

出國報告（出國類別：研究）

農委會農業菁英培訓計畫  
高溫逆境對水稻產量與米質之影響

服務機關：高雄區農業改良場

姓名職稱：張芳瑜 助理研究員

派赴國家：日本

出國期間：107年10月1日至110年9月24日

報告日期：110年12月3日

## 摘要

近年來氣候變遷，水稻穀粒充實期溫度逐年上升，高溫對水稻產量及米質影響已不容小覷。臺灣米食主要以粳稻為主，然而臺灣位處之地理環境為粳稻生產南端，近年來氣候暖化加重了粳稻在臺灣生產之挑戰。日本與臺灣米食皆以粳稻為主，過去高溫對日本稻作生產環境已造成威脅，許多地區陸續投入水稻耐高溫之研究，許多地區之農業試驗場所也開發出耐熱水稻品種。高雄區農業改良場為臺灣最南端之水稻試驗場所，一期作或二期作之穀粒充實期溫度逐年上升。尤其高夜溫對水稻產量的影響較高日溫嚴重。透過農委會菁英培訓計畫，前往日本愛媛大學攻讀博士學位，並與九州沖繩農業研究中心合作進行水稻高溫逆境之研究，加強臺日雙方之合作交流。由於高夜溫對產量的影響程度大高日溫，本研究針對高夜溫下穀粒充實不良議題進行探討。已發現高夜溫下，水勢的下降促使胚乳細胞進行滲透壓調節，使細胞內代謝物質累積，影響澱粉與細胞壁合成，導致細胞擴張受阻，最終影響細胞與穀粒大小導致粒重下降。此外，高夜溫下亦觀察到白堊質形成與胚加速生長的現象。透過代謝體分析發現高夜溫下胚乳的抗壞血酸與脫氫抗壞血酸的比率是調控白堊質形成的關鍵，而胚的穀胱甘肽與氧化型穀胱甘肽比率提高可能影響胚的休眠性而促進胚的生長。

## 目次

|    |                        |    |
|----|------------------------|----|
| 一、 | 研究目的·····              | 1  |
| 二、 | 高夜溫影響胚乳細胞擴張機制·····     | 3  |
| 三、 | 高夜溫導致白堊質發生與促進胚的發育····· | 7  |
| 四、 | 總結·····                | 10 |
| 五、 | 心得與建議·····             | 11 |
| 六、 | 參考文獻·····              | 12 |
| 七、 | 附圖·····                | 16 |

## 一、 研究目的

臺灣米食主要以粳稻為主，然而臺灣位處之地理環境為粳稻生產南端，近年來氣候暖化加重了粳稻在臺灣生產之挑戰。國際水稻研究中心(IRRI)相關研究指出，日低溫上升對稻米產量影響最大(Peng et al.,2004)。森田等人在 2005 年的研究報告指出，高夜溫對粒重與抑制胚乳細胞擴張的影響大於高日溫 (Morita et al.,2005)，然而當時對於影響細胞擴張機制仍不清楚(圖 1 與 Morita, 2009)。日本與臺灣米食皆以粳稻為主，過去高溫對日本稻作生產環境已造成威脅，許多地區陸續投入水稻耐高溫之研究，許多地區之農業試驗場所也開發出耐熱水稻品種。高雄區農業改良場為臺灣最南端之水稻試驗場所，我們觀察到 1987 年到 2017 年一期作或二期作之穀粒充實期溫度逐年在上升，甚至夜晚溫度也是呈現逐年上升的趨勢(張與胡，2018)。

高雄場於 2014 年前往日本九州地區進行水稻耐熱試驗交流，其中包含九州沖繩農業研究中心。同年邀請該中心學者前來本場進行水稻高溫逆境相關專題演講。於 2015 年及 2016 年持續與九州沖繩農業研究中心進行交流。九州沖繩農業中心於 2015 年建置了「先端的溫暖化適應技術開發實驗設施」，裡面包含精密的環控設備可進行高溫逆境生理研究，其中包括由愛媛大學野並教授實驗室所開發的 Picolitre pressure-probe electrospray-ionization mass spectrometry (PicoPPESI-MS)可以進行即時代謝體分析。

Cell pressure probe 是一個可以直接量測細胞膨壓的設備(Hüsken et al., 1978)。野並教授實驗室將 cell pressure probe 與 Orbitrap 質譜分析儀結合成為 Picolitre pressure-probe electrospray-ionization mass spectrometry (PicoPPESI-MS)(在 Nakashima et al.,2016 稱為 internal electrode capillary electrospray-ionization mass spectrometry, IEC-PPESI-MS)。該套設備與九州沖繩農業研究中心的環控生長室結合(圖 2)，可使待測樣品在不離開母體情況下以 cell pressure probe 取細胞液進行代謝體分析。在本研究成果發表前，PicoPPESI-MS 已應用於水稻高溫逆境下背白粒生理機制(Wada et al., 2019)與花粉稔實率(直接取單一花粉的細胞液)(圖 3)相關研究(Wada et al., 2020)。

本次透過農委會菁英培訓計畫，於 2018 年 10 月至 2021 年 9 月在日本愛媛大學攻讀博士學位，並與九州沖繩農業研究中心合作進行水稻高溫逆境之研究，加強臺日雙方之合作交流。

## 二、高夜溫影響胚乳細胞擴張機制

高溫逆境對水稻品質與產量均會產生衝擊，其中高夜溫對產量、粒重的衝擊高於高日溫(Peng et al.,2004；Morita et al.,2005)。因此，本研究著重於高夜溫對水稻之影響。

同一顆水稻穎果在遭受高夜溫逆境下的反應並非是所有部位都相同(圖 4)，例如，只有特定區塊轉成白垩質現象，意味著此生理反應是具有區域性(site-specific)。因此一套可以針對特定區塊分析的系統有助於高溫逆境生理的研究。本實驗配合九州沖繩農業研究中心的環控生長室及 picoPPESI-MS 系統來進行高夜溫研究(圖 5 與圖 6)。

水稻穎果的長度主要是由細胞數決定(細胞分裂)，但腹背側的胚乳細胞擴張期從開花後 5 天開始到開花後 15 天幾乎停止，側部胚乳細胞擴張速度到開花後 15 天達最高，後續緩慢擴張持續到成熟期(Hoshikawa 1967)。然而高夜溫與高日溫導致胚乳細胞擴張受阻的原因尚不清楚(Morita et al.,2005)。

