L-メチオニンはトマト植物に対して萎凋病抵抗性を誘導する

齋藤まどか¹・中島 雅己^{1*}・有江 力²・阿久津克己¹

ABSTRACT

SAITO, M.¹, NAKAJIMA, M.^{1*}, ARIE, T.² and AKUTSU, K.¹ (2017). L-Methionine induces resistance to Fusarium wilt of tomato plants. Jpn. J. Phytopathol. 83: 3–9.

Because L-methionine has been reported to have an inhibitory effect on disease, here we tested L-methionine for a direct antifungal effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL), cause of Fusarium wilt, and an inhibitory effect on the disease. L-Methionine had no observable effect on mycelial growth or bud cell germination of FOL. Treatment of tomato leaves with 100 µg/mL L-methionine reduced disease severity caused by FOL. Two days after inoculation, total RNA was extracted from roots and analyzed by quantitative PCR for expression of several defense-related genes; expression of multiple *PR* genes increased after L-methionine treatment, suggesting that L-methionine treatment of tomato plants may induce resistance to Fusarium wilt by a priming effect.

(Received April 18, 2016; Accepted September 30, 2016)

Key words: L-methionine, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Fusarium wilt resistance, priming, *PR* genes

緒 言

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* (FOL) によって引き起こされるトマト萎凋病は、我が国をはじめ世界中のトマト (*Solanum lycopersicum*) の栽培地で深刻な被害をもたらす土壌伝染性病害である。本病害は、病原菌の感染によって植物体を下部葉から萎凋させ、重症化すると全身を枯死させて収量を激減させる。本病の防除は抵抗性品種の栽培や殺菌剤の施用によって行われているが、親和性を獲得したレースや薬剤耐性菌の出現が危惧されることから、新たな代替の防除策が求められている。

植物は生物的及び非生物的ストレスへの遺伝的にプログラムされた応答反応を備えている (Noselli and Perrimon, 2000)。病原体の感染に対する植物の反応として、誘導抵抗性 (Induced resistance: IR) と呼ばれるパピラ形成や細胞壁の強化、過敏感細胞死に代表される構造的な変化や病原関連タンパク質及びファイトアレキシンなど化学物質の産生が知られている (Jacson and Taylor, 1996; Ton *et al.*, 2002)。

これまでに、IR を利用した実用的な病害防除の効果に関する数多くの研究がなされ、*Fusarium* 属菌による病害の抑制にも IR が有効であることが明らかにされている。ベンゾチアジアゾール (BTH) はサリチル酸依存的な抵抗性の化学的誘導剤として知られ、トマト葉面への 1.5 mM BTH の噴霧処理によってトマト根腐萎凋病病原菌 *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* の侵入を表皮細胞及び外皮質に制限し病徴を軽減させることが報告されている (Benhamou and Bélanger, 1998)。Olivieri *et al.* はジャガイモ塊茎の 30 µg/ml ベータアミノ酪酸への浸漬処理が *F. solani* によるジャガイモ乾腐病の病徴を抑制することを示した (2008)。さらに、Ishikawa *et al.* (2005) はトマト葉面へのパリダマイシンの噴霧処理が *PR* 遺伝子の発現強化やサリチル酸の蓄積をもたらし FOL による病徴を抑制することを報告した。IR は植物の生体防御機構において主要な役割を果たしていることから、IR の効率的な制御は、従来の化学農薬による病害防除方法に代わる新たな防除戦略となり得ると注目されている (Roylawar *et al.*, 2015; Ton *et al.*, 2002)。

¹ 茨城大学農学部 (〒300-0393 茨城県稲敷郡阿見町中央 3-21-1) College of Agriculture, Ibaraki University, 3-21-1 Chuo, Ami, Inashiki, Ibaraki 300-0393, Japan

² 東京農工大学大学院連合農学研究科 (〒183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8) United Graduate School of Agricultural Science Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8 Saiwai-cho, Fuchu, Tokyo 183-8509, Japan

