

熱帯作物キャッサバの塊根形成メカニズムの解明と分子育種研究

内海 好規¹, 関 原明^{1,2,3}

¹理化学研究所 環境資源科学研究センター
〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1丁目7番22号

²理化学研究所 開拓研究本部
〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1

³横浜市立大学 木原生物学研究所
〒244-0813 横浜市戸塚区舞岡町641-12

Mechanisms of Tuberous Root Development and Molecular Breeding in a Tropical Crop “Cassava”

Yoshinori Utsumi¹, Motoaki Seki^{1,2,3}

¹Center for Sustainable Resource Science, RIKEN, 1-7-22 Suehiro, Tsurumi, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan

²Cluster for Pioneering Research, RIKEN
2-1 Hirosawa, Wako, Saitama, 351-0198, Japan

³Kihara Institute for Biological Research, Yokohama City University, 641-12 Maioka-cho, Totsuka-ku, Yokohama, Kanagawa 244-0813 Japan

Keywords: cassava, tuberous root, starch, transformation, molecular breeding

DOI: 10.24480/bsj-review.14b3.00244

1. はじめに

ジャガイモ、サツマイモ、ハス、イモ類、鱗茎類などの植物は有性生殖の他に茎、根から次世代の植物を無性的に形成して繁殖する栄養繁殖を行う。茎、根は栄養素の貯蔵器官となって栄養繁殖を支えている。貯蔵器官を形成できる植物は多様性に富み、独特な方法で貯蔵器官を形成する。ジャガイモ塊茎の場合、地下の茎から、ストロンという茎が地上部近くをはって伸びる。ジャガイモはこのストロンの先が太ったものである。キャッサバやサツマイモの場合、通常の根（細く白い根）が、塊根へと変化する。貯蔵器官では次世代の初期成長の栄養分として澱粉などを貯蔵し、人類は貯蔵器官を栄養源として消費している。一方、土壤中に貯蔵器官を形成するため、その形成機構に関して、十分に研究されていない。本稿では、栄養繁殖性の植物である熱帯作物キャッサバを使って、根の貯蔵器官である塊根の形成メカニズム、形質転換系や新規澱粉開発に関する研究について紹介する。

2. キャッサバについて

キャッサバ (*Manihot esculenta* Crantz) はキントラノオ目トウダイグサ科イモノキ属に分類される。その起源は古く、4,000年前から南米アンデス地域で栽培され、16世紀ごろアフリカ、19世紀にインド南部、20世紀に東南アジアにまで伝搬された。キャッサバの葉は飼

料として、茎は挿し木として栽培に利用される。根では塊根が形成され、塊根中には生重量当たり 20~30%の澱粉を蓄積する (図 1)。

キャッサバの栽培は比較的容易で、他の作物にとって育ちにくい土地でも一定の収穫を得られ、他作物との混作や輪作も行われ、熱帯作物として有利な特性を備えている。現在、キャッサバはアフリカおよびアジアの熱帯、亜熱帯地域で広く栽培されている。キャッサバは食料安全保障上重要な位置づけにあるばかりでなく、澱粉産業を中心に原材料として地域経済を大きく担っている。日本にもキャッサバ澱粉は多く輸入され、食料品や工業材料として利用されている。日本にとっても産業上不可欠な作物である。このようにキャッサバは気候変動下で熱帯地域の食糧安全保障やバイオマスエネルギー利用などの気候変動緩和策の観点から昨今特にその重要性が高まっている (内海ら 2022)。

キャッサバのゲノム情報は研究を推進するうえで骨幹となる部分であるが、現在、キャッサバの推定ゲノムサイズは 770.3Mbp (Hu et al. 2021) であり、コンティグにアラインされた塩基長は約 637.1Mbp である。タンパク質をコードする遺伝子数は 32,858 個あり、キャッサバ EST の 95.7% がキャッサバゲノム情報 version 8 にマッピングされている (<http://www.phytozome.net/>)。一方で、キャッサバは高いヘテロ接合性ゲノムを有しており、例えば、遺伝子配列 1 kb あたり 3.4–3.8 個の SNP のバリエーションをもつ (Wang et al. 2014)。生命科学研究・イノベーションの基盤となるキャッサバ遺伝資源について、コロンビアのカリに本部を置く Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) が南米やアジア由来のキャッサバ 6,492 系統 (2023 年 2 月) を管理している。またアフリカのナイジェリア、イバダに本部を置く、International Institute of Tropical Agriculture (IITA) がアフリカ由来のキャッサバ 4,359 系統を管理している。キャッサバ遺伝資源は食料・農業植物遺伝資源条約標準素材移転契約 (sMTA) を介して、組織培養植物の形でやり取りすれば、比較的容易に入手できる。

3. キャッサバ形質転換系の開発

高いヘテロ接合性ゲノムを有するキャッサバにとって、有用遺伝子を直接形質転換する分子生物学的技術はキャッサバ品種開発の迅速化を図る上で最も重要な技術といえる。また近年のゲノム編集技術の出現により、この技術の重要性はさらに高まっている。キャッサバの形質転換技術で最も汎用性のある方法として、小粒状の胚形成カルス (Friable Embryogenic Callus ; FEC) を介する方法が知られている。キャッサバの脇芽または小葉をオーキシン存

