ミニレビュー

シダ配偶体の発生生物学 - 日本における研究を中心にして -

菅井道三

富山大学理学部生物学科 (〒930-8555 富山市五福3190)

Developmental biology in fern gametophytes - Contributions by Japanese researchers -

Michizo Sugai

Department of Biology, Faculty of Science, Toyama University,
Gofuku 3190, Toyama 930-8555, Japan

要旨：シダの配偶体はその形態が単純でありながら、植物の生活環において見られる基本的現象である発芽、細胞の伸長、分裂をともなう成長軸の転換、生殖器官の分化、精子の運動、受精等が細胞レベルで容易に観察できるため古くから形態形成の研究材料としてしばしば用いられてきた。このシダ配偶体を用いて行われた実験の中には日本人によるものが多く見られる。特にそれぞれの現象に関して、その発展のきっかけを作ったものも少なくない。本論では私の周辺で行われた仕事を中心に、これらの業績のいくつかを紹介すると共にその意義について私見を交えて考察してみる。

Summary: Because of their simple structure, fern gametophytes have been used as experimental materials for a wide variety of studies in plant morphogenesis. These include cytological, physiological and biochemical studies of spore germination, elongation and division of protonemata, pattern formation of prothallia, differentiation of sexual organs, and movements and fertilization of sperms at the cellular level. Japanese researchers have published many papers in this area over the past 100 years. In this review, I would like to introduce and evaluate some of contributions of Japanese researches in this field.

Key Words: fern gametophytes, morphogenesis, sex organ formation, spore germination

1. はじめに

日本では近代植物学が導入されてまもなく、平瀬作五郎、池野成一郎によるイチョウ、ソテツの精子の発見等世界の植物学に大きく貢献した業績が知られているが、シダ配偶体を用いた細胞学、生理学に関する業績にも日本人研究者によるものが多く見られる。その中でも柴田圭太によるスギナ、ミズニラ等の精子の有機酸への走化性に関する研究(Shibata 1905a,b)、永井威三郎の造精子

分化と培地の栄養条件との関係 (Nagai 1915) などは世界的に見ても優れた業績であると考えられる。

わが国でシダ配偶体を用いた形態形成の研究がはじめて組織的に開始されたのは名古屋大学の生物学教室においてであった。1950年、篠遠喜人の下でアマモ、スガモ等水生植物の核型、性染色体の研究を行っていた原田市太郎が、名古屋大学理学部生物学教室植物第一講座の助教授として着任した。当時の生物学教室には佐藤忠雄、山本時男、山田常雄ら優れた発生生物学者が在籍し両生類、魚類等を材料として実験発生学、発生生理学的研究を進めていた。植物分野でも藤井健次郎のもとでイチョウの受精過程の実験生物学研究などを行った島村 環らが植物細胞の分裂機構の解析を試み、また太田行人らが植物の発生、分化の現象を代謝生理学、発生生理化学的側面から解析しようとしていた。原田はこれらの教室の特徴を生かし植物材料を用いて形態形成、細胞分化の研究を進めることを企てた。最初の学生として原田の研究室に加わった高橋千祐、続いて加わった堀田康雄、伊藤道夫らにより、分化の機構を細胞レベルで解析するために、構造が単純で培養や観察が容易で常時入手が可能な材料の探索がはじめられ、その過程で取り上げられたのがシダの配偶体であった。シダ配偶体は、古くからドイツを中心に孢子発芽、原糸体の成長、生殖器官の分化などについての幾つかの報告が出されていた。その中にはモエジマシダの原糸体から前葉体への分化に対する光、特に赤色光、青色光の影響 (Klebs, 1916)、 孢子発芽に対する光質の影響などに関する報告などがあった (Orth 1937)。

当時日本では、山形大学の中沢信午がシダ原糸体細胞をもちいて遠心力による極性発生軸の転換等実験生物学的な研究を (Nakazawa 1960)、また同大学の伊倉伊三美 (Igura 1955) は前葉体細胞の浸透圧の測定等細胞生理学的研究を進めていた。また、文部省にいた百瀬静男は小石川植物園で日本産シダの前葉体の発生に関して形態学的観察をおこない多くの報告が出されていた (百瀬 1967)。

