

大豆GH3家族三个成员对20种农药的转录响应

徐明飞, 吴长兴, 苍涛, 陈丽萍, 陈列忠, 蔡磊明, 李岗*

浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 农业部农药检测重点实验室, 浙江省植物有害生物防控重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 杭州310021

摘要: 植物GH3基因家族具有生长素(IAA)等植物激素的氨基酸合成酶活性, 参与调节IAA等的动态平衡, 在植物生长发育和抗逆性方面具有重要作用。为了明确大豆GH3基因家族成员对主要农药的响应特点, 用qRT-PCR分析了20种不同作用机制的农药对该家族XM003518758、XM003521754和XM003543231在60 min内的诱导特点。结果表明, XM003518758基因的表达受草甘膦、氰戊菊酯轻微抑制, 受2甲4氯等其余18种农药诱导上调但不超过2.5倍。所有测试的20种农药均不抑制XM003521754基因的表达, 而最大诱导表达量达10倍以上。2甲4氯、乙草胺、百草枯、氰戊菊酯和戊唑醇对XM003543231诱导表达超过50倍, 而其余15种测试农药对XM003543231的表达无抑制效应。而大豆XM003521754基因只受2甲4氯、二氯喹啉酸和多菌灵的显著诱导上调。

关键词: 大豆GH3基因家族; 农药; 转录模式

Twenty Pesticides-induced Transcription Expression of Three Genes of GH3 Family in Soybean

XU Ming-Fei, WU Chang-Xing, CANG Tao, CHEN Li-Ping, CHEN Lie-Zhong, CAI Lei-Ming, LI Gang*

State Key Lab Breeding Base for Zhejiang Sustainable Plant Pest Control, Zhejiang Province Key Laboratory for Pesticide Residue Detection and Control, Agricultural Ministry Key Laboratory for Pesticide Residue Detection, Institute of Quality and Standard for Agro-Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 31002, China

Abstract: GH3 gene family plays prominent roles in plant development and stress resistance through maintaining phytohormone homeostasis depended on their IAA-amido synthetase activity. In order to explore the expression patterns in transcription level of the soybean GH3 gene family, we used qRT-PCR to determine the response of the three members of the family, XM003518758, XM003521754 and XM003543231, after exposure to 20 pesticides within 60 minutes. The expression of XM003518758 was slightly depressed by glyphosate and cyhalothrin, and induced no more than 2.5 times by the other 18 pesticides tested. All 20 pesticides tested were not depressed the expression of XM003521754 and some of them induced the XM003521754 expression over 10 times. Over 50 times up-regulated expression of XM003543231 was induced by MCPA, acetochlor, gramoxone, cyhalothrin, and tebuconazole, while the other 15 pesticides tested had not depressed-effect on the expression of XM003543231. It was important that the gene XM003521754 was induced only by auxin-like pesticides as MCPA, quinclorac, carbendazim.

Key words: soybean (*Glycine max*); GH3 gene family; pesticide; transcription expression pattern

GH3 (Gretchen Hagen 3)基因在植物的生长发育和对逆境的反应中起着重要作用(Chen等2013)。研究发现拟南芥GH3基因表达增强, 可促进与生长发育有关的非生物胁迫调节的转录因子如CBFs (C-repeat/dehydration responsive element binding factors)和RDs (responsive to dehydration)转录表达, 和提高拟南芥植株对干旱、冻害、高盐及高温的抗性(Park等2007)。因此, 研究GH3基因对认识其在调控植物的生长发育和提高植物对逆境的适应性方面有着重要意义。

最早是Hagen等人在1984年从大豆的cDNA文库中筛选出4个响应2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)处理的克隆, 并命名为pGH1、pGH2、pGH3和pGH4。

收稿 2015-07-25 修定 2015-10-12

资助 浙江省科技厅公益项目(2014C32001)、浙江省自然科学基金(LY13C140007)、浙江省农业科学院创新提升工程项目、国家“863”项目(2011AA100806)、珊溪库区生态农业示范基地建设项目(WZ20130001)和浙江省农业科学院地合作项目(WZ20140005)。

* 通讯作者(E-mail: ligang@mail.zaas.ac.cn; Tel: 0571-86404229)。

在其后的研究工作中克隆出的基因主要都是pGH3的类似基因, 所以这个家族的命名就用GH3来代替(Hagen等1984; Wright等1987)。生长素早期响应基因(the early auxin-responsive gene)是指经生长素处理后最快5 min就能被激活转录且不需要新的蛋白质合成的一些基因(即蛋白质合成抑制剂放线菌酮不能抑制这些基因的表达)。Hagen和Guilfoyle(1985), Abel和Theologis(1996)把生长素早期响应基因分为6类: *Aux/IAAs*家族、*GH3s* (gretchen hagen 3)家族、*SAURs* (small auxin up RNAs)家族、谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferase, *GST*)、1-氨基环丙烷-1-羧酸(1-amino cyclopropane-1-carboxylate, *ACC*)合成酶及其他一些基因。

