

## P17. 벼 종자의 저온·담수토양조건에서 출아와 아밀라제 유전자 발현의 시간·공간적 추이

강원대학교 : 윤 병 성\* · 조 동 하

Time and spatial change of amylase gene expression in germinating rice seed  
under the low temperature and submerged soil condition

Kangwon National University : Byeong-Sung Yoon\*, Dongha Cho

### 시험목적

저온·담수 토양조건에서의 벼 종자 출아에 있어서  $\alpha$  및  $\beta$ -아밀라제 유전자의 발현의 시간·공간적 추이를 in situ hybridization 법을 이용해 관찰 검토했다.

### 재료 및 방법

저온·담수토양조건하의 효소분석 결과  $\beta$ -아밀라제의 활성을 나타내는 長香稻와 상온·대기중 산소농도 조건하에서는  $\beta$ -아밀라제의 활성이 있으나, 저온·담수토양 조건하에서는  $\beta$ -아밀라제의 활성을 나타내지 않는 수원 287호 및 어느 조건하에서도  $\beta$ -아밀라제의 활성을 나타내지 않는 農林(Norin) 6호를 공시하여 18°C의 담수토양 조건(플라스틱 컵에 토양 3cm 충전, 종자 10립과중, 1cm 복토, 깊이 1cm 심수)에서 샘플링한 종자를 4°C의 FAA(5%포르말린, 5%빙초산, 45% 에탄올) 3일간 고정 후, t-부틸알코올 시리즈로 탈수한 후, 파라플라스트로 包埋했다. 마이크로 톰으로 두께 10 $\mu$ m의 절편을 한 후 벡타 본드로 코팅한 슬라이드그래스에 붙였다.  $\beta$ -아밀라제 mRNA와  $\alpha$ -아밀라제 mRNA를 Kouchi et al(1993) 방법에 의해 검출했다.  $\beta$ -아밀라제 프로브와 함께  $\alpha$ -아밀라제는 R*Amy1A*의 cDNA를 기본으로 하여 작성한 프로브를 사용해 in situ hybridization 했다.

### 결과 및 고찰

18°C의 담수토양 조건하에서의  $\alpha$ -아밀라제유전자의 발현은 장향도, 수원 287호, 農林(Norin) 6호 모든 품종에서 3일째에 배반상피세포에서 보였다. 장향도는 5일째가 되면 호분층에서도  $\alpha$ -아밀라제 발현이 보였다. 9일째의 호분층에서의  $\alpha$ -아밀라제유전자의 발현에 대하여 조사한 결과, 장향도에서는 호분층에서의  $\alpha$ -아밀라제유전자의 발현이 보였지만, 수원 287호, 農林(Norin) 6호의 경우에는 보이지 않았다(Table 1).

18°C의 담수토양 조건하에서의  $\beta$ -아밀라제 유전자의 발현은 장향도의 경우는 胚 부근의 호분층에서 3일째에 보였고, 그후 배유 선단층으로 퍼졌다(Fig. 1). 수원 287호, 農林(Norin) 6호는  $\beta$ -아밀라제 유전자의 발현이 보이지 않았다.

---

E-mail 65yoon@netian.com · 033-250-6410

Table 1. Summary of expression of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylase activity and mRNA expression of them in germinating 3 rice cultivars in submerged soil at 18°C.

			Days					
			1	3	5	7	9	
Janghyangdo	Enzyme activity		$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	=====	=====
	R	Scutellum epithelium	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
	A	Aleurone layer	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	=====	=====
Suwon 287	Enzyme activity		$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
	R	Scutellum epithelium	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
	A	Aleurone layer	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
Norin 6	Enzyme activity		$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
	R	Scutellum epithelium	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----
	A	Aleurone layer	$\alpha$ -amylase		-----	-----	-----	-----
			$\beta$ -amylase		-----	-----	-----	-----

Thickness of the line in the frame indicate the relative activity or gene expression of  $\alpha$ - or  $\beta$ -amylase.

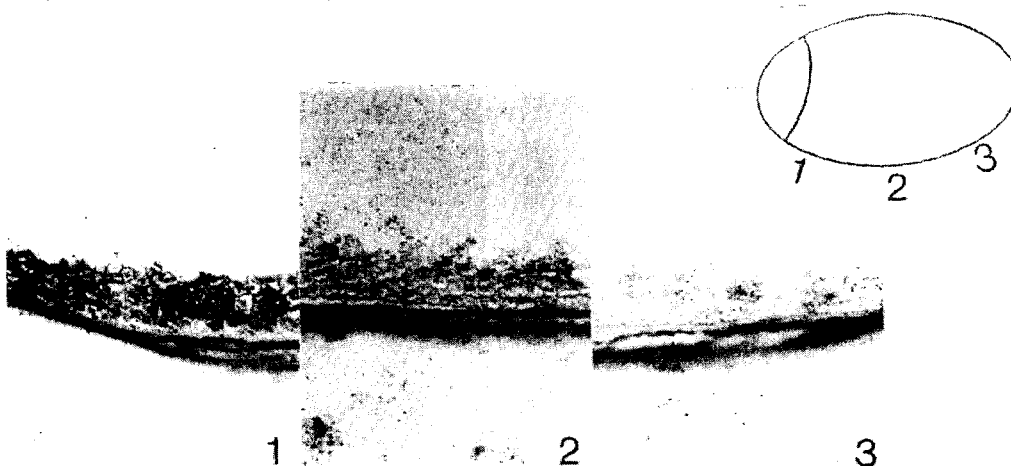


Fig.1. Histological localization of  $\beta$ -amylase mRNA in the aleurone layer of cv. Janghyangdo treated 9 days under the submerged soil condition at 18°C (antisense probe). Figures(1,2,3) in Fig. correspond to the location indicated in the digram. In situ hybridization was carried out on 10 $\mu$ m thick section.