原田らはこのような背景の下に、幾種類かのシダ孢子について検討を加え、形態変化が単純で発生の同調性が高いモエジマシダと、孢子を大量に集めることが容易なベニシダを材料として用いることにした。まず、発芽、原糸体細胞の伸長、分裂、1次元成長から2次元成長への発生軸の転換機構を中心に研究が始まった。その当時、幸いなことに百瀬の肝煎りで科学研究費によるシダの総合研究班が組織され、名古屋の原田のグループもこれに加わることができ、研究者の交流、材料の採集、文献の調査等に大きな力となった。

原田のグループにはその後、菅井が卒研生として、また中澤信午の研究室から大瀧 保らが加わり研究の広がりが進んだが、1964年原田は北海道大学へ移り、後任としてアメリカブルックヘブン研究所で植物の光形態形成の受容体色素であるフィトクロムに関する研究を進めていた古谷雅樹が赴任した。名古屋ではそれまで我々が用いていたシダ配偶体も光形態形成の材料として用いることにし、その手始めに孢子発芽について菅井が、配偶体細胞の分裂、分化に関して伊藤道夫が調べることになった。

古谷は1968年東大へ移ったが、そこでも和田正三をはじめ、門田明雄、峰雪芳宣、竹能清俊らによりシダ配偶体を用いた光形態形成の研究が進められた。その後、和田は門田と共に東京都立大学へ移り、ここにシダ配偶体を材料とする光形態形成の研究室を作り、現在も活発に研究が続けられている。

本稿ではこれらの研究室での業績を中心に孢子発芽から配偶体の分化、生殖に至る生活環に沿って紹介し、その学問的位置づけを試みたい。

2. 胞子発芽

1) 発芽と光

シダ胞子の発芽にはワラビなど少数の例外を除き一般に光が必要であることは古くから知られていて、その波長依存性についても報告があった (Orth 1937)。1955年にはドイツのBunningとMohrが*Dryopteris filix-mas*の胞子発芽について24時間の連続照射による発芽誘導、抑制の作用スペクトルを調べ650-670nmの赤色光が発芽を誘導し、733-750nmの近赤外光が抑制することを報告し、シダ胞子発芽にフィトクロム系が関与する可能性を示唆した(Bunning and Mohr 1955)。しかし、この報告では長時間の連続光を照射しているため赤色光、近赤外光の可逆的効果を確認することは出来ずフィトクロム系の関与の直接的証明には至らなかった。我々はモエジマシダ胞子を用いて5分間の短時間の赤色光照射で発芽が誘導され、その直後に5分間与えた近赤外光により発芽は可逆的に抑制されることを見だし、シダ胞子発芽にフィトクロム系が関与することを確認めた。さらに青色光の影響についても調べたところ、赤色光照射の直後に5分間の青色光を与えると発芽は完全に抑制された。この青色光照射直後に5分間の赤色光を与えても近赤外光の場合に見られるような発芽の回復は認められなかった (Sugai and Furuya 1967) (第1表)。このことから青色光による発芽抑制にはフィトクロム以外の色素系が関与していることが考えられた。また、青色光による発芽抑制は青色光照射後、胞子を暗所に24時間以上置くか、8時間以上の赤色光を照射することにより回復することも明らかになった。このようにシダ胞子発芽にはフィトクロム系のほか、青色光吸収色素系も関与するがその光受容体色素については不明であった。その後、岡崎の基礎生物研究所にある大型スペクトログラフを用いて正確な作用スペクトルが紫外域から緑色域に亙り調べられた結果、発芽抑制効果は270nm、380nm,および440nmにその作用のピークが認められ青色光域の他、紫外光、近紫外光も有効であることがわかった (Sugai et al 1984, Sugai and Furuya 1985) (第1図)。

第1表 モエジマシダ胞子発芽に対する光の影響
(Plant and Cell Physiol. 8:737-848)

光の処理	平均発芽率(%)
R	52.3
F	2.3
F/R	51.3
R/F	4.0
R/F/R	54.0
R/F/R/F	6.0
R/F/R/F/R	53.5
B	0
B/R	0.8
R/B	1.8
R/B/R	2.8

