

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：82111

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H02533

研究課題名(和文) オンサイト・セルスペシフィック解析による水稻高温障害・窒素代謝改善効果の機構解明

研究課題名(英文) Cell dynamics of heat-induced rice chalky formation and nitrogen-enhanced suppression unveiled by using newly-developed on-site cell-specific analysis

研究代表者

和田 博史 (Wada, Hiroshi)

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・九州沖縄農業研究センター・上級研究員

研究者番号：40533146

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,410,000円

研究成果の概要(和文)：人工気象室において白未熟粒(主として、背白粒)の形成を誘導する温暖化環境を再現し、その環境下で白濁の発生が予想される成長中の玄米背側の1外胚乳細胞を対象にセルプレッシャープローブによる水分状態(膨圧)と、ピコリットルプレッシャープローブエレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いた1外胚乳細胞由来の細胞溶液を対象とするオンサイト代謝産物分析を行った。加えて、高温処理時から成熟期にかけて、玄米を化学固定し、透過型電子顕微鏡による胚乳細胞内微細構造観察を行った。その結果、背白米の白濁発生要因と窒素追肥による白濁発生の抑制(玄米品質向上)メカニズムが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水稻登熟期の高温に伴う白未熟粒(主として背白粒)の発生により、全国的に米品質の低下被害が多発している。これまで、背白粒の発生は窒素追肥により回避できることが知られてきたが、白濁形成・窒素施与による白濁回避が起こる細胞レベルのメカニズムについては研究が進展していなかった。本研究では、近年開発した1細胞代謝産物分析法と透過型電子顕微鏡観察を融合させることにより、高温下の非破壊の玄米胚乳細胞内で何が起き、白濁に至ったのかそのメカニズムを明らかにしている。本成果は稲作現場の技術開発・品種開発につながる基礎知見であり、学術的価値はもとより、社会的なインパクトのある成果である。

研究成果の概要(英文)：Heat-induced chalky formation is a major concern in rice production. The chalkiness is suppressed by nitrogen, yet little is known about the cellular dynamics. Picolitre pressure-probe electrospray-ionization mass spectrometry and transmission electron microscopy were used to investigate the cellular mechanisms of both processes in single endosperm cells of intact growing plants. We found an enlargement of protein storage vacuoles in osmotically adjusted cells under heat conditions with little accumulation of storage proteins prior to chalky formation, in addition to the partial inhibition of amyloplast development. Increased nitrogen availability enhanced heat tolerance through strong osmotic adjustment and the cells sustained protein synthesis even under heat conditions, which led to normal storage protein and amyloplast development to suppress air space formation. These findings provide new insight into the nitrogen-associated heat responses in the growing endosperm cells.

研究分野：作物学

キーワード：イネ 高温登熟 1細胞代謝産物解析 背白米 高温ストレス 細胞計測 タンパク質 浸透圧調節

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

気候変動により世界各地で高温・早魃などの不良環境条件が頻発し、食糧生産が不安定化している。我が国の主幹作物である水稻生産においては、温暖化に伴う夏季の極端な高温による背白粒やフェーン(高温乾燥風)によるリング状乳白粒等の白未熟粒発生により玄米外観品質が低下する被害が全国的に多発している(Morita et al., 2016)。今後高温化の進行が予測されており(IPCC, 2013)、一層の品質低下被害が懸念される中で、安定生産の基盤構築に向けたより高度なストレス耐性をもった品種開発と技術革新が急務の課題である。穂肥を施与し稲体の窒素レベルを維持したうえで、登熟期に高温に遭遇した場合にも背白粒の発生を軽減できることが従来から現場で知られてきた。しかし、後述する方法論の制約等から細胞レベルでの解明には至っていない。現在、穂肥時に出穂後の気象予測と穂肥時の葉色に応じ穂肥量を調節する「気象対応型追肥法」が品質低下軽減技術として期待されていることから(森田, 2011)、穂肥による玄米品質向上の機構解明を進め、その基礎知見に基づいた技術開発と高度化を進める必要がある。高温等の不良環境条件に晒されると、胚乳組織の一部分の細胞内で空隙が形成され、光が空隙内を乱反射することで白く濁った白未熟粒ができる。背白粒の玄米中を占める白濁領域は玄米全体の約17%に相当し、その比率は比較的小さい。このため、組織を対象に摺り潰して分析すると、その過程で組織平均化されてしまい、白濁した細胞由来のデータとしての解釈が困難になる可能性がある。高温下で正確な細胞代謝情報を取得するためには、サンプリングの過程で試料に人為的な温度変化を与えることがないよう、まさに成長中の稲体が高温に晒されている条件下で(オンサイトに)、空隙形成の推定される胚乳細胞にフォーカスし(セルスペシフィックに)、かつリアルタイムに代謝産物を分析する方法が一つの有効なアプローチと思われる。現在、細胞レベルの質量分析の技術が急速に伸びているものの、このような分析ニーズに応えたオンサイト・セルスペシフィック分析の開発事例は報告されていない。