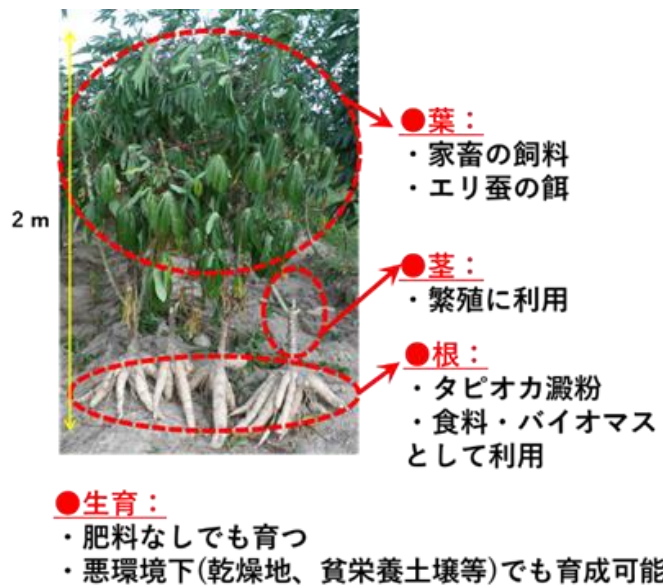


図 1 キャッサバは食糧安全保障や貧困削減などの地球規模課題に貢献する重要な澱粉資源作物である。

在下で培養して、Somatic embryo (SE) を誘導し、さらに SE を培養して FEC を得る。FEC とアグロバクテリウムを、アセトシリンゴンを含む培地上で共存培養後、過剰のアグロバクテリウムを極力除去し、ハイグロマイシン存在下で培養する。選抜された FEC から植物体を再分化させ、形質転換株を得る (Taylor et al. 2004 ; Bull et al. 2009; Utsumi et al. 2017) 。形質転換に用いるキャッサバ系統として、FEC が誘導でき、再分化効率もよいアフリカ由来のキャッサバ品種を中心に形質転換法の開発が進んでいる (Zainuddin et al. 2012 ; Chetty et al. 2013 ; Alfred et al. 2014 ; Nyaboga et al. 2015) 。しかし、FEC 形成能および再分化能に品種間差異があり、特に東南アジアの優良キャッサバ品種を用いた形質転換技術は開発されていなかった。アジアの優良キャッサバ品種の場合、FEC 形成能が低いことが問題であった。窒素の総量や硝酸態窒素とアンモニア態窒素の比率はカルスの成長、シュートと根の器官形成、胚形成、シュートの増殖など、さまざまな生理的影響を与える (George and Klerk 2008) ことが知られており、我々は Murashige and Skoog 培地 (Murashige and Skoog 1962) に含まれる主要栄養素と微量栄養素を一つずつ減らしながら、FEC 誘導効率を検討した。その結果、培地中の主要栄養素である窒素 (硝酸態窒素とアンモニア態窒素) ・リン酸・カリウムの量を制限して、エネルギー生産を改善するためビタミン B1 を過剰に加えた培地上で FEC 誘導効率が最も高くなった (Utsumi et al. 2017) 。我々はこの培地を用いて、東南アジアで最も栽培されている優良キャッサバ品種 KU50 から FEC を効率よく誘導することができ、世界に先駆けて形質転換体の作成にも成功した (図 2) (Utsumi et al. 2022a) 。

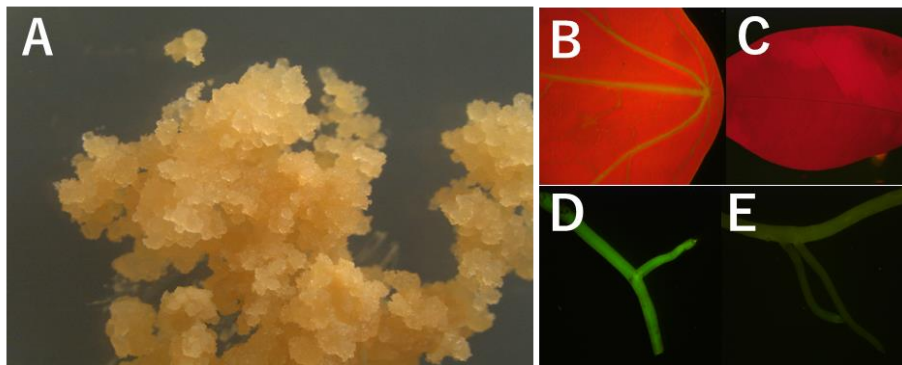


図 2 KU50 形質転換体の GFP 蛍光観察

- A 東南アジアのキャッサバ品種 KU50 から誘導した FEC
- B 形質転換植物の葉, GFP 蛍光がみられた
- C 非形質転換植物の葉, GFP 蛍光は観察されない
- D 形質転換植物の根, GFP 蛍光がみられた
- E 非形質転換植物の根, GFP 蛍光は観察されない

