

## CAPS marker에 의한 *Arabidopsis*의 자외선 B 감수성 유전자 지도작성

박홍덕<sup>1</sup> · 김종봉\*

대구가톨릭대학교 생물학과

### Mapping of UV-B sensitive gene in *Arabidopsis* by CAPS markers

HD Park<sup>1</sup> and JB Kim\*

Department of Biology, Catholic University of Daegu, Kyeonbuk 712-702, Korea

#### Abstract

A mutant *Arabidopsis thaliana* which is very sensitive to Ultraviolet-B(UV-B) radiation has been isolated by ethylmethane sulfonate(EMS) mutagenesis. Genetic cross proved the UV-sensitive gene(*uvs*) to segregate as a single Mendelian locus. For mapping of *uvs*, we crossed *Arabidopsis thaliana* Lansberg with *uvs* plant(Columbia), and made F2 plants by F1 selfcross. We designed 10 kinds of CAPS marker primers. Each primers amplifies a single mapped DNA sequence from *uvs* and Lansberg erecta ecotyres. Also identified was at least one restriction endonuclease for each of these PCR product that generates ecotype-specific digestion pattern. We got crossing over value of UB-sensitivity and each CAPS marker which located on different chromosome arm. The value of crossing over showed that *uvs* was linked to LFY3 which was on chromosome 5.

**Key words** – *Arabidopsis*, ultraviolet, CAPS marker, Mapping

#### 서 론

자외선은 다른 생물에서와 마찬가지로 식물에게도 돌연변이를 유발시키고 단백질을 불활성화 시키며, aromatic amino acid에 흡수되어 단백질기능에 손상을 주거나[6], peroxidation을 통하여 lipid에 손상[12]을 준다. 또한 간접적으로 superoxide radical이나 hydroxy radical과 같은 자유라디칼을 생성케 하므로 손상을 입히기도 한다[9]. 광합성을 억제시킨다[21] 곡물 생산능력을 감소시키기도 한다[4].

이에 대하여 생물들은 다양한 방어기구를 가지고 있으며, 태양광선의 노출이 훨씬 많은 식물의 경우 동물보다

자외선에 대한 저항력이 크다. 이는 식물들이 DNA repair 기능에 의하여 자외선 손상을 회복[11]하는 것 이외에도 식물의 경우 잎이 두꺼워지거나[19] cotyledon의 형태가 변하기도 하며(Wilson and Greenberg, 2000), flavonoid와 같은 색소를 생성하여 자외선에너지를 흡수함으로써 자외선에 의한 손상을 감소시키기 때문인것으로 알려졌다[14,15]. 그러나 식물의 이러한 여러 가지 방어기작에 대하여 분자차원에서 구체적인 반응과정이나 기작은 어떻게 이루어지는지 분명하게 밝혀져 있지 않다. 특히 자외선B에 대한 방어기작과 관련하여, 방어기구의 기반이 되는 유전자의 차원에서 효모나 박테리아 등을 대상으로 한 DNA손상과 회복기구에 대하여 어느 정도 규명되어 있지만[3] 또 다른 중요 방어기구인 flavonoid와 같은 색소형성이나 free radical제거

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 053-850-3775, Fax : 053-850-3775  
E-mail : jbkim@catagu.ac.kr

등의 기반이 되는 유전자들에 관해서는 밝혀져 있지 않다.

한편, 옥수수[5], 보리[22], *Arabidopsis thaliana*[20]등에 대하여 restriction fragment polymorphism(RFLP)이나 RADP 등을 이용하여 genetic map을 보고하였으며, 특히 Konieczny와 Ausubel[가]은 *Arabidopsis*에서 RADP의 random primer가 아닌 physical map 및 염기서열이 알려진 유전자들의 염기서열을 PCR maker로 사용하고 PCR product에 restriction enzyme를 처리하여 gene map을 작성하는 Cleaved Amplified Polymorphic Sequence(CAPS)방법을 보고하였다. 이는 RELP의 경우 기존의 RELP map이 밝혀진 line과 mutation line을 교잡하여야 하고 RELP를 probe로 하는 DNA blot analysis를 하여야 하는 번거로움이 있으며, RADP는 heterozygous genotype을 구별하지 못하는 결점 등을 보완함으로써 physical gene map의 작성에 더 효과적인 것으로 알려졌다[1,13].

