

茉莉酸在 *L*-谷氨酸诱导的番茄果实抗性中的作用

杨佳丽^{1,2}, 韩笑¹, 王腾飞¹, 狄建兵^{1,2}, 刘亚平^{1,2}, 王愈^{1,2*}

¹山西农业大学食品科学与工程学院 山西晋中 030801

²山西省果蔬贮藏保鲜与加工技术创新中心 山西晋中 030801)

摘要 为解析植物激素茉莉酸在化学激发子 *L*-谷氨酸诱导抗性机制中的作用,以番茄果实为对象,经 0.1 mg/mL *L*-谷氨酸和 0.1 mmol/L 茉莉酸甲酯处理后接种链格孢菌孢子悬浮液,观察果实的发病率。采用实时荧光定量 PCR 方法从转录水平上分析 *L*-谷氨酸对果实茉莉酸合成路径和信号路径上关键基因表达的影响。结果显示:番茄果实经 *L*-谷氨酸处理后其发病率较对照组下降了 35%,而在茉莉酸甲酯处理组中,*L*-谷氨酸与对照组发病率无显著差异;茉莉酸路径上编码脂氧合酶、丙二烯氧化物合酶、丙二烯氧化物环化酶、冠菌素不敏感蛋白 1、转录因子 MYC2 和蛋白酶抑制剂 PI-II 的基因不同程度地被 *L*-谷氨酸下调表达,同时茉莉酸信号路径的负调控因子 JAZ1 则被诱导上调表达。综上,在番茄果实与链格孢菌互作中,*L*-谷氨酸可能通过抑制果实的茉莉酸路径来调控对病原菌的防御反应,这解析了 *L*-谷氨酸作为激发子响应病原菌侵染的抗性机制,也为其商业化应用提供理论依据。

关键词 *L*-谷氨酸; 诱导抗性; 茉莉酸; 果实; 腐烂

文章编号 1009-7848(2024)02-0210-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.02.020

链格孢菌(*Alternaria alternata*)是番茄果实发生病害的重要病原菌之一,由其引起的黑斑病不仅造成严重的经济损失,而且产生的毒素会对人类健康产生巨大的威胁^[1]。鉴于当前广泛使用化学杀菌剂所带来的生态环境和食品安全问题,迫切需要寻求更为安全、环保、有效的替代产品和技术^[2-4]。目前,利用生物源或非生物源激发子通过诱导植物产生或提高自身抗性防御病害已成为研究热点^[5-8]。生物防治(如拮抗细菌、酵母菌和真菌等)作为近年来控制果蔬病害较为有潜力的新途径,虽已有商业化产品上市,但仍有其不可忽视的局限性。相较于生物类激发子,化学类激发子实施简单、易操作,受周围环境因素影响较小,防效稳定,同时生产和贮藏成本也较低。常见的化学激发子有水杨酸及其类似物苯丙噻重氮、茉莉酸及茉莉酸甲酯(Methyl jasmonate, MeJA)、壳聚糖、几丁质、碳酸氢盐类、可溶性钙盐、 β -氨基丁酸和 γ -氨基丁酸等。前期研究发现 *L*-谷氨酸(以下简称

“谷氨酸”)可以作为一种化学激发子,有效抑制果实上多种采后病原菌的侵染,且绿色安全,容易获得,生产使用成本低,具有广阔的商业应用前景,然而有关谷氨酸的诱抗机制研究较为有限^[9-11]。近期有报道显示,谷氨酸可能通过介入宿主的植物激素信号路径来调控其对病原菌的抗性反应^[12]。Goto 等^[13]的转录组学分析表明,拟南芥根部经谷氨酸处理后会诱导水杨酸路径相关的基因上调表达。Kadotani 等^[14]利用谷氨酸处理水稻根部后提高了叶片组织对稻瘟病的抗性,其抗性机制可能部分依赖于水杨酸信号路径。为进一步解析谷氨酸的诱抗机制,本文探讨谷氨酸对另一种植物激素——茉莉酸相关路径的影响。

植物在与病原菌的长期斗争和协同进化中形成了一系列行之有效的防御体系,这一过程受到复杂的信号转导网络调控,其中植物激素在该信号系统中发挥重要作用,且不同的植物与病原菌互作会启动或依赖不同的信号路径^[15-18]。植物激素在植物体内发挥其生理作用的机制较为复杂,从其合成、运输、与膜受体结合,到完成信号感知传递,进而诱导特定的基因表达和生理反应,是一个连续且互为影响的过程^[19]。茉莉酸作为植物激素中一类重要的信号分子,不仅调节植物多个生长发育过程,而且参与植物对生物和非生物胁迫的