4. キャッサバ塊根形成

ジャガイモ塊茎やキャッサバ塊根を含め貯蔵器官形成の誘導のタイミングや貯蔵器官のサイズは収量に影響を与える重要な農業形質の一つであり、これまでジャガイモを中心に貯蔵器官形成に関する研究が進んできた。ジャガイモの場合、環境条件や植物の代謝状態の変化に伴い、地上部の信号を介して塊茎形成が誘導される。その後、細胞の再構築、拡大成長、

貯蔵物質の蓄積等が生じる (Zierer et al. 2021)。一方、キャッサバやサツマイモのような塊根形成に関する情報はジャガイモ塊茎形成と比較して少なく、貯蔵器官の誘導・発達のメカニズムを包括的に理解する必要がある。ジャガイモ塊茎形成に関するこれまでの報告と比較しながら、この項ではキャッサバ塊根形成の初期過程や塊根形成過程の分子機構についてこれまでの知見を整理して議論した。

塊根形成過程の分子機構を明らかにするため、タイの圃場で栽培されたキャッサバ塊根を塊根の直径をもとに区分けし、植物ホルモン、代謝物の変化を通常の根と比較した。植え付け後8週目や12週目のキャッサバから様々なサイズの塊根が得られる(図3)。ここでは、塊根になる前の直径1mm以下の

根、直径1~5mmの塊根、直径5mm以上の塊根と大まかに3つの区分に分けた(図3)。

植え付け後4週目に収穫した根には塊根がないため、通常の根とした(Utsumi et al. 2022b)。代謝物一斉分析の結果、植え付け後8週目や12週目から得られた全ての試料で澱粉が蓄積していた(図4A)。また、澱粉代謝の基質となるグルコース-6-リン酸、ショ糖、ウリジルニリン酸グルコースが、通常の根と比較して増加しており、塊根の直径の大小にかかわらず、澱粉合成が活性化されていた(Utsumi et al. 2022b)。植物ホルモンの量を測定した結果、全ての試料で活性型サイトカイニン(CK)(トランスゼアチン型[tZ]とイソペンテニルアデニン型[iP])の量が通常の根と比較して増加していた。直径1mmより大きい塊根中のオーキシシン(IAA)量が通常の根と比較して微増した。また、直径1mmより大きい塊根中のアスパラギン酸結合型オーキシシン(IAAsp)の量が大幅に減少した。また、直径1mm以下の根ではアブシジン酸(ABA)の量が通常の根と比較して増加していた(図4B)。

植物ホルモン解析結果と塊根形成との関係性を明らかにするため、キャッサバ無菌栽培の実験系を用いて植物ホルモン処理を行った。キャッサバ無菌栽培の根に、人工サイトカイニンの6-ベンジルアミノプリン(BAP)と人工オーキシシンのナフタレン酢酸(NAA)で処理すると、根が肥大する(図5A)。この性質を利用して、BAPとNAA処理時に、サリチル酸(SA)、JA、ABA、IAAspを添加して、根の肥大性を評価した。その結果、植物ホルモン解析結果と同様、BAPとNAA処理により組織培養の根が肥大するのに対して、BAPとNAA存在下でABA、IAAsp、JA処理により根の肥大が阻害された(図5B)。これらの結果、キャッサバ塊根形成には、CKやIAAが主要な役割を果たし、IAAsp、ABA、JAの一定レベル以上の蓄積が塊根形成を抑制していると考えられた(Utsumi et al. 2022b)(図5C)。

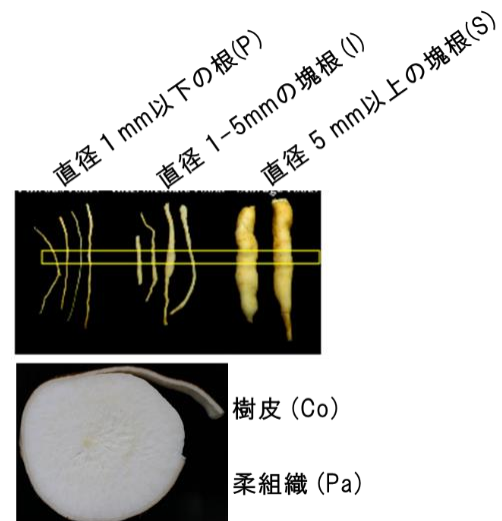


図3 本研究に用いたキャッサバの根

直径1mm以下の根(P)、直径1~5mmの塊根(I)、直径5mm以上(S)に分画した。また直径1~5mmと直径5mm以上の塊根をさらに樹皮(Co)と柔組織(Pa)に分画した。