2. 研究の目的

近年、水稻生産現場では全国的に高温登熟障害が頻発しており、玄米品質低下の被害軽減に向けた品種開発と新たな栽培技術体系の構築が急がれる。高温等の環境ストレスに伴って玄米中の一部の細胞層で起こる空隙形成要因と窒素施与による被害軽減に関する機構の全容解明には、気象条件に左右されない人工気象室(GC)で温度ストレス条件を再現し、その環境条件下でオンサイト・セルスペシフィック分析を可能にするシステムの構築が必要である。本研究では、太陽光に最も近い分光特性を持つプラズマライト(LEP)人工照明を備えたCO₂調節閉鎖型人工気象室(図1)において、高温条件を作出し、そこで成長する玄米の果皮・外胚乳1細胞の生理応答をリアルタイムに捉えるべく、細胞水分状態計測と質量分析計による1細胞代謝産物解析が高温環境下で行えるように新たに構築した人工気象室隣接型1細胞代謝産物解析(図1)と、透過型電子顕微鏡解析による細胞内微細構造解析を融合し、細胞レベルの機構解明を行う。これらの細胞生理学的なアプローチにより、温暖化環境下での白濁化要因と窒素追肥による品質改善効果について解明し、水稻の高品質安定生産の確立を目指すことを目的とする。

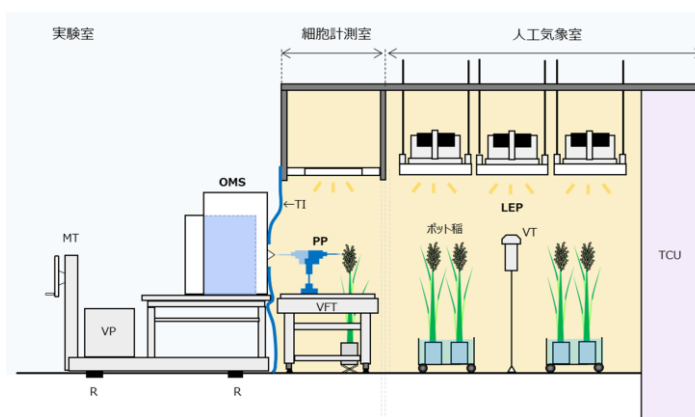


図1.人工気象室隣接型1細胞代謝産物解析を取り入れたオンサイト・セルスペシフィック解析システムの概念図(Wada et al., 2019)。LEP:昇降機能付プラズマライト, OMS:オービトラップ質量分析計, PP:プレッシャープローブ, R:レール, MT:可動台, TCU:温度制御ユニット, TTI:断熱フィルム, VFT:除振動台, VP:真空ポンプ, VT:温湿度センサを示す。Wada et al. (2019)を改変。

3. 研究の方法

(1) 栽培概要および追肥処理と高温処理: 栽培概要: 2016年4月23日にコシヒカリの種子を播種。5月12日に1/5000aワグネルポットに10株円形で移植。コンクリート水槽にて栽培。定期的に分げつを除去して主稈のみで育成。施肥: 基肥として、3.5g/pot (LP肥料中生直播用, N20%)を代かき時に施与。出穂後4日目朝に0.45gN/ポットの尿素を土壌表面に施与し、翌出穂後5日から15日までグロースチャンバーに入れ、高温処理(9:00~15:00を34°C, 15:00~翌日9:00まで28°C, 日長は13時半)を行った。処理区は全4区で以下の通り。追肥無しの平温区(26°C, 以下, 対照区と呼称), 追肥ありの平温区(N+26°C), 高温区(34°C), 窒素

施与後高温区 (N+34°C) . その後高温処理区を対照区の条件下で育成し、以下の分析に供した。

(2) オンサイト・セルスペシフィック分析: 高温処理中の玄米中における白濁化推定領域の1外胚乳細胞を対象にセルプレッシャープローブによる細胞膨圧の計測と、ピコリットルプレッシャープローブエレクトロスプレーイオン化質量分析法 (picoPPESI-MS) によるオンサイト・セルスペシフィック解析 (図1) を行い、白濁推定領域の1細胞の代謝産物をリアルタイムに分析した。

(3) 顕微鏡解析: 出穂後12日, 20日, 40日目の玄米をパラホルムアルデヒドで固定し、LR White 樹脂に固定した後、光学顕微鏡・透過型電子顕微鏡観察を行った。