收稿日期: 2023-02-08

基金项目: 山西省基础研究计划青年科学研究项目(20210302124070);山西省重点研发计划(农业)项目(201903D211007-1)

第一作者: 杨佳丽,女,博士,副教授

通信作者: 王愈 E-mail: sxnydxwy@163.com

逆境响应^[20-21]。一般来说,茉莉酸在植物体内的合成始于亚麻酸,而后经过脂氧合酶(Lipoxygenase, LOX)、丙二烯氧化物合酶(Allene oxide synthase, AOS)、丙二烯氧化物环化酶(Allene oxide cyclase, AOC)和12-氧植物二烯酸还原酶(12-oxo-Phytodienoic acid reductase, OPR)催化和3个 β -氧化反应而形成^[22]。当植物遭受到外界胁迫时,其体内的茉莉酸水平迅速上升,并在茉莉酸氨基酸合成酶(Jasmonate amino acid synthase, JAR)的催化下与异亮氨酸(Ile)结合生成茉莉酸的活性形式——JA-Ile复合物,再与冠菌素不敏感蛋白1(Coronatine insensitive 1, COI1)COI1结合,诱导JAZ(Jasmonate ZIM-domain, JAZ)蛋白释放所结合的转录因子MYC2,最终启动茉莉酸响应基因的应答^[23-24]。然而,植物在应对病原菌侵染时,其体内的茉莉酸路径是提高宿主对病原菌的抗性还是敏感性,这与具体的植物和病原菌互作体系密切相关。本文在前期研究基础上,以番茄果实与链格孢菌互作为研究对象,从转录水平上分析谷氨酸对茉莉酸合成路径和信号路径的影响,解析谷氨酸响应病原菌侵染的抗性机制,为谷氨酸的商业化应用提供理论依据,也为采后病害控制策略提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试的“千禧”番茄果实(*Solanum lycopersicum* L. cv. Qianxi)采摘于红熟阶段,选取无机械伤口及病虫害侵染的果实备用;链格孢菌(CGMCC3.4578)购于中国普通微生物菌种保藏管理中心。

L-谷氨酸,茉莉酸甲酯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;RNAiso Plus、PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser、SYBR Premix Ex Taq™试剂盒,日本Takara Bio公司。

1.2 仪器与设备

NanoDrop 1000超微量分光光度计、ABI QuantStudio 6 Flex荧光定量PCR仪,美国Thermo Fisher公司;Thermal Cycler PCR仪,美国Bio-Rad公司。

1.3 方法

1.3.1 病原菌孢子悬浮液制备 将链格孢菌接种到PDA培养基上后置于25℃的培养箱中,培养7d后刮取适量孢子于无菌水中,利用血球计数板计数方法将孢子悬浮液调整至供试浓度。

1.3.2 果实处理 番茄果实在0.1%次氯酸钠溶液中处理2min,用水冲洗干净后备用。参考Yang等^[9]和Guo等^[25]的方法,将果实随机分为2组,分别浸泡于水(对照组)和0.1mg/mL谷氨酸溶液10min,取出晾干后再将每组果实分别置入含有0mmol/L和0.1mmol/L MeJA的密闭容器中,处理24h后在果实赤道位置穿刺并形成大小深度统一的伤口(直径3mm,深2mm),随即接种10 μ L链格孢菌孢子悬浮液(10⁴CFU/mL)。将处理完成的番茄贮藏于恒温恒湿箱内(25℃,相对湿度约90%),定期观察记录果实的发病率。每个处理3个重复,每个重复25个番茄果实。

1.3.3 茉莉酸路径相关基因表达量的测定 按照1.3.2节所述处理方法,果实经水(对照组)或0.1mg/mL谷氨酸溶液处理后,将其贮藏于恒温恒湿条件下,分别于12,24h和48h用手术刀切取番茄表皮组织,而后用液氮立即将组织样品冷冻处理,并放置于-80℃超低温冰箱中保存备用。

