

이산화티탄과 UV-B 수준에 따른 벼 생육과 프로테옴 해석

홍성창*[†] · 신평균* · 장안철* · 이기상* · 이철원** · 우선희**

*농업과학기술원, **충북대학교

Proteomic Analysis and Growth Responses of Rice with Different Levels of Titanium Dioxide and UV-B

Seung-Chang Hong*[†], Pyung-Gyun Shin*, An-Cheol Chang*, Ki-Sang Lee*, Chul-Won Lee**, and Sun-Hee Woo**

*National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

**Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

ABSTRACT Among the photoactive semiconductors such as TiO₂, ZnO, Fe₂O₃, WO₃, and CdSe, TiO₂ is the most widely used as photocatalyst in different media, because of its lack of toxicity and stability. In this study, the effects of titanium dioxide were investigated to obtain the information of physiological change in rice plant. Light-adapted Chlorophyll fluorescence index decreased and relative electron transport rate of rice leaves was activated by titanium dioxide under 2,400 μmol m⁻² s⁻¹ PAR (Photosynthetic active radiation). Relative electron transport rate of rice leaf treated with titanium dioxide 10 ppm was high in order of 2,400 μmol m⁻² s⁻¹ PAR, 2,200 μmol m⁻² s⁻¹ PAR, 450 μmol m⁻² s⁻¹ PAR and titanium dioxide 10 ppm (45.1%), control (32.4%), diuron 10 ppm (15.3%) under 2,400 μmol m⁻² s⁻¹ PAR. Titanium dioxide increased photosynthesis of the rice leaf under 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B only. With titanium dioxide 20 ppm, reduced UV-B (0.15 KJ m⁻² day⁻¹) intensity changed the induction of proteins and twenty-five proteins were identified. Among them, seventy proteins were up-regulated, four proteins were down-regulated and four proteins were newly synthesized. Function of these proteins was related to photosynthesis (52%), carbohydrate metabolism (4%), stress/defense (8%), secondary metabolism (4%), energy/electron transport (4%), and miscellaneous (28%).

Keywords : titanium dioxide (TiO₂), photosynthesis, proteome, rice

광촉매 작용을 하는 반도체 물질로는 TiO₂, ZnO, Fe₂O₃, WO₃, CdSe 등이 있고 이 중 무독하고 안정성이 좋은 이산

화티탄이 환경산업 분야에 널리 쓰이고 있다(Chen & Ray, 1998; Angela *et al.*, 2001). 이산화티탄(TiO₂)은 반도체 성질을 띠는 다양한 광촉매(photocatalyst)들 중 하나로 태양광 중의 단파장광 에너지를 이용하여 접촉 표면의 물을 분해하여 미량의 수소가스와 산소를 발생시킬 수 있다. 이산화티탄과 단파장광에 의한 물 분해 반응의 기작은 TiO₂ + 2hν → 2e⁻ + 2h⁺, H₂O + 2h⁺ → (1/2) O₂ + 2H⁺, 2H⁺ + 2e⁻ → H₂이며 전체적으로는 H₂O + 2hν → (1/2) O₂ + H₂와 같다. 이 과정 중 발생하는 전자(e⁻)와 정공(正孔), OH radical과 활성산소는 공기중의 유기화합물과 물속의 유기물질을 분해시킬 수 있으며 살균작용을 할 수 있다. 이산화티탄은 자외선 차단제, 백색안료 등의 주성분으로 우리 주변에서 광범위하게 사용되는 안전한 백색의 화합물이다(Fujishima *et al.*, 2000). 식물의 광합성은 명반응 광계 II(P680)에서 광 에너지를 이용하여 물을 분해하고 전자(e⁻)를 발생하여 여기된 전자가 전자수용체들을 거치면서 광계 I(P700)에 에너지를 전달하는 과정에서 ATP를 생성하는 광인산화 반응이다. 이산화티탄에 의한 물 분해와 광합성 명반응 광계 II의 물 분해에 의한 전자(e⁻) 발생은 매우 유사한 반응이라 할 수 있다. 세계적으로 다양한 광촉매를 결합시킨 인공합성물을 제작하여 태양광 에너지로 물을 분해시켜 청정한 에너지원인 수소를 얻고자 하는 인공광합성 연구가 진행되고 있다. 인공광합성 연구는 광촉매를 이용하여 식물의 광합성 명반응의 물분해 과정을 모사한 생물모사적 물분해 시스템이다(Sayama *et al.*, 2002; Anandan & Yoon, 2003). 식물에서 프로테옴 연구는 광, 온도, 수분, 산소부족, osmotic stress와 같은 abiotic stress responsive protein의 구명, abiotic stress에 관여하는 호르몬 반응 단백질의 구명등 다양한 분

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-290-0322 (E-mail) schong@rda.go.kr <Received September 28, 2006>

야에 적용되고 있다(Pandey & Mann, 2000). 이산화티탄의 농업 및 생물적 적용은 병원균에 대한 살균력 증진(Seven *et al.*, 2004), 항균효과를 이용한 저장성 증진(Koide & Nonami, 2007; Hur *et al.*, 2005) 등 극히 제한적으로 검토되었으나 녹색식물이나 작물에 대한 이산화티탄의 작용은 보고된 바가 거의 없다.

식물에 처리된 나노 입자의 이산화티탄은 잎 표면에 위치하거나 기공을 통해 들어가 엽육세포 주변에 있을 수 있고 식물의 광합성 조직에 근접한 곳에서 이산화티탄의 물분해 반응 중 발생하는 전자(e⁻)는 광합성 명반응의 전자전달에 영향을 미칠 수 있다고 추정할 수 있다. 따라서 본 연구는 벼 잎 표면에 처리한 이산화티탄이 태양광과 반응하여 벼 엽신의 광합성 대사에 영향을 미칠 수 있는지 검토하고 프로테옴 분석을 통해 벼 엽신의 생리변화를 구명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

광량별 이산화티탄(TiO₂) 처리

광량별 이산화티탄(TiO₂) 처리에 의한 작용을 검토하고자 2004년 농업과학기술원 포장 및 유리온실에서 일품벼를 1/2000a 와그너 포트에 1주 1본식하여 노지, 유리온실, 유리온실내 흑색차광망 75% 차광처리에 배치시켜 재배하였고 이때의 광량은 광합성유효파장(photosynthetic active radiation) 강도가 하루 중 최고 강도시 각각 2,400, 2,200, 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 되도록 조절하였다.

조절된 광량하에서 균일하게 재배된 일품벼 유수형성기에 주당 2 ml씩 경엽에 이산화티탄을 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 1회 분무 처리하였고 광합성 명반응 저해제인 diuron 은 10 ppm 농도로 주당 2 ml씩 경엽에 1회 처리한 후 벼 엽신의 엽록소형광과 상대전자전달율을 측정하였다. 엽록소형광과 명반응 상대전자전달율(relative electron transport rate)은 엽록소형광 측정기(Mini-PAM, WALZ, Germany)를 이용하여 포화광 하에서 측정하였다.

