

## ツノゴケゲノムと陸上植物の発生進化

西山智明<sup>1</sup>, 嶋村正樹<sup>2</sup>, 榎原恵子<sup>3</sup>

<sup>1</sup>金沢大学疾患モデル総合研究センター 〒920-0964 金沢市宝町 13-1

<sup>2</sup>広島大学大学院統合生命科学研究科 〒739-8526 東広島市鏡山 1-3-1

<sup>3</sup>立教大学理学部生命理学科 〒171-8501 東京都豊島区西池袋 3-34-1

### Cell biology on hornwort genomes provides insight into developmental evolution of land plants

Tomoaki Nishiyama<sup>1</sup>, Masaki Shimamura<sup>2</sup>, Keiko Sakakibara<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Research Center for Experimental Modeling of Human Disease, Kanazawa University, 13-1 Takara-machi, Kanazawa, 920-8640, Japan.

<sup>2</sup>Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University  
1-3-1 Kagamiyama, Higashi-Hiroshima 739-8536, Japan

<sup>3</sup>Department of Life Science, College of Science, Rikkyo University, 3-34-1 Nishi-Ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, 171-8501, Japan.

Keywords: chromosome, hornworts, KNOX1, rhyniophytes, YABBY

DOI: 10.24480/bsj-review.12d2.00215

#### 要旨

コケ植物はセン類, タイ類, ツノゴケ類の三つのグループからなり, 陸上植物進化の初期に維管束植物のグループと分かれた一群である。そのなかで, セン類からは2008年にヒメツリガネゴケ (Rensing et al. 2008), タイ類からは2017年にゼニゴケの全ゲノム情報が出版され2020年ツノゴケ類のゲノムが公開されたことで, 陸上植物の主要系統のゲノムが出そろった。我々は, *Anthoceros agrestis* 2株 (Bonn, Oxford) および *A. punctatus* の2種3株のゲノムをスイス, アメリカのグループと共同で発表し, 別のグループが *A. angustus* のゲノムを発表し4系統のアセンブリーが公開されている状態である。また, 形質転換法も確立され, 興味深い遺伝子の機能解析が可能となった (Frangedakis et al. 2021)。

#### 1. はじめに

コケ植物はセン類, タイ類, ツノゴケ類の三つのグループからなり, 陸上植物進化の初期に維管束植物のグループと分かれた一群である。セン類, タイ類, ツノゴケ類の3群と維管束植物の系統関係については, 諸説あったが, 現在では, コケ植物は維管束植物の姉妹群にあたる単系統群であり, その中でツノゴケ類が最初に分岐し, セン類とタイ類は互いに姉妹

群であるというのがもっとも有力な考え方である。セン類では 2008 年にヒメツリガネゴケの (Rensing et al. 2008), タイ類では 2017 年にゼニゴケの全ゲノム情報が出版され (Bowman et al. 2017), 比較解析の基盤がそろってきた。ここに, ツノゴケ類の全ゲノム情報が加わることで陸上植物進理解の解像度が上がると期待される。我々は, 2020 年にナガサキツノゴケ *Anthoceros agrestis* 2 株 (Bonn, Oxford) および *A. punctatus* の 3 株のゲノムをスイス, アメリカのグループと共同で発表し (Li et al. 2020), さらに中国 BGI を含むグループが *A. angustus* (ホウライツノゴケ) のゲノムを発表したことから (Zhang et al. 2020), 現在 3 種 4 株のアセンブリーが公開されている状態である。本稿では, ツノゴケのゲノム解読によって実際どのようなことがわかってきたのかを紹介する。

## 2. 小さいゲノムサイズと染色体レベルスーパーキャフオルドの構築

ツノゴケ 4 株のゲノムサイズはどれも百数十 Mb 程度で, これはゼニゴケ (226 Mb), ヒメツリガネゴケ (467 Mb) など, 他のコケ植物よりも小さく, 被子植物で既知の最小のゲノムサイズを持つとされるシロイヌナズナ (120 Mb 程度) に匹敵する小さなゲノムサイズであった (表 1)。ゲノム解読は基本的に, Oxford Nanopore によるロングリード (長い断片の配列を連続的に決定できるが誤り率は高い) と Illumina によるショートリード (短い断片の配列しか決定できないが正確) を組み合わせて行われた。*A. agrestis* Bonn のみさらに Hi-C によるスーパーキャフオルディングを行うことで染色体スケールの並びを復元した。これにより, *A. agrestis* Bonn については 10 Mb 以上のスーパーキャフオルドが 6 本とそのほかの短いスーパーキャフオルドにまで整理された (図 1 左)。*A. agrestis* の DAPI 染色による染色体の蛍光顕微鏡像を捉え, これもほぼ 6 本であり, 大きいスーパーキャフオルドの数と一致した (図 1 右)。このことからほぼ染色体に対応すると思われるスーパーキャフオルドを得たと認識できる。