参考Yang等^[9]的方法,利用实时荧光定量PCR方法测定茉莉酸路径相关基因(*SILOX1*、*SIAOS2*、*SIAOC1*、*SICO11*、*SIJAZ1*、*SIMYC2*、*SIP1-I*)的表达量。番茄果实组织总RNA的提取参照RNAiso Plus试剂盒具体步骤说明进行,并利用超微量分光光度计确定样品RNA的质量和浓度,而后借助PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser试剂盒合成cDNA,保存在-20℃冰箱中备用。利用ABI QuantStudio 6 Flex荧光定量PCR仪进行PCR反应,其反应条件参照SYBR Premix Ex Taq™试剂盒进行,并稍作修改:95℃预变性30s,95℃变性5s,然后在60℃条件下复性30s,往复循环42次;溶解曲线的条件为95℃15s,60℃1min,95℃15s。

Primer Premier 7.0软件(PREMIER Biosoft International)用于设计扩增目的基因引物,引物序列如表1所示。以*SIActin*为内参基因,基因的相对表达量利用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 方法计算^[26]。

表 1 番茄果实茉莉酸路径相关基因引物序列

Table 1 Primer sequences of jasmonate pathway related genes in tomato fruits

基因(序号)	引物序列(F 5'-3')	引物序列(R 5'-3')
SlActin (AB199316)	TCGGAATGGGACAGAAGGATGCG	TGCCTCAGTCAGGAGAACAGGG
SILOX1(NM_001247927)	AGACGAGCGTTTTGCTCACT	CACCGTCTGTTCCAAGGAGT
SIAOS2(NM_001287778)	GTCGGCGATGGAGAAAATGC	GCTACCGGAGGATCAACTCG
SIAOC1(AF384374)	GCACGAAGAAGAGAAGAAAAGGAGAT	CGGTGACGGCTAGGTAAGTTTC
SICO11(NM_001247535)	TGCATTCTTGACACAGCAGCCC	AGTACTGGCCAAGCACTTCC
SIMYC2(NM_001324483)	GCCACACTGGAGGCAAGATT	TTGCATCCCATCCGATGAT
SIPI-II(K03291)	TGATGAACCCAAGGCAAATA	ACACAACCTTGATGCCACAT
SIJAZ1(NM_001247954)	CGTCCGTTGAAACAAATCCT	GGGGTTCTGTTTGTGGCTA

1.4 数据统计分析

本试验重复 2 次以上直到 2 次结果保持一致。试验数据利用 SPSS 19.0 软件进行 Duncan's 多重差异分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

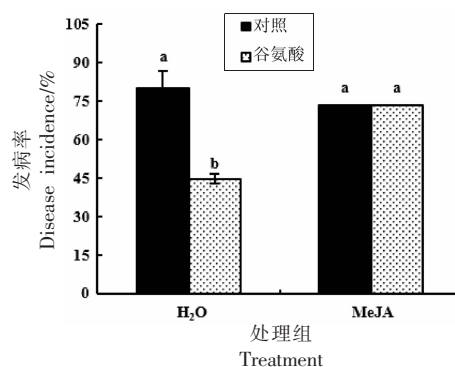
2 结果与分析

2.1 外源 MeJA 和谷氨酸对番茄果实黑斑病的影响

植物在长期的进化过程中为了应对周围逆境对其产生的伤害,形成了多重复杂的防御机制。在病原菌或其它化学和物理因子的诱导下,会使得植物体内某些潜在的抗性反应激发出来,进而使其获得对生物或非生物逆境的抗性^[5-8]。为了明确谷氨酸诱导抗性与植物茉莉酸路径的相关性,利用外源谷氨酸和 MeJA 处理番茄果实后观察其对链格孢菌抗性的影响。如图 1 结果显示,单独经谷氨酸处理的果实发病率显著低于对照组,这与前期研究结果一致,谷氨酸作为一种理想的化学诱导因子可以有效提高番茄果实对黑斑病的抗性^[9]。然而,果实经 MeJA 处理后与对照组的发病率无显著差异,即使结合谷氨酸也未能进一步降低果实的发病率,推测茉莉酸在谷氨酸诱导番茄对链格孢菌的抗性中可能没有发挥积极作用。

2.2 谷氨酸对番茄果实茉莉酸合成路径的影响

植物体内的茉莉酸是由亚麻酸经 LOX、AOS、AOC、OPR 等一系列酶催化和 3 个 β -氧化反应合成,为了进一步分析谷氨酸对番茄果实茉莉酸路径的影响,利用实时荧光定量 PCR 测定了茉莉酸合成路径上编码关键酶的基因如 *SILOX1*、*SIAOS2* 和 *SIAOC1* 的相对表达量。如图 2a 所示,经谷氨酸