除了受源關係(Sink-source relationship)一直是探討水稻產量的重要理論(Yoshida,1981)，水在植物生長亦扮演重要角色。植物細胞擴張需要下列幾項過程：(1)細胞內外的水勢(water potential)差異驅使水分吸收進入細胞、(2)膨壓產生、(3)細胞壁的延展與新合成 (Kramer and Boyer, 1995;Taiz and Zeiger, 2002)。由於細胞擴張需要水分吸收與細胞壁的延展，誘導生長水勢(Growth-induced water potential,  $\Delta\Psi_G$ )與有效生長膨壓(Growth-effective turgor)均為與生長速度(G)有關之參數。誘導生長水勢是指供水處組織部位(water source，例如木質部)的水勢( $\Psi_o$ )與生長處的組織器官的水勢( $\Psi_w$ )之間的差異(Molz and Boyer, 1978; Boyer, 1985; Nonami and Boyer, 1987; Nonami and Boyer, 1993; Nonami et al., 1997)。誘導生長水勢與生長速度的關係式如式 1。

$$G = L(\Delta\Psi_G) = L(\Psi_o - \Psi_w) \quad (\text{式 1})$$

其中 G 為生長速度(單位  $s^{-1}$ )，L 是 hydraulic conductance (單位  $s^{-1} \text{ MPa}^{-1}$ )， $\Delta\Psi_G$  是誘導生長水勢(單位 MPa)， $\Psi_o$  是供水組織部位水勢(單位 MPa)， $\Psi_w$

是生長組織或器官之水勢(單位 MPa)。在本研究裡  $\Psi_o$  指的是穗水勢(穗裡木質部的 matrix potential)，而  $\Psi_w$  則是穎果水勢(Kernel water potential)。有效生長膨壓是指膨壓與生長所需的臨界膨壓之差異，與生長速度的關係式如式 2(Green et al., 1971; Ray et al., 1972)。

$$G = m (\Psi_p - Y) \quad (\text{式 2})$$

其中  $G$  為生長速度(單位  $s^{-1}$ )， $m$  是細胞壁延展性(單位  $s^{-1} \text{MPa}^{-1}$ )， $\Psi_p$  是膨壓(單位 MPa)， $Y$  是生長所需的臨界膨壓(單位 MPa)。式 1 和式 2 最後可以整合成式 3 (Nonami, 2001)，意指著生長速度由誘導生長水勢與有效生長膨壓調控。

$$\frac{G}{L} + \frac{G}{m} = (\Psi_o - \Psi_w) + (\Psi_p - Y) \quad (\text{式 3})$$

近年來也發現高夜溫下的 vapor pressure deficit (VPD)現象影響作物的生理反應(Sadok and Jagadish, 2020)。然而過去的文獻中也觀察到，短期的焚風(高溫乾燥風，高 VPD，小於 24 小時)會使稻穗的水勢下降且穀粒外觀品質變差，但粒重無影響(Wada et al., 2011)。若高 VPD 持續超過 48 小時，粒重將變輕(Wada et al., 2014)。由此可見，探討高夜溫逆境下粒重下降可從水分生理觀點著手。因此，測定植株水分狀態將有助於探討細胞擴張的議題。

本計畫的材料採用日本越光品種材料以盆栽種植，單本植去除分蘖僅保留主桿，在 5 DAH (Days after heading)時進行逆境處理，以日夜溫 28/22 °C、28/34 °C 進行，處理到 15 DAH，材料均移回 28/22°C 直到成熟期。配合碳 13 標定、細胞膨壓、穗水勢、穀粒水勢、代謝體分析、穀粒組織切片、粒型與粒重分析 (詳見 Wada et al., 2021 材料與方法)。

本試驗結果顯示，高夜溫逆境處理下的糙米粒重明顯下降、粒寬與穀粒體積明顯變小，但粒長與粒厚無明顯差異(Wada et al., 2021 Table 1)。部分區域的胚乳細胞擴張受到抑制 (Wada et al., 2021 Fig. 1E and S1)。高夜溫逆境亦導致白堊質現象(Wada et al., 2021 Fig. 1B)。為了排除白堊質的影響因子，僅針對細胞擴張機制探討，選定高夜溫處理下細胞變小但沒白堊質產生之區塊(糙米側面從胚乳中心到表皮 30-50%距離(Wada et al., 2021 Fig. 1E)，進行細

胞膨壓測定與即時代謝分析(Wada et al., 2021 Fig. 3)。

由於受源關係(sink-source relation)長久以來是探討水稻產量的重要理論。從碳 13 標定分析結果看來，高夜溫逆境下，無論白天和夜晚都加速碳水化合物從劍葉運送到穗及強勢穎果內(Wada et al., 2021 Fig. 2)，表示穀粒充實初期受源關係並無問題。由此結果亦暗示，細胞擴張可能是受植株水分狀態影響。

植株水分狀態測量是利用 pressure probe 測定細胞膨壓(圖 6)、以 pressure chamber 測定穗的水勢(圖 7)、以 isopiestic psychrometer 測定穎果的水勢(圖 8)。從水分狀態分析結果看來，穗與穎果的水勢均明顯下降，滲透勢能(osmotic potential)下降，而膨壓(turgor)卻維持(Wada et al., 2021 Table 2)，表示逆境下胚乳細胞進行滲透壓調節(Osmotic adjustment)。此外，高溫逆境下之誘導生長水勢(growth-induced water potential)也明顯下降(Wada et al., 2021 Table 2)。由於由於誘導生長水勢會影響生長速度(Nonami, 2001)。由此可見，胚乳細胞擴張受到誘導水勢下降的影響。此外，滲透勢能下降的結果也表示細胞內約有 1.43 倍物質累積。滲透壓調節為細胞因應缺水逆境所採取之策略(Kramer and Boyer, 1995; Taiz and Zeiger, 2002)。細胞進行滲透壓調節過程中藉著累積物質，降低滲透勢能，驅使細胞的水勢下降來獲取水分吸收並維持膨壓，然而此調節過程導致的質累積現象往往會影響某些生理代謝合成途徑(Kramer and Boyer, 1995)。