赤色光(R) 近赤外光(F)青色光(B)をそれぞれ5分照射

東京都立大学の和田正三らのグループはホウライシダから3種のフィトクロムをクローニングしている。この内のPHY3と呼ぶフィトクロム遺伝子はN末端にフラビンをコードする配列を含むことがわかっていて (Nozue et al 1998)。

第1図 ホウライシダ胞子の発芽抑制の作用スペクトル
吸水させた胞子に赤色光を5分照射してからあてた単色光の発芽抑制効果 (Plant & Cell Physiol. 26:953-956 1985)

最近になって、我々はきわめて低強度の青色光、赤色光、近赤外光がホウライシダの孢子発芽を誘導し、それより高強度の青色光、近赤外光は発芽を抑制することを見いだした(菅井 未発表)。即ち、青色光等短波長域の光は青色光吸収色素系とともにフィトクロム系にも吸収され、発芽を制御しているらしい。この事実は、未だその機能が明らかでない、ホウライシダの複数のフィトクロムの働きを知る上でのヒントになるのかもしれない。

2) 発芽と植物ホルモン

シダ孢子発芽は光の他、シダの造精器を誘導するアンセリジオーゲンやジベレリンによっても誘導されることが知られている(Sugai *et al* 1987)。フサシダ科のカニクサ、*Anemia*では孢子発芽はGA₃, GA₄, GA₉等のジベレリンで誘導されるが、フサシダ科以外のシダには無効である。またワラビのアンセリジオーゲンはモエジマシダなど科を異にする多くの種の孢子発芽を誘導する(竹能 1977)。

カニクサ孢子を用いてジベレリンと光の相互作用について調べたところ、低濃度のジベレリンは、発芽誘導が認められない低光量の赤色光照射により発芽を誘導し、またAmo1618等のジベレリン合成阻害剤により、孢子発芽の光誘導効果が消失する。このことから、カニクサ孢子では光はジベレリンを介して発芽を誘導するものと考えられる(Kagawa and Sugai 1992)。

3. 原糸体、前葉体の成長、分化

1) 原糸体の伸長、分裂

シダの原糸体、仮根は花粉管などと同様に先端成長をおこなう。原糸体の伸長については高橋による優れた報告がある。ワラビの原糸体、仮根にカオリン粒子で印をつけ、一定時間後の粒子の移動を見たところ原糸体、仮根ともに伸長部位は先端の3~5 μ mであることを見いだした (Takahashi 1961)。

また、原糸体細胞の伸長、分裂の光制御に関しては、伊藤、和田らによる多くの報告がある。伊藤はモエジマシダ原糸体を赤色光下から青色光下に移すと約13時間後に先端細胞の分裂が同調的に誘導されることが見だし、その分裂周期を決定した (Ito 1970, 1974)。この実験系を用いて、その後、和田らはホウライシダで原糸体細胞の分裂のG₁期の進行は近紫外・青色光吸収色素系により G₂期はフィトクロム系により制御されていることを明らかにした(Wada and Kadota 1989)。また原糸体細胞の伸長・分裂時における微小管の配列の変化や分裂準備帯(pre prophase band)の形成機構については村田(Murata *et al* 1987)や峰雪らによる報告がある(Mineyuki 1991)。

2) 成長軸の転換

植物の体制の形成の基本的パターンとして1次元成長から2次元成長への成長軸の転換がある。この際、細胞の分裂軸は伸長方向に対して直角から垂直へと転換する。この成長軸の転換の典型的な例がシダの原糸体の発生に於いて認められる。

この1次元成長から2次元成長への成長軸の転換に核酸、蛋白質代謝が関与するのではないかとの発想が原田の研究室で現れた。Watson-Crickモデルが発表されて間もなく、当時大学院学生であった堀田康雄は山田常雄の研究室にいた大沢省三の指導のもとにベニシダ配偶体を材料として蛋白質合成、RNA合成とシダ配偶体の成長軸転換との関係を調べ始めた。その結果、1次元成長