(4) 品質調査: 農水省の被害粒限界基準に基づき目視にて背白発生割合を算出した。

(5) 玄米タンパク質分析: 背白粒の白濁部位に相当する玄米断片 (玄米の1/3) を対象に電気泳動を行った。

(6) 玄米タンパク質含有率測定: 微粉碎した玄米試料を対象にケルダール法により分析し、窒素-タンパク質換算係数 5.95 を用い、玄米タンパク質含有率 (%) を算出した。

4. 研究成果

登熟期初期の高温処理により、背白粒発生率は約 66% に達したのに対し、十分な窒素施肥を行ったうえで高温を処理した場合には背白粒の発生率が 7.6% まで低減される傾向が確認された (表1) . そこで以下の実験は、対照区 (26°C) , 高温区 (34°C) , 窒素施与後高温区 (N+34°C) の3処理区を対象に実験を行った。

表1. 各処理区の玄米外観品質

処理区	登熟歩合	玄米外観品質		
		整粒	背白粒	その他
	%	%	%	%
26 °C	97.9	100.0 ^a	0.0 ^b	0.0 ^a
N+26 °C	96.5	98.9 ^a	0.0 ^b	1.1 ^a
34 °C	94.4	11.4 ^c	66.4 ^a	22.2 ^a
N+34 °C	94.7	52.1 ^b	7.6 ^b	40.4 ^b

アルファベットは $P < 0.05$ の Tukey-Kramer 検定結果を示す。

水稻玄米細胞中には澱粉粒とともに貯蔵タンパク質が集積したタンパク質顆粒が蓄積する (図2) . タンパク質顆粒にはタイプ I (PBI) とタイプ II (PBII) とが存在する. 前者は小胞体由来の小型のタンパク質顆粒であり、内部にプロラミンを集積する. 一方、PBII はタンパク質貯蔵型液胞 (PSV) から形成され、内部にグルテリン・グロブリンを集積する. 背白粒が形成される玄米背側の外胚乳細胞層にはタンパク質顆粒、特にタンパク質蓄積型液胞 (PSV) 由来の PBII が多く分布することが知られている. 背白粒において空隙の形成される背側外胚乳細胞中の主要細胞小器官の細胞内占有率を解析したところ、高温区で澱粉粒・タンパク質顆粒の蓄積が阻害され、空隙に相当するギャップ領域 (図2E 矢印) が形成された (図2D) .

一方、窒素施与後高温区では、澱粉・タンパク質顆粒の集積が促進され、ギャップ領域の形成も対照区と同レベルに抑制された (図2G-I) . 透過型電子顕微鏡観察を行ったところ、高温区の玄米では出穂後20日目以降、澱粉・貯蔵タンパク質の合成が阻害され、膜内への貯蔵タンパク質の蓄積がほとんどないまま成熟後期にかけて PSV を含む液胞様構造の体積が顕著に増大し、澱粉・貯蔵タンパク質の蓄積が不十分となることが明らかになった (図3) . このギャップ領域中に存在する無数の液胞様構造の残存によって、種子乾燥に伴い脱水が起こると、細胞質に空隙が形成され、部位特異的な白濁を呈することが強く示唆された. 細胞の形態に処理間差が現れていない高温処理中の出穂後12日目の外胚乳1細胞を対象にオンサイト・セルスペシフィック解析を行った (図1, 4A) .

高温処理により背側の胚乳細胞で膨圧が低下した. 対照的に窒素施肥後に高温処理を行った場合には膨圧は対照区と同程度に維持されていた (図4B) . 1細胞代謝産物解析から、高温下の細胞では糖、システインを含むアミノ酸の他、グルタチオン、アスコルビン酸に顕著な集積が認められた (図4D) . 特にジスルフィド結合を通してタンパク質の高次構造化に重要な役割を担うシステインは対照区では検出されなかったものの、高温区の胚乳の細胞液中には高頻度にシステインが検出された. また、窒素施与後に高温処理を行った区ではシステインの検出はほとんど認められなくなり、また、グルタチオンについてもシグナルの強度は大きく低下した (図4E) .

以上の結果から、玄米背側の外胚乳細胞では高温処理後、タンパク質合成が影響を受け、澱粉・貯蔵タンパク質の蓄積が不十分となる一方で、本来貯蔵タンパク質を蓄積するはずのタンパク質貯蔵型液胞 (PSV) を含む無数の液胞様構造が成熟期にかけて細胞内に残存し、その後、脱水することにより空隙形成 (白濁化) に至った (図3, 5) .