* Corresponding author (E-mail: masami.nakajima.pp@vc.ibaraki.ac.jp)

IR には、病原菌の感染時に迅速かつ強力な抵抗性発現を可能にする準備段階を獲得する誘導作用が存在し、この作用をプライミング効果と呼ぶ。プライミングによる抵抗性は健全な状態の植物では活性化されないため、非ストレス条件下においては抵抗性発現にエネルギーを消費することなく必要時にのみ抵抗反応の誘導を起こすことから、効率的な防御戦略であると注目されている (Balmer *et al.*, 2015; Pastor *et al.*, 2014; Prime-A-Plant Group, 2006)。

過去に含硫アミノ酸の一種であるメチオニンによる植物病害抑制効果についていくつか報告されており、L-メチオニンが植物に IR をもたらす有用な誘導因子である可能性が示されている (阿久津ら, 1977; Akutsu *et al.*, 1977; Boubakri *et al.*, 2013; Hasabi *et al.*, 2014)。そこで本研究では、L-メチオニン処理がトマトにもたらす抵抗性誘導作用を検証し FOL によるトマト萎凋病の抑制効果について調査した。

材料及び方法

供試植物 トマトはトマト萎凋病に感受性をもつ品種ボンテローザを用いた。2 日間給水させ催芽した種子を滅菌した培土 (スーパーミックス, サカタのタネ) で満たしたセルトレイに播種し、22°C・明期 16 時間の人工気象器内で必要に応じて灌水しながら生育させた。実験には 3-4 週齢の植物体を用いた。

供試病原菌 病原菌は *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* レース 1 IFO06531 (以降 FOL と表記する) を供試した。ポテトスクロース寒天平板培地 (ジャガイモ 200 g の煎汁, ショ糖 20 g, 寒天 15 g, イオン交換水 1 l) 上で 7 日間生育させ形成された FOL のコロニーの先端から菌糸プラグを 2-3 枚切り出し、ポテトスクロース液体培地 (ジャガイモ 200 g の煎汁, ショ糖 20 g, イオン交換水 1 l) 50 ml に移した。これを 28°C の暗所で 130 rpm で 5 日間振とう培養することで FOL の bud cell を得た。これを五重に重ねた滅菌キムワイプでろ過し、3000 rpm で 5 分間遠心分離して培地成分を除いた。これを滅菌水で 3 回洗浄後、得られた bud cell 懸濁液の濃度を 10⁶ 個/ml に血球計算盤を用いて調整した。

L-メチオニン処理したトマト植物の接種試験 L-メチオニン (和光純薬, 大阪) は、滅菌水に 100 µg/ml 濃度になるように溶解して用いた。FOL 接種 2 日前に L-メチオニン溶液をトマトの第 1 葉全体にスプレー処理した。対象区には滅菌水を同様に処理した。

トマトをセルトレイから抜き取り流水で根を洗浄した後、10⁶ 個/ml に調整した bud cell 懸濁液に根を 1 時間浸漬して接種した。接種後の植物体は新たな培土に移植し、30°C、明期 16 時間の人工気象器内で生育させた。

接種 4 週間後、FOL による病徴を評価した。程度別の発病指数を 2 : 全身の萎凋・枯死, 1 : 葉の黄化, 0 : 病徴無しとして、以下の式に従って発病度を算出した。

$$\text{発病度} = \{ \Sigma (\text{発生指数別発生株数} \times \text{発病指数}) / (\text{調査株数} \times 2) \} \times 100$$

1 処理区に 10 個体を供試し、実験は 3 回繰り返した。

L-メチオニン処理した FOL bud cell の生育試験 200, 2000 µg/ml の L-メチオニン水溶液を作製し、L-メチオニン溶液と 2 × 10⁵ 個/ml の濃度に調整した FOL bud cell 懸濁液を各 500 µl ずつマルチウェルプレートに分注した。28°C の暗所で 24 時間静置培養し、継時的に光学顕微鏡 (オリンパス, 東京) を用い FOL の生育を観察した。実験は 3 反復行った。

