로 추정하였다. 여기서 파생된 균류를 주름버섯목으로 보았으며 그중 먹물버섯과에서 파생된 복균류로 Coprinogastraceae, Gyrophragmiaceae, Podaxaceae 등 3과(family)를 분류하였다. 그리고 주름버섯과(Agaricaceae)에서 파생된 복균류로 Secotiaceae를 뽑았다. 상기 두 학자의 주장은 당시 기재중심의 분류체계에서는 커다란 반향을 불러일으켰던 주장이었다. 그러한 주장의 궁극점에 대해 분자생물학적 방법을 이용한 시도가 최근 10년 사이에 급속도로 진행되어 왔으며 그 일부가 밝혀지고 있다(Hibbet and Vilgalys, 1992; Hopple, 1994; Johnson, 1997). 상기 형태학자들(Heim, 1971; Jülich, 1981)이 주장해온 먹물버섯속 균류에 대한 계통분류학적 조사에서 이러한 사실이 본 연구와 매우 유사한 결과를 얻게되었다. 그 예로서 Podaxaceae에 속하는 복균류인 *Podaxis pistillaris*(ATCC 38869)이 *Coprinus comatus*(GBDS 536)과 rDNA ITS 영역의 염기서열 분석에서 나온 분지도(Phylogenetic tree)에서 하나의 분지(clade)를 형성하였고 주름버섯屬(*Agaricus*)에 속하는 *Agaricus blazei* ATCC 76739와도 한 그룹을 형성한 점에서 그들의 주장은 매우 설득력이 있는 것으로 추정되었다. 이들 주름버섯목 균류의 진화에 관한 여러 학자들의 의견들 중 Malencon(1955)은 주름버섯목(Agaricales)을 민주름버섯목에서 진화된 것으로 보았고, 주름버섯목 내에서 여러 과(family)들 중 먹물버섯과에 속하는 종들이 진화하여 생성된 과(family)들이 복균류로 알려져 있는 Coprinogastraceae, Gyrophragmiaceae, Podaxaceae라 주장하였다. 그리고 이와는 반대의 의견을 피력한 Lohwag(1924)는 복균류로부터 주름버섯목이 파생되어 나왔다고 보았다. 따라서 지금까지 조사된 결과와 비교해 볼

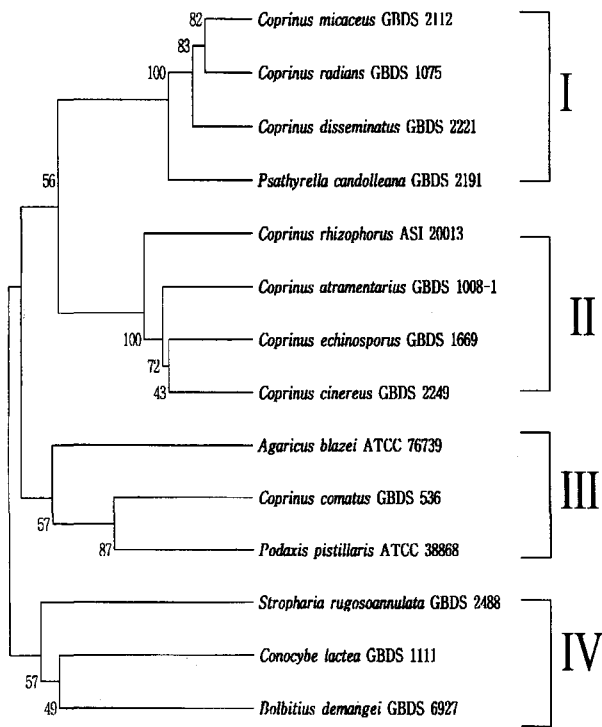


Fig. 2. Dendrogram based on a comparison of ITS I and II region sequences from coprinoid and dark spored taxa. The branch pattern was generated by Neighbor-joining method. The number at the nodes indicate the levels of bootstrap support based on Neighbor-joining analysis of 1,000 resampled data set.

때 먹물버섯속 종들 중 *Coprinus* 절(section) 내 *Coprinus* 아절에 속하는 종들은 기타 다른 먹물버섯 종들과 계통분류학적으로 단일계통진화(Monophyly)를 해왔다는 형태분류학자들의 주장과는 달리 이중(Paraphyly) 또는 다중(Polyphyly) 계통진화를 해왔음을 확인할 수 있었다. 그리고 형태학적으로 복군류로 분류되어온 *P. pistillaris* ATCC 38868은 복군류(Gastromycetes)의 한 종으로 분류되기보다는 주름버섯목(Agaricales)의 한 개체로서 분류되는 것이 바람직할 것으로 사료되었다.