対照的に、窒素施与後に高温を処理した場合には、同じ玄米背側の外胚乳細胞ではタンパク質合成が促進され、澱粉・貯蔵タンパク質の両方が細胞内に集積し続けた結果、隙間が減り、白濁の発生が回避され（整粒になり）、玄米外観品質が向上することが明らかとなった（図 3, 5）。

<引用文献>

- ① Morita *et al.* (2016) *Plant Production Science*, 19(1): 1-11.
- ② IPCC (2013) *Climate Change 2013*, Stocker *et al.* (eds.). Cambridge University Press, 1535pp.
- ③ 森田(2011) イネの高温障害と対策. 登熟不良の仕組みと防ぎ方, 農文協, 148p.
- ④ Wada *et al.* (2019) *Journal of Experimental Botany*, 70(4), 1299–1311.

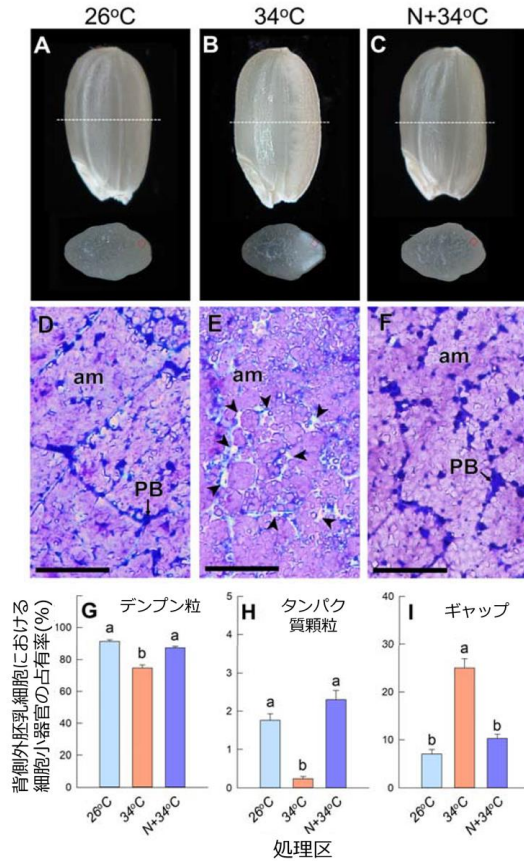


図 2. 出穂後 40 日目の対照区整粒 (26°C), 高温区背白粒 (34°C), 窒素施与後高温区整粒 (N+34°C) の玄米 (A-C), 背側外胚乳の光学顕微鏡画像 (D-F). G-I は細胞内の澱粉粒, タンパク質顆粒, ギャップの占有率を示す. アルファベットは $p < 0.05$ での有意差を示す. D-F 中の am, PB, 矢じりはそれぞれアミロプラスト (澱粉粒含む), タンパク質顆粒 (I 型+II 型), ギャップ領域を示す. バーは 50 μ m. Wada *et al.* (2019)を改変.

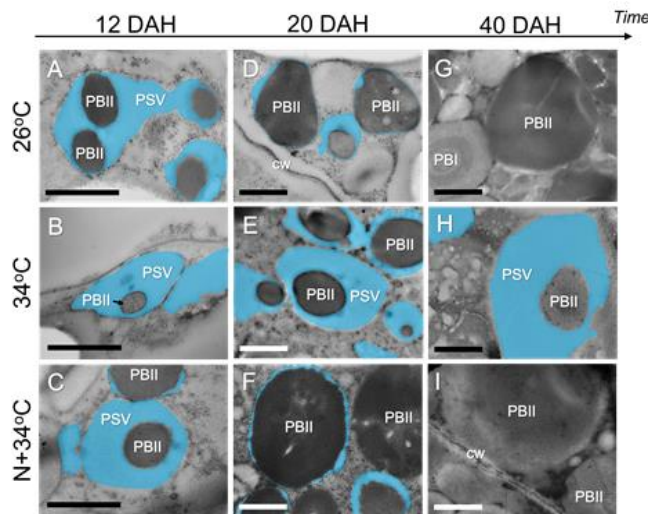


図 3. 出穂後 12,20,40 日目の 26°C区, 34°C区, N+34°C区の玄米背側外胚乳のギャップエリアの電子顕微鏡画像. 図中の PBI, PBII, PSV, cw はそれぞれ I 型タンパク質顆粒, II 型タンパク質顆粒, タンパク質貯蔵型液胞, 細胞壁を示す. 青色部分は液胞様構造のマトリックスを示す. バーは 1 μ m. Wada *et al.* (2019)を改変.