リアルタイム PCR による PR 遺伝子の発現解析 FOL 接種 0, 48 時間後のトマト植物の根 100 mg を用いた。0 時間後の根は接種直後に採取し、速やかに液体窒素で凍結させた。48 時間後の根は流水で洗浄後採取し、すぐに液体窒素で凍結させた。サンプルは実験に用いるまで -80°C で凍結させて維持した。凍結させたサンプルをジルコニアビーズとともに 2 ml コレクションチューブに入れ、ビーズ式高速細胞破碎システム (池田理化, 東京) を用いて 5000 rpm × 10 秒間 × 3 サイクルで振とう破碎した。RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) を用いて全量 RNA を抽出し、DNA の混入を防ぐため Recombinant DNase I (Takara) を使用して RNA に DNase I 処理をした。RNA を 10 µl の RNase free water に溶解し、i Script Select cDNA Synthesis Kit (BioRad) を使用してサンプル RNA から 1st strand cDNA を合成した。これらの操作はすべて慣行の方法で行った。反応溶液 25.0 µl を以下の組成で調製した : iQTM SYBR Green super mix (Bio-Rad) 12.5 µl, プライマーセット (10 µM) 各 1.0 µl, テンプレート (サンプル DNA 溶液を 50 倍に希釈) 2.0 µl, milliQ 水 8.5 µl。過去にトマトにおける抵抗性誘導の結果として発現が強化されるという報告がなされている PR 遺伝子を Kavroulakis *et al.* (2006), Hase *et al.* (2008), Hyakumachi *et al.* (2013) に従って選択し、Sotoyama *et al.* (2014) が設計したプライマーを用いて増幅した (Table 1)。PCR 反応は iCycler (Bio-Rad) を使用して、95°C で 5 分間変性後、95°C : 30 秒, 55°C : 30 秒, 72°C : 30 秒を 40 サイクル行った。各 PR 遺伝子の発現量を GAPDH 遺伝子の発現量を内部標準として補正した相対値として算出し、無処理 0 hpi 区の発現量を 1 とした場合の各処理区における相対的発現量を求めた。実験は 3 反復行った。

統計処理 データの解析は Excel 統計ソフトウェアを用いて行った。トマト萎凋病の発病度は無処理区-L-メチオニン処理区間で T 検定を行い、FOL bud cell 発芽率及び PR 遺

Table 1. 定量リアルタイム PCR に用いたプライマーの配列及びその特性

遺伝子	特性	Forward プライマー	Reverse プライマー
<i>PR1b</i>	basic PR1	CTTGCGGTTTCATAACGATGC	TAGTTTTGTGCTCGGGATGC
<i>PR2a</i>	acidic glucanase	TCCCTTTTACTTGTGGGCTTC	GGGCATTAAAGACATTTGTTTCTGG
<i>PR2b</i>	basic glucanase	AGGATTACTTGTGCGCCACCAAC	ATGGCAAGTTGTTCCCCATC
<i>PR3a</i>	acidic chitinase	GCTGCCTTTTTCGGTCAAAC	TGCCATAGTATCTGTCTGACTGCTC
<i>PR3b</i>	basic chitinase	GCCCAAACCTTCCCATGAAAC	CAAGGCCATTGACTACTTGGTG
<i>PR5</i>	osmotin-like PR5	TACGCCTTGGACCAGTTTAGC	GTTGGGGCAAAAGTCATTGG
<i>gapdh</i>	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	CTGTTGCTGGCTTACAAACCTC	CATGCCAGCACCTCAAGAAG

伝子発現解析の結果については、全処理区間について Tukey 検定を行った。

結 果

L-メチオニン処理によるトマト萎凋病に対する抑制効果

接種 4 週間後に病徴を評価した結果、L-メチオニン処理区ではコントロール区と比較して有意に発病度の低下が認められた (Fig. 1)。この実験を 3 回繰り返し、それぞれ同様の結果が得られたことから、L-メチオニン処理によってトマト萎凋病が抑制されることが示された。

