

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Petrovicsné Mátyás Kinga Klára

Keszthely

2021



**MAGYAR AGRÁR - ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
(MATE)**

FESTETICS DOKTORI ISKOLA

**Az ürömlevelű parlagfű (*Ambrosia artemisiifolia* L.)
hím- és nővirágzatában kifejeződő
gének összehasonlító elemzése**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

Petrovicsné Mátyás Kinga Klára

KESZTHELY

2021

A doktori iskola

megnevezése: Festetics Doktori Iskola (FDI)

tudományága: Növénytermesztés és Kertészeti Tudományok

Vezetője: Dr. habil Anda Angéla DSc.
egyetemi tanár, MTA doktora
Magyar Agrár - és Élettudományi Egyetem,
Környezettudományi Intézet

Témavezető: Dr. Virág Eszter
Debreceni Egyetem,
Természettudományi Kar,
Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS	4
CÉLKITŰZÉSEK	6
ANYAG ÉS MÓDSZER	7
EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK	10
ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	15
PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE	16
IRODALOMJEGYZÉK	21

Bevezetés

Az Észak-Amerikában őshonos ürömlevelű parlagfű agresszív invazív terjedésének köszönhetően napjainkra szinte az egész világon elterjedt (Lorenzi és Jeffery 1987; Kovalev 1989; CJB 2016, Flora of China Editorial Committee 2016; Council of Heads of Australasian Herbaria 2016; Euro + Med 2016). Európában tömegesen az első világháborút követően terjedt el két kiindulási központból, Délnyugat-Franciaország és Délnyugat-Magyarország területéről. A legfertőzöttebb területeknek a kontinentális éghajlati övbe tartozó területek számítanak. Invazív terjedése, mind mezőgazdasági, mind közegészségügyi szempontból is súlyos problémát jelent (Makra és mtsai. 2004). Az elmúlt 20-25 évben a növény rendkívüli alkalmazkodóképességének köszönhetően, természetes ellenségek és betegségek hiányában, valamint a herbicidekkel szembeni magas szintű rezisztencia kialakulásának következtében, a fertőzött területek aránya és a parlagfű pollen száma is drámaian megemelkedett. A fentiek miatt kiemelten fontos, globális figyelmet fordítani terjedésének megállítására és megtalálni az optimális technológiát a fertőzött területek számának csökkentésére.

A parlagfű hím és nőivarú virágainak fejlődését szabályozó útvonalak genetikai hátterének meghatározása és vizsgálata, hozzájárulhat egy ökológiai gyomszabályozás stratégiájának kidolgozásához. A magasabb rendű növényeknél a virágok fejlődése egy összetett biológiai és morfológiai folyamat, amely több gén összehangolt szabályozása alatt áll (Taiz és mtsai. 2015). Vizsgálataink során a már részletesen feltárt *Arabidopsis thaliana* virágzásának genetikai ismereteire támaszkodtunk (Chandler 2011, Irish 2010). Az *Asteraceae* család tagjait az *A. thaliana*-hoz képest egy módosultabb és összetettebb virágszerkezet jellemzi, fészekvirággal rendelkeznek, amely egy

– vagy kétnemű virágzat is lehet (Harris 1999). A virágzatot murvalevelek veszik körbe, a csésze bóbitává (pappus), pikkelyekké vagy koronácskává (coronula) redukálódott, a szíromlevelek pártává forrtak össze a porzók gyengén összeforrtak és termésük változatos alakú kaszattermés (Katinas és mtsai. 2016). A módosult virágszerkezet miatt, az egyes virágszervek kialakulását szabályozó gének azonosításához a fészkesek családjába tartozó, különböző fajokban (*Gerbera sp.*; *Helianthus sp.*; *Tagetes sp.*; *Chrysanthemum sp.*) leírt gének szekvenciáit vettük alapul. Az ürömlevelű parlagfű esetében kiemelt jelentőségű a virágszervek kialakulását meghatározó gének azonosítása, hiszen az általa okozott kártételek mindegyike szorosan a növény szaporodásbiológiájához köthető.

Az új generációs szekvenálási technikák kiválóan alkalmasak a virágzást szabályozó, valamint a hím és nőivarú virágokban specifikusan kifejeződő gének azonosítására és azok expressziós szintjének meghatározására. Munkánk során a nőivarú fészekvirágzat két fejlődési stádiumának mRNS-szekvenálási adatait írjuk le részletesen és hasonlítjuk össze a levél és hím virágzat, valamint a hím fészekvirágzat két fejlődési stádiumából származó transzkriptom könyvtárak génexpressziós adataival. Elsősorban a hím és nő virágok fejlődésének genetikai szabályozását és a génexpressziós mintázatát vizsgáltuk vadon élő és *in vitro* körülmények között nevelt növényeken. A célokat részletesebben a következő öt pontban határoztuk meg.

Célkitűzések

1. Az ürömlevelű parlagnővirág hím- és nőivarú virágzataiból és a virágzatok különböző fejlődési stádiumaiból transzkriptom (mRNS) könyvtárak létrehozása.
2. Az *A. artemisiifolia* L. virágzását szabályozó gének és a virágzást befolyásoló transzkripciós faktorok kódoló szekvenciáinak és expressziós szintjeinek meghatározása *in silico* és RT-qPCR módszerekkel.
3. Az egyes virágszervek fejlődését meghatározó (ABC) gének kódoló szekvenciáinak és expressziós szintjeinek meghatározása a virágfejlődés során.
4. Kifejezetten hím- és nőivarú virágzatokra specifikus gének szűrése, azonosítása és expressziós szintjeinek meghatározása.
5. A hím- és nőivarú virágzatok képződését szabályozó biokémiai utak meghatározása.

Anyag és módszer

A genetikai vizsgálatok előtt azonosítottuk a parlagfű virágszerveit és a virágok fejlődési stádiumait sztereomikroszkópos rétegfotózás segítségével. Szabadföldi örömlévelű parlagfű egyedekről gyűjtöttünk porzós és termős virágzatokat Keszthely környékén (46°45'55,6"N, 17°14'52,6"E), a virágzatokat és az egyes virágokat sztereomikroszkóp segítségével vizsgáltuk és tártuk fel. A rétegfelvételezéses fotózást Panasonic G6 fényképezőgéppel és Zeiss Discovery V8 mikroszkóppal (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jéna, Németország) végeztük. Az egyes fotókat a Combine ZM szoftver segítségével állítottuk össze 10-15 felvételtől. A digitális mikroszkóppal készített képeket Keyence VHX6000 készülékkel rögzítettük.

