

Expression Patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* Genes during Fruit Development of Selected Iranian and International Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars

F. Razeghi-Jahromi¹, A. Zarei^{1*}, F. Parvini²

1- Department of Plant Production and Genetic (Biotechnology), Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

2- Department of Biology, Faculty of Basic Science, Semnan University, Semnan, Iran

(* - Corresponding author's Email: zareia@jahromu.ac.ir)

Received: 03 August 2025

Revised: 07 October 2025

Accepted: 18 November 2025

Available Online: 18 November 2025

How to cite this article:

Razeghi-Jahromi, F., Zarei, A., & Parvini, F. (2026). Expression patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes during fruit development of selected Iranian and international olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Journal of Horticultural Science*, 40(3), 467-480. (In Persian). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451>

Introduction

Olive (*Olea europaea* L.) is a fruit-bearing tree of global significance due to the high quantity and quality of oil produced from its fruits. Fatty acid desaturase (FAD) genes are responsible for catalyzing the conversion of linoleic acid to α -linolenic acid. In olives, the FAD7 and FAD3 genes encode omega-3 fatty acid desaturases that catalyze the conversion of linoleic acid (omega-6) to α -linolenic acid (omega-3), occurring respectively in plastids and the endoplasmic reticulum. In olive fruit, oil accumulates in two distinct tissues: the mesocarp, which contains the highest concentration of oil, and the seed, which is enclosed by a hard endocarp. Due to the significance of the mesocarp for oil extraction in olives, most previous research has focused on oil biosynthesis within the fruit's mesocarp tissue, while the biosynthetic process in the seed has been comparatively less studied.

Materials and Methods

This study investigated the expression patterns of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes during different fruit ripening stages in two tissues, mesocarp and seed, in four olive cultivars: two native ('Mari' and 'Shengeh') and two imported ('Arbequina' and 'Koroneiki'). Total RNA was extracted from both seed and mesocarp tissues of the cultivars at five developmental time points: 64, 90, 120, 150, and 180 days after full bloom (DAFB). Subsequently, cDNA was synthesized and gene expression was analyzed using specific primers for *OeFAD7-1* and *OeFAD3A*. The *OeQUB2* gene was employed as a reference for evaluating relative expression levels. Each experimental sample was evaluated in triplicate. Data analysis was performed using SAS software, and mean values were compared using Tukey's test.

Results and Discussion

Transcripts of both *OeFAD3* and *OeFAD7* genes were consistently detected in the two examined tissues across all sampling times and in all olive cultivars, indicating stable, though quantitatively variable, patterns of gene expression. Results revealed significant differences in gene expression across tissues, ripening stages, and among cultivars. While *OeFAD7* exhibited higher expression in mesocarp tissue compared to seeds, *OeFAD3* was more strongly expressed in seeds than in mesocarp. On the other hand, the findings of this study revealed that the expression level of the *OeFAD3* gene in the seed of the fruit was significantly higher than in the mesocarp. Moreover, in most sampling stages, the expression of this gene in the seed exceeded that of the *OeFAD7* gene in the same tissue. Previous studies on the expression of this gene in various olive tissues also



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451>

indicated that the *OeFAD3A* isoform exhibited the highest expression in the seed and young olive leaves, while its transcripts were extremely low and nearly undetectable in the fruit mesocarp. Expression of *OeFAD7* in the mesocarp showed a distinct upregulation at a specific growth stage, occurring either at 90 or 120 DAFB depending on the cultivar. The 'Koroneiki' cultivar demonstrated the highest transcript abundance for both genes and displayed a relatively distinct expression profile during fruit ripening compared to the other cultivars. Furthermore, the comparison of the expression levels of oleate desaturase genes in this study aligns with previous research findings regarding the fatty acid composition of the studied cultivars. In general, the native cultivars showed lower expression levels of the target genes compared to the imported ones, although the 'Mari' cultivar exhibited higher gene expression than 'Shengeh' in most developmental stages. Based on these findings, it can be proposed that *OeFAD7* plays a more prominent role in the conversion of linoleic acid to α -linolenic acid in the mesocarp, while *OeFAD3* is more pivotal in α -linolenic acid biosynthesis within the seed.

Conclusion

The data generated in this study provide valuable insights about tissue specific expression of oleate desaturases in olive trees. In conclusion, the distinct spatiotemporal expression profiles of *FAD7* and *FAD3* during olive fruit development underscore their pivotal roles in α -linolenic acid biosynthesis and identify them as valuable targets for breeding and biotechnological strategies aimed at enhancing olive oil composition and quality. Based on these findings, it can be concluded that the *OeFAD7* gene plays a critical role in the fatty acid desaturation process within the mesocarp tissue of olive fruit, whereas the *OeFAD3* gene has greater significance in this process within the seed. Overall, the data from this study highlight the substantial impact of these genes on linoleic acid degradation in olive oil, thereby enhancing its quality index in terms of the ratio of oleic acid to linoleic and linolenic acids.