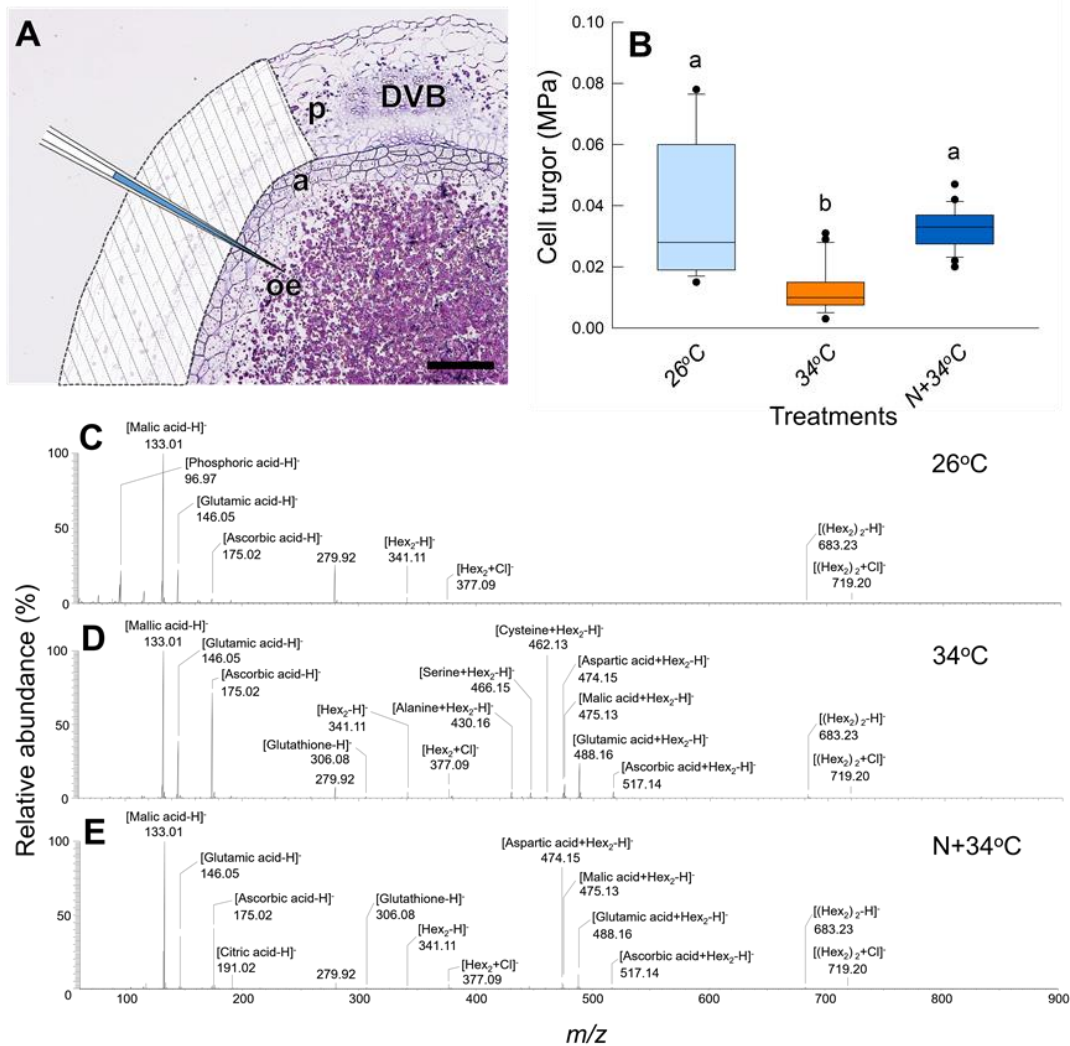


図4. A) 1細胞膨圧・代謝産物分析を行った外胚乳細胞 (oe) を示す。Aは糊粉層, DVBは背部維管束, Pは果皮を示す。B)各処理区における1外胚乳細胞の膨圧。対照区 (C), 高温処理区 (D), 窒素施与後高温処理 (E) の1細胞代謝産物分析結果を示す。Wada et al. (2019)。