注:不同字母表示处理组间差异显著($P < 0.05$);下同。

图 1 谷氨酸和 MeJA 对番茄果实发病率的影响
Fig.1 Effects of glutamate and MeJA on disease incidence of tomato fruit

处理后 *SILOX1* 基因的转录水平在 12 h 和 48 h 显著低于对照组,分别为对照的 0.66 倍和 0.15 倍;*SIAOS2* 在 24 h 和 48 h 时也被谷氨酸显著下调表达,尤其在 48 h 时基因相对表达量约为对照组的 0.61 倍(图 2b);对于 *SIAOC1*,图 2c 结果显示其转录水平在整个处理期间被谷氨酸下调。以上结果说明谷氨酸对果实的茉莉酸合成可能有一定的抑制作用。

2.3 谷氨酸对番茄果实茉莉酸信号路径的影响

在植物体内,茉莉酸作为植物激素或信号分子诱导的一系列反应依赖于其信号传导路径。茉莉酸可通过其活性形式 JA-Ile 结合 CO11 诱导 JAZ 降解,进而释放转录因子 MYC2,诱导茉莉酸应答基因的表达^[23-24]。如图 3a 所示,作为茉莉酸信号系统核心元件之一的 CO11,其转录水平在谷氨酸的刺激下被迅速强烈下调表达,在 12 h 时约为对照组的 0.34 倍。对于信号系统的负调控因子

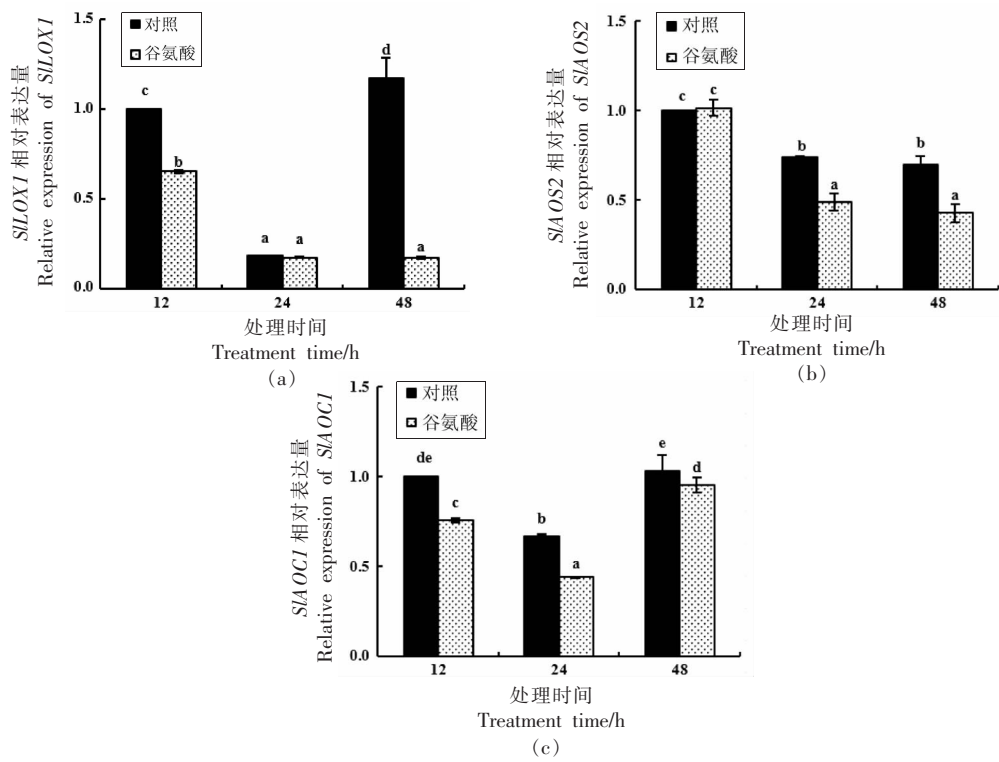


图 2 谷氨酸对番茄果实茉莉酸合成路径相关基因表达的影响

Fig.2 Effect of glutamic on the expression of genes related to the jasmonate synthesis pathway in tomato fruits