期にはRNA合成能、蛋白合成率は低く、2次元成長期になると大幅に上昇することを見いだした。またグアニンのアナログである8-アザグアニンを培地中に加えると2次元成長は抑制され、グアニンを加えると2次元成長が可逆的に再開することから成長軸の転換には核酸、蛋白代謝が密接に関係すると考えた(Hotta and Osawa 1958, Hotta, Osawa and Sakaki 1959)(第2図)。

第2図 ペニシダ配偶体の発生に伴う蛋白質量の変化に対する8-アザグアニンの影響
矢印の所で8-アザグアニンあるいはグアニンを与えた。図中の模式絵は配偶体の形を表している。(Exp. Cell Res. 15:85-94 1958)

この一連の報告はその後多くの研究者の関心をひくことになり、アメリカ、ドイツを中心に様々な種のシダを用いて関連する研究が行われてきた。その中には成長軸の変換と蛋白合成、核酸代謝との間には直接的な関係はないとする結果も報告されているが、形態形成と核酸、蛋白代謝との関係について大きな関心を呼び起こす端緒となったことの意義は大きい。

3) 配偶体細胞の再生

シダ配偶体では基部の細胞から先端部の細胞、即ち分裂域の細胞に向って様々な形態学的、生理学的勾配が存在することが知られている。例えば、細胞の浸透圧は基部では低く、先端部では高い。

配偶体細胞の再生に関しても、細胞の位置とその再生様式との間には密接な関係がある。伊藤は

周辺の細胞を細いガラス針を刺して殺すことによりモエジマシダ配偶体の様々な位置の細胞を単離しその再生の様子を観察した。いずれの位置の細胞も配偶体にまで再生したが配偶体上に位置により再生に要する時間が異なり、より基部の胞子に近い細胞は先端部の分裂域に近い位置の細胞に比べ再生に要する時間が短いことを見いだした（第3図）（Ito 1960, 1962）。

第3図 モエジマシダ配偶体から単離した細胞の位置と、仮根、原糸体細胞の再生に要する時間との関係
数字は単離細胞の胞子からの位置を示している。P：原糸体細胞 R：仮根細胞
(Bot. Mag. Tokyo 75:19-27 1962)

4) プロトプラストの再生

シダ配偶体細胞は上述の伊藤の再生実験等からも明らかなようにきわめて再生能力が高い。名古屋大学の伊藤の研究室に在籍した前田樹夫はモエジマシダ配偶体をマセロザイム、セルラーゼで処理して単離したプロトプラストから配偶体への再生に成功した(Maeda and Ito 1981)。その後、胞子体から取り出したプロトプラスト細胞から配偶体への再生にも成功している(Maeda *et al* 1990)。これらシダのプロトプラストは種子植物の場合のように植物ホルモンや糖以外の有機物を含む培地を必要とせず、またきわめて低い細胞密度で再生が可能である。今後、遺伝子の導入や世代の交代の機構の解析に用いられることが期待される。

4. 生殖器官の分化

シダの生殖器官の形成については、日本人の貢献は大きい。永井はシマオオタニワタリ、ミズワラビ、ゼンマイなどを用いて、生殖器官の形成には培地の栄養条件が密接に関係し、低濃度のKnop液では造卵器の形成が認められず、造精器のみが形成されることを見いだした(Nagai 1914)。

ワラビ造精器の分化には成熟配偶体から分泌される因子が関与することが、1950年Doppによって報告され、その後この因子はアンセリジオーゲンと呼ばれることになった。はじめてその誘導物質の構造を明らかにしたのは、中西香爾らのコロンビア大学のグループであった(Nakanishi *et al* 1971)。彼らはAnemiaの造精器を誘導する物質がジベレリンに類似する四環性のジテルペン的一种であることを明らかにした、その後この構造については若干の訂正がおこなわれAntheridic Acidと命名された。さらに、東京大学農学部山根らは、カニクサには2種の造精器誘導物質が存在しそのひとつはGA₉のメチールエステル(Yamane *et al* 1979)と新しく発見されたGA₇₃のメチー

