

Investigation of changes in FAD2 and SAD genes expression related to fatty acid synthesis in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under salinity stress

Mahshad Mahboubi 

MSC Student, Department of Biotechnology, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. E-mail address: Mahshad.m1999@gmail.com

Hamidreza Kavousi 

Corresponding author, Associate professor, Department of Biotechnology Faculty of Agriculture Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: hrkavousi@uk.ac.ir

Fatemeh Ebrahimi 

Assistant Professor, Research & Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. Email address: fa.ebrahimi@uk.ac.ir

Mehdi Mansouri 

Assistant Professor, Department of Biotechnology Faculty of Agriculture Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: m.mansouri@uk.ac.ir

Abstract

Objective

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is a drought-resistant and environmentally stress-tolerant crop with considerable importance in the food, pharmaceutical, and industrial sectors due to its high content of unsaturated fatty acids, particularly linoleic acid. The ratio of unsaturated to saturated fatty acids plays an essential role in maintaining cell membrane fluidity and stability. Regulating the expression of key genes in their biosynthesis pathway, including FAD2 and SAD, can help elucidate the molecular mechanisms underlying salt stress tolerance.

Materials and Methods

To evaluate the molecular responses of safflower to salinity, two cultivars (Goldasht and American Line A) were subjected to salt treatments at concentrations of 100, 200, and 300 mM sodium chloride. RNA was extracted from leaf tissue, followed by cDNA synthesis. The expression levels of FAD2 and SAD were quantified using real-time PCR. Relative changes in

gene expression were calculated using the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Statistical analyses were performed using REST software, and significance was assessed through the Pair-wise Fixed Reallocation Randomization Test.

Results

The results demonstrated that the Goldasht cultivar exhibited a coordinated gene expression pattern in response to increasing salinity. FAD2 expression increased from 1 to 3.65-fold, whereas SAD expression simultaneously decreased from 1 to 0.38-fold. These changes reflect an enhanced linoleic acid ratio, maintenance of membrane fluidity, and improved salt tolerance. In contrast, American Line A showed a biphasic response: FAD2 expression decreased after an initial rise at low salinity levels, and SAD expression increased up to 2.06-fold under high salinity. This pattern suggests a shift toward higher oleic acid content and altered membrane structure. Such responses primarily serve as survival and adaptation mechanisms under severe osmotic stress rather than improving oil quality.

Conclusion

The findings indicate that safflower genotypes employ different molecular strategies to cope with salinity. The selection or development of genotypes with stable FAD2 expression and proper SAD regulation can be an effective approach to enhancing salt tolerance and improving safflower oil quality under diverse environmental conditions.

Keywords: Safflower, Salinity stress, FAD2, SAD, Gene expression.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mahboubi M, Kavousi HR, Ebrahimi F, Mansouri Z (2025) The effects of gamma rays on some phytochemical characteristics in purslane at M2 genera Investigation of changes in FAD2 and SAD genes expression related to fatty acid synthesis in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under salinity stress. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (3), 93-110.

Journal of Genetics and Plant Breeding 2 (3), 93-110. DOI: 10.22103/gpb.2026.25858.1032

Received: July 4, 2025.

Received in revised form: September 15, 2025.

Accepted: September 16, 2025.

Published online: September 25, 2025.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,

Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society.



© the authors

بررسی تغییرات بیان ژن های FAD2 و SAD مرتبط با سنتز اسیدهای چرب در ارقام گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش شوری

مهشاد محبوبی

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:

Mahshad.m1999@gmail.com

حمیدرضا کاوسی

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:

hrkavousi@uk.ac.ir

فاطمه ابراهیمی

استادیار، پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه فضلی پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه:

Fa.ebrahimi@uk.ac.ir

مهدی منصوری

استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: m.mansouri@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۳ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۶/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

چکیده

هدف: گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از گیاهان زراعی مقاوم به خشکی و تنش های محیطی است که به دلیل دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع، به ویژه اسید لینولئیک، اهمیت بالایی در صنایع غذایی، دارویی و صنعتی دارد. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع به اشباع نقش مهمی در سیالیت و پایداری غشاهای سلولی دارد و تنظیم بیان ژن های کلیدی مسیر بیوسنتز آن ها، از جمله FAD2 و SAD می تواند مکانیسم های تحمل به تنش شوری را روشن کند.

مواد و روش ها: در این پژوهش، برای ارزیابی پاسخ های مولکولی گلرنگ به شوری، دو رقم گلدشت و لاین آمریکایی A تحت تیمارهای شوری ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم قرار گرفتند. RNA از برگ های گیاه استخراج و پس از سنتز cDNA،

بیان ژن‌های FAD2 و SAD با روش Real-Time PCR سنجیده شد. تغییرات بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار REST و آزمون Pair-wise Fixed Reallocation Randomization Test انجام شد تا معناداری اختلاف‌ها تعیین گردد.

نتایج: نتایج نشان داد که رقم گلدشت در پاسخ به افزایش شوری، الگوی هماهنگی از تغییرات ژن‌ها را نشان داد. بیان FAD2 با افزایش شوری از ۱ به ۳/۶۵ برابر افزایش یافت، در حالی که بیان SAD همزمان از ۱ به ۰/۳۸ کاهش یافت. این تغییرات بیانگر ارتقاء نسبت اسید لینولئیک، حفظ سیالیت غشا و افزایش تحمل نسبی به شوری است. در مقابل، لاین آمریکایی A الگوی دو فازی نشان داد. بیان FAD2 پس از افزایش اولیه در سطوح پایین شوری کاهش یافته و SAD در سطوح بالاتر شوری به ۲/۰۶ برابر رسید، که منجر به افزایش اسید اولئیک و تغییر در ساختار غشاها شد. این الگوی پاسخ، بیشتر به‌عنوان یک مکانیسم بقا و سازگاری در شرایط شدید استرس اسمزی عمل می‌کند تا اینکه در جهت بهبود کیفیت روغن باشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها دارای استراتژی‌های مولکولی متفاوتی در مقابله با تنش شوری هستند و انتخاب یا اصلاح ژنوتیپ‌هایی با بیان پایدار FAD2 و تنظیم مناسب SAD می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر برای افزایش مقاومت به شوری و بهبود کیفیت روغن گلرنگ در شرایط محیطی متغیر مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: گلرنگ، سطوح مختلف NaCl، بیان ژن‌های لینولئیک اسید، FAD2، SAD

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محبوبی مهشاد، کاووسی حمیدرضا، ابراهیمی فاطمه، منصوری مهدی (۱۴۰۴) بررسی تغییرات بیان ژن‌های FAD2 و SAD مرتبط با سنتز اسیدهای چرب در ارقام گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش شوری. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۳)، ۹۳-۱۱۰.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society



© the authors

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از گیاهان زراعی مهم و ارزشمند در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است که به واسطه ویژگی‌های خاص مورفولوژیک و فیزیولوژیک، به‌عنوان گیاهی مقاوم به خشکی و تنش‌های محیطی شناخته می‌شود (Emongor 2010). این گیاه به دلیل دارا بودن روغن با کیفیت بالا و غنی از اسیدهای چرب غیراشباع، به‌ویژه اسید لینولئیک، جایگاه ویژه‌ای در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی یافته است (Kurt et al. 2025). علاوه بر این، توانایی گلرنگ در

تولید ترکیبات ثانویه و سازگاری با شرایط نامساعد محیطی، آن را به یکی از منابع بالقوه برای بهبود امنیت غذایی در شرایط تغییرات اقلیمی تبدیل کرده است (Yeloojeh et al. 2020).