F = maximal fluorescne, 광합성이 유도되고 있는 동안의 실제 형광

Fm' = maximal fluorescne(light),

광이 있는 상태에서 모든 광계II 반응 중심이 닫혀 있을 때의 최대 형광

Yield = (Fm'-F) / Fm'

ETR(Relative Electron Transport Rate)

$$= \text{Yield} \times \text{PAR} \times 0.5 \times \text{ETR-Factor}$$

UV-B 강도별 이산화티탄(TiO₂) 처리

사각포트(7×12×7 cm)에 시판 수도용 상토를 채우고 포트당 50립씩 일품벼 종자를 파종하여 15일간 재배하여 본엽 3매시 이산화티탄을 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 포트당 2 ml씩 경엽에 1회 분무 처리하였다. 이산화티탄 처리 후 비닐과 유리로 차폐하여 자연광 중의 UV-B 강도를 각각 13.6, 4.9, 0.6, 0.15 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 로 조절한 후 이산화티탄을 처리한 유묘를 배치하여 35일간 재배한 후 유묘생장을 조사하였다. 일품벼를 1/2000 와그너 포트에 재배하여 비닐과 유리로 차폐하여 자연광 중 UV-B 강도를 각각 13.6, 4.9, 0.6, 0.15 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 로 조절하고 이산화티탄을 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 주당 2 ml씩 유수형성기에 1회 경엽에 분무 처리한 후 등숙기까지 재배하며 출수기 생육과 광합성을 조사하였다. 벼 엽신의 광합성은 광합성측정기(LCi, ABI, UK)를 이용하여 출수 직후 지엽으로 부터 하위 1엽에서 3회 반복 측정하였다.

시험구는 2요인시험법으로 배치하여 수행하였고 통계분석은 SAS system(SAS Institute. USA)을 사용하였다.

프로테옴 분석

단백질 추출

일품벼 파종 15일 후 본엽 3매시 이산화티탄 20 ppm 용액을 경엽에 1회 분무 처리 후 UV-B 13.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 과 0.15 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 강도에서 35일간 재배한 균일한 벼 엽신을 프로테옴 분석을 위한 시료로 사용하였다.

균일한 벼 엽신을 채취하여 증류수로 세척한 후 막자사발에서 액체질소를 이용하여 분쇄하여 단백질 추출 시료로 사용하였다. 분쇄한 시료 5 g에 단백질 추출 용액 10 ml(15 mM HEPES, 40 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 0.1 mM PMSF)을 첨가한 후 4 M ammonium sulfate 용액 1 ml을 교반하면서 첨가한 후 65,000 g로 30분 동안 원심분리하였다. 상징액을 4°C 하에서 30분 동안 ammonium sulfate를 0.33 g/ml 농도로 첨가하여 단백질을 추출한 후 37,000 g로 30분간 원심분리하여 단백질을 침전시켰다. 추출된 단백질은 400 μl 의 resuspension buffer(20 mM HEPES, 40 mM KCl, 1 mM DTT, 0.5 mM PMSF, 0.1 mM EDTA, 10% glycerol)에 녹인 후 500 ml의 dialysis buffer(20 mM HEPES, 40 mM KCl, 1 mM DTT, 0.5 mM PMSF, 0.1 mM EDTA,

5 mM 2-mercaptoethanol, 10% glycerol)로 4°C에서 염을 2회 제거하였다. 염이 제거된 단백질 시료를 -20°C에서 1시간 동안 TCA/Acetone으로 침전·농축시킨 후 10,000 g로 15분간 원심분리하였다. 농축된 단백질은 7 M urea, 2 M Thiourea, 4%(w/v) CHAPS, 1%(w/v) dithiothreitol(DTT) 2% (v/v) pharmalyte, 1 mM benzamidine로 구성된 시료용액에 녹여 단백질전기영동의 시료로 사용하였다. 단백질 농도 측정은 Bradford(Bradford, 1976)법으로 수행하였다.

2차원전기영동 및 이미지 분석

Isoelectric focusing(IEF)을 위하여 18 cm IPG strip을 사용하였고 IPG strip은 7 M urea, 2 M thiourea, 2% CHAPS, 1% dithiothreitol(DTT), 1% pharmalyte로 구성된 재수화 용액으로 상온에서 12시간 재수화했다.

단백질 시료는 strip 당 1,000 µg을 사용하였으며 Multi-phore II system(Amersham Biosciences, Sweden)을 이용하여 20°C에서 IEF를 수행하였다. IEF 조건은 100 V에서 8,000 V까지의 도달시간 8시간 되게 하였으며, 8,000 V에서 최종적으로 80,000 Vh가 되도록 설정하였다. 2차원전기영동을 수행하기 전에 IPG strip을 1% DTT를 함유한 equilibration buffer(50 mM Tris-Cl, 6 M urea, 2% SDS, 30% glycerol)로 10분간 처리하였으며 2.5% iodoacetamide를 함유한 equilibration buffer로 다시 10분간 처리하였다. equilibration이 완료된 strip을 SDS-PAGE gel(20×20 cm, 9~16% gradient) 위에 배열시키고 PROTEAN Xi Multi Cell system(Bio-Rad, USA)을 이용하여 10°C에서 gel당 10 mA로 약 7시간 전개하였다. 2차원전기영동이 완료된 2차원 젤의 단백질은 Coomassie Blue로 염색하여 시각화하였다.

스캐닝된 이미지로부터 단백질 spot의 발현변화 분석을 위한 정량적인 분석은 PDQuest software(Version 7.0, Bio-Rad, USA)를 이용하여 수행하였다. 각 spot의 발현량은 total valid spots의 강도로 평준화(normalization)되었으며, 대조군에 비해 두 배 이상의 유의한 발현변화를 보여주는 단백질 spot을 선정하였다.

MALDI-TOF-MS 분석 및 단백질 동정

단백질 spot은 modified porcine trypsin을 이용하여 작은 단편으로 효소적으로 분해하였다. 젤 조각으로부터 SDS, 유기용매, 염색시약 등의 불순물을 제거하기 위하여 50% acetonitrile로 세척한 후 trypsin(8-10 ng/µl)을 첨가하여 8~10시간 동안 37°C에 반응시키고 5 µl의 0.5% trifluoroacetic acid의 첨가하여 단백질 단편을 분해시켰다. Trypsin에 의해 잘려진 단백질 단편들은 수용액 상태로 C18 ZipTip (Millipore, USA)을 이용하여 1~5 µl 부피로 탈염 및 농축하고 농축액은 같은 양의 50% aqueous acetonitrile에 포화된 α-cyano-4-hydroxycinnamic acid와 혼합하여 질량분석을 위하여 target plate 위에 적재하였다. 질량분석기는 Ettan MALDI-TOF(Amersham Biosciences, Sweden)를 사용하였다. Target plate 상에 적하되어 있는 단백질 단편들은 337 nm의 N₂ laser 조사에 의해 기화된 다음 20 KV injection pulse에 의해 가속되었다. 300 laser shots의 누적 peaks에 의해 각각의 단백질 spot에 대한 mass spectrum을 구하였다. 분석이 완료된 mass spectrum 수치로부터 단백질 동정을 위하여 NCBI(National Center for Biotechnology Informaton, USA) Database(<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST>)를 검색하였다.

결과 및 고찰

광량별 이산화티탄(TiO₂) 처리효과

엽록소형광과 상대전자전달율

이산화티탄에 의한 벼 엽신의 광대사 변화를 검토하기 위해 광합성유효파장(photosynthesis active radiation)의 광량을 하루 중 최고 강도시 각각 2,400, 2,200, 450 µmol m⁻² s⁻¹로 조절한 후 일품벼 유수형성기에 이산화티탄을 각각 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 경엽에 분무처리 후 광적응 상태에서 측정된 엽록소형광지수(Yield)는 표 1과 같다.