已经发现的植物GH3基因家族成员数量因种而异, 例如拟南芥有19个(Hagen和Guilfoyle 2002)、水稻有13个(Jain等2006; Terol等2006), 烟草至少有1个(Roux和Perrot-Rechenmann 1997), 中华辣椒已报道的有1个(Liu等2005), 印度芥菜已报道的有2个GH3的类似基因(Lang等2005; Fusco等2005), 小立碗藓(*Physcomitrella patens*)有3个(Nishiyama等2003), 而通过搜索NCBI的基因库, 发现大豆有29个GH3基因, 其中有两个是假基因(登录号102663622和登录号100819314)。

植物GH3基因对重金属、农药等非生物逆境的反应各不相同。GH3基因在植物体内是组成型地低水平表达, 2,4-D和麦草畏等植物生长素类除草剂能够特异性地诱导植物GH3基因的高表达(Staswick等2005)。重金属Cd胁迫可上调印度芥菜GH3基因的表达(Bierfreund等2004; Lang等2005)。植物GH3基因的上游调控区如启动子存在植物激素如生长素的响应元件(Ulmasov等1997)以及非生物和生物胁迫的顺式作用元件(Nishiyama等2003), 因此, 植物内源激素和外部的刺激信号都可诱导GH3基因的表达, 而诱导的GH3蛋白具有IAA (indole-3-acetic acid, IAA)和茉莉酸(jasmonic acid, JA)等植物激素氨基酸化合成酶和腺苷化合成酶活性(Staswick和Tiryaki 2004; Staswick等2005; Wang等2007), 调节IAA和JA的浓度, 维持它们在细胞内动态平衡, 从而影响生长发育和抗逆性, 如拟南芥GH3.5基因的过量表达突变体增强了植株的抗病能力(Zhang等2007), 而DFL1/GH3.6的过量

表达可使光照条件下拟南芥植株的下胚轴变短(Nakazawa等2001), 所以植物GH3家族的诱导表达具有重要的生物学意义。重金属、盐、H₂O₂等能诱导大豆GH2/4基因表达(Ulmasov等1994, 1995; Hagen等1988)大豆接触2,4-D在5 min后就能诱导GH3基因的表达, 15 min达到最大表达量, 这时2,4-D的最佳浓度为10⁻³ mol·L⁻¹ (Hagen和Guilfoyle 1985), 但是大豆GH3基因家族对目前农业生产上的主要农药的响应特性研究还比较少。

本试验旨在明确20种市售农药对3个大豆GH3基因家族成员在转录水平上的诱导特点, 为研究GH3信号通路中元件的功能提供基础信息, 也为其在药害诊断和残留检测和抗药性水平测定的应用研究提供理论依据。

材料与方法

1 材料

大豆[*Glycine max* (L.) Merr.]品种‘浙春3号’由浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所提供, 常规大田栽培, 选取6株各具有30个叶片的植株用于实验。

选择了作用机制不同的20类农药, 包括8种除草剂、6种杀虫剂和6种杀菌剂(表1)。

2 方法

2.1 实时荧光定量PCR特异引物设计与合成

选择大豆GH3家族成员XM003518758、XM003521754和XM003543231作为设计实时荧光定量PCR引物的模板。以大豆SKIP16 (GenBank登录号CD397253)作为内参(Hu等2009)。用Primer Premier 6.0和Beacon designer软件进行荧光引物设计(表2), 由上海生物工程有限公司合成。

2.2 农药浓度设置

市场购买试验农药, 根据每种农药包装注明的常规用量(表1), 每667 m²兑自来水30 kg来配制各药液, 或按稀释倍数要求用自来水稀释。

2.3 植物与农药的接触方法

摘取来自不同植株的6张叶片浸入刚配制好的各处理药液中, 接触5、10、30和60 min后, 取出叶片, 用吸水纸吸干表面药液, 在每张叶片的相同部位取10 mg组织, 迅速置于液氮中, 用于RNA提取。