為了了解高夜溫影響哪些生理代謝途徑，以 picoPPESI-MS 針對細胞擴張抑制的區域進行即時代謝體分析(圖 5 與 Wada et al., 2021 3A)。從代謝體結果顯示，夜晚期間，高夜溫處理的胚乳細胞有較多的物質累積；其中，細胞壁合成與澱粉合成途徑的相關代謝物明顯被累積在細胞(Wada et al., 2021 Fig. 4A)。植物細胞擴張過程，除了細胞需要吸取水分，後續細胞壁的延展性與合成亦是重要的調控步驟(Kramer and Boyer, 1995)。反觀白天期間高夜溫處理組的胚乳細胞累積物質較夜晚少，細胞壁合成途徑和對照組無明顯差異(Wada et al., 2021 Fig. 4B)，表示高夜溫下細胞壁與澱粉合成受到短暫的影響，進而影響細胞擴張。

綜合以上試驗結果，高夜溫逆境下，胚乳細胞為了進行透壓調節而暫時抑制細胞壁與澱粉的合成(即時代謝分析結果)，並且加速了碳水化合物從劍葉運送到穀粒內(碳 13 標定試驗結果)，使滲透勢能下降並維持細胞膨壓，讓細胞的水勢下降(水分生理結果)，以避免水從細胞流失並從細胞外爭取水進入細胞內。此外，伴隨著誘導生長水勢下降，使夜晚的生長速度下降，最後導致細胞變小，影響穀粒體積和粒重(圖 9.與 Wada et al., 2021 Fig.5)。

針對高夜溫影響水稻胚乳細胞擴張機制的研究已在本年度(2021 年)發表在科學報告(Scientific Reports，2020 年影響因子為 4.397)。詳細請參考：  
Hiroshi Wada\*, Fang-Yu Chang\*, Yuto Hatakeyama, Rosa Erra-Balsells, Takuya Araki, Hiroshi Nakano & Hiroshi Nonami. Endosperm cell size reduction caused by osmotic adjustment during nighttime warming in rice. *Scientific Reports*, 11:4447. (2021) DOI: 10.1038/s41598-021-83870-1

\*相同貢獻

高夜溫影響胚乳細胞大小的現象最初由 Morita 的團隊發現(Morita et al., 2005)，但當時機制仍不明。雖然 2005 年後續有不少水稻高夜溫相關研究文獻，但無任何一篇針對細胞擴張進行探討，而本研究為第一篇延續 Morita 等人 2005 年之研究了解高夜溫抑制細胞擴張之機制。

### 三、 高夜溫導致白堊質發生與促進胚的發育

高夜溫除了導致胚乳細胞擴張受阻外，尚有白堊質形成與胚加速生長之現象(Wada et al.,2021 Fig.1)。由於同白堊質並非均勻表現在整顆穀粒，高夜溫處理下的種子是否在透明區塊與白堊質區塊兩者之間有某些生理代謝的臨界值存在，是本研究欲探討的重點之一。

前人研究顯示高溫逆境會促使油菜籽在收穫前的發芽率提高(Brunel-Muguet et al., 2015)，且高溫下使發育中水稻種子內的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量、ABA 降解基因、GA 合成基因及澱粉水解酶的表現量提升，整體的生理反應類似發芽的過程(Suriyasak et al., 2017)。而本試驗下胚被促進生長是否與降低休眠性有關，或是否與基白粒與基背白粒形成有關，亦為本研究討論的重點。除了 ABA 與 GA 調控種子休眠與發芽，許多文獻也指出過氧化物(Reactive oxygen species, 以下簡稱 ROS)亦是打破種子休眠與調控種子發芽的重要因素。抗壞血酸(Ascorbate ,ASC)與穀胱甘肽(glutathione, GSH)是重要的 ROS 清除劑(Noctor and Foyer,1998)。有相關研究在發芽種子的胚乳和胚中觀察到 GSH 上升和氧化型穀胱甘肽(Oxidize glutathione, GSSG)下降的現象(Tommasi et al., 2001)。然而探討 ASC 與 GSH 對發育中種子的休眠性的研究幾乎很少。因此，了解高夜溫下 ASC-GSH cycle (Halliwell-Asada cycle)如何影響發育中的胚生長是本研究重要的課題。

同樣採用日本越光品種作為試驗材料，越光具耐穗上發芽的特性(Kobayashi et al.,2018)。以盆栽種植，單本植去除分蘖僅保留主桿，在 5 DAH (Days after heading)時進行逆境處理，以日夜溫 28/22 °C、28 /34 °C 進行，處理到 15 DAH，材料均移回 28/22°C 直到成熟期。本試驗在 11DAH 時選定 3 個部位：呈現透明狀的中間外側胚乳(MOE)、呈現白堊質的基部外側胚乳(BOE)與胚(EMB)進行分析。此時，胚已完成細胞分裂時期 (Hoshikawa, 1989; Itoh et al., 2005)，進行代謝體分析，並配合組織切片與乾物重的調查 (詳見 Chang et al.,2021 材料與方法)。

本試驗結果顯示，高夜溫處理下，優勢穎果的成熟外觀品質皆無完整粒，幾乎為基白粒或背白加基白粒(圖 5 與 Chang et al.,2021 Fig.1)。高夜溫下，胚的乾物重、胚與種子的比例、胚細胞與胚組織的面積大小均比對照組高 (Chang et al.,2021 Fig.2)。此外，高夜溫處理下的基部的胚乳細胞有較多空隙 (Chang et al.,2021 Fig. S2) 與先前高日溫下背白粒的研究類似(Wada et al., 2019)。而這些空隙為 protein-storage vacuoles(PSV)結構，推測這些空隙可能儲藏水分，進而促使胚細胞生長(Wada et al., 2019; Chang et al.,2021)。

代謝體分析結果顯示，高夜溫下 MOE 與 BOE 的糖解作用與呼吸作用呈現相反反應，且高夜溫處理的 BOE 無氧呼吸明顯被提升(Chang et al.,2021 Fig. 5)。過去有研究指出，高溫逆境影響水稻種子裡呼吸作用的電子傳遞鏈相關基因表現(Yamakawa and Hakata, 2010)，對照本研究結果，推測 BOE 之粒腺體功能可能受到破壞。