تنش شوری به عنوان یکی از مهم ترین تنش های غیرزنده، رشد، عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی را در سطح جهان به شدت تحت تأثیر قرار می دهد (Al-Janabia et al. 2024). تجمع یون های سمی و اختلال در تعادل یونی و آبی سلول ها، فرآیندهای متابولیکی از جمله فتوسنتز، تنفس و سنتز اسیدهای چرب را مختل می سازد (Abou Seeda et al. 2023). بررسی سازوکارهای مولکولی و ژنتیکی گیاهان در پاسخ به تنش شوری، می تواند در شناسایی ژن های کلیدی و مسیرهای متابولیکی مؤثر در تحمل شوری نقش بسزایی ایفا کند (Zhou et al. 2024).

در میان ژن های دخیل در سنتز و تنظیم اسیدهای چرب، ژن های Fatty و Stearoyl-ACP Desaturase (SAD) و Acid Desaturase 2 (FAD2) از اهمیت ویژه ای برخوردارند. بیوسنتز اسیدهای چرب در گیاهان عمدتاً در پلاستیدها آغاز می شود، جایی که استیل-کوآ به عنوان پیش ماده اصلی وارد چرخه می شود و از طریق کمپلکس Fatty Acid Synthase (FAS)، زنجیره های اسید چرب اشباع (مانند پالمیتیک اسید و استئاریک اسید) تولید می گردند. در این مسیر، پروتئین حامل آسیل (ACP) نقش کلیدی در انتقال میانجی ها دارد (Nishida 2004). یکی از نقاط حیاتی این مسیر، فعالیت آنزیم Stearoyl-ACP Desaturase (SAD) است که با کاتالیز واکنش دِسچوراسیون استئاریل-ACP (C18:0-ACP) به اولئویل-ACP (C18:1-ACP)، نخستین گام در سنتز اسیدهای چرب غیراشباع را رقم می زند. این واکنش نه تنها ترکیب غشای سلولی و سیالیت آن را تحت تأثیر قرار می دهد، بلکه به عنوان یک عامل کلیدی در سازگاری گیاه با تنش های محیطی، به ویژه شوری، عمل می کند (Hwangbo et al. 2014). در ادامه این مسیر، اولئیک اسید (C18:1) به شبکه آندوپلاسمی منتقل شده و توسط آنزیم Microsomal Oleate Desaturase (FAD2) به لینوئیک اسید (C18:2) تبدیل می شود (Liu et al. 2019). ژن FAD2 بخشی از خانواده fatty acid desaturases است و نقش اصلی در افزایش سطح اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFAs) در روغن های گیاهی دارد. این اسیدهای چرب علاوه بر اهمیت تغذیه ای و دارویی، در افزایش تحمل گیاه نسبت به تنش های غیرزنده مانند خشکی و شوری نیز مؤثرند (Dar et al. 2017). مسیرهای مرتبط با سنتز و تغییرات اسیدهای چرب شامل Fatty Acid Biosynthesis of Unsaturated Fatty Acids (map01040)، Biosynthesis Pathway (KEGG map00061) و همچنین مسیر Glycerolipid Metabolism (map00561) هستند که در آن ها ژن های FAD2 و SAD نقش کلیدی ایفا می کنند. تغییر بیان این ژن ها تحت تنش های محیطی، می تواند تعادل اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع را تغییر دهد و در نتیجه، خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه را بهبود بخشد (Kothapalli et al. 2020).

بنابراین، تحلیل تغییرات بیان ژن های SAD و FAD2 نه تنها در درک مکانیزم های مولکولی تنظیم ترکیب اسیدهای چرب نقش مهمی دارد، بلکه می تواند چشم انداز ارزشمندی برای اصلاح ژنتیکی ارقام گلرنگ با کیفیت روغن بالاتر و مقاومت بیشتر در برابر شوری فراهم سازد. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات بیان نسبی ژن های SAD و FAD2 در دو رقم

گلرنگ (گلدشت و لاین آمریکایی A) تحت سطوح مختلف شوری انجام شد تا نقش این ژن‌ها در سنتز اسیدهای چرب و سازگاری گیاه با تنش شوری مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کشت: در این پژوهش از دو رقم گلرنگ با مقادیر متفاوت اولئیک و لینولئیک اسید شامل رقم

ایرانی گلدشت (با ۱۴/۹۲ درصد اولئیک اسید، ۷۴/۸۱ درصد لینولئیک اسید و ۲۰/۵ درصد روغن) و لاین آمریکایی A (با ۷۲/۹۷ درصد اولئیک اسید، ۱۸/۱۵۳ درصد لینولئیک اسید و ۳۴/۲ درصد روغن) استفاده شد. بذرها از پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشکده فضلی‌پور دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه گردید. بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب خیس‌انده و سپس در گلدان‌های ۱۴ سانتی‌متری حاوی بستر شن شسته و کوکوپیت (۳:۱) کاشته شدند. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و آبیاری منظم هر دو روز یک‌بار نگهداری شدند.

اعمال سطوح مختلف شوری و نمونه‌برداری برای بررسی بیان ژن‌ها: اعمال تنش شوری در مرحله چهاربرگی

(۱۴ روزگی) و طی سه روز متوالی (۱۴، ۱۵ و ۱۶ روزگی) در ساعات اولیه صبح انجام شد. برای این منظور، گیاهان در چهار گروه تیماری شامل شاهد (آبیاری با آب مقطر بدون نمک) تحت سه سطح شوری با غلظت‌های نهایی ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار گرفتند. برای جلوگیری از شوک اسمزی، افزایش غلظت نمک در تیمارهای شوری به صورت تدریجی انجام گرفت. در طول دوره آزمایش، شرایط محیطی شامل دما، نور و آبیاری یکسان نگه داشته شد تا اثرات مشاهده‌شده صرفاً ناشی از شوری باشد. نمونه‌برداری از برگ‌ها ۹ روز پس از اعمال اولین تیمار (۲۳ روزگی گیاه) انجام شد. بررسی الگوی بیان ژن‌ها بر دو آنزیم کلیدی مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع، یعنی FAD2 (مبدل اسید اولئیک به لینولئیک اسید) و SAD (مبدل اسید استئاریک به اولئیک اسید)، متمرکز گردید.