FOL-bud cell の生育に対する L-メチオニンの効果

コントロール区における FOL の生育は、培養開始 12 時間後に bud cell の発芽、発芽菌糸の伸長が観察された (Fig. 2)。16 時間後には発芽菌糸の伸長に加えて bud cell の形成

がみられ、24 時間後には bud cell の著しい増加が観察された。100 µg/ml もしくは 1000 µg/ml の L-メチオニン処理区でも、コントロール区と比較して同じタイミングで同程度の FOL の生育が観察された。また、培養開始 12 時間後の bud cell 発芽率はコントロール区と L-メチオニン処理区で差が認められなかった (Fig. 3)。このことにより、L-メチオニンは bud cell 発芽に対しては直接的な抑制効果を有さないことが示された。

PR 遺伝子発現に対する L-メチオニンの効果

FOL 接種 0、48 時間後のトマト根における PR 遺伝子の発現を、無処理区・接種 0 時間後の GAPDH 遺伝子発現量を内部標準とした相対値として調べた (Fig. 4)。その結果 *PR1b* の発現量は接種 0 時間後の L-メチオニン処理区及び接種 48 時間後の無処理区において変化しなかったが、接種 48 時間後の L-メチオニン処理区において増加していた。*PR2a*、*PR5* についても *PR1b* とほぼ同様の結果が得られた。*PR2b* の発現量は接種 48 時間後に増加していたが、処理の有無による有意な差は認められなかった。*PR3a* の発現量は接種 0 時間後の L-メチオニン処理区において増加していたが 48 時間後には処理の有無に関わらず減少した。*PR3b* の発現量では処理区における有意な差が認められなかった。

考 察

本研究で L-メチオニンをトマト葉に前処理することによってトマト萎凋病の発病抑制が認められた。一方、供試した濃度の L-メチオニンによる FOL bud cell への生育抑制効果は認められなかったことから、L-メチオニンは FOL に対して直接的な抗菌作用を持たないことが示された。また、FOL 接種によって誘導されるトマト根における PR 遺伝子の発現が、L-メチオニン処理によって増強されることが明らかとなった。これらの結果から、L-メチオニン処理がもたらしたプライミング効果によってトマトが抵抗性発現の準備状態を獲得し、FOL の感染に対する抵抗反応が強化されたことが示唆された。

Fig. 1. トマト萎凋病発病度
トマト根への FOL 接種 4 週間後の発病度を以下の発病指数と式によって算出した。
発病指数：全身の萎凋・枯死 (2)、葉の黄化 (1)、病徴無し (0)。発病度 = $\{\Sigma(\text{発病指数別発生株数} \times \text{発病指数}) / (\text{調査株数} \times 2)\} \times 100$ * : T 検定により $P < 0.05$ で有意差あり。エラーバーは標準誤差を示す。実験は 3 反復行った。

Fig. 2. L-メチオニン溶液中の FOL 菌糸伸長と bud cell の生産

FOL 濃度 1×10^5 bud cell/ml, L-メチオニン濃度 100 µg/ml の懸濁液を 28°C・暗所で静止培養した. A: コントロール区培養開始 12 時間後 (12 hpi), B: L-メチオニン 100 µg/ml 処理区 12 hpi, C: L-メチオニン 1000 µg/ml 処理区 12 hpi, D: コントロール区 16 hpi, E: L-メチオニン 100 µg/ml 処理区 16 hpi, F: L-メチオニン 1000 µg/ml 処理区 16 hpi, G: コントロール区 24 hpi, H: L-メチオニン 100 µg/ml 処理区 24 hpi, I: L-メチオニン 1000 µg/ml 処理区 24 hpi.

Fig. 3. L-メチオニン処理 12 時間後の FOL bud cell 発芽率
実験は 3 反復行い, 得られた値について Tukey 検定を行った. $P < 0.05$ で同符号間に有意差無し. エラーバーは標準誤差を示す.

