

Received: 05.09.2025 / Accepted: 29.10.2025

## ARTYKUŁ ORYGINALNY

# Białko kinazy receptorowej At3g47570 (FLS2), indukowane przez biostymulatory z grupy benzotiadiazoli, inicjuje akumulację białek odpornościowych związanych z patogenezą 1 (PR1) oraz endochitynaz (ChiB)

## The receptor kinase protein At3g47570 (FLS2), induced by benzothiadiazole-derived biostimulants, initiates the accumulation of pathogenesis-related protein 1 (PR1) and endochitinases (ChiB)

Patryk Frąckowiak\* 

### Streszczenie

Wirusy roślinne stanowią poważne zagrożenie dla produkcji rolniczej, prowadząc do obniżenia plonów oraz strat ekonomicznych. Brak skutecznych środków ochrony roślin sprzyja poszukiwaniu biostymulatorów zdolnych do indukowania mechanizmów odpornościowych roślin. Związki te mogą mieć charakter naturalny (np. kwas salicylowy, kwas jasmonowy, chitozan) bądź syntetyczny (np. INA, BTH – analog kwasu salicylowego). Fosforylacja białek w szlakach sygnałnych odgrywa kluczową rolę w szybkiej odpowiedzi roślin na stres środowiskowy, w tym na infekcje patogenów. W niniejszej pracy przeanalizowano wpływ BTH oraz jego pochodnej cholinowej (BTH-Chol) na szlak sygnałny kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK) u pomidora (*Solanum lycopersicum* L.) zakażonego wirusem mozaiki pomidora (ToMV) z wykorzystaniem dostępnych baz danych. Analiza wykazała istotną rolę kinazy receptorowej At3g47570 zawierającej domenę bogatą w leucynę (LRR-RLK) (FLS2), której aktywacja wiązała się ze zwiększoną akumulacją białek związanych z patogenezą 1 (PR1) oraz endochitynaz (ChiB). Brak wcześniejszych doniesień o aktywacji tego białka przez BTH w roślinach pomidora wskazuje na złożoną modulację mechanizmów obronnych, wymagającą dalszej szczegółowej weryfikacji.

**Słowa kluczowe:** biostymulatory, BTH, proteom, transkryptom, ToMV, pomidor

### Abstract

Plant viruses represent a major threat to agricultural production, causing substantial yield losses and economic impact. The lack of effective protective measures has driven the search for biostimulants capable of inducing plant immune mechanisms. These include both natural compounds (e.g., salicylic acid, jasmonic acid, chitosan) and synthetic analogs (e.g., INA, BTH – a structural analogue of salicylic acid). Protein phosphorylation within signaling pathways plays a central role in the rapid plant response to environmental stress, including pathogen infection. In this study, the effect of BTH and its choline derivative (BTH-Chol) on the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) infected with tomato mosaic virus (ToMV) was analyzed using available databases. The results highlighted the significant role of the receptor kinase At3g47570 containing a leucine-rich repeat domain (LRR-RLK) (FLS2), whose activation was associated with enhanced accumulation of pathogenesis-related protein 1 (PR1) and endochitinases (ChiB). The absence of previous reports on the activation of this protein by BTH in tomato plants suggests a complex modulation of defense mechanisms, requiring further detailed investigation.

**Keywords:** biostimulants, BTH, proteome, transcriptome, ToMV, tomato

## Wstęp / Introduction

Pomidor (*Solanum lycopersicum* L.) jest cenną rośliną uprawną, bogatą w witaminy, składniki mineralne, błonnik i przeciwutleniacze, w tym likopen o udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych (Kumar i wsp. 2017). Stanowi ważny element diety człowieka i surowiec dla przemysłu przetwórczego, generując znaczące korzyści ekonomiczne. Produkcja pomidora jest jednak poważnie zagrożona przez infekcje wirusowe, które w ostatnich latach powodują straty plonów sięgające 25–90% (Mehle i wsp. 2023; Marchant i wsp. 2024; Shymanovich i wsp. 2024). Szczególnie istotnym patogenem jest wirus mozaiki pomidora (ToMV, *Virgaviridae*), który charakteryzuje się wysoką stabilnością środowiskową i łatwym przenoszeniem mechanicznym, prowadzącym do strat plonu rzędu 25–40% (Ishibashi i wsp. 2023; Lokewar i wsp. 2024).