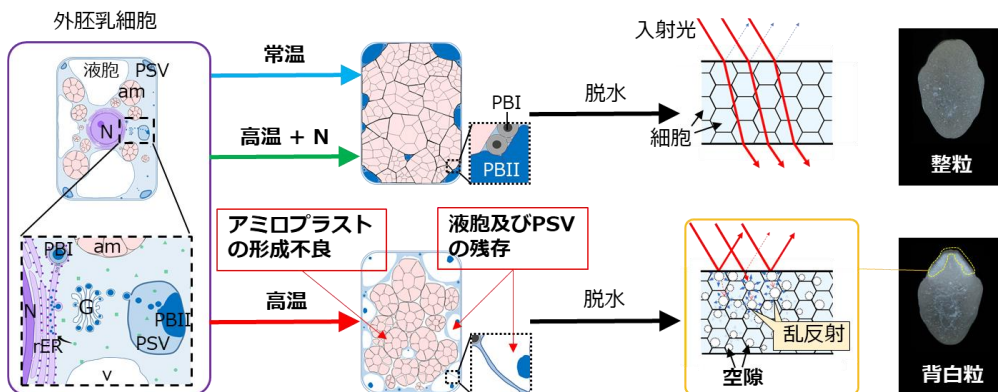


図5. 高温に伴った背白粒の発生・窒素施与による白濁抑制機構の概念図。高温下では、タンパク質顆粒が多く分布する背側の外胚乳細胞において、タンパク質合成が阻害されることで、澱粉合成が滞る一方、細胞質で液胞及びPSVが残存することにより、細胞質に空隙(白濁)が形成される。v:液胞, PSV:タンパク質貯蔵型液胞, rER:粗面小胞体, G:ゴルジ体。Wada et al. (2019)を改変。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 10件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Wada H, Hatakeyama Y, Nakashima T, Nonami H, Erra-Balsells R, Hakata M, Nakata K, Hiraoka K, Onda Y, Nakano H	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 On-site single pollen metabolomics reveals varietal differences in phosphatidylinositol synthesis under heat stress conditions in rice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2013
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41598-020-58869-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Olga Blokhina, Teresa Laitinen, Yuto Hatakeyama, Nicolas Delhomme, Tanja Paasela, Lei Zhao, Nathaniel R. Street, Hiroshi Wada, Anna Karkonen, Kurt Fagerstedt	4. 巻 181(4)
2. 論文標題 Ray parenchymal cells contribute to lignification of tracheids in developing xylem of Norway spruce	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1552-1572
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1104/pp.19.00743	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiraoka K, Rankin-Turner S, Ninomiya S, Wada H, Nakano H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Tanaka F, Nonami H	4. 巻 67(11)
2. 論文標題 Component profiling in agricultural applications using an adjustable acupuncture needle for sheath-flow probe electrospray ionization/mass spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 3275-3283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06424	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiraoka K, Rankin-Turner S, Ninomiya S, Sekine R, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Tanaka F, Nonami H, Ariyada O	4. 巻 68(1)
2. 論文標題 Point analysis of foods by sheath-flow probe electrospray ionization/mass spectrometry (sfPESI/MS) coupled with a touch sensor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 418-524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06489	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wada H, Hatakeyama Y, Onda Y, Nonami H, Nakashima T, Erra-Balsells R, Morita S, Hiraoka K, Tanaka F, Nakano H	4. 巻 70(4)
2. 論文標題 Multiple strategies for heat adaptation to prevent chalkiness in the rice endosperm	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Botany	6. 最初と最後の頁 1299-1311
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1093/jxb/ery427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hiraoka K, Rankin-Turner S, Ninomiya S, Wada H, Nakano H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Tanaka F, and Nonami H	4. 巻 67 (11)
2. 論文標題 Component profiling in agricultural applications using an adjustable acupuncture needle for sheath-flow probe electrospray ionization/mass spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 3275-3283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jafc.8b06424	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hatakeyama Y, Masumoto-Kubo C, Nonami H, Morita S, Hiraoka K, Onda Y, Nakashima T, Nakano N, and Wada H	4. 巻 248(5)
2. 論文標題 Evidence for preservation of vacuolar compartments during foehn-induced chalky ring formation of <i>Oryza sativa</i> L.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Planta	6. 最初と最後の頁 1263-1275
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00425-018-2975-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Ninomiya S, Hiraoka K, Wada H, Nakano H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, and Nonami H	4. 巻 29(12)
2. 論文標題 Electrospray generated from the tip-sealed fine glass capillary inserted with an acupuncture needle electrode	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of The American Society for Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 2297-2304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s13361-018-2062-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Usmanov DT, Mandal KK, Hiraoka K, Ninomiya S, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Nonami H, Yoshimura K, Takeda S, and Yamabe S	4. 巻 260(15)
2. 論文標題 Dipping probe electrospray ionization/mass spectrometry for direct on-site and low-invasive food analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 53-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Usmanov DT, Ashurov KB, Ninomiya S, Hiraoka K, Wada H, Nakano H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, and Nonami H	4. 巻 32(5)
2. 論文標題 Remote sampling mass spectrometry for dry samples: sheath-flow probe electrospray ionization (PESI) using a gel-loading tip inserted with an acupuncture needle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Rapid Communications in Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 407-413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rcm.8045	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Wada H, Masumoto-Kubo C, Tsutsumi K, Nonami H, Tanaka F, Okada H, Erra-Balsells R, Hiraoka K, Nakashima T, Hakata M, and Morita S	4. 巻 12(7)
2. 論文標題 Turgor-responsive starch phosphorylation in <i>Oryza sativa</i> stems: a primary event of starch degradation associated with grain-filling ability	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0181272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181272	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takaishi R, Usmanov DT, Ninomiya S, Sakai Y, Hiraoka K, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Nonami H, and Yamabe S	4. 巻 419
2. 論文標題 Analysis of fluorene and 9,9-dialkylfluorenes by electrospray droplet impact (EDI)/SIMS	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International J. Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 29-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.ijms.2017.05.006	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Hiraoka K, Ninomiya S, Chen LC, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Nakata K, and Nonami H	4. 巻 9