メチオニンによる病害抑制効果については, これまでにいくつかの研究がなされている. 阿久津ら (1977) は L-メチオニンを処理したオオムギ (*Hordeum vulgare*) 葉上でオオムギうどんこ病菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) のコロニー形成が抑制され, 表皮細胞内に形成された第一吸器が異常形態を示すことを報告している. また, 電子顕微鏡観察から第一吸器形成表皮細胞で過敏感細胞死を誘発した細胞でみられる液胞膜の崩壊, 染色体凝集や細胞質の凝集が観察され, L-メチオニン処理による抑制効果が抵抗性の誘導に起因することを示唆している (Akutsu *et al.*, 1977). Boubakri *et al.* (2013) はブドウ (*Vitis vinifera*) へのメチオニン処理がべと病菌 *Plasmopara viticola* の感染時における過酸化水素の産生及び PR 遺伝子の発現を誘導し, 病斑形成を減少させることを報告した. 更に, Hasabi *et al.* (2014) はライム (*Citrus aurantifolia*) への L-メチオニン処理が *Xanthomonas citri* subsp. *citri* によるカンキツかいよう病を抑制することを示し, 感染時におけるライムの PR2 発現や抗酸化酵素の活性が強化されることを報告している. 本研究

Fig. 4. トマト根における *PR* 遺伝子発現解析

FOL 接種 0, 48 時間後のトマト根における *PR* 遺伝子発現を定量 PCR によって解析した。各 *PR* 遺伝子の発現量を GAPDH 遺伝子の発現量を内部標準として補正した相対値として算出し、無処理 0 hpi 区の発現量を 1 とした場合の各処理区における相対的発現量を求めた。実験は 3 反復行い、得られた値について Tukey 検定を行った。hpi: hours post inoculation. $p < 0.05$ で異符号間に有意差あり。エラーバーは標準誤差を示す。

の結果はこれら過去の研究結果に矛盾せず、L-メチオニン処理によるトマト萎凋病の病害抑制の可能性が示された。

本研究では、4 ファミリーに属する 6 種類の *PR* 遺伝子の発現解析を行った。解析の結果、接種 0 時間後には発現量に差が無かったにもかかわらず、接種 48 時間後では無処理区と比較して L-メチオニン処理区の *PR1b*, *PR2a*, *PR5* で発現量に増加が確認された。すなわち L-メチオニン処理区では FOL 接種時にのみ強い防御反応が起きており、処理トマトが病原菌感染に備えたプライミング状態を獲得してい

る可能性が示された。また、本実験では葉面への L-メチオニン処理が、感染部位である根での *PR* 遺伝子の発現を強化するという結果を得た。この結果は L-メチオニン処理によるトマトのプライミング状態獲得効果が全身に及び、処理部位以外の抵抗反応も強化していることを示唆している。Ahn *et al.* (2011) は、*Pseudomonas putida* をトマトの生育土壌へ処理することによって、地上部での *P. syringae* pv. *tomato* の感染及び地下部での *Ralstonia solanacearum* の感染に対する抑制効果がもたらされ、感染時の活性酸素種の蓄積や

PR1b, *PR4*, *PR5* の発現が強化されるなど多様な局所的・全身的抵抗性が誘導されることを報告し、これをプライミング状態の獲得によるものであるとした。本研究の結果も同様に、葉面への L-メチオニン処理が全身にプライミングを誘導し根からの FOL 感染に対して抑制作用を示したものと考えられ、FOL 接種時に認められた *PR* 遺伝子の発現増強が、FOL 感染の抑制に有効に働いた可能性が推察された。