Keyword: Developmental stages, Mesocarp, Oleate desaturase, Olive oil, Olive seed

مطالعه الگوی بیان ژن‌های *OeFAD3* و *OeFAD7* طی مراحل رشدی میوه برخی ارقامزیتون‌های (*Olea europaea* L.) ایرانی و خارجیفاطمه رازقی جهرمی^۱ - عبدالکریم زارعی^{۱*} - فرشید پروینی^۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۲۷

چکیده

میوه زیتون (*Olea europaea* L.) به‌خاطر میزان و کیفیت بالای روغن از اهمیت بالایی در بین محصولات باغی برخوردار است. میزان و کیفیت روغن بین ارقام مختلف زیتون متفاوت می‌باشد و این تفاوت تا حدودی به زمینه ژنتیکی و بیان متفاوت ژن‌های بیوسنتزی اسید چرب مربوط می‌باشد. در این پژوهش، الگوی بیان ژن‌های غیراشباع‌کننده اسید چرب *OeFAD3* و *OeFAD7* طی مراحل رسیدن میوه در دو بافت مزوکارپ و دانه چهار رقم زیتون شامل دو رقم بومی 'ماري' و 'شنگه' و دو رقم وارداتی 'آربکین' و 'کرونیکی' مورد مطالعه قرار گرفت. به این منظور، استخراج RNA کل از هر دو بافت دانه و مزوکارپ ارقام زیتون مورد بررسی در زمان‌های ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل انجام گرفت و سپس cDNA سنتز شد و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مربوط به ژن‌های *OeFAD3A* و *OeFAD7-1* بیان این دو ژن در چهار رقم ذکرشده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تفاوت معنی‌دار بیان این ژن‌ها در بافت‌های مختلف، طی مراحل رسیدن میوه و بین ارقام مورد مطالعه بود. هرچند میزان بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه ارقام زیتون بسیار بیشتر از بافت دانه بود، ولی بیان ژن *OeFAD3* در بافت دانه نسبت به مزوکارپ میوه بالاتر بود و حتی بیان این ژن در دانه در اکثر مراحل نمونه‌گیری بیشتر از بیان ژن *OeFAD7* در دانه بود. نتایج نشان داد که ژن *OeFAD7* در مزوکارپ میوه تمام ارقام بررسی شده یک مرحله افزایش بیان را در طی رشد نشان داد که بسته به رقم این افزایش در مراحل مختلفی (۹۰ یا ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل) ثبت گردید. رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام، رونوشت‌های بیشتری از هر دوی این ژن‌ها دارا بود و الگوی نسبتاً متفاوتی نسبت به بقیه ارقام مورد مطالعه طی رسیدن میوه از خود نشان داد. به‌طورکلی بیان این ژن‌ها در ارقام بومی کمتر از ارقام وارداتی بود و از طرف دیگر، در بین ارقام ایرانی میزان بیان این ژن‌ها در اکثر مراحل رشدی در رقم 'ماري' بیشتر از 'شنگه' بود. براساس نتایج این پژوهش می‌توان پیشنهاد داد که ژن *OeFAD7* اهمیت بیشتری در تبدیل اسید لینولئیک به اسید آلفالینولئیک در مزوکارپ میوه زیتون دارا می‌باشد، درحالی‌که ژن *OeFAD3* نقش مهم‌تری در تولید اسید آلفالینولئیک در دانه میوه ایفا می‌کند. اطلاعات حاصل‌شده در این تحقیق می‌تواند در مطالعات آتی با هدف بهبود کیفی روغن زیتون مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اولئات دسچوراز، دانه زیتون، روغن زیتون، مراحل نمو، مزوکارپ

مقدمه

درخت زیتون (*Olea europaea* L.) از زمان‌های دور توسط بشر مورد کشت‌وکار قرار گرفته است و میوه آن، به‌خاطر محتوای روغن باکیفیت، از نظر اقتصادی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغی مطرح شده است. یکی از شاخصه‌های کیفی روغن زیتون، میزان

بالای اسیدهای چرب غیراشباع آن می‌باشد. علاوه بر اسید اولئیک (C۱۸:۱) که به‌عنوان مهم‌ترین اسید چرب تک غیر اشباعی (MUFA^۳) در میوه زیتون وجود دارد، اسیدهای چرب لینولئیک (C۱۸:۲) و آلفا لینولئیک (C۱۸:۳) جزء اسیدهای چرب چند غیر اشباعی (PUFA^۴) موجود در روغن زیتون می‌باشند.