طراحی آغازگرهای اختصاصی: برای بررسی بیان ژن‌های FAD2 و SAD تحت شرایط شوری، توالی آن‌ها از پایگاه

NCBI استخراج و آغازگرهای اختصاصی با نرم‌افزار PrimerQuest™ Tool طراحی شد (جدول ۱). در طراحی آغازگرها معیارهایی همچون طول ۱۸–۲۲ نوکلئوتید، دمای ذوب $55-60^{\circ}\text{C}$ ، محتوای 40–60 درصد GC و اجتناب از ساختارهای ثانویه در نظر گرفته شد. قطعات تکثیری نیز در محدوده ۲۰۰–۱۰۰ جفت‌باز انتخاب شدند تا شرایط برای qRT-PCR مناسب باشد. برای نرمال‌سازی داده‌ها و حذف خطاهای ناشی از تغییر در مقدار RNA اولیه یا کارایی واکنش، از ژن اکتین (Actin) به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده گردید. در این مطالعه، ژن Actin به عنوان ژن مرجع برای نرمال‌سازی داده‌های qRT-PCR استفاده شد. انتخاب این ژن بر اساس نتایج مطالعات پیشین بر روی گلرنگ و گونه‌های نزدیک انجام گرفته است، که در آن‌ها پایداری بیان این ژن تحت شرایط مختلف از جمله تنش شوری و خشکی تایید شده است. علاوه بر این، در پژوهش‌های قبلی انجام شده در همین گروه

تحقیقاتی، ژن Actin در شرایط مشابه (تیمارهای شوری) نیز به عنوان ژن مرجع پایدار مورد استفاده قرار گرفته و نتایج حاصل از آن با داده‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی همخوانی داشته است. با توجه به این پیشینه مستند، استفاده مجدد از ژن Actin به عنوان ژن مرجع در مطالعه حاضر از نظر پایداری و کارایی معتبر بوده و نیازی به آزمون مجدد آن در شرایط مشابه احساس نشده است. ژن Actin به دلیل پایداری بیان در شرایط مختلف به عنوان کنترل داخلی به کار رفت. در نهایت، آغازگر ژن FAD2 با شماره دسترسی KC257452 قطعه‌ای به طول ۱۱۹ جفت‌باز و آغازگر ژن SAD با شماره دسترسی M61109 قطعه‌ای به طول ۹۷ جفت‌باز تکثیر نمودند.

جدول ۱. آغازگرهای نوکلئوتیدی مورد استفاده در بررسی الگوی بیان ژن
Table 1. Used nucleotide primers in gene expression pattern analysis

مکان ژنی Gene locus	توالی آغازگرها Sequence of primers	طول قطعه تکثیر شده (جفت باز) Length of the amplified fragment (base pairs)	شماره دسترسی Access number
(FAD2) FAD2atty Acid Desaturase	Forward: ACCAATGCAGTCAAGCCCAT Reverse: TCTGCACCTTCATCTGGCTC	119	KC257452
(SAD) Stearoyl-ACP Desaturase	Forward: GTCTACACCGCCAAAGACTAC Reverse: CTTTACGCCCTTCACCAGATAG	97	M61109

استخراج RNA: برای استخراج RNA از نمونه‌های تیمارشده، از کیت غیرستونی شرکت دنا زیست (مشهد، ایران) استفاده شد. در این روش، حدود ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه در نیتروژن مایع پودر و با بافر G1 همگن‌سازی گردید. پس از سانتریفیوژ و جداسازی فاز فوقانی، کلروفرم اضافه و فاز شفاف حاصل جمع‌آوری گردید. رسوب RNA با افزودن ایزوپروپانول و بافر G2 تشکیل و پس از شست‌وشو با اتانول ۷۰ درصد خشک شد. در نهایت، RNA استخراج‌شده در ۲۰ تا ۵۰ میکرولیتر محلول G3 حل و در دمای °C ۸۰- نگهداری گردید.

بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج شده و سنتز cDNA: پس از استخراج RNA از نمونه‌های گیاهی، کیفیت و کمیت آن مورد ارزیابی قرار گرفت. برای بررسی کیفیت، RNA بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و حضور باندهای واضح 28s و ۱۸s rRNA با نسبت تقریبی ۲:۱ نشان‌دهنده سلامت RNA بود. همچنین سنجش کمی و خلوص RNA با دستگاه نانودراپ در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ و ۲۳۰ نانومتر انجام شد. نسبت‌های ۲۶۰ به ۲۸۰ (حدود ۱/۸۱-۲) و ۲۳۰ به ۲۶۰ (بیشتر از ۲) به عنوان معیار خلوص در نظر گرفته شدند و غلظت RNA برحسب نانوگرم بر میکرولیتر از فرمول $A_{260} \times DF \times 40$ محاسبه گردید.

به منظور حذف آلودگی DNA ژنومی، نمونه‌ها با DNase I تیمار و سپس با EDTA غیرفعال شدند. RNA خالص شده به عنوان الگو برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت. واکنش سنتز با استفاده از کیت سنتز cDNA (پارس توس، ایران) و در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شد. برنامه دمایی واکنش شامل ۱۰ دقیقه در ۲۵ °C (اتصال پرایمرها)، ۶۰ دقیقه در ۴۷ °C (سنتز cDNA) و ۵ دقیقه در ۸۵ °C (غیرفعال سازی آنزیم) بود. نمونه‌های حاصل پس از سردسازی در ۴ °C، در دمای ۲۰ °C نگهداری شدند تا در مراحل بعدی (qRT-PCR) مورد استفاده قرار گیرند.

تحلیل بیان ژن با استفاده از Real-Time PCR: برای بررسی بیان ژن‌ها از روش Real-Time PCR استفاده شد. برای هر تیمار سه تکرار بیولوژیک مستقل در نظر گرفته شد. به این ترتیب که نمونه‌های گیاهی از سه گلدان مستقل برداشت شدند. از هر تکرار بیولوژیک، استخراج RNA به صورت جداگانه انجام و پس از سنتز cDNA، برای هر نمونه سه تکرار فنی از هر واکنش Real-Time PCR اجرا شد تا از دقت و تکرار پذیری داده‌ها اطمینان حاصل گردد. میانگین داده‌های تکرارهای فنی برای هر تکرار بیولوژیک محاسبه و در نهایت میانگین سه تکرار بیولوژیک برای تحلیل نهایی بیان ژن استفاده شد.

بیان ژن‌های FAD2 و SAD با Real-Time PCR و کیت شرکت پارس توس تعیین شد. هر واکنش ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر SYBR Green (2×) Buffer-mix، ۰/۷ میکرولیتر پرایمر Forward و Reverse، حجم مناسب cDNA و آب مقطر بود. واکنش‌ها در سه تکرار فنی و شرایط RNase-free انجام شد. برنامه حرارتی شامل ۳ دقیقه واسرشت در ۹۴ °C، ۴۰ چرخه ۹۴ °C به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۵۷ °C (FAD2) و ۵۹ °C (SAD) به مدت ۱ دقیقه و بسط ۷۲ °C به مدت ۱ دقیقه بود. بسط نهایی ۵ دقیقه‌ای انجام و منحنی ذوب ۹۵-۶۵ °C ثبت گردید. کنترل‌های NTC و No-RT برای بررسی عدم آلودگی DNA ژنومی استفاده شدند و کارایی پرایمرها با رقت‌های سریالی cDNA بررسی شد (۹۰-۱۱۰ درصد و $R^2 \geq 0.98$).