染色体全体に渡るアセンブリーが得られたことで, ゲノム全体としての特徴がわかった。これまで, シロイヌナズナなどの被子植物をはじめ多くの生物では, 染色体の動原体付近には反復配列が集まり遺伝子密度が低くなり, 動原体から離れた部分で遺伝子密度が大きくなるパターンが知られていた (Lang et al. 2018)。これに対して, 今回判明した *A. agrestis* Bonn 株のゲノムではそのような動原体付近での反復配列の集積, 遺伝子の排除は見られず, 例外的に遺伝子がほぼ均一に分布していることが知られているセン類のヒメツリガネゴケ (Lang et al. 2018) に類似していることが判明した。

また, ツノゴケゲノム全体を見てわかる特徴として, 全ゲノム重複の痕跡がないということが挙げられる。これは, ゲノム内シンテニーが見つからないことおよびパラログ間同義置換距離 (Ks) 解析の双方によって全ゲノム重複の痕跡がないという結果が得られている。これは, 同様にゲノムサイズが小さいシロイヌナズナではゲノム解読によって全ゲノム重複が明らかになったのと対照的である。コケ植物では, ヒメツリガネゴケは 2 回のゲノム重複の痕跡があり, ゼニゴケはゲノム重複の痕跡がない。

ツノゴケはゲノムサイズが小さいことから, 他の植物より遺伝子総数が少ないかというところではなく, 遺伝子密度が高いようである。遺伝子総数の報告は, *A. angustus* と *A. agrestis*,

表 1 陸上植物のゲノムサイズ比較

種類	推定ゲノムサイズ (Mb)	遺伝子数	Reference
ヒメツリガネゴケ <i>Physcomitrium patens</i>	467	35,307	Lang et al. 2017
ゼニゴケ <i>Marchantia polymorpha</i>	226	19,138	Bowman et al. 2017
シロイヌナズナ <i>Arabidopsis thaliana</i>	119	27,655	Cheng et al. 2016
<i>Anthoceros angustus</i>	119	14,629	Zhang et al. 2020
<i>A. punctatus</i>	128-150	25,426	Li et al. 2020
<i>A. agrestis</i> Bonn	122-132	25,837	Li et al. 2020
<i>A. agrestis</i> Oxford	123-135	24,739	Li et al. 2020