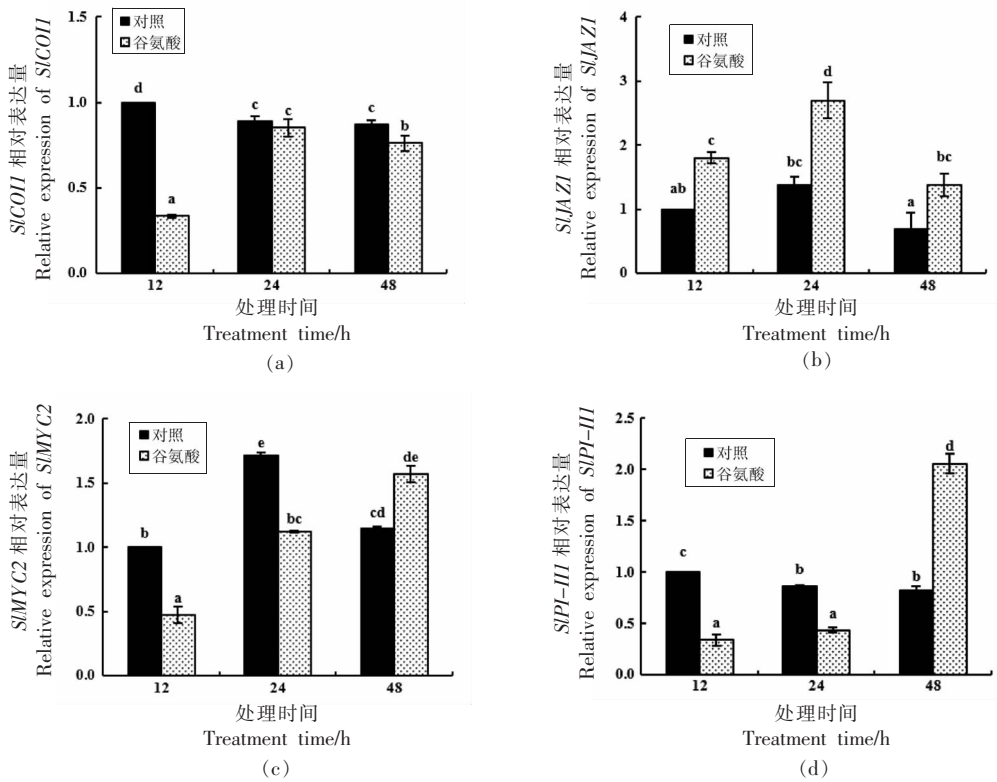


图 3 谷氨酸对番茄果实茉莉酸信号路径相关基因表达的影响

Fig.3 Effect of glutamic on the expression of jasmonate signaling pathway related genes in tomato fruits

JAZ, 编码 JAZ 蛋白的 *SIJAZ1* 基因经谷氨酸处理后则上调表达。同时, 转录因子 *SIMYC2* 在谷氨酸处理 24 h 之前其基因表达被显著抑制, 分别为对照组的 0.47 倍 (12 h) 和 0.65 倍 (24 h)。另外, 由茉莉酸诱导的蛋白酶抑制剂 *SIP1-II* 与 *SICO1I* 变化规律一致, 其基因表达水平也被谷氨酸快速下调, 在 12 h 和 24 h 时分别为对照组的 0.34 倍和 0.50 倍。也就是说, 谷氨酸处理番茄果实后可能从转录水平上抑制了茉莉酸诱导的信号路径。

3 讨论

作为植物体内的一种基本氨基酸, 谷氨酸不仅参与多种蛋白或非蛋白氨基酸的合成(如 γ -氨基丁酸、脯氨酸和精氨酸等与抗逆性相关的物质), 且在响应逆境胁迫中发挥着重要作用。当植物受到外界环境胁迫时, 其体内的某些生理代谢过程可能通过谷氨酸相关路径参与调控, 从而增强对各种逆境胁迫的适应性^[27]。在盐胁迫下, 植物体内的谷氨酸水平会通过谷氨酰胺合成酶的激活发生变化以应对外界胁迫^[28]。在干旱胁迫下, 由谷氨酸介导的脯氨酸和 γ -氨基丁酸合成路径会大大增强^[29]。在钙胁迫下, 谷氨酰胺合成酶的同工酶被诱导表达以加强谷氨酰胺的合成, 同时对不同细胞内的其它氮代谢关键酶如谷氨酸合成酶、谷氨酸脱氢酶也有一定影响^[30]。然而, 关于谷氨酸在植物响应病原菌侵染中的报道还较少。有研究发现谷氨酸还可以作为植物体内一种远距离传递的伤信号分子, 同时因其绿色安全、使用方便简单、成本低廉等优点也被视为一种理想的化学抗性诱导因子, 有效激发植物的抗病反应^[31]。然而, 目前有关谷氨酸对植物的抗性调控机制依然知之甚少。最近的证据显示, 谷氨酸介入了植物激素水杨酸合成和信号路径, 其对病原菌的抗性机制可能部分依赖于水杨酸路径^[12]。前期的研究也证实, 番茄果实经谷氨酸诱导处理后其体内的水杨酸合成路径和信号路径相关基因上调表达^[9]。以上研究促使继续探究另外一种植物激素茉莉酸在谷氨酸诱导抗性机制中的作用。