Ze względu na ograniczoną skuteczność chemicznych środków ochrony roślin poszukuje się alternatywnych strategii, takich jak wykorzystanie induktorów odporności i biostymulatorów. Szczególne znaczenie mają związki z grupy benzotiadiazoli, w tym S-metylowany ester benzotiadiazolu (BTH), będący analogiem kwasu salicylowego, który aktywuje mechanizmy systemicznej odporności nabytej (SAR – systemic acquired resistance) i indukowanej (ISR – induced systemic resistance) (Frąckowiak i wsp. 2019, 2022; Doungous i wsp. 2021). Związki te indukują ekspresję genów odpowiedzi obronnej przeciwko wirusom, bakteriom i grzybom oraz ich wektorom owadziom, poprzez wzmocnienie odporności roślin. W wykonanych wcześniej badaniach wykazano również, że pochodna BTH – BTH-Chol – zwiększa poziom polifenoli w pomidorze, aktywność peroksydaz oraz wpływa na metabolizm glutationu, wspierając mechanizmy odpornościowe roślin (Frąckowiak i wsp. 2023). Wskazano również na istotne zmiany w procesie fosforylacji białek (Frąckowiak i wsp. 2022), które warunkują działanie wielu ścieżek sygnałnych, w tym tych najbardziej istotnych na odpowiedzi związane ze stresami środowiskowymi, w tym również odpowiedzi na infekcję wirusową (Wrzesińska i wsp. 2018).

W niniejszej pracy oceniono wpływ biostymulatora BTH oraz jego pochodnej cholinowej (BTH-Chol) na odpowiedź obronną roślin pomidora porażonych wirusem ToMV. Postawiono hipotezę, że aplikacja BTH i BTH-Chol wzmacnia odporność pomidora na ToMV poprzez aktywację szlaku sygnałnego kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK – mitogen-activated protein kinase) i zwiększoną ekspresję kinazy receptorowej At3g47570 (LRR-RLK – leucine-rich repeat receptor-like kinase), co znajduje odzwierciedlenie w skoordynowanych zmianach na poziomie transkryptomu i proteomu. W ramach omawianej analizy przyjrano się poziomowi ekspresji białka kinazy receptorowej At3g47570 oraz powiązanych z nim białek związanych z odpowiedzią obronną roślin na poziomie transkryptomicznym oraz proteomicznym w oparciu o uzyskane wcześniej bazy danych.

## Materiały i metody / Materials and methods

### Rośliny pomidora, chemiczne traktowanie wybranymi induktorami oraz inokulacja wirusem / Tomato plants, chemical treatment with selected inducers and virus inoculation

Model eksperymentalny obejmował roślinę gospodarza (*S. lycopersicum* odmiana Betalux), wirusy ToMV (izolat SL-1 ToMV) oraz biostymulatory – S-metylowany ester benzotiadiazolu (BTH) oraz jego cholinową ciecz jonową (BTH-Chol), zsyntetyzowane w Poznańskim Parku Naukowo-Technologicznym w Poznaniu. Rośliny utrzymywano w warunkach szklarniowych w cyklu 16-godzinny (dzień) i 8-godzinny (noc) w temperaturze 26°C w dzień i 23°C w nocy w szklarniach Centrum Badań Organizmów Kwarantannowych, Inwazyjnych i Genetycznie Zmodyfikowanych Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Poznaniu.

Biostymulatory BTH i BTH-Chol zastosowano do podlewania 6–8-tygodniowych roślin (100 ml) w stężeniu 10 mg/l. Materiał doświadczalny zbierano 1., 4., 8. i 11. dnia po traktowaniu (dpt) biostymulatorami, w trzech powtórzeniach biologicznych dla każdego wariantu eksperymentalnego (kontrola, BTH, BTH-Chol). W 7. dniu zakażono część roślin wirusem ToMV, a w 8. i 11. dniu dodatkowo zebrano z nich materiał badawczy (w trzech powtórzeniach biologicznych). Wszystkie próbki zamrażano w ciekłym azocie i przechowywano w temperaturze –80°C.

### Analiza transkryptomiczna / Transcriptomic analysis

Do sekwencjonowania RNA (RNA-Seq) całkowity RNA izolowano metodą fenolowo-chloroformową w warunkach kwaśnych (Molnár i wsp. 2005) z pewnymi modyfikacjami. Tkankę homogenizowano w obecności 700 µl buforu ekstrakcyjnego, do której następnie dodano identyczną objętość kwaśnego fenolu. Następnie około 600 µl fazy wodnej mieszało z kwaśnym fenolem oraz chloroformem w stosunku 1 : 1 (400 µl : 400 µl). W późniejszym kroku dodano etap mieszania pobranej fazy wodnej z 800 µl chloroformu i po zwirowaniu totalny RNA (totRNA) wytrącano przy użyciu octanu sodu (1/10 objętości) oraz alkoholu etylowego (2,5 objętości). Uzyskany RNA zawieszano w 30–50 µl wody wolnej od RNaz. Następnie RNA poddawano traktowaniu DNazą (Thermo Scientific, USA), a oczyszczony materiał (3–5 µg) przechowywano w temperaturze –80°C do czasu użycia. Jakość i stężenie przygotowanego RNA oceniano za pomocą analizatora Bioanalyzer 2100 (Agilent, USA). Oczyszczone próbki całkowitego RNA ze wszystkich dwudziestu czterech roślin posłużyły do syntezy bibliotek cDNA. Biblioteki oraz sekwencjonowanie RNA (RNA-Seq) zostały przygotowane przez MGI Tech Co., Ltd. (Chiny). Kontrolę jakości uzyskanych surowych odczytów oraz przycinanie adapterów przeprowadzono w firmie Genomed S.A. (Polska). Wszystkie informacje dotyczące izolacji i analizy białek różnicujących znajdują się w publikacji Frąckowiak i wsp. (2022).