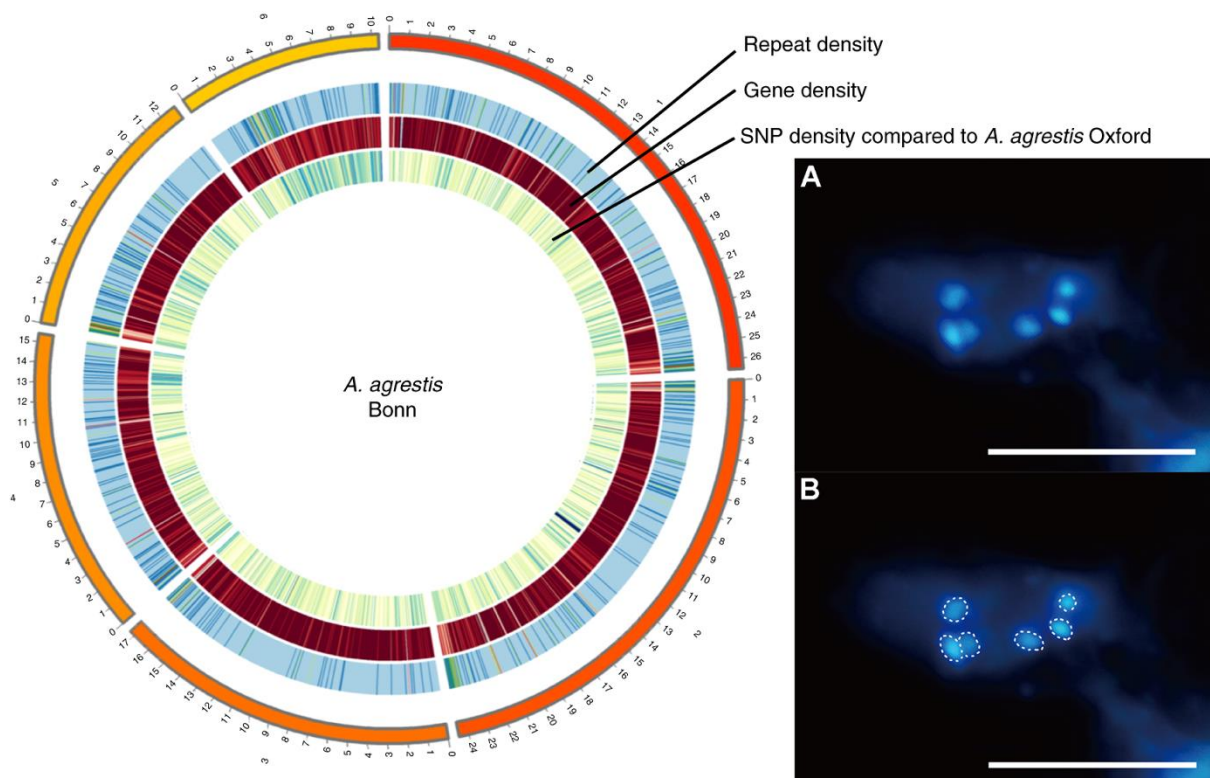


図 1. *Anthoceros agrestis* の super scaffold と染色体像 左: *A. agrestis* Bonn の 6 本の super scaffold. 反復配列, 遺伝子, Oxford 株と Bonn 株の間の塩基置換の密度を表示している。右: (A) *A. agrestis* Oxford 株の DAPI 染色像。(B) A のうち染色体にあたる部分を波線で囲って示したもの。スケールバーは 10  $\mu$ m。Li et al. 2020 Fig1a および Fig S1 より。 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

*A. punctatus* で大きく異なっているが、これは *A. angustus* の遺伝子数が少ないというよりはゲノムアノテーションの方向性の違いの結果であって、*A. agrestis* のアノテーションでは遺伝子が見落としが無いことを目指して予測を進めたことによると考えている。また、まだ isoform を多く予測している部分もあると思われる。また、個別の遺伝子ファミリーを見ると大抵、少数の遺伝子からなっている。

予測されたタンパク質配列の機能アノテーションにおいて、転写関連遺伝子の割合は 2.4～2.6% に留まり、陸上植物の中では少ない方であった。ファミリーごとに見ても、遺伝子数はゼニゴケより少ないか、同じ遺伝子数で構成されているファミリーが半分程度あった。このことからツノゴケはシンプルな転写ネットワークを持つことが予想され、遺伝学的解析がし易いことが期待される。

ゲノムサイズが小さい一方で、*PPR* 遺伝子群など特徴的な遺伝子には増加が見られた。静岡大学の吉永先生の研究グループにより、ツノゴケ類のホウライツノゴケ *A. angustus* でオルガネラでの RNA-editing が非常に多いという知見が見出されている (Kugita et al. 2003)。ヒメツリガネゴケ、シロイヌナズナなどで *PPR* 遺伝子が特定の RNA editing を制御していることが報告されている。*PPR* 遺伝子群がツノゴケゲノムで増加していることは、RNA-editing に *DYW* 型の *PPR* 遺伝子が関わっていて各 editing site のために別の遺伝子があるということと整合的である。

ツノゴケゲノムを解読したところで陸上植物の主要系統と陸上植物に最も近縁な藻類である接合藻類とシャジクモの全ゲノム配列がでそろったので、セン類、タイ類、ツノゴケ類と維管束植物間の系統解析をゲノムにあるほぼシングルコピーな遺伝子に基づいて行くと、コケ植物が単系統で維管束植物の姉妹群であるという、色素体ゲノム上のタンパクコード遺伝子の解析 (Nishiyama et al. 2004)、および近年のトランスクリプトームデータに基づく系統解析の結果 (Wickett et al. 2014) と一致する結果が再現した。コケ植物の単系統性は、Li et al. (2020) および Zhang et al. (2020) 双方で同様の結果である。

### 3. 発生関連遺伝子

ツノゴケ類は孢子体の基部に介在分裂組織があり無限成長する。このため、孢子体は比較的長く生きることになり、孢子体が優占する維管束植物との類似性が議論されてきた (Simpson 2019)。もしかしたら、ツノゴケは維管束植物と同様の分裂組織制御機構を持っており、いずれも孢子体の拡大にあたって機能したのかもしれないと、我々は考えていた。維管束植物のシュート頂分裂組織の形成維持に関与する遺伝子としてはシロイヌナズナの *SHOOT MERISTEMLESS (STM)* 遺伝子が含まれる *KNOXI* 遺伝子ファミリーが知られている (Hay & Tsiantis 2010) が、*KNOXI* ファミリーの遺伝子はツノゴケのゲノムにはないことがわかった (Li et al. 2020)。このことは、ツノゴケ類孢子体基部の分裂組織の存在はシュート頂分裂組織に類するものではなく、発生パターン通り介在分裂組織であることを支持する。すなわち、ツノゴケ類が維管束植物に近いことを示唆することもなく、コケ植物が単系統であり、その中で、ツノゴケ類で *KNOXI* 遺伝子が消失する (図 2) などの変化が生じたという見方と整合的である。