表1 本实验中使用的农药
Table 1 Pesticides used in this test

农药	含量	常规制剂用量	生产厂家
草甘膦胺盐水剂	33%	500 g·(667m ²) ⁻¹	浙江新安化工集团股份有限公司
2甲4氯钠水剂	13%	500mL·(667m ²) ⁻¹	安徽华星化工股份有限公司
乙草胺乳油	900g·L ⁻¹	120mL·(667m ²) ⁻¹	江苏省农垦生物化学有限公司
二甲戊灵乳油	330 g·L ⁻¹	120mL·(667m ²) ⁻¹	江苏龙灯化学有限公司
甲磺隆可湿性粉剂	10%	5g·(667m ²) ⁻¹	江苏天容集团股份有限公司
马拉硫磷乳油	45%	111mL·(667m ²) ⁻¹	德州绿霸精细化工有限公司
高效氟吡甲禾灵乳油	108 g·L ⁻¹	100 mL·(667m ²) ⁻¹	美国陶氏益农公司
百草枯水剂	20%	250mL·(667m ²) ⁻¹	湖北仙隆化工股份有限公司
二氯喹啉酸可湿性粉剂	50%	50克·(667m ²) ⁻¹	沈阳科创化学品有限公司
氟虫腈微乳剂	3%	稀释20倍	威海韩孚生化药业有限公司
毒死蜱乳油	480 g·L ⁻¹	104 g·(667m ²) ⁻¹	山东祥隆化工有限公司
阿维菌素乳油	1.8%	稀释4000倍	济南中科绿色生物工程有限公司
吡虫啉可湿性粉剂	10%	30 g·(667m ²) ⁻¹	海利尔药业集团股份有限公司
氰戊菊酯乳油	20 %	50mL·(667m ²) ⁻¹	杭州庆丰农化有限公司
代森锰锌可湿性粉剂	70%	240 g·(667m ²) ⁻¹	天津市施普乐农药技术发展有限公司
戊唑醇可湿性粉剂	12.5%	280 g·(667m ²) ⁻¹	河北省石家庄市三三化工有限公司
多抗霉素水剂	3%	187 g·(667m ²) ⁻¹	绩溪农华生物科技有限公司
井冈霉素A水剂	4%	250 g·(667m ²) ⁻¹	浙江省桐庐汇丰生物化工有限公司
百菌清可湿性粉剂	75%	稀释600倍	广东中迅农科股份有限公司
多菌灵可湿性粉剂	50%	100 g·(667m ²) ⁻¹	苏州遍净植保科技有限公司

表2 用于大豆GH3基因家族3个成员的实时荧光定量PCR引物

Table 2 Primers for real-time fluorescence quantitative PCR of three genes of GH3 Family in Soybean

基因名称	引物序列(5'→3')	产物长度/bp
<i>SKIP16</i>	CF: GAGCCCAAGACATTGCGAGAG CR: CGGAAGCGGAAGAACTGAACC	60
<i>XM003518758</i>	58F: CTATCTGCTTTCTTCACAAAGAGTAACT 58R: CAGAGTCCACAGCCATAGCAA	123
<i>XM003521754</i>	54F: AAGTGCCAAGTCACACGCACAA 54R: TGTTGGATCCTGGCGAGGTT	109
<i>XM003543231</i>	31F: CTCCACCAAAGACTATGTTCTTGAAGA 31R: CTCTTGAAGGTGTCAGGGTCTGA	189

2.4 实时荧光定量PCR实验

使用TAKARA植物RNA提取试剂盒(宝生物工程大连有限公司),提取大豆总RNA,接着用DNase I (TaKaRa)除去各样本总RNA的DNA污染,然后用SuperScript II reverse transcriptase (Invitrogen, USA)把总RNA反转录成cDNAs,以大豆SKIP16 (GB登录号: CD397253)作为内参(Hu等2009)。采用SYBR® Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time) (宝生物工程大连有限公司)试剂,在仪器iQTM 5 Multicolor Real-Time PCR detection system device (Bio-Rad, USA)上完成。每

个样品重复测定6次,SYBR染料法荧光检测,反应体系(25 μL): ddH₂O 10.5 μL, SYBR Premix ex Taq™ (2×) 12.5 μL, PCR-F (10 μmol·L⁻¹) 0.5 μL, PCR-R (10 μmol·L⁻¹) 0.5 μL, 模板cDNA 1.0 μL。反应条件 95 °C 1 min; 95 °C, 10 s, 45个循环; 62 °C 25 s (收集荧光)熔点曲线分析55 °C到95 °C。比较C_t方法(2^{-ΔΔC_t}方法)分析表达量 (Livak和Schmittgen 2001)。采用SPSS 17.0单因子方差分析程序分析实时荧光定量结果,用Tukey法进行多重比较,差异显著水平为P<0.01,用平均值表示数据。

2.5 绘图方法

用SigmaPlot (Ver12.5, Systat Software, Inc)软件制作基因的表达统计图, 用DNASTar软件(<http://www.dnastar.com>)和MEGA 6软件(<http://www.megasoftware.net>)制作大豆GH3基因家族系统进化树。