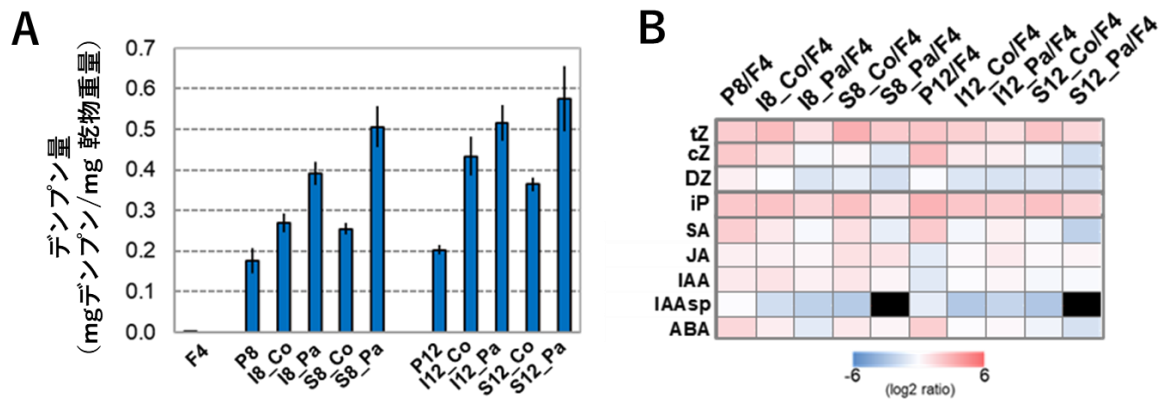


図4 塊根中のデンブ含有量と植物ホルモンの分析

A 塊根試料中のデンブ含有量を測定した結果、塊根試料のデンブ含有量は塊根の直径に関わらず通常の根 (F4)と比較して増加していた。

B 塊根試料中の植物ホルモンを分析して、通常の根 (F4)と比較した。本図では、活性型サイトカイニン (tZ, cZ, DZ, iP), サリチル酸 (SA), ジヤスモン酸 (JA), オーキシシン (IAA), アスパラギン酸結合型オーキシシン (IAA_{sp}), アブシジン酸 (ABA)を示した。全ての塊根試料中で tZ と iP 型サイトカイニン量が増加した。一方、直径 1~5mm と直径 5mm 以上の塊根中の IAA_{sp} 量が減少した。直径 1mm 以下の根 (P) の ABA 量が増加した。

塊根形成過程の成り立ちについて要約すると、キャッサバの生育過程で最初は細く長い根であるが、未知のシグナルを受けて、CK や IAA の作用により、維管束形成層の活動で生じた細胞から二次的な形成層ができ、柔組織が肥大成長して、細胞増殖を繰り返してさらに肥大していく。これが塊根になると考えている。一方、肥大成長を始めた根のうち、いくつかは肥大成長を止めてしまう。すべての根が塊根へと変化しないように ABA, IAA_{sp}, JA のような作用により根の肥大成長にブレーキをかけていると思われる。

ジャガイモ塊茎形成過程での植物ホルモンの作用に関して、CK と IAA はキャッサバ塊根形成と同様、塊茎形成に主要な役割を果たす (Kolachevskaya et al. 2015; Kolachevskaya et al. 2017)。ツベロン酸をはじめとする多くの JA 類が塊茎形成誘導活性を持つことが報告されている (Koda et al. 1991, Pelacho and Mingo-Castel 1991)。他の報告では、JA は濃度に応じて、塊茎形成に対して促進または阻害の双方の効果をもつようである (Abdala et al. 2002)。ジベレリン (GA) は塊茎初期過程に主要な役割を果たすとされている (Bou-Torrent et al. 2011; Kloosterman et al. 2007)。ABA は、比較的低いシヨ糖濃度下で組織培養植物由来の塊茎の生産を増加させる (Xu et al. 1998)。ジャガイモの場合、ABA や JA は塊茎形成に対してポジティブな作用をもつが、キャッサバ塊根形成に対してネガティブな作用をもつ (Utsumi et al. 2022b)。

塊根を誘導する分子機構に関して、未知の因子が細長い根から塊根への変化を誘導すると考えられるが、キャッサバ塊根形成を誘導する未知の因子はまだ分かっていない。ジャガイモ塊茎形成の誘導因子について、Florigen (FT) 用ホモログの *SELF-PRUNING 6A* (*SP6A*)