細胞進行嘌呤降解通常是為了要循環利用氮素，而此過程在 peroxisome 與 ER 裡進行(Watanabe and Sakamoto,2018)。Allantoin 為嘌呤降解過程於 peroxisome 產生的中間產物，而 allantoin 亦具有抗氧化物之功效(Watanabe and Sakamoto,2018)。在本實驗中觀察到胚細胞有 allantoin 累積現象(Chang et al.,2021 Fig. 5)，推測此反應是為了因應氧化逆境之調控。

整體而言 ASC-GSH cycle 在高夜溫處理下的表現較對照組高，且呈現 EMB>BOE>MOE 之趨勢，除了 GSSG 的表現(Chang et al.,2021 Fig. 4)。高夜溫下 MOE 和 BOE 的抗壞血酸與脫氫抗壞血酸比率(ASC/DHA)均高於對照組，但胚的高夜溫處理組與對照組沒有差異。其中又以高夜溫處理的 MOE 表現最高(Chang et al.,2021 Fig. 4D)。因 MOE 與 BOE 在高夜溫處理下，分別呈現為透明與白堊質，表示兩者之間的 ASC/DHA 有臨界值，可以調控高溫下白堊質之表現。

高夜溫處理的胚細胞則有較高的 GSH/GSSG 比率 (Chang et al.,2021 Fig. 4G)。過去曾有發現水稻種子在高溫逆境下 GSH/GSSG 比率提高的現象 (Yamakawa and Hatake,2010)，但該研究是以整顆種子分析，而本研究僅有高

夜溫處理下的胚有 GSH/GSSG 提升現象，配合上述的 ASC/DHA 在胚乳的表現，再次顯示 picoPPESI-MS 可以有效區分不同部位代謝的能力。

此外，本試驗亦觀察到高夜溫處理的 BOE 裡有較多醣類累積現象(Chang et al.,2021 Table S2)。調控水稻穗上發芽基因 *PHS8* 的研究指出，胚乳若有較多醣類累積時會影響 ABA 的訊息傳遞，誘導穗上發芽能力(Du et al.,2018)。另一個表現在胚負責調控水稻穗上發芽的 *PHS9* 基因則是一個 CC type glutaredoxin，該基因會受到 ABA 與 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的調控 (Xu et al.,2019)。扣合上述觀察到的 GSH/GSSG 現象，本試驗處理下，胚的休眠性可能受到影響，進而導致胚的生長加速(Chang et al.,2021 Fig. 2)。綜合前面章節所描述的細胞擴張之研究，高夜溫對水稻穀粒充實期的生理反應可以歸納為圖 10(Chang et al., 2021 Fig.6)。

本研究已在本年度(2021)發表 Environmental and Experimental Botany 期刊 (2020 年影響因子為 5.36)。詳細請參考：

Fang-Yu Chang, Yuto Hatakeyama, Hiroshi Nonami, Rosa Erra-Balsells, Takuya Araki, Hiroshi Nakano, Hiroshi Wada. Metabolic coordination of rice seed development to nighttime warming: In-situ determination of cellular redox states using picolitre pressure-probe electrospray-ionization mass spectrometry.

Environmental and Experimental Botany, 188:104515. (2021) DOI:

10.1016/j.envexpbot.2021.104515

#### 四、 總結

高夜溫(High night temperature, HNT) 容易影響水稻產量與品質。穀粒充實期間遭受高夜溫逆境會導致胚乳細胞擴張受阻、白堊質形成與加速胚的發育生長之現象，使粒重與外觀品質下降。然而，鮮少研究能說明其中的機制。在本研究中，我們透過碳 13 標定、水分狀態分析及利用 picoPPESI-MS 直接在發育中的越光種子的胚與胚乳進行代謝體分析。高夜溫處理下，植株水勢下降，且因滲透壓調節機制使部分胚乳細胞擴張受阻。相較於胚乳細胞擴張受阻，高夜溫反而促進胚的生長。高夜溫處理下的胚其 GSH/GSSG 比率提高，而胚乳則是 ASC/DHA 比率提高，且高夜溫處理下仍呈現透明狀的區塊有最高的 ASC/DHA 表現。其結果顯示 GSH/GSSG 調控了胚在高溫逆境的生長及可能影響其休眠性，另外，ASC/DHA 應存在某個臨界值可以調控白堊質的形成。

整體來講，內部胚乳細胞因主動進行物質累積，使細胞壁與澱粉合成受到短暫地抑制，導致部分胚乳細胞擴張受阻而降低粒重。而基白粒的形成與胚的加速生長的關聯性應是穀粒空間上的氧化還原狀態所致。本研究的結果也強調出 picoPPESI-MS 的代謝體分析可以幫助我們應了解作物在氣候變遷下的生理反應。

## 五、心得與建議

在此深深地感謝高雄區農業改良場各主管的支持以及農委會的農業菁英培訓計畫，讓本人有此機會進行此研究，並從中學習到不同文化的研究精神。也感謝愛媛大學的老師、學生及九州沖繩農業研究中心在試驗上的支持、協助以及鼓勵。研究過程中，遇到不少挫折甚至多少有文化差異問題，後續加上留學中途遇到 COVID-19 疫情爆發，日本曾一度發布全國緊急宣言。COVID-19 改變了學校與日常生活的型態，許多討論與實驗室會議、課程都是線上進行，在線上討論過程難免會有溝通障礙，所幸老師和合作團隊一路的鼓勵與指導方向，在留學期間一切平安，且順利完成國際期刊發表、口試(圖 11)、最終取得學位(圖 12)。留學期間也深深感受到日本對於臺灣的友善。從留學過程中觀察到日本的研究環境，無論外在環境與周邊資源與經費如何，研究人員每個人都先專注在自己本身的特長與強項，甚至每個助理也是各司其職。一旦進行合作時，發揮每個人的角色但不衝突，無論是個人戰與團體戰都可表現亮眼，符合日本文化中「和」的精神。除了「和」，日本文化裡也很重視「美」學，學習將學術研究發表與美學結合，也從中收穫不少。此外，在參加日本米質學會的研討會過程中(僅參與無發表)，會議上幾乎有半數是來自中國大陸同一省分的水稻研究人員。當時給本人相當大的衝擊，因為臺灣各試驗改良場所的水稻相關研究人員加總起來都沒那麼多。現在是個資訊、知識與技術爆發的時代，尤其氣候變遷持續在進行中，未來糧食生產只會有更大挑戰。研究是很長遠的路，我們需要合作、需要持續地投入才能因應氣候變遷下糧食生產的問題。