A genetikai vizsgálat során négy szabadföldi parlagfű növényről gyűjtöttünk magokat Cserszegtomaj területén (GPS: 46.79528, 17.26005). A magok felületét 1 percig 70% (v/v) etanollal fertőtlenítettük, majd 23-30 percig folyó csapvíz alatt mostuk, ezt követte egy 20 perces áztatás a 7% os TWEEN 20 –at tartalmazó calcium –hypochlorit oldatban és háromszoros steril vizes mosás. A sterilizált magokat 0.3 mg/l metatopolin hormonnal kiegészített 2% cukor és 0.8% phytoagar tartalmú MS táptalajon (Murashige and Skoog, 1962) csíráztattuk. A táptalaj pH-ját, a 20 perces 120 °C fokos autoklávozást megelőzően 5.8- ra állítottuk be. A növénynevelést 25 °C-on 16/8 óras megvilágítással 2400 -2800 lux fényintenzitás mellett végeztük és a 21 napos növényekről 1.5-2 cm hosszúságú hónaljrüggel rendelkező nóduszokat azonos összetételű friss táptalajra passzáltuk.

A nőivarú virágok esetében kilenc fejlődési stádiumot tudtunk meghatározni, elkülönítettünk korai és késői fejlődési fázist (1F és 2F), amelyek a a transzkriptom könyvtárak alapjaiul szolgáltak. A hím virágok esetében a korai és késői fejlődési fázis (1M és 2M) mintáit, a már korábban vizsgált nő,

hím, levél transzkriptom könyvtárak alapjaiul szolgáló genotípusokról gyűjtöttük be. A RT-qPCR vizsgálatokhoz Keszthelyen négy vadon növény parlagfű egyedről gyűjtöttünk mintákat (Zala megye, GPS: 46.7654716, 17.2479554) és fagyasztottuk le az egyes szövettípusokat folyékony nitrogénben. Az RNS kivonást és a DNáz-os emésztést mindegyik szövettípus esetében TaKaRa Plant RNA Extraction Kittel (Takara Bio Inc; Japan) végeztük a gyártó leírása alapján. Az RNS minőségi és mennyiségi meghatározását az Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies; USA) készülékkel végeztük el. Az mRNS dúsítást, a cDNS szintézist és a könyvtárkészítést a kétirányú szekvenáláshoz az Illumina TruSeq™ RNA sample preparation kittel végeztük, oligo(dT)₁₈ alkalmazásával. A szekvenálás Illumina NextSeq500 platformon történt. A gének azonosításához és expressziós mintázatuk vizsgálatához, egy korábbi levél, hím és nőivarú virágzatok mintáiból szekvenált transzkriptom könyvtárak adatait (NCBI, SRA: SRP08007) (Virág és mtsai. 2016) is felhasználtuk. Az előfeldolgozás során a nyers leolvasások minőségét a FastQC minőségellenőrző szoftver segítségével végeztük el (Andrews 2010). A szűrést követően a túlreprezentált és alacsony minőségű szekvenciák aránya az összes szekvenciához képest 0.1%-os arányt mutatott, amely megfelel az elfogadott szekvenálási hibahatár értéknek. A nem megfelelő minőségű szekvenciákat a GenoUtils program segítségével eltávolítottuk és a .fastq fájlokat .fasta fájlokká konvertáltuk. A szűrt leolvasásokból hét szövetspecifikus könyvtárat hoztunk létre (M, L, F, 1F, 2F, 1M, and 2M). Az egyes mintatípusok *de novo* összeszerelését Trinity programcsomaggal (Haas és mtsai 2013) végeztük el. A rekonstruált transzkriptomot referenciaként használtuk, melyhez az egyes mintákat Bowtie2 programmal illesztettük fel (Langmead és mtsai. 2009). Első lépésként, a levél, hím és nő virágzatok transzkriptom könyvtáraiból egy „referencia” *de novo* transzkriptom adatbázist (NCBI; TSA; GEZL00000000) hoztunk létre, az átfedő leolvasásokat (kmer size, K = 25) egy kontigba

egyesítettük. Ezt az adatbázist használtuk jelen tanulmány vizsgálatait során referencia adatbázisként. A minta specifikus génexpresszió megállapításához, az egyes leolvasásokat az RSEM (Li és Dewey 2011) programmal illesztettük a saját referencia adatbázisunkhoz és a differenciáltan expresszált transzkripteket a Microsoft SQL Server Management Studio segítségével csoportosítottuk.

Az egyes gének kódoló szekvenciáit a TransDecoder programmal, valamint a homológ szekvenciák alapján a BLAST+ programmal határoztuk meg (Altschul és mtsai. 1990). Külön-külön, az 1F; 2F; 1M és 2M könyvtárak *de novo* összerakásait a Trinity programcsomag alkalmazásával hajtottuk végre, és a nyilvános adatbázisba (NCBI) a GFWB00000000 (1F) és a GFWS00000000 (2F) azonosítóval töltöttük fel. Az egyedi transzkripció variánsok újraillesztését BLASTn algoritmussal végeztük (E érték kevesebb mint 10^{-5}), az 1F és 2F könyvtárat használva referenciaként. Az így szűrt specifikus szekvenciák annotálását az NCBI protein adatbázisa alapján végeztük el. Az egyes könyvtárakból nyert nyers leolvasásokat Bowtie2 szoftver segítségével térképeztük fel az adott gének kódoló (CDS) szekvenciáira. Az egyes gének normalizált expressziós értékeinek (RPKM) (Mortazavi és mtsai. 2008) meghatározásához a GenoUtils saját fejlesztésű algoritmust használtunk.