محتوا و ترکیب روغن میوه بین ارقام و ژنوتیپ‌های زیتون بسیار متغیر است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). این تغییر

۱- گروه تولید و ژنتیک گیاهی (بیوتکنولوژی)، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
(Email: zareei@jahromu.ac.ir)

*- نویسنده مسئول: <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.94744.1451>

3- Mono unsaturated fatty acids

4- Poly unsaturated fatty acids

در ابتدا به علت تفاوت در عوامل ژنتیکی می باشد، اما ممکن است به علت تأثیر مرحله رسیدن میوه، شرایط محیطی و عملیات باغی به کار گرفته شده هم ایجاد گردد (Zarei et al., 2023; Matteucci et al., 2011). یکی از عوامل اصلی تعیین کننده کیفیت روغن های گیاهی خوراکی، ترکیب اسیدهای چرب روغن می باشد. PUFAها تأثیر بسیار بالایی بر کیفیت روغن زیتون دارند. از خصوصیات مهم روغن زیتون، درصد پایین اسید لینولنیک (C۱۸:۳) آن است که میزان استاندارد آن در روغن زیتون کمتر از یک درصد گزارش شده است (International Olive Council (IOC), 2019). همچنین میزان اسید لینولنیک در روغن مزوکارپ زیتون بین ارقام مختلف بسیار متفاوت و در محدود ۲۱-۲/۵ درصد می باشد (International Olive Council (IOC), 2019). میزان بالای اسید لینولنیک در روغن زیتون تأثیر منفی بر ویژگی های تکنولوژیکی روغن از جمله پایداری اکسیداتیو آن دارد و دارای ویژگی های تغذیه ای مهمی می باشد (Hernández et al., 2008). بدین ترتیب، افزایش نسبت MUFA/PUFA از اهداف اصلاحی پژوهشگران در جهت بهبود ترکیب اسیدهای چرب گیاهان دارای دانه روغنی و میوه های روغنی همچون زیتون، نخل روغنی (*Elaeis guineensis*) و آووکادو (*Persea americana*) می باشد (Razeghi-Jahromi, Parvini et al., 2022; Leon et al., 2008). از طرفی، سطوح پایین اسید آلفا لینولنیک برای تولید عطر و طعم روغن طی فرآیندهای تولید روغن بکر ضروری می باشد (Hernández et al., 2016). به عبارتی، علاوه بر نسبت های بالای اسیدهای چرب غیراشباع به انواع اشباع، سطوح بالای اسید اولئیک و اسید آلفا لینولنیک و سطوح کم اسید لینولنیک، در بهبود کیفی، ارزش تغذیه ای، عطر و پایداری روغن زیتون بسیار مؤثرند (Razeghi-Jahromi, Parvini, et al., 2022; Leon et al., 2008).

یکی از دلایل تغییر در سطوح روغن و نوع اسیدهای چرب، بیان تفاوت ژن های مسیر بیوسنتزی انواع اسیدهای چرب می باشد. به طور اختصاصی تغییر در میزان اسیدهای چرب غیر اشباع به وسیله فعالیت آنزیم های غیراشباع کننده اسید چرب^۱ (FADS) تنظیم می گردد (Niu et al., 2022; Sabetta et al., 2013). براساس میزان حلالیت FADها به دو گروه اصلی تقسیم می شوند: آنزیم های غیراشباع کننده متصل شونده به غشاء و غیراشباع کننده های محلول (El Faqer et al., 2024). استارویل ACP دساچوراز (SAD) تنها FAD محلول می باشد که در ماتریکس پلاستید وجود دارد، درحالی که غیراشباع کننده های متصل به غشاء FAD در انواع ارگانیسرها شامل گیاهان، جلبک ها، حیوانات و قارچ ها وجود دارند (Chen et al., 2011). SAD، FAD4، FAD5، FAD6، FAD7، FAD8 و

گروهی از آنزیم هایی می باشند که در پلاستیدها یافت می شوند و نقش مهمی در فرآیند غیراشباع سازی اسیدهای چرب ایفا می کنند (Wallis & Browse, 2002). از طرفی، FAD2 و FAD3 در شبکه آندوپلاسمیک قرار دارند و مسئول فرآیند غیراشباع سازی خارج از کلروپلاست می باشند (El Faqer et al., 2024). ژن های SAD مسئول تبدیل اسیدچرب اشباع استئاریک به اسید اولئیک می باشند و مرحله بعدی غیر اشباع سازی یعنی تبدیل اسید اولئیک به اسید لینولنیک توسط FAD2 در شبکه آندوپلاسمی و FAD6 در پلاستیدها انجام می شود، درحالی که غیراشباع سازی اسید لینولنیک به اسید لینولنیک به ترتیب در شبکه آندوپلاسمی و پلاستیدها توسط FAD3 و FAD7/FAD8 انجام می شود (Parvini et al., 2014; Sharma & Chauhan, 2012).