本研究中, 外源施加谷氨酸可以显著提高番茄果实对腐生型真菌链格孢菌的防御能力, 有效抑制病原菌的侵染进程, 然而当其结合 MeJA 处

理则明显降低了果实的抗性, 这暗示茉莉酸可能在谷氨酸的诱导抗性机制中起着负向调控作用。事实上, 有研究显示茉莉酸路径通过促进番茄植株体内真菌的生长提高了对链格孢菌侵染的敏感性, 且侵染过程依赖于 JAI1 调节的茉莉酸路径^[32]。Egusa 等^[33]比较了链格孢菌对番茄茉莉酸缺失型突变体 *DEF1* 与野生型植株的侵染能力, 发现 *DEF1* 对病原菌的抗性较高, 也就是说在番茄与链格孢菌互作中, 茉莉酸路径可能促进了寄主的发病过程。为了进一步明确茉莉酸在谷氨酸抗性机制中的作用, 本文研究了谷氨酸对番茄果实茉莉酸合成路径和信号路径的影响。结果显示, 茉莉酸合成路径上编码关键酶的 *SILOX1*、*SIAOS2* 和 *SIAOCI* 基因表达不同程度的被谷氨酸所抑制。同时, 在茉莉酸合成受到抑制的情况下, 作为茉莉酸活性形式 JA-Ile 受体的 *SICO1I* 也被谷氨酸显著下调表达, 致使其诱导 JAZ 降解的程度下降 (*SIJAZ1* 上调表达)。相应地, 由于 JAZ 无法移除从而释放转录因子 MYC2, 使得 MYC2 转录水平也显著下降。可见, 谷氨酸处理也抑制了果实中茉莉酸诱导的信号路径。另外, 茉莉酸路径标志物-蛋白酶抑制剂 *SIP1-II* 基因的下调表达也进一步证明了谷氨酸对茉莉酸路径的抑制作用。这与前人结果类似, Jia 等^[17]和 Zhang 等^[32]的研究发现番茄植株的茉莉酸不敏感突变体 *JAI1* 对链格孢菌的抗性提高可能与茉莉酸路径上相关基因如 *LOXD*、*AOS2*、*PI-II* 的表达受到抑制有关, 尤其是 *PI-II* 基因在突变体 *JAI1* 中几乎无表达。张丽平^[9]以链格孢菌产生的毒素与番茄叶片互作体系为研究对象, 揭示了茉莉酸合成路径和信号路径正向参与了由毒素所诱导的细胞程序化死亡, 这有利于以死亡细胞或组织为营养来源的腐生型病原菌的侵染。事实上, 植物在应对病原菌侵染时, 宿主细胞处于活性还是死亡状态与谷氨酸代谢相关路径密切相关^[34]。前期研究报道了谷氨酸可以有效诱导谷氨酸代谢路径(如谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶循环、 γ -氨基丁酸支路、三羧酸循环等)上的关键酶和基因表达, 同时还可以提高抗氧化酶系统活性, 也就是说谷氨酸可能是通过激活上述路径抑制活性氧的大量积累和宿主细胞死亡来抵御腐生型病原菌的侵染^[9]。综上推断, 本研究中谷

氨酸可能是通过抑制番茄果实的茉莉酸相关路径来降低由病原菌诱导的细胞死亡,从而提高果实对链格孢菌侵染的防御能力。

4 结论

在番茄果实与链格孢菌互作中,谷氨酸对病原菌的抗性机制可能与茉莉酸路径被抑制有关。有趣的是,前期研究发现经谷氨酸处理的番茄果实其体内的水杨酸路径被激活,这与水杨酸和乙烯/茉莉酸信号路径相互拮抗的多项研究报道一致。植物体内的各条激素信号路径并非孤立存在,而是有错综复杂的交谈机制,精细调控着植物的防御系统。然而,本文仅对茉莉酸路径做了初步探讨,后续还需对不同植物激素信号路径之间的互作做进一步的研究,为谷氨酸在农业领域内的商业化应用提供更为充分的理论依据,同时也为控制病害策略提供新的视角。