본 연구에서는 식물의 자외선방어기작을 밝히기 위한 기본연구로서 Lois[15]등이 *Arabidopsis thaliana*의 ecotype의 하나인 Columbia에 EMS를 처리하여 만들어낸 자외선B감수성 mutant와 PCR maker를 이용하는 CAPS와 RELP를 사용하여 자외선 감수성 관련유전자의 genetic map을 작성하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 - *Arabidopsis*

실험재료로서 *Arabidopsis thaliana*의 ecotype인 Lansberg와 또다른 *Arabidopsis thaliana*의 ecotype인 Columbia의 mutant를 사용하였다. 이 때 이 mutant은 *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia종자에 EMS를 처리하여 만든 것으로 외형태는 정상 Columbia와 같으나 UV-B에 대해서는 정상인 것 보다 높은 감수성을 나타내는 것이다 또한 이 mutant에 대하여 교배 실험한 결과 이는 단일유전자로서 열성 유전하는 것으로 판명되어 이를 *uvs*라 하였다[15].

### 교배실험

*Arabidopsis*종자는 Lansberg의 경우 영국 Nottingham의 *Arabidopsis* stock center로부터, *uvs*는 California State University, Fullerton의 Dr.Lois로부터 공급받았다.

Growth chamber에서 재배하며 이때의 온도는 23°C로

하고 빛은 두 종류의 형광등을 사용하여 50Ei m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup>과 250Ei m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup>의 조건으로 조사하였다. UV-B 조사를 위해서 fluorescent ultraviolet lamp를 사용하였으며 이때 lamp를 cheese cloth로 한두겹 둘러싸고 UV-C를 차단시키게 하여 cellulose acetate plastic 판을 통과시켜 UV-B만을 조사하였다. UV-B 조사는 정상 형광등의 빛과 같이 하고 조사량은 0.1 혹은 0.15w/m<sup>2</sup> 이 되게 하였다.

자외선의 감수성에 따른 재료를 얻기 위한 교배는 *uvs*가 수분하기전에 Lansberg로부터 pollen을 채취하여 mutant의 암술에 수분시켜 잡종 F<sub>1</sub>을 얻었다. F<sub>1</sub> 표현형이 Lansberg의 잎표면에 있는 trichome이 우성유전을 하기 때문에 이를 maker로 하여 판별하였다. F<sub>2</sub>는 F<sub>1</sub>을 자가교배시켜 얻고 F<sub>2</sub>의 분리는 trichome을 가진 것과 가지지 않은 것, UV-B에 대하여 감수성을 나타내는 것과 나타내지 않는 것 등을 기준으로 4가지로 분류하고 이들로부터 잎을 채취하여 DNA 추출재료로 사용한다. UV-B에 대한 감수성의 판단은 잎의 색깔변화와 퇴화시기를 기준으로 하였다. 즉 자외선은 조사한 후 일주일 이내에 뚜렷한 퇴화 및 죽게되는 것을 나타내면 감수성인 것으로 2주이상 뚜렷한 변화가 없으면 저항성인 것으로 하였다. 1~2주 사이에 부분적인 변화를 보이다가 회복 혹은 계속적으로 일부손상을 나타내는 것은 hetero로 하였다(Fig. 1).

### DNA분리 및 PCR

DNA분리는 Ausbel 등[1]의 방법을 사용하였다. liquid nitrogen을 사용하여 채취 즉시 잎을 마쇄시키고 이를 extraction buffer(100mM Tris pH 8, 50mM EDTA pH 8,

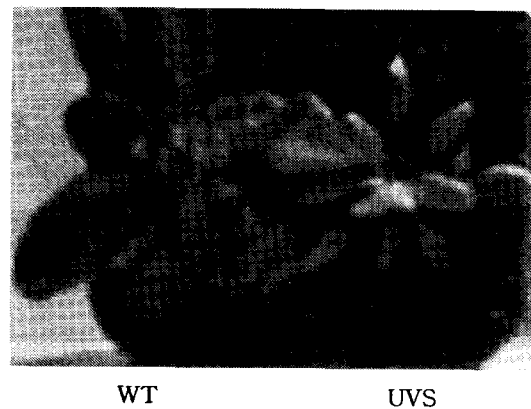


Fig. 1. Sensitivity to UV-radiation exposure of *Arabidopsis* plant from wild type(WT) and *uvs* plant (UVS).