Az RT-qPCR vizsgálatok során, a reverse transzkripciót 1 µg teljes RNS-ből végeztük a Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit felhasználásával oligo(dT)₁₈ és random hexamer primerek (Thermo Scientific) segítségével, a gyártó utasításait követve. A PCR amplifikálás 20 µl végtérfogatban történt a Bio-Rad CFX96 System qPCR platformon, Xceed qPCR SG Mix (Institute of Applied Biotechnologies) kittel 1 µl cDNS templáttal. A primerek specifikusságának vizsgálata és a relatív génexpresszió számítása ($\Delta\Delta C_t$ módszer alapján) Bio-Rad CFX ManagerTM 3.1 szoftver segítségével történt. A PCR reakció beállítása a következők szerint történt: az elődenaturációt (95 °C 2 perc) követően 46 ciklus 95 °C 5 másodperc, 59 °C 30

másodperc, amelyet egy 5 másodpercig tartó olvadáspont analízis követett 65-95°C 0,5 fokos hőmérséklet lépcsővel. A primerek tervezését Primer3 (Koressaar és Remm 2007, Untergrasser és mtsai. 2012) szoftver segítségével végeztük. A génexpresszió analízis alapjául 3 technikai és biológiai ismétlés szolgált, melyet a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*) génhez, mint háztartási génhez viszonyítottunk (Hodgins és mtsai. 2013). A gének funkciójának predikciójához a legfrissebb fehérje adatbázist 10/03/2016 (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/db/FASTA/nr.gz>) használtuk. Az egyedi szekvenciák annotálásához többféle bioinformatikai megközelítést használtunk, ezek közül elsőként a Swiss-Prot protein adatbázis segítségével lokális BLASTx (Gish és States 1993) és E érték elemzést végeztünk 10^{-5} határértéken. Továbbá a gének molekuláris funkcióját, biológiai folyamatokban való részvételüket és sejtalkotó ontológiájukat a Blast2GO (Götz és mtsai. 2008) programmal elemeztük (<http://www.geneontology.org>).

Eredmények és következtetések

Az Illumina NextSeq500 platformon végzett mRNS szekvenálás eredményei hozzájárultak *A. artemisiifolia* virágmorfogenezisének megismeréséhez. A szekvenálást követően a nőivarú virágzat fejlődési stádiumaiból összesen 39664366 (1F) és 37127852 (2F) 2 * 80 bp hosszúságú leolvasásokat kaptunk. A szekvenciák 92%-a kiváló minőségű volt, így a szűrést követően az egyes könyvtárak 36491216 (1F) és 34157623 (2F) nyers leolvasást tartalmaztak, amelyekből 109452 (1F) és 97239 (2F) kontigot tudtunk összeállítani. A szekvenálás eredményét az NCBI adatbázisban, PRJNA335689 azonosító számmal tettük közzé. A hím- és nőivarú virágzatokból készült transzkriptom könyvtárak egymás közötti minőségi ellenőrzését *in silico* analízis során végeztük.

A referencia könyvtár segítségével meghatározott 80 gén kódoló szekvenciáját local blast segítségével illesztettük, melynek eredményeként a kódoló szekvenciák bázissorendjében nem találtuk különbséget a különböző szövettípusokban. Az egyes könyvtárak szövetspecifitását az *A. thaliana*-ban leírt pollen és embrióképződésért felelős homológ gének expressziós különbségeivel validáltuk. A hím transzkriptom könyvtár megbízhatóságát *AMS*, *LAP3*, *LAP5*, *LAP6*, *MSE1*, *PME*, *PG1*, *PG2* gének homológ szekvenciáival, a nő transzkriptom könyvtárakat *YAB1*, *YAB4*, *ANT* és az általunk Microsoft SQL Server Management Studio programmal szűrt, nővirág specifikusnak azonosított *SUP*, *MYB5*, *MYB61*, *TCP12* génekkel validáltuk. A génexpressziós eredmények alapján szövetspecifikusnak minősítettük könyvtárainkat.

A virágzást szabályozó útvonalak génjeinek meghatározásához az *A. thaliana* modellszervezetben leírt gének szekvenciáit vettük alapul, melynek eredményeként 35 gén kódoló szekvenciáját határoztuk meg és vizsgáltuk a kifejeződésük mértékét az egyes mintatípusokban. A *LFY*, *FRI* és az *FLC* homológ gének szekvenciáit nem tudtuk azonosítani a vizsgált generatív és vegetatív szövetek egyikében sem. A fotoperiodikus jelátviteli útvonalhoz köthető *PHYB* gén overexpresszióját az 1F; 2F; 1M és 2M könyvtárakban, a *COPI*; *CO* és *FT* gének erőteljes kifejeződését a levél mintákból származó könyvtárban detektáltuk. *Arabidopsis*-ban a *PHYB* gén expressziója közvetlenül befolyásolja az *FT* gén expresszióját, és csak a levélre korlátozódik, ezért az ürömlévelű parlagfű esetében a *PHYB* gén virágokban történő kifejeződése érdekes és szokatlan adat. Ez az eredmény arra utalhat, hogy a *PHYB* gén a parlagfű esetében szabályozhatja az *FT* kapcsoló után bekövetkező virágfejlődési lépéseket is. A vernalizációs útvonal *VRNI* homológ génje, amelynek feladata a virág represszor *FLC* gén gátlása (Sung és Amasino 2004), minden fejlődési szakaszban magas értékeket mutatott (1F; 2F; 1M; 2M).

A *SOC1* gén homológját csak az 1F és 2F könyvtárakban találtunk. A *SOC1* integrálja a különböző útvonalakon érkező virágzási jeleket, és aktiválhatja az *APETALA1 (API)* és a *LEAFY (LFY)* virágmerisztéma géneket. Az *SOC1* és a *LFY* (RPKM = 0) gén hiánya és az *FT* túlzott expressziója (RPKM = 1487) a vadon növény mintákban azt jelezheti, hogy a virágzási átmenetet intenzívebben szabályozza a fotoperiodikus út ezekben a mintákban. A hím virágzatban az *FD* és *FT* gén expressziója biztosítja FT/FD komplex kialakulását, amely az *API* gén pozitív regulátora. Ezzel szemben a hormonális útvonallal kapcsolatos gének (*SOC1*; *GID1A*; *GID1B*; *Ga2ox8*; *CAL*) magasabb expressziós értékeket mutattak *in vitro* körülmények között nevelt növények korai és késői fejlődési stádiumú nőivarú virágzataiban. Mind a szabadföldi, mind *in vitro* körülmények között a virágzást szabályozó gének aktiválták az *API* gén expresszióját, amely a virág kialakulásának első integrátor génje. A fentieket figyelembevéve, arra a következtetésre jutottunk, hogy az egyes virágtípusok morfogenezise két különböző szabályozási útvonalon történik, a hímvirágok fejlődésének szabályozása a fotoperiodikus útvonalhoz kötött az FT / FD komplex által, míg a nővirágok szabályozása a hormonális szabályozás alatt áll, az AGL24 / SOC1 útvonalon keresztül.