PAR 2,400 µmol m⁻² s⁻¹에 배치시킨 이산화티탄 처리구의 엽록소형광지수는 이산화티탄 10, 20 ppm 처리구에서

Table 1. Effects of the various concentrations of TiO₂ and light conditions on the chlorophyll fluorescence.

TiO ₂ (ppm)	2,400 µmol m ⁻² s ⁻¹ PAR			2,200 µmol m ⁻² s ⁻¹ PAR			450 µmol m ⁻² s ⁻¹ PAR		
	F	Fm'	Yield	F	Fm'	Yield	F	Fm'	Yield
10	165	506	0.674	162	580	0.721	118	556	0.788
20	163	519	0.686	146	561	0.740	123	567	0.783
25	151	509	0.703	129	548	0.765	108	500	0.784
30	195	462	0.578	127	547	0.768	125	586	0.787
control	163	531	0.693	132	555	0.762	142	603	0.765

무처리보다 감소하였고 PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구의 엽록소형광지수는 이산화티탄 10, 20 ppm 처리구에서 무처리보다 낮았으며, PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구의 이산화티탄 처리구의 엽록소형광지수는 이산화티탄 10, 25, 30 ppm 처리에서 무처리보다 높았다.

PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 과 PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구에서 이산화티탄 10, 20 ppm 처리는 광적응상태의 엽록소형광지수를 무처리 보다 낮추었고 PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 처리구는 무처리보다 높였다. 한편 상대적으로 고농도인 이산화티탄 25, 30 ppm 처리구는 PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 세 배치구 모두 무처리구에 비해 높았다. 이산화티탄 처리에 의해 엽록소형광지수의 변화 경향이 PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구와 PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 처리구에서 상이한 것은 광이 필수적인 이산화티탄의 특성 때문인 것으로 판단된다. 엽록소형광지수는 엽록체의 광화학적 반응의 척도로서 광적응 상태에서 측정된 엽록소형광지수는 엽록체의 광화학적 이용도와 부의 상관관계가 있는 것으로 파악된다. 따라서 이산화티탄의 작용은 노지와 유리온실의 광량인 PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 하에서는 벼 엽신의 광화학적 이용도를 높이고 유리온실내에서 75% 차광 처리하여 PAR이 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 인 광조건하에서는 오히려 광화학적 이용을 저해한 것으로 판단되어 벼 엽신에 처리한 이산화티탄의 작용에는 광량이 영향을 미치는 것으로 사료된다.

엽록소형광은 광합성전자전달계, 특히 광계 II의 엽록소 a에서 전자전달계의 흐름상태에 따라 특징적으로 발산되는 빛의 특성이다(Sayed, 2003). 광합성 전자전달계에 영향을 줄 수 있는 광, 온도, 건조, 제초제 등의 요인은 직간접적으로 엽록소 형광발산에 영향을 준다(Nordenkampe *et al.*, 1989; Gleiter & Renger, 1993). 광촉매인 이산화티탄의 작용에는 태양광이 필수적이며 특히 에너지가 높은 단파장광이 효과적이다. 이산화티탄과 단파장광에 의한 물 분해 반응의 기작은 $\text{TiO}_2 + 2h\nu \rightarrow 2e^- + 2\text{H}^+$, $\text{H}_2\text{O} + 2h^+ \rightarrow (1/2)\text{O}_2 + \text{H}^+$, $2\text{H}^+ + 2e^- \rightarrow \text{H}_2$ 이며 전체적으로는 $\text{H}_2\text{O} + 2h\nu \rightarrow (1/2)\text{O}_2 + \text{H}_2$ 와 같다(Fujishima *et al.*, 2000).

따라서 광량을 조절한 환경하에서 이산화티탄 처리는 벼 엽신의 엽록소형광지수를 변동시켜 이산화티탄은 벼 엽신의 광화학적 이용도에 영향을 준 것으로 판단되며 벼 엽신에 대한 이산화티탄의 작용은 광량에 따라 달라질 수 있는 것으로 생각된다.

이산화티탄 처리에 의한 벼 엽신의 광합성 명반응에 대한 영향을 검토하기 위해 이산화티탄 10 ppm과 명반응 전자전

달저해제인 diuron 10 ppm을 각각 처리한 벼 엽신의 광합성 명반응 광계 II의 상대전자전달율(relative electron transport rate)을 측정한 결과는 그림 1과 같다.

노지조건인 PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구에서 광합성 명반응의 상대전자전달율은 이산화티탄 10 ppm 처리에서 평균 45 %, 무처리 32.4 %, diuron 10 ppm 처리구에서 15.3%로 이산화티탄 처리는 광합성 명반응의 상대전자전달율을

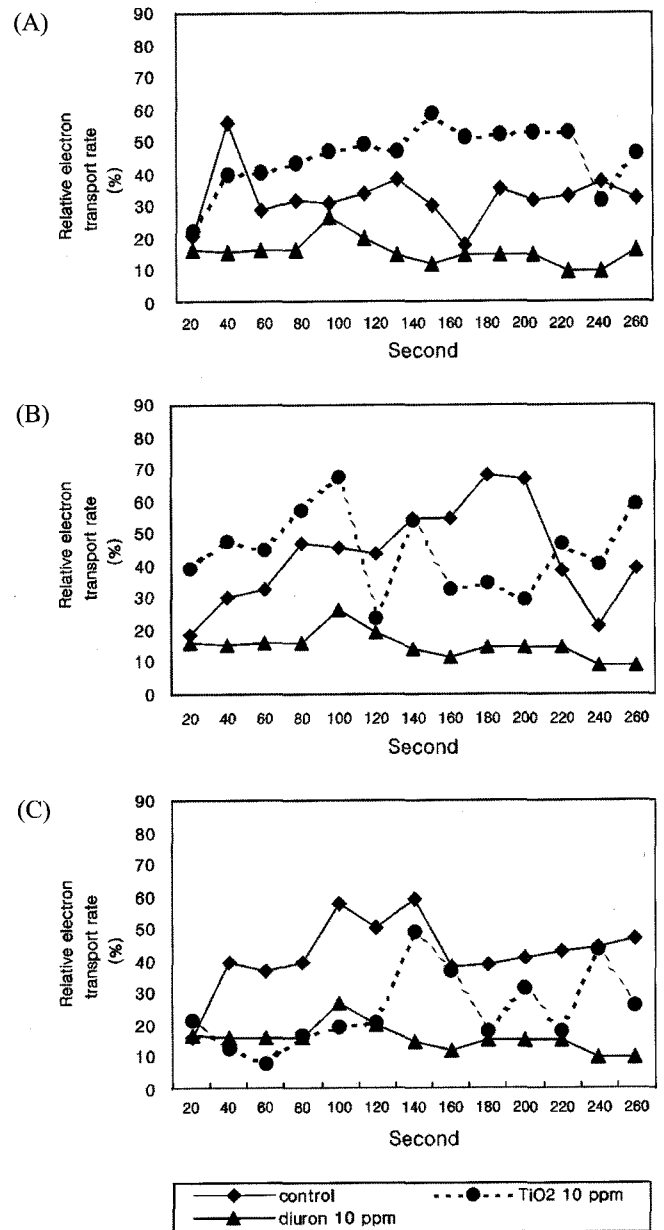


Fig. 1. Chlorophyll fluorescence induction curves with relative electron transport rate in the rice leaves treated with TiO_2 and diuron. (A) 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, (B) 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR, (C) 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR.