500mM NaCl, 10mM mercaptoethanol 및 20% SDS첨가)에 넣은 다음 65°C에서 10분간 incubation시키고 5M의 potassium acetate를 첨가한다. 0°C에서 5분간 처리한 다음 15000g에서 10분간 원심분리하고 상등액을 새로운 tube에 옮겼다. 여기에 isopropyl alcohol과 3M sodium acetate를 첨가하고 -20°C에서 10분이상 보관하였다가 10000g에서 15분간 원심분리하고 상등액을 제거한 다음 50mM Tris pH 8.0, 10mM EDTA용액에 침전물을 녹였다. 이를 15000g에서 5분간 원심분리하고 상등액을 3M sodium acetate와 ethanol(1:22)용액에 섞고 -20°C에서 10분이상 보관하였다가 10000g에서 5분간 원심분리하여 DNA를 수거하였다.

PCR primer는 [1]과 같이 computer program을 이용하였고 각각은 염색체상의 위치를 고려하여 선발하였다. 염색체의 종류에 따른 각 primer와 그들의 염기서열을 table1과 같다. 즉 1번 염색체와의 연관유무를 밝히기 위한 primer로서는 CAT3와 ADH유전자의 염기서열을 이용하였다. 0.2µg의 primer, 2.5unit의 taq polymerase, 50mg의 DNA를 혼합시킨 용액 10µl에 PCR반응을 일으켰다. ADH의 경우 95°C에서 1분, 54°C 1분 중합반응을 위하여 72°C에서 3분간하여 50cycle을 반응시켜 DNA를 증폭시켰다. 76°C에서 1분 등으로 했으나 annealing 온도는 primer의 종류에 따라 달리했다. 각 PCR product에 대하여 제한효소 처리를 하였는데 이때 각 PCR산물들은 특정제한 효소에 의하여 Lansberg와

Columbia측 *uvs*의 product를 *uvs*의 product를 구별할 수 있는 것으로 하였다.

#### 제한효소처리와 PCR product 분석

3.5µl의 PCR product와 1µl의 10X buffer, 1~3unit의 제한효소를 섞어 10µl가 되게 한 다음 효소반응을 시키고 이들을 1.5% agarose gel에 전기영동하여 각 F<sub>2</sub> group에 따라 각 PCR product의 digestion pattern과 관련한 자외선에 대한 반응등과 관련하여 연관관계 및 교차율등을 분석하였다. F<sub>2</sub>중 Lansberg에 해당하는 것은 2계급 hetero라고 된 것은 1계급으로 하여 교차율을 계산하였다.

### 결과 및 고찰

*Arabidopsis thaliana*에서 columbia 자외선에 저항성을 나타내며 잎의 표면에 trichome이 있는, Lansberg와 *uvs* 자외선에 감수성이며 trichome가 없고 *uvs* mutant와 교배한 결과 F<sub>1</sub>을 자외선에 저항성이며 모두 trichome을 가지고 있었다. 또한 F<sub>1</sub>을 자가교배한 결과 자외선 저항성 및 trichome를 가지고 있는 것, 자외선 저항성 및 trichome가 없는 것, 자외선 감수성 및 trichome가 있는 것, 자외선 감수성 및 trichome가 없는 것 등의 분리비가 167, 68, 60, 24 여서 Mendel의 독립의 법칙의 9:3:3:1의 분리비에 부합되는 것

Table 1. Map positions and sequence of PCR primers for *Arabidopsis* CAPS markers.

Chr.	Gene, marker	Map position <sup>a</sup>	Forward primer <sup>b</sup>	Reverse primer <sup>b</sup>
I	CAT3	27.80	CGG TGG TGC TCC AGT CTC CAA C	CAG ATG CAA TGG CAT CGT GGA G
	ADH	114.23	GCG TGA CCA TCA AGA CTA AT	AAA AAT GGC AAC ACT TTG AC
II	PhyB/hy3	34.46	ATA AAC CAT TAG CCC ACG TG	CAA TCC TAT GAA GAA TGG CG
	90J19T7	73.01	ACA ATC TTC TCC AAA TCA TC	CAC GTT GAC GGA AAT CTT G
III	GAPC	8.33	CTG TTA TCG TTA GGA TTC GG	ACG GAA AGA CAT TCC AGT C
	BGL1	75.40	TCT TCT CGG TCT ATT CTT CG	TTA TCA CCA TAA CGT CTC CC
	GAI	16.63	AAG CTT CGA ACT CAA GGT TC	CCG GAG AAT CGT ACG GTA C
IV	DET1	60.35	CAA CAG GTT TCT TCT TCT TCT C	CAA ACA CCA TTT AAT CTT GAC A
	DHS1	105.72	CAA GTG ACC TGA AGA GTA TCG	AGA GAG AAT GAG AAA TGG AGG
V	ASA1	15.16	CTT ACT CCT GTT CTT GCT TAC	CCT CTA GCC TGA ATA ACA GAA C
	PHYC	70.93	CGC TTA CTG AAA ACT ATA GCC GCG	GAA GAC TTT CAA AAA CAC CAC AC
	LEY3	115.01	TAA CTT ATC GGG CTT CTG C	GAC GGC GTC TAG AAG ATT C