## Analiza proteomiczna / Proteomic analysis

Do izolacji białek wykorzystano 0,2–0,4 g materiału roślinnego, który homogenizowano w ciekłym azocie w obecności buforu ekstrakcyjnego, a następnie poddano wirowaniu w celu usunięcia resztek tkankowych. Do uzyskanego supernatantu dodawano schłodzony aceton (100%) w stosunku 5 : 1 i pozostawiano na noc w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Strącony osad odwirowywano, a uzyskany pelet trzykrotnie przepłukiwano 80% schłodzonym acetonem. Osad suszono w koncentratorze próżniowym (Heraeus Instruments, Dania) i przechowywano w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do czasu dalszej analizy. Wszystkie informacje dotyczące izolacji i analizy białek różnicujących zostały przedstawione w publikacji Frąckowiak i wsp. (2022).

## Analiza statystyczna wyników / Statistical analysis of results

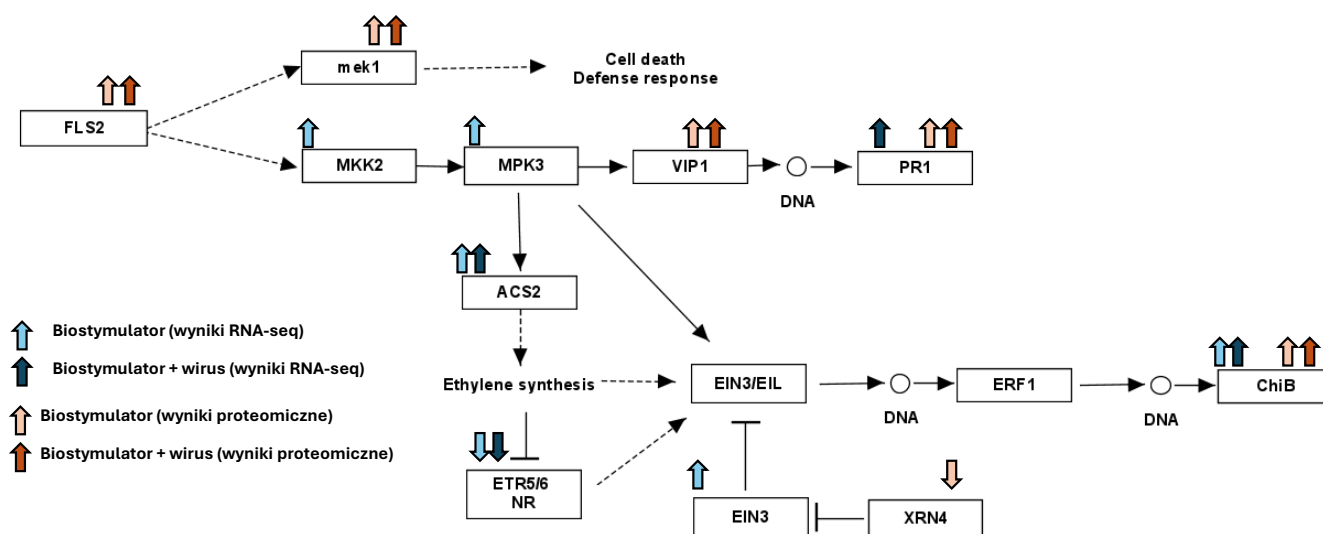
Do dalszej analizy danych zastosowano test statystyczny GLM (Quasi Likelihood-F test). Geny różnicowo ekspresjonowane filtrowano przy użyciu kryteriów:  $p \leq 0,05$  oraz zmiany krotności  $\log_2 \leq -1$  lub  $\geq 1$ . W celu przygotowania listy istotnych statystycznie białek o zmiennej ilości, wy-

niki filtrowano, stosując jako próg wartość  $p < 0,05$  oraz zmiany krotności  $\log_2 \leq -0,75$  (spadek ilości) lub zmiany krotności  $\log_2 \geq 0,75$  (wzrost ilości). Aby uzyskać funkcjonalną anotację oraz zidentyfikować przypuszczalne szlaki biologiczne dla statystycznie istotnych genów i białek, wykorzystano bazy danych NCBI Gene Ontology (Harris i wsp. 2004) oraz Kyoto Encyclopaedia of Genes and Genomes (KEGG) (Kanehisa i Goto 2000).