تحلیل آماری: برای آنالیز داده‌های Real-Time PCR، بیان نسبی ژن‌ها با روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه و در نرم‌افزار REST وارد شد. این نرم‌افزار امکان مقایسه بیان ژن‌ها بین تیمارها را با آزمون Pair-wise Fixed Reallocation Randomization Test و تعیین p-value فراهم می‌کند.

نتایج و بحث

اثر تنش شوری بر دو رقم گلرنگ (گلدشت و لاین آمریکایی A): در این مطالعه، دو رقم گلرنگ، گلدشت و لاین آمریکایی A تحت تیمارهای شوری بررسی شدند. تصاویر طی سه روز اعمال تنش شوری در شکل ۱ نشان داده شده‌اند، که تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ناشی از شوری را به وضوح نشان می‌دهند.

کیفیت و کمیت RNA استخراج شده: پس از اعمال تنش شوری، RNA با کیفیت بالا از برگ‌های دو رقم گلرنگ استخراج شد. الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد نشان‌دهنده باندهای واضح 28S و 18S rRNA با نسبت تقریبی ۲:۱ بود، که صحت

استخراج و تمامیت RNA را تأیید می‌کند (شکل ۲). این نتایج نشان می‌دهند که RNA حاصل برای سنتز cDNA و اندازه‌گیری دقیق بیان ژن‌های SAD و FAD2 با-Real Time PCR مناسب بوده و هیچ آلودگی یا تخریب قابل توجهی در نمونه‌ها مشاهده نشد. کیفیت بالای RNA امکان انجام دقیق و قابل اعتماد تحلیل کمی بیان ژن را فراهم می‌کند.



روز سوم



روز دوم



روز اول

(الف)



روز سوم



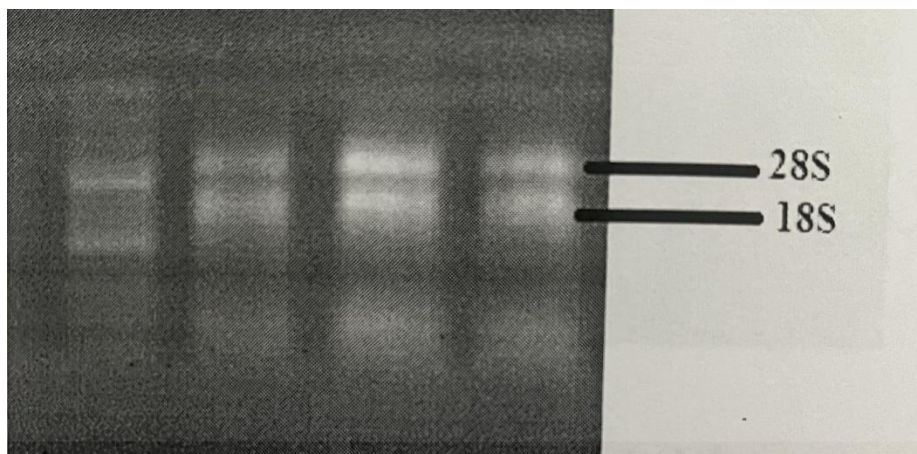
روز دوم



روز اول

(ب)

شکل ۱. اثر تنش شوری در دوره ۳ روزه بر گیاه گلرنگ. (الف) رقم گلدشت، (ب) رقم لاین A
Figure 1. Effect of 3-day salt stress on safflower plants. (A) Goldasht genotype, (B) Line A genotype.



شکل ۲. RNA استخراج شده از دو رقم گلرنگ بر روی ژل آگارز

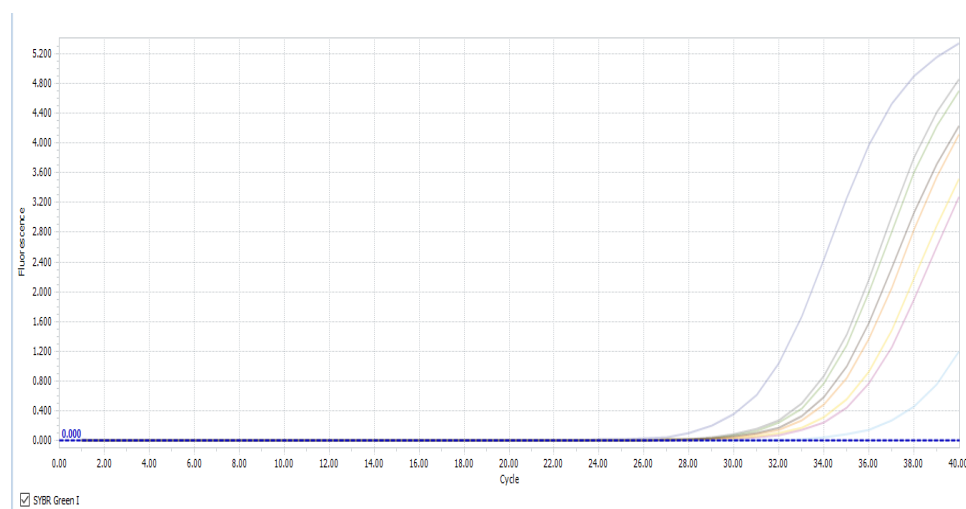
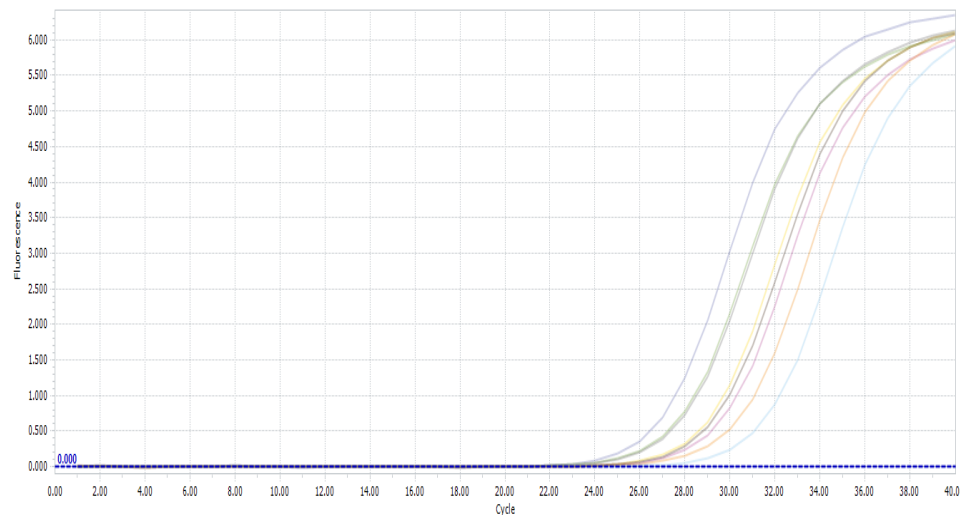
Figure 2. Extracted RNA from two safflower genotypes visualized on an agarose gel.