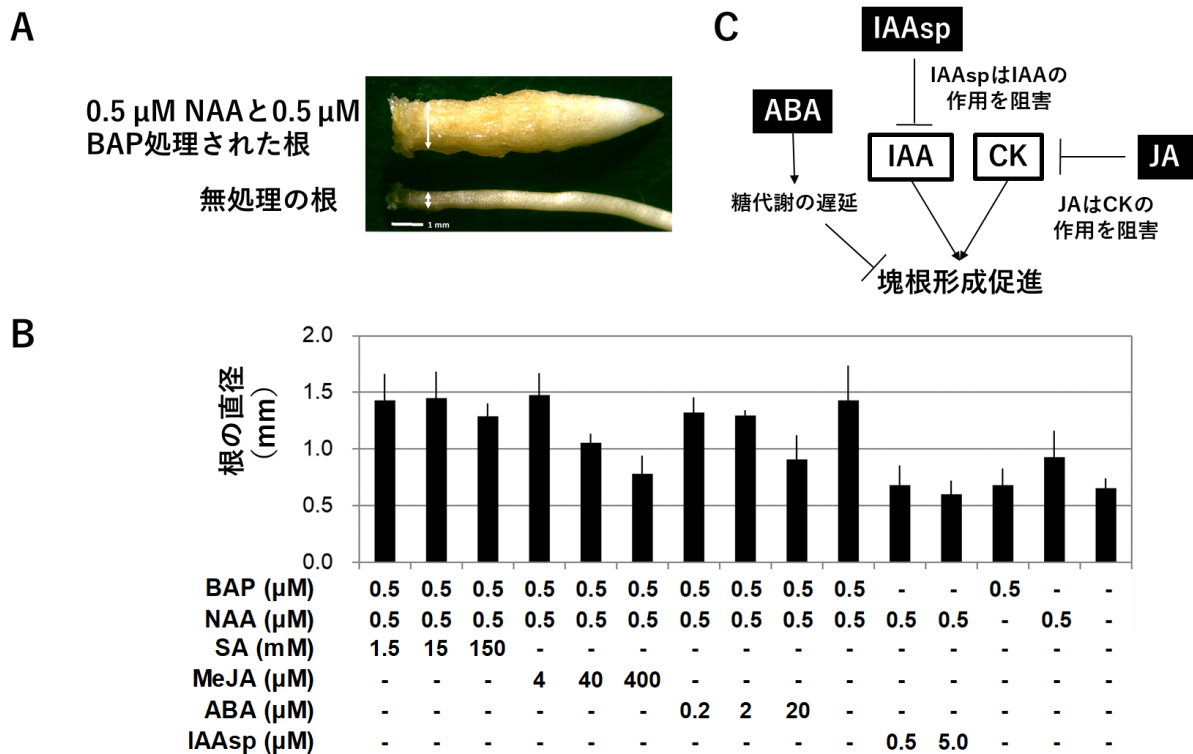


図5 無菌栽培の実験系による塊根形成実験

A 無菌栽培の実験系により植物ホルモンの影響を評価した。例えば、キャッサバ組織培養植物の根に6-ベンジルアミノプリン (BAP, 人工のサイトカイニン) とナフタレン酢酸 (NAA, 人工のオーキシジン) 処理すると根が肥大する。

B 無菌栽培の実験系を用いて、植物ホルモン処理による根の肥大への影響を解析した。BAP と NAA の存在下で、JA や ABA 処理により、根の肥大が阻害された。高濃度の SA 処理は根の肥大に影響を示さなかった。また、NAA と IAAAsp 処理により根の肥大性が NAA 単独の処理のものと比較して阻害された。

C 塊根形成時の植物ホルモンの相互作用モデル。IAA と CK が塊根形成を促進する。しかし、JA と IAAAsp は CK と IAA の作用を阻害する。一方、ABA 処理により糖代謝の遅延が生じて、結果として、塊根形成が阻害されると考えられた。

が知られている (Navarro et al. 2011)。ジャガイモ *Andigena* 品種のようなアンデス原産の野生のジャガイモ品種は短日条件下で塊茎を発達させる。短日条件のもと、SP6A 遺伝子の発現が葉で誘導され、SP6A タンパク質が地上部からストロン先端へ移動し、塊茎形成を誘導する (Navarro et al. 2011)。SP6A による塊茎誘導の分子メカニズムも調査され (Suárez-López et al. 2013, Navarro et al. 2015), 一つの例として、光受容体の phytochrome B (phyB) は長日シグナルに応答して、塊茎形成を抑制する (Jackson et al. 1998)。SP6A は 14-3-3 タンパク質や FD タンパク質 StFDL1 とタンパク質複合体を形成し、ジャガイモの塊茎形成を活性化させると考えられている (Teo et al. 2016)。一方、アンデス地域に起源をもつキャッサバの塊根形成も短日条件下で促進され、夜間中断により塊根形成が阻害される (Utsumi et al. 作成中)。キャッサバにも FT ホモログが存在するが、キャッサバ由来 FT 遺

伝子過剰発現キャッサバ系統の開花が促進され、塊根収量は減少することが分かった (Odipio et al. 2020)。キャッサバ塊根形成もジャガイモ塊茎形成のように日長依存的に制御されているのだが、その分子機構に関して、今後のさらなる研究が必要である。