در زیتون ژن های FAD7 و FAD3، دساچورازهای اسیدهای چرب امگا ۳ را کد می کنند که واکنش سنتز اسید چرب لینولنیک (امگا-۶) به اسید آلفا لینولنیک (امگا-۳) را به ترتیب در پلاستیدها و شبکه آندوپلاسمیک کاتالیز می کنند (Banilas et al., 2007). تاکنون ژن های شناسایی شده در بیوسنتز اسید لینولنیک در زیتون شامل چهار لینولات دساچوراز می باشند که دو عدد از آن ها در شبکه آندوپلاسمیک (*OeFAD3A* و *OeFAD3B*) و دو عدد در پلاستید (*OeFAD7-1* و *OeFAD7-2*) فعال می باشند (Serrano et al., 2024; Hernández et al., 2016; Banilas et al., 2007; Poghossyan et al., 1999). گزارش ها حاکی است که از بین این ایزوفرم های FAD7، ژن FAD7-1 نقش مهمی در میزان اسید لینولنیک در مزوکارپ میوه زیتون ایفا می کنند، درحالی که از بین ایزوفرم های FAD3، ژن FAD3A مهم ترین ایزوفرم در بافت دانه می باشد (Hernández et al., 2016). در زیتون، *OeFAD3* تنها قادر به تبدیل C۱۸:۲ به C۱۸:۳ می باشد و *OeFAD7* علاوه بر این، قابلیت تبدیل C۱۶:۲ به C۱۶:۳ را نیز دارد (Poghossyan et al., 1999). در مجموع، این ژن ها از الگوی پیچیده ای شامل تنظیم نموی، بافتی و محیطی پیروی می کنند.

در میوه زیتون، روغن در دو بافت متفاوت تجمع پیدا می کند. یکی از این دو بافت، مزوکارپ میوه می باشد که بیشترین تجمع روغن را دارد و دیگری دانه میوه است که به وسیله اندوکارپ سخت احاطه شده است (Hernández et al., 2016). به خاطر اهمیت مزوکارپ برای استخراج روغن در زیتون، بیشتر پژوهش های گذشته روی بیوسنتز روغن در بافت مزوکارپ میوه انجام شده و فرآیند بیوسنتز روغن در دانه میوه کمتر مطالعه شده است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022; Hernández et al., 2021; Sabetta et al., 2013; Banilas et al., 2007). به هر حال، مطالعه ژن های بیوسنتزی اسیدهای چرب روغن در بافت های مزوکارپ و دانه میوه

1- Fatty acid desaturase

دارد و به همین دلیل از جهت درصد روغن بسیار مورد توجه است. ارقام 'کرونیکی' و 'آربکین' با هدف تولید روغن در ایران به‌صورت گسترده کشت شده‌اند (Tous & Vega, 2022; Azimi et al., 2016). ارقام مورد بررسی در ایستگاه تحقیقاتی زیتون طارم کشت شده بودند و توسط سیستم آبیاری قطره‌ای که دارای هشت قطره چکان برای هر درخت با دبی هشت لیتر بر ساعت برای هر قطره چکان می‌باشد، در فصل تابستان هر چهار روز یک‌بار آبیاری می‌شدند. تاریخ ۲۵ اردیبهشت ماه به‌عنوان مبنای تاریخ تمام‌گل در نظر گرفته شد. در این تاریخ، بیش از ۷۰ درصد گل‌های باغ به‌طور کامل باز شده بودند و به همین علت روز پس از گل‌دهی کامل ($DAFB^5$) به‌عنوان مبنای نمونه‌برداری برای مراحل مختلف استفاده گردید. در روزهای ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل درختان، از دانه‌های در حال تکوین و بافت مزوکارپ میوه، که منطبق با مراحل مختلف نمو میوه زیتون است، نمونه‌گیری انجام گردید (Matteucci et al., 2011). نمونه‌ها برای استخراج ریبونوکلیک اسید در ازت مایع فریز و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که از هر رقم، سه درخت به‌عنوان سه تکرار زیستی نمونه‌برداری گردید.

جهت بررسی بیان ژن‌های اولتات دساجوراز در این ارقام، جفت آغازگرهای پیش‌رو و پس‌رو (با طول ۲۳-۱۹ نوکلئوتیدی) با کمک برنامه برخط primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi) طراحی گردید، به‌طوری که توانایی تکثیر قطعاتی به‌طول ۱۲۰-۲۰۰ جفت باز با دمای ذوب ۶۱-۵۹ درجه سانتی‌گراد را داشته باشند (جدول ۱). جهت بررسی صحت عملکرد آغازگرهای طراحی‌شده نیز از برنامه برخط دیگری به آدرس <http://eu.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyze> استفاده گردید.