نتایج Real-Time PCR: برای ارزیابی بیان ژن‌های SAD و FAD2، Real-Time PCR با استفاده از cDNA حاصل از RNA استخراج شده انجام شد. نمودارهای تکثیر نشان‌دهنده افزایش منظم سیگنال فلورسانس با پیشرفت چرخه‌ها بوده و صحت و اختصاصی بودن واکنش را تأیید می‌کنند. همان‌طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، ژن FAD2 (الف) و ژن SAD (ب) هر دو الگوی تکثیر قابل تکرار و منظم دارند که کیفیت بالای cDNA و دقت واکنش PCR را تأیید می‌کند. نمودارهای ذوب ژن‌های FAD2 (الف) و SAD (ب) تک قله‌ای بودند (شکل ۴)، به‌طوری که هر محصول PCR تنها یک پیک مشخص نشان می‌داد. این الگوی تک قله‌ای بیانگر اختصاصیت کامل تکثیر و عدم تشکیل محصولات جانبی یا پرایمر دیم است، که موفقیت طراحی آغازگرها و کیفیت بالای cDNA و واکنش PCR را تأیید می‌کند. نتایج نشان داد که Real-Time PCR قادر به سنجش دقیق و اختصاصی بیان ژن‌های FAD2 و SAD در گیاهان گلرنگ تحت تنش شوری است. داده‌های تکثیر و منحنی‌های ذوب تک قله‌ای، صحت واکنش و اختصاصی بودن محصولات PCR را تأیید کرده و امکان مقایسه کمی بیان ژن‌ها بین نمونه‌ها و تیمارهای مختلف را فراهم می‌سازد. این یافته‌ها عملکرد قابل اعتماد و تکرارپذیر روش Real-Time PCR را در ارزیابی تغییرات بیان ژن‌های کلیدی مسیر سنتز اسیدهای چرب تأیید می‌کنند.

بیان نسبی ژن FAD2 تحت تنش شوری در دو رقم گلرنگ: تحلیل داده‌های Real-Time PCR نشان داد

(جدول ۲)، که بیان نسبی ژن FAD2 در دو رقم گلدشت و لاین A تحت شوری متفاوت است. در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار، هر دو رقم افزایش اولیه بیان را نشان دادند که بیانگر پاسخ سازگارانگی گیاه برای حفظ سیالیت غشاهای سلولی و افزایش سنتز اسیدهای چرب غیراشباع به‌ویژه لینولئیک اسید است. در ۲۰۰ میلی‌مولار، بیان FAD2 در گلدشت همچنان افزایشی و حدود ۲/۲۵ برابر شاهد بود، در حالی که در لاین A کاهش نسبی به ۰/۷۲ برابر کنترل مشاهده شد، نتایج نشان‌دهنده اختلال تدریجی در مسیر سنتز اسیدهای چرب غیراشباع است. در تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار، گلدشت بیش از ۳/۶ برابر شاهد افزایش بیان داشت، در حالی که لاین A

کاهش شدیدی به ۰/۲۶ برابر کنترل نشان داد (جدول ۲)، که احتمالاً ناشی از آسیب اکسیداتیو و اختلال مسیر سنتز اسیدهای چرب در شوری شدید است. این نتایج نشان می‌دهند که رقم گلدشت توانایی بیشتری در تنظیم بیان FAD2 و تحمل تنش شوری دارد.



شکل ۳. نمودار تکثیر Real-Time PCR؛ (الف) ژن FAD2 و (ب) ژن SAD

Figure 3. Real-Time PCR amplification curves; (a) FAD2 gene and (b) SAD gene.

ژن FAD2 (Fatty Acid Desaturase 2) یک دی‌سچوراتاز $\Delta 12$ است که مسئول تبدیل اسید اولئیک (C18:1)، مونواسباع) به اسید لینولئیک (C18:2، پلی‌غیراشباع) در گیاهان می‌باشد. این مرحله، یکی از نقاط کلیدی در مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب غیراشباع به شمار می‌رود، زیرا سطح لینولئیک اسید و سایر اسیدهای چرب غیراشباع مستقیماً با سیالیت و انعطاف‌پذیری غشاهای سلولی مرتبط است و نقش مهمی در پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند (Dar et al. 2017).

در شرایط تنش شوری، سلول‌های گیاهی با اختلال در هموستاز یونی و تجمع سدیم (Na^+) و کلرید (Cl^-) مواجه می‌شوند. سیالیت بالای غشا، ناشی از محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع، چندین مکانیسم دفاعی را تسهیل می‌کند. اولاً، عملکرد پمپ‌ها و ناقل‌های یونی ترنس‌ممبران مانند Na^+/H^+ antiporter و H^+ -ATPase بهبود می‌یابد، که به خروج سدیم و حفظ تعادل یونی سلول کمک می‌کند (Li et al. 2023). ثانیاً، اسیدهای چرب غیراشباع با دارا بودن باندهای دوگانه، از سخت و شکننده شدن غشا در شرایط استرس اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند و امکان حفظ ساختار پروتئین‌ها و کانال‌های یونی را فراهم می‌آورند. ثالثاً، غشاهای انعطاف‌پذیر انتقال سیگنال‌های مربوط به تنش، از جمله فعال شدن مسیرهای آنتی‌اکسیدانی و مسیرهای تنظیم‌کننده فشار اسمزی، را تسهیل می‌کنند (Yang et al. 2011).

بنابراین، افزایش بیان ژن FAD2 و در نتیجه افزایش تولید اسید لینولئیک، یک مکانیزم سازگاری فیزیولوژیکی مستقیم در مواجهه با شوری به شمار می‌رود. این فرایند به سلول اجازه می‌دهد تا با حفظ انعطاف غشا و عملکرد بهینه پمپ‌های یونی، سدیم اضافی را خارج کرده و هموستاز یونی را حفظ کند، که این امر مستقیماً با بهبود تحمل گیاه به تنش شوری مرتبط است.

مطالعات مشابه در گیاه آفتابگردان و Arabidopsis نشان داد که افزایش بیان FAD2 با بهبود تحمل به شوری مرتبط است (Im et al. 2002; Li et al. 2023). کاهش بیان ژن FAD2 در لاین A تحت شرایط شوری، مشابه یافته‌های گیاهانی با تحمل پایین به شوری است و می‌تواند منجر به کاهش محتوای اسیدهای چرب غیراشباع و کاهش سیالیت غشا و تحمل به تنش شوری شود (Kargiotidou et al. 2008; Chen et al. 2017). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پاسخ‌های ژنی FAD2 تحت تنش شوری در گونه‌ها و ارقام مختلف متفاوت است و برخی ارقام توانایی تنظیم بیان این ژن و سازگاری با شوری را بهتر از سایر ارقام دارند (Zhang et al. 2009; Yang et al. 2024).