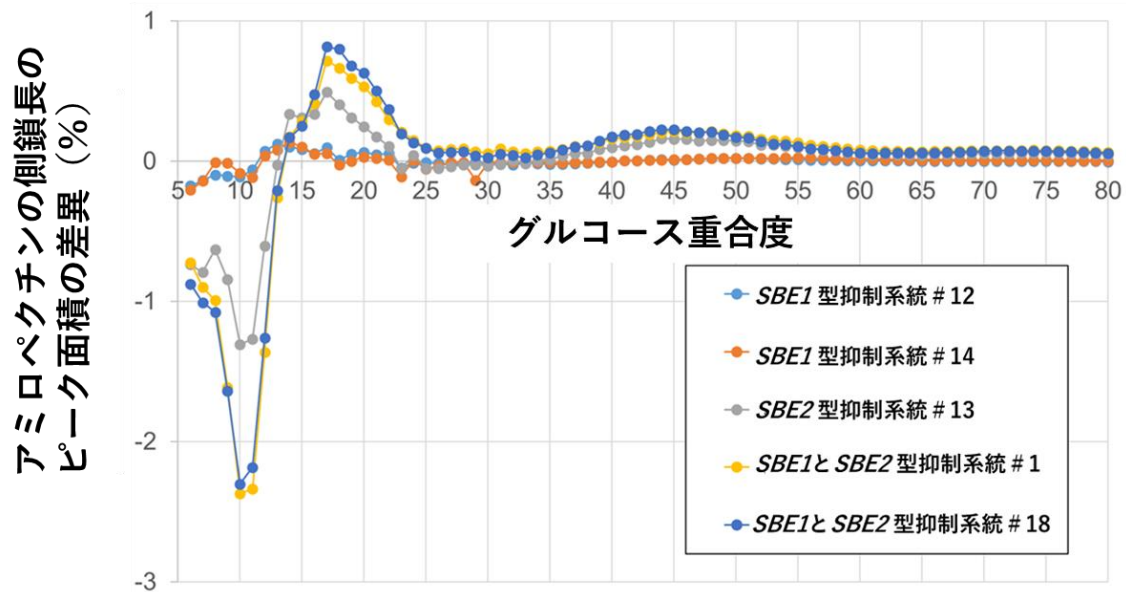


図6 野生株と抑制系統のアミロペクチンの側鎖長分布の差異

野生株のアミロペクチンの側鎖長分布をSBE抑制系統と比較した。*SBE2* 遺伝子抑制系統や *SBE1* と *SBE2* 遺伝子抑制系統のグルコース重合度 6-12 の短鎖の割合が野生株と比較して著しく減少した。

5. キャッサバ塊根中の澱粉生合成

塊根中の主要な産物は澱粉である。塊根生重量当たり、20~30%の澱粉が塊根中で合成される。キャッサバ澱粉の高いもちもち性は日本で好まれているが、澱粉の性質は植物起原により大きく異なっており、植物種ごとに解析を進める必要がある。産業上重要な位置にあるキャッサバ澱粉特性を改変し、ユニークな物性をもつ澱粉を作製することで、新素材として加工適性の幅が広がり、産業利用の幅も同時に広がることが期待される (中村 2006)。澱粉はアミロースとアミロペクチンという二種類のグルコースポリマーが密にパッキングされたものである。アミロースは澱粉粒結合型澱粉合成酵素 granule bound starch synthase (GBSS) により合成される。GBSS の機能を失うと、モチ性のキャッサバ澱粉になる (Seki et al. 2018)。一方、アミロペクチンは少なくとも澱粉枝づくり酵素 starch branching enzyme (SBE) ・澱粉合成酵素 starch synthase (SS) ・澱粉枝切り酵素 starch debranching enzyme (SDBE) から構築される。*SBE* はアミロペクチンの α -1,6-グルコシド結合の形成に関与し、*SBE* 遺伝子は1型と2型に分類される。遺伝子発現解析から、塊根中では *SBE1* 型、*SBE2a* 型、*SBE2c* 型の遺伝子が発現していることが分かった (Utsumi et al. 2022c)。上記に述べた遺伝子組換え技術により、これら *SBE* 遺伝子をそれぞれ個別に抑制したキャッサバ系統、および *SBE* 遺伝子全てを抑制したキャッサバ系統を作製し、その澱粉形質を評価した。すると、*SBE1* 型を抑制した系統の澱粉形質は野生株と変わらないが、*SBE2* 型を抑制した系統の

アミロース含有量は野生株よりも増加し、アミロペクチンの鎖長分布は大きく変化した (図 6)。塊根で発現する *SBE* 遺伝子すべてを抑制することにより、高アミロースキャッサバ澱粉となり、難消化性澱粉含有量が野生株の約 63 倍まで増加することが分かった (Utsumi et al. 2022c)。難消化性澱粉には、血糖応答性およびインスリン応答性の改善、腸機能の改善などといった生理作用が知られている。本研究成果は、生活の質や疾病リスクを低減する機能性食品の素材開発に向けたキャッサバ分子育種研究に貢献できると考えている。一方で、これら系統の塊根収量は野生株と比べて低く、塊根形成と澱粉生合成のトレードオフを知る上でも、重要な材料である。

