# 植物固有の転写因子 LEAFY とゼニゴケの有性生殖

荒木　崇
京都大学生命科学研究科統合生命科学専攻
〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

Plant-specific transcription factor LEAFY and its possible role in gametophyte development in *Marchantia polymorpha*

Key words: gametophyte, LEAFY, *Marchantia polymorpha*

Takashi Araki
Division of Integrated Life Science, Graduate School of Biostudies, Kyoto University
Yoshida-Konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

## １．はじめに

ゼニゴケ（*Marchantia polymorpha*）は，陸上植物（有胚植物 [Embryophyta]）の現生の系統の中では，最も初期に分岐したと考えられる苔類を代表するモデル植物である（本総説集中の，河内と石崎，大和と河内，嶋村の各総説を参照）。筆者の研究室では，生活環の進化に対する関心から，2007 年からゼニゴケを用いた研究を進めてきた。その中で，われわれは，(1) 被子植物においてその役割がよく研究されており，その祖先的機能に興味が持たれる，(2) 陸上植物の進化過程で遺伝子重複がほとんど起こっておらず，オルソログ関係が明確に確定できる，という２つの観点から，植物固有の転写因子 LEAFY (LFY) に着目し，最初の解析対象のひとつとしている。

本総説では，まず LFY について概説し，ついで，ゼニゴケにおいて LFY が関わる可能性が高いとわれわれが考えている，有性生殖における雄側の役割について，ゼニゴケが植物学の対象として研究されるようになってから現在に至るまでの知見をまとめ，今後の研究の方向性を紹介するとともに，読者の参考に供したい。

## ２．植物固有の転写因子 LEAFY

LEAFY/FLORICAULA (LFY/FLO)（以下，簡便のため，LFY と略す）は，シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana*）とキンギョソウ（*Antirrhinum majus*）において，花序分裂組織の側方に発生する分裂組織が，花芽分裂組織としての属性を獲得する過程で，重要な役割を果たす転写因子として同定された。約 350〜430 アミノ酸残基から成り，N 末側に 76 アミノ酸残基の N ドメイン，C 末に 160 アミノ酸残基の C ドメインという，ともによく保存されたドメインを持つ（図１）。主としてシロイヌナズナにおける研究から，LFY は花芽形成におけるマスター制御因子であることが明らかになっている（総説として Moyroud *et al*. 2010, Siriwardana and Lamb 2012a）。転写因子としての LFY の機能については，DNA 結合ドメインである C ドメイン（後述の２−２．を参照）の立体構造が決定され，DNA との相互作用や二

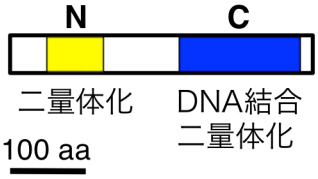


**図１．LFY 蛋白質の構造**

量体化に必要なアミノ酸残基が特定されている（Hamès *et al*. 2008）。また，この結果に基づいて，LFY の DNA への結合の生物物理学モデルが構築され，ゲノム上の LFY 結合サイトの正確な予測がなされている（Moyroud *et al*. 2011）。理解が遅れていた N ドメインに関しても，最近になって，二量体形成における重要性が報告された（Siriwardana and Lamb 2012b）。さらに，花序と芽生えにおける制御標的遺伝子の網羅的な探索がおこなわれ，花芽形成関連の遺伝子でこれまでに制御標的遺伝子として同定されていたものを含めて，多数の遺伝子が同定された（Winter *et al*. 2011, Siriwardana and Lamb 2012a）。芽生えにおける制御標的遺伝子の同定からは，これまで予想されていなかった生理学・発生学的過程における LFY の潜在的役割が浮かび上がり，興味ある今後の研究課題を提供することになった。未だに少数ではあるが，重要な co-factor もいくつか同定されている（Siriwardana and Lamb 2012a）。

LFY の機能の理解は，このように，もっぱらシロイヌナズナの研究により進んできたが，花芽形成におけるマスター制御因子という位置づけから来る関心から，種子植物を中心に数多くのオルソログが同定されている（2012 年 6 月 1 日の時点で，被子植物から約 2200，裸子植物から約 110，シダ植物から 53，小葉類から 76，コケ植物から約 660（ただし，大半がミズゴケ属 (*Sphagnum*) の種からのごく短いもの）の配列が登録されている）。こうした探索から，*LFY* 遺伝子は，コケ植物を含む陸上植物に広く存在し，裸子植物と一部の系統に見られる倍数体化や染色体領域の小規模な倍加に起因する遺伝子重複を除けば，概ね単一コピー遺伝子として存在することが明らかになった。これは，陸上植物の進化の過程で，陸上植物に固有のものも含めて，多くの転写因子遺伝子が，遺伝子重複により大きなファミリーを形成するようになってきたこととは対照的である（Riechmann *et al*. 2000, Moyroud *et al*. 2009）。*LFY* 遺伝子がなぜ遺伝子ファミリーを形成するに至らなかったかについては謎であるとされる。また，進化上の起源についても，DNA 結合ドメイン（C ドメイン）の構造と DNA への結合様式が，いくつかのヘリックス-ターン-ヘリックス蛋白質（例えば，Tc3A トランスポゼース）のそれと似ている（Hamès *et al*. 2008）ことから，トランスポゾン起源の可能性が示唆されているが，いずれの場合にも配列相同性の度合いは非常に低く，推測の域を出ない（Moyroud *et al*. 2009）。すでに，ゲノム解読が完了している２種の緑藻類，クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）とボルボックス（*Volvox carteri*）にはオルソログが存在しないことから，陸上植物（有胚植物）に固有の転写因子である可能性が高いが，緑藻類の中でもシャジクモ類（坂山 2010）やコレオケーテ類，接合藻類といった陸上植物の姉妹群とされるもの（どれが姉妹群であるかは確定していないようである。これらの緑藻類に関する参考書としては，Smith 1955a, Graham 1996 [1993], 井上 2007 を参照）にはオルソログが存在する可能性があり，研究が待たれる。

裸子植物が持つ２つの *LFY* 相同遺伝子，*LFY* オルソログと *NEEDLY* (*NLY*)，については，球果類（針葉樹類）の胞子嚢穂における発現パターンの解析が複数種でなされており，これに基づいて，M. Frohlich により被子植物の花の起源に関する興味深い仮説が提唱された（後述の２−１−２. を参照）。種子植物以外の陸上植物では，蘚類のヒメツリガネゴケ（*Physcomitrella patens*）の２つの *LFY* 遺伝子（*PpLFY1*, *PpLFY2*）に関する研究が際立って優れた研究であり，最近になって相次いで刊行された２冊のコケ植物の教科書の中でも，紙面を割いて紹介されている（Cuming 2009, Vanderpoorten and Goffinet 2009）。遺伝子発現パターンの詳細な解析と，遺伝子破壊株を用いた機能解析がなされ（Tanahashi *et al*. 2005。後述の２−１−４. を参照），転写因子とそれが制御する発生過程の進化という観点から興味深い考察もなされている（Maizel *et al*. 2005）。

### 2−1．陸上植物の各系統群におけるLFY

#### 2−1−1．被子植物

被子植物におけるLFYについては,Moyroud *et al*. (2009) による最近の総説が全体を概観するのに役立つ（本文中の引用文献の文献リストからの漏れは気になるが)。シロイヌナズナとキンギョソウ以外の被子植物では, トマト（*Solanum esculentum* [慣用名としては,*Lycopersicon esculentum*], *FALSIFLORA* [*FA*]）, ペチュニア（*Petunia* × *hybrida*, *ABERRANT LEAF AND FLOWER* [*ALF*]）, タバコ（*Nicotiana tabacum*, *Nicotiana FLO/LFY* [*NFL*]）, エンドウ（*Pisum sativun*, *UNIFOLIATA* [*UNI*]）, ミヤコグサ（*Lotus japonicus*, *LjLFY*）, タルウマゴヤシ（*Medicago truncatula*, *SINGLE LEAFLET1* [*SGL1*]）, イネ（*Oryza japonica*, *RICE FLO/LFY* [*RFL*]）, トウモロコシ（*Zea mays*, *ZEA FLO/LFY 1,2* [*ZFL1,2*]）などで,*LFY*オルソログの機能欠損変異体あるいは発現抑制体, 過剰発現体が得られ, 機能解析がおこなわれている（学名の後の名称は遺伝子名 [略称])。これらの植物種の解析から言えることは, ほとんどの場合,LFYは花の正常な発生に必要であるが, シロイヌナズナやキンギョソウで明らかになっているような花芽形成のマスター制御因子としての役割を必ずしも果たしているとは限らないことである。例えば, トマトやトウモロコシでは, シロイヌナズナの場合に近い役割を担っているとみることができるが,ABC遺伝子のうち,Aクラス遺伝子の発現制御に関わることを示す明確な根拠は得られていない。また, シロイヌナズナの*lfy* 変異体が極めて軽微な花成遅延しか示さないのに対し, これらの種の機能欠損変異体（トマトの*fa*と*leafy inflorescence* (*lfi*), トウモロコシの*zfl1 zfl2*二重変異体）は明瞭な花成遅延を示すなどの差異がみられる。一方, ペチュニアの場合には, 花の発生過程に必要ではあるものの, 花成以前から茎頂分裂組織で強い発現を示す*ALF*は, 花芽形態形成のための制限要因とはなっていない。そのため,*ALF* 遺伝子の過剰発現はこれといった表現型の変化をひきおこさない。興味深いことに, マメ科の３種の場合には, 花の形態形成に加え, 葉の形態形成にも重要な役割を果たしており, 機能欠損変異体ではいずれも複葉が単葉化する。程度は弱いものの, 同様の表現型はトマトの場合にも見られる。これは,LFYが無限成長性 (indeterminacy) の維持において重要な役割をもつことを示唆するものと解釈されている。同様にして, イネの *RFL* 遺伝子の発現抑制体では, 花成遅延とともに花序の分枝の極端な減少が観察されることから,*RFL* 遺伝子は花序分裂組織の無限成長性の維持に関わると考えられる。興味深いことに,*RFL* 発現抑制体では, 形成された花は正常な形態と稔性を持っており,*RLF* 遺伝子は花芽形態形成の主要な制御因子ではないとされる。

以上に述べたように, 被子植物におけるLFYの役割は, 機能解析がなされた限られた数の種をみても, 決して一様ではなく, 安易な図式化は適当ではない。花の起源と進化に対する関心から, 基部被子植物（basal angiosperm）を含む多くの種で*LFY* 遺伝子の発現パターンが解析されているが, ここではふれないことにする。

#### 2−1−2．裸子植物

裸子植物では, ウェルウィッチア（*Welwitschia mirabilis*）, グネツム属（*Gnetum*）, ソテツ類の１種（*Zamia furfuracea*）, イチョウ (*Ginkgo biloba*) などの系統 (Frohlich and Parker 2000, Shindo *et al*. 1999 など) や, 球果類 (針葉樹類) の数種 (Mouradov *et al*. 1998, Mellerowicz *et al*. 1998, Vázquez-Lobo *et al*. 2007) から遺伝子クローニングがなされてきた。その結果, グネツム属を除く裸子植物のゲノムには, 上述のように, 遺伝子重複により,*LFY*クレードの遺伝子と*NLY*クレードの遺伝子が１コピーずつ存在することが明らかになった。被子植物とグネツム属では,*NLY* クレードの遺伝子が失われたと考えられている

(Frohlich and Parker 2000, Frohlich 2003, p. 7の図２を参照)。

ラディアータマツ（*Pinus radiata*）で, 最初に２つの遺伝子, *NEEDLY* (*NLY*) と *Pinus radiata FLO/LFY-like* (*PrFLL*) が単離され, 雌性球果（大胞子嚢穂）と雄性球果（小胞子嚢穂）におけるそれぞれの発現パターンが解析された（Mouradov *et al*. 1998, Mellerowicz *et al*. 1998)。その結果, *NLY* 遺伝子が主に雌性球果内の胚珠を生じる種鱗で発現する（ただし, Mouradov *et al*. (1998) には, 雄性球果の小胞子葉の花粉母細胞でも発現することも明記されている) のに対し, *PrFLL* 遺伝子は未熟な雄性球果では発現が見られたが, 発生途上の雌性球果ではほとんど発現が見られなかった（RNA ブロット解析)。M. Frohlich は, これらの結果から, *NLY* 遺伝子は雌性球果で, *PrFLL* 遺伝子は雄性球果でそれぞれ発現する, という大胆な一般化を引き出し, *NLY*クレードの遺伝子が被子植物に至る系統では失われていることと合わせて, 被子植物の花が花粉をつける雄性生殖器官（小胞子嚢穂）に由来するとする, "Mostly Male theory" を提唱した（Frohlich and Parker 2000, Frohlich 2003, 和文による解説としては伊藤 (2012) のものがわかりやすい)。しかし, 「*NLY*クレードの遺伝子は雌性生殖器官, *LFY*クレードの遺伝子は雄性生殖器官」という図式は, 上述のラディアータマツでも截然とは当てはまっておらず, その後に解析された球果類を含む他の裸子植物の例（Shindo *et al*. 2001, Vázquez-Lobo *et al*. 2007など）からも支持されないなど, "Mostly Male theory" に対しては批判的な見方が強い（Vázquez-Lobo *et al*. 2007, Siriwardana and Lamb 2012a)。被子植物の花の起源に関する異なる仮説としては, MADSボックス遺伝子の研究者である G. Theissen らによるものがある（Melzer *et al*. 2010)。