实验结果

1 大豆XM003518758基因对20类农药的响应特点

定量PCR结果(图1)表明, 随着农药处理时间

的延长, 与清水对照相比, 接触农药5 min后, 草甘膦、乙草胺、氟吡甲禾灵、百草枯和氰戊菊酯等5种农药抑制XM003518758的表达, 而二甲戊灵、甲磺隆和氟虫腈等3种农药诱导XM003518758的表达, 其余12种农药则无显著影响。接触农药10 min后, 草甘膦、乙草胺和百草枯等3种农药有抑制效应, 二甲戊灵诱导XM003518758的表达, 其它16种农药则影响不大。接触农药30 min后, 2甲4氯、乙草胺和百草枯有轻微诱导效应, 其余17种农药影响不明显。接触农药60 min后, 二氯喹啉酸, 代森

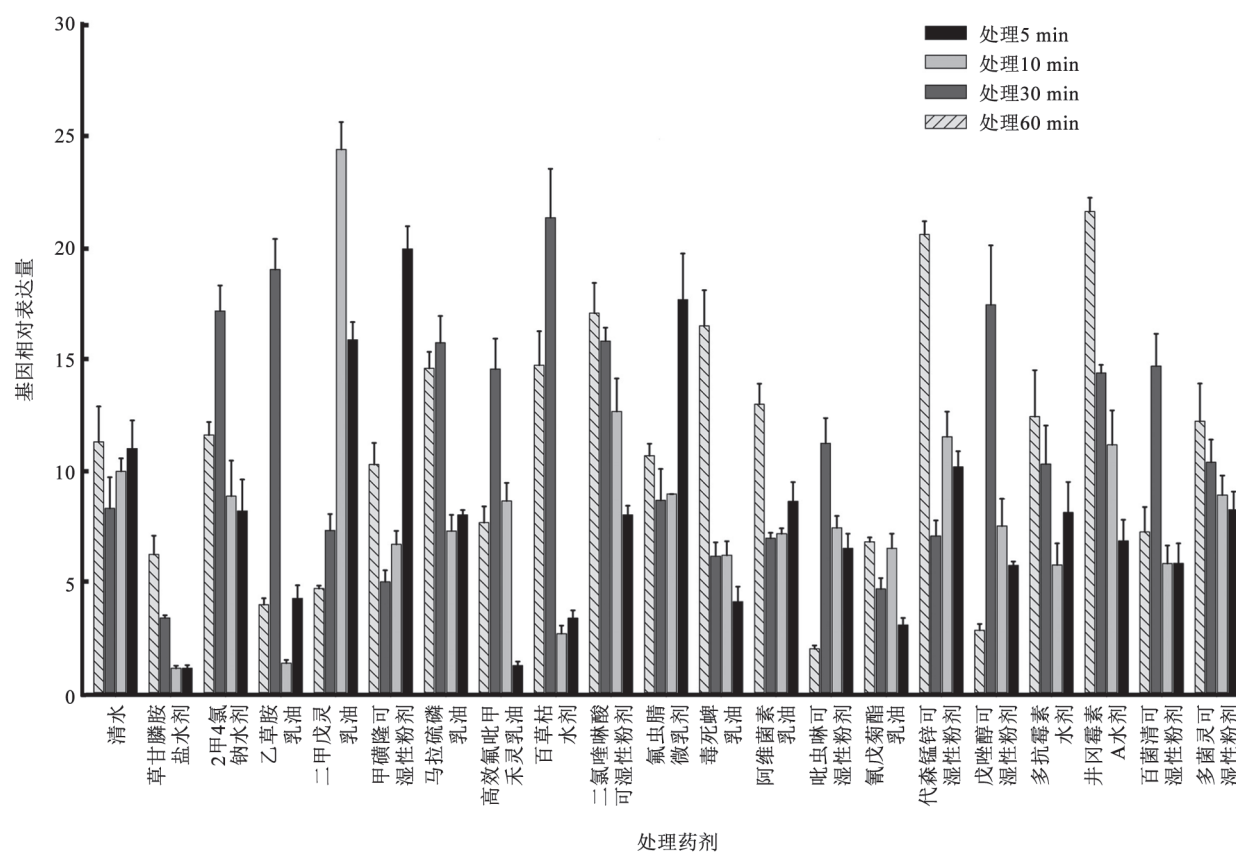


图1 大豆XM003518758基因对20类农药的转录响应特点

Fig.1 Transcription expression pattern of soybean XM003518758 induced by 20 pesticides

锰锌和井冈霉素有轻微诱导效应, 其它效应不明显。总之, XM003518758的表达受20种农药影响不明显, 幅度在0.5~2.5倍之间。

2 大豆XM003521754基因对20类农药的响应特点

定量PCR结果(图2)表明, 随着农药处理时间的延长, 与清水对照相比, 2甲4氯、二氯喹啉酸和

多菌灵在60 min内始终诱导大豆XM003521754的表达量上调, 幅度为1.00~18.4倍, 而3种农药各自处理60 min的表达量与5 min相比增加4.65~12.16倍。草甘膦、毒死蜱和阿维菌素这三种药的影响模式呈现先抑制后增长的特点, 抑制幅度为3.6~11.7倍, 增长幅度为1.9~3.5倍, 这三种农药各自处