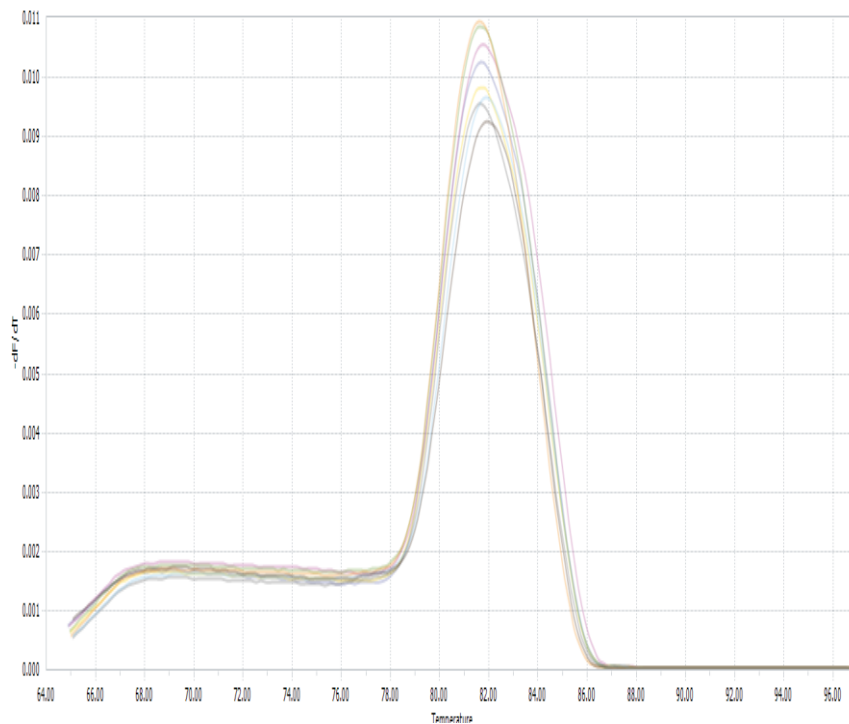
نتایج بیان نسبی ژن SAD تحت تنش شوری در دو رقم گل‌دشت و A لاین: نتایج Real-Time PCR نشان

داد که بیان نسبی ژن SAD تحت تنش شوری در دو رقم گلرنگ گل‌دشت و لاین A الگوی متضادی دارد. در تیمار شاهد (۱۰۰ میلی‌مولار) سطح بیان هر دو رقم در حد پایه بود، اما با افزایش شوری به ۲۰۰ میلی‌مولار، بیان SAD در گل‌دشت به ۰/۶۴ برابر کنترل کاهش یافت، در حالی که در لاین A به ۱/۵۱ برابر افزایش یافت. در تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار، بیان SAD در گل‌دشت به ۰/۳۸ و در لاین A بیش از دو برابر کنترل (۲/۰۶ برابر) رسید.

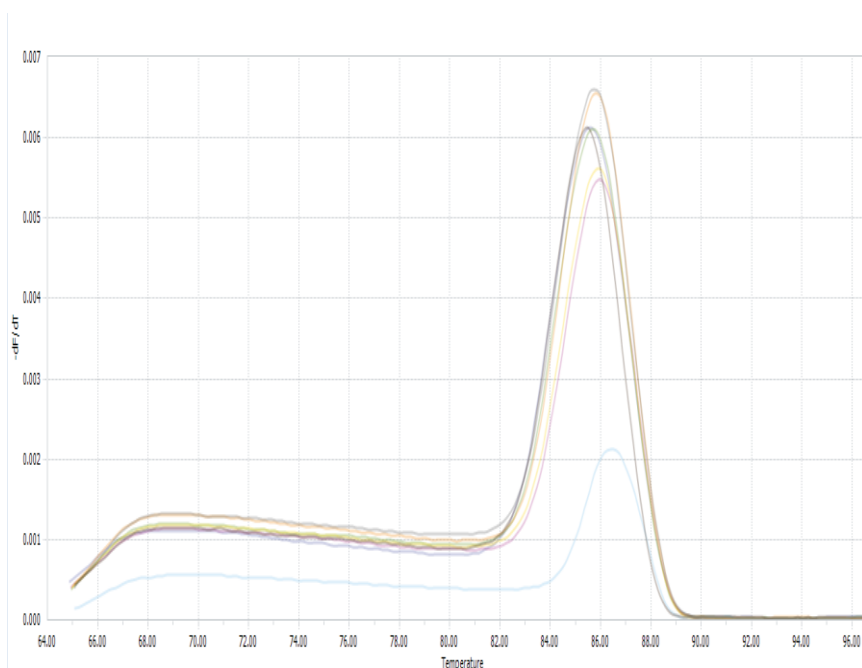
کاهش تدریجی SAD در گل‌دشت احتمالاً نشان‌دهنده تغییر مسیر متابولیکی به سمت تولید اسیدهای چرب غیراشباع با درجه بالاتر است و همزمان با افزایش بیان FAD2، تولید اسید لینولئیک و حفظ سیالیت غشاها را تسهیل می‌کند. به‌طور کلی، این نتایج حاکی از الگوی مکمل کاهش SAD و افزایش FAD2 در گل‌دشت و افزایش مداوم SAD در لاین A تحت شوری است و تفاوت‌های ژنتیکی در پاسخ به تنش شوری بین دو رقم را برجسته می‌سازد (جدول ۳).

در مجموع می‌توان بیان داشت که گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) یکی از گیاهان روغنی باستانی است که به دلیل ریشه عمیق، تحمل نسبی به خشکی و تولید روغن غنی از اسید لینولئیک، اهمیت زراعی و تغذیه‌ای دارد (Askew 2000). نسبت

اسید لینولئیک به اولئیک در ارقام مختلف تحت کنترل ژن‌های کلیدی SAD و FAD2 است (Askew 2000; Dar et al. 2017).



الف



ب

شکل ۴. نمودار ذوب Real-Time PCR؛ (الف) ژن FAD2 و (ب) ژن SAD

Figure 4. Real-Time PCR melting curves; (a) FAD2 gene and (b) SAD gene.

جدول ۲. بیان نسبی ژن FAD2 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) و انحراف معیار در تیمارهای شوری برای دو رقم گلرنگ
Table 2. Relative expression of the FAD2 gene ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) and standard deviation under salinity treatments for two safflower genotypes.

تیمار شوری (mM) salinity treatment (mM)	رقم Genotype	میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation	Relative Expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
100	گلدشت Goldasht	0.57	0.036	1
	لاین A A line	2.43	0.026	1
200	گلدشت Goldasht	1.28	0.0058	2.25
	لاین A A line	1.75	0.0346	0.72
200	گلدشت Goldasht	2.08	0.021	3.65
	لاین A A line	0.63	0.021	0.26

جدول ۳. بیان نسبی ژن SAD ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) در غلظت‌های مختلف شوری در دو رقم گلرنگ
Table 3. Relative expression of the SAD gene ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) at different salinity concentrations in two safflower genotypes.

تیمار شوری (mM) salinity treatment (mM)	رقم Genotype	میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation	Relative Expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
100	گلدشت Goldasht	2.7	0.017	1
	لاین A A line	0.8	0.01	1
200	گلدشت Goldasht	1.72	0.017	0.64
	لاین A A line	1.21	0.01	1.51
300	گلدشت Goldasht	1.04	0.01	0.38
	لاین A A line	1.65	0.01	2.06

تنش شوری اثرات چندگانه‌ای بر رشد، فتوسنتز و ترکیب لیپیدی گلرنگ دارد. پاسخ مولکولی مهم شامل تغییر در مسیر سنتز اسیدهای چرب و تنظیم فعالیت آنزیم‌هایی است که سیالیت غشاها را تعیین می‌کنند (Hacı-Wydro and Wydro 2007; Leekumjorn et al. 2009; Srivastava et al. 2014; Arif et al. 2020). اسید لینولئیک باعث حفظ انعطاف‌پذیری غشا و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو می‌شود، در حالی که افزایش اسید استئاریک سیالیت غشا را کاهش می‌دهد (Hacı-Wydro and Wydro 2007). ژن SAD استئاریک را به اولئیک تبدیل می‌کند و FAD2 اولئیک را به لینولئیک تبدیل می‌کند؛ بنابراین تغییرات بیان این دو ژن تعیین‌کننده پاسخ به شوری است (Dar et al. 2017).