参 考 文 献

- [1] MARTINKO K, IVANKOVIC S, LAZAREVIC B, et al. Control of early blight fungus (*Alternaria alternata*) in tomato by boric and phenylboronic acid[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(3): 320.
- [2] LOUW J P, KORSTEN L. Impact of postharvest storage on the infection and colonization of *Penicillium digitatum* and *Penicillium expansum* on nectarine[J]. *Plant Disease*, 2019, 103(7): 1584–1594.
- [3] SÁNCHEZ-TORRES P, VILANOVA L, BALLESTER A R, et al. Unravelling the contribution of the *Penicillium expansum* PeSte12 transcription factor to virulence during apple fruit infection[J]. *Food Microbiology*, 2018, 69: 123–135.
- [4] TIAN S P, TORRES R, BALLESTER A R, et al. Molecular aspects in pathogen–fruit interactions: Virulence and resistance[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 122: 11–21.
- [5] LI S G, JIANG H, WANG Y, et al. Effect of benzothiadiazole treatment on improving the mitochondrial energy metabolism involved in induced resistance of apple fruit during postharvest storage[J]. *Food Chemistry*, 2020, 302: 125288.
- [6] FONTANA D C, DE PAULA S, TORRES A G, et al. Endophytic fungi: Biological control and induced resistance to phytopathogens and abiotic stresses[J]. *Pathogens*, 2021, 10(5): 570.
- [7] YU Y Y, GUI Y, LI Z J, et al. Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes[J]. *Plants*, 2022, 11(3): 386.
- [8] SHORESH M, HARMAN G E, MASTOURI F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2010, 48(1): 21–43.
- [9] YANG J L, SUN C, FU D, et al. Test for L-glutamate inhibition of growth of *Alternaria alternata* by inducing resistance in tomato fruit[J]. *Food Chemistry*, 2017, 230: 145–153.
- [10] JIN L F, CAI Y T, SUN C, et al. Exogenous L-glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense-related proteins and amino acids metabolism[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 150: 148–157.
- [11] YANG J L, WANG T F, DI J B, et al. L-glutamate inhibits blue mould caused by *Penicillium expansum* in apple fruits by altering the primary nitrogen and carbon metabolisms[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, 56(12): 6591–6600.
- [12] KAN C C, CHUNG T, WU H, et al. Exogenous glutamate rapidly induces the expression of genes involved in metabolism and defense responses in rice roots[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 186.
- [13] GOTO Y, MAKI N, ICHIHASHI Y, et al. Exogenous treatment with glutamate induces immune responses in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 2020, 33(3): 474–487.
- [14] KADOTANI N, AKAGI A, TAKATSUJI H, et al. Exogenous proteinogenic amino acids induce systemic resistance in rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 60.
- [15] AUDENAERT K, PATTERY T, CORNELIS P, et al. Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin[J]. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 2002, 15(11): 1147–1156.
- [16] FUJITA M, FUJITA Y, NOUTOSHI Y, et al. Crosstalk between abiotic and biotic stress respons-