2. 論文標題 Pulsed probe electrospray and nano-electrospray: the temporal profiles of ion formation from the Taylor cone	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anal. Methods	6. 最初と最後の頁 4958-4963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/C7AY01275F	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Dilshadbek U, Hiraoka K, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Nonami H, Yamabe	4. 巻 -
2. 論文標題 Non-proximate mass spectrometry using a heated 1-m long PTFE tube and an air-tight APCI ion source	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Analytica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Ninomiya S, Chen LC, Saha S, Mandal MK, Sakai Y, Takaishi R, Habib A, Hiraoka K, Yoshimura K, Takeda S, Wada H., Nonami H	4. 巻 6
2. 論文標題 Desorption in mass spectrometry	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://doi.org/10.5702/massspectrometry.S0059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Hiraoka K, Wada H, Matsumura M, Sanada-Morimura S, Nonami H	4. 巻 411
2. 論文標題 Gaseous ion formation by the cavitation occurred between aqueous solutions and the ultrasonically vibrating blade studied by mass spectrometry	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 International J. Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 34-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.ijms.2016.11.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Chen LC, Hiraoka K, Wada H, Nonami H, Yamabe S	4. 巻 51
2. 論文標題 Mass spectrometric monitoring of oxidation of aliphatic C6-C8 hydrocarbons and ethanol in low pressure oxygen and air plasmas	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 1187-1195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1002/jms.3890	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Usmanov DT, Chen LC, Hiraoka K, Wada H, Nonami H, Yamabe S	4. 巻 51
2. 論文標題 Nitrogen incorporation in saturated aliphatic C6-C8 hydrocarbons and ethanol in low-pressure nitrogen plasma generated by a hollow cathode discharge ion source	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 446-452
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1002/jms.3765	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 和田博史
2. 発表標題 米生産における白未熟粒の発生メカニズムについて
3. 学会等名 令和元年度「おいでまい」栽培者研修大会 (香川県主催) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Wada
2. 発表標題 New approaches combined with environmental control for enhancing rice production under heat conditions
3. 学会等名 ヘルシンキ大学Viikki植物科学 (ViPS) センター (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 1. 畠山友翔, 中野洋, 恩田弥生, 野並浩, Rosa Erra-Balsells, 中島大賢, 平岡賢三, 和田博史
2. 発表標題 高温登熟環境下での背白米発生及び窒素施用による品質改善機構の品種間差異
3. 学会等名 第245回日本作物学会講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 和田博史
2. 発表標題 気候変動下における水稲の安定多収生産に向けて：高温障害対策を中心とする研究開発と今後の課題
3. 学会等名 日本農業気象学会75周年記念大会（2018年全国大会）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 和田博史
2. 発表標題 制御環境下の細胞生理学的アプローチの展望：水稲高温障害研究を例として
3. 学会等名 日本農業気象学会75周年記念大会（2018年全国大会）（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wada H, Nakashima T, Hakata M, Hatakeyama Y, Nakata K, Nonami H, Erra-Balsells R, Hiraoka K, and Nakano H
2. 発表標題 Phosphoinositides in rice pollen grains associated with spikelet fertility
3. 学会等名 2017 CIGR World Workshop in Matsuyama (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakata K, Wada H, Onda Y, Erra-Balsells R, and Nonami H
2. 発表標題 The role of cytoplasmic streaming in osmotic adjustment in tomato trichome cells under water stress
3. 学会等名 2017 CIGR World Workshop in Matsuyama (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Wada H, Nonami H, Tanaka K, Nakashima T, Hatakeyama Y, Nakano H, Onda Y, Hiraoka K, Hakata M, and Morita S
2. 発表標題 Development of the on-site live cell metabolomics performable in controlled environment
3. 学会等名 Society for Experimental Biology 2017 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hatakeyama Y, Onda Y, Nonami H, Nakashima T, Nakano H, Erra-Balsells R, Hiraoka K, Wada H
2. 発表標題 Nitrogen application reverses heat-induced rice chalkiness: evidence for organelle rearrangement due to the recovery of protein synthesis in endosperm cells
3. 学会等名 Society for Experimental Biology 2017 Annual Meeting
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nakata K, Wada H, Erra-Balsells R, Nonami H
2. 発表標題 Pico pressure probe electrospray mass spectrometry for in situ single plant cell qualitative and quantitative analysis of phosphate metabolic pathways
3. 学会等名 第65回質量分析総合討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 和田博史, 羽方誠, 中野洋, 野並浩, 森田敏
2. 発表標題 フェーンに伴うリング状乳白粒の発生機構: オンサイト・セルスペシフィック解析による水稻高温障害研究への応用
3. 学会等名 日本農業気象学会九州支部・日本生物環境工学会九州支部合同大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Wada H, Hakata M, Nonami H, Nakano H, and Morita S
2. 発表標題 Mechanisms of foehn-induced chalky ring formation in rice: Use of the on-site cell-specific analytical method and practical applications
3. 学会等名 IRRI-JIRCAS-NARO Symposium, Session I. High temperature tolerance, Session I-1(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Nonami H, Nakashima T, Wada H, Morita S, Erra-Balsells R, Hiraoka K
2. 発表標題 Single-cell metabolite profiling of stalk and glandular cells of intact trichomes with internal electrode capillary pressure probe electrospray ionization mass spectrometry
3. 学会等名 The 64th Annual Conference on Mass Spectrometry
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Iizumi T, Takimoto T, Matsutomi Y, Tamura M, Wada H, Yazaki T, Hirota T, Kinose Y, Suzuki K, Kim W, Tian Z, Xu H, Zhong H, Sun L, Liu J, Yuji S, Okada M, Fujisawa M, Kanamaru H, Kim K-H, Shin Y, Lee S, Jeong D, Hayashi K, Llorca L, Bugayong I, Kobayashi K	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 228
3. 書名 Adaptation to Climate Change in Agriculture: Research and Practices (Iizumi T., Hirata R., Matsuda R. [eds])	