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

### Analiza ścieżki sygnałnej kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK) w roślinach pomidora traktowanych biostymulatorami / Analysis of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway in tomato plants treated with biostimulants

Dane transkryptomiczne oraz proteomiczne uzyskane z pobranego materiału badawczego przeanalizowano biostatystycznie, identyfikując szereg szlaków sygnałnych odpowiadających za dojrzewanie i odporność roślin pomi-



**Rys. 1.** Fragment szlaku sygnałnego kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK) w aspekcie odpowiedzi obronnej roślin, uwzględniający wpływ białka kinazy receptorowej At3g47570 z domeną bogatą w leucynę (LRR-RLK) w pomidorze traktowanym biostymulatorami BTH lub BTH-Chol z uwzględnieniem wyników transkryptomicznych oraz proteomicznych oraz potencjalnej infekcji wirusa ToMV. Niebieskie strzałki wskazują na dane otrzymane w analizach transkryptomicznych, pomarańczowe strzałki na dane otrzymane w analizach proteomicznych. Kierunek grotu wskazuje na wzrost lub spadek ekspresji genów lub ilości białek. FLS2 – kinaza receptorowa At3g47570 z domeną bogatą w leucynę (LRR-RLK); mek1 – kinaza 1 kinazy białkowej aktywowanej mitogenem; MKK2 – kinaza 2 kinazy białkowej aktywowanej mitogenem; MPK3 – kinaza 3 kinazy białkowej aktywowanej mitogenem; VIP1 – czynnik transkrypcyjny VIP1; PR1 – białko związane z patogenezą 1; ACS2 – syntaza 1-aminocyklopropano-1-karboksylanowa 2; ETR5/6 – receptor etylenu 5/6; NR – białko never ripe; EIN3/EIL – białko niewrażliwe na etylen 3; XRN4 – 5'-3' egzorybonukleaza 4; ERF1 – czynnik transkrypcyjny odpowiedzi na etylen 1; ChiB – endochitynazy

**Fig. 1.** Fragment of the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway in the context of plant defense response, highlighting the role of receptor kinase At3g47570 with a leucine-rich repeat domain (LRR-RLK) in tomato treated with the biostimulants BTH or BTH-Chol, based on transcriptomic and proteomic data and considering potential ToMV infection. Blue arrows indicate data obtained from transcriptomic analyses, while orange arrows indicate proteomic results. Arrow direction represents an increase or a decrease of gene expression or protein abundance. FLS2 – receptor kinase At3g47570 with leucine-rich repeat domain (LRR-RLK); mek1 – mitogen-activated protein kinase kinase 1; MKK2 – mitogen-activated protein kinase kinase 2; MPK3 – mitogen-activated protein kinase 3; VIP1 – transcription factor VIP1; PR1 – pathogenesis-related protein 1; ACS2 – 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 2; ETR5/6 – ethylene receptor 5/6; NR – never ripe protein; EIN3/EIL – ethylene-insensitive protein 3; XRN4 – 5'-3' exoribonuclease 4; ERF1 – ethylene-responsive transcription factor 1; ChiB – endochitinases