a: The map positions given are those listed in version 1.3 of AAtDB, *Arabidopsis* data base.

b: Primers are shown 5' to 3'

로 나타났다( $P < 0.05$ ). 이상의 결과로서도 *uvs* mutant의 UV-B에 대한 감수성은 저항성에 대하여 열성이며 단일유전자에 의하여 지배되고 있다는 것을 알 수 있다. 이들로 부터 DNA를 추출하였고 각 CAPS maker의 primer들을 이용하여 PCR을 수행한 결과 각각에서 PCR product를 얻을 수 있었다. PCR 산물들에 대하여 제한효소를 처리한 결과 각각의 PCR product는 Columbia 혹은 Lansberg의 특징적인 pattern을 나타냈다(Fig. 2).

CAPS marker들과 자외선에 대한 감수성을 관련하여 교차율을 계산한 결과 교차율은 제일높은 것이 1번 염색체의 CAT3, 3번 염색체의 GAPC, 4번 염색체의 DET1과 DES 등이었다. 일부의 교차율은 53을 나타내기도 하였으나 이들 통계분석상 의미가 없는 것이었다( $P < 0.05$ ). 또한 제일 낮은 것이 5번 염색체의 LEY3로서 30 이었다(Table 2). 이로서 가장 연관성의 강도가 큰 것은 LFY3이며 따라서 *uvs*는 5번 염색체에 있는 것으로 추정된다.

그런 전반적으로 교차율이 높아 본 연구에 사용한 10가지 CAPS maker들과는 가까운 위치에 있지 않은 것으로 생

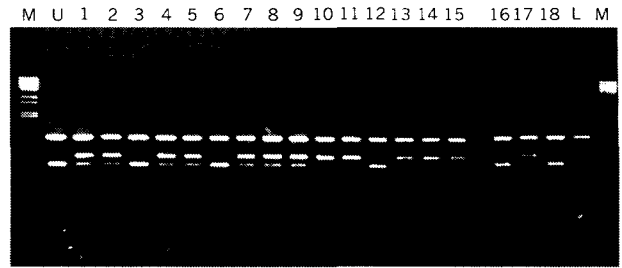


Fig. 2. Electrophoretic pattern of Arabidopsis ecotype specific CAPS markers. Distiguishable pattern of BGL1 locus in F<sub>2</sub> plant from Lanberg × *uvs* mutant(Columbia) was amplified using BGL1 primers. M: marker.

L: the restriction pattern of Lansberg.

U: the pattern of *uvs* plant(Columbia).

3, 12, 16, 18 showed Lansberg restriction patterns.

10, 13, 14, 15, 17 showed *uvs* (Columbia) restriction patterns.

1, 2, 4, 5, 7, 8, 9 showed heterozygous patterns.

각된다.

따라서 좀더 정확한 gene locus를 찾아내기 위해서는 5번 염색체에 있는 다른 여러 가지 maker들을 이용하고 더 많은

Table 2. Restriction enzymes that generate ecotype-specific digestion patterns in PCR product.

Chr.	CAPS marker	Size of PCR product	Restriction enzyme	Size of fragment	values of crossin gover
1	CAT3	0.973kb	Hinc II	Col:0.973 Ler:0.790, 0.185	50
	ADH	1.291kb	Xba I	Col:1.291 Ler:1.097, 0.262	42
2	PHYB/hy3	1.1kb	Xho I	Col:1.1 Ler:0.7, 0.4	47
	90J19T7	2.0kb	Msp I	Col:1.8, 0.2 Ler:1.2, 0.2	44
3	GAPC	0.771kb	Dde I	Col:0.42, 0.178 Ler:0.24, 0.19	53
	BGL1	1.269kb	Rsa I	Col:0.785, 0.34 Ler:0.785, 0.485	44
4	DET1	1.1kb	Sac I	Col:1.1 Ler:0.6, 0.5	53
	DES1	1.668kb	Dde I	Col:1.491, 0.219 Ler:1.62, 0.048	50
5	PHYC	2.0kb	Pst I	Col:1.7, 0.3 Ler:0.8, 0.7	46
	LFY3	1.33	Rsa I	Col:0.780, 0.236 Ler:0.855, 0.236	30

mutant들을 사용하여 분석하여야 할 것으로 생각된다.