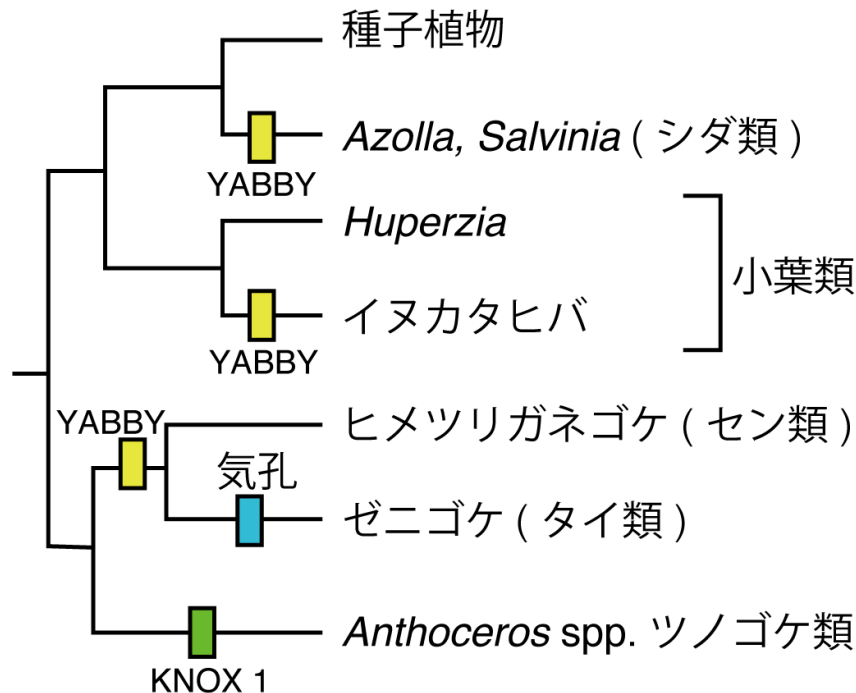


図 2. 陸上植物の進化過程において、気孔および YABBY 遺伝子と KNOX1 遺伝子が失われたと想定される枝を分岐図上に示した。

シロイヌナズナにおいて、*KNOX1* 遺伝子の側生器官（葉）での発現を抑制し、葉の背側細胞運命決定を制御する YABBY 遺伝子ファミリーが報告されている (Kumaran et al. 2002; Siegfried et al. 1999)。YABBY 遺伝子はゲノムが報告されている小葉類イヌカタヒバ、セン類ヒメツリガネゴケ、タイ類ゼニゴケのゲノムからは見つかっていないため、この遺伝子は種子植物の系統で獲得されたと筆者らは考えていた。しかし、2017 年、小葉類コスギラン *Huperzia selago* の茎頂組織のトランスクリプトーム解析から YABBY 遺伝子の転写産物がみつき、今回のツノゴケゲノムからも YABBY 遺伝子が見つかった。一方、シダ類 (*Azolla, Salvinia*; Li et al. 2018) にはやはり YABBY 遺伝子がなかった。すなわち、YABBY 遺伝子はコケ植物と維管束植物の共通祖先ではすでに獲得されていたが、セン・タイ類、イヌカタヒバ、シダ類の少なくとも 3 回喪失したということになる (図 2)。

タイ類以外の陸上植物は、胞子体の表皮に気孔と呼ばれる孔を持つ。気孔は地上部に形成され、維管束植物では開閉によりガス交換や蒸散の役割を担っており、コケ植物では胞子囊の乾燥と裂開に機能していると考えられている (Chater et al. 2017)。

ツノゴケゲノムにおいても気孔形成関連遺伝子はほぼそろっていることが確認された。気孔形成関連遺伝子は、陸上植物の進化の初期に獲得され、保存されてきた遺伝子群と言えるだろう。これらの遺伝子は胞子体で発現しており (Li et al. 2020)、ツノゴケ類、セン類、維管束植物の持つ気孔は相同であり、タイ類で消失したり (図 2)、セン類でより単純な遺伝子ネットワークによってその形成が制御されるようになったのではないかと議論されている (Harris et al. 2020)。