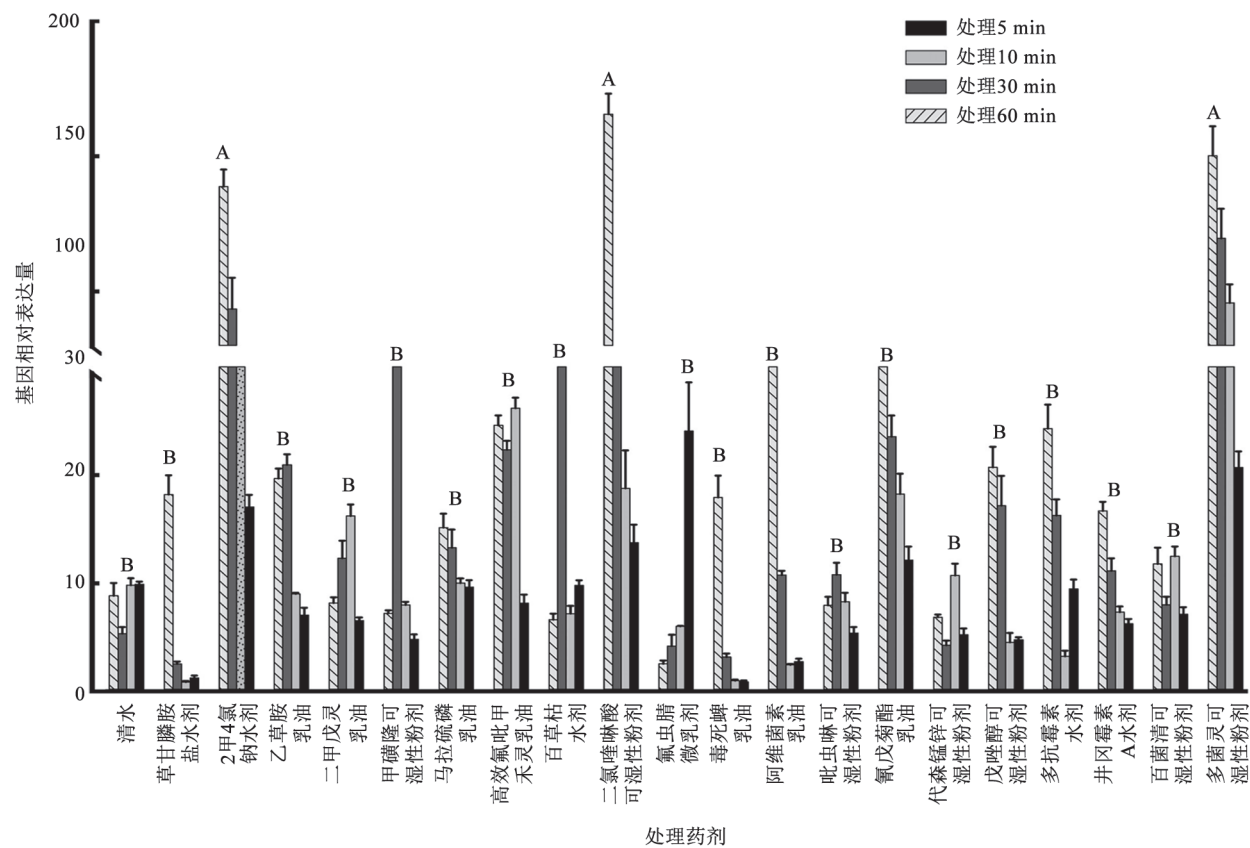


图2 大豆XM003521754基因对20类农药的转录响应特点

Fig.2 Transcription expression pattern of soybean XM003521754 induced by 20 pesticides

理60 min的表达量与5 min相比增加了11.6~20.6倍。另外,与清水对照相比,氟虫腈处理5 min有轻微的诱导作用,在10~60 min内表现抑制效应。乙草胺、二甲戊灵、甲磺隆、马拉硫磷、氟吡甲禾灵、百草枯、吡虫啉、代森锰锌、戊唑醇、多抗霉素、井冈霉素和百菌清对XM003543231的表达量没有显著影响。