높였다. 유리온실 조건인 PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구의 이산화티탄 처리구의 상대전자전달율은 평균 43.2%, 무처리구 44.4%로 이산화티탄 처리구와 무처리구간에 비슷한 값을 보였으며, 유리온실내 75% 차광조건인 PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구에서는 이산화티탄 처리 24.2%, 무처리 42.1%로 이산화티탄 처리구가 무처리구보다 낮게 경과하였다.

광량을 조절한 각 처리구의 UV-B 강도는 PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구는 13.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$, PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구는 0.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$, PAR 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구는 0 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 이었다.

즉, 이산화티탄을 처리한 벼 엽신의 광합성 명반응의 상대전자전달율은 광량이 높을수록 높은 경향이었고 각 광량별 처리구의 UV-B 강도와도 비슷한 경향이였다. 이것은 잎 표면에 처리한 이산화티탄과 UV-B가 작용한 결과로 판단되며 UV-B가 0.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 이하 수준인 조건에서는 이산화티탄 작용이 감소할 수 있을 것으로 생각된다.

PAR 2,400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구보다 PAR 2,200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 배치구의 상대전자전달율이 낮게 경과한 것은 광량의 차이보다 UV-B 강도가 더 큰 영향을 끼쳤던 결과로 사료된다.

**UV-B 강도별 이산화티탄(TiO₂) 처리 효과
벼 유묘생장, 출수기 생육과 광합성**

벼에 대한 이산화티탄 처리시 UV-B의 영향을 검토하기 위해 자연광 중의 UV-B 강도를 각각 13.6, 4.9, 0.6, 0.15 $\text{KJ m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 조절하고 일품벼 파종 15일 후 본엽 3매시 이산화티탄을 각각 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 처리하여 35일간 성장시킨 후 벼 유묘의 성장특성을 조사한 결과는 표 2와 같다.

노지 조건인 UV-B 13.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 배치구에서 이산화티탄 처리로 벼 유묘의 초장, 생체중, 건물중에 차이가 없었고 UV-B 4.9, 0.6 $\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 처리구에서 이산화티탄 처

Table 2. Growth characteristics of rice seedlings with different TiO₂ concentrations and UV-B intensities.

UV-B intensity ($\text{KJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$)	TiO ₂ (ppm)	Plant height (cm)	Fresh weight (g/10 seedlings)	Dry weight (g/10 seedlings)
13.6	10	39.2 a [†]	4.51 a	0.55 a
	20	35.6 a	3.91 a	0.63 a
	25	37.2 a	3.96 a	0.65 a
	30	37.6 a	3.75 a	0.56 a
	control	35.5 a	3.75 a	0.60 a
4.90	10	40.5 a	3.82 a	0.62 ab
	20	39.3 ab	3.97 a	0.59 ab
	25	38.1 ab	3.66 a	0.45 b
	30	38.5 ab	4.39 a	0.68 ab
	control	36.6 b	3.96 a	0.77 a
0.60	10	40.0 c	3.76 a	0.50 b
	20	42.9 a	4.00 a	0.66 ab
	25	42.7 ab	4.10 a	0.62 ab
	30	40.3 bc	4.18 a	0.69 a
	control	38.0 c	3.77 a	0.66 ab
0.15	10	41.0 a	3.83 a	0.59 ab
	20	40.7 a	3.29 a	0.45 b
	25	40.8 a	4.02 a	0.64 ab
	30	40.2 a	3.69 a	0.63 ab
	control	37.9 b	3.96 a	0.70 a

[†]The common letters within a UV-B intensity mean no significant difference at 5% probability level by Duncan's multiple range test.

리로 초장이 증가하였다. UV-B 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 초장은 증가하였고 건물중은 감소되었다.

벼 유묘의 성장특성과 같이 UV-B의 강도를 각각 13.6, 4.9, 0.6, 0.15 KJ m⁻² s⁻¹로 조절하고 유수형성기에 이산화티탄을 10, 20, 25, 30 ppm 농도로 처리하여 등숙기까지 재배하며 출수기 생육을 조사한 결과는 표 3과 같다.

노지 자연광 조건인 UV-B 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 이산화티탄 처리로 이삭길이는 길어졌다. 이삭무게는 UV-B

4.9, 0.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 차이가 없었고 UV-B 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 이산화티탄 처리로 증가하였다. 간장은 UV-B 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구의 이산화티탄 20 ppm 처리에서만 컸다.

UV-B 강도와 이산화티탄 처리 농도에 따른 벼 유묘생장과 이삭형질에 대한 분산분석 결과는 표 4와 같다. UV-B 강도는 초장, 간장, 수장, 수중에서 유의성이 인정되었고 이산화티탄 농도는 초장, 간장에서 유의성이 인정되었다.

Table 3. Changes of rice plant characters associated with panicle at different TiO₂ levels and UV-B intensities.

UV-B intensity (KJ m ⁻² day ⁻¹)	TiO ₂ (ppm)	Panicles no./ plant	Culm height (cm)	Panicle length (cm)	Panicles weight (g/plant)
13.6	10	18.0 ab [†]	62.8 b	20.4 bc	3.71 a
	20	22.3 a	72.9 a	21.8 a	4.10 a
	25	15.0 b	61.5 b	21.1 ab	3.89 a
	30	20.7 ab	63.7 b	20.4 bc	3.81 a
	control	20.3ab	63.9 b	19.7 c	2.81 b
4.90	10	23.3 a	63.6 a	19.4 a	3.10 a
	20	21.0 a	64.5 a	20.3 a	3.43 a
	25	22.3 a	63.3 a	19.6 a	3.16 a
	30	20.7 a	63.9 a	19.5 a	3.08 a
	control	22.0 a	62.7 a	19.9 a	2.96 a
0.60	10	13.3 a	71.2 a	20.4 a	2.26 a
	20	11.7 a	67.7 ab	19.8 a	2.15 a
	25	10.3 a	66.8 ab	20.6 a	1.95 a
	30	10.7 a	64.6 b	20.2 a	1.95 a
	control	14.7 a	69.9 ab	20.6 a	2.01 a
0.15	10	15.0 a	73.1 a	19.5 a	1.57 b
	20	14.0 a	72.3 a	20.0 a	1.79 b
	25	13.3 a	71.7 a	19.7 a	1.94 b
	30	12.7 a	68.4 a	21.1 a	2.59 a
	control	12.7 a	72.3 a	21.5 a	1.98ab

[†]Mean separation within a column by Duncan's multiflur range test at 5% level.

Table 4. Mean square values and significance of analysis of variance on the growth characters of rice seedlings and plant characters associated with panicle between UV-B intensities and TiO₂ concentrations.

Source of variation	UV-B intensity	TiO ₂ concentration	Interaction (U×T)
Plant height	9.65*	7.16**	1.58
Fresh weight	0.42	0.45	1.30
Dry weight	0.22	2.16	1.94
Culm height	20.9**	6.3***	3.4**
Panicle length	8.3*	0.4	0.21
Panicle weight	105.9***	2.02	0.55

*, **, *** significant at the 0.05, 0.01, 0.001 probability level, respectively.

UV-B 강도와 이산화티탄 농도의 상호작용은 간장에서만 인정되어 간장은 UV-B 강도에 따라 이산화티탄 처리농도에 대한 반응이 다른 것으로 나타났다.