Az ürömlevelű parlagfű virágszervek kialakulásáért felelős génjeinek szekvenciáját, 13 ABC(E) gén (*API*; *AP2*; *AP3 1*; *AP3 2*; *AP3 3*; *PI*; *AG*; *SEP1*; *SEP2 1*; *SEP2 2*; *SEP3 1*; *SEP3 2*; *SEP4*) az *Asteraceae* családba tartozó fajok (*Gerbera sp.*; *Helianthus sp.*; *Tagetes sp.*; *Chrysanthemum sp.*) homológ szekvenciái alapján határoztuk meg. Az *AP2*; *AP3 2* és *PI* gének a szabadföldi egyedekben nem expresszázódtak a nővirág mintákban, ezért ezeket az ürömlevelű parlagfű hím-specifikus génjeinek valószínűsítettük. A szakirodalomban leírt transzkripciós faktorok szekvenciái alapján, 11 virágzásban szerepet játszó gén kódoló szekvenciáját határoztuk meg.

Az RPKM értékek alátámasztották, hogy mind a nő- mind a hímvirágok fejlődésében a *CONSTANS-LIKE* zink-finger TF család tagjai pl. (*COL4*, *COL5*) meghatározó szerepet játszanak. Az 1F és 2F könyvtárakban a *COL4* gén működése felülreprezentált volt, amely arra enged következtetni, hogy a hímivarú virágzatban a cirkadián óra és a fotoperiodikus útvonal nagyobb szerephez jut. A *COL9* gén alulreprezentáltságát mutattuk ki a szabadföldi növényekben. A nőivarú virágzatban a *COL5* gén nagyobb génkifejeződését figyeltük meg, különösen az *in vitro* nevelt növényeknél, ahol a nővirágok intenzívebb növekedését tapasztaltuk, rövid nappalos körülmények esetén. További jellegzetes transzkriptnek bizonyult egy helix-loop-helix protein családdhoz tartozó, *IAA-LEUCINE RESISTANT 3* homológ, az *ILR3* gén. Mivel ez a gén egyforma szinten fejeződött ki minden vizsgált mintában (1F; 2F; 1M; 2M; M és L), valószínűsítettük, hogy a vas homeosztázis szabályozása által, a hormonális és redox egyensúly fenntartásában lehet szerepe, ami a termékeny virágok létrejöttének előfeltétele (Sudre és mtsai. 2013). A fejlődési stádium korai szakaszában lévő nővirágokban (1F) a *PIN1* gén (auxin efflux carrier homológ) felülreprezentáltságát mutattuk ki, mely arra utal, hogy a nővirágok fejlődése erős auxin hatás alatt állhat. A hímvirágzat minden fejlődési stádiumában (M; 1M; 2M) az *EIN3* gén erős expresszióját detektáltuk, ami a *SOC1* és *LFY* gén kifejeződésének gátlását eredményezte. Az *EIN3* (ethylene-responsive) gén a virágzás késleltetését eredményezi azáltal, hogy elnyomja a *LFY* és *SOC1* virágmerisztéma kilakulásában szerepet játszó géneket (Achard és mtsai. 2007). A NAC-domént tartalmazó transzkripciós faktorok, mint a *CUC1* és *CUC2* gének által kódolt CUP-SHAPED COTYLEDON fehérjék, elengedhetetlenek a növények normál morfogeneziséhez, a parlagfű virágzatok mindegyikében ezeknek a géneknek alacsony kifejeződését tapasztaltuk. A *MYB* transzkripciós faktorok fontos szerepet játszanak a növények sejtciklusának szabályozásában.

A *MYB33* homológ gén expresszióját a szabadföldi parlagfűvek esetében csak a hímivarú virágzatban detektáltunk, ez az eredmény összhangban van Rocheta (2014) és Millar (2005) megállapításával, miszerint a *MYB33* transzkripciós faktor elősegíti a portokok fejlődését. Érdekesség, hogy az *in vitro* növények nőivarú virágzatainak mindkét fejlődési stádiumában is kimutattuk a *MYB33* homológ gén expresszióját, amely megváltozott hormonális szabályozásra is utalhat.

Az egyes egyedi szövetspecifikus transzkripteket a Trinotate hőtérkép adatai alapján választottuk ki és az Microsoft SQL Server Management Studio segítségével szűrtük tovább, Venn diagramm alkalmazásával és a FunRich (V3) szoftver használatával ábrázoltuk (Pathan és mtsai. 2015). A szűrés 5659 hím (M), 1691 nő (F) és 4267 levél (L) specifikus transzkriptet eredményezett, melyekből összesen 10507 volt annotálható. A szekvenciák annotálását és funkcionális elemzését a BLASTx (Gish és States 1993) és Blast2GO (Götz és mtsai. 2008, Conesa mtsai. 2005) programok segítségével végeztük el. A nő virágzat mintáiban detektált egyedi 1691 transzkript közül, a 700 bp-nál hosszabbakat szűrtük tovább, és 60 db annotálható szekvenciát állapítottunk meg. Ezek közül 9 gén teljes kódoló szekvenciáját tudtuk meghatározni: *Protein kinase 1A (PBL9)*; *Superman (SUP)*; *Alpha carbonic anhydrase-7 (ACA7)*; *Laccase-2 (LAC2)*; *TCP12*; *MYB5*; *MIB61*; *Zinc finger protein WIP2* és a *Brassinosteroid enhanced expression 1 (BEE1)*. A hímivarú virágzat szöveteiben 4549 egyedien expresszált transzkriptet állapítottunk meg, ezek közül a 700 bp-nál hosszabbakat szűrtük tovább, így 41 gént azonosítottuk és 14 gén *PCC13-62*; *CYP450 86B1*; *GDSL2*; *TET8*; *OAS*; *MYB80*; *MYB26*; *MYB35*; *MYB44*; *PMADS2*; *NIP*; *SYN* teljes kódoló szekvenciáját határoztuk meg. A meghatározott gének expressziós értékeit is megállapítottuk a korai és késői fejlődési stádiumokban.