به‌منظور استخراج RNA کل، میزان ۰/۲ گرم از هر دو بافت دانه و مزوکارپ ارقام زیتون مورد بررسی در هریک از زمان‌های ۶۴، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل ($DAFB$) در حضور ازت مایع پودر گردید و با استفاده از کیت استخراج RNA شرکت کیاژن (RNeasy plant mini kit) و مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده، استخراج گردید. ارزیابی کمیت و کیفیت RNA استخراجی توسط دستگاه نانودراپ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) و الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد و مشاهده زیر نور ماوراء بنفش انجام گرفت. برای حذف DNA احتمالی در نمونه‌های RNA استخراج‌شده، نمونه‌ها با آنزیم DNases (RNase-free DNases, Qiagen, Hilden, Germany) براساس دستورالعمل شرکت سازنده تیمار

زیتون، نه‌تنها اطلاعاتی در مورد نحوه تولید و تجمع روغن را فراهم می‌کند، بلکه می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود کیفیت روغن زیتون با ارزش باشد و درک دانش فیزیولوژیکی نحوه تولید و تنظیم اسیدهای چرب روغن را نیز تعمیق بخشد. درک مناسب و دقیقی از تعداد ژن‌های کنترل‌کننده، سازوکار و نحوه بیان بافتی و نموی ژن‌ها و همچنین نحوه تنظیم ژن‌های کدکننده آنزیم‌های کنترل‌کننده میزان اسیدهای چرب غیر اشباع یا همان FADها، می‌تواند اطلاعات با ارزشی در مورد عوامل تعیین‌کننده سطوح اسیدهای چرب مختلف در روغن زیتون در اختیار ما قرار دهد. برای این منظور، مطالعه بیان ژن‌های کلیدی خانواده غیراشباع‌کننده‌های لینولئات (*OeFAD3* و *OeFAD7*) که در فرآیند تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولئیک اهمیت بالایی دارند، با هدف تشخیص تفاوت بیان این ژن‌ها در دو رقم ایرانی ('ماری' ۱ و 'شنگه' ۲) و مقایسه آن با ارقام خارجی ('آربکین' ۳ و 'کرونیکی' ۴) طی مراحل نمو و رسیدگی میوه در بافت‌های دانه و مزوکارپ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش روی دو رقم زیتون بومی ایران به‌نام‌های 'ماری' و 'شنگه' و دو رقم مدیترانه‌ای 'کرونیکی' و 'آربکین' انجام شد. از نظر ترکیب اسیدهای چرب، ارقام 'ماری' و 'کرونیکی' به‌دلیل نسبت بالای ۱:۱۸ C (به‌ترتیب ۸۰/۸۷ درصد و ۷۵/۵۹ درصد) و نسبت پایین ۲:۱۸ C، جزء ارقام با کیفیت مرغوب روغن محسوب شده و ارقام 'شنگه' و 'آربکین' به‌دلیل نسبت پایین‌تر ۱:۱۸ C (به‌ترتیب ۵۲/۳۰ درصد و ۵۷/۳۸ درصد) و نسبت بالای ۲:۱۸ C جزء ارقام زیتون دارای روغن با مرغوبیت کمتر به حساب می‌آیند (Gómez-González et al., 2011). ارقام 'ماری' و 'شنگه' دو رقم بومی ایران می‌باشند که به‌ترتیب به‌عنوان ارقام با اهداف تازه‌خوری و تولید روغن کشت‌وکار می‌شوند (Razeghi-Jahromi et al., 2021). رقم 'ماری' به‌دلیل میوه‌های نسبتاً کشیده آن به این نام معروف شده است. این رقم در ناحیه شمال ایران گسترش یافته و میوه آن زودرس است. رقم 'شنگه' نیز بومی منطقه شمال ایران است و میوه‌ای میان‌رس دارد. رقم 'کرونیکی' یکی از مهم‌ترین ارقام بومی یونان بوده که در گروه ارقام دیررس قرار گرفته و حاوی روغن با کیفیت مرغوب می‌باشد. رقم 'آربکین'، مهم‌ترین رقم زیتون منطقه کاتالونیای اسپانیا می‌باشد که میوه‌ای میان‌رس با میزان بالای روغن

- 1- Mari
- 2- Shengeh
- 3- Arbequina
- 4- Koroneiki

گردید. پس از تیمار با آنزیم DNase، میزان یک میکروگرم از RNA استخراج شده از هر یک از بافت‌های دانه و مزوکارپ ارقام مذکور در هریک از زمان‌های ۷۷، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل برای سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت رونوشت‌بردار معکوس Quanti-Tect reverse transcription شرکت (Qiagen, Hilden, Germany) و مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت.