일품벼의 유수형성기에 이산화티탄을 10, 20, 25, 30 ppm 농도별로 처리한 후 출수 직후 지엽으로 부터 하위 1엽에서 3회 반복 측정된 벼 엽신의 광합성은 그림 4와 같다.

벼 엽신의 광합성량은 노지 광 조건의 이산화티탄 20 ppm

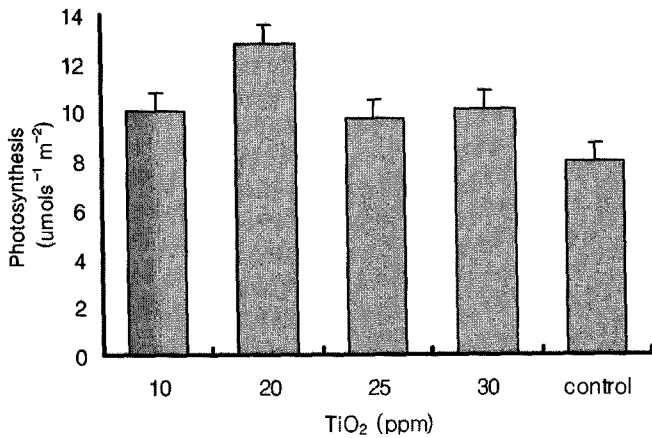


Fig. 4. Changes of photosynthesis of rice leaves with different TiO₂ concentrations under the 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B.

처리구에서 증가하였다. 광합성은 노지의 UV-B 조건인 13.6 KJ m⁻² day⁻¹에서 증가하였고 UV-B 4.9, 0.6, 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ 처리구는 다소 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 나타내지 않았다.

벼 엽신 프로테오믹 해석

벼 엽신에 처리한 이산화티탄에 의한 프로테오믹 발현에 미치는 UV-B의 영향을 검토하기 위해 파종 15일 후 엽령 3매시 이산화티탄 20 ppm 처리한 벼 유묘에 노지 자연 UV-B 강도인 13.6 KJ m⁻² day⁻¹을 대조로 하고 UV-B 강도를 99% 줄인 0.15 KJ m⁻² day⁻¹로 조절하는 처리를 하여 35일간 성장시킨 후 잎의 단백질을 추출하여 2차원 전기영동으로 분리한 gel의 이미지는 그림 5, 6과 같다.

이산화티탄 처리 후 자연광 중의 UV-B를 저수준으로 조절하여 발현량에 차이 난 단백질 spot 중 동정된 것은 25개였다.

UV-B를 저수준으로 조절하여 발현이 감소한 단백질 spot 부분을 확대한 것은 그림 7과 같다. 이들은 spot 547, 583, 671, 771, 1252, 1405, 1428, 1525, 1575, 1623, 1636, 1723, 1969, 2026, 2133, 2206, 2252로 17개였고 발현 강도를 대조와 비교한 것은 그림 8과 같다.

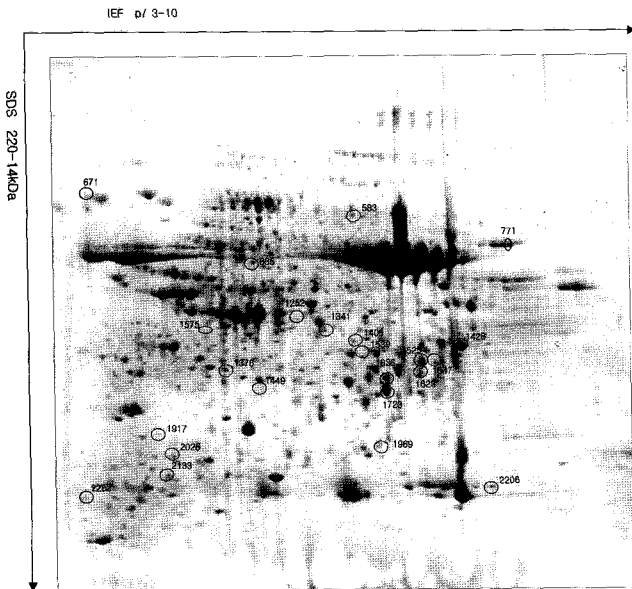


Fig. 5. 2-DE proteomic map of rice leaves with TiO₂ 20 ppm under 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B. In first dimension, protein was loaded on 18cm IPG strip with linear gradient of pH 3~10. In second dimension, 9~16% gradient SDS-polyacrylamide gel was used. Proteins were visualized by Coomassie Blue staining.

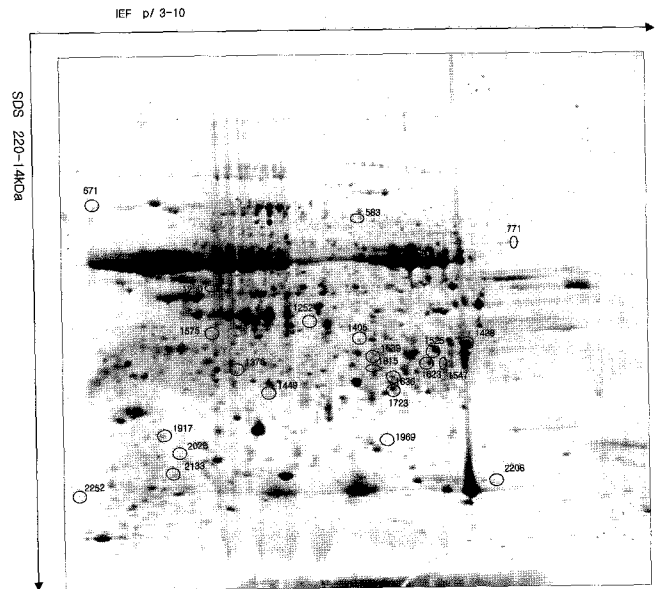


Fig. 6. 2-DE proteomic map of rice leaves with 20 ppm TiO₂ under 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B. In first dimension, protein was loaded on 18cm IPG strip with linear gradient of pH 3~10. In second dimension, 9~16% gradient SDS-polyacrylamide gel was used. Proteins were visualized by Coomassie Blue staining.

UV-B를 저수준으로 조절하여 발현이 증가한 spot은 1376, 1449, 1539, 1917로 4개였고, 이 단백질의 발현 정도를 비교한 것은 그림 9와 같다.

동정된 단백질 중 신생 합성된 spot은 885, 1250, 1341, 1815로 4개였는데, spot 885와 1341는 UV-B 강도가 13.6 KJ m⁻² day⁻¹에서 신생합성되었고, spot 815와 1250는 UV-B 강도 0.15 KJ m⁻² day⁻¹에서 신생 합성되었다. 즉 이산화티탄 처리 후 자연광 중의 UV-B를 저수준으로 조절한 결과

68%의 단백질 spot의 발현이 감소하였고 각각 16%의 단백질 spot의 발현이 증가 또는 신생 합성되었다.

발현이 변동된 단백질 spot 중 동정된 단백질을 대사기능과 특성별로 분류한 것은 표 5와 같다.

발현이 감소한 단백질 중 광합성과 관련된 단백질은 Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate, ribulose biphosphate carboxylase large chain, ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase이었다.

단백질 spot 1525, 1547, 1623, 1636, 1723, 1969, 2026, 2133는 Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate로 동정되었고 이산화티탄 20 ppm 처리 후 UV-B 저수준 조절 처리로 발현이 모두 감소하였다.

Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate는 NCBI 단백질 D/B의 Accession Number 가 56966764이고 분자량이 52.8 kDa, pI(Iso electric point)가 6.1였지만 벼엽신에 이산화티탄 20 ppm 처리 후 UV-B를 저수준으로 조절 처리시 분자량 약 20~40 kDa, pI는 4~4.5와 6.5~7.5범위에서 8개로 발현되었다. 이와 같은 Rubisco는 유전자 정보 번역후 수정(posttranslation)에 의한 이형(isoform) 단백질이다(Houtz & Portis, 2003).

많은 단백질들은 유전정보 번역후 수정에 의해 고유의 기능을 한다. 효소의 기능을 파악하기 위해서는 그 효소의 유전정보 번역 후 수식을 이해하는 것이 매우 중요하다. 단세포 녹색 조류(藻類)인 *Chlamydomonas*의 Rubisco는 큰소단위체와 작은소단위체의 몇 가지 유전정보 번역후 수정형태를

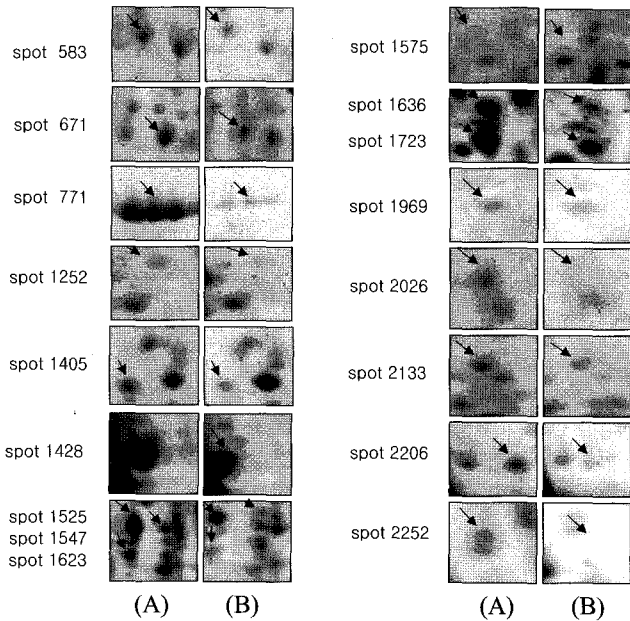


Fig. 7. Close-up views of the regions of the 2-DE gels that show differences in protein expression of rice leaves with TiO₂ 20 ppm under the reduced UV-B intensity. (A) 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B, (B) 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ UV-B.

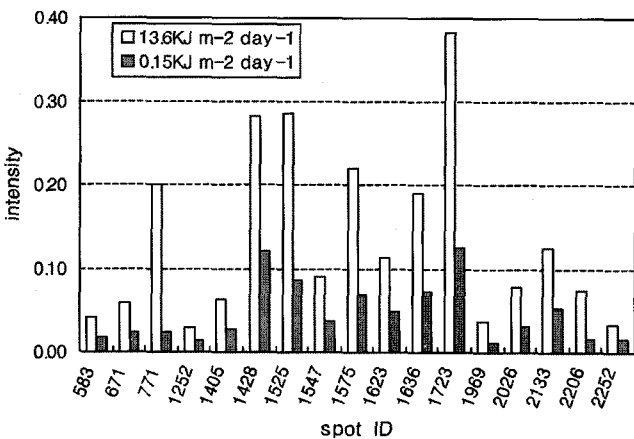


Fig. 8. Down-regulated protein patterns under the TiO₂ 20 ppm and reduced UV-B intensity.

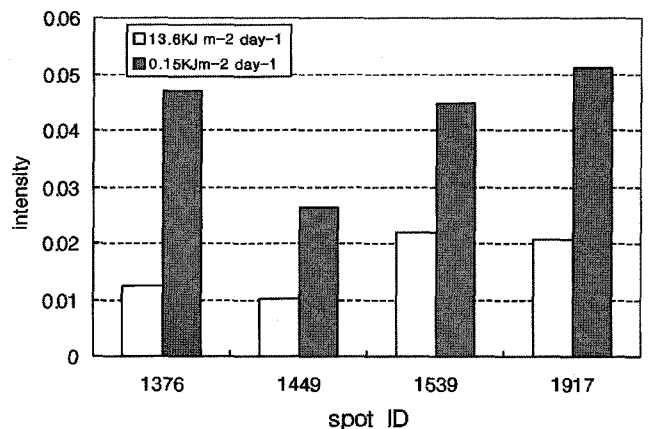


Fig. 9. Up-regulated protein patterns with the TiO₂ 20 ppm under the reduced UV-B intensity.

Table 5. Protein identification by peptide mapping using MALDI-TOF mass spectrometer with NCBI protein database.

Spot ID	Accession no. (gi)	Protein name	Sequence coverage (%)	M _r (kDa) /pI	Amino acid sequence
Down-regulated proteins					
Photosynthesis					
1428	57283874	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	26	52.7/6.2	LTYYTPEYETK
1525	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	14	52.8/6.1	TFQGPPHGIQVER
1547	42795561	Ribulose1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; rbcL	28	53.6/6.3	DTDILAAFR
1575	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	16	52.8/6.1	DTDILAAFR
1623	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	20	52.8/6.1	DTDILAAFR
1636	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	17	52.8/6.1	DTDILAAFR
1723	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	16	52.8/6.1	DTDILAAFR
1969	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	14	52.8/6.1	AMHAVIDR
2026	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With 2-Carboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	22	52.8/6.1	LTYYTPEYETK
1405	57283874	Ribulose biphosphate carboxylase large chain		52.7/6.2	LTYYTPEYETK
2133	56966764	Chain E, Crystal Structure Of Activated Rice Rubisco Complexed With arboxyarabinitol-1,5-Bisphosphate	22	52.8/6.1	LTYYTPEYETK
2206	347451	Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase	20	19.6/9.0	STAGMPVAR
Carbohydrate Metabolism					
583	54606800	NADP dependent malic enzyme	27	65.3/5.7	GLAFNER
Stress/Defense Response					
771	33440012	Catalase	32	61.3/8.8	GPILLEDYHLVEK
Secondary Metabolism					
1252	18250364	Isoflavone reductase-like protein	59	33.4/5.6	ILVVGGTGYIGR
Miscellaneous					
671	31432537	OSJNBa0057M08.23	24	33.9/9.0	TMTTVLRQMAGT VTR
2252	28209481	Expressed protein	45	16.5/4.2	GFVADDDAFAR

Table 5. Continued.

Spot ID	Accession no. (gi)	Protein name	Sequence coverage (%)	M _r (kDa) /pI	Amino acid sequence
Up-regulated proteins					
Stress/Defense Response					
1539	13249140	Glucanase	38	34.6/5.9	NNIQAYPSVSFR
Energy/Electron Transport					
1917	50931457	ATP synthase beta subunit	19	53.9/5.3	VVDLLAPYR
Miscellaneous					
1376	56784597	Hypothetical protein	23	47.5/5.4	VDLPPEHNGDC RGCYCAER
1449	31433594	Hypothetical protein LOC_Os10g41910	14	34.1/5.7	AGPARPCRASPA CWWGGPGTAR
Newly synthesized proteins					
Photosynthesis					
1815	57283874	Ribulose biphosphate carboxylase large chain	22	52.7/6.2	LTYYTPEYETK
Miscellaneous					
885	55295992	Hypothetical protein	36	8.0/10.8	QPGGLGVPRHA PR
1250	50252695	Hypothetical protein	37	21.2/9.8	SQNLTVGNDVE GGGGACK
1341	77553166	Expressed protein	38	20.5/8.3	QGFSFAAMEEFT FPSVAPER

가지고 있다. *Chlamydomonas* Rubisco는 유전정보 번역 후 *N^ε-Methyl-Met^S-1*, *4-Hydroxy-Pro^L-104 and-151*, *S^γ-Methyl-Cys^L-256*와 *-369*, *L-subunit*의 471 잔기에서 수정이 이루어진다(Mizohata *et al.*, 2002).

Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase(Rubisco)는 광합성의 Calvin cycle의 효소이다. Rubisco는 가스상태인 CO₂가 RuBP(ribulose 1,5-bisphosphate)에 결합하는 것을 촉매하여 2분자의 3-PGA를 생성한다. 고등식물에서 Rubisco는 분자량이 52~55 kDa인 8개의 큰소단위체(Large subunit)와 분자량이 12~15 kDa인 8개의 작은소단위체(Small subunit)로 구성되어 있는 복합체이다. Rubisco는 다양한 환경하에서 광합성에 영향을 끼치므로 Rubisco는 깊이 연구되어 있다(Parry *et al.*, 1997). Rubisco 활성은 촉매적인 큰소단위체의 lysine 201 잔기의 가역적인 carbamylation(lysine 잔기 + CO₂ → Mg²⁺ 결합)을 통해 광의 강도, CO₂와 O₂량의 변화에 따라 변동될 수 있다(Miziorko & Lorimer, 1983).

시금치, 담배, *Synechococcus*에서 2-carboxyarabinitol 1,5-bisphosphate(2-CABP)와 결합된 활성화된 Rubisco 결정구조가 보고되어 있다(Andersson, 1996; Schreuder *et al.*, 1993). 2-CABP는 Rubisco 활성부위에 강하게 결합되어 RuBP의 carboxylation과 oxygenation에 저해적으로 작용한다(Pierce, 1980).

녹색식물에서 Rubisco의 큰소단위체는 엽록체 *rbcL* gene에 의해 암호화되고 스트로마에서 합성되는 반면, 작은소단위체는 핵의 *rbcS* gene들에 의해 코드화되고 세포질에서 합성된다. 작은소단위체들은 유전정보 번역후 스트로마로 운반되고 큰소단위체들과 복합체를 형성한다(Mizohata *et al.*, 2002). *Chlamydomonas* Rubisco는 큰소단위체의 주요 sequence가 고등식물과 약 90% 유사하고, 유전조작이 용이하고 신속하여 고등식물의 Rubisco의 구조와 기능의 관계를 이해하는데 가장 실용적인 모델이며 많은 Rubisco 연구는 *Chlamydomonas* Rubisco 돌연변이체를 이용하여 수행되었다(Spreitzer, 1998).

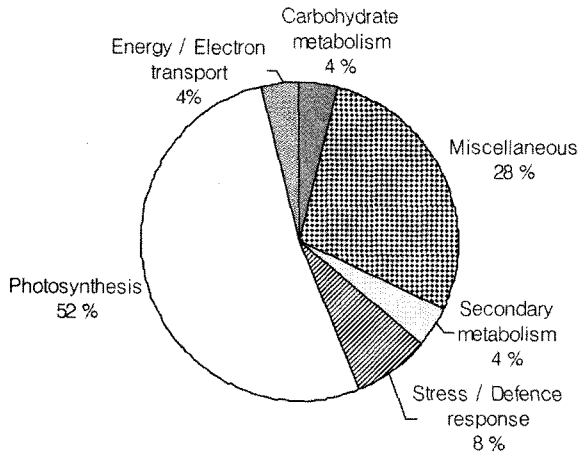


Fig. 10. Functional distribution of identified proteins expressed in rice leaves with the TiO₂ 20 ppm and under the reduced UV-B intensity.

한편, superoxide dismutase, peroxidase와 함께 식물체 내 항산화 방어시스템의 중요 효소로 UV-B에 의해 생성된 활성산소를 무해화 시키는 항산화 방어체계에 관여하는 효소인(Santos *et al.*, 2004) catalase(spot 771) UV-B 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ 저수준으로 조절 처리시 대조구인 UV-B 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ 처리보다 발현이 감소되었다.

틸라코이드 막에 고정된 단백질로서 ATP 합성장소인(Grossman *et al.*, 1995) ATP synthase의 ATP synthase beta chain(spot 1917)과 바이러스, 곰팡이의 침입, 에틸렌 처리로 유발되는(De Carvalho *et al.*, 1992; Wubben *et al.*, 1996) glucanase(spot 1539)는 UV-B 저수준 처리시 발현이 증가하였다.

이산화티탄 20 ppm 처리 후 자연광 중의 UV-B를 99% 차단시켰을 때 광합성 Calvin cycle에서 CO₂ 결합을 촉매하는 결정구조 Rubisco의 chain E 발현이 주로 감소한 것은 이산화티탄이 벼 엽신의 CO₂ 결합을 촉매하는 효소의 활성에 영향을 주었기 때문이고 이 작용에는 자연광 중의 UV-B 강도가 밀접한 관련이 있기 때문으로 판단된다.

이산화티탄을 20 ppm 처리 후 UV-B를 저수준으로 조절한 벼 엽신에서 발현이 변동된 단백질 중 동정된 단백질을 대사기능과 특성별로 구분한 것은 그림 10과 같다. 동정된 단백질 중 광합성과 관련된 것(spot 1405, 1428, 1525, 1547, 1575, 1623, 1636, 1723, 1815, 1969, 2026, 2133, 2206)이 52%, 스트레스 및 스트레스 방어와 관련된 것(spot 771, 1539) 8%, 탄수화물 대사 관련된 것(spot 583) 4%, 2차 대사 관련된 것(spot 1252) 4%, 에너지 및 전자전달 관련된 것(spot 1917) 4%였고 대사기능이 알려지지 않은 것

과 기타 기능을 가진 것이(spot 671, 885, 1250, 1341, 1376, 1449, 2252) 28%였다.

이상과 같이 벼 엽신에 처리한 이산화티탄은 일정 수준 이상의 광과 UV-B가 있는 조건에서는 광적응상태의 엽록소형광지수를 낮추었고 상대전자전달율을 높였으며 노지의 광조건에서 광합성을 촉진하였다. 또한 이산화티탄 처리 후 UV-B 강도를 감소시킨 경우 벼 엽신의 단백질 중 광합성의 Calvin cycle 중 CO₂ 결합을 촉매하는 효소인 결정구조 Rubisco의 chain E 발현이 주로 감소한 것은 이산화티탄이 벼 엽신의 CO₂ 결합을 촉매하는 효소의 활성에 영향을 주었기 때문이고 이 작용에는 자연광 중의 UV-B 강도가 밀접한 관련이 있기 때문으로 판단된다. 향후 이산화티탄 처리에 의한 작물에 대한 보다 정밀한 작용기작은 2차 대사물질과 유전자 발현 분석 등을 통해 구체적으로 검토되어야 할 것이며 포장에서의 벼 수량 및 수량 구성요소 변화에 대해서도 면밀한 검토가 필요하다고 판단된다.