#### 4. ゲノムを通して考えられる、陸上植物の祖先と進化

陸上植物の進化の過程で、様々なタイプの孢子体分裂組織（分類群ごとに形態の異なる頂端細胞、孢子体の蒴柄の介在分裂組織、多細胞性のシュート分裂組織など）が進化した過程については未だによくわかっていない。ツノゴケ類を含む現生のコケ植物との系統関係は不明だが、初期の陸上植物には、配偶体と孢子体世代の双方が分枝を伴うある程度複雑な組織分化を示す、現生のコケともシダとも異なる同型世代交替的な性質を持つものが数多く知られる (Kenrick 2017)。デボン紀に生育していた葉をつけない細長い分枝した孢子体を作る *Rhynia* や孢子囊の内部に軸状の組織（コルメラ）を有する *Horneophyton* などの絶滅したりニア状植物は、孢子囊部分だけ見ればコケ植物とよく似ており、ツノゴケのような単一の軸からなる孢子体が分岐するようになったことで進化したと解釈されることがあった (Campbell 1924; Smith 1955)。一例として、Smith (1955) の Fig. 82 を図3として示す。一方、Schuster (1966) などでは、同様の図を逆向きに並べ、リニア状植物の孢子体が退行的に進化することで、ツノゴケの孢子体が進化したことを議論している。ゲノム解析の結果からは、ツノゴケの孢子体はかつて頂端成長をしていたものが、孢子体分裂組織の活動を制御する *KNOX1* 遺伝子の喪失 (Li et al. 2020) によって、分枝をせず、一過的な介在分裂のみで成長する奇妙な発生様式に変化したと解釈することも可能であり、絶滅したりニア状植物の分岐する孢子体が退化して、分枝しなくなったものが現生のツノゴケの孢子体の起源となったという退行進化の考え方も再評価してよいかもしれない。

維管束植物、セン類、タイ類に存在する *KNOX1* 遺伝子がツノゴケ類に存在しないということは、*KNOX1* 遺伝子はツノゴケ類がセン類、タイ類と分岐してからツノゴケ類の系統で失われたと考えられる (図2)。シロイヌナズナでは *KNOX1* 遺伝子族に属する *STM* 遺伝子がシュート頂分裂組織形成に関わり、同じく孢子体地上部の軸 (stem) の形成に関わっており、ヒメツリガネゴケでは、孢子体発生時に孢子体の軸 (蒴柄: seta) 形成に関わっているとも解釈できる発現パターンと変異体の表現型を示す (Hay & Tsiantis 2010)。ツノゴケ類の孢子体には seta のような孢子囊を持ち上げる構造体としての軸が存在しないが、これは、*KNOX1* 遺伝子の喪失と呼応して軸が失われたのであって、現生陸上植物の共通祖先の孢子体は軸を持っていたかもしれないと考えられる。孢子体が柄を持つセン類、タイ類を合わせて setaphytes と呼ぶことがあるが (Renzaglia & Garbary 2001; Renzaglia et al. 2018)、seta は *KNOX1* 遺伝子とともにツノゴケ類で喪失した形質であって、セン類、タイ類の共通祖先で新規に獲得された共有派生形質ではない可能性があり、分類群の名付けとして最適だったかは議論の余地があるかもしれない。

*YABBY* 遺伝子がツノゴケで何をしているのか、これはツノゴケ類でその変異体を作成して調べるべきことであるが、現時点で想像をたくましくすることもできる。例えば、ツノゴケ類の孢子囊は、二つの部分に別れて裂けていくような開き方をする。その裂け目の溝になる部分で異なった細胞分化をするためのパターン形成に関わるのではないかと想像される。*YABBY* 遺伝子でなくとも、何らかの遺伝子はその溝のパターン形成をしているはずである。ヒメツリガネゴケやゼニゴケの孢子囊では円周方向に継ぎ目のない袋という様に構造が単純化しているのは、何らかの遺伝子の機能喪失による単純化の結果かもしれない。ゼニゴケ類

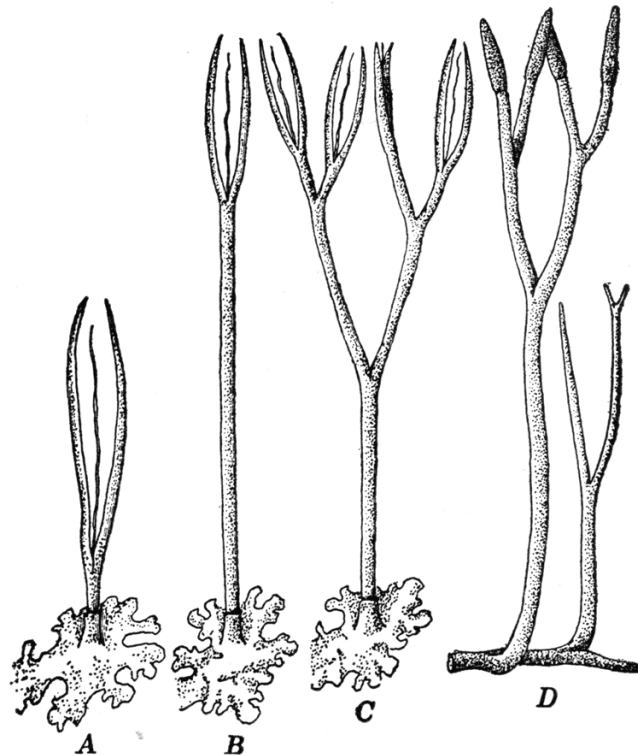


Fig. 82. Diagrams showing hypothetical sequence in the evolution of a semiparasitic anthocerotean type of sporophyte into a free-living psilophytan type of sporophyte.