## 六、 參考文獻

張芳瑜,胡智傑, 2018. 氣候變遷下水稻高雄 145 號之栽培調適. 高雄區農業專訓.105, 8-9

Boyer, J.S., 1985. Water transport. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36, 473-516.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.36.060185.002353>

Brunel-Muguet, S., D'Hooghe, P., Bataille, M.P., Larre, C., Kim, T.H., Trouverie, J., Avice, J.C., Etienne, P., Durr, C., 2015. Heat stress during seed filling interferes with sulfur restriction on grain composition and seed germination in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Front. Plant Sci.* 6, 213.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00213>

Chang, F.Y., Hatakeyma, Y., Nonami, H., Erra-Balsells, R., Araki, T., Nakano, H., Wada, H., 2021. Metabolic coordination of rice seed development to nighttime warming: in-situ determination of cellular redox states using picolitre pressure-probe electrospray-ionization mass spectrometry. *Environ. Exp. Bot.* 188, 104515. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104515>

Du, L., Xu, F., Fang, J., Gao, S., Tang, J., Fang, S., Wang, H., Tong, H., Zhang, F., Chu, J., Wang, G., Chu, C., 2018. Endosperm sugar accumulation caused by mutation of *PHS8/ISA1* leads to pre-harvest sprouting in rice. *Plant J.* 95, 545-556. <https://doi.org/10.1111/tpj.13970>

Green, P.B., Erickson, R.O., Buggy, J., 1971. Metabolic and physical control of cell elongation rate: *in vivo* studies in *Nitella* *Plant Physiol.* 47, 423-430.  
<https://doi.org/10.1104/pp.47.3.423>

Hoshikawa, K., 1967. Studies on the development of endosperm in rice: 2. process of endosperm tissue formation with special reference to the enlargement of cells (in Japanese with English abstract). *Jpn. J. Crop Sci.* 36, 203-209.  
[https://doi.org/10.1626/jcs.36.3\\_203](https://doi.org/10.1626/jcs.36.3_203)

Hoshikawa, K., 1989. *The Growing Rice Plant: An Anatomical Monograph.* Nosan Gyoson Bunka Kyokai, Tokyo.

- Hüsken, D., Steudle, E., Zimmermann, U., 1978. Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants. *Plant Physiol.* 61, 158-163. <https://doi.org/10.1104/pp.61.2.158>
- Itoh, J., Nonomura, K., Ikeda, K., Yamaki, S., Inukai, Y., Yamagishi, H., Kitano, H., Nagato, Y., 2005. Rice plant development: from zygote to spikelet. *Plant Cell Physiol.* 46, 23-47. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci501>
- Kobayashi, A., Hori, K., Yamamoto, T., Yano, M., 2018. Koshihikari: a premium short-grain rice cultivar – its expansion and breeding in Japan. *Rice* 11, 15. <https://doi.org/10.1186/s12284-018-0207-4>
- Kramer, P.J., Boyer, J.S., 1995. *Water Relations of Plant and Soils*. Academic Press, Inc, San Diego, USA.
- Molz, F.J., Boyer, J.S., 1978. Growth-induced water potentials in plant cells and tissues. *Plant Physiol.* 62, 423-429. <https://doi.org/10.1104/pp.62.3.423>
- Morita, S., 2009. Eco-physiological analysis for high-temperature effects on rice-grain ripening (in Japanese with English abstract). *Bull. Natl. Agric. Res. Cent. Kyushu Okinawa Reg.* 52, 1-78.
- Morita, S., Yonemaru, J., Takanashi, J., 2005. Grain growth and endosperm cell size under high night temperatures in rice (*Oryza sativa* L.). *Ann. Bot.* 95, 695-701. <https://doi.org/10.1093/aob/mci071>
- Nakashima, T., Wada, H., Morita, S., Erra-Balsells, R., Hiraoka, K., Nonami, H., 2016. Single-cell metabolite profiling of stalk and glandular cells of intact trichomes with internal electrode capillary pressure probe electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 88, 3049-3057. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b03366>
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 249-279. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.249>
- Nonami, H., 2001. *Water Relations in Plant Physiology*. Yokendo, Tokyo.

Nonami, H., Boyer, J.S., 1987. Origin of growth-induced water potential : solute concentration is low in apoplast of enlarging tissues. *Plant Physiol.* 83, 596-601. <https://doi.org/10.1104/pp.83.3.596>

Nonami, H., Boyer, J.S., 1993. Direct demonstration of a growth-induced water potential gradient. *Plant Physiol.* 102, 13-19. <https://doi.org/10.1104/pp.102.1.13>

Nonami, H., Wu, Y.J., Boyer, J.S., 1997. Decreased growth-induced water potential: primary cause of growth inhibition at low water potentials. *Plant Physiol.* 114, 501-509. <https://doi.org/10.1104/pp.114.2.501>

Peng, S., Huang, J., Sheehy, J.E., Laza, R.C., Visperas, R.M., Zhong, X., Centeno, G.S., Khush, G.S., Cassman, K.G., 2004. Rice yields decline with higher night temperature from global warming. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 9971-9975. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403720101>

Ray, P.M., Green, P.B., Cleland, R., 1972. Role of turgor in plant cell growth. *Nature* 239, 163-164. <https://doi.org/10.1038/239163a0>

Suriyasak, C., Harano, K., Tanamachi, K., Matsuo, K., Tamada, A., Iwaya-Inoue, M., Ishibashi, Y., 2017. Reactive oxygen species induced by heat stress during grain filling of rice (*Oryza sativa* L.) are involved in occurrence of grain chalkiness. *J. Plant Physiol.* 216, 52-57. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.05.015>

Taiz, L., Zeiger, E., 2002. *Plant physiology*, 3 ed. Sinauer Associate, USA.

Tommasi, F., Paciolla, C., de Pinto, M.C., Gara, L.D., 2001. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. *J. Exp. Bot.* 52, 1647-1654. <https://doi.org/10.1093/jxb/52.361.1647>

Wada, H., Chang, F.Y., Hatakeyama, Y., Erra-Balsells, R., Araki, T., Nakano, H., Nonami, H., 2021. Endosperm cell size reduction caused by osmotic adjustment during nighttime warming in rice. *Sci. Rep.* 11, 4447. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83870-1>

Wada, H., Hatakeyama, Y., Nakashima, T., Nonami, H., Erra-Balsells, R., Hakata, M., Nakata, K., Hiraoka, K., Onda, Y., Nakano, H., 2020. On-site single pollen

metabolomics reveals varietal differences in phosphatidylinositol synthesis under heat stress conditions in rice. *Sci. Rep.* 10, 2013.