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که افزایش بیان FAD2 و کاهش یا ثابت ماندن SAD در ارقام غنی از اسید لینولئیک، نسبت لینولئیک را بالا برده و سیالیت غشا را حفظ می‌کند، در حالی که در ارقام غنی از اولئیک، افزایش SAD در شوری شدید، اسید اولئیک بیشتری تولید می‌کند (Benitez et al. 2013; Gogna et al. 2020). برای مثال، در گلرنگ، افزایش FAD2 و کاهش SAD در ارقام مقاوم منجر به افزایش نسبت لینولئیک و سازگاری بهتر به شوری شد (Hernández et al. 2011; Yeilaghi et al. 2012). در سویا، *Arabidopsis* و برنج نیز الگوهای مشابهی مشاهده شد که افزایش FAD2 با کاهش SAD همراه بود و تحمل به شوری را ارتقا می‌دهد (Ghassemi-Golezani et al. 2008; Benitez et al. 2013; Farhangi-Abriz and Farhangi-Abriz 2018). در مطالعه حاضر، رقم گلدشت با افزایش پیشرونده FAD2 و کاهش SAD تحت شوری، الگوی کلاسیک مقاوم به شوری را نشان داد که با افزایش نسبت لینولئیک و حفظ سیالیت غشا همخوانی دارد. در مقابل، لاین A پس از افزایش اولیه FAD2 در شوری متوسط، در ۳۰۰ mM کاهش یافته و SAD به شدت افزایش یافت. این الگوی دو فازی منجر به تولید بیشتر اولئیک و کاهش لینولئیک شد که از نظر کیفیت روغن نامطلوب ولی از نظر بقای گیاه مؤثر بود (Yeilaghi et al. 2012; Benitez et al. 2013). مقایسه این دو ژنوتیپ با مطالعات دیگر نشان می‌دهد که گلرنگ رقم گلدشت با پاسخ افزایش FAD2 و کاهش SAD مشابه ژنوتیپ‌های مقاوم در سویا، کلزا و برنج است، در حالی که لاین A بیشتر شبیه ژنوتیپ‌های حساس عمل می‌کند (Yeilaghi et al. 2012; Ghassemi-Golezani and Farhangi-Abriz 2018). این تفاوت‌ها نشان‌دهنده اهمیت زمینه ژنتیکی و ترکیب پایه اسیدهای چرب در تعیین مکانیسم‌های تحمل شوری است. افزایش لینولئیک در گلدشت با حفظ فعالیت فتوسنتزی و عملکرد کلروپلاست همخوانی دارد، در حالی که افزایش اولئیک در لاین A بیشتر به حفظ بقای سلولی و سخت‌تر شدن غشا منجر می‌شود.

نتایج نشان می‌دهد که پاسخ گلرنگ به شوری چندوجهی و ژنوتیپ محور است. افزایش FAD2 و کاهش SAD به عنوان مکانیسم محافظتی کلاسیک در ارقام مقاوم عمل می‌کند، در حالی که افزایش SAD در شوری شدید می‌تواند استراتژی بقای ارقام حساس‌تر باشد. این یافته‌ها نه تنها درک مکانیزم‌های مولکولی و بیوشیمیایی گلرنگ را ارتقا می‌دهد، بلکه می‌تواند مبنایی برای اصلاح ژنتیکی و بهبود کیفیت روغن در شرایط کشت شور فراهم کند (Askew 2000; Benitez et al. 2013).

نتیجه‌گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب تحت تنش شوری، به شدت وابسته به ژنوتیپ گلرنگ است. رقم گلدشت با افزایش پیشرونده FAD2 و کاهش SAD توانست نسبت اسید لینولئیک را افزایش داده، از تجمع اسیدهای چرب اشباع جلوگیری کرده و سیالیت غشا را حفظ کند، که بیانگر ایجاد تحمل متوسط و پایدار به شوری است. در مقابل، لاین A الگوی دو فازی از پاسخ نشان داد؛ FAD2 پس از افزایش اولیه کاهش یافت و SAD به سطح بالاتری فعال شد که به افزایش اسید اولئیک و تغییر ساختار غشا منجر شد. این مکانیسم بیشتر به عنوان یک استراتژی بقای سلولی عمل می‌کند تا راهکاری برای بهبود کیفیت روغن. نتایج نشان داد که الگوی گلدشت با ژنوتیپ‌های مقاوم و لاین A با ژنوتیپ‌های حساس‌تر همخوانی دارد. این یافته‌ها نه تنها سازوکارهای مولکولی تحمل به شوری در گلرنگ را روشن می‌سازد، بلکه تأکید می‌کند

که انتخاب یا اصلاح ژنوتیپ‌هایی با بیان پایدار FAD2 و تنظیم متناسب SAD می‌تواند یک راهبرد مؤثر برای افزایش مقاومت به شوری و بهبود کیفیت روغن در شرایط استرس محیطی باشد. با توجه به نقش گزارش شده این ژن‌ها در مسیرهای بیوسنتز اسیدهای چرب، انتظار می‌رود تغییر در بیان آن‌ها بتواند ترکیب یا نسبت اسیدهای چرب را تحت تأثیر قرار دهد.