واکنش Real time PCR

میزان یک میکرولیتر از cDNA سنتز شده به همراه ۱۰ پیکومول از هر یک از آغازگرهای رو به جلو و رو به عقب، پنج میکرولیتر از محلول کیت مخصوص Real Time PCR حاوی ماده قابل ردیابی سایبرگرین (Qiagen, Hilden, Germany) در یک مخلوط واکنش که با آب مقطر به حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر رسیده بود، برای تکثیر قطعات مد نظر در دستگاه Real-Time PCR مدل Applied Biosystems 7500 (Life Technology) قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به صورت زیر طراحی گردید: یک مرحله

واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۱۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و مرحله تکثیر شامل ۴۰ چرخه متشکل از قرار دادن مخلوط واکنش به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در دمای اختصاصی هر آغازگر (جدول ۱) و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد. اختصاصیت قطعات تکثیری به وسیله الکتروفورز محصول پی سی آر و توالی‌یابی قطعات تأیید گردید. ژن یوبی کویتین ۲ زیتون (*OeUBQ2*) با شماره دسترسی بانک ژن AF429430 به عنوان ژن رفرنس داخلی برای نرمال کردن بیان ژن‌ها استفاده شد. بیان نسبی ژن‌ها با استفاده از معادله $2^{-\Delta\Delta C_t}$ محاسبه گردید (Livak and Schmittgen, 2001). این پژوهش به صورت فاکتوریل و برپایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. عامل‌های مورد ارزیابی شامل رقم زیتون (چهار رقم)، زمان نمونه‌گیری (پنج مرحله)، و بافت میوه (دو بخش مزوکارپ و بذر) بود. برای هر نمونه آزمایشی سه تکرار تکنیکی در نظر گرفته شد. آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS (ver. 9.4) انجام گرفت و میانگین داده‌ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

جدول ۱- مشخصات آغازگرها و طول قطعه حاصل از PCR ژن‌های اولئات دساجوراز برای تکثیر قطعات مربوطه توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
Table 1- The characteristics of primer and PCR product sizes for oleate desaturase genes used to amplify the corresponding fragments by polymerase chain reaction

ژن Gene	شماره دسترسی Accession number	توالی آغازگر Primer sequences (5'→3')	دمای اتصال بهینه Optimum annealing temperature (°C)	طول قطعه Fragment length (bp)
<i>OeFAD3</i>	DQ788673	Forward: GTGGCAAGGAATGGAGTTAC Reverse: CACTTGTCGCCTCTTCTAAG	60	152
<i>OeFAD7</i>	DQ788674	Forward: ACAGGGGAAAGGAATGGAG Reverse: AGGGTAGAGGTGATGTATG	60	180
<i>OeQUB2</i>	AF429430	Forward: AAAAGGAGTCAACCCTCCA Reverse: TGCCCTCCTTGTCCTGTATC	60	150

نتایج

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه زیتون

بررسی بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ میوه طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه بیانگر تفاوت معنی‌دار در بیان این ژن در مراحل مختلف زمانی طی رسیدن میوه بود (جدول ۲). همچنین مقایسه میزان بیان این ژن در چهار رقم مورد بررسی بیانگر تفاوت معنی‌دار بیان آن بین ارقام زیتون می‌باشد (جدول ۳).

هرچند الگوی بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ زیتون در ارقام مختلف روند منحصربه‌فردی را طی کرد، ولی بیان این ژن به طور کلی در تمام ارقام مختلف زیتون مورد بررسی یک مرحله افزایش بیان را دارا بود، هرچند این مرحله افزایش بیان بسته به نوع رقم در زمان متفاوتی حاصل شد (شکل ۱a). افزایش بیان ژن *OeFAD7* در دو

رقم 'آربکین' و 'شنگه' در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل و در رقم 'ماری' در مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید. در رقم 'کرونیکی'، این پیک افزایش بیان با دوام‌تر از بقیه ارقام بود و از مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل تا ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل طول کشید. به هر حال پس از این مرحله افزایش بیان، که در اواسط مراحل رشد میوه اتفاق افتاد، بیان ژن *OeFAD7* در دو رقم بومی 'ماری' و 'شنگه' کاهش یافت، به طوری که در آخرین مرحله نمونه‌گیری، میزان بیان این ژن در رقم 'شنگه' به سطح مرحله اول رسید. میزان بیان ژن *OeFAD7* در مزوکارپ رقم ماری در زمان ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل حتی کمتر از مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید. در ارقام خارجی، بیان این ژن در مراحل نهایی رشد تا حدودی متفاوت از ارقام بومی بود، به طوری که در رقم 'آربکین' در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل، پیک ثانویه‌ای از بیان این ژن ثبت

شد که بیشتر از پیک اولیه بود و در رقم 'کرونیکی' با وجود اینکه در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل بیان *OeFAD7* نسبت به مرحله قبلی کاهش یافت، ولی هنوز نسبت به مراحل ۶۴ و ۹۰ روز پس از تمام‌گل، بیان بیشتری را نشان داد (شکل ۱a).