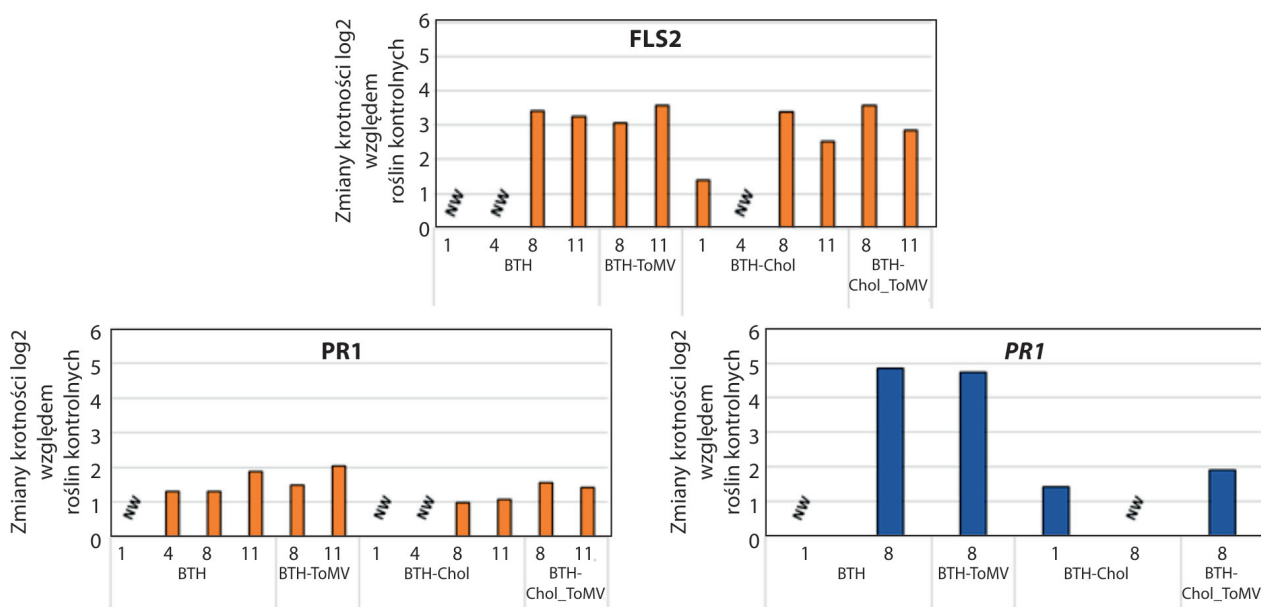
dora, co przedstawiono szerzej w pracy Frąckowiak i wsp. (2022). W niniejszym doświadczeniu analizę poszerzono o dane dotyczące pochodnej cholinowej cieczy jonowej i skupiono się na szlaku sygnałowym kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK), który w znacznym stopniu odpowiada za odpowiedzi obronne roślin na stresy abiotyczne oraz biotyczne (Asai i wsp. 2002). Wzrost ilości jednego z zidentyfikowanych białek, kinazy receptorowej At3g47570 z domeną bogatą w leucynę (LRR-RLK), wpływa na zwiększenie ilości transkryptów oraz białka związanego z patogenezą 1 (PR1) oraz endochitynaz (ChiB) należących do tej samej rodziny białek związanych z patogenezą (PR3). Przyczynia się to również pośrednio do zwiększenia indukcji obronnej rośliny oraz może powodować sygnał do aktywacji śmierci komórkowej (rys. 1).

#### Różnicowa analiza białek i transkryptów związanych z białkiem kinazy receptorowej At3g47570 z domeną bogatą w leucynę (LRR-RLK) / Differential analysis of proteins or transcripts associated with the leucine-rich repeat receptor-like kinase (LRR-RLK) At3g47570

Różnicowa akumulacja białka LRR-RLK At3g47570 (FLS2) wskazuje na jego późną indukcję w roślinach po-

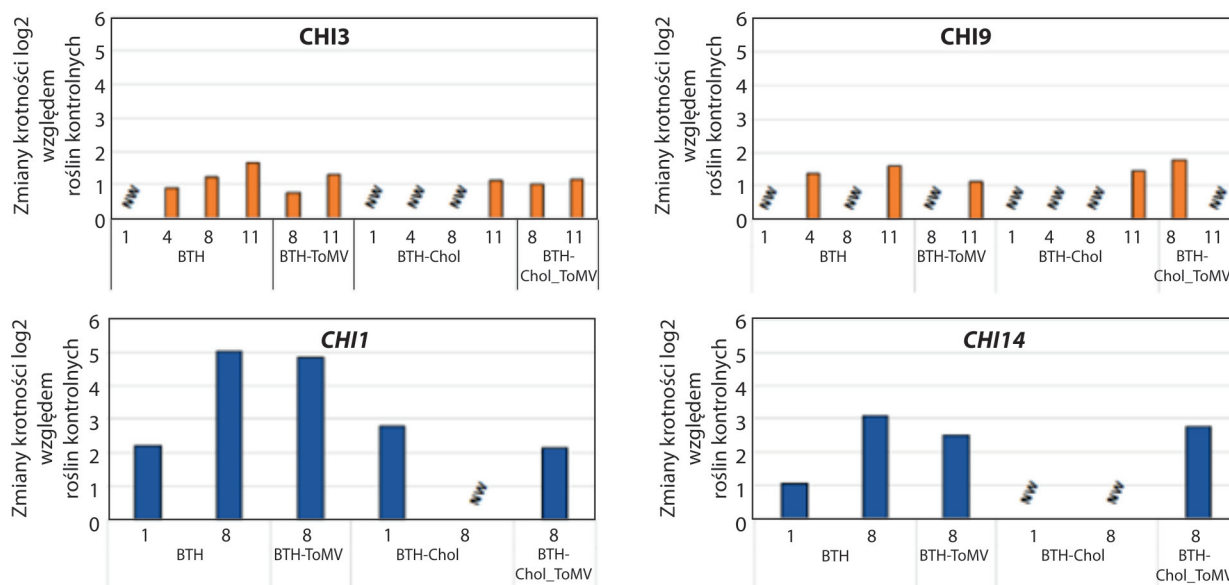
midora ( $\geq 8$  dpt), z wyjątkiem wariantu BTH-Chol, gdzie wzrost poziomu obserwowany był już po 1. dpt (rys. 2). Zgodnie z najnowszymi doniesieniami, At3g47570 uczestniczy w modulacji odpowiedzi obronnych, aktywując odrębne szlaki sygnałowe odporności wyzwalanej wzorcami molekularnymi (PTI) w porównaniu z innymi białkami LRR-RLK u *Arabidopsis thaliana* (Huang i wsp. 2024). We wcześniejszych badaniach wykazano istotny wpływ BTH na indukcję ekspresji genów PR (PR2, PR3, PR4, PR5) (Frąckowiak i wsp. 2022). Obecne wyniki sugerują, że At3g47570 pod wpływem indukcji związanej z traktowaniem BTH lub BTH-Chol, może wzmacniać sygnał prowadzący do ekspresji genów i akumulacji białek PR1, co potwierdza zbieżność dynamiki jego akumulacji z danymi transkryptomycznymi i proteomicznymi PR1, szczególnie widoczną w przypadku traktowania BTH-Chol już po 1. dpt (rys. 2).