### ２−１−３. _モニロファイト類（シダ植物）と小葉類

シダ植物では, 薄嚢シダ類のリチャードミズワラビ（*Ceartopteris richardii*）から２遺伝子が, 真嚢シダ類のリュウビンタイ（*Angiopteris lygodiifolia*）から３遺伝子がクローニングされているほか, マツバラン（*Psilotum nudum*）, スギナ（*Equisetum arvense*）からもそれぞれ１遺伝子が得られている（Himi *et al*. 2001)。このうち, リチャードミズワラビの遺伝子（*CrLFY1*, *CrLFY2*）については, RNAブロットによる発現解析がなされている。両遺伝子とも胞子体世代においては, 栄養シュートおよび生殖シュートの茎頂と蕨巻き状態の胞子葉で発現しており, 特に生殖シュートの茎頂において強い発現が観察された。一方, 配偶体世代（前葉体）では, 発現は認められるものの, 造精器および造卵器が形成される時期を含めて, その発現レベルは低いものであるとみなされている（Himi *et al*. 2001)。

小葉類では, ヒメミズニラ（*Isoetes asiatica*）から部分配列が報告されている（Himi *et al*. 2001）ほか, ゲノム解読が終了したイヌカタヒバ（*Selaginella moellendorffii*）においても単一コピーの存在が確認できる。Siriwardana and Lamb (2012a) では, 配列アライメントの中に SelLFY として取り上げられている。小葉類ではまったく発現が調べられておらず, 解析が待たれる。

### ２−１−４. 蘚類とツノゴケ類

コケ植物は, 苔類, 蘚類, ツノゴケ類の３群（門 phylum）に分けられる（Vanderpoorten and Goffinet 2009, 嶋村 2012 を参照)。まず, ツノゴケ類（約150種, Renzaglia *et al*. 2009）からは今のところ *LFY* オルソログの報告はないが, 存在することは疑いないので, 報告が待たれるところである。

蘚類からは, ヒョウタンゴケ目のヒメツリガネゴケから２つの遺伝子（*PpLFY1*, *PpLFY2*）が, スギゴケ目のタチゴケ属の１種（*Atrichum angustatum*）から２つの遺伝子の全長に近い部分断片（*AtranFlo1*, *AtranFlo2*）が, それぞれクローニングされている（Tanahashi *et al*. 2005, Frohlich and Estabrook 2000)。ヒョウタンゴケ目のヒョウタンゴケ（*Funaria hygrometrica*）では, トランスクリプトーム解析により配偶

体と胞子体の遺伝子発現のプロファイルの比較がおこなわれているが（Szövényi *et al*. 2011），残念ながら，*LFY* オルソログはデータベースに登録されていない。ミズゴケ属（*Sphagnum*）からは，Cドメイン内の約30アミノ酸残基に対応する部分配列が大量にデータベースに登録されているが，全長ないしはそれに近い長さの配列の報告はない。蘚類（約13,000種）の中で，ミズゴケ属は，蘚類の進化の初期に分岐したミズゴケ綱に，スギゴケ目とヒョウタンゴケ目は，さらに後に分岐したとスギゴケ綱とマゴケ綱に，それぞれ含まれる（Goffinet *et al*. 2009，p. 7の**図２**を参照）。後述する（**２−２．**を参照）ように，苔類を含めた他の系統と比べて，蘚類では *LFY* 遺伝子が特殊化していることが予想されるが，その検証には，広範なサンプリングが必要である。

上述のように，ヒメツリガネゴケにおいては，２つの遺伝子（*PpLFY1*，*PpLFY2*）のGUSレポーターを用いた発現パターンの解析がなされ，遺伝子破壊により機能が明らかにされている（Tanahashi *et al*. 2005）。両遺伝子ともに，配偶体と胞子体の両方で発現している。このうち配偶体では，シュート頂で発現が見られるほか，造卵器における発現が観察されたが，造精器においては，どちらの遺伝子の発現もみとめられなかった。一方，胞子体の発生過程では，はじめ胞子体全体でみとめられた発現が，胞子嚢，蒴柄（seta），足（foot）の分化後は，胞子嚢と足に限定された。*PpLFY1 PpLFY2* 二重破壊株においては，配偶体には異常は観察されなかったが，胞子体の発生が１細胞期より先には進行しないことが明らかになった。このことは，両遺伝子が受精卵の第一分裂に必須であることを意味すると解釈されている。二重破壊株の卵に野生型の精子を受精させた場合には，正常な胞子体の発生が見られ，正常な発芽能と分離比を示す胞子が形成されたことから，配偶体における卵形成そのものには異常はない。受精卵が直ちに減数分裂せず，体細胞分裂を繰り返すことで，胚発生を経て胞子体形成をおこなうことは，陸上植物（有胚植物）を特徴づける重要な形質である（Bower 1930, Smith 1955b）。この観点から，二重破壊株の表現型は極めて興味深い。ヒメツリガネゴケのこの研究は，被子植物以外の植物における唯一の機能解析の例であり，LFYの祖先的な機能の探索に対して示唆とともに，大きな課題を与えるものとなっている。

### ２−１−５．ゼニゴケを含む苔類

苔類は，約400属約5,000種を擁し，３つの綱（コマチゴケ綱，ゼニゴケ綱，ツボミゴケ綱）に大別される（Crandall-Stotler *et al*. 2009，嶋村 2012 を参照。種数に関しては，7,500種という最近の見積もりがある [Konrad *et al*. 2010]）。*LFY* オルソログの報告があるのは，ゼニゴケ綱のゼニゴケ（Frohlich and Estabrook 2000）とウキゴケ（*Riccia fluitans*）（Maizel *et al*. 2005）の２種のみである（いずれも部分配列）。後者からは，allelic variants とされる２種類の配列（Cドメインの一部）が登録されている。蘚類以上に，知見が不足していると言える。

こうした状況を踏まえて，筆者らは，ゼニゴケから全長cDNAとプロモータを含む約20 kbpのゲノム領域をクローン化した。シロイヌナズナと比較した場合，イントロンが長く，特に第一イントロンは 6 kbp 近い長さであった（辻井由香ほか，日本植物学会第72回大会，2008年）。ゼニゴケに加え，美和秀胤博士（現・ヘルシンキ大学）に材料に関する協力を仰ぎ，ジャゴケ（*Conocephalum conicum*）とヒメジャゴケ（*C. japonicum*）からも，Cドメインに当たる部分配列を得ている（辻井由香ほか，未発表）。

後述する筆者らの解析（**２−３．**を参照）を除けば，これまでのところ，発現や機能に関する解析はない。蘚類との比較の興味深い問題については，次項で論じる。

### 2-2. Cドメイン（DNA結合ドメイン）の構造と蘚類における特殊化？

2. の冒頭で述べたように,Cドメインは約160アミノ酸残基からなるDNA結合ドメインであり, 立体構造が決定されている（Hamès *et al*. 2008）。２個のβシートおよび短いループで連結された７個のαヘリックスからなるコンパクトな折り畳み構造で,DNAのパリンドローム配列の半分と結合する（したがって, 二量体でDNAに結合する)。７個のうち, ヘリックスα2 とα3 がヘリックス-ターン-ヘリックス構造を取り,α3 がDNAの主溝内に位置して,DNAとの相互作用の大半を担っている。

Maizel *et al*. (2005) は, シロイヌナズナの*LFY*プロモータの制御下でヒメツリガネゴケの *PpLFY1* あるいは *PpLFY2* を発現させた場合に,*lfy* 変異体における表現型の相補と下流遺伝子の発現誘導が全く見られないことに着目し, さまざまな種間でアミノ酸配列の比較をおこなった。その結果, ヒメツリガネゴケのLFYでは,Cドメイン内の２か所のアミノ酸残基が他の植物種のLFYと異なることを見いだした。コンセンサス配列上では 394番目と 427番目 (Hamès *et al*. (2008) では,312番目と345番目に当たる）の残基が, 他の種ではそれぞれ, ヒスチジン（H）とアルギニン（R）であるのに対し, ヒメツリガネゴケでは, アスパラギン酸（D）とシステイン（C）となっていた。同様の置換（以下では,DC型と記す。また, 他の植物種のLFYをHR型と記す) がタチゴケ属の１種の２つのLFYでも見られることから, 蘚類に特有の置換であると推論している。改変 *PpLFY1* 遺伝子と形質転換体を用いた解析から, ２つの置換のうち,H→D の置換が結合配列の変化をもたらし,*lfy* 変異体の相補能を欠く原因であることが示されている。Hamès *et al*. (2008) は,H312がヘリックスα3の一部を成し,α3のN末に当たるP308のちょうど１ヘリックス上に位置すること, その一つ前のK307が -2 および +2 の位置のグアニン（G）と直接相互作用することから, ヒメツリガネゴケにおける H→Dおよび R→C（α3の上に重なるα5 内に位置する）の置換は, ヘリックスα3の配向に影響を与える可能性があるとしている。

Maizel *et al*. (2005) の研究の時点で部分配列が知られていた２種の苔類, ゼニゴケとウキゴケのLFYは, いずれもHR型であった。上述（２－１－５. を参照）のように, われわれは, ゼニゴケの*LFY*（以下, *MpLFY*とする）の全長配列とともに, ジャゴケ, ヒメジャゴケのCドメインの配列を得ているが, どの種においても単一コピーと考えられ, いずれもHR型である。したがって, これまでのところ苔類ゼニゴケ綱の４種はすべてHR型である。なお, ミズゴケ属の部分配列がデータベースに大量に登録されている（２－１－４. を参照）が, いずれも問題の箇所よりも数残基N末側の部分であり, 蘚類の基部近くで分岐したこの興味深いグループがHR型,DC型のいずれのLFYを持つかについては今のところ不明である。

興味深いことに,Cドメイン内の２か所の置換に加え, ヒメツリガネゴケとタチゴケでは,NドメインとCドメインの間の領域が72～76アミノ酸残基と短い（他の種では約100アミノ酸のものが多い。ただし苔類ではゼニゴケしか情報がない)。さらに, ヒメツリガネゴケの２つの遺伝子のエキソン・イントロン構造（Tanahashi *et al*. 2005）は, シロイヌナズナやイヌカタヒバ（accession: EFJ20684.1）, ゼニゴケ（辻井由香ほか,日本植物学会第72回大会,2008年）とは異なり,NドメインよりN末側をコードする領域に, 他の種には見られない長いイントロンを持つ。タチゴケ属の１種の２つの遺伝子（*AtranFlo1*, *AtranFlo2*）の配列（accession: AB286054.1, AB286055.1）をヒメツリガネゴケと比較すると, この種においても, このイントロンの存在が予想される。これらから, 苔類を含む他の系統と比べて, 蘚類ではLFYの特殊化が起きていると考えられる（図２の点線枠内)。この特殊化が蘚類の進化のどの段階で起きたかを推定するためには, 蘚類の基部に位置するミズゴケ属やナンジャモンジャゴケ属（*Takakia*）,