3 大豆XM003543231基因对20类农药的响应特点

定量PCR结果(图3)表明,随着农药处理后反应时间的延长, XM003543231的表达量与清水对照相比,受2甲4氯、乙草胺、氟吡甲禾灵、百草枯、二氯喹啉酸、氟虫腈、阿维菌素、氰戊菊酯、戊唑醇和多抗霉素诱导显著上调。而草甘膦、二甲戊灵、甲磺隆、马拉硫磷、毒死蜱、吡虫啉、代森锰锌、井冈霉素、百菌清和多菌灵等诱导XM003543231表达上调,但幅度不超过5倍。在处理60 min内,能使XM003543231的表达呈现低高低的特点的农药有:氟吡甲禾灵、百草枯、毒死

蜱、吡虫啉和多菌灵;而2甲4氯能使XM003543231的表达一直呈现上升趋势。总之,大豆XM003543231基因的表达易受多种农药的影响。

讨 论

在NCBI网站用GH3作关键词检索Gene数据库,可知大豆GH3基因家族有29个成员,根据核酸序列相似性分为主要4组(图4),每组成员数量各不相同。在成员较多的3个组中各选一个成员作为代表,考查1 h内不同时间其对20种农药的响应特点。在本实验中,刚离体叶片以浸泡在农药水溶液中的方式接触农药,每种农药处理的叶片来自相同的植株,消除了植株差异带来的本底表达差异,使测定结果更有可比性。而农药的处理浓度是生产上的常规浓度,各不相同,但是他们是大田生产中植物接触的实际浓度,具有现实意义。此外,每种农药都是以制剂形式接触叶片,而制剂是原药与助剂的混合物,所以本试验测定的是3个基

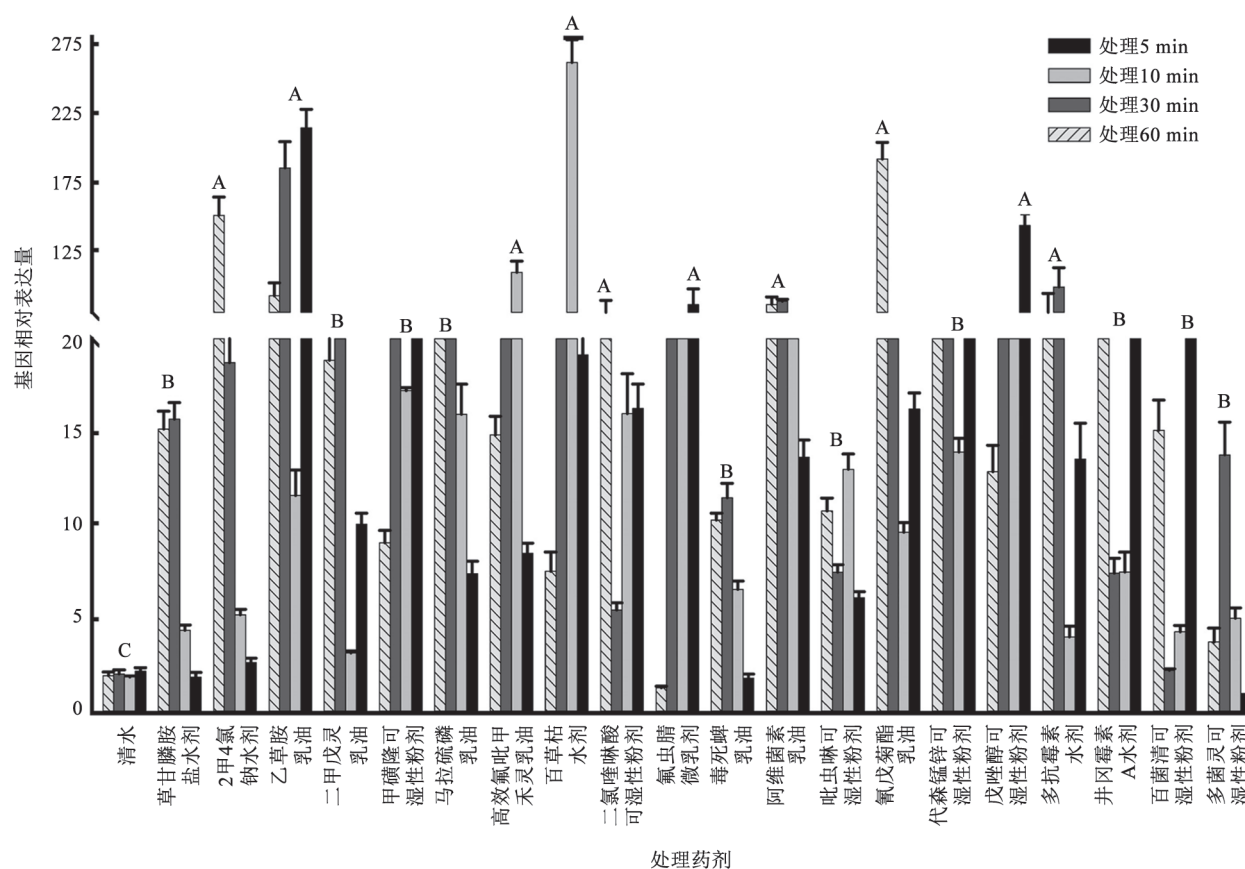


图3 大豆XM003543231基因对20类农药的转录响应特点

Fig.3 Transcription expression pattern of soybean XM003543231 induced by 20 pesticides