ルエステルであること (Yamane *et al* 1988)を見いだした。

第3図 *Anemia*およびカニクサから分泌されるアンセリジオーゲンの構造

ジベレリン及びその類似物質により造精器が誘導される種は僅かであり、カニクサ、*Anemia*などフサシダ科のシダに限られる。ワラビから分泌されるアンセリジオーゲンは、その効果のスペクトルが広く、他の科を含む多くの種に有効であるが (竹能 1977)、その構造を明らかでない、日本の研究者によりその実体が明らかにされることが期待される。また、アンセリジオーゲン、ジベレリンに対する感受性が配偶体の成長に伴い低下することが知られている (Takeno *et al* 1980)。

モエジマシダ造精器もワラビのアンセリジオーゲンにより誘導されるが、この系を用いて黒岩らは精子の形成過程における葉緑体、葉緑体核の動向を調べた。その結果、精子の形成にともない、細胞中の葉緑体は縮小しアミロプラストになり、葉緑体核、葉緑体DNAもほとんど消失することをたしかめた (Kuroiwa *et al* 1988)。

従来、造卵器は栄養条件が良い条件下で分化するとされていたが、当時東京大学にいた竹能は、カニクサのアンセリジオーゲンはジベレリンとともに造卵器の形成を阻害することを報告し、はじめてシダ雌性生殖器官の分化が化学物質により制御されることが明らかとなった (Takeno and Furuya 1977)。

最近、筆者らはカニクサの胞子をEMSで処理することにより造精器のみを形成する変異体、造卵器を多く形成する変異体を単離し、それぞれAn-1、Ar-1と名付けた。この変異体はいずれも無限成長を行い、それから単離したプロトプラストはカルスを経ずに容易に変異体を形成する。またAn-1の染色体数は野生株と同様に58個であるが、Ar-1はそのほかに2個の過剰染色体をもつことがわかった (投稿準備中)。無限成長、高い再生能、過剰染色体をもつという、この変異体の特性を生かして、生殖器分化の機構の解析等に活用出来たらと考えている。

5. 精子の走化性

シダ精子が造卵器中の卵細胞へ近づくには、造卵器から分泌される粘性物質によると考えらる。同型胞子シダの精子の走化性については19世紀末Pfefferの報告があるが、異型胞子シダでは柴田圭太による報告が最初である。彼はサンショウモの精子がリンゴ酸、マレイン酸には走化性を示すが、マレイン酸の光学異性体であるフマル酸には反応しないこと、これに反してミズニラはリンゴ酸、フマル酸には反応するがマレイン酸には反応しないことを見いだした (Shibata 1905 a, 1911)。このように光学異性体に対する反応の違いについて言及したのは柴田が最初であった。シダ造卵器から分泌される誘因物質の本体は現在でも明らかでない。

6. 終わりに

以上述べてきたように、シダ配偶体は様々な利点をもつためこれまで多くの研究者に注目されてきた。しかし残念ながらシダの配偶体を形態形成の実験材料としているグループはリーダーの引退、他の材料への転換などにより減少し、いまなお活発に研究を続けているのはわが国では和田正三、アメリカのJ. Ann Banks、L.G. Hickokなど数グループに過ぎない。シロイヌナズナや*Physcomitella*などライフサイクルが短く、ゲノムサイズが小さい植物をモデル植物として用いた遺伝子レベルの研究が飛躍的に増加している。シダのゲノムサイズは一般に大きく、生活環が比較的長く変異体の単離、遺伝子の解析に適していないことなどが研究の減少の一因かと思われるが、植物界の大きな一群であるシダの配偶体を材料にした研究が再び増加することを期待して筆を置くことにしたい。不十分な紹介に終わったが文献欄にシダ配偶体の発生生物学に関する単行本、総説をあげたので参考にさせていただければ幸いである。