적 요

태양광과 반응하여 독특한 광화학적 작용을 하는 이산화티탄(TiO₂)을 벼 잎 표면에 처리하였을 때 벼 엽신의 광합성 대사에 대한 영향을 검토하고 프로테옴 분석을 통해 생리변화를 구명하고자 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 광합성유효광장이 2,400 μmol m⁻² s⁻¹과 2,200 μmol m⁻² s⁻¹ 배치구에서 이산화티탄 10, 20 ppm 처리는 광적응상태의 엽록소형광지수(Yield)를 낮추었고 450 μmol m⁻² s⁻¹ 처리구는 엽록소형광지수를 높였다.
2. 노지조건인 PAR 2,400 μmol m⁻² s⁻¹ 배치구에서 광합성 명반응의 상대전자전달율은 이산화티탄 10 ppm 처리에서 평균 45 %, 무처리 32.4 %, diuron 10 ppm 처리구에서 15.3%로 이산화티탄 처리는 광합성 명반응의 상대전자전달율을 높였다.
3. UV-B 4.9, 0.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 이산화티탄 처리로 초장이 증가하였고 UV-B 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 초장은 증가하고 건물중은 감소하였다.
4. 광합성은 노지의 UV-B 조건인 13.6 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구에서 이산화티탄 처리로 증가하였고 UV-B 4.9, 0.6, 0.15 KJ m⁻² day⁻¹ 배치구는 다소 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 나타내지 않았다.
5. 이산화티탄 처리 후 자연광 중의 UV-B를 99% 차단하여 저수준으로 조절한 결과 68%의 단백질 발현이 감소하였고 각각 16%의 단백질 발현이 증가 또는 신생 합성되었다.

6. 이산화티탄 20 ppm 처리 후 자연광 중의 UV-B를 99% 차단시켰을 때 주로 광합성 Calvin cycle에서 CO₂ 결합을 촉매하는 결정구조 Rubisco의 chain E 발현이 감소하였다.

인용문헌

- Anandan, S. and M. J. Yoon. 2003. Heteropolyacid-encapsulated TiHY zeolite as an inorganic photosynthetic reaction center mimicking the plant systems. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 160 : 181-184.
- Andersson, I. 1996. Large Structures at High Resolution : The 1.6 Å Crystal Structure of Spinach Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase Complexed with 2-Carboxyarabinitol Bisphosphate. *Journal of Molecular Biology*. 259(1) : 160-174.
- Angela, G., N. Rincon, C. Pulgarin, N. Adler, and P. Peringer. 2001. Interaction between *E. coli* and DBP-precursors-dihydroxybenzen isomers in the photocatalytic process of drinking-water disinfection with TiO₂. *Journal of Photochemistry and Photobiology. A : Chemistry*. 139(2-3) : 233-241.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72 : 248-254.
- Chen, D. and A. K. Ray. 1998. Photodegradation kinetics of 4-nitrophenol in TiO₂ suspension. *Water Research*. 32 : 3223-3234.
- De Carvalho, F., G. Gheysen, S. Kushnir, M. Van Montagu, D. Inze, and C. Castresana. 1992. Suppression of β-1, 3-glucanase transgene expression in homozygous plants. *European Molecular Biology Organization Journal*. 11 : 2595-2602.
- Fujishima, A., T. N. Qao, and D. A. Tryk. 2000. Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C : Photochemistry Reviews* 1 : 1-21.
- Gleiter, H. M. and G. Rengr. 1993. A simple fluorometric detection of photosystem II inhibitors. pp. 69-74 in Boger and G. Sandmann, ed. *Target Assay for Modern Herbicides and Related Phytotoxic Compounds*. Lewis Pub. New York.
- Grossman, A. R., D. Bhaya, K. E. Apt, and D. M. Kehoe. 1995. Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis : diversity, control and evolution. *Annual Review of Genetics*. 29 : 231-288.
- Houtz, R. L. and A. R. Potris Jr. 2003. The life of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase-posttranslational facts and mysteries. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 414 : 150-158.
- Hur, J. S., S. O. Oh, K. M. Lim, J. S. Jung, J. W. Kim, and Y. J. Koh. 2005. Novel effects of TiO₂ photocatalytic ozonation on control of postharvest fungal spoilage of kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*. 35 : 109-113.
- Koide, S. and T. Nonami. 2007. Disinfecting efficacy of a plastic container covered with photocatalyst for postharvest. *Food Control*. 18 : 1-4.
- Miziorko, H. M and Lorimer, G. H. 1983. Ribulose bisphosphate carboxylase oxygenase. *Annual Review of Biochemistry*. 52 : 507-535.
- Mizohata, E., H. Matsumura, Y. Okanp, M. Kumei, H. Takuma, J. Onodera, K. Kato, N. Shibata, T. Inoue, A. Yokoda, and Y. Kai. 2002. *Journal of Molecular and Biology*. 316 : 679-691.
- Nordenkampe, B., S. P. Long, N. R. Baker, G. Oquist, U. Schreiber, and E. G. Lechner. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field : A review of current instrumentation. *Functional Ecology*. 3 : 497-514.
- Pandey, A. and M. Mann. 2000. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*. 405 : 837-846.
- Parry, M. A. J., P. J. Andralojc, S. Parmar, A. J. Keys, D. Habash, M. J. Paul, R. Alfred, W. P. Quick, and J. C. Servatias. 1997. Regulation of Rubisco by inhibitors in the light. *Plant, Cell and Environment*. 20 : 528-534.
- Pierce, J., N. E. Tolbert, and Barker. R. 1980. Interaction of ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase with transition-state analoge. *Biochemistry*. 19 : 934-942.
- Santos, I., F. Fialgo, J. A. Almeida, and R. S. Alema. 2004. Biochemical and ultrastructural change in leaves of potato plants grown under supplementary UV-B radiation. *Plant Science*. 167 : 925-935.
- Sayama, K., K. Mukasa, R. Abe, Y. Abe, and H. Arakawa. 2002. A new photocatalytic water splitting system under visible light irradiation mimicking a Z-scheme mechanism in photosynthesis. *Journal of photochemistry and Photobiology. A : Chemistry*. 148 : 71-77.
- Sayed, O. H. 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. *Photosynthetica*. 41 : 321-330.
- Schreuder, H. A., Knight. S, Curmi. P. M. G., Andersson. I., Cascio. D., Sweet, R., Branden. C. I., and Eisenberg. D. 1993. Crystal structure of activated tobacco rubisco complexed with the reaction-intermediated analogue 2-carboxyarabinitol 1,5-bisphosphate. *Protein Science*. 2 : 1136-1145.
- Seven, O., B. Dindar, S. Aydemir, D. Metin, M. A. Ozinel, and S. Icli. 2004. Solar photocatalytic disinfection of a group of bacteria and fungi aqueous suspensions with TiO₂, ZnO and Sahara desert dust. *Journal of Photochemistry and Photobiology. A : Chemistry*. 165 : 103-107.
- Spreitzer, R. J. 1998. Genetic engineering of rubisco. In the molecular biology of Chloroplasts and Mitochondria in *Chlamydomonas*. pp. 515-527, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Wubben, J. P., M. H. A. J. Joosten, V. K. JAL, and M. D. Wit. 1992. Subcellular localization of plant chitinases and 1, 3-β-glucanases in *Cladosporium fulvum* (*syn. Fuvia fulva*)-infected tomato leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 41 : 23-32.