因对20种混合物的影响特点,反应了这些基因在田间对农药逆境的响应特点。

植物GH3家族成员,对外部刺激,有些成员是上调反应,如IAA (Staswick等2005)、乙烯(Liu等2005)、JA (Riemann等2008)、SA或者ABA处理、病菌侵染(Zhang等2007)、重金属(Lang等2005; Fusco等2005)、干旱(Park等2007)都能诱导某些GH3基因成员表达的上调。而本研究发现,大豆的GH3家族成员XM003521754只受生长素类农药如2甲4氯、二氯喹啉酸和多菌灵的诱导上调,而其它结构的农药没有这种效应,在生产上可利用XM003521754作为这类农药的标志基因,通过测定大豆中XM003521754基因的转录表达量,来判断是否含有这类农药,在农药残留、作物的药害诊断和杂草的抗药性检测方面有应用潜力。另一方面,这3种农药有效成分的结构与IAA相似,是IAA的

结构类似物,它们进入大豆细胞后可能与内源生长素共用相同的受体蛋白,从而通过启动生长素信号通路而诱导GH3基因XM003521754的表达,进而调节内源生长素的浓度,影响生长发育。

但值得注意的是,并不是所有GH3基因都能响应生长素诱导而转录上调,如拟南芥的AtGH3.9经生长素处理后并没有出现明显的转录上调,水稻的OsGH3.9反而出现转录水平降低的现象(Terol等2006)。本实验发现大豆的XM003518758基因在草甘膦、氟戊菊酯逆境下表达量下调现象,而另一个成员XM003543231接触百草枯10 min后表达升高超过100,而接触氟氟菊酯要处理60 min才有显著上调,而戊唑醇只要5 min就能诱导XM003543231表达显著升高,说明不同大豆GH3家族成员对相同的外部刺激的反应不同,暗示它们有不同的生理功能,需要进一步研究。

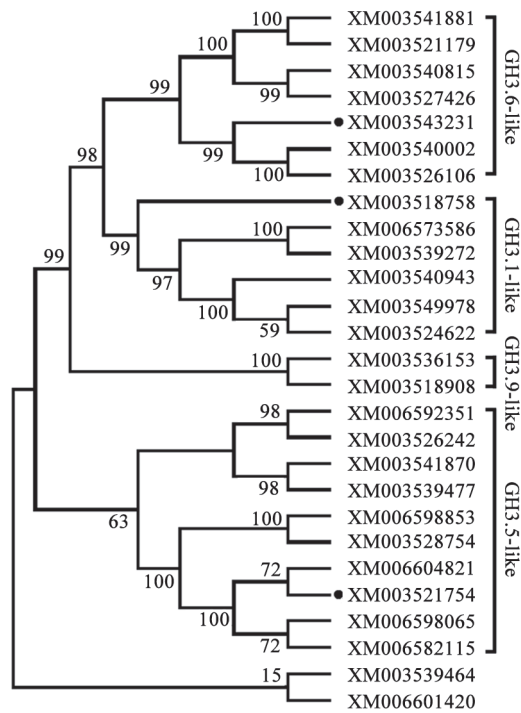


图4 基于核酸序列构建的大豆GH3基因家族系统进化树

Fig.4 The phylogenetic tree of soybean *GH3* gene family based on nucleic acid sequence construction