در این پژوهش، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه مربوط به رقم 'آربکین' و در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل بود، درحالی‌که کمترین بیان این ژن در رقم ماری و در آخرین مرحله نمونه‌گیری (۱۸۰ روز پس از تمام‌گل) مشاهده گردید. همچنین بررسی الگوی کلی بیان این ژن در مراحل مختلف بین ارقام مورد بررسی بیانگر این است که در بیشتر مراحل رشد ارقام خارجی 'کرونیکی' و 'آربکین'، بیان بیشتری نسبت به ارقام بومی 'ماری' و 'شنگه' داشتند. به‌طورکلی، رقم 'کرونیکی' به‌خصوص در مراحل میانی نمونه‌گیری، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* را به خود اختصاص داد.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD7* در بافت دانه میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD7* در دانه میوه زیتون در مراحل مختلف طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه و بین ارقام مختلف زیتون متفاوت بود (جدول ۲). به‌طورکلی، نتایج بیانگر تفاوت الگوی بیان ژن *OeFAD7* در دانه نسبت به بافت مزوکارپ میوه زیتون بود (جدول ۳). به

عبارتی، برخلاف مزوکارپ میوه، بیشترین بیان این ژن در بافت دانه در مراحل اول نمونه‌گیری ثبت شد و روند کلی بیان آن در ارقام مورد بررسی در طول دوره رسیدن میوه کاهشی بود (شکل ۱b). در دو رقم 'آربکین' و 'شنگه'، بیشترین بیان ژن *OeFAD7* در مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید درحالی‌که در ارقام 'ماری' و 'کرونیکی'، پیک رشدی این ژن مربوط به مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل بود.

در بین ارقام مورد مطالعه و مراحل مختلف نمو میوه، بیشترین و کمترین بیان *OeFAD7* در دانه مربوط به رقم 'آربکین' به‌ترتیب در مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل و ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید (شکل ۱b). بیان ژن *OeFAD7* در رقم بومی 'شنگه' برخلاف دیگر ارقام مورد بررسی در این پژوهش، کمترین بیان این ژن در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید و در مرحله آخر نمونه‌گیری افزایش بیان قابل توجهی در این ژن نشان داد.

روند کلی بیان این ژن در بافت دانه بیانگر این بود که رقم 'کرونیکی' در اکثر مراحل نمونه‌برداری، بیان بیشتری نسبت به دیگر ارقام داشت و رقم 'ماری' هم در اکثر مراحل کمترین بیان را در بین ارقام نشان داد. از طرف دیگر، مقایسه بیان این ژن بین دو بافت مزوکارپ و دانه بیانگر این موضوع است که به‌طورکلی ژن *OeFAD7* در دانه زیتون بیان بسیار کمتری نسبت به بافت مزوکارپ میوه دارا می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس بیان ژن‌های *OeFAD3* و *OeFAD7* طی مراحل رشدی میوه در ارقام مختلف بومی و وارداتی زیتون
Table 2- Analysis of variance of *OeFAD7* and *OeFAD3* gene expression during fruit developmental stages in different native and introduced olive cultivars

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of squares	
		<i>OeFAD7</i>	<i>OeFAD3</i>
رقم Cultivar	3	4.80**	0.073**
زمان Time	4	0.67**	0.3056**
بافت Tissue	1	24.044**	0.05933**
رقم × زمان Time × cultivar	12	1.84**	0.0465**
رقم × بافت Tissue × cultivar	3	4.43**	0.068**
زمان × بافت Time × tissue	4	0.99**	0.0305**
رقم × بافت × زمان Time × tissue × cultivar	12	1.08**	0.0450**
اشتباه آزمایشی Error	80	0.20	0.0012

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: Significant at 1% of probability level.

جدول ۳- اثر سه گانه رقم × زمان برداشت × نوع بافت بر بیان ژن های *OeFAD7* و *OeFAD3* میوه زیتون

Table 3–Triple interaction of cultivar × harvest time × tissue type on the expression of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes in olive fruit