<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58869-9>

Wada, H., Hatakeyama, Y., Onda, Y., Nonami, H., Nakashima, T., Erra-Balsells, R., Morita, S., Hiraoka, K., Tanaka, F., Nakano, H., 2019. Multiple strategies for heat adaptation to prevent chalkiness in the rice endosperm. *J. Exp. Bot.* 70, 1299-1311. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery427>

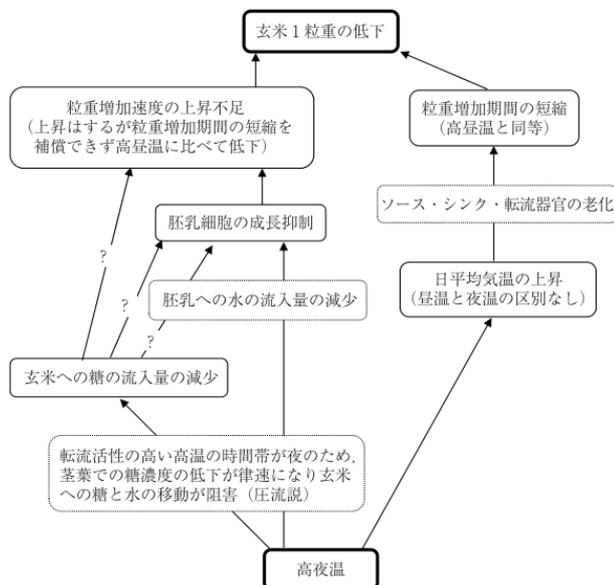
Watanabe, S., Sakamoto, A., 2018. Plant purine catabolism-recent advances and the emerging role in stress adaptation (in Japanese with English abstract). *Rel. Plant Growth Dev.* 53, 116-123. [https://doi.org/10.18978/jscrp.53.2\\_116](https://doi.org/10.18978/jscrp.53.2_116)

Xu, F., Tang, J., Gao, S., Cheng, X., Du, L., Chu, C., 2019. Control of rice pre-harvest sprouting by glutaredoxin-mediated abscisic acid signaling. *Plant J.* 100, 1036-1051. <https://doi.org/10.1111/tpj.14501>

Yamakawa, H., Hakata, M., 2010. Atlas of rice grain filling-related metabolism under high temperature: joint analysis of metabolome and transcriptome demonstrated inhibition of starch accumulation and induction of amino acid accumulation. *Plant Cell Physiol.* 51, 795-809.  
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcq034>

Yoshida, S., 1981. *Fundamentals of Rice Crop Science*. The International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

七、 附圖



第37図 高夜温で玄米1粒重が低下するメカニズム  
 点線枠は、矢印の因果関係において介在が推定される要因。?は、どの経路になっているのか明らかではないことを示す。

圖 1. 高夜温對糙米粒重影響之假設機制。(圖片引用自 Morita, 2009)

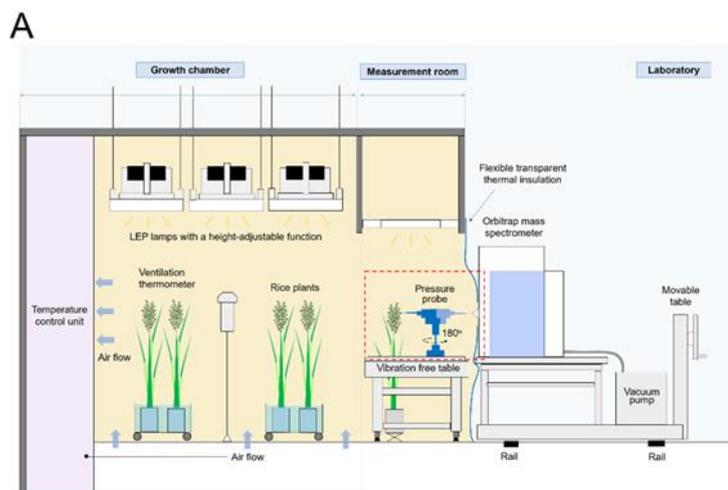


圖 2. 九州沖繩農業研究中心的環控的生長室。生長室旁連著分析室，分析室的環境與生長室相同。搭配著 cell pressure probe 與質譜分析儀 (picoPPESI-MS) (有軌道可以將儀器移動至高溫或對照的生長室旁)，使待測材料可以在環控條件下進行即時代謝分析。(圖片引用自 Wada et al.,2019 Fig. S1A)。

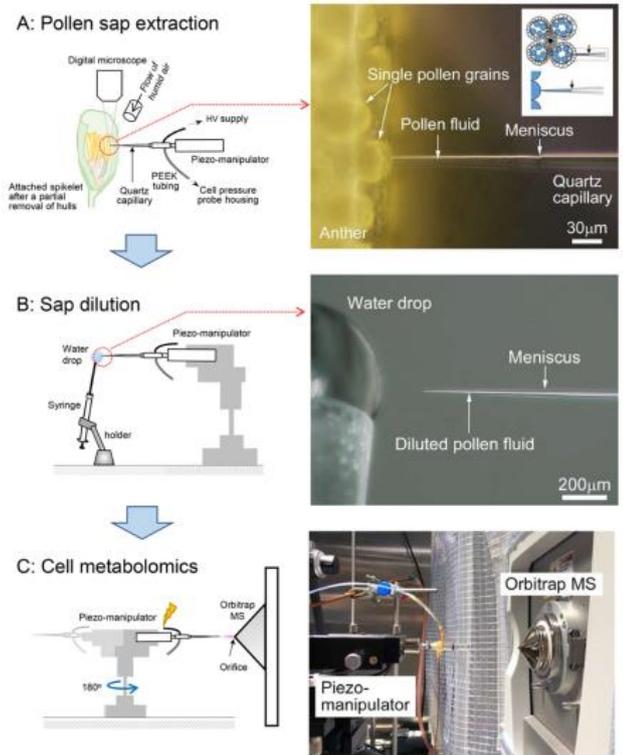


圖 3. picoPPESI-MS 應用於高溫逆境下單一花粉之代謝體研究。(圖片引用自 Wada et al., 2020 Fig.4)