적 요

먹물버섯류 및 주름버섯 유사 균류의 계통학적 유연 관계를 분석하기 위해 계통분류학적 정보를 지니고 있는 rDNA의 ITS(17S, 5.8S, 25S 일부 포함)의 염기서열을 밝히고 이들 자료를 근거로 하여 형태적 분류 체계와 비교분석을 하였다. 이번 조사된 종은 총 14종으로서 먹물버섯속 균류 8종, 눈물버섯속 균류 1종, 소뿔버섯과 2종, 주름버섯과 1종, 독청버섯과 1종, 복군류 1종이 포함되었다. 종간 염기서열 상동성은 38.7~77.2%였다. 조사된 균류는 크게 4개의 그룹을 형성하였다. 그룹 I에 *C. micaceus*, *C. radians*, *C. disseminatus*, *Psathyrella candolleana* 등이 포함되었고, 그룹 II에는 *C. cinereus*, *C. echinosporus*, *C. rhizophorus*, *C.*

*atramentarius*이 조사되었다. 한편, 먹물버섯속 균류의 기준 종인 *C. comatus*는 다른 먹물버섯 그룹들과 분지의 신뢰도가 전혀 없는 것으로 조사되었고 그룹 III에서 주름버섯 유사 복군류인 *Podaxis pistillaris* 및 신령버섯 *Agaricus blazei*와의 분지 신뢰도는 87과, 57을 각각 나타내었다. 한편, 눈물버섯속 균류는 그룹 II에 포함되는 결과를 나타내어 형태적 분류체계와 상이한 결과를 도출하였고, 주름버섯 유사 복군류인 *Podaxis pistillaris*는 다른 기타 주름버섯목 균류보다도 *C. comatus*와 더 밀접한 유연 관계를 나타내어 이들 주름버섯 유사 복군류(secotioid taxa)는 주름버섯목 균류에서 파생된 것임을 확인할 수 있었다. 기준 종으로 알려진 *C. comatus*는 발생학적 측면에서 다른 절에 있는 먹물버섯 균류와 다른 점이 있음을 이번 조사에서 확인할 수 있었으며 먹물버섯屬의 기준 종은 재 설정되어 할 것으로 사료되었다. 또한 기존의 분류학자들이 주장해온 단일 진화론은 조사된 여러 결과와 비교해 볼 때 적어도 paraphyletic이거나 polyphyletic일 가능성은 높은 것으로 확인되었다.

참고문헌

- 박동석, 고승주, 김양섭, 석순자, 송재경, 여윤수, 류진창, 성재모. 1999. 먹물버섯류(*Coprinus* spp.)의 ITS II 영역 염기서열에 의한 유연관계 분석. 한국균학회지 27(1): 27-31.
- Buller, A. J. H. 1922. Researches on fungi. Vol. II. Longman's Green and Co., London, United Kingdom. 492 p.
- Buller, A. J. H. 1924. Researches on fungi. Vol. III. Longman's Green and Co., London, United Kingdom. 611 p.
- Buller, A. J. H. 1931. Researches on fungi. Vol. IV. Longman's Green and Co., London, United Kingdom. 329 p.
- Burns, T. D., Taylor, J. W. and White, T. J. 1991. Fungal Molecular Systematics. *Annual Rev. Ecol. Syst.* 22: 525-564.
- Coker, W. C. and Couch, J. N. 1974. The Gasteromycetes of The Eastern United States and Canada. Dover Press. 195 p. 128plates.
- Fries, E. M. 1821. *Systema Mycologicum*. Vol. 1. Uppsala. 520 p.
- Graham, G. C., Mayer, S. P. and Henry, R. J. 1994. Amplified method for the preparation of fungal genomic DNA for PCR and RAPD analysis. *Biotechniques* 16: 175-269.
- Heim, R. 1971. The interrelationships between the Agaricales and Gastromycetes. Pp. 481-354. In: Evolution in the higher basidiomycetes. Ed., R. H. Peterson. Univ. of Tennessee Press, Knoxville.
- Hibbet, D. S. and Vilgalys, R. 1993. Phylogenetic relationships of *Lentinus* (Basidiomycotina) inferred from molecular and morphological characters, *Syst. Bot.* 18: 409-433.
- Hopple, J. S. 1994. Phylogenetic investigations in the genus *Coprinus* based on morphological and molecular characters. Ph.D. Thesis, Duke University, Durham, North Carolina. 402 p.
- Johnson, J. 1997. Phylogenetics of the Basidiomycetes genus *Lepiota* sensu lato: a framework for studying the evolution