Zidentyfikowana kinaza receptorowa At3g47570 (LRR-RLK), homolog kinazy receptorowej FLS2 odpowiedzialnej za rozpoznanie flg22 (białka flageliny bakterii) i inicjację PTI (Gómez-Gómez i Boller 2000), pośrednio reguluje syntezę etylenu i akumulację endochitynaz w pomidorze (Czékus i wsp. 2021). We wcześniejszych badaniach wykazany został wpływ biostymulatorów na fitohormony, w tym etylen oraz ekspresję genów z nimi związanych



**Rys. 2.** Różnicowa akumulacja białka FLS2 – kinazy receptorowej At3g47570 z domeną bogatą w leucynę (LRR-RLK) oraz różnicowa ekspresja genu (wykres koloru niebieskiego) i akumulacja białka (wykres koloru pomarańczowego) związanego z patogenezą 1 (PR1) w analizowanych roślinach pomidora traktowanych BTH, BTH-Chol, w tym również roślin zakażonych wirusem ToMV (BTH-ToMV, BTH-Chol-ToMV) w 1., 4., 8. i 11. dniu po traktowaniu biostymulatorami. Wyniki przedstawiono w skali zmiany krotności log2 względem roślin kontrolnych (Mock). Przedstawiono wyłącznie wyniki spełniające warunek p-value < 0,05. Wykresy pomarańczowe – dane proteomiczne; wykresy niebieskie – dane transkryptomiczne; NW – nie wykryto

**Fig. 2.** Differential accumulation of FLS2 protein – receptor kinase At3g47570 with a leucine-rich repeat domain (LRR-RLK) and differential gene expression (blue plot) and accumulation of pathogenesis-related protein 1 (PR1) (orange plot) in tomato plants treated with BTH and BTH-Chol, including plants infected with ToMV (BTH-ToMV, BTH-Chol-ToMV), at 1, 4, 8, and 11 days after biostimulant application. Results are presented as log2 fold changes relative to control plants (Mock). Only results with p-value < 0.05 are shown. Orange plots – proteomic data; blue plots – transcriptomic data; NW – not detected



**Rys. 3.** Różnicowa ekspresja genów (wykresy koloru niebieskiego) i akumulacja białek (wykresy koloru pomarańczowego) z rodziny endochitynaz (ChiB) w analizowanych roślinach pomidora traktowanych BTH, BTH-Chol, w tym również roślin zakażonych wirusem ToMV (BTH-ToMV, BTH-Chol-ToMV) w 1., 4., 8. i 11. dniu po traktowaniu biostymulatorami. Wyniki przedstawiono w skali zmiany krotności log<sub>2</sub> względem roślin kontrolnych (Mock). Przedstawiono wyłącznie wyniki spełniające warunek p-value < 0,05. Wykresy pomarańczowe – dane proteomiczne; wykresy niebieskie – dane transkryptyczne; CHI3 – chitynaza 3; CHI9 – chitynaza 9; CHI1 – chitynaza 1; CHI14 – chitynaza 14; NW – nie wykryto

**Fig. 3.** Differential genes expression (blue plots) and accumulation of endochitinase family proteins (ChiB) (orange plots) in tomato plants treated with BTH and BTH-Chol, including plants infected with ToMV (BTH-ToMV, BTH-Chol-ToMV), at 1, 4, 8, and 11 days after treatment with biostimulants. Results are presented as log<sub>2</sub> fold changes relative to control plants (Mock). Only results with p-value < 0.05 are shown. Orange plots – proteomic data; blue plots – transcriptomic data; CHI3 – chitinase 3; CHI9 – chitinase 9; CHI1 – chitinase 1; CHI14 – chitinase 14; NW – not detected

(Frąckowiak i wsp. 2022). Uzyskane wyniki wskazują, iż aktywacja At3g47570 indukowana przez BTH i BTH-Chol koreluje ze wzrostem ekspresji genów oraz akumulacji białek endochitynaz (CHI3, CHI9, CHI1, CHI14), wzmacniając odpowiedź obronną roślin. Efekt był silniejszy w przypadku traktowania roślin pomidora czystym BTH niż BTH-Chol (rys. 3).