Az eredményeink alátámasztásához, az RT-qPCR vizsgálatok során, a legnagyobb expressziós különbségeket mutató és funkcionális szempontból legérdekesebb géneket vizsgáltuk. A *TCP12*, *SUP* géneket azért választottuk ki, hogy igazoljuk exkluzív expressziójukat a nőivarú virágokban, a *LAP6* és a *STIG1* géneket pedig a hímivarú virágokban. Továbbá, a *PI* gént, amelyet az ABC(E) gének közül a normalizált expressziós érték alapján hím specifikusnak valószínűsítettünk. A *PI* gén relatív expressziós értékei a hímvirágzatban, levélben és a nővirágzatban, a következők voltak: 8170.66, 1.59, 3077.59. A *STIG1* gén hasonló értékei a következők: 1000.38, 0.38, 40.9. A *SUP* gén relatív expressziós szintje a hímvirágban 0.83, levélben 0.63 nőivarú virágzatban pedig 540.53. A *TCP12* gén relatív expressziós szintje a hímvirágban 12.97, levélben 3.95, a nőivarú virágzatban pedig 146.44 volt. A kapott eredményeket specifitásuk alapján csoportosítottuk, a nőivarú virágzat transzkriptom adatbázisának validálását a *TCP12* és *SUP* expressziós mintázata alapján igazoltuk. A *LAP6* és a *STIG 1* homológok magas expressziója a hímvirágzatokban visszaigazolást nyert a RT-qPCR vizsgálati módszer alapján is. A *STIG1* gén, amely a szakirodalom szerint bibe specifikus gén (Rocheta és mtsai. 2014) hím specifitása az ürömlévelű parlagfűben, a hímvirágokban található csökevényes termővel, az úgynevezett pisztillodiummal magyarázható.

Új tudományos eredmények

1. Az *Ambrosia artemisiifolia* L. hím- és nőivarú virágszerveinek azonosítása, magyar nyelvű leíró jellemzése a fejlődési stádiumok bemutatásával. A korai és késői fejlődési stádiumú hím- és nőivarú virágzatok transzkriptom könyvtárainak létrehozása és biológiai validálása.

2. Az *Ambrosia artemisiifolia* L. virágzatainak morfogenezisében szerepet játszó 80 gén kódoló szekvenciájának meghatározása és expressziós szintjük azonosítása *in silico*, valamint kísérleti módszerrel is.
3. Kilenc nő- és tizennégy hímivarú virágokban egyedileg kifejeződő (ivar specifikus) gén azonosítása és validálása, a transzkriptomkönyvtárak összehasonlítása alapján.
4. A virágszervek fejlődéséért felelős 13 ABC(E) gén szekvenciájának meghatározása az egylaki váltivarú ürömlevelű parlagfű esetében. Az APETALA 2, az APETALA3 2 és a PISTILLATA gének hím specifikusságának megállapítása.
5. A hímvirágok fejlődését elsősorban a fényfüggő fotoperiodikus jelátviteli út indukálja, az FT/FD komplex által, rövidnappalos körülmények között, míg a nőivarú virágok kialakulását a hormonális (gibberellinsav) jelátviteli út irányítja az AGL24 / SOC1 útvonalon keresztül.

Publikációk jegyzéke

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Idegen nyelvű referált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Mátyás KK, Hegedűs G, Taller J, Farkas E, Decsi K, Kutasy B, Kálmán N, Nagy E, Kolics B, Virág E *Different expression pattern of flowering pathway genes contribute to male or female organ development during floral transition in the monoecious weed Ambrosia artemisiifolia L. (Asteraceae)*. PEERJ 7 (2019) doi.org/10.7717/peerj.7421. **IF.2.38**

Virág E, Hegedűs G, Barta E, Nagy E, **Mátyás K**, Kolics B, Taller J *Illumina sequencing of common (short) ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.) reproductive organs and leaves.*

FRONTIERS IN PLANT SCIENCES data report (2016) doi:10.3389/fpls.2016.01506. **IF: 4.298**

Magyar nyelvű referált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Mátyás KK, Bódis J, Virág E, Taller J, Pintér Cs *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) virágzatának részletes leírása sztereomikroszkópos rétegfotózás használatával.* BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK 107: 1 pp. 103-109., 7 p. (2020) **IF: 0.52**

Idegen nyelvű konferencia összefoglalók

Mátyás KK, Taller J, Hegedűs G, Kolics B, Farkas E, Nagy E, Parrag T, Farkas Z, Virág E *Identification of floral organ identity genes in the common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L).* Fiatal Biotechnológusok III. Országos Konferenciája (2018), Budapest, Magyarország, 2018. március 28-29., 31p.

Virág E, Nagy E, **Mátyás K**, Kolics B, Kutasy B, Decsi K, Taller J . *Analysis of molecular background of flowering in the common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.).* In: Pannonian Plant Biotechnology Workshop "Integration fundamental research into the practical agriculture".(2015) Ljubljana, Szlovénia, pp. 33-34.

Magyar nyelvű konferencia összefoglalók

Mátyás KK, Pintér Cs, Bódis J, Virág E, Taller J *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) hím és nő virágzatának morfológiai jellemzése rétegfotózással.* MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA (2019) 20. évf. 1. sz, 84 p.

Virág E, Hegedűs G, **Mátyás K**, Nagy E, Taller J *Az ürömlevelű parlagfű váltivarú virágzatának kialakulásért felelős gének NGS alapú vizsgálata.* „GENETIKAI MŰHELYEK MAGYARORSZÁGON" XVI. Minikonferencia (2017), Szeged, Magyarország, 2017. szeptember 8. Elektronikus kiadvány, 1 p.