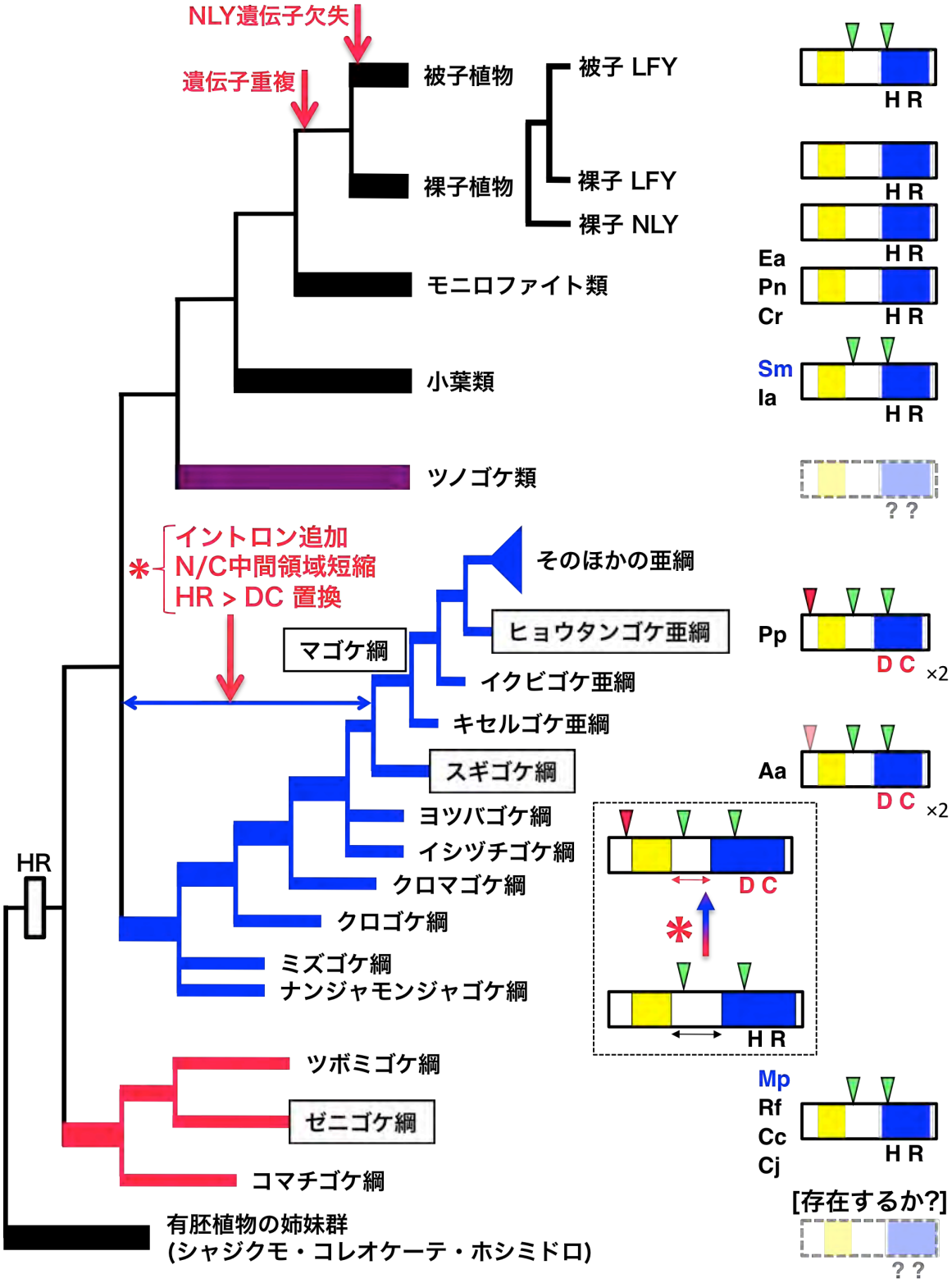


**図２．陸上植物の進化過程で起きたと推定されるLFYの変化**

苔類（赤）と蘚類（青）については主要な系統を示した。下向きの三角形はイントロン（赤三角形は蘚類の２種にのみ存在する）の挿入位置を示す。２文字のアルファベットは, LFY が単離されている代表的な種（青字は遺伝子構造がわかっているもの）を示す：ゼニゴケ（Mp），ウキゴケ（Rf），ジャゴケ（Cc），ヒメジャゴケ（Cj），タチゴケの１種（Aa），ヒメツリガネゴケ（Pp），イヌカタヒバ（Sm）。ヒメミズニラ（Ia），スギナ（Ea），マツバラン（Pn），リチャードミズワラビ（Cr）。破線枠内は, 蘚類で起きたと考えられる変化。

苔類のゼニゴケ綱以外の系統（コマチゴケ綱やツボミゴケ綱）からの*LFY*の単離が待たれる。

### 2−3．生活環との関連から見た発現パターン

以上で，各系統のLFYについて概説したが，最後に，発現パターンに関する知見を，生活環との関連でまとめておくことにしたい。

まず，被子植物では，*LFY* 遺伝子の発現は胞子体（2n）世代に限定されるようである。シロイヌナズナでは，精細胞（Borges *et al*. 2008）と胚嚢の卵細胞，助細胞，中央細胞（Wuest *et al*. 2010）でトランスクリプトーム解析がなされているが，いずれにおいても *LFY* 遺伝子の発現はみとめられなかった。したがって，配偶体では発現しないと考えられる。

裸子植物においては，これまでになされた発現解析は胞子体のみに限られている。ラディアータマツの *NLY* 遺伝子の例では，花粉母細胞（2n）で発現することが報告されているが，それ以降のステージにおける観察はなされていない（Mouradov *et al*. 1998）。このほか，トウヒ属（*Picea*）の例（Carlsbecker *et al*. 2004）や，"Mostly Male theory" の批判的な検証を念頭に発現解析がなされたトウヒ属やマキ属（*Podocarpus*），イチイ属（*Taxus*）の *LFY* 遺伝子と*NLY* 遺伝子の場合においても，胚珠や小胞子嚢における発現は確認されているが，胞子や配偶体における発現は調べられていない（Vázquez-Lobo *et al*. 2007）。グネツム属の場合も同様である（Shindo *et al*. 2001）。

種子植物とは異なり，シダ植物における唯一の解析例であるリチャードミズワラビでは，胞子体に加えて，配偶体においても弱い発現が検出されている。しかし，造精器，造卵器で発現するのかという点を含めて，詳細な空間的な発現パターンは不明である（Himi *et al*. 2001）。小葉類も含めた発現解析が待たれる。Himi *et al*. (2001) は，この発現様態がMADSボックス遺伝子のものとは異なることから，MIKC$^{C}$型のMADSボックス遺伝子のLFYによる制御は，シダ植物においてはまだ確立していなかったと考察している。やはりコケ植物における唯一の解析例であるヒメツリガネゴケでは，上述（2−1−4．を参照）のように，胞子体に加え，配偶体においてもシュート頂や造卵器における特異的な発現が観察されている。興味深いことに，*PpLFY1*，*PpLFY2* ともに，造精器においては発現がみとめられなかった。（Tanahashi *et al*. 2005）。

以上から，コケ植物においては配偶体，胞子体の両方で発現していたものが，シダ植物では胞子体（シュート頂）における発現が優勢となり，種子植物では胞子体（シュート頂）のみに発現が限定されるようになり，生殖成長に関わるようになった，というシナリオが考えられる。配偶体における組織特異的な発現が見られるヒメツリガネゴケにおいても，その機能的な重要性がすでに胞子体に限られているように見えることはたいへん興味深い。

これらのことを念頭において，われわれは，ゼニゴケの配偶体および胞子体における*MpLFY* 遺伝子の発現パターンの解析を，RT-PCR，*in situ* RNA hybridization，*MpLFYpro (5.3):GUS* 形質転換体などにより進めてきた（酒井友希・宮下結衣ほか，日本植物学会第74回大会，2010年，日本植物学会第75回大会，2011年）。その結果，ヒメツリガネゴケと同様に，配偶体と胞子体の両方で発現することが明らかになった。しかし，配偶体における発現の様態はヒメツリガネゴケの場合とはいくつかの重要な点で異なることもわかった。その一つが，雄性生殖器官の発生過程における発現である（酒井友希・宮下結衣ほか，日本植物学会第75回大会，2011年）。この発現が実際に機能的な意味を持つ可能性が高いことは，発現抑制体の表現型などからも支持されている（酒井友希・宮下結衣ほか，日本植物学会第75回大会，2011年）。この点も，*PpLFY1 PpLFY2* 二重破壊株の配偶体が異常を示さないこととは対照的である。

## ３．ゼニゴケにおける雄性生殖器分化と有性生殖過程

コケ植物は，２本の鞭毛を持つ精子（spermatozoid）と卵とによって有性生殖をおこなう。これらの配偶子が形成される生殖器官は多細胞性であり，それぞれ，造精器（antheridium），造卵器（archegonium）と呼ばれ，ジャケット（jacket）という１層の細胞層が配偶子細胞を包み，配偶子嚢をなす。生殖器官が多細胞性であることは，緑藻類にはない，コケ植物を含む陸上植物の特徴である（Bower 1930, Smith 1955b, 和文では，北川 1989 に平易な解説がある）。ジャケットは配偶子を乾燥から守る意義を持ち，陸上環境への適応であるとされている。これに加えて，造精器（雄性配偶子嚢）の場合には，後述するように，ゼニゴケを含む一部の苔類では，精細胞塊を外部に排出する際にも積極的な役割を果たすことが知られている（Bergdolt 1926, 後述の３−５．を参照）。

コケ植物の有性生殖過程については，北川 (1990b) に，生殖器官の形成，雌雄性，受精など全般にわたる解説があり，ゼニゴケの生活環の解説（北川 1990a）の中にも，有性生殖過程の記述が含まれる。コケ植物の精子・受精については，大和 (2012) の総説の中にこれまでの研究が簡潔にまとめられている。また，本総説集の中でも，嶋村 (2012) がゼニゴケの有性生殖に関して，多数の図をまじえて詳細に解説している。のみならず，独自の見解も述べられており，今後の研究のための課題を提供する優れた内容のものとなっている。上述のように，ゼニゴケの *MpLFY* 遺伝子が，有性生殖過程，特に雄が関与する過程に関わる可能性があることから，ここでは，ゼニゴケにおける雄性生殖器の分化と精子形成，受精について，大和 (2012) および嶋村 (2012) との重複を避けつつ，これまでの研究の歴史やその過程で得られた知見，未解決の問題を中心に記述することにしたい。なお，以下では，古い研究を引用する際に，コケ植物の名称については，和名（原著者が用いた学名 [= 現行の学名]）のように表記する。

### ３−１．雄性生殖器官

ゼニゴケの生殖器官については，嶋村 (2012) が多くの写真を用いて解説している。また，北川 (1990a) やコケ植物などの教科書類にも図解がなされている（Campbell 1928, Goebel 1930, Smith 1955b, Parihar 1962）。そのため，ここでの記述は簡潔にすませることにする。

雄株は，雄器托（antheridiophore）と呼ばれる生殖枝を分化する。雄器托の柄の上部には，雄器床（[antheridial] receptacle）と呼ばれる円盤状の構造が形成される（図３Ａ）。ゼニゴケ属は，有柄の雄器

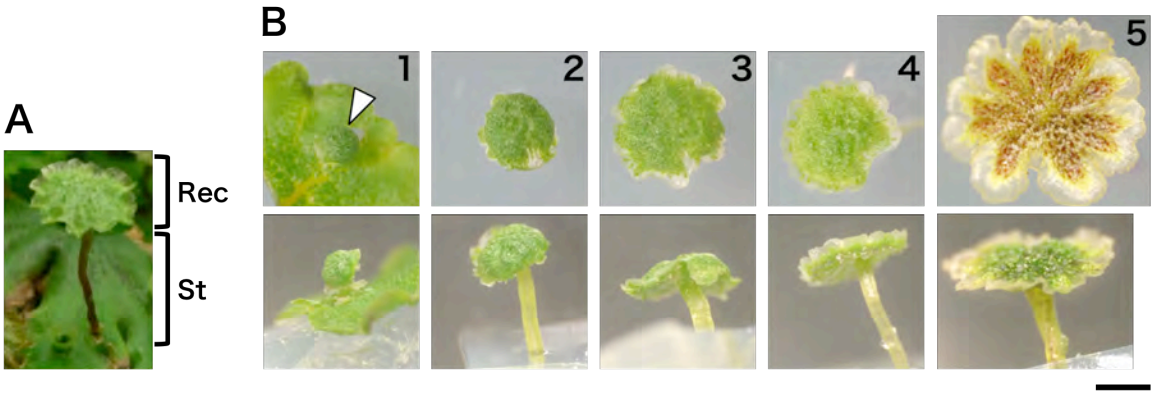


**図３．雄器托・雄器床の形態と成長過程**

Ａ: 雄器托の構造。柄（St）と雄器床（Rec）から成る。Ｂ: 雄器托と雄器床の成長過程。上段は上面から，下段は側面からみたもの。便宜上，５つのステージに分けている。ステージ１の雄器托は白い矢尻の先にある。ステージ４で，それまで凸面だった雄器床の上面が平らになり，縁が上反することで，浅い皿状になる。ステージ５は成熟段階。Ｂのスケール・バーは，0.5 mm。写真とステージ分けは，宮下結衣と酒井友希による。

托を発達させる点で，ゼニゴケ目の中でも特異な存在とされる（Smith 1955b）。雄器床の上面は，雄器托の分化初期にはドーム状をしているが，成熟すると，縁が上向きに持ち上がり，浅い凹面の皿状となる（図３Ｂ）。雄器床の上部には造精器腔（Goebel 1930 では，Antheridiengrube）と呼ばれるフラスコ状の窩洞があり，その中に造精器が収まっている。造精器は，柄とジャケット（一細胞層）に包まれた精原組織（spermatogenous tissue）から成る（p. 12 の図４Ｂを参照）。造精器腔は，細い通路を経て，雄器床の上面に開口しており，後述する（３−５. を参照）精細胞の放出の際には，この通路を通って精細胞塊の排出がおこる。