図 3. Smith (1955) p133 の Fig. 82.

以外の多くのタイ類や、セン類の基部で分岐したナンジャモンジャゴケ属 (*Takakia*) およびクロマゴケ属 (*Andraeobryum*) では、胞子嚢は特定の部分の縦方向、あるいは斜め方向の裂開線に沿って裂ける (Higuchi & Zhang 1998)。これらは類似の機構である可能性があり、興味深い。

## 5. コケ植物の退化と遺伝子喪失

現在の地球上でコケ植物は、林床・樹皮上・攪乱地・極圏などのような極端な環境などでも、大きく育つことなく省エネルギーで次世代をつなぐ胞子を作ることに対応しているように見える。また、安定した環境においても、背丈が高い維管束植物が多くの光を利用してしまいう中で、小さな植物体を生かして、維管束植物が利用できないような微環境に適応しているようにも見える。しかし、初期の陸上植物がどのような環境で育っていたかを考えると、現在のような背の高い維管束植物が存在したわけでないで、日当たりの良いところにも共通祖先である植物が暮らしていたと考えられる。そこでは、コケ植物の祖先は、一旦、胞子体が枝分かれした多胞子嚢植物になったものの、維管束植物の出現と繁栄にともなって、植物体、特に胞子体世代の背丈をより高くする競争からは撤退し、たくさんの小さな胞子体を配偶体上に生じるようになったのかもしれない。この進化の道筋を選んだおかげで、現在で

も維管束植物が利用できないような環境でも生育し、繁栄を遂げているのかもしれない。

これまで全ゲノム配列が解読されているコケ植物は、維管束植物と比べて遺伝子数が少ないのであるが、多様な系統の解析結果を比べると、陸上植物の進化の過程で、遺伝子は獲得されるだけでなく、失われるという例も多かったことが示唆されている。つまり、遺伝子レベルでの退化（遺伝子の消失）によって現在のコケ植物ができたという過程があったかもしれない。最近 *Anthoceros agrestis* の形質転換が実現されたことから (Frangedakis et al. 2021)、今後、さらに実験的検証も進むと期待される。

## 引用文献

- Bowman, J.L., Kohchi, T., Yamato, K.T., Jenkins, J., Shu, S.Q., Ishizaki, K., Yamaoka, S., Nishihama, R., Nakamura, Y., Berger, F., Adam, C., Aki, S.S., Althoff, F., Araki, T., Arteaga-Vazquez, M.A., Balasubramanian, S., Barry, K., Bauer, D., Boehm, C.R., Briginshaw, L., Caballero-Perez, J., Catarino, B., Chen, F., Chiyoda, S., Chovatia, M., Davies, K.M., Delmans, M., Demura, T., Dierschke, T., Dolan, L., Dorantes-Acosta, A.E., Eklund, D.M., Florent, S.N., Flores-Sandoval, E., Fujiyama, A., Fukuzawa, H., Galik, B., Grimaneli, D., Grimwood, J., Grossniklaus, U., Hamada, T., Haseloff, J., Hetherington, A.J., Higo, A., Hirakawa, Y., Hundley, H.N., Ikeda, Y., Inoue, K., Inoue, S.I., Ishida, S., Jia, Q.D., Kakita, M., Kanazawa, T., Kawai, Y., Kawashima, T., Kennedy, M., Kinose, K., Kinoshita, T., Kohara, Y., Koide, E., Komatsu, K., Kopischke, S., Kubo, M., Kyozuka, J., Lagercrantz, U., Lin, S.S., Lindquist, E., Lipzen, A.M., Lu, C.W., De Luna, E., Martienssen, R.A., Minamino, N., Mizutani, M., Mizutani, M., Mochizuki, N., Monte, I., Mosher, R., Nagasaki, H., Nakagami, H., Naramoto, S., Nishitani, K., Ohtani, M., Okamoto, T., Okumura, M., Phillips, J., Pollak, B., Reinders, A., Rovekamp, M., Sano, R., Sawa, S., Schmid, M.W., Shirakawa, M., Solano, R., Spunde, A., Suetsugu, N., Sugano, S., Sugiyama, A., Sun, R., Suzuki, Y., Takenaka, M., Takezawa, D., Tomogane, H., Tsuzuki, M., Ueda, T., Umeda, M., Ward, J.M., Watanabe, Y., Yazaki, K., Yokoyama, R., Yoshitake, Y., Yotsui, I., Zachgo, S., & Schmutz, J. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. *Cell* 171:287–304.e215
- Campbell, D.H. 1924. A remarkable development of the sporophyte in *Anthoceros fusiformis*. *Aust. Ann. Bot.* 38:473–483
- Chater, C.C.C., Caine, R.S., Fleming, A.J., & Gray, J.E. 2017. Origins and evolution of stomatal development. *Plant. Physiol.* 174:624–638
- Frangedakis, E., Waller, M., Nishiyama, T., Tsukaya, H., Xu, X., Yue, Y., Tjahjadi, M., Gunadi, A., Van Eck, J., Li, F.W., Szovenyi, P., & Sakakibara, K. 2021. An agrobacterium-mediated stable transformation technique for the hornwort model *Anthoceros agrestis*. *New Phytol.* doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17524>
- Harris, B.J., Harrison, C.J., Hetherington, A.M., & Williams, T.A. 2020. Phylogenomic evidence for the nonophyly of bryophytes and the reductive evolution of stomata. *Curr. Biol.* 30: 2001-2012.e2002
- Hay, A., & Tsiantis, M. 2010. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development* 137: 3153–3165
- Higuchi, M., & Zhang, D.-C. 1998. Sporophytes of *Takakia ceratophylla* found in China. *J. Hattori Bot.*