Magyar nyelvű teljes terjedelemben megjelent konferencia cikkek

Mátyás KK, Taller J, Hegedűs G, Farkas E, Nagy E, Parrag T, Farkas Z, Virág E *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) hím és nő virágzatában kifejeződő gének összehasonlító elemzése.* XXIV. Ifjúsági Tudományos Fórum (2018), 2018. május 24, Keszthely, Elektronikus kiadvány, 10 p.

Virág E, **Mátyás KK**, Taller J, Farkas Z, Parrag T, Hegedűs G *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) váltivarú virágzatáért felelős genetikai háttér felderítése bioinformatikai elemzésekkel.* XXIV. Ifjúsági Tudományos Fórum (2018), 2018. május 24, Keszthely, Elektronikus kiadvány, 12 p.

Idegennyelvű referált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Kolics É, Specziár A, Taller J, **Mátyás KK**, Kolics B *Lithium chloride outperformed oxalic acid sublimation in a preliminary experiment for Varroa mite control in pre-wintering honey bee colonies*, ACTA VETERINARIA HUNGARICA 68 (4). 370-373. (2021) **IF: 1,019** (2019)

Kolics É, Parrag T, Házi F, Szepesi K, Heltai B, **Mátyás K** Kutasy B; Virág E; Taller J; Orbán L, Kolics B *An Alternative, High Throughput Method to Identify Csd Alleles of the Honey Bee*. INSECTS 11: 8 Paper: 483 (2020) **IF: 2,220** (2019)

Kolics É, **Mátyás K**, Taller J, Specziár A, Kolics B *Contact Effect Contribution to the High Efficiency of Lithium Chloride Against the Mite Parasite of the Honey Bee* INSECTS 11: 6 Paper: 333 (2020) **IF: 2,220** (2019)

Farkas E, Farkas Z, Hegedűs G, Kutasy B, Kolics B, **Mátyás KK**, Parrag T, Solti I, Virág E, Taller J *Identification and expression of pollen allergen transcripts in different organs of the common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.)*. GEORGOKIN FOR AGRICULTURE 23 (2) (2019) 116-130.

Taller J, Decsi K, Farkas E, Nagy E, **Mátyás KK**, Kolics B, Kutasy B, Virág E *De novo Transcriptome Sequencing Based Identification of Amb a 3-like Pollen Allergen in Common Ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.)*. JOURNAL OF BOTANICAL SCIENCES (2015) 5: 2 pp. 12-16.

Taksonyi P, Kocsis L, **Mátyás K**, Taller J *Investigation into effective control of powdery mildew with strobilurins in viticulture – a case study*. MITTELUNGEN KLOSTERNEUBURG (2013) 63: 1 pp. 30-37. **IF: 0,031**

Taksonyi P, Kocsis L, **Mátyás KK**, Taller J *The effect of quinone outside inhibitors fungicides on powdery mildew in a grape vineyard in Hungary*. SCIENTIA HORTICULTURAE (2013) 161 pp. 233-238.) **IF:1,504**

Gorji MA, **Mátyás KK**, DublecZ Zs, Decsi K, Cernák I, Hoffmann B, Taller J, Polgár Zs *Investigation of in vitro osmotic stress tolerance in tetraploid potato and identification of major QTLs*. AMERICAN JOURNAL OF POTATO RESEARCH 89 (2012): 6 pp. 453-464. **IF:1,250**

Mátyás KK, Taller J, Cseh A, PocZai P, Cernák I *Development of a simple PCR-based assay for the identification of triazine resistance in the noxious plant common ragweed (Ambrosia artemisiifolia) and its applicability in higher plants*. BIOTECHNOLOGY LETTERS 33 (2011): 12 pp. 2509-2515. **IF:1,683**

Poczai P, **Mátyás KK**, Szabó I, Varga I, Hyvönen J, Cernák I, Mosapour Gorji A, Decsi K, Taller J *Genetic Variability of Thermal Nymphaea (Nymphaeaceae) Populations Based on ISSR Markers: Implications on Relationships, Hybridization, and Conservation*. PLANT MOLECULAR REPORTER 29 (2011): 4 pp. 906-918.) **IF: 2,453**

Poczai P, **Mátyás K**, Taller J, Szabó I *Study of the origin of the rarely cultivated edible Solanum species: morphological and molecular data*. BIOLOGIA PLANTARUM 54 (2010): 3, pp. 543-546. **IF: 1,582**

Magyar nyelvű referált szakfolyóiratban megjelent közlemények

Taller J, Nagy E, Decsi K, Kutasy B, **Mátyás KK**, Farkas E, Kolics B, Barta E, Virág E *A transzkriptomika hasznosítása a gyomkutatásban. Esettanulmány a legelterjedtebb gyomnövényünkkel, az ürömlevelű parlagfűvel (Ambrosia artemisiifolia L.)*. MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA 17 (2016) 5-15.

Mátyás KK, Vignesh M, Taller J *Előzetes eredmények az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) Kárpát-medencei populációgenetikai vizsgálatáról*. MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA 13 (2012) 21-36.

Idegen nyelvű teljes terjedelemben megjelent konferencia cikkek

Mátyás KK, Kolics B, Csép A, Nagy E, Taller J *Isolation and preliminary analysis of the variability of the ALS (Acetolactate synthase) gene from common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.)*. In: Bene Sz (szerk.) 20th Youth Scientific Forum (2014): University of Pannonia Georgikon Faculty Keszthely, Magyarország, Elektronikus kiadvány pp. 386-396.

Idegen nyelvű konferencia összefoglalók

Kolics B, Sajtos Zs, **Mátyás K**, Kolics É, Taller J, Baranyai E. *"Lithium Chloride - Hazard or Possibility?"* In 46th Apimondia International Apicultural Congress Montréal Québec - Canada, 8-12 September 2019, Elektronikus kiadvány p. 285.