References

- Abou Seeda, M. A., Abou El-Nour, A., El-Bassiouny, M., Abdallah, M., & El-Monem, A. (2023). Mercury toxicity, molecular reaction and tolerance in plants: A review. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 13(03), 319-402.
- Ai, X., Wang, S., Dai, R., Ma, X., Li, C., Zhong, C., Wang, J., Liu, X., Zhao, X., & Zhang, H. (2025). Dynamic changes of seed development, oil accumulation and fatty acid composition in peanut under soil water deficit. *Plant Physiology and Biochemistry*, 219, 109336. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.109336>
- Al-Janabia, A., Al-Dulaimy, A.F., Sekhi, Y., Almohammed, O.H., & Al-Taey, D. K. (2024). Effect of salt stress on growth and yield of plants: A Review, IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing, p. 042028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1371/4/042028>
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A., & Hayat, S. (2020). Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.042>
- Askew, M.F., 2001. Oilseed Crops. By EA Weiss. Oxford: Blackwell Science Ltd (2000), pp. 364, £ 89.50. ISBN 0-632-05259-7. *Experimental Agriculture* 37, 125-134. <https://doi.org/10.1017/S0014479701331058>
- Benitez, L. C., da Maia, L. C., Ribeiro, M. V., Pegoraro, C., Peters, J. A., de Oliveira, A. C., & Braga, E. J. (2013). Salt induced change of gene expression in salt sensitive and tolerant rice species. *Journal of Agricultural Science*, 5, 251. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n10p251>
- Chen, Y., Wang, H., Hu, W., Wang, S., Wang, Y., Snider, J.L., & Zhou, Z. (2017). Combined elevated temperature and soil waterlogging stresses inhibit cell elongation by altering osmolyte composition of the developing cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fiber. *Plant Science*, 256, 196-207. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.01.001>
- Dar, A. A., Choudhury, A. R., Kancharla, P. K., & Arumugam, N. (2017). The FAD2 gene in plants: occurrence, regulation, and role. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1789. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01789>
- Emongor, V. (2010). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) the underutilized and neglected crop: a review. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9(6), 299-306. <https://doi.org/10.3923/ajps.2010.299.306>
- Flagella, Z., Giuliani, M. M., Rotunno, T., Di Caterina, R., & De Caro, A. (2004). Effect of saline water on oil yield and quality of a high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrid. *European Journal of Agronomy*, 21, 267-272. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2003.09.001>
- Ghars, M. A., Parre, E., Debez, A., Bordenave, M., Richard, L., Lepoint, L., Bouchereau, A., Savouré, A., & Abdelly, C. (2008). Comparative salt tolerance analysis between *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*, with special emphasis on K⁺/Na⁺ selectivity and proline accumulation. *Journal of Plant Physiology*, 165, 588-599. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.014>

- Ghassemi-Golezani, K., & Farhangi-Abriz, S. (2018). Changes in oil accumulation and fatty acid composition of soybean seeds under salt stress in response to salicylic acid and jasmonic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65, 229-236. <https://doi.org/10.1134/S1021443718020115>
- Gogna, M., Choudhary, A., Mishra, G., Kapoor, R., & Bhatla, S. C. (2020). Changes in lipid composition in response to salt stress and its possible interaction with intracellular Na⁺-K⁺ ratio in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104147. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104147>
- Hąc-Wydro, K., & Wydro, P. (2007). The influence of fatty acids on model cholesterol/phospholipid membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 150, 66-81. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2007.06.213>
- Hernández, M. L., Padilla, M. N., Sicardo, M. D., Mancha, M., & Martínez-Rivas, J. M. (2011). Effect of different environmental stresses on the expression of oleate desaturase genes and fatty acid composition in olive fruit. *Phytochemistry*, 72, 178-187. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.026>
- Hwangbo, K., Ahn, J.-W., Lim, J. M., Park, Y. I., Liu, J. R., & Jeong, W. J. (2014). Overexpression of stearoyl-ACP desaturase enhances accumulations of oleic acid in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Biotechnology Reports*, 8, 135-142. <https://doi.org/10.1007/s11816-013-0302-3>
- Im, Y. J., Han, O., Chung, G. C., & Cho, B. H. (2002). Antisense expression of an Arabidopsis ω-3 fatty acid desaturase gene reduces salt/drought tolerance in transgenic tobacco plants. *Molecules and cells*, 13, 264-271. [https://doi.org/10.1016/S1016-8478\(23\)15032-1](https://doi.org/10.1016/S1016-8478(23)15032-1)
- Kargiotidou, A., Deli, D., Galanopoulou, D., Tsafaris, A., & Farmaki, T. (2008). Low temperature and light regulate delta 12 fatty acid desaturases (FAD2) at a transcriptional level in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of experimental botany*, 59, 2043-2056. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern065>
- Kothapalli, K. S., Park, H. G., & Brenna, J. T. (2020). Polyunsaturated fatty acid biosynthesis pathway and genetics. Implications for interindividual variability in prothrombotic, inflammatory conditions such as COVID-19. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 162, 102183. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2020.102183>
- Kurt, C., Altaf, M. T., Liaqat, W., Nadeem, M. A., Çil, A. N., & Baloch, F. S. (2025). Oil Content and Fatty Acid Composition of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Germplasm. *Foods*, 14(2), 264. <https://doi.org/10.3390/foods14020264>
- Leekumjorn, S., Cho, H. J., Wu, Y., Wright, N. T., Sum, A. K., & Chan, C. (2009). The role of fatty acid unsaturation in minimizing biophysical changes on the structure and local effects of bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1788, 1508-1516. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2009.04.002>
- Li, D., Li, K., Zhou, G., & He, S. (2023). Effects of temperature and salt stress on the expression of delta-12 fatty acid desaturase genes and fatty acid compositions in safflower. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 2765. <https://doi.org/10.3390/ijms24032765>
- Li, L., Li, Y., Wang, R., Chao, L., Xiu, Y., & Wang, H. (2020). Characterization of the stearoyl-ACP desaturase gene (PoSAD) from woody oil crop *Paeonia ostii* var. *lishizhenii* in oleic acid biosynthesis. *Phytochemistry*, 178, 112480. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112480>

- Liu, H., Gu, J., Lu, Q., Li, H., Hong, Y., Chen, X., Ren, L., Deng, L., & Liang, X. (2019). Transcriptomic analysis reveals the high-oleic acid feedback regulating the homologous gene expression of stearoyl-ACP desaturase 2 (SAD2) in peanuts. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 3091. <https://doi.org/10.3390/ijms20123091>
- Nishida, I. (2004). Plastid metabolic pathways for fatty acid metabolism, *Molecular Biology and Biotechnology of Plant Organelles. Chloroplasts and Mitochondria*, 543-564. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3166-3_20
- Srivastava, A., Singh, S. S., & Mishra, A. K. (2014). Modulation in fatty acid composition influences salinity stress tolerance in Frankia strains. *Annals of Microbiology*, 64, 1315-1323. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0775-x>
- Yang, H., Jiang, J., Chen, M., Song, X., Yu, C., Chen, H., & Zhao, Y. (2024). Homologous delta-12 fatty acid desaturase (FAD2) genes affect gene expression and linoleic acid levels in *Lentinula edodes* under heat stress. *Journal of Fungi*, 10, 496. <https://doi.org/10.3390/jof10070496>
- Yang, X., Sheng, W., Sun, G. Y., & Lee, J. C-M. (2011). Effects of fatty acid unsaturation numbers on membrane fluidity and α -secretase-dependent amyloid precursor protein processing. *Neurochemistry international*, 58, 321-329. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2010.12.004>
- Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M., & Pourdard, S. S. (2012). Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food Chemistry*, 130, 618-625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.085>
- Yeloojeh, K. A., Saeidi, G., & Sabzalian, M. R. (2020). Drought stress improves the composition of secondary metabolites in safflower flower at the expense of reduction in seed yield and oil content. *Industrial Crops and Products*, 154, 112496. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112496>
- Zhang, J. T., Zhu, J. Q., Zhu, Q., Liu, H., Gao, X. S., & Zhang, H. X. (2009). Fatty acid desaturase-6 (Fad6) is required for salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 390, 469-474. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.09.095>
- Zhou, H., Shi, H., Yang, Y., Feng, X., Chen, X., Xiao, F., Lin, H., & Guo, Y. (2024). Insights into plant salt stress signaling and tolerance. *Journal of Genetics and Genomics*, 51, 16-34. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2023.08.007>