Lab. 84: 57–69

- Kenrick, P. 2017. Changing expressions: a hypothesis for the origin of the vascular plant life cycle. *Phil. Trans. R. Soc. B* 373: 20170149
- Kugita, M., Kaneko, A., Yamamoto, Y., Takeya, Y., Matsumoto, T., & Yoshinaga, K. 2003. The complete nucleotide sequence of the hornwort (*Anthoceros formosae*) chloroplast genome: insight into the earliest land plants. *Nucleic Acids Res.* 31:716-721
- Kumaran, M.K., Bowman, J.L., & Sundaresan, V. 2002. YABBY polarity genes mediate the repression of KNOX homeobox genes in Arabidopsis. *Plant Cell* 14:2761-2770
- Lang, D., Ullrich, K.K., Murat, F., Fuchs, J., Jenkins, J., Haas, F.B., Piednoel, M., Gundlach, H., Van Bel, M., Meyberg, R., Vives, C., Morata, J., Symeonidi, A., Hiss, M., Muchero, W., Kamisugi, Y., Saleh, O., Blanc, G., Decker, E.L., van Gessel, N., Grimwood, J., Hayes, R.D., Graham, S.W., Gunter, L.E., McDaniel, S.F., Hoernstein, S.N.W., Larsson, A., Li, F.W., Perroud, P.F., Phillips, J., Ranjan, P., Rokshar, D.S., Rothfels, C.J., Schneider, L., Shu, S.Q., Stevenson, D.W., Thummler, F., Tillich, M., Aguilar, J.C.V., Widiez, T., Wong, G.K.S., Wymore, A., Zhang, Y., Zimmer, A.D., Quatrano, R.S., Mayer, K.F.X., Goodstein, D., Casacuberta, J.M., Vandepoele, K., Reski, R., Cuming, A.C., Tuskan, G.A., Maumus, F., Salse, J., Schmutz, J., & Rensing, S.A. 2018. The *Physcomitrella patens* chromosome-scale assembly reveals moss genome structure and evolution. *Plant J.* 93:515–533
- Li, F.W., Brouwer, P., Carretero-Paulet, L., Cheng, S.F., de Vries, J., Delaux, P.M., Eily, A., Koppers, N., Kuo, L.Y., Li, Z., Simenc, M., Small, I., Wafula, E., Angarita, S., Barker, M.S., Brautigam, A., dePamphilis, C., Gould, S., Hosmani, P.S., Huang, Y.M., Huettel, B., Kato, Y., Liu, X., Maere, S., McDowell, R., Mueller, L.A., Nierop, K.G.J., Rensing, S.A., Robison, T., Rothfels, C.J., Sigel, E.M., Song, Y., Timilsena, P.R., Van de Peer, Y., Wang, H.L., Wilhelmsson, P.K.I., Wolf, P.G., Xu, X., Der, J.P., Schluempmann, H., Wong, G.K.S., & Pryer, K.M. 2018. Fern genomes elucidate land plant evolution and cyanobacterial symbioses. *Nat. Plants* 4: 460–472
- Li, F.W., Nishiyama, T., Waller, M., Frangedakis, E., Keller, J., Li, Z., Fernandez-Pozo, N., Barker, M.S., Bennett, T., Blazquez, M.A., Cheng, S.F., Cuming, A.C., de Vries, J., de Vries, S., Delaux, P.M., Diop, I.S., Harrison, C.J., Hauser, D., Hernandez-Garcia, J., Kirbis, A., Meeks, J.C., Monte, I., Mutte, S.K., Neubauer, A., Quandt, D., Robison, T., Shimamura, M., Rensing, S.A., Villarreal, J.C., Weijers, D., Wicke, S., Wong, G.K.S., Sakakibara, K., & Szovenyi, P. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. *Nat. Plants* 6:259–272
- Nishiyama, T., Wolf, P.G., Kugita, M., Sinclair, R.B., Sugita, M., Sugiura, C., Wakasugi, T., Yamada, K., Yoshinaga, K., Yamaguchi, K., Ueda, K., & Hasebe, M. 2004. Chloroplast phylogeny indicates that bryophytes are monophyletic. *Mol. Biol. Evol.* 21:1813-1819
- Rensing, S.A., Lang, D., Zimmer, A.D., Terry, A., Salamov, A., Shapiro, H., Nishiyama, T., Perroud, P.F., Lindquist, E.A., Kamisugi, Y., Tanahashi, T., Sakakibara, K., Fujita, T., Oishi, K., Shin-I, T., Kuroki, Y., Toyoda, A., Suzuki, Y., Hashimoto, S., Yamaguchi, K., Sugano, S., Kohara, Y., Fujiyama, A., Anterola, A., Aoki, S., Ashton, N., Barbazuk, W.B., Barker, E., Bennetzen, J.L., Blankenship, R., Cho, S.H., Dutcher, S.K., Estelle, M., Fawcett, J.A., Gundlach, H., Hanada, K., Heyl, A., Hicks, K.A., Hughes, J., Lohr, M., Mayer, K., Melkozernov, A., Murata, T., Nelson, D.R., Pils, B., Prigge, M.,