- es: A current view from the points of convergence in the stress signaling networks[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(4): 436-442.
- [17] JIA C G, ZHANG L P, LIU L H, et al. Multiple phytohormone signalling pathways modulate susceptibility of tomato plants to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(2): 637-650.
- [18] BARI R, JONES J. Role of plant hormones in plant defence responses[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(4): 473-488.
- [19] 张丽平. 植物激素调节番茄对链格孢菌和 AAL-toxin 的响应的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
ZHANG L P. Regulation of tomato responses to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* and AAL-toxin by plant hormones[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [20] NAHAR K, KYNDT T, DE VLEESSCHAUWER D, et al. The jasmonate pathway is a key player in systemically induced defense against root knot nematodes in rice[J]. *Plant Physiology*, 2011, 157(1): 305-316.
- [21] NAIR A, KOLET S P, THULASIRAM H V, et al. Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*[J]. *Plant Biology*, 2015, 17(3): 625-631.
- [22] 薛仁镐, 金圣爱. 茉莉酸甲酯: 一种重要的植物信号转导分子[J]. *生物技术通讯*, 2006, 17(6): 985-988.
XUE R H, JING S A. Methyl jasmonate: A vital signaling molecule[J]. *Letters in Biotechnology*, 2006, 17(6): 985-988.
- [23] 刘庆霞, 李梦莎, 国静. 茉莉酸生物合成的调控及其信号通路[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(9): 837-844.
LIU Q X, LI M S, GUO J. Regulation of jasmonic acid biosynthesis and jasmonic acid signaling pathway[J]. *Plant Physiology Journal*, 2012, 48(9): 837-844.
- [24] CHENG Z W, SUN L, QI T C, et al. The bHLH transcription factor MYC3 interacts with the jasmonate ZIM-domain proteins to mediate jasmonate response in *Arabidopsis*[J]. *Molecular Plant*, 2011, 4(2): 279-288.
- [25] GUO J, FANG W W, LU H P, et al. Inhibition of green mold disease in mandarins by preventive applications of methyl jasmonate and antagonistic yeast *Cryptococcus laurentii*[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 88: 72-78.
- [26] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [27] LIAO H S, CHUNG Y, HSIEH M. Glutamate: A multifunctional amino acid in plants[J]. *Plant Science*, 2022, 318: 111238.
- [28] SANTOS C V, FALCÃO I P, PINTO G C, et al. Nutrient responses and glutamate and proline metabolism in sunflower plants and calli under Na_2SO_4 stress [J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2002, 165(3): 366-372.
- [29] MARTINELLI T, WHITTAKER A, BOCHICCHIO A, et al. Amino acid pattern and glutamate metabolism during dehydration stress in the 'resurrection' plant *Sporobolus stapfianus*: A comparison between desiccation-sensitive and desiccation-tolerant leaves[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(11): 3037-3046.
- [30] CHAFFEI-HAOUARI C, HAJJAJI-NASRAOUI A, CARRAYOL E, et al. Glutamate metabolism on *Solanum lycopersicon* grown under cadmium stress conditions[J]. *Acta Botanica Gallica*, 2011, 158(2): 147-159.
- [31] TOYOTA M, SPENCER D, SAWAI-TOYOTA S, et al. Glutamate triggers long-distance, calcium-based plant defense signaling[J]. *Science*, 2018, 361(6407): 1112-1115.
- [32] ZHANG L P, JIA C G, LIU L H, et al. The involvement of jasmonates and ethylene in *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* toxin-induced tomato cell death[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 62(15): 5405-5418.
- [33] EGUSA M, OZAWA R, TAKABAYASHI J, et al. The jasmonate signaling pathway in tomato regulates susceptibility to a toxin-dependent necrotrophic pathogen[J]. *Planta*, 2009, 229(4): 965-976.
- [34] SEIFI H S, VAN BOCKHAVEN J, ANGENON G, et al. Glutamate metabolism in plant disease and defense: Friend or foe?[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(5): 475-485.

The Role of Jasmonate in L-Glutamate Induced Tomato Fruit Resistance

Yang Jiali^{1,2}, Han Xiao¹, Wang Tengfei¹, Di Jianbing^{1,2}, Liu Yaping^{1,2}, Wang Yu^{1,2*}

(¹College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, Shanxi

²Shanxi Provincial Technology Innovation Center for Fruit and Vegetable Storage, Preservation and Processing, Jinzhong 030801, Shanxi)

Abstract To decipher the role of jasmonate in chemical elicitor L-glutamate induced resistance to pathogens, tomatoes were treated with 0.1 mg/mL L-glutamate and/or 0.1 mmol/L methyl jasmonate. After inoculating with *Alternaria alternata* spore suspension, disease incidence of fruit was observed. The effect of L-glutamate on jasmonate biosynthesis and signaling pathways were analyzed by reverse transcription quantitative real-time polymerase chain reaction at the transcriptional level. The results showed that the disease incidence decreased by 35% in L-glutamate treatment compared with the control, while there was no significant difference between L-glutamate and the control in methyl jasmonate group. Concurrently, allene oxide synthase, allene oxide cyclase, coronatine insensitive 1, transcription factor MYC2 and protease inhibitor PI-II were down-regulated by L-glutamate, accompanied by higher expression level of the negative regulator JAZ1. Collectively, the inhibition of JA pathway might be involved in L-glutamate induced resistance to *Alternaria alternata* in tomato fruit. These findings provided a better understanding for L-glutamate mediated resistance, leading to more sufficient theoretical basis for its commercial application.

Keywords L-glutamate; induced resistance; jasmonate; fruit; decay