以上の雄性生殖器官の発生過程における*MpLFY*の役割を明らかにすることが，当面の重要な課題である（２−３. および３−３. を参照）。

### ３−２．有性生殖過程の研究史

ゼニゴケを含めて，コケ植物の有性生殖過程に関しては，蘚苔類学あるいはコケ植物の生物学に関する最近の教科書・成書ではほとんど紙面が割かれていない（Schofield 1985, Vanderpoorten and Goffinet 2009, Goffinet and Shaw 2009）。また，後に見るように，研究に当たって参考とすべき論文も古いものが多い。そこで，具体的な記述の前に，まず，研究史を概説することにする。注意すべきは，ゼニゴケを含むコケ植物の有性生殖に関わる初期の研究がなされつつあった 19 世紀前半は，有性生殖を巡る大論争の時代であり，有性生殖の位置づけ自体が大きく揺らいでいたことである（Farley 1982）。Matthias Jacob Schleiden と Theodor Schwann による細胞説が生殖や発生に対する見方を大きく変革しつつある一方で，精子が生殖において果たす役割についてさえ，まだ共通の理解の確立にはほど遠かった。植物に限ってみても，被子植物以外の植物（その当時のいわゆる隠花植物 Cryptogamia）は有性生殖をおこなわないという見方が支配的であり，その主唱者はほかならぬ Schleiden であった（彼は，被子植物の受精に関しては，花粉管から胚が形成されるという説を提唱していた）（Farley 1982）。以下，研究者の人名と経歴，植物学史あるいは有性生殖の研究史における位置づけの確認は，主に Sachs (1906 [1875]) および Farley (1982) にもとづく。

Bower (1930) によると，ゼニゴケの形態と発生過程の記載は，フランスにおける顕微鏡レベルの植物形態学の始祖であり，植物の発生過程（その当時，history of development と呼ばれていた）に着目した研究の先駆的な存在である Charles François Brisseau de Mirbel が 1835 年に発表した２つの連報論文（Mirbel 1835a, Mirbel 1835b）に始まる。このうち Mirbel (1835b) は，造精器に着目した研究であり，フラスコ状の造精器腔の中に収まって存在する造精器などの見事な彩色図を伴っている。Mirbel は，造精器とその下の柄の部分を合わせて，被子植物の雄蕊に当たるものとして，étamine (stamen) と呼び，造精器を anthère (anther)，その中の精原細胞を pollen とした。この論文では，被子植物としてカボチャ（*Cucurbita pepo*）を選び，葯の形態をゼニゴケと比較している。Mirbel は，雄器床に対して弱い圧力を加えると，造精器が収まっているポケットの開口部から粘性の液体が出てくるという Casimir Christoph Schmidel (1747)（筆者は未見）の観察を引用し，自身でも同様の「粘性の液体（liquere visqueuse）」を観察したと報告している。さらに，この液体は低倍率のルーペでは乳白色に見えるが，約 600 倍の顕微鏡下では，多数の顆粒や「花粉粒（grains entiers de pollen）」（精原細胞を指すと考えられる）が透明な液体中に浸かっているのが認められたことを報告している。しかし，精子の発見には至らなかったようである。図版 VII，第 55 図 から判断すると，精子完成前の精原細胞を含む造精器を観察に用いたためと推測される。ゼニゴケの精子は，このすぐ後に，ほかの苔類の精子とともに，Franz Unger (1837)

（筆者は未見）によって発見され，２本の鞭毛を持つことも観察された。Unger はこれが正常な状態であるとは考えなかったようである（Hofmeister 1862 [1851] による）。

Wilhelm Hofmeister は, Schleiden の著書から独学で新しい植物学を学び, 被子植物の受精と胚発生の研究や, いわゆる隠花植物の植物体と生殖器官の発生に関する広範な記載的研究をおこなった。細胞説に立脚した Hofmeister は, 苔類・蘚類から被子植物に至る陸上植物の植物体間, 生殖器官間の本質的な対応関係を見抜くことで, 植物の生活環を配偶体と胞子体の世代交代（Generationswechsel）として捉える全く新しい見方を提唱した。それまでの論争で遠のいた感があった（Schleiden もその一因である）植物における有性生殖と無性生殖の本質的な理解は, Hofmeister によって, はじめて成し遂げられたということができる（Goebel 1926 [1924], Farley 1982）。

さて, Hofmeister は, その重要な著書である『高等隠花植物の比較研究』（Hofmeister 1862 [1851]）の中で, 葉状体苔類についても１つの章全体を当てている。彼が研究したのは, ゼニゴケのほかに, ジャゴケ（*Fegatella conica* [= *Conocephalum conicum*]），ジンガサゴケ（*Rebouillia hemisphaerica*），ミカヅキゼニゴケ（*Lunularia vulgaris* [= *Lunularia cruciata*]），ハマグリゼニゴケ（*Targionia hypophylla*）の４種であった。ゼニゴケについては, 彼自身の観察の記載とともに, 前出の Mirbel をはじめとする先行研究の批判的紹介もおこなっている。雌性生殖器官の発生と胚発生に比べると, 雄性生殖器官の発生に割かれた紙面は限られているが, 造精器が, 葉状体が変形してできた構造（雄器床）の上面に, フラスコ状の腔（造精器腔）の中に収まって存在することや, 雄器托・雄器床の形成初期や始原細胞からの造精器の形成過程などを図示・記述している。後述する精細胞塊の放出過程に関しても簡単な記述を残している。

余談であるが, Hofmeister の『高等隠花植物の比較研究』（1851 年刊。本人によって大幅に増補改訂された英訳が 1862 年に刊行された）は, 19 世紀の植物学における最も重要で革新的な著作の一つとされる（Sachs 1906 [1875], Goebel 1926 [1924], Farley 1982）。その内容は徹底して, 観察事実の詳細な記載と先行研究の批判的評価である。わずかに最後の章（英訳では第 16 章）に短い全体の総括・一般化があり，２つの異なる世代（配偶体世代と胞子体世代）の間の世代交代という概念が, かなり切りつめたかたちで提示されている。その中には, 裸子植物に精子が存在する可能性についての言及も見いだせる。平瀬作五郎とともに裸子植物の精子を発見した池野成一郎は, *Annals of Botany* 誌からイチョウとソテツの精子発見についての抄録を求められた際に, この予言のことを記している（Ikeno and Hirase 1897）。正規の大学教育を受けなかった Hofmeister は 19 世紀のドイツのアカデミズムにあっては, 極めて異色の経歴の持ち主である。その業績と伝記は, 門下の Karl von Goebel と二女の Constanze によってまとめられている（Goebel 1926 [1924]）（その英訳版の翻訳と編纂は, 世代交代を植物の陸上への進出と適応という観点から捉え直した Frederick Orpen Bower 夫妻による）。Constanze が引用している旅先から妻に宛てた手紙を見ると, 自宅で栽培しているゼニゴケを乾いた状態に保つようにという指示や, ツボミゴケ（*Jungermannia*）を 20 本も見つけたというような, 苔類の採集や観察についての記述も散見される。

さて, 生殖器官の発生に関しては, Hofmeister に続いて, 後に植物学の教科書の代名詞となる Eduard Strasburger (1870) が記載的な研究をおこない, 皿状を成す雄器床の形状（図３）の機能的な意義（３-６. を参照）についても論じている。ゼニゴケの形態・発生の図説として知られる Kny (1890) は, 以上のような成果に基づいて作成された, 大学の教室における教育用の壁掛図（Wandtafel）の別冊解説書

である。精子の形態（第 86 図版 13 図）のように，今日の目からすると不正確な図もあるが，雄器床の外形と縦断面（第 85 図版）や造精器の発生過程（第 86 図版），雌器床の縦断面や造卵器（第 87 図版）などの優れた図解を含んでいる。植物器官学の創始者といえる Goebel の教科書 (Goebel 1930) にも，ゼニゴケの生殖器官の発生過程や機能に関する自身の研究にもとづく図や他の研究者による図が多数掲載されている。

以上は，19 世紀以降における研究史の概略であるが，造精器・造卵器の発生過程と，受精卵からの胞子体の発生と胞子形成の過程に関して，今日でも有用な研究としては，Durand (1908) によるものがある。Durand は，これまでの研究の流れを受けて，始原細胞からの造精器の発生過程を詳細に記述・図示している。一方，精子形成過程に関しては，池野成一郎による研究 (Ikeno 1903) があり，Durand (1908) やコケ植物の教科書（Campbell 1928, Parihar 1962）に引用されている。

### 3−3．造精器の発生過程

Durand (1908) の記述をもとに，造精器の発生過程は以下のようにまとめることができる（図４）。まず，若い雄器床の翼部の表皮細胞から 1 個の造精器始原細胞（antheridium initial cell, AIC）が生じる。造精器始原細胞（AIC）は，頂部側の造精器本体母細胞（antheridium proper mother cell, APMC）と基部側の柄母細胞（stalk mother cell, StMC）とに分裂する。造精器本体母細胞（APMC）は，横分裂と縦分裂により，４個の造精器細胞（antheridial cell, AC）が数段重なった造精器の原基を形成する。造精器細胞 (AC) はやがて並層分裂をおこない，内側の精原細胞 (spermatogenous cell, SC) と外側の壁細胞 (wall cell, WC) を生じる。精原細胞（SC）と壁細胞（WC）は，分裂を繰り返し，それぞれ，精原組織とジャケットを形成することになる。精原細胞は，精母細胞（spermatid mother cell, SMC）として，斜め方向

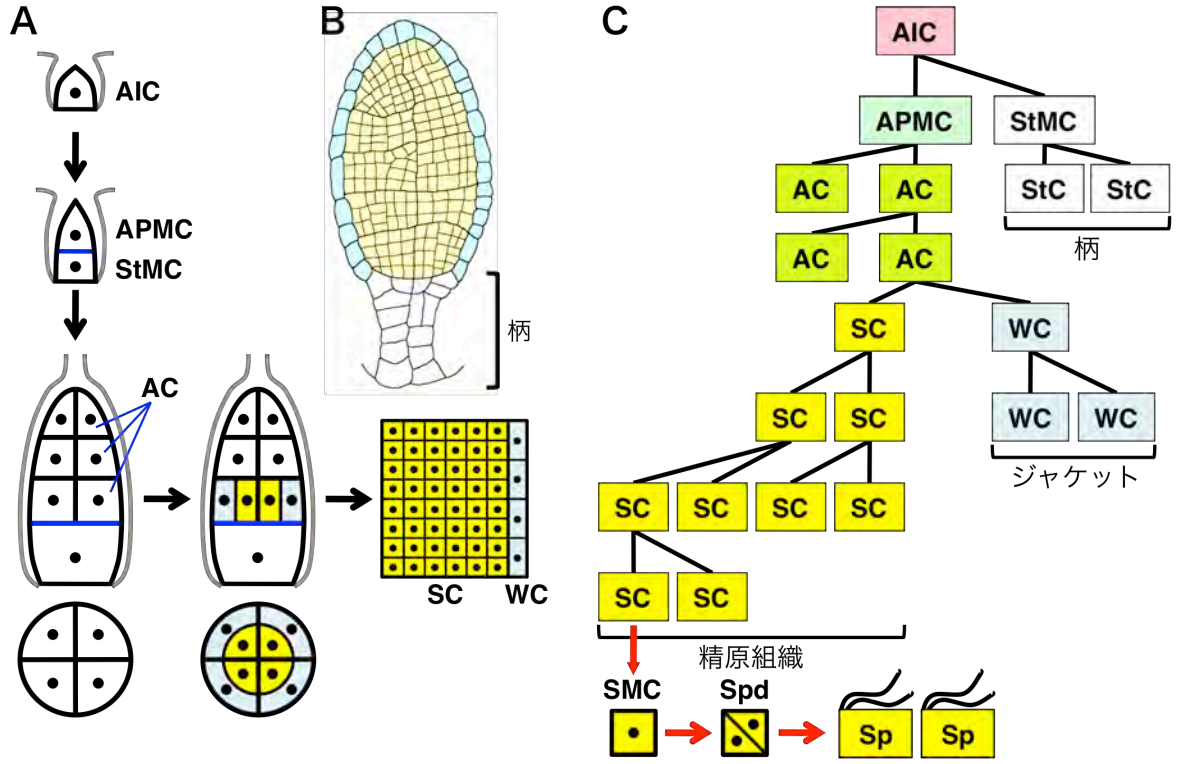


**図４．造精器の形態と発生過程**

A: 造精器の発生過程。B: 精子形態形成前の造精器。柄およびジャケット（水色）と精原組織（黄色）からなる配偶子嚢を示す。C: 造精器の発生過程における細胞系譜。増殖分裂の回数は正しく示していない。詳細は本文を参照。

の最終分裂をおこなう。２つの娘細胞（精細胞 [spermatid, Spd]）は精子（spermatozoid, Sp）へと変態（形態形成）する（spermiogenesis）。造精器が形成される過程で, 周囲の細胞の分裂により, 造精器が収まる腔（造精器腔）が形作られる。