参考文献

- Abel S, Theologian A (1996). Early genes and auxin action. *Plant Physiol*, 111: 9~17
- Bierfreund NM, Tintelnot S, Reski R, Decker E (2004). Loss of *GH3* function does not affect phytochrome-mediated development in a moss, *Physcomitrella patens*. *J Plant Physiol*, 161 (7): 823~835
- Chen Y, Shen H, Wang MY, Li Q, He ZH (2013). Salicyloyl-aspartate synthesized by the acetyl-amido synthetase GH3.5 is a potential activator of plant immunity in *Arabidopsis*. *Acta Biochim Biophys Sin*, 45 (10): 827~836
- Fusco N, Micheletto L, Dal Corso G, Borgato L, Furini A (2005). Identification of cadmium-regulated genes by cDNA-AFLP in the heavy metal accumulator *Brassica juncea* L. *J Exp Bot*, 56 (421): 3017~3027
- Hagen G, Guilfoyle TJ (1985). Rapid induction of selective transcription by auxins. *Mol Cell Biol*, 5 (6): 1197~1203
- Hagen G, Guilfoyle TJ (2002). Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors. *Plant Mol Biol*, 49 (3-4): 373~385
- Hagen G, Kleinschmidt A, Guilfoyle TJ (1984). Auxin regulated gene expression in intact soybean hypocotyl and excised hypocotyl sections. *Planta*, 162 (2): 147~153
- Hagen G, Uhrhammer N, Guilfoyle TJ (1988). Regulation of expression of an auxin-induced soybean sequence by cadmium. *J Biol Chem*, 263: 6442~6446
- Hu RB, Fan CM, Li HY, Zhang QZ, Fu YF (2009). Evaluation of putative reference genes for gene expression normalization in soybean by quantitative real-time RT-PCR. *BMC Mol Biol*, 10: 93
- Jain M, Kaur N, Tyagi AK, Khurana P (2006). The auxin-responsive *GH3* gene family in rice (*Oryza sativa*). *Funct Integr Genomics*, 6 (1): 36~46
- Lang ML, Zhang YX, Chai TY (2005). Identification of genes up-regulated in response to Cd exposure in *Brassica juncea* L. *Gene*, 363: 151~158
- Liu KD, Kang BC, Jiang H, Moore SL, Li HX, Watkins CB, Setter TL, Jahn MM (2005). A *GH3*-like gene, *CcGH3*, isolated from *Capsicum chinense* L. fruit is regulated by auxin and ethylene. *Plant Mol Biol*, 58 (4): 447~464
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method. *Methods*, 25 (4): 402~408
- Nakazawa M, Yabe N, Ichikawa T, Yamamoto YY, Yoshizumi T, Hasunuma K, Matsui M (2001). *DFL1*, an auxin-responsive *GH3* gene homologue, negatively regulates shoot cell elongation and lateral root formation, and positively regulates the light response of hypocotyl length. *Plant J*, 25 (2): 213~221
- Nishiyama T, Fujita T, Shin-I T, Seki M, Nishide H, Uchiyama I, Kamiya A, Carninci P, Hayashizaki Y, Shinozaki K et al (2003). Comparative genomics of *Physcomitrella patens* gametophytic transcriptome and *Arabidopsis thaliana*: Implication for land plant evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100 (13): 8007~8012
- Park JE, Park JY, Kim YS (2007). GH3-mediated auxin homeostasis links growth regulation with stress adaptation response in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 282 (13): 10036~10046
- Riemann M, Riemann M, Takano M (2008). Rice *JASMONATE RESISTANT 1* is involved in phytochrome and jasmonate signaling. *Plant Cell Environ*, 31 (6): 783~792
- Roux C, Perrot-Rechenmann C (1997). Isolation by differential display and characterization of a tobacco auxin-responsive cDNA *Nt-gh3*, related to *GH3*. *FEBS Lett*, 419 (1): 131~136
- Staswick PE, Serban B, Rowe M, Tiryaki I, Maldonado MT, Maldonado MC, Suza W (2005). Characterization of an *Arabidopsis* enzyme family that conjugates amino acids to indole-3-acetic acid. *Plant Cell*, 17 (2): 616~627
- Staswick PE, Tiryaki I (2004). The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugate it to isoleucine in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 16 (8): 2117~2127
- Terol J, Domingo C, Talón M (2006). The GH3 family in plants: genome wide analysis in rice and evolutionary history based on EST analysis. *Gene*, 371 (2): 279~290
- Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle T (1994). The *ocs* element in the soybean *GH2/4* promoter is activated by both active and inactive auxin and salicylic acid analogues. *Plant Mol Biol*, 26 (3): 1055~1064
- Ulmasov T, Hagen G, Guilfoyle TJ (1997). ARF1, a transcription factor that binds auxin response elements. *Science*, 276 (5320): 1865~1868
- Ulmasov T, Ohmiya A, Hagen G, Guilfoyle T (1995). The soybean *GH2/4* gene that encodes a glutathione S-transferase has a promoter that is activated by a wide range of chemical agents. *Plant Physiol*, 108 (3): 919~927
- Wang L, Halitschke R, Kang JH, Berg A, Harnisch F, Baldwin IT (2007). Independently silencing two JAR family members impairs levels of trypsin proteinase inhibitors but not nicotine. *Planta*, 226 (1): 159~167
- Wright RM, Hagen G, Guilfoyle T (1987). An auxin-induced polypeptide in dicotyledonous plants. *Plant Mol Biol*, 9 (6): 625~634
- Zhang Z, Li Q, Li Z, Staswick PE, Wang M, Zhu Y, He Z (2007). Dual regulation role of *GH3.5* in salicylic acid and auxin signaling during *Arabidopsis-Pseudomonas syringae* interaction. *Plant Physiol*, 145 (2): 450~464