한 편 자외선 방어기구로서 돌연변이에 의한 손상복구 [3,17,8], flavonoid 등과 같은 색소에 의한 자외선 에너지 흡수[14,15], 식물잎의 비후[19] 등 여러 가지 기작들이 알려져 있다. *Arabidopsis*의 경우 자외선에 감수성의 차이가 있는 여러 ecotype들에 대한 flavonoid색소 함량과 radical 제거능에 대한 분석을 한 결과 flavonoid색소에 대한 차이는 없었으나 radical 제거능에는 자외선 감수성에 따라 차이가 있는 것으로 밝혀졌다[4]. 그러나 EMS처리에 의하여 생겨난 *uvs* plant는 자외선에 노출시키면 wild type의 정상 *Arabidopsis thaliana* columbia에 비하여 일부 flavonoid group의 색소 생성이 현저하게 저하되는 거나[4] 단백질 합성의 양상이 달라지기도 한다[17]. 따라서 *Arabidopsis*의 flavonoid 색소가 자외선 방어에 중요한 역할을 하나 자연 상태에 있는 것들은 이의 생성에 장애를 받으면 지속적인 자외선 노출에 의하여 생존을 못하게 되기 때문에 이러한 종류의 mutant는 존재할 수 없는 것으로 사료된다. 그러나 본 실험의 경우 *uvs* mutant가 단일 유전자이지만 이의 산물이 flavonoid group의 색소생성에 어떠한 역할을 하는지를 밝혀야되고 *uvs*의 loci를 규명하기 위해서는 색체에 있는 또 다른 다수의 CAPS maker들을 이용하여 mapping을 하여야 할 것으로 사료된다.

## 요 약

*Arabidopsis thaliana* columbia의 종자에 EMS를 처리하여 돌연변이체들을 만들었고 이중 UV-B에 감수성이 높은 돌연변이체를 골랐다. 이 UV-B 감수성 돌연변이체의 원인 유전자를 밝히기 위하여 교배 실험을 한 결과 이는 Mendel 유전법칙을 따르고 단일 유전자의 돌연변이에 의하여 나타나며 열성 유전을 하는 것으로 밝혀져 이 유전자를 *uvs*라 하였다. 염색체상의 *uvs*의 위치를 밝히기 위하여 CAPS maker를 이용한 연관분석을 하고자 하였고 이를 위하여 각각 maker의 primer 10종류를 제작하였다. 이를 이용, 각 PCR 산물에 대하여 *uvs* mutant와는 다른 제한효소 pattern를 갖는 Lansberg와 *uvs* mutant를 교배시켜서 얻은 것들로부터 DNA를 추출하여 PCR을 수행하였다. 이들과 자외선과의 감수성을 연관시켜 교차율을 계산한 결과 5번 염색체의 LFY3과 가장 가까우게 연관되어 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 2000년 대구가톨릭대학교 학술 연구비에 의하여 수행되었고 일부의 실험을 California State University, Fullerton의 Dr. Rodrigo Lois lab에서 수행하였습니다.