### ３−４．精子形成

植物の精子全般に関しては, 湯浅 (1969) や Renzaglia and Garbary (2001) にまとめられており, 特に後者は必読の総説である。また, 陸上植物の系統関係を探るという関心から, Garbary *et al*. (1993) は, 造精器の発生から精子形成・精子成熟までの諸過程の 90 の形質について, コレオケーテ類やジャジクモ類から裸子植物（イチョウとソテツ類）に至る系統の代表的な種（ゼニゴケも含む）でそれまでに得られていた知見をまとめている。その後の研究成果を取り入れ, Renzaglia and Garbary (2001) は, これを 72 の形質に整理し直した。同じ関心から, Renzaglia *et al*. (2000) は, 配偶体と胞子体に関する広範な形質を解析しており, その中で精子の形成過程や形態についても多数の図（精子の形態の模式図を含む）を示している。被子植物や裸子植物の鞭毛を持たない精細胞との間の, 細胞骨格や核形態における類似性については, Southworth and Cresti (1997) が, 雄性配偶子全般については, Duckett and Racey (1975) が, それぞれ参考になる。

ゼニゴケの精子形成に関しては, 前出の Ikeno (1903) 以降, 比較的最近では, 鞭毛と鞭毛関連の構造体の形成や核の変化などに関する電子顕微鏡を用いた微細形態学的研究が多数なされている（Carothers 1975, Carothers and Kreitner 1967, Carothers and Kreitner 1968, Carothers and Kreitner 1976, Kreitner 1977a, Kreitner 1977b, Moser and Kreitner 1970 など）。嶋村 (2012) には, そうした知見の要点が解説されている。その一方で, 鞭毛形成をはじめとする精子の形態形成や機能に関連した遺伝子発現の研究は, ゼニゴケにとどまらずこれまでまったくなされていない。シロイヌナズナやイネをはじめとする多くのモデル植物を擁する被子植物が, 鞭毛を持たず, 鞭毛関連の遺伝子を失っていること（Merchant *et al*. 2007, Carvalho-Santos *et al*. 2011）が, この研究上の空白の大きな原因と考えられる。陸上植物における普遍原理の探求とは異なる, ゼニゴケを用いた独自の研究の可能性がここに広がっていると言えよう。

ゼニゴケを含む陸上植物の精子の鞭毛は, 多くの真核生物に共通の “9+2” 構造の鞭毛軸糸を持つが, ダイニン外腕を欠いている（Hyams and Campbell 1985, Carvalho-Santos *et al*. 2011）。これは, コケ植物やシダ植物の精子が後退遊泳能を持たないことの原因と考えられる（大和 2012 による）。鞭毛の構成蛋白質とその遺伝子に関しては, 緑藻クラミドモナスを中心に研究が進められており, 多くの知見が蓄積している（Merchant *et al*. 2007, Witman 2008, Inaba 2011）。その結果, 鞭毛には 600 種を超える蛋白質が存在することが明らかになっている（Witman 2008）。筆者らは, クラミドモナスの情報をもとに, 多くの方々の助言を得つつ, ゼニゴケの EST およびゲノム情報（京都大学生命科学研究科・河内孝之教授, 石崎公庸博士の助力による）から, ダイニン外腕以外の鞭毛軸糸（ダイニン内腕, ラディアル・スポーク, 中心対装置）の構成蛋白質遺伝子や, 基底小体, 中心体, 鞭毛内輸送系などの構成蛋白質遺伝子を抽出する作業を進めており, これまでに, 得られたものの一部について, 造精器特異的な発現を確認している（酒井友希ほか, 未発表）。こうしたアプローチとは別に, 性染色体（Y 染色体）に座乗する遺伝子（Yamato *et al*. 2009）の中から精子や造精器の形成と機能に関わる可能性がある遺伝子が抽出されている（Yamato *et al*. 2009, 近畿大学・大和勝幸博士, 私信）。その中には, マウス（*Mus musculus*）の *Parkin co-regulated gene* (*PACRG*) のオルソログのような興味深いものが含まれている

(Yamato *et al*. 2009, Supporting Information の Table 5)。マウスの *PACRG* 遺伝子は精巣内では精原組織でのみ発現しており, この遺伝子を含む染色体領域を欠失した変異体 (*quaker*$^{viable}$) では, 重篤な精子欠損・不稔が見られ, *PACRG* 遺伝子の再導入によりこれが回復することが示されている (Lorenzetti *et al*. 2004, Yanagimachi *et al*. 2004)。クラミドモナスでは, PACRG 蛋白質は, 鞭毛軸糸全長にわたって存在し, 外側のダブレット微小管のA管とB管の間に局在することが観察されている (Ikeda *et al*. 2007)。

以上の鞭毛関連蛋白質のほかにも, 精子には, さまざまな代謝系の酵素や, 走化性や雌雄間の認識に関わる蛋白質など, その形成と機能に重要な役割をもつ蛋白質が多数存在する (毛利と星 2006)。ゼニゴケの場合も同様であり, 鞭毛関連蛋白質のほかに, 精子特異的な塩基性核蛋白質 (Reynolds and Wolfe 1978), 造精器から精細胞塊を排出するための機構 (3−5. を参照) に関わる蛋白質 (細胞壁成分の代謝酵素など), 排出された精細胞を四散させる機構 (3−6. を参照) に関わる代謝産物の合成に関わる酵素, 精子の運動を開始させる機構に関わる蛋白質, 運動を可能にする代謝に関わる酵素, 走化性に関わる蛋白質, 雌雄間の認識に関わる蛋白質, といったものの存在が予想される。これらの蛋白質の遺伝子は, 造精器・精子の分化過程の特定の段階で発現する必要があると考えられる。これまでの微細形態学的な研究に加えて, こうした, 遺伝子・蛋白質とその発現制御機構に関する研究が進められることにより, ゼニゴケは精子形成・精子機能を研究するための優れたモデル生物となる可能性を秘めている (大和勝幸博士, 日本植物生理学会 2012 年年会)。

### 3−5. 精細胞塊の排出

コケ植物の受精には水が必要であり, 造精器から造卵器に至る経路が水のつながりによって結びつかなければならないことは広く知られている。受精にあたって造精器から精子が泳ぎ出すと書かれることが多いが, ミズゴケを除いて, 実際に放出されるのは, 精細胞 (ごく薄い細胞壁に包まれた精子) の塊である (北川 1990b)。**3.** の冒頭に述べたように, 蘚苔類学あるいはコケ植物の生物学に関する最近の教科書にはこの過程に関する記述がまったくなく, 古い教科書類 (Goebel 1905 [1898], Campbell 1928, Goebel 1930, Smith 1955, Parihar 1962, Watson 1971) に遡ることで, ようやく記述が見つかる。これらの教科書が引用している研究はいずれも, 1930 年頃までのものであり, ごく最近のジャゴケの研究例 (Shimamura *et al*. 2008) を別にすれば, 近年の研究はほとんどないようである。現在ではほとんど注目されることのない過程と思われるので, 以下に研究の歴史も含めて, 少し詳しく紹介する。

苔類における造精器からの精細胞塊の放出過程は, サイハイゴケ属の 1 種 (*Astrella californica*) とジャゴケで, 「爆発的な噴出」(forcible discharge, explosive discharge) が報告されたこと (Peirce 1902, Cavers 1903) を契機に, 関心が持たれるようになったようである。ジャゴケの例を報告した Cavers は翌年, ジャゴケの精細胞塊の噴出は 50 年近く以前にすでに Thuret (1856) により報告されていたことを論文の追記として公表している (Cavers 1904)。これは, フランスの E. Bornet からの私信によるもので, Bornet によると Thuret (1856) はそれまでにもほとんど引用されることがなかったという。実際, Gustav Thuret の観察は, 王立シェルブール自然科学協会誌第 4 巻の中の “Analyse des travaux de la Société” という項目の中に埋没するように紹介されており, 目次にも載っていない。これでは見つけ出すのも難しい。Cavers にこの報告の存在を知らせた Bornet はというと, 問題の項目のすぐ前と後の頁に, それぞれ藻類と地衣類の論文を載せていて, 疑問は氷解する。ちなみに, 裕福なアマチュア植物学者であった Thuret は, もともとは法律家であり, コンスタンチノープルにおけるフランス外交団の一員であったこともあるという。しかし, 植物学に専念するために本業を辞め, どこの大学にも所属することなく,

アマチュア植物学者として研究を続け，藻類の生殖などについて優れた業績を残した。ヒバマタ（*Fucus*）やシャジクモ（*Chara*）において精子を発見したのは，Thuret である（Farley 1982）。

ところで，後述の Belgdolt (1928) は，1747 年に，Schmidel が苔類の造精器が雄性生殖器官であることを発見した際に，すでに造精器の内容物の放出を観察していると述べ，さらに，Thuret (1851) のヤツガタケウロコゼニゴケ（*Fossombronia pusilla*）の造精器の開口に関する観察と Moore (1874)（未見）のミカヅキゼニゴケにおける噴出（記述から判断するとジャゴケの場合と似ている）の観察例を引用している。これらから判断すると，Thuret (1856) 以前の観察・報告がいくつか存在するようである。

さて，ゼニゴケの精細胞塊放出に関しては，嶋村 (2012) が写真を含めて解説している。前出の Mirbel (1835b) は，Johannes Hedwig が蘚類と苔類のミズゼニゴケ（*Jungermannia epiphylla* [= *Pellia epiphylla*]）で「花粉の爆発（l'explosion du pollen）」を報告していることに触れ，Hedwig や彼に先行する Schmidel [1747] も，ゼニゴケでは同様の現象を見ることがなかったこと，さらに Mirbel 自身も 2 年におよぶ観察期間の中で，ゼニゴケでそのような現象を見る幸運には恵まれなかったことを記述している。同じく前に紹介した Hofmeister (1862 [1851]) は，造精器が成熟すると，頂端部の細胞が離ればなれになり，内部の精細胞が造精器腔の狭い開口部を通って外に押し出され，雄器床の上面にかなりの大きさに液滴となって現れることを観察している。これらの観察や嶋村 (2012) の記述にあるように，ゼニゴケの場合には，ジャゴケとは異なり，「爆発的な噴出」ではない。このことは，筆者の研究室における両種の観察でも確かめている。しかし，Cavers (1904) は，ジャゴケと似た「爆発的な噴出（explosive discharge）」は，ゼニゴケのほか，ジンガサゴケやアカゼニゴケ属の１種（*Preissia commutata*）においても観察することができ，ゼニゴケ目における一般的な現象である可能性があるとしている（Smith 1955 [p.52] にも引用されている）。これからすると，精細胞の放出の様態に関しては，ゼニゴケの地域集団間で何らかの分化が生じているのかもしれない。

苔類において，造精器のジャケット頂部が開口し，中から精細胞が放出ないしは噴出される機構に関しては，Goebel (1898) の研究が先駆のようである（Bergdolt 1926による）。Goebel (1898) は，蘚類とともに，ウロコゼニゴケ属の１種（*Fossombronia dumortieri* [= *Fossombronia foveolata*]）とヤハズゴケ（*Blyttia lyellii* [= *Pallavicinia lyellii*]）について記述している。また，Goebel (1905 [1898]) には，ゼニゴケ科を含む苔類についての知見がまとめられている。これに続いて，ジャゴケにおける噴出機構については，Cavers (1904) が記述しており（残念ながら図はない），ゼニゴケとその同属種については，Bergdolt (1926) がゼニゴケで，Andersen (1931) が *Marchantia domingensis* でそれぞれの観察を図とともに報告している。このうち，Bergdolt (1926) の図は，Goebel (1930) の教科書に再録されている。

機構は上記の３種で概ね共通している。Bergdolt (1926) は，造精器内の精細胞の放出に関わるものとして，（1）精細胞を包むジャケット（Bergdolt 1926 では，造精器壁 Antheridienwand とされる）の細胞の作用，（2）造精器腔壁（同じく Kammerwand）の細胞の作用，（3）造精器（内の細胞）そのものが持つ膨潤性の物質の作用，３つ（の組み合わせ）を挙げている。ジャゴケでは，造精器腔の壁細胞の膨潤の寄与も少なくないようであるが，ゼニゴケの場合には，造精器のジャケット細胞の膨潤による寄与が大きく，造精器腔の壁細胞は放出には関わらないとされる。Bergdolt (1926) は，造精器の成熟過程で，ジャケット細胞が拡大すること，またその拡大は細胞質の拡大によるのではなく，細胞外に粘液質が蓄積されることによると記述している。吸水に伴い，この粘液質が膨潤することにより，ジャケット細胞が造精器の内側に向かって膨らみ，中にある精細胞が排出される（図５）。Andersen (1931) によ