## Wnioski / Conclusions

1. Biostymulatory z grupy benzotiadiazoli aktywują szlak sygnałny kinaz białkowych aktywowanych mitogenem (MAPK), w którym istotną rolę odgrywa kinaza receptorowa At3g47570 (LRR-RLK), która jest homologiem receptora FLS2.
2. Indukcja akumulacji At3g47570 koreluje z uruchomieniem szeregu mechanizmów obronnych roślin, w tym z programowaną śmiercią komórki, akumulacją białek związanych z patogenezą (PR1) oraz endochitynaz (ChiB), a także z modulacją odpowiedzi zależnej od obecności etylenu.
3. Porównanie efektywności badanych biostymulatorów wykazało silniejsze działanie czystego BTH w stosun-

ku do pochodnej BTH-Chol, co może sugerować, iż aktywność BTH-Chol wynika częściowo z aktywacji odmiennych lub komplementarnych ścieżek sygnałnych związanych z odpornością roślin pomidora.

4. Brak wcześniejszych doniesień o aktywacji tego białka przez BTH w roślinach pomidora, wskazuje na złożoną modulację mechanizmów obronnych, wymagającą dalszej szczegółowej weryfikacji oraz podkreśla potencjał jego zastosowania w ochronie roślin jako alternatywy dla nadmiernie stosowanych pestycydów chemicznych.

## Dostępność danych / Data availability

Wszystkie surowe dane RNA-seq wygenerowane w niniejszym badaniu zostały zdeponowane w bazie NCBI BioProject pod numerem dostępu PRJNA735633. Dane proteomiczne uzyskane za pomocą spektrometrii mas były przetwarzane przy użyciu lokalnego systemu zarządzania informacją laboratoryjną (LIMS), a wszystkie istotne dane zostały zdeponowane w ProteomeXchange Consortium za pośrednictwem repozytorium partnerskiego PRIDE (<http://www.ebi.ac.uk/pride>) pod identyfikatorem zestawu danych PXD028672.

## Finansowanie / Funding

Sekwencjonowanie RNA metodą NGS (RNA-Seq) zostało sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu OPUS (nr 2015/17/B/NZ9/01676). Analiza proteomiczna została przeprowadzona w ramach projektu EPIC-XS, numer projektu 823839, finansowanego w ra-

mach programu Horyzont 2020 Unii Europejskiej. Pozostałe analizy zostały wykonane w ramach projektu PRE-LUDIUM20 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (nr 2021/41/N/NZ9/03406) oraz Programu Statutowego finansowanego przez Ministerstwo Edukacji i Nauki (nr BMB-AOS).