6. 今後の展望

貯蔵組織形成の研究は、遺伝的な材料とハイスループットな系を併せ持つジャガイモのような植物を中心に精力的に行われてきた。我々はキャッサバ形質転換系の開発をはじめ、キャッサバ塊根誘導条件の解明と人工的な塊根形成系の確立、塊根形成時の植物ホルモン相互作用、さらには、キャッサバの塊根形成の日長依存性の解明等の知見を得てきた (Utsumi et al. 作成中)。また、キャッサバとジャガイモの貯蔵器官形成に共通する点と相違点を理解することも重要である。植物ホルモンの作用に関して、ABA や JA の作用がジャガイモ塊茎形成とキャッサバ塊根形成で異なることを明らかにした。近年の解析から、ジャガイモ花成と塊茎形成にはトレードオフの関係性を持つことが報告された (Plantenga et al. 2019)。キャッサバ *FT* 過剰発現による塊根形成への負の影響のこと (Odipio et al. 2020)、キャッサバの花成形成が塊根形成を阻害するような環境ストレス条件下で誘導することを考慮に入れると (Behnam et al. 2022; Tokunaga et al. 2022)、キャッサバ塊根形成と花成の関係性を明らかにする必要性も感じている。今後、塊根形成に基づくキャッサバ遺伝資源探索や遺伝資源のゲノムワイド関連解析による遺伝子探索、見つけた遺伝子の機能評価を迅速に行うためのハイスループットな形質転換系の開発や塊根となる根の可視化 (塊根になる根を特異的に採取するため) といった課題をクリアに出来れば、キャッサバにおける塊根の早熟性・肥大性に関わる遺伝子の同定につながると期待される。この研究成果を起点としてさらに研究が進展することで、効率的な塊根収量増産に向けた技術開発が可能になると考えられる。またキャッサバ澱粉開発から、社会還元型の研究へと変換できるゲームチェンジャーとなる分子育種技術の開発に見通しが立ってきたといえる。キャッサバ澱粉は日本国内でも他の澱粉と比較しても今後ますますその経済的利点や将来予想される気候変動の中で、重要性が高まると予想され、海外だけでなく国内のアカデミア機関や民間企業との研究分野横断型の産学官連携も重要である。研究活動を通して、持続可能な開発目標 (SDGs) の地球規模的課題への貢献を目指したい。

謝辞

本稿を執筆するにあたり Departamento de Genética Molecular de Plantas, Centro Nacional de Biotecnología の Salomé Prat 教授から貴重な助言を頂きました。この場を借りて感謝申し上げます。本稿の執筆の機会を与えて下さったオーガナイザーの皆様、及び日本植物学会、電子

出版物編集委員の皆様には深く感謝いたします。本稿で紹介した著者らの研究は JST e-ASIA 共同研究プログラム, 科学研究費助成事業, JST EIG CONCERT-Japan (JPMJSC16C4), JST/JICA SATREPS (JPMJSA1508), 理化学研究所 環境資源科学研究センターの助成を受けて行われました。

引用文献

- Abdala G, Castro G, Miersch O, Pearce D. (2002) Changes in jasmonate and gibberellin levels during development of potato plants (*Solanum tuberosum*). *Plant Growth Regul* 36: 121–126.
- Alfred OU, Ena M. (2014) Somatic embryogenesis in two Nigerian cassava cultivars (Sandpaper and TMS 60444). *J Evol Biol Res* 6: 9–12.
- 内海好規, 徳永浩樹, 石谷学, 関原明 (2022) *アグリバイオ* 6: 28–32.
- Behnam B, Higo A, Yamaguchi K, Tokunaga H, Utsumi Y, Selvaraj MG, Seki M, Ishitani M, Ceballos H, Lopez-Lavalle LAB et al. (2022) Correction to: Field-transcriptome analyses reveal developmental transitions during flowering in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Mol Biol* 109 : 823-823.
- Bou-Torrent J, Martinez-Garcia JF, Garcia-Martinez JL, Prat S. (2011) Gibberellin A1 metabolism contributes to the control of photoperiod-mediated tuberization in potato. *PLoS ONE* 6: e24458
- Bull SE, Owiti JA, Niklaus M, Beeching JR, Gruissem W, Van-derschuren H. (2009) Agrobacterium-mediated transformation of friable embryogenic calli and regeneration of transgenic cassava. *Nat Protocl* 4: 1845–1854.
- Chetty CC, Rossin CB, Gruissem W, Vanderschuren H, Rey MEC. (2013) Empowering biotechnology in southern Africa: establishment of a robust transformation platform for the production of transgenic industry-preferred cassava. *N Biotechnol* 30: 136–143.
- George EF, de Klerk G-J. (2008) The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients. In *Plant propagation by tissue culture 3rd edition*. Edited by: George EF, Hall MA, de Klerk G-J. Dordrecht, The Netherlands: Springer: 65–113.
- Hu W, Ji C, Shi H, Liang Z, Ding Z, Ye J, Ou W, Zhou G, Tie W, Yan Y et al. (2021) Allele-defined genome reveals biallelic differentiation during cassava evolution. *Mol Plant* 14:851–854.
- Jackson SD, James P, Prat S, Thomas B. (1998) Phytochrome B Affects the Levels of a Graft-Transmissible Signal Involved in Tuberization. *Plant Physiol* 117: 29–32.
- Kloosterman B, Navarro C, Bijsterbosch G, Lange T, Prat S, Visser RG, Bachem CW. (2007) StGA2ox1 is induced prior to stolon swelling and controls GA levels during potato tuber development. *Plant J* 52: 362–373.
- Koda Y, Kikuta Y, Tazaki H, Tsujino Y, Sakamura S, Yoshihara T. (1991) Potato tuber-inducing activities of jasmonic acid and related compounds. *Phytochem* 30: 1435–1438.
- Kolachevskaya OO, Alekseeva VV, Sergeeva LI, Rukavtsova EB, Getman IA, Vreugdenhil D, Buryanov YI, Romanov GA. (2015) Expression of auxin synthesis gene *tms1* under control of tuber-specific promoter enhances potato tuberization in vitro. *J Integr Plant Biol* 57: 734–744.