る *M. domingensis* における観察も同様であり，放出前のジャケット細胞の細胞壁には多量の mucilage が含まれること，また，放出には，(1) ジャケット細胞の吸水に伴う内側に向かう膨潤，(2) 精細胞の細胞壁の膨潤，(3) 造精器腔の壁にあたる，色素（アントシアニン）を蓄積した細胞が及ぼす圧（これによりジャケット細胞の膨潤が造精器の内側方向に向かう），(4) 造精器腔底部にある粘液毛 (paraphysis; 嶋村 2012 に図示されている) の膨潤による造精器の直立姿勢の維持，などが関わるが，最も重要なのは（1）であることが観察されている。Andersen (1931) はまた，造精器の細胞の組織化学的な解析も試みているが，ここには詳述しない。これについては，現在の新しい手法・技術による解析が必要なことは論をまたない。

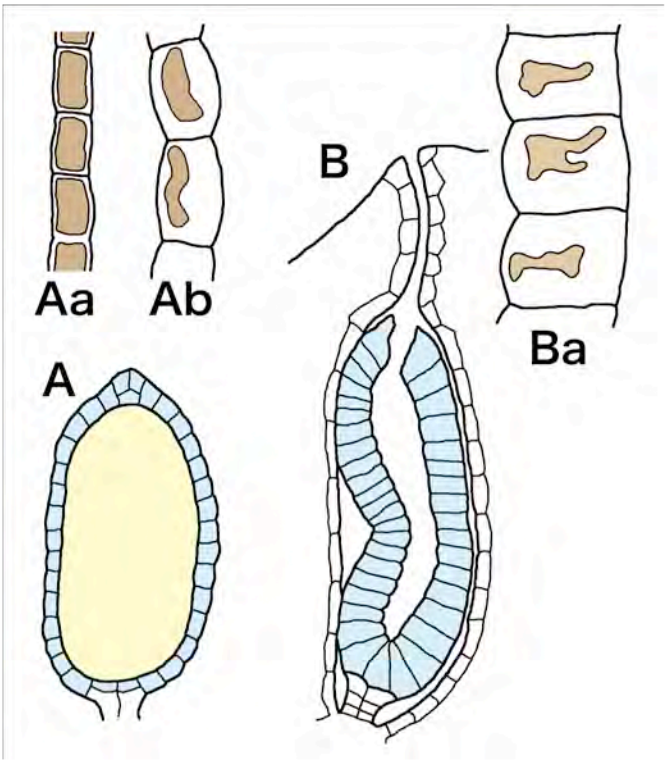


**図 5. 造精器の成熟過程と精細胞塊放出過程におけるジャケット細胞の形態変化**
A: 成熟した造精器。B: 精子細胞塊放出後の造精器。頂部の細胞は崩壊している。水色で塗った部分がジャケット細胞。黄色の部分は精細胞を含む部分（細部は省略）。Aa: 未成熟な造精器のジャケット細胞。Ab: 成熟した造精器のジャケット細胞。Ba: 精子細胞塊放出後の造精器のジャケット細胞。薄い茶色で塗った部分は細胞質。Bergdolt (1926) をもとに作図。

造精器から精細胞が放出される際には，造精器腔の開口部の下に位置するジャケットの頂部の細胞が崩壊する（図５Ｂを参照）。蘚類の場合には，頂部に位置する 1 個もしくは明瞭に区別される少数の細胞がこれに関わるが，蘚類でもミズゴケや苔類の場合には，そのような特別の細胞はないとされている（Goebel 1905 [1898], Goebel 1930）。この点についても，プロモーター・トラップやエンハンサー・トラップ系統などを用いて，ジャケット内の位置に応じた細胞の分化が存在するかどうかを検討してみる必要があろう。

造精器からの精細胞塊の放出機構に関して，残る問題は，一連の過程の引き金となる水がどのようにして造精器腔の内部に入るかという点である。Goebel (1905 [1898]) は，造精器腔の狭い開口部を通して水が外から内部に入る機構は不明であるとしつつも，造精器腔底部の粘液毛が分泌し，開口部に蓄積して内部を乾燥から保護している mucilage が吸水の役割も果たすのだろうと推測している。30 年後の同じ本の第 3 版においても，造精器腔の開口部は，少なくとも造精器が成熟する過程の間は，気室孔と同様に狭いため，水の侵入を許さないだろうとし，以前と同様の推論を展開している（Goebel 1930）。このように，吸水の機構に関しても不明の点が残っており，研究の余地があると言えそうである。なお，われわれの観察では，水に応答した雄器床の変化には，局所的な細胞の細胞壁膨潤に留まらない，器官全体にわたる形態変化に伴う「器官運動」があるようにも思われる（酒井友希，未発表）。これについても，今後，検討してみる必要があると考えている。

### 3−6．排出された精細胞の四散と精子の散布・受精

上に見た過程により, 雄器床上面の造精器腔開口から排出された精細胞塊は, 個々の細胞に分離・四散して水面に広がり, 精子が中から出てくる。この分離・四散の過程は, 精細胞塊に含まれる少量の脂肪が表面張力を減少させることによるとする説があるようである（北川 1990b による)。実際に, Muggoch and Walton (1942) は, 排出された精細胞塊をスライドグラス上におくと, 崩壊して, 精細胞が水面に浮かび, 数分のうちに精子が精細胞から脱出すること, ナイルブルー硫酸塩染色やスーダン III 染色によって, 精細胞塊には脂肪が存在すると考えられることを報告している。精細胞からどのようにして精子が脱出するのかについては不明である。精細胞の細胞壁は薄いとされており（北川 1990b）, 精細胞内における精子の形態形成・成熟の過程で, 細胞壁の変化が起き, 脱出を可能にしていることが想像される。

成熟した雄器床の上部は皿状の凹面を成しており, 水を得て精細胞塊が排出された後は, 精細胞ないしはそこから脱出した精子を含む水を湛えた浅いカクテルグラスという様相を呈する。このような状態のところに雨滴のような水滴が落ちると, 精子を含む水滴が周りに弾き飛ばされ, 離れた場所に精子が散布されることになる（Strasburger 1870, Goebel 1905 [1898])。無性芽の散布の場合にも知られるスプラッシュ・カップ（splash cup）と呼ばれるしくみである（Watson 1971, 北川 1990a)。これは, 必ずしも水という媒質の連続性を必要としない伝搬方法である。スプラッシュ・カップ方式による精子の散布を可能にするために, 精細胞塊が適切に崩壊し, 精細胞が四散して水面に広がることは特に重要である。そのため, 精細胞の分化過程で合成され, 細胞外に分泌される脂肪酸などの疎水性化合物の解析は, 精子の脱出を可能にする精細胞壁の変化の解析とともに, 今後の重要な研究課題のひとつとして興味深い。

さて, このようにして周囲に散布された精子のあるものは, 雌株の造卵器の開口部にたどり着く。これを可能にするための雌器托・雌器床（archegoniophore, [archegonial] receptacle の形態上の特徴についてはここでは述べない（Goebel 1930, 嶋村 2012 を参照)。実際に, 精子がどのようにして造卵器の開口部にたどり着くのかについては, まだよくわかっていないようである。嶋村 (2012) は, 有紋仮根が, 雌株における精子の移動あるいは輸送の経路として機能する可能性を示唆している。これは, 今後検証すべきたいへん魅力的な仮説である。GUS や蛍光蛋白質をレポーターとして発現する精子を用いた解析などが待たれる。

造卵器の形態や発生についてはここでは述べないが（Durand 1908 に詳細な記載がある。嶋村 2012 も参照）, 造卵器の開口部近くに辿り着いた精子は, 造卵器頸部を通って卵細胞に至る。頸部内部には頸溝細胞（ventral canal cell）が, その奥の卵細胞の上には腹溝細胞（ventral canal cell）があるが, 卵細胞の成熟の時点では崩壊して細胞内容物を頸部の通路外に放出している。これが精子の誘引に関わっている可能性が考えられる（大和 2012 による)。精細胞分化・精子形成過程では, そのような誘引シグナルに対する応答系の蛋白質の遺伝子が発現するはずである。その同定は極めて重要な課題の一つである。卵細胞に至るまでの長い頸部は, また, 精子間競争の場でもあるとされる（北川 1990b による)。しかし, 注意しておきたいのは, 異なる個体に由来する精子の場合は別として, 同一の配偶体個体とそのクローン（半数体である）に由来する精子間には, 遺伝的な差はない（すべて遺伝的に同一である）ことである。ゼニゴケのような種において, 精子間競争が現実的にどの程度おこるのかは, まだ検証の余地がありそうである。

### 3−7. 有性生殖を実現することの難しさ

コケ植物における精子の散布は，比較的近距離に限られており（Vanderpoorten and Goffinet 2009, Goffinet and Shaw 2009, 北川 1990b, 嶋村 2012 も参照），有性生殖の実現には困難を伴うことが多いと考えられる。苔類では，約2/3の種が雌雄異株である（Vanderpoorten and Goffinet 2009）が，このことは，個体間を隔てて，雄個体から雌個体へと精子を送り届ける必要を意味し，有性生殖の困難をさらに増す要因となっている。加えて，新しい生育場所に進出する際には，必ずしも両性の個体が揃うとは限らない。実際に，野外のゼニゴケの群落を見ると，片方の性のみから成る場合も多く，雌株のみの場合には，有性生殖ができず胞子嚢の成熟が見られない（図6）。帰化植物であるミカヅキゼニゴケの場合には，日本ではほとんどの地域で雄株しか存在せず，有性生殖をおこなうことはできないといわれる。こうした有性生殖の実現の難しさに対する対処として，ゼニゴケやミカヅキゼニゴケを含む多くの種が，無性芽（gemma, 嶋村 2012 を参照）などによる栄養繁殖という方法を発達させている。

**図6. 野外におけるゼニゴケの群落**
A: 成熟した胞子をもつ雌株。写真の上半部分で黄色に見えるのが胞子。矢尻はすでに枯れている雄株の雄器床を示す。写真の下半部分には，まだ若い雄株と雄器床が見える。B: Aの近くに見られた，受精できなかった雌株のみの群落。胞子嚢は未発達で，柄は伸びず，指状突起は下向きのまま雌器床は枯れつつある。2012 年 6 月 10 日，京都大学農学部北白川試験地にて（荒木　崇・撮影）。

このような困難の中で，チャンスがある場合には，遺伝的な多様性をもたらす有性生殖を成就するという観点から，精子の散布に至るまでの過程（3−5. および3−6.）は，やはり大きな重要性を持つものであると言える。受精過程に関しては，生物学的により興味深い，精子の走化性や運動性に注目が集まるが，精子に備わったそのような能力は，造卵器の近傍にあってはじめてその威力を発揮できることに留意する必要がある。したがって，精子の散布から雌性生殖器到達までの過程は，もう少し注目されるべきであると筆者は考える。

### 4. 今後の研究の展望

以上に，植物固有の転写因子LFY と，ゼニゴケにおいてLFY が関わる可能性がある有性生殖過程の雄側の部分について概説した。現在あるいはこれからの研究課題については，個別の箇所で言及した。

LFY に関しては, 被子植物の限られた種（2-1-1.）と蘚類のヒメツリガネゴケ（2-1-4.）を除いて, 発生過程における役割を明らかにする研究はほとんどなされていない。裸子植物を含め, 発現パターンと被子植物の知見にもとづいて, 先入観をもって役割が推測されているに過ぎない（例えば, Mostly Male theory [2-1-2.]）。ゼニゴケを用いた研究は, この空白を埋める意味で, 意義のあるものとなろう。LFY は, ほかの多くの転写因子（植物固有のものも含む）とは異なり, 陸上植物の進化の過程で, 遺伝子重複による遺伝子数の増加をほとんどおこさなかった。例外的に, 裸子植物では, 長期間にわたって, 機能的に分化したと考えられる２つのパラログ（*NLY* と *LFY*）が維持されてきた。しかし, 被子植物に至る系統では, *NLY* が失われたと考えられている（2-1-2.）。一方, コケ植物に目を転ずると, 現在までの, 極めて限られた知見からも, ヒメツリガネゴケやタチゴケのような蘚類の *LFY* 遺伝子は特殊化していることが推察される（2-2.）。蘚類, 苔類と, まったく情報がないツノゴケ類を加えたコケ植物の *LFY* 遺伝子を広範に比較することで, 蘚類における *LFY* 遺伝子・LFY 蛋白質の特殊化の実態が明らかになろう。その際に, ヒメツリガネゴケですでに明らかにされている発現パターンと機能（2-1-4. と 2-3.）とゼニゴケのそれ（2-3.）を対比して考察する必要があろう。さらに, 蘚類（13,000 種）と苔類（5,000 種）という多様性を考えると, ヒメツリガネゴケとゼニゴケで明らかになったことの一般性を, それぞれ, 蘚類と苔類で検証する必要も出てくるだろう。LFY は緑藻類のクラミドモナスやボルボックスには存在しないが, 陸上植物の姉妹群とされるシャジクモ類・コレオケーテ類・ホシミドロ類で LFY を探索し, 発現パターンや機能を明らかにすることは, 陸上植物の誕生と進化を理解する上で, 重要な意味を持つかもしれない。