調査した *PR* 遺伝子のうち *PR2a*, *PR3a*, *PR5* は酸性、*PR1b*, *PR2b*, *PR3b* は塩基性の *PR* タンパク質をコードしている。過去の研究から、*PR1b* は具体的な機能は明らかでないが抗菌性を持つタンパク質をコードしており、サリチル酸によって発現が誘導されることが報告されている (Kawazu *et al.*, 2012)。*PR5* は抗真菌活性を有するオスモチン様のタンパク質をコードしているとされ、その発現はサリチル酸濃度に依存的であることが知られている (Stintz *et al.*, 1993)。*PR2* ファミリーは β -1,3 グルカナーゼ、*PR3* ファミリーはキチナーゼであり、それぞれは酸性・塩基性に分けられる。一般に酸性 *PR* タンパク質の発現はサリチル酸濃度に、塩基性 *PR* タンパク質の発現はジャスモン酸・エチレン濃度に依存的であることが知られている。植物体内のメチオニンはエチレン生合成の始点として働くことが知られていることから (Kende, 1993)、L-メチオニンの処理はエチレン濃度に依存的な *PR* 遺伝子発現の活性化に作用すると予想された。しかし興味深いことに、L-メチオニン処理によって接種 48 時間後に *PR1b*, *PR2a*, *PR3a*, *PR5* の発現増加が認められ、サリチル酸濃度に依存的な *PR* 遺伝子の発現が強化されたことが示された。一方、*PR2b*, *PR3b* の発現量に顕著な差は認められなかったことから、抵抗性の誘導はエチレン・ジャスモン酸経路ではなく、サリチル酸経路の活性化による可能性が考えられる。

以上の結果から、L-メチオニン処理によってトマトにプライミング効果がもたらされ、*PR* 遺伝子の発現強化によって FOL 感染を抑制することが示された。メチオニンは食品衛生法の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質として暫定的に定められている安全性の高い自然物である。また、工業的に大量生産する方法が確立しており、肥料用・家畜飼料用などに使用されている。このことから、L-メチオニンの植物抵抗性誘導物質としての利用は人体や環境に対する負荷の少ない病害防除を可能にするものと考えられる。

摘 要

生体に必須な含硫アミノ酸の一種である L-メチオニンがもたらす誘導抵抗性による、トマト萎凋病 (*Fusarium oxysporum*

f. sp. *lycopersici*: FOL) に対する抑制効果を調査した。FOL の生育に影響が認められない濃度 (100 μ g/ml) で L-メチオニン溶液をトマト葉に噴霧処理し、2 日後に 1×10^6 bud cell/ml の FOL 懸濁液に 1 時間浸漬することで接種を行った。接種後の植物体を新たな土壌に植え替え、接種 4 週間後に発病度を評価した結果、L-メチオニン処理区において萎凋症状が抑制されることが確認された。また、接種 0, 48 時間後のトマト根における *PR* 遺伝子の発現を解析した結果、FOL 接種によって誘導される *PR* 遺伝子の発現が L-メチオニン処理によって増強されることが確認された。以上の結果から、L-メチオニンはトマトにプライミング誘導効果を付与し、FOL の感染時に *PR* 遺伝子発現を増強することで本病に対して抑制効果を発揮する可能性が示唆された。