- Kolachevskaya OO, Sergeeva LI, Floková K, Getman IA, Lomin SN, Alekseeva VV, Rukavtsova EB, Buryanov YI, Romanov GA. (2017) Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones. *Plant Cell Rep* 36: 419–435.
- Murashige T, Skoog FK. (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473–497.
- 中村保典 (2006) デンプンメタボリックエンジニアリング. *化学と生物* 44 : 155-162.
- Navarro C, Abelenda JA, Cruz-Oro E, Cuéllar CA, Tamaki S, Silva J, Shimamoto K, Prat S. (2011) Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. *Nature* 478: 119–122.
- Navarro C, Cruz-Oro E, Prat S. (2015) Conserved function of FLOWERING LOCUS T (FT) homologues as signals for storage organ differentiation. *Curr. Opin. Plant Biol* 23: 45–53.
- Nyaboga EN, Njiru JM, Tripathi L. (2015) Factors influencing somatic embryogenesis, regeneration, and Agrobacterium-mediated transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar TME14. *Front Plant Sci* 6: 411.
- Odipto J, Getu B, Chauhan RD, Alicai T, Bart R, Nusinow DA, Taylor NJ. (2020) Transgenic overexpression of endogenous FLOWERING LOCUS T-like gene MeFT1 produces early flowering in cassava. *PLoS ONE* 15: e0227199.
- Pelacho AM, Mingo-Castel AM. (1991) Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro. *Plant Physiol* 97: 1253–1255.
- Plantenga FDM, Bergonzi S, Abelenda JA, Bachem CWB, Visser RGF, Heuvelink E, Marcelis LFM. (2019) The tuberization signal StSP6A represses flower bud development in potato. *J Exp Bot* 70: 937–948.
- Seki M, Tokunaga H, Utsumi C, Okamoto Y, Moriya E, Vu TA, Sakamoto A, Takei Y, Sakurai T, Endo M, et al. (2018) Advancement of Asian Cassava Molecular Breeding towards SDGs. Proceedings of the 18th Science Council of Asia (SCA) Conference "Role of Science for Society: Strategies towards SDGs in Asia", Dec. 5-7, 2018, Tokyo, Japan, Theme 10, 6.
- Suárez-López P. (2013) A critical appraisal of phloem-mobile signals involved in tuber induction. *Front Plant Sci*. 4: 253.
- Taylor N, Chavarriaga P, Raemakers K, Siritunga D, Zhang P. (2004) Development and application of transgenic technologies in cassava. *Plant Mol Biol* 56: 671–688.
- Teo C-J, Takahashi K, Shimizu K, Shimamoto K, Taoka K-i. (2016) Potato Tuber Induction is Regulated by Interactions Between Components of a Tuberigen Complex. *Plant Cell Physiol* 58: 365–374.
- Tokunaga H, Quynh DTN, Anh NH, Nhan PT, Matsui A, Takahashi S, Tanaka M, Anh NM, Van Dong N, Ham LH et al. (2022) Field transcriptome analysis reveals a molecular mechanism for cassava-flowering in a mountainous environment in Southeast Asia. *Plant Mol Biol* 109: 233-248.

- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Ha VT, Matsui A, Takahashi S, Seki M. (2017) Formation of friable embryogenic callus in cassava is enhanced under conditions of reduced nitrate, potassium and phosphate. *PLoS ONE* 12: e0180736.
- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Okamoto Y, Takahashi S, Huong TT, Nguyen AV, Van Dong N, Tokunaga H, Taylor N et al. (2022a) *Agrobacterium*-mediated cassava transformation for the Asian elite variety KU50. *Plant Mol Biol* 109: 271–282.
- Utsumi Y, Tanaka M, Utsumi C, Takahashi S, Matsui A, Fukushima A, Kobayashi M, Sasaki R, Oikawa A, Kusano M et al. (2022b) Integrative omics approaches revealed a crosstalk among phytohormones during tuberous root development in cassava. *Plant Mol Biol* 109: 249–269.
- Utsumi Y, Utsumi C, Tanaka M, Takahashi S, Okamoto Y, Ono M, Nakamura Y, Seki M (2022c). Suppressed expression of starch branching enzyme 1 and 2 increases resistant starch and amylose content and modifies amylopectin structure in cassava. *Plant Mol Biol* 108: 413–427.
- Wang W, Feng B, Xiao J, Xia Z, Zhou X, Li P, Zhang W, Wang Y, Møller BL, Zhang P et al. (2014) Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat Commun* 5: 5110.
- Xu X, van Lammeren AAM, Vermeer E, Vreugdenhil D (1998) The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol* 117:575–584.
- Zainuddin IM, Schlegel K, Gruissem W, Vanderschuren H. (2012) Robust transformation procedure for the production of transgenic farmer-preferred cassava landraces. *Plant methods* 8: 24.
- Zierer W, Rüscher D, Sonnewald U, Sonnewald S. (2021) Tuber and Tuberous Root Development. *Annu Rev Plant Biol* 72: 551–580.