رقم Cultivar	بافت Tissue	زمان Time (DAFB)	<i>OeFAD7</i>	<i>OeFAD3</i>
'ماری' 'Mari'	مزوکارپ Mesocarp	64	0.19 fg*	0.0035 g
		90	0.17 fg	0.0028 g
		120	1.22 cd	0.0013 g
		150	0.29 efg	0.00029 g
		180	0.032 fg	0.0042 g
	دانه Seed	64	0.038 fg	0.188 de
		90	0.075 fg	0.15 de
		120	0.023 g	0.0073 fg
		150	0.008 g	0.0018 g
		180	0.009 g	0.000023 g
'شنکه' 'Shengeh'	مزوکارپ Mesocarp	64	0.11 fg	0.0015 g
		90	0.55 ef	0.00080 g
		120	0.15 fg	0.000155 g
		150	0.13 fg	0.00181 g
		180	0.11 fg	0.00007 g
	دانه Seed	64	0.17 fg	0.206 cd
		90	0.045 fg	0.026 fg
		120	0.07 fg	0.014 fg
		150	0.004 g	0.00054 g
		180	0.10 fg	0.00083 g
'کرونیکی' 'Kroneiki'	مزوکارپ Mesocarp	64	0.41 de	0.0041 g
		90	0.74 de	0.00180 g
		120	2.70 b	0.004 g
		150	3.40 a	0.14 fg
		180	1.54 c	0.0019 g
	دانه Seed	64	0.041 fg	0.090 efg
		90	0.16 fg	0.31 c
		120	0.12 fg	0.12 def
		150	0.09 fg	0.44 b
		180	0.026 g	0.213 cd
'آربکین' 'Arbequina'	مزوکارپ Mesocarp	64	0.76 de	0.007 fg
		90	2.26 b	0.0073 fg
		120	0.32 efg	0.0003 g
		150	0.36 efg	0.00015 g
		180	3.8 a	0.0012 g
	دانه Seed	64	0.25 efg	0.22 cd
		90	0.14 fg	0.18 de
		120	0.010 g	0.0025 g
		150	0.025 g	0.014 fg
		180	0.001 g	0.67 a

* میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه ای می باشند از نظر آماری با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری ندارند.

* Means in each column that share the same letter are not significantly different statistically based on Tukey' test at $p \leq 0.05$.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت مزوکارپ میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD3* در مزوکارپ میوه زیتون طی فصل رشد و با نمو و رسیدگی میوه تفاوت معنی داری را نشان داد و در مراحل مختلف نمونه گیری میزان بیان متفاوتی از این ژن در هر رقم ثبت

گردید (جدول ۲). علاوه بر این، بیان این ژن در ارقام زیتون مورد مطالعه هم تغییرات زیادی را نشان داد (جدول ۳). روند کلی بیان این ژن در اکثر ارقام هم زمان با رسیدن میوه کاهشی بود (شکل ۱c). در مورد سه رقم 'آربکین'، 'ماری' و 'شنکه'، بیشترین بیان این ژن در مرحله اول نمونه برداری (۶۴ روز پس از تمام گل) ثبت شد و پس از

رقم 'کرونیکی' نیز نسبت به بقیه ارقام متفاوت بود و پس از افزایش نسبی در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل، با کاهش در مرحله ۱۲۰ روز پس از تمام‌گل مواجه شد و سپس با افزایش قابل توجه در مرحله بعد منجر به ثبت بیشترین بیان در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل گردید. هرچند بیان این ژن در مرحله رسیدن میوه کاهش قابل توجهی نسبت به مرحله قبل نشان داد، ولی هنوز هم میزان بیان آن افزایش معنی‌داری نسبت به مرحله ۶۴ روز پس از تمام‌گل داشت.

بحث

ترکیب اسید چرب، یک عامل مهم و تعیین‌کننده در کیفیت و ماندگاری روغن زیتون، بسیار وابسته به رقم زیتون بوده و تحت تأثیر مرحله نمو میوه و شرایط تغذیه‌ای و محیطی قرار می‌گیرد (Erfani-Moghadam & Zarei, 2025). برخی از این عوامل با تأثیر بر بیان ژن‌های بیوسنتزی اسیدهای چرب باعث تغییر کیفیت روغن می‌گردند. با وجود تلاش‌های زیادی که در شناسایی سازوکارهای مولکولی فرآیندهای متابولیکی زیتون انجام شده، هنوز ناشناخته‌های زیادی در مسیر بیوسنتزی این ترکیبات وجود دارد (Serrano et al., 2024; Skodra et al., 2021). یکی از مواردی که کمتر به آن پرداخته شده، اهمیت ژن‌های غیر اشباع‌کننده اولئات در کیفیت روغن زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016). به عبارتی، برخی موارد ممکن است که تفاوت کیفی روغن در ارقام مختلف زیتون منحصر به بیوسنتز اسید اولئیک (دارای یک پیوند دوگانه) نباشد و مربوط به تغییرات بعدی در این اسید چرب و تبدیل آن به اسید لینولئیک (دارای دو پیوند دوگانه) و اسید لینولنیک (دارای سه پیوند دوگانه) باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که رونوشت‌های هر دو ژن *OeFAD3* و *OeFAD7* در هر دو بافت مورد بررسی و در همه زمان‌های نمونه‌گیری در هر چهار رقم بررسی‌شده، وجود داشت. این نتایج نشان‌دهنده این است که بیان پایدار، هرچند با سطوح مختلف در این بافت‌ها وجود دارد. این نتایج منطبق با گزارش قبلی از بیان پایدار این ژن‌ها در تمامی مراحل رشد میوه در دیگر ارقام زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016).