Kolics B, **Mátyás K**, Kutasy B, Parrag T, Házi F, Kolics É, Orbán L, Taller J *Novel method to identify the sex alleles of the honey bee*, In 46th Apimondia International Apicultural Congress Montréal Québec Canada, 8-12 September 2019 Elektronikus kiadvány p58.

Mátyás KK, Poczai P, Cernák I, Benoit DL, Taller J *Identification of linuron resistance in the common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.)* The 10th International Ph.D. Student Conference on Experimental Plant Biology (2012) Brno, Czech Republic, September 3-5 2012 Bulletin-Book of Abstracts 117 p.

Mátyás KK, Murthy V, Gorji AM *Population Genetic analysis of Common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.) in Europe using DNA – Based Molecular Markers* In: Bohren C, Bertossa M,

Schoenenberger N, Rossinelli M, Conedera M (szerk.) 3rd International Symposium Environmental Weeds and Invasive Plants (2011): European Weed Research Society (EWRS) p127.

Magyar nyelvű konferencia összefoglalók

Solti I, Farkas E, **Mátyás K**, Székvári K, Kolics B, Kutasy B, Nagy E, Kálmán N, Hegedűs G, Taller J, Virág E *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) főbb allergénjeinek génkifejeződés vizsgálata.* MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA 20 (2019): 1p. 87.

Nagy E, Virág E, **Mátyás K**, Kutasy B, Solti I, Kolics B, Taller J *Mikroszatellitek az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) kloroplastisz genomjában* MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA 20 (2019:) 1 p. 85.

Nagy E, **Mátyás K**, Kolics B, Virág E, Kutasy B, Taller J *Molekuláris genetikai vizsgálatok a virágzás szabályozottságának feltárására az ürömlevelű parlagfűben (Ambrosia artemisiifolia L.)* MAGYAR GYOMKUTATÁS ÉS TECHNOLÓGIA 16 (2015): 1 p. 67

Varga I, Nagy V, Baltazár T, **Mátyás KK** *A fehér fagyöngy (Viscum album L.) elleni herbicides védekezés hatékonyságának vizsgálata.*In: XXII. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum (2012) Keszthely, 2012.január 25-27., Magyarország: Pannon Egyetem Georgikon Kar p. 124

Taller J, Cernák I, **Mátyás KK**, Poczai P, Cseh A *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) atrazin és ALS-gátló hatóanyagú herbicidekkel szembeni rezisztenciájának molekuláris genetikai vizsgálata.* In: Lehoczky É, Budai P, Kadlicskó S, Marczali Zs, Nádasy M, Nádasyné Ihárosi E, Takács A (szerk.) XX. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum (2010): 20 éves a Keszthelyi Növényvédelmi Fórum 1990-2010, Keszthely, 2010. január 27-29, Magyarország p. 151

Magyar nyelvű teljes terjedelemben megjelent konferencia cikkek

Solti I, Farkas E, **Mátyás K**, Székvári K, Kolics B, Kutasy B, Nagy E, Kálmán N, Hegedűs G, Taller J, Virág E *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) allergénjeinek génkifejeződés vizsgálata.* In: Dr. Bene Szabolcs (szerk.) XXV. Ifjúsági Tudományos Fórum (2019) Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely, 2019. május 23. CD kiadvány ISBN száma: 978-963-9639-98-0.

Kutasy B, **Mátyás K**, Virág E, Decsi K, Nagy E, Farkas E, Hegedűs G, Kolics B, Taller J *Herbicidek céljének in silico azonosítása az ürömlevelű parlagfűben (Ambrosia artemisiifolia L.).* In: Bene, Szabolcs (szerk.) XXIII. Ifjúsági Tudományos Fórum (2017), Pannon Egyetem Georgikon Kar, Keszthely, 2017.május26., CD kiadvány, ISBN 978-963-9639-87-4.

Kutasy B, Virág E, Decsi K, Nagy E, Farkas E, **Mátyás K**, Kolics B, Taller J *Herbicid célgének vizsgálata az ürömlevelű parlagfűben (Ambrosia artemisiifolia L.)*. In: Nagy Zita Barbara (szerk.) LVIII. Georgikon Napok: Felmelegedés, ökolábnyom, élelmiszerbiztonság. 462 p., Keszthely, Magyarország, 2016.09.29-2016.09.30. pp. 486-496. ISBN:978-963-9639-85-0

Farkas E, Decsi K, Nagy E, **Mátyás K**, Kolics B, Kutasy B, Virág E, Taller J *Pollen allergének transzkriptomikai vizsgálata az ürömlevelű parlagfűben (Ambrosia artemisiifolia L.)* In: Nagy Zita Barbara (szerk.) LVIII. Georgikon Napok: Felmelegedés (2016), ökolábnyom, élelmiszerbiztonság. 462 p., Keszthely, Magyarország, 2016.09.29-2016.09.30., pp. 92-99. ISBN:978-963-9639-85-0

Nagy E, Virág E, **Mátyás K**, Kolics B, Kutasy B, Taller J *Az ürömlevelű parlagfű (Ambrosia artemisiifolia L.) kloroplasztisz genomjának vizsgálata* In: Nagy Zita Barbara (szerk.) LVIII. Georgikon Napok (2016): Felmelegedés, ökolábnyom, élelmiszerbiztonság. 462 p., Keszthely, Magyarország, 2016.09.29-2016.09.30., pp. 479-485. ISBN:978-963-9639-85-0

Nagy E, **Mátyás K**, Kolics B, Virág E, Kutasy B, Taller J *Molekuláris genetikai vizsgálatok a virágzás szabályozottságának feltárására az ürömlevelű parlagfűben (Ambrosia artemisiifolia L.)* In: Pannon Egyetem Georgikon Kar Állattudományi és Állattenyésztési Tanszék (szerk.) XXI. Ifjúsági Tudományos Fórum (2015). Konferencia helye, ideje: Keszthely, Magyarország, 2015.05., 6 p. ISBN:978-963-9639-78-2

Tóth G, **Mátyás KK**, Buda B *A szombathelyi Isis-szentélyben feltárt emberi csontmaradványok vizsgálatának előzetes eredményei* In: Újlaki Pongrácz, Zsuzsanna (szerk.) Hadak útján: Népeségek és iparok a népvándorlás korában: A népvándorláskor fiatal kutatóinak XVI. Konferenciáján (Nagykovács, 2005. szeptember 26-28.), Nagykovács, Magyarország: Pars Kft., (2006) pp. 33-36., 4p

Irodalomjegyzék

ACHARD, P., BAGHOUR, M., CHAPPLE, A., HEDDEN, P., VAN DER STRAETEN, D., GENSHIK, P., MORITZ, T. & HARBERD, N. P. 2007. The plant stress hormone ethylene controls floral transition via DELLA-dependent regulation of floral meristem-identity genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 6484-6489.