- of insect-cultivated fungi. Ph.D. Thesis, Duke University, Durham, North Carolina. 150 p.
- Juke, T. H. and Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules, pp. 21-132. In H. N. Munro (ed.), *Mammalian protein metabolism*. Academic Press, N. Y.
- Jülich, W. 1981. Higher taxa of basidiomycetes. A. R. Ganter verlag K. G.
- Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M. 1993. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis, Version 1.0. The Pennsylvania State University, University Park.
- Lohwag, H. 1924. Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von *Secotium agaricoides*. *Osterr. Bot. Z.* **73**: 161-174.
- Malencon, G. 1955. Le development duu *Torrendia pulchella* Bres. et son importance morphogenetique. *Rev. Mycol.* **20**: 81-130.
- Massee, G. 1892. British Fungus Flora. Vol. I. London. 432 p.
- Massee, G. 1896. A revision of the genus *Coprinus*. *Ann. Bot. (London)* **10**: 123-184.
- May, G., L. Le Chevanton, and Pukkila, P. J. 1991. Molecular analysis of the *Coprinus cinereus* mating type A factor demonstrates an unexpectedly complex structure. *Genetics* **128**: 529-538.
- Mayer, E. 1942. Systematic and the Origin of Species. New York: Columbia University Press.
- Miller, O. K, Jr. and Miller, H. H. 1988. The Gastromycetes. Mad River Press, Eureka California. 157 p.
- Mitchell, J. I., Robert, P. J. and Moss, S. T. 1995. Sequence or Structure?/A short review on the application of nucleic acid sequence information to fungal taxonomy. *Mycologist* **9**(2): 67-75.
- Morse, E. E. 1933. A study of the genus *Podaxis*. *Mycologia* **25**: 1-33.
- Moser, M. 1978. Agarics and Boleti (Polyporales, Boletales, Agaricales, Russulales). Roger Phillips, Tonbridge, United Kingdom. 535 p.
- Orton, P. D. and Watling, R. 1979. British fungus flora. Agaricus and boleti 2. Coprinaceae, part 1 *Coprinus*. Her Majesty's Stationary Office, Edinburgh, United Kingdom. 149 p.
- Reijnders, A. F. M. 1979. Developmental anatomy of *Coprinus Persoonia* **10**: 383-424.
- Sambrook, J., Fritsch, E. and Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor Press, New York.
- Saito, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogentic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406-425.
- Sanger, F. S., Nicklen, S. and Coulson, A. R. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**(12): 5463-5467.
- Seok, S. J., Kim, Y. S. and Park, D. S. 1994. Notes on Korean Agaricales (III). *Kor. J. Mycol.* **22**(4): 421-426.
- Seok, S. J., Kim, Y. S., Ryu, Y. J. and Park, D. S. 1995. Higher Fungi in Korea (1). *Kor. J. Mycol.* **23**(2): 144-152.
- Singer, R. 1958. The meaning of the affinity of the Secotiaceae with the agaricales. *Sydowia* **7**: 1-43.
- Singer, R. 1986. The Agaricales in modern taxonomy. 4th ed. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany. 981 pp. + 88pl.
- Smith, A. H. 1971. The origin and evolution of the Agaricales. Pp. 481-504. In: Evolution in the Higher Basidiomycetes. Ed., R. H. Peterson. Univ. of Tennessee Press, Knoxville.
- Smith, A. H. 1972. The North American species of *Psathyrella*. *Mem. New York Bot. Gard.* **24**: 633.
- Smith, A. H. 1973. Agaricales and related secotioid gastromycetes. Pp. 421-448. In: The fungi, a taxonomic review with keys. Ascomycetes and fungi imperfecti. Vol. IV B. Eds. G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow, and A. S. Sussman. Academic Press, New York.
- White, T. J., Burns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Eds., M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, San Diego, California. 482 p.