1. 著者名 丹野久 平山裕治 尾形武文 坂井真 若松謙一 大坪研一 中村澄子 佐野智義 後藤元 五十嵐俊成 坂紀邦 福岡修一 竹内善信 小林麻子 新田洋司 安部利徳 増村威宏 斉藤雄飛 山川博幹 羽方誠 中田克 宮下朋美 山口武志 三ツ井敏明 金古堅太郎 白矢武士 長田健二 和田博史 近藤始彦 田中浩平 森田敏 金和裕 川村周三 宮崎真行 井上健一 丸山篤志 池上勝	4. 発行年 2018年
2. 出版社 養賢堂	5. 総ページ数 490
3. 書名 米の外観品質・食味 最新研究と改善技術 (松江勇次編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>和田博史 (2019) イネの登熟期高温による背白粒発生と窒素追肥による抑制メカニズムの一端が明らかに！九沖農研ニュースNo.62 ISSN 1346-7263: pp 2, 農研機構九州沖縄農研センター, 令和元年7月31日, http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/P2_karc_naro_News_62.pdf</p> <p>和田博史, 畠山友翔, 増本(久保)千都, 野並浩, 森田敏, 平岡賢三, 恩田弥生, 中島大賢, 中野洋 (2019) 高温乾燥風による水稻のリング状乳白粒形成の細胞生理学的要因, 農研機構九州沖縄農業研究センター2018年研究成果情報, http://www.naro.affrc.go.jp/karc/prefectural_results/files/30_1_08a.pdf</p> <p>和田博史, 畠山友翔, 恩田弥生, 野並浩, 中島大賢, Erra-Balsells R, 森田敏, 平岡賢三, 田中福代, 中野洋 (2019) 高温に伴った背白粒の発生と窒素施与による白濁抑制の細胞生理学的要因, 農研機構九州沖縄農業研究センター2018年研究成果情報, http://www.naro.affrc.go.jp/karc/prefectural_results/files/30_1_09a.pdf</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野並 浩 (Nonami Hiroshi) (00211467)	愛媛大学・農学研究科・教授 (16301)	
研究分担者	平岡 賢三 (Hiraoka Kenzo) (80107218)	山梨大学・クリーンエネルギー研究センター・特命教授 (13501)	
研究分担者	恩田 弥生 (Onda Yayoi) (70368463)	愛媛大学・農学研究科・准教授 (16301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	中島 大賢 (Nakashima Taiken) (70710945)	北海道大学・農学研究院・助教 (10101)	