## Literatura / References

- Asai T., Tena G., Plotnikova J., Willmann M.R., Chiu W.L., Gomez-Gomez L., Boller T., Ausubel F.M., Sheen J. 2002. Map kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity. *Nature* 415 (6875): 977–983. DOI: 10.1038/415977a
- Czékus Z., Kukri A., Hamow K.A., Szalai G., Tari I., Ördög A., Poór P. 2021. Activation of local and systemic defence responses by flg22 is dependent on daytime and ethylene in intact tomato plants. *International Journal of Molecular Sciences* 22 (15): 8354. DOI: 10.3390/IJMS22158354
- Doungous O., Khatabi B., Hanna R., Tchuanyo M., Kuete A.F., Fondong V.N. 2021. Acibenzolar-S-methyl induces resistance against cassava mosaic geminiviruses in *Nicotiana benthamiana* and their vector *Bemisia tabaci* in cassava (*Manihot esculenta*). *Crop Protection* 150: 105796. DOI: 10.1016/j.cropro.2021.105796
- Frąckowiak P., Gawlik-Dziki U., Sanchez-Bel P., Obrepalska-Stęplowska A. 2023. The effect of benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (BTH) and its cholinium ionic liquid derivative on the resistance induction and antioxidant properties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 71 (35): 12958–12974. DOI: 10.1021/acs.jafc.3c03876
- Frąckowiak P., Pospieszny H., Smiglak M., Obrepalska-Stęplowska A. 2019. Assessment of the efficacy and mode of action of benzo(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid s-methyl ester (bth) and its derivatives in plant protection against viral disease. *International Journal of Molecular Sciences* 20 (7): 1598. DOI: 10.3390/ijms20071598
- Frąckowiak P., Wrzesińska B., Wiczorek P., Sanchez-Bel P., Kunz L., Dittmann A., Obrepalska-Stęplowska A. 2022. Deciphering of benzothiadiazole (BTH)-induced response of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its effect on early response to virus infection through the multi-omics approach. *Plant and Soil* 481 (1–2): 511–534. DOI: 10.1007/s11104-022-05651-7
- Gómez-Gómez L., Boller T. 2000. FLS2: An LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* 5 (6): 1003–1011. DOI: 10.1016/S1097-2765(00)80265-8
- Harris M.A., Clark J., Ireland A., Lomax J., Ashburner M., Foulger R., Eilbeck K., Lewis S., Marshall B., Mungall C., Richter J., Rubin G.M., Blake J.A., Bult C., Dolan M., Drabkin H., Eppig J.T., Hill D.P., Ni L., ... White R. (Gene Ontology Consortium). 2004. The Gene Ontology (GO) database and informatics resource. *Nucleic Acids Research* 32 (suppl\_1): D258–D261. DOI: 10.1093/nar/gkh036
- Huang Y., Yuan Y., Yang R., Gou X., Dai S., Zhou J., Guo J., Shen J., Lu Y., Liu Y., Cai Y. 2024. A large-scale screening identifies receptor-like kinases with common features in kinase domains that are potentially related to disease resistance in planta. *Frontiers in Plant Science* 15: 1503773. DOI: 10.3389/fpls.2024.1503773
- Ishibashi K., Kubota K., Kano A., Ishikawa M. 2023. Tobamoviruses: old and new threats to tomato cultivation. *Journal of General Plant Pathology* 89 (6): 305–321. DOI: 10.1007/S10327-023-01141-5
- Kanehisa M., Goto S. 2000. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research* 28 (1): 27–30. DOI: 10.1093/nar/28.1.27
- Kumar P.V.N., Elango P., Asmathulla S., Kavimani S. 2017. A systematic review on lycopene and its beneficial effects. *Biomedical and Pharmacology Journal* 10 (4): 2113–2120. DOI: 10.13005/bpj/1335
- Lokewar S.D., Jadhav P.K., Wankhade D.J., Deshmukh A.S., Chavan R.L., Hinge V.R. 2024. Coat protein gene based-molecular characterization of tomato mosaic virus (Tomv) infecting tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *International Journal of Advanced Biochemistry Research* 8 (11): 345–354. DOI: 10.33545/26174693.2024.v8.i11e.2850
- Marchant W.G., Brown J.K., Gautam S., Ghosh S., Simmons A.M., Srinivasan R. 2024. Non-feeding transmission modes of the tomato yellow leaf curl virus by the whitefly *Bemisia tabaci* do not contribute to reoccurring leaf curl outbreaks in tomato. *Insects* 15 (10): 760. DOI: 10.3390/insects15100760
- Mehle N., Bačnik K., Bajde I., Brodarič J., Fox A., Gutiérrez-Aguirre I., Kitek M., Kutnjak D., Loh Y.L., Maksimović Carvalho Ferreira O., Ravnikar M., Vogel E., Vos C., Vučurović A. 2023. Tomato brown rugose fruit virus in aqueous environments – survival and significance of water-mediated transmission. *Frontiers in Plant Science* 14: 1187920. DOI: 10.3389/fpls.2023.1187920
- Molnár A., Csorba T., Lakatos L., Várallyay É., Lacomme C., Burgyn J. 2005. Plant virus-derived small interfering RNAs originate predominantly from highly structured single-stranded viral RNAs. *Journal of Virology* 79 (12): 7812–7818. DOI: 10.1128/jvi.79.12.7812-7818.2005
- Shymanovich T., Saville A.C., Mohammad N., Wei Q., Rasmussen D., Lahre K.A., Rotenberg D., Whitfield A.E., Ristaino J.B. 2024. Disease progress and detection of a California resistance-breaking strain of tomato spotted wilt virus in tomato with LAMP and CRISPR-Cas12a assays. *PhytoFrontiers* 4 (1): 50–60. DOI: 10.1094/PHYTOFR-05-23-0058-FI
- Wrzesińska B., Vu L.D., Gevaert K., De Smet I., Obrepalska-Stęplowska A. 2018. Peanut stunt virus and its satellite RNA trigger changes in phosphorylation in *N. benthamiana* infected plants at the early stage of the infection. *International Journal of Molecular Sciences* 19 (10): 3223. DOI: 10.3390/IJMS19103223