文献

単行本、総説

- Banks, J.A. (1999) Gametophyte development in ferns. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology of Plants* 50:163-186
- Dyer, A.F. (ed) (1979) *The experimental biology of ferns*. Acad. Press
- Furuya, M. (1983) Photo morphogenesis in ferns. *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series*, 16, Mohr, [ed] Springer Verlag
- 益山樹生 (1981) シダ類の生殖 豊饒書館
- Miller, J.H. (1968) Fern gametophytes as experimental material. *Botanical Review* 34:361-440
- Naf, U. (1979) Antheridiogens and antheridial development. Dyer, [ed] pp 435-470 Academic Press
- 百瀬静男 (1967) 日本産シダの前葉体 東京大学出版会
- Raghavan, V. (1980) Cytology, physiology, and biochemistry of germination of fern spores. *International Review of Cytology* 62:69-118
- Raghavan, V. (1989) *Developmental biology of fern gametophytes*. Cambridge Univ. Press
- 菅井道三 (1978) 光による発芽制御-シダ胞子とレタス種子の場合を中心として-
化学と生物 11/1, 1-12
- 菅井道三 (1988) シダ生殖器官分化の化学調節 化学と生物 26/6, 345-347
- 菅井道三 (1990) シダ胞子発芽と細胞内調節因子 遺伝 44/1, 26-29
- 竹能清俊 (1977) シダ植物における造精器誘導物質 植物の化学調節 12:16-28
- Wada, M. and Kadota, A. (1989) Photomorphogenesis in lower green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology of Plants* 40:169-191
- Wada, M. and Sugai, M. (1993) *Photobiology of ferns Photomorphogenesis in Plants* 2nd ed. Kendrick, R.E. and Kronenberg, G.H.M. [ed], Kluwer Acad. Pub. p.783-802
- 湯浅 明 (1934) 羊歯植物の細胞学及び遺伝学 養賢堂

原著

- Bunning, E. and Mohr, H. (1955) Das Aktionspektrum des Lichteinflusses auf die Keimung von Farnsporen. *Naturwissenschaften* 42:212

- Dopp, W. (1950) Eine die Antheridienbildung bei Farnen fordernde Substan in den Prothallien von *Pteridium aquilinum* (L) Kuhn. *Ber. der Deut. Bot. Gesellschaft* 63: 139-147
- Hotta, Y. and Osawa, S. (1958) Control of differentiation in the fern gametophyte by amino acid analogs and 8-azaguanine. *Exp. Cell Res.* 15:85-94
- Hotta, Y., Osawa, S. and Sakaki, T. (1959) Ribonucleic acid and differentiation of the gametophyte of a polypodiaceous fern. *Develop. Biol.* 1:65-78
- Ito, M. (1960) Complete regeneration from single isolated cells of fern gametophyte. *Bot. Mag. (Tokyo)* 73:276
- Ito, M. (1962) Studies on the differentiation of fern gametophytes I. Regeneration of single cells isolated from cordate gametophytes of *Pteris vittata*. *Bot. Mag. (Tokyo)* 75: 19-27
- Ito, M. (1970) Light-induced synchrony of cell division in the protonema of the fern, *Pteris vittata*. *Planta* 90:22-31
- Igura, I. (1955) Cytological and morphological studies on the gametophytes of ferns IX. The polar plasmolysis on fern prothallium. *Bot. Mag. (Tokyo)* 68:119-124
- Kagawa, T. and Sugai, M. (1991) Involvement of gibberellic acid in phytochrome mediated spore germination of the fern *Lygodium japonicum*. *J. Plant Physiol.* 138: 299-303
- Klebs, G. (1917) Zur Entwicklungsgeschichte der Farnprothallien. *Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften* 8B:3
- Kuroiwa, H., Sugai, M. and Kuroiwa, T. (1988) Behavior of chloroplasts and chloroplast nuclei during spermatogenesis in the fern, *Pteris vittata* L. *Protoplasma* 146:89-100
- Maeda, M. and Ito, M. (1981) Isolation of protoplasts from fern prothallia and their regeneration to gametophytes. *Bot. Mag. (Tokyo)* 94:35-40
- Maeda, M., Sugimoto, Y., Nakamura, M., Masuda, K. and Sugai, M. (1990) Division and gametophytic tissue formation from protoplasts of young sporophytes in fern *Lygodium japonicum*. *Plant Cell Rep.* 9:113-116
- Mineyuki, Y. (1991) Experimental obliteration of the preprophase band at the site of cell division, cell plate orientation and phragmoplast expansion in *Adiantum* protonemata. *J. Cell Science* 100:551-557
- Mohr, H. (1956) Die Beeinflussung der Keimung von Farnsporen durch Licht und andere Factoren. *Planta* 46:534-551
- Murata, T., Kadota, A., Hogetsu, T. and Wada, M. (1987) Circular arrangement of cortical microtubules around subapical part of a tip growing fern protonema. *Protoplasma* 141: 135-138
- Nagai, I. (1915) On the influence of nutrition upon the development of sexual organs in the fern prothallia. *Jour. Coll. Agri. Univ. of Tokyo* 6:121-164
- Nakanishi, K., Endo, M., Naf, U. and Johnson, L.F. (1971) Structure of the antheridium-inducing factor of the fern *Anemia phyllitidis*. *Jour. Amer. Chem. Soc.* 93:5579-5581
- Nakazawa, S. (1960) Morphogenesis of the fern protonema. *Protoplasma* 52:1-4
- Nozue, K., Kanegae, T., Imaizumi, T., Fukuda, S., Okamoto, H., Yeh, K.-C., Lagarias, J.C. and