生殖器官や配偶子の形成過程やその機能を含む有性生殖全体に関しては, ヒメツリガネゴケを含めて, 被子植物以外の陸上植物では, 総合的な研究がなされていない。コケ植物, 小葉類, シダ植物（モニロファイト類）は, 雄性配偶子として, 鞭毛を有し運動性を備えた精子を持つという被子植物にはない特徴を共有する。現生の裸子植物の一部（イチョウやソテツ類）においても, 花粉管内で鞭毛を持つ精子を形成される。また, ペルム紀（３～２.５億年前）に南半球にあったゴンドワナ大陸に広く分布していたグロッソプテリス類は, 被子植物の祖先と考えられるが, その１種（*Glossopteris homevalensis*）の化石からは, 花粉管内で形成途中の精子と放出過程と考えられる精子が発見されている（Nishida *et al*. 2003）。花粉管（雄性配偶体）によって精細胞を雌性配偶体（胚嚢）の卵細胞へと輸送する機構を高度に発達・洗練させてきた被子植物では, 精子の形成をやめ, 鞭毛を形成するための蛋白質（クラミドモナスでは 600 種以上といわれる）の遺伝子はゲノムから失われている（3-4.）。この点を考えると, ゼニゴケを用いた精子形成の研究は, 被子植物を用いてはおこなうことのできない, 独自の研究の機会を与えてくれるものと期待できる。これはまた, 植物を超えて, 動物との共通原理を探る研究ともなろう。鞭毛・繊毛の形成や機能を研究するためのモデル生物（Thomas *et al*. 2010, Carvalho-Santos *et al*. 2011, Vincensini *et al*. 2011）に, 新たな一員としてゼニゴケが加えられる可能性も期待できよう。有性生殖過程については, 精子形成以外の部分でも, 研究の大きな空白地が広がっており, 代謝, シグナル伝達, 細胞分化, 細胞機能などから, 器官の形態とその機能的な意義, 集団生物学に至るさまざまな研究課題を提供する（3-4. ～ 3-6.）。総合的な研究プログラムとして, 恰好のテーマであろう。実際に, 非常に多数の事象が実現され, それらがうまく噛み合って, はじめて有性生殖は成就される。植物が最初に陸上に進出した際には, 限られた水をうまく利用しつつ, いかにして, 水中にあった祖先と同じように有性生殖を成功させるかは, 文字通り, 将来の繁栄を賭けた重要な課題で

あったはずである。植物の陸上進出とその後の繁栄は, 地球上の生態系を大きく変えることになった。したがって, 緑藻内の, 陸上植物の姉妹群と考えられる系統との比較も含めて, ゼニゴケを用いて有性生殖過程の全貌を明らかにすることは, 地球上の生命の歴史の理解という観点からも意義のある挑戦と言える。

## ５．おわりに

ゼニゴケを用いた研究には, 陸上植物における普遍原理の探求（研究が進んでいる被子植物が念頭におかれていることは否めない）という方向とともに, 被子植物では研究できない現象の探求や, 苔類あるいはコケ植物をよりよく理解するための研究といった, 独自の方向性が期待できる。このうち, 後者については, コケ植物（苔類・蘚類・ツノゴケ類）が, 種多様性の面でも生息環境の多様性の面からも, 被子植物に次いで繁栄しているグループであることを考えれば, あながち瑣末な関心とばかりは言い切れないであろう。眼を凝らしてみれば, 研究の未開地はあちこちに広がっている。ゼニゴケを用いることで, われわれは, あたかも, 初めて進出した陸地に限りない可能性を見いだした最初の陸上植物の祖先のような気持ちをもって研究することができると筆者は確信している。

## ６．謝辞

本稿に取り上げた筆者の研究室におけるゼニゴケ MpLFY の研究は, 文部科学省の科学研究費補助金（基盤研究Ｂ・挑戦的萌芽研究）による助成のもと, 歴代の学生諸君（辻井由香さん, 宇山和樹君, 宮下結衣さん）と博士研究員の酒井友希博士によって進めてきたものである。この研究の遂行にあたっては, 本文中でお名前に言及した, 河内孝之教授と石崎公庸博士（京都大学）, 大和勝幸博士（近畿大学）（以上, 研究開始時からの共同研究者）, 美和秀胤博士（現・ヘルシンキ大学）のほか, 西浜竜一博士（京都大学）, 山野隆志博士（京都大学）の助力を仰いでいる。また, 嶋村正樹博士（広島大学）からは多くのご教示とご支援をいただいている。記して感謝の意を表したい。本稿の作成にあたっては, 初稿の段階で, 蘚類の分類体系の扱い方, コケ植物の古い学名と現行の学名の対応などをはじめとして, 嶋村正樹博士から多くのコメントをいただいた。これによって,いくつかのミスを未然に防ぐことができた。第２章は, 山口礼子博士からの数多くの建設的なコメントにより, いくつかの重要な点を改善することができた。また, 大和勝幸博士からは, コケ植物・シダ植物の受精に関する総説原稿を見せていただき, 最終稿の参考にすることができた。これらの方々に特に感謝したい。

## 引用文献

Andersen, E. N. 1931. Discharge of sperms in *Marchantia domingensis*. *Bot. Gaz.* 92: 66-84.

Bergdolt, E. 1926. Die Antheridienentleerung der Marchantiaceen. In: *Untersuchungen über Marchantiaceen*. *Botanische Abhandlungen* 10: 24-37.

Borges, F., Gomes G., Gardner, R., Moreno, N., McCormick, S., Feijó, J.A., & Becker, J. D. 2008. Comparative transcriptomics of Arabidopsis sperm cells. *Plant Physiol*. 148:1168-81.

Bower, F. O. 1930. *Primitive Land Plants also Known as the Archaegoniatae*. Macmillan, London, pp. 26-41, 483-496, 497-518.

Campbell, D. H. 1928. *The Structure and Development of Mosses and Ferns*. 3rd ed. Macmillan, London, pp. 8-71.

Carlsbecker, A., Tandre, K., Johanson, U., Englund, M., & Engström, P. 2004. The MADS-box gene *DAL1* is a potential mediator of the juvenile-to-adult transition in Norway spruce (*Picea abies*). *Plant J*. 40: 546-557.

Carothers, Z. B. 1975. Comparative studies on spermatogenesis in bryophytes. In: Duckett JG and Racey PA (ed.) *The Biology of the Male Gamete*. *Biol*. *J*. *Linn*. *Soc*. *Lond* .7 Suppl. No. 1. Academic Press, pp. 71-84, pl. 1-6.

Carothers, Z. B. & Kreitner, G. L. 1967. Studies of spermatogenesis in the Hepaticae. I. Ultrastructure of the vierergruppe in *Marchantia*. *J*. *Cell Biol*. 33: 43-51.

Carothers, Z. B. & Kreitner, G. L. 1968. Studies of spermatogenesis in the Hepaticae. II. Blepharoplast structure in the spermatid of *Marchantia*. *J*. *Cell Biol*. 36: 603-616.

Carvalho-Santos, Z., Azimzadeh, J., Pereira-Leal, J. B., & Bettencourt-Dias, M. 2011. Evolution: Tracing the origins of centrioles, cilia, and flagella. *J*. *Cell Biol*. 194:165-175. [erratum: *J*. *Cell Biol*. 195: 341.]

Cavers, F. I. 1903. Explosive discharge of antherozoids in *Fegatella conica*. *Ann*. *Bot*. 17: 270-274.

Cavers, F. I. 1904. On the structure and biology of *Fegatella conica*. *Ann*. *Bot*. 18: 87-120, pl. 7-8.

Crandall-Stotler, B., Sttotler, R. E., & Long, D. G. 2009. Morphology and classification of the Marchantiophyta. In: Goffinet, B. & Shaw, A J. (ed.) *Bryophyte Biology 2nd ed*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-54.

Cuming, A. C. 2009. Mosses as model organisms for developmental, cellular and molecular biology. In: Goffinet, B. & Shaw, A J. (ed.) *Bryophyte Biology 2nd ed*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 199-236.

Duckett, J. G., & Racey, P. A. (ed.) 1975. *The Biology of the Male Gamete*. *Biol*. *J*. *Linn*. *Soc*. *Lond*. 7 Suppl. No.1. Academic Press, pp. 1-202.

Durand, E. J. 1908. The development of the sexual organs and sporogonium of *Marchantia polymorpha*. *Bull*. *Torrey Bot*. *Club 35*: 321-335, pl. 21-25.

Farley, J. 1982. *Gametes & Spores Ideas about Sexual Reproduction, 1750-1914*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Frohlich, M. W. 2003. An evolutionary scenario for the origin of flowers. *Nat*. *Rev*. *Genet*. 4: 559-566.

Frohlich, M. W., & Estabrook, G. F. 2000. Wilkinson support calculated with exact probabilities: an example using Floricaula/LEAFY amino acid sequences that compares three hypotheses involving gene gain/loss in seed plants. *Mol*. *Biol*. *Evol*. 17: 1914-1925.

Frohlich, M. W., & Parker, D. S. 2000. The mostly male theory of flower evolutionary origins: from genes to fossils. *Syst*. *Bot*. 25: 155-171.

Garbary, D J., Renzaglia, K. S., & Duckett, J.G. 1993. The phylogeny of land plants: a cladistic analysis based on male gametogenesis. *Pl*. *Syst*. *Evol*. 188: 237-269.

Goebel, K. 1898. Über den Öffnungsmechanismus der Moos-Antheridien. *Ann*. *Jard*. *Bot*. *Buitenzorg* Suppl. 2: 65-72.

Goebel, K. 1905. *Organography of Plants*, Part II, *Special Organography*. Clarendon Press, Oxford. [translation of German ed. (1898). by I.B. Balfour], pp. 9-14, 85-87.

Goebel, K. 1926. *Wilhelm Hofmeister*, *The Work and Life of a Nineteenth Century Botanist*. The Ray Society, London. [translation of German ed. (1924). by H.M. Bower & F.O. Bower]

Goebel, K. 1930. *Organographie der Pflanzen*, Band 2, *Bryophyten - Pteridophyten*. *3*. *Aufl*., Gustav Fischer, Jena,

pp. 648-656, 822-828.

Goffinet, B., Buck, W. R., & Shaw, A. J. 2009. Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In: Goffinet, B., & Shaw, A.J. (ed.) *Bryophyte Biology 2nd ed*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 55-138.

Goffinet, B., & Shaw, A. J. (ed.) *Bryophyte Biology 2nd ed*. Cambridge University Press, Cambridge.

Graham, L.E. (渡邊 信, 堀 輝三 訳) 1996 [1993]. 陸上植物の起源, 内田老鶴圃, 東京.

Hamès, C., Ptchelkine, D., Grimm, C., Thevenon, E., Moyroud, E., Gérard, F., Martiel, J. L., Benlloch, R., Parcy, F., & Müller, C. W. 2008. Structural basis for LEAFY floral switch function and similarity with helix-turn-helix proteins. *EMBO J*. 27: 2628-2637.

Himi, S., Sano, R., Nishiyama, T., Tanahashi, T., Kato, M., Ueda, K., & Hasebe, M. 2001. Evolution of MADS-box gene induction by FLO/LFY genes. *J. Mol. Evol*. 53: 387-393.

Hofmeister, W. 1862. *On the Germination, Development, and Fructification of the Higher Cryptogamia and on the Fructification of the Coniferae*. The Ray Society, London. [translation of German ed. (1851) by F. Currey] , pp. 102-128, 434-442, pl. XV.

Hyams, J. S. & Campbell, C. J. 1985. Widespread absence of outer dynein arms in the spermatozoids of lower plants. *Cell Biol. Int. Rep*. *9*: 841-848.

Ikeda, K., Ikeda, T., Morikawa, K,. & Kamiya, R. 2007. Axonemal localization of Chlamydomonas PACRG, a homologue of the human *Parkin-coregulated* gene product. *Cell Motil. Cytoskeleton* 64: 814-821.

Ikeno, S. 1903. Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*. *Beih. Bot. Centralb*. 15: 65-88.

Ikeno, S. & Hirase, S. 1897. Spermatozoids in gymnosperms. *Ann. Bot*. 11, 344-345.

Inaba, K. 2011. Sperm flagella: comparative and phylogenetic perspectives of protein components. *Mol. Hum. Reprod*. 17: 524-538.

井上 勲 2007. 藻類 30 億年の自然史 第 2 版, 東海大学出版会, 秦野.

伊藤元巳 2012. 植物の系統と進化. 裳華房, 東京.

北川尚史 1989. コケの生物学 1. プランタ 1: 36-42.

北川尚史 1990a. コケの生物学 8. プランタ 8: 27-33.

北川尚史 1990b. コケの生物学 9. プランタ 9: 37-45.

Kny, L. 1890. Bau und Entwickelung von *Marchantia polymorpha*. Sonderabdruck a. d. Text d. VIII Abtheilung d. "Botanische Wandtafeln". pp. 364-401. Paul Parey, Berlin.