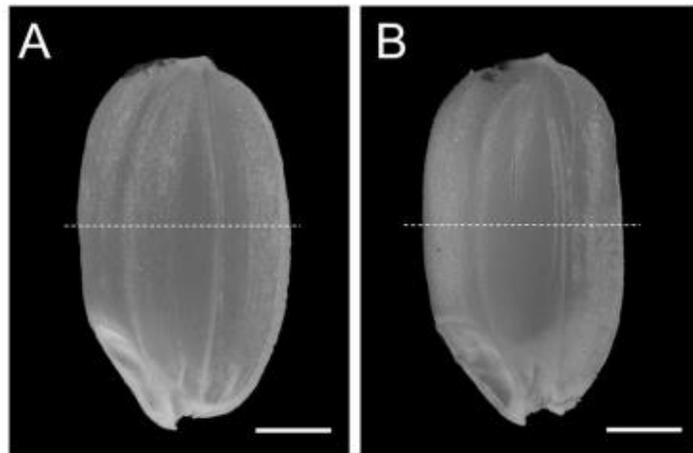


圖 4. 對照組(A)與高夜溫處理組(B)之糙米外觀。高夜溫處理下的糙米呈現背白與基白米，且加速胚的生長。(圖片引用自 Wada et al, 2021 Fig. 1A and B)

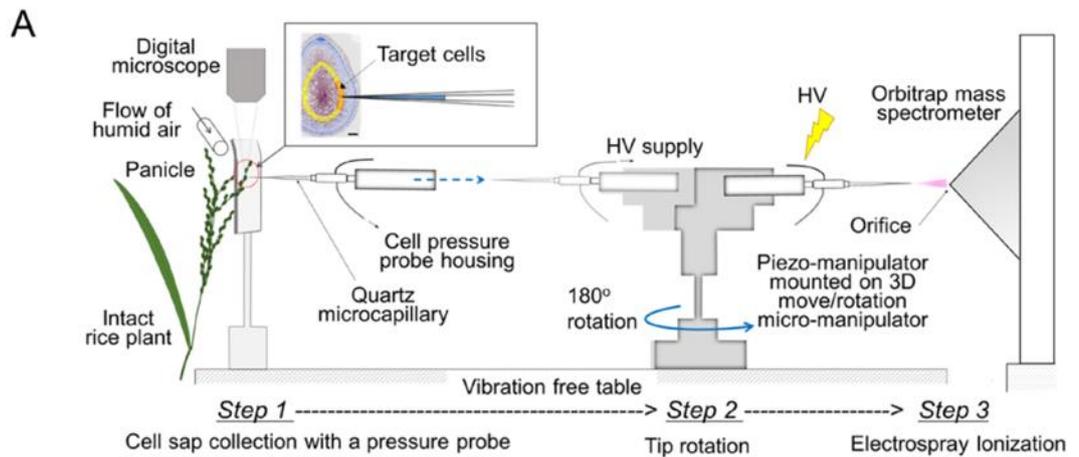


圖 5. PicoPPESI-MS 測定流程。(1)以 cell pressure probe 針對欲探討區塊(如細胞擴張受阻區域)取細胞液，(2)將 cell pressure probe 轉 180° 至對向的 Orbitrap 質譜分析儀，(3)提供高電壓將樣品離子化進行分析。(圖片引用自 Wada et al.,2021 Fig. 3A)。