- Wada, M. (1998) A phytochrome from the fern *Adiantum* with features of the putative photoreceptor NPH1. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 95:15826-15830
- Orth, R.(1937) Zur Keimungsphysiologie der Farnsporen in verschiedene Spektralbezirken. *Jahrb. fur Wissenschaft. Bot.*84:358-426
- Shibata,K.(1905 a) Studien uber die Chemotaxis der *Salvinia*-Spermatozoiden. *Bot. Mag. Tokyo*, 19:39-42
- Shibata,K.(1905 b) Uber die Chemotaxis der Spermatozoiden von *Equisetum*. *Bot. Mag. Tokyo*, 19:79-82
- Shibata, K.(1911) Untersuchungen uber die Chemotaxis der Pteridophyten-Spermatozoide. *Jahrb. fur Wissenschaf. Bot.* 49:1-60
- Sugai, M. and Furuya, M. (1967) Photomorphogenesis in *Pteris vittata* I. Phytochrome mediated spore germination and blue light interaction. *Plant and Cell Physiol.* 8:737-748
- Sugai, M., Tomizawa, K., Watanabe, M. and Furuya, M. (1984) Action spectrum between 250 and 800 nanometers for photoinduced inhibition of spore germination in *Pteris vittata*. *Plant and Cell Physiol.* 25:205-212
- Sugai, M. and Furuya, M. (1985) Action spectrum in ultraviolet and blue light region for the inhibition of red-light-induced spore germination in *Adiantum capillus-veneris* L. *Plant and Cell Physiol.* 26: 953-956
- Sugai,M, Nakamura, H., Yamane,Y.Sato,Y.and Takahashi,N. (1987) Effects of gibberellins and their methyl esters on dark germination and antheridium formation in *Lygodium japonicum* and *Anemia phyllitidis*. *Plant and Cell Physiol.* 28:199-202
- Takahashi, C. (1961) The growth of protonema cells and rhizoids in bracken. *Cytologia* 26:62-66
- Takeno, K., Yamane, H., Nohara, K., Takahashi, N., Corey, E.J, Myers, A.G. and Naf, U., Sullivan, J. and Cummins, M. (1974) Fern antheridiogen: cancellation of a light-dependent block to antheridium formation. *Develop. Biol.* 40:355-365
- Takeno, K. and Furuya, M. (1975) Bioassay of antheridiogen in *Lygodium japonicum*. *Develop. Growth and Diff.* 17:9-18
- Takeno, K. and Furuya, M. (1977) Inhibitory effect of gibberellins on archegonial differentiation in *Lygodium japonicum*. *Physiologia Plantarum* 39:135-138
- Wada, M. and Furuya, M. (1972) Phytochrome action on the timing of cell division in *Adiantum* gametophytes. *Plant Physiol.* 49:110-113
- Yamane, H., Takahashi, N., Takeno, K. and Furuya, M. (1979) Identification of gibberellin A₉ methyl ester as a natural substance regulating formation of reproductive organs in *Lygodium japonicum*. *Planta* 147:251-256
- Yamane, H., Satoh, Y., Nohara, K., Masayoshi, N., Murofushi, N., Takahashi, N., Takeno, K., Furuya, M., Furber, M. and Mander, L.N.(1988) The methyl ester of a new gibberellin, GA₇₃: the principal antheridiogen in *Lygodium japonicum*. *Tetrahedron Lett.* 29: 3959-3962