ALTSCHUL, S. F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E. W. & LIPMAN, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, 215, 403-410.

ANDREWS, S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Babraham Bioinformatics, Babraham Institute, Cambridge, United Kingdom.

CHANDLER, J. (2011) The hormonal regulation of flower development. *Journal of Plant Growth Regulation* 30:242-254

CJB (2016). African Plant Database. Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Geneve, Geneva, Switzerland, and South African National Biodiversity Institute, Pretoria, South Africa. Geneva, Switzerland: CJB/SANBI. <http://www.ville-ge.ch/musinfo/bd/cjb/africa/>

CONESA, A., GÖTZ, S., GARCÍA-GÓMEZ, J. M., TEROL, J., TALÓN, M. & ROBLES, M. 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21, 3674-3676.

COUNCIL OF HEADS OF AUSTRALASIAN HERBARIA 2016. Australia's Virtual Herbarium., Australia: Council of Heads of Australasian Herbaria. <http://avh.ala.org.au>

EURO+MED 2016. Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://www.emplantbase.org/home.html>

FLORA OF CHINA EDITORIAL COMMITTEE 2016 Flora of China. St. Louis, Missouri and Cambridge, Massachusetts, USA: Missouri Botanical Garden and Harvard University Herbaria. http://www.efloras.org/flora_page.aspx?flora_id=2

GÖTZ, S., GARCÍA-GÓMEZ, J. M., TEROL, J., WILLIAMS, T. D., NAGARAJ, S. H., NUEDA, M. J., ROBLES, M., TALÓN, M., DOPAZO, J. & CONESA, A. 2008. High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. *Nucleic acids research*, 36, 3420-3435.

HAAS, B. J., PAPANICOLAOU, A., YASSOUR, M., GRABHERR, M., BLOOD, P. D., BOWDEN, J., COUGER, M. B., ECCLES, D., LI, B. & LIEBER, M. 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature protocols*, 8, 1494-1512.

HARRIS, E. M. 1999. Capitula in the Asteridae: a widespread and varied phenomenon. *The Botanical Review*, 65, 348.

HODGINS, K. A., LAI, Z., NURKOWSKI, K., HUANG, J. & RIESEBERG, L. H. 2013. The molecular basis of invasiveness: differences in gene expression of native and introduced common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) in stressful and benign environments. *Molecular ecology*, 22, 2496-2510.

IRISH, V. F. 2010. The flowering of Arabidopsis flower development. *The Plant Journal*, 61, 1014-1028.

KORESSAAR, T. & REMM, M. 2007. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics*, 23, 1289-1291.

KOVALEV, O. 1989. Spread of adventitious plants of the tribe Ambrosia in Eurasia and methods of biological control of weeds of the genus Ambrosia L.(Ambrosiaceae, Asteraceae). *Trudy Zoologicheskii, Institut Akademii Nauk SSSR*, 189, 7-23.

LANGMEAD, B., TRAPNELL, C., POP, M. & SALZBERG, S. L. 2009. Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome biology*, 10, R25.

LI, B. & DEWEY, C. N. 2011. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC bioinformatics*, 12, 323.

LORENZI, H. J. & JEFFERY, L. S. 1987. Weeds of the United States and their control. AVI Book, New York, 355 pp.

MAKRA, L., JUHÁSZ, M., BORSOS, E. & BÉCZI, R. 2004. Meteorological variables connected with airborne ragweed pollen in Southern Hungary. *International Journal of Biometeorology*, 49, 37-47.

MILLAR, A. A. & GUBLER, F. 2005. The Arabidopsis GAMBYB-like genes, MYB33 and MYB65, are microRNA-regulated genes that redundantly facilitate anther development. *The plant cell*, 17, 705-721.

MORTAZAVI, A., WILLIAMS, B. A., MCCUE, K., SCHAEFFER, L. & WOLD, B. 2008. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature methods*, 5, 621-628.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15, 473-497.

ROCHETA, M., SOBRAL, R., MAGALHÃES, J., AMORIM, M. I., RIBEIRO, T., PINHEIRO, M., EGAS, C., MORAIS-CECÍLIO, L. & COSTA, M. M. 2014. Comparative transcriptomic analysis of male and female flowers of monoecious *Quercus suber*. *Frontiers in plant science*, 5, 599.

SUDRE, D., GUTIERREZ-CARBONELL, E., LATTANZIO, G., RELLÁN-ÁLVAREZ, R., GAYMARD, F., WOHLGEMUTH, G., FIEHN, O., ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A., ZAMARREÑO, A. M. & BACAICOA, E. 2013. Iron-dependent modifications of the flower transcriptome, proteome, metabolome, and hormonal content in an *Arabidopsis* ferritin mutant. *Journal of experimental botany*, 64, 2665-2688.

SUNG, S. & AMASINO, R. M. 2004. Vernalization in *Arabidopsis thaliana* is mediated by the PHD finger protein VIN3. *Nature*, 427, 159-164.

TAIZ, L., ZEIGER, E., MÖLLER, I. & MURPHY, A. 2015. Plant physiology and development. Sinauer Associates. Inc., Sunderland.

UNTERGRASSER, A., CUTCUTACHE, I., KORESSAAR, T., YE, J., FAIRCLOTH, B., REMM, M. & ROZEN, S. 2012. Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15):e115

VIRÁG, E., HEGEDŰS, G., BARTA, E., NAGY, E., MÁTYÁS, K., KOLICS, B. & TALLER, J. 2016. Illumina sequencing of common (short) ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) reproductive organs and leaves. *Frontiers in plant science*, 7, 1506.