引用文献

- Ahn, I.P., Lee, S.W., Kim, M.G., Park, S.R., Hwang, D.J. and Bae, S.C. (2011). Priming by rhizobacterium protects tomato plants from biotrophic and necrotrophic pathogen infections through multiple defense mechanisms. *Mol. Cells* 32: 7–14.
- 阿久津克己・天野幸治・小笠原長宏 (1977). オオムギうどんこ病菌に対するメチオニンの抑制作用について 第 1 報 各発育段階におけるオオムギうどんこ病菌の光顕観察. *日植病報* 43: 33–39.
- Akutsu, K., Amano, K. and Yora, K. (1977). Inhibitory action of methionine upon the barley powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) 2. Electron microscopy of primary haustoria, hyphae and conidia on barley leaves treated with L-methionine. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 43: 537–548.
- Balmer, A., Pastor, V., Gamir, J., Flors, V. and Mauch-Mani (2015). The ‘prime-ome’: towards a holistic approach to priming. *Trends Plant Sci.* 20: 443–452.
- Benhamou, N. and Bélanger, R.R. (1998). Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiol.* 118: 1203–1212.
- Boubakri, H., Wahab, M.A., Chong, J., Gertz, C., Gandoura, S., Mliki, A., Bertsch, C. and Soustre-Gacougnolle, I. (2013). Methionine elicits H_2O_2 generation and defense gene expression in grapevine and reduces *Plasmopara viticola* infection. *J. Plant Physiol.* 170: 1561–1568.
- Hasabi, V., Askari, H., Alavi, S.M. and Zamanizadeh, H. (2014). Effect of amino acid application on induced resistance against citrus canker disease in lime plants. *JPPR* 54: 144–149.
- Hase, S., Takahashi, S., Takenaka, S., Nakaho, K., Arie, T., Seo, S. and Takahashi, H. (2008). Involvement of jasmonic acid signalling in bacterial wilt disease resistance induced by biocontrol agent *Pythium oligandrum* in tomato. *Plant Pathol.* 57: 870–876.
- Hyakumachi, M., Nishimura, M., Arakawa, T., Asano, S., Yoshida, S., Tsushima, S. and Takahashi, H. (2013). *Bacillus thuringiensis* suppresses bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* with systemic induction of defense-related gene expression in tomato. *Microbes Environ.* 28: 128–134.
- Ishikawa, R., Shirouzu, K., Nakashita, H., Lee, H.Y., Motoyama, T.,

- Yamaguchi, I., Teraoka, T. and Arie, T. (2005). Foliar spray of validamycin A or validoxylamine A controls tomato Fusarium wilt. *Phytopathology* 95: 1209–1216.
- Jackson, A.O. and Taylor, C.B. (1996). Plant-microbe interactions: Life and death at the interface. *Plant Cell* 8: 1651–1668.
- Kavroulakis, N., Papadopoulou, K.K., Ntougias, S., Zervakis, G.I. and Ehaliotis, C. (2006). Cytological and other aspects of pathogenesis-related gene expression in tomato plants grown on a suppressive compost. *Annals Bot.* 98: 555–564.
- Kawazu, K., Mochizuki, A., Sato, Y., Sugeno, W., Murata, M., Seo, S. and Mitsuhashi, I. (2012). Different expression profiles of jasmonic acid and salicylic acid inducible genes in the tomato plant against herbivores with various feeding modes. *Arthropod Plant Interact.* 6: 221–230.
- Kende H. (1993). Ethylene biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 283–307.
- Noselli, S. and Perrimon, N. (2000). Signal transduction. Are there close encounters between signaling pathways? *Science* 290: 68–69.
- Olivieri, F.P., Lobato, M.C., Altamiranda, E.G., Daleo, G.R., Huarte, M., Guevara, M.G. and Andreu, A.B. (2008). BABA effects on the behaviour of potato cultivars infected by *Phytophthora infestans* and *Fusarium solani*. *Eur. J. Plant Pathol.* 123: 47–56.
- Pastor, V., Balmer, A., Gamir, J., Flors, V. and Mauch-Mani, B. (2014). Preparing to fight back: generation and storage of priming compounds. *Front. Plant Sci.* 5: 295. doi: 10.3389/fpls.
- Roylawar, P., Panda, S. and Kamble, A. (2015). Comparative analysis of BABA and *Piriformospora indica* mediated priming of defence-related genes in tomato against early blight. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 91: 88–95.
- Sotoyama, K., Akutsu, K. and Nakajima, M. (2014). Biological control of Fusarium wilt by *Bacillus amyloliquefaciens* IUMC7 isolated from mushroom compost. *J. Gen. Plant Pathol.* 82: 105–109.
- Stintzi, A., Heitz, T., Prasad, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P. and Fritig, B. (1993). Plant ‘pathogenesis-related’ proteins and their role in defense against pathogens. *Biochimie* 75: 687–706.
- Ton, J., Van Pelt, J.A., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M. (2002). Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 15: 27–34.