## 참 고 문 헌

1. Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. A. and Struhl, K. 1993. Current Protocols in Molecular Biology. New York: Green Publishing Associates/Wiley Interscience.
2. Bailare, C.I., Barnes, P.W. and Kendrick, R.E. 1991. Photomorphogenic effects of UV-B radiation of hypocotyl elongation in wild type and stable-phytochromodeficient mutant seedlings of cucumber. *Physiol. Plant.* **83**, 652- 658.
3. Balsara, R. D. and Joshi, V. P. 2001. Molecular basis of UV-sensitve mutant strain MBH3 of *Hamophilus influenza. Rd* : Identification of mutation in the *urv A* gene. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **20**, 27-32.
4. Barnes, S. A., McGrath, R. B. and Chua, N.H. 1997. Light signal transduction in plants. *Trends in Cell Biol.* **7**, 21-26.
5. Burr, B. and Burr, F. A. 1991. Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: theoretical and practical considerations. *Trend Genet.* **7**, 55-60.
6. Caldwell, C.R 1993. Ultraviolet-induced photodegradation of cucumber(*Cucumis sativus* L.) microsomal and soluble protein tryptophanyl residues *in vitro*. *Plant Physiol.* **101**, 947-935.
7. Chasan, R. 1994. A ray of light on DNA repair. *Plant cell* **6**, 159-161.
8. Eric, F. and B.B. Martin, C. 1996. Serge Upregulation of the *Drosophila* 1731 retrotransposon long-terminal repeat by UV-B irradiation requires a short sequence in the U3 region. *Archiv. Biochem. Biophysic.* **326**, 219-226.
9. Foyer, C.H., Lelandais, M. and Kunert, K.J. 1994. Photooxidative stress in plants *Physiol Plant.* **92**, 696-717.
10. Gold, G. and Caldwell, M.M 1983. The effects of ultraviolet-B radiation on plant competition in terrestrial ecosystems. *Physiol. Plant.* **58**, 435-444.
11. Harlow, G.R., Jenkins, M.E., Pittalwala, T.S. and Mount, D.W. 1994. Isolation of *uvhl*, an *Arabidopsis*

- mutant hypersensitive to ultraviolet light and ionizing radiation. *Plant Cell*. **6**, 227-235.
12. Hightower, K.R., McCready, J.P. and Borchman, D. 1994. Membrane damage in UV-irradiated lenses. *Photochem. Photobiol.* **4**, 485-490.
  13. Konieczny, A. and Ausubel, F.A. 1993. Procedure for mapping *Arabidopsis* mutations using Co-dominant ecotype-specific PCR-based markers. *Plant journal*. **4(2)**, 402-410.
  14. Liu, L., Gitz, D.C. and McClure, J.W. 1995. Effects of UV-B on flavonoids, ferulic acid, growth and photosynthesis in barley primary leaves. *Physiol. Plant.* **93**, 725- 733.
  15. Lois, R. 1994. Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*. **4**, 498-503.
  16. Lydon, J., Teramura, A.H. and Summers, E.G. 1986. Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and productivity of field grown soybean. In: *Stratospheric Ozone Reduction. Solar Ultraviolet Radiation and Plant Life*. (Worrest, R.C., Caldwell, M.M, Eds.). Springer-verlag, Berlin, pp.313-325.
  17. Kim, J. B. 1998. Effect of Ultraviolet on the protein synthesis in *Arabidopsis*. *Reserach Bullertin of Cath. Univ. of Deagu* **58**, 43-49.
  18. Mihoko K. and T.Toshiaki et al. 1995. Novel DNA binding proteins highly specific to UV\_damaged DNA sequences form embryos of *Drosophila melanogaster*. *Nucl. Acids Res.* **23**, 2600-2607.
  19. Murali, N.s., Teramura, A.H. and Randall, S.K. 1988. Response differences between two soy bean cultivars with contrasting UV-B radiation sensitivities. *Photochem. Photobiol.* **48**, 653-657.
  20. Nam. H-G., Giraudat, J., den Boer, B., Moonan, F., Loos, W,D,B,m Hauge, B.M. and Goodman, H.M. 1989. Restriction fragment length polymorphism linkage map of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, **1**, 699-705.
  21. Renger, G., voeiker, M., Eckert, H.J., Fromme, R., Hohm-Veit, S. and Graeber, P. 1989. On the mechanism of photosystem II deterioration by UV-B radiation. *Photochem Photobiol.* **49**, 97-105.
  22. Tragoontung, S., Kanizin, V., Hayes, P.M. and Blake, T.K. 1992. Sequence-tagged site-facilitated PCR for barley genome mapping. *Theor. Appl. Genet.* **84**, 1002-1008.
  23. Wilson, M.I. and Grssnberg, B.M. 1994. Spectral dependence of UV-B effects on the morphology and physiology of wild type and albino mutants of *Arabidopsis thaliana*. Annual Meeting of the American society of Plant Physiologists, Portland, Oregon. *Plant Physiology Supplement*. **105**, 21.
  24. Tevini, M. and Teramura, A.H. 1989. UV-B effects on terrestrial plants. *Photochem. Photobiol.* **50**, 479-487.

(Received September 16, 2002; Accepted November 30, 2002)