河内孝之・石崎公庸 2012. 古くて新しいモデル植物としての苔類ゼニゴケの特徴. *BSJ Review* 3: 58-70.

Konrat, M. V., Söderström, L., Renner, M. A. M., Hagborg, A., Bricoe, L., & Engel, J. J. 2010. Early Land Plants Today (ELPT): How many liverwort species are there? *Phytotaxa* 9: 22–40.

Kreitner, G. L. 1977a. Influence of the multilayered structure on the morphogenesis of *Marchantia* spermatids. *Amer. J. Bot*. 64: 57-64.

Kreitner, G. L. 1977b. Transformation of the nucleus in *Marchantia* spermatids: morphogenesis. *Amer. J. Bot*. 64: 464-475.

Kreitner, G. L., & Carothers, Z. B. 1976. Studies of spermatogenesis in the Hepaticae. V. Blepharoplast development in *Marchantia polymorpha*. *Amer. J. Bot*. 63: 545-557.

Lorenzetti, D., Bishop, C. E., & Justice, M. J. 2004. Deletion of the *Parkin coregulated* gene causes male sterility in the *quaking*$^{viable}$ mouse mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101: 8402- 8407.

Maizel, A., Busch, M.A., Tanahashi, T., Perkovic, J., Kato, M., Hasebe, M., & Weigel, D. 2005. The floral regulator LEAFY evolves by substitutions in the DNA binding domain. *Science* 308: 260-263.

Mellerowicz, E. J., Horgan, K., Walden, A., Coker, A., & Walter, C. 1998. *PRFLL* - a *Pinus radiata* homologue of *FLORICAULA* and *LEAFY* is expressed in buds containing vegetative shoot and undifferentiated male cone primordia. *Planta* 206: 619-629.

Melzer, R., Wang, Y. Q., & Theissen, G. 2010. The naked and the dead: the ABCs of gymnosperm reproduction and the origin of the angiosperm flower. *Semin. Cell Dev. Biol.* 21: 118-128.

Merchant, S. S., Prochnik, S. E., Vallon, O., Harris, E. H., Karpowicz, S. J., Witman, G. B., Terry, A., Salamov, A., Fritz-Laylin, L. K., Maréchal-Drouard, L., Marshall, W. F., Qu, L. H., Nelson, D. R., Sanderfoot, A. A., Spalding, M. H., Kapitonov, V. V., Ren, Q., Ferris, P., Lindquist, E., Shapiro, H. *et al*. 2007. The *Chlamydomonas* genome reveals the evolution of key animal and plant functions. *Science* 318: 245-250.

Mirbel, C.F.B. de 1835a. Recherches anatomiques et physiologiques sur le *Marchantia polymorpha*, pour servir a l'histoire du tissu cellulaire, de l'épiderme et des stomates. *Mém. l'Acad. Sci. l'Inst. France* 13: 337-373, pl.1-6.

Mirbel, C.F.B. de 1835b. Complément des observations sur le *Marchantia polymorpha*, de recherches sur les metamorphoses des utricules, et sur l'origine, developpements et la structure de l'anthère et du pollen des végétaux phanérogames. *Mém. l'Acad. Sci. l'Inst. France* 13: 375-436, pl. 6-10.

毛利秀雄・星 元紀（監修）2006. 新編 精子学. 東京大学出版会, 東京.

Moser, J. W. & Kreitner, G. L. 1970. Centrosome structure in *Anthoceros laevis* and *Marchantia polymorpha*. *J. Cell Biol.* 44: 454-8.

Mouradov, A., Glassick, T., Hamdorf, B., Murphy, L., Fowler, B., Marla, S., & Teasdale, R. D. 1998. *NEEDLY*, a *Pinus radiata* ortholog of *FLORICAULA/LEAFY* genes, expressed in both reproductive and vegetative meristems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 6537-6542. [correction: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 5336.]

Moyroud, E., Tichtinsky, G., & Parcy, F. 2009. The LEAFY floral regulators in angiosperms: conserved proteins with diverse roles. *J. Plant Biol.* 52: 177–185.

Moyroud, E., Kusters, E., Monniaux, M., Koes, R., & Parcy F 2010. LEAFY blossoms. *Trends Plant Sci.* 15: 346-352.

Moyroud, E., Minguet, E. G., Ott, F., Yant, L., Posé, D., Monniaux, M., Blanchet, S., Bastien, O., Thévenon, E., Weigel, D., Schmid, M., & Parcy, F. 2011. Prediction of regulatory interactions from genome sequences using a biophysical model for the Arabidopsis LEAFY transcription factor. *Plant Cell* 23: 1293-1306.

Muggoch, H. & Walton, J. 1942. On the dehiscence of the antheridium and the part played by surface tension in the dispersal of spermatocytes in Bryophyta. *Proc. R. Soc. Lond. B* 132: 448-461.

Nishida, H., Pigg, K. B., & Rigby, J. F. 2003. Swimming sperm in an extinct Gondwanan plant. *Nature* 422: 396-397.

Parihar, N. S. 1962. *An Introduction to Embryophyta*. Vol. 1 *Bryophyta 5th ed.*, Central Book Depot, Allahabad, pp. 40-67.

Peirce, G. J. I. 1902. Forcible discharge of the antherozoids in *Astrella californica*. *Bull*. *Torrey Bot*. *Club* 29: 374-382.

Renzaglia, K. S., Duff, R. J. T., Nickrent, D. L., & Garbary, D. J. 2000. Vegetative and reproductive innovations of early land plants: implications for a unified phylogeny. *Philos*. *Trans*. *R*. *Soc*. *Lond*. *B Biol*. *Sci*. 355: 769-793.

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, J. C., & Duff, R. J. 2009. New insight into morphology, anatomy, and systematics of hornworts. In: Goffinet, B. & Shaw, A. J. (ed.) *Bryophyte Biology 2nd ed*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 139-171.

Reynolds, W. F. & Wolfe, S. L. 1978. Changes in basic proteins during sperm maturation in a plant, *Marchantia polymorpha*. *Exp*. *Cell Res*. 116: 269-273.

Riechmann, J. L., Heard, J., Martin, G., Reuber, L., Jiang, C., Keddie, J., Adam, L., Pineda, O., Ratcliffe, O. J., Samaha, R. R., Creelman, R., Pilgrim, M., Broun, P., Zhang, J. Z., Ghandehari, D., Sherman, B. K., & Yu, G. 2000. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science* 290: 2105-2110.

Sachs, J. 1906. *History of Botany (1530-1860)*. Clarendon Press, Oxford. [translation of German ed. (1875) by H.E.F. Garnsey and revised by I.B. Balfour]

坂山英俊 2010. 植物の上陸作戦 = シャジクモの辿った道. *BSJ Review* 1: 30-35.

Schofield, W. B. 1985. *Introduction to Bryology*. Macmillan, New York, pp. 212-235.

Shindo, S., Sakakibara, K., Sano, R., Ueda, K., & Hasebe, M. 1999. Characterization of a *FLORICAULA/LEAFY* homologue of *Gnetum parvifolium* and its implications for the evolution of reproductive organs in seed plants. *Int*. *J*. *Plant Sci*. 162: 1199-1209

嶋村正樹 2012. ゼニゴケの分類学と形態学. *BSJ Review* 3: 84-112.

Shimamura, M., Yamaguchi, T., & Deguchi, H. 2008. Airbourne sperm of *Conocephalum conicum* (Conocephalaceae). *J*. *Plant Res*. 121: 69-71.

Siriwardana, N. S., & Lamb, R. S. 2012a. The poetry of reproduction: the role of LEAFY in *Arabidopsis thaliana* flower formation. *Int*. *J*. *Dev*. *Biol*. 56: 207-221.

Siriwardana, N. S., & Lamb, R. S. 2012b. A conserved domain in the N-terminus is important for LEAFY dimerization and function in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. 71: 736-749.

Smith, G. M. 1955a. *Cryptogamic Botany* Vol. I *Algae and Fungi, 2nd ed*. McGrow-Hill, New York.

Smith, G. M. 1955b. *Cryptogamic Botany* Vol. II *Bryophytes and Pteridophytes, 2nd ed*. McGrow-Hill, New York, pp.14-86.

Southworth, D., & Cresti, M. 1997. Comparison of flagellated and nonflagellated sperm in plants. *Amer*. *J*. *Bot*. 84: 1301-1311.

Strasburger, E. 1870. Die Gechlechtsorgane und die Befruchtung bei *Marchantia polymorpha*. *Pringsh*. *Jahrb*. *f*. *wiss*. *Bot*. 7, 409-422, pl. 26-27.

Szövényi, P., Rensing, S. A., Lang, D., Wray, G. A., & Shaw, A. J. 2011. Generation-biased gene expression in a bryophyte model system. *Mol*. *Biol*. *Evol*. 28: 803-812.

Tanahashi, T., Sumikawa, N., Kato, M., & Hasebe, M. 2005. Diversification of gene function: homologs of the floral regulator FLO/LFY control the first zygotic cell division in the moss *Physcomitrella patens*. *Development* 132: 1727-1736.

Thomas, J., Morlé, L., Soulavie, F., Laurençon, A., Sagnol, S., & Durand, B. 2010. Transcriptional control of genes involved in ciliogenesis: a first step in making cilia. *Biol*. *Cell* 102: 499-513.

Thuret, G. 1851. Recherche sur les zoospores des algues et les anthéridies des cryptogmes. *Ann*. *Sci*. *nat*. 3me sér. 16: 5-39, pl.1-15.

Thuret, G. 1856. Sur les anthéridies du *Fegatella conica*, Corda. *Mem*. *Soc*. *Imp*. *Sci*. *nat*. *Cherbourg* 4: 216-218.

Vanderpoorten, A. & Goffinet, B. 2009. *Introduction to Bryophytes*. Cambridge University Press, Cambridge.

Vázquez-Lobo, A., Carlsbecker, A., Vergara-Silva, F., Alvarez-Buylla, E. R., Piñero, D., & Engström, P. 2007. Characterization of the expression patterns of *LEAFY/FLORICAULA* and *NEEDLY* orthologs in female and male cones of the conifer genera *Picea*, *Podocarpus*, and *Taxus*: implications for current evo-devo hypotheses for gymnosperms. *Evol*. *Dev*. 9: 446-459.

Vincensini, L., Blisnik, T., & Bastin, P. 2011. 1001 model organisms to study cilia and flagella. *Biol*. *Cell* 103: 109-130.

Watson, E. V. 1971. *The Structure and Life of Bryophytes*. *3rd ed*. Hutchinson University Library, London.

Winter, C. M., Austin, R.S., Blanvillain-Baufumé, S., Reback, M. A., Monniaux, M., Wu, M.F., Sang, Y., Yamaguchi, A., Yamaguchi, N., Parker, J. E., Parcy, F., Jensen, S.T., Li, H., & Wagner, D. 2011. LEAFY target genes reveal floral regulatory logic, *cis* motifs, and a link to biotic stimulus response. *Dev*. *Cell* 2011 20: 430-443.

Witman, G. B. (ed.) 2008. *Chlamydomonas Sourcebook 2nd ed*. Vol. 3 *Cell Motility and Behavior*. Academic Press, New York.

Wuest, S. E., Vijverberg, K., Schmidt, A., Weiss, M., Gheyselinck, J., Lohr, M., Wellmer, F., Rahnenführer, J., von Mering, C., & Grossniklaus, U. 2010. Arabidopsis female gametophyte gene expression map reveals similarities between plant and animal gametes. *Curr*. *Biol*. 20: 506-512.

大和勝幸・河内孝之 2012. 見えてきたゼニゴケゲノム. *BSJ Review* 3: 71-83.

大和勝幸 2012a. コケ・シダ植物の受精. 澤田 均（編）生物の受精 - 単細胞生物から植物・動物まで. 化学同人, 京都. 第 5 章（刊行準備中）

Yamato, K. T., Ishizaki, K., Fujisawa, M., Okada, S., Nakayama, S., Fujishita, M., Bando, H., Yodoya, K., Hayashi, K., Bando, T., Hasumi, A., Nishio, T., Sakata, R., Yamamoto, M., Yamaki, A., Kajikawa, M., Yamano, T., Nishide, T., Choi, S. H., Shimizu-Ueda, Y., Hanajiri, T., Sakaida, M., Kono, K., Takenaka, M., Yamaoka, S., Kuriyama, C., Kohzu, Y., Nishida, H., Brennicke, A., Shin-i, T., Kohara, Y., Kohchi, T., Fukuzawam H., & Ohyama, K. 2007. Gene organization of the liverwort Y chromosome reveals distinct sex chromosome evolution in a haploid system. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *U.S.A*. 104: 6472-6477.

Yanagimachi, R., Wakayama, T., Kishikawa, H., Fimia, G.M., Monaco, L., & Sassone-Corsi, P. 2004. Production of fertile offspring from genetically infertile male mice. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. *U.S.A*. 101: 1691- 1695.

湯浅 明 1969. 植物の精子. 東京大学出版会, 東京.