- Reiss, B., Renner, T., Rombauts, S., Rushton, P.J., Sanderfoot, A., Schween, G., Shiu, S.H., Stueber, K., Theodoulou, F.L., Tu, H., Van de Peer, Y., Verrier, P.J., Waters, E., Wood, A., Yang, L.X., Cove, D., Cuming, A.C., Hasebe, M., Lucas, S., Mishler, B.D., Reski, R., Grigoriev, I.V., Quatrano, R.S., & Boore, J.L. 2008. The Physcomitrella genome reveals evolutionary insights into the conquest of land by plants. *Science* 319:64–69
- Renzaglia, K.S., & Garbary, D.J. 2001. Motile gametes of land plants: diversity, development, and evolution. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20: 107–213
- Renzaglia, K.S., Villarreal A., J.C., & Garbary, D.J. 2018. Morphology supports -the setaphyte hypothesis: mosses plus liverworts form a natural group. *Bryophy. Div. Evol.* 40:011–017
- Schuster, R.M. 1966. The Hepaticae and Anthocerotae of North America. Vol. 1. Columbia Univ. Press, New York
- Siegfried, K.R., Eshed, Y., Baum, S.F., Otsuga, D., Drews, G.N., & Bowman, J.L. 1999. Members of the YABBY gene family specify abaxial cell fate in Arabidopsis. *Development* 126:4117–4128
- Simpson, M.G. 2019. Plant Systematics. Academic Press
- Smith, G.M. 1955. Cryptogamic Botany. McGraw-Hill, New York
- Wickett, N.J., Mirarab, S., Nguyen, N., Warnow, T., Carpenter, E., Matasci, N., Ayyampalayam, S., Barker, M.S., Burleigh, J.G., Gitzendanner, M.A., Ruhfel, B.R., Wafula, E., Der, J.P., Graham, S.W., Mathews, S., Melkonian, M., Soltis, D.E., Soltis, P.S., Miles, N.W., Rothfels, C.J., Pokorny, L., Shaw, A.J., DeGironimo, L., Stevenson, D.W., Surek, B., Villarreal, J.C., Roure, B., Philippe, H., dePamphilis, C.W., Chen, T., Deyholos, M.K., Baucom, R.S., Kutchan, T.M., Augustin, M.M., Wang, J., Zhang, Y., Tian, Z.J., Yan, Z.X., Wu, X.L., Sun, X., Wong, G.K.S., & Leebens-Mack, J. 2014. Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: E4859–E4868
- Zhang, J., Fu, X.X., Li, R.Q., Zhao, X., Liu, Y., Li, M.H., Zwaenepoel, A., Ma, H., Goffinet, B., Guan, Y.L., Xue, J.Y., Liao, Y.Y., Wang, Q.F., Wang, Q.H., Wang, J.Y., Zhang, G.Q., Wang, Z.W., Jia, Y., Wang, M.Z., Dong, S.S., Yang, J.F., Jiao, Y.N., Guo, Y.L., Kong, H.Z., Lu, A.M., Yang, H.M., Zhang, S.Z., Van de Peer, Y., Liu, Z.J., & Chen, Z.D. 2020. The hornwort genome and early land plant evolution. *Nat. Plants* 6: 107–118