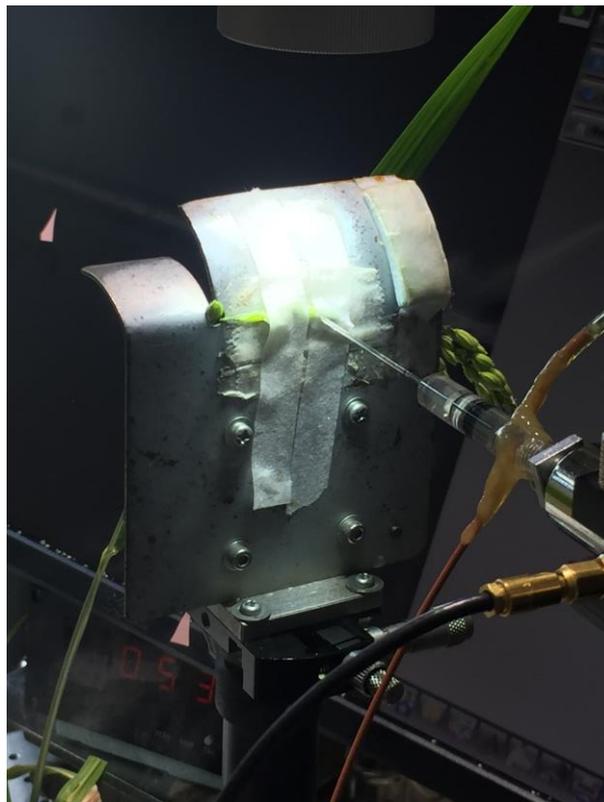


圖 6. Cell pressure probe 可測定細胞膨壓與取細胞液，待測樣品仍保留在植株上。

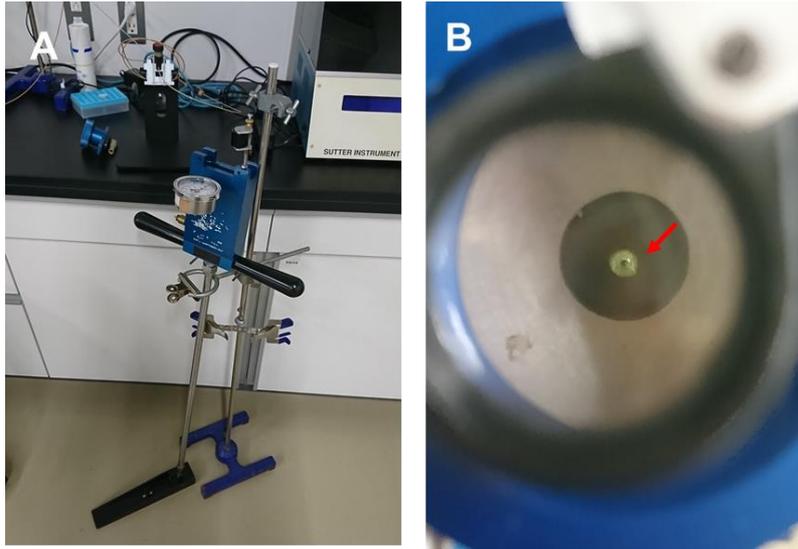


圖 7. Pressure chamber 測量穗水勢。

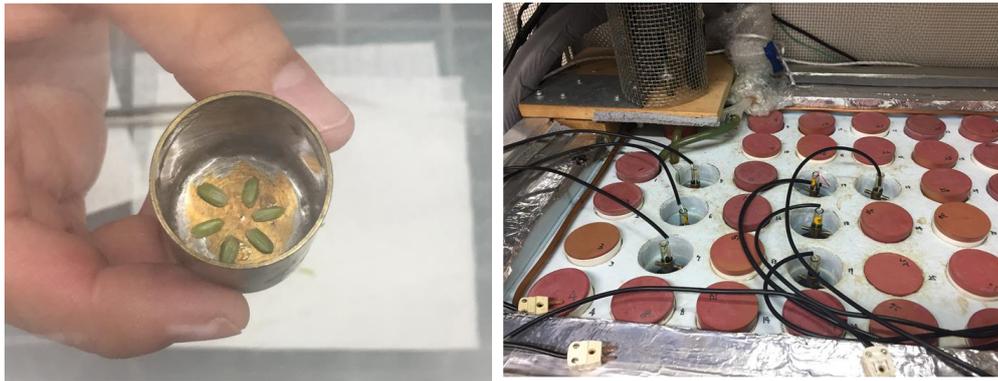


圖 8. Isopiestic psychrometer 測定水稻穎果的水勢。

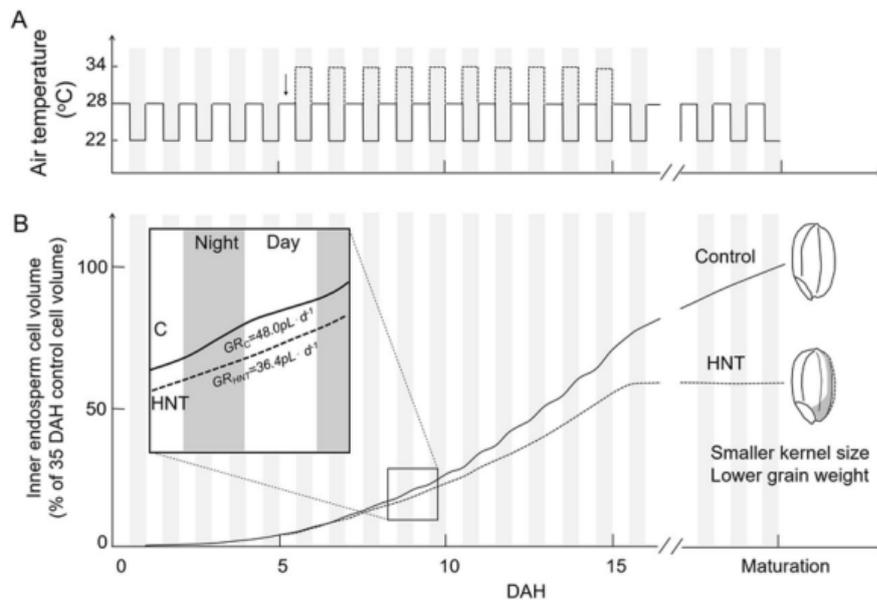


圖 9. 短期高夜溫處理對發育中水稻穎果之胚乳細胞生長影響。(圖片引用自 Wada et al., 2021 Fig.5)

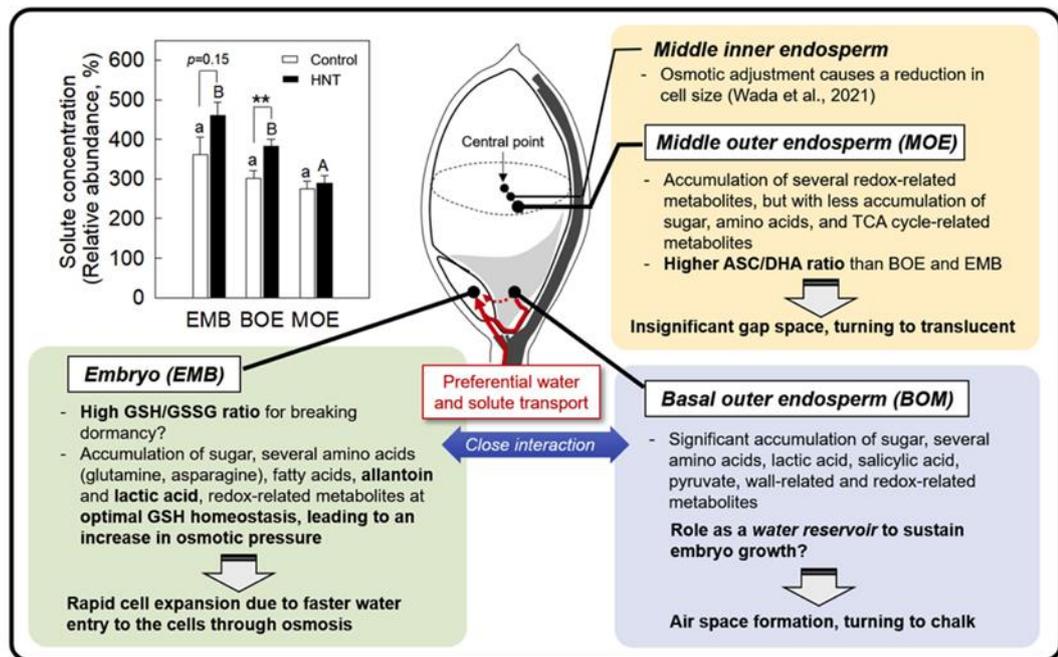


圖 10. 水稻越光品種在穀粒充實期間受短期高夜溫逆境下，胚乳與胚的發育及生理代謝反應。(圖片引用自 Chang et al., 2021 Fig.6)



圖 11. 學位論文審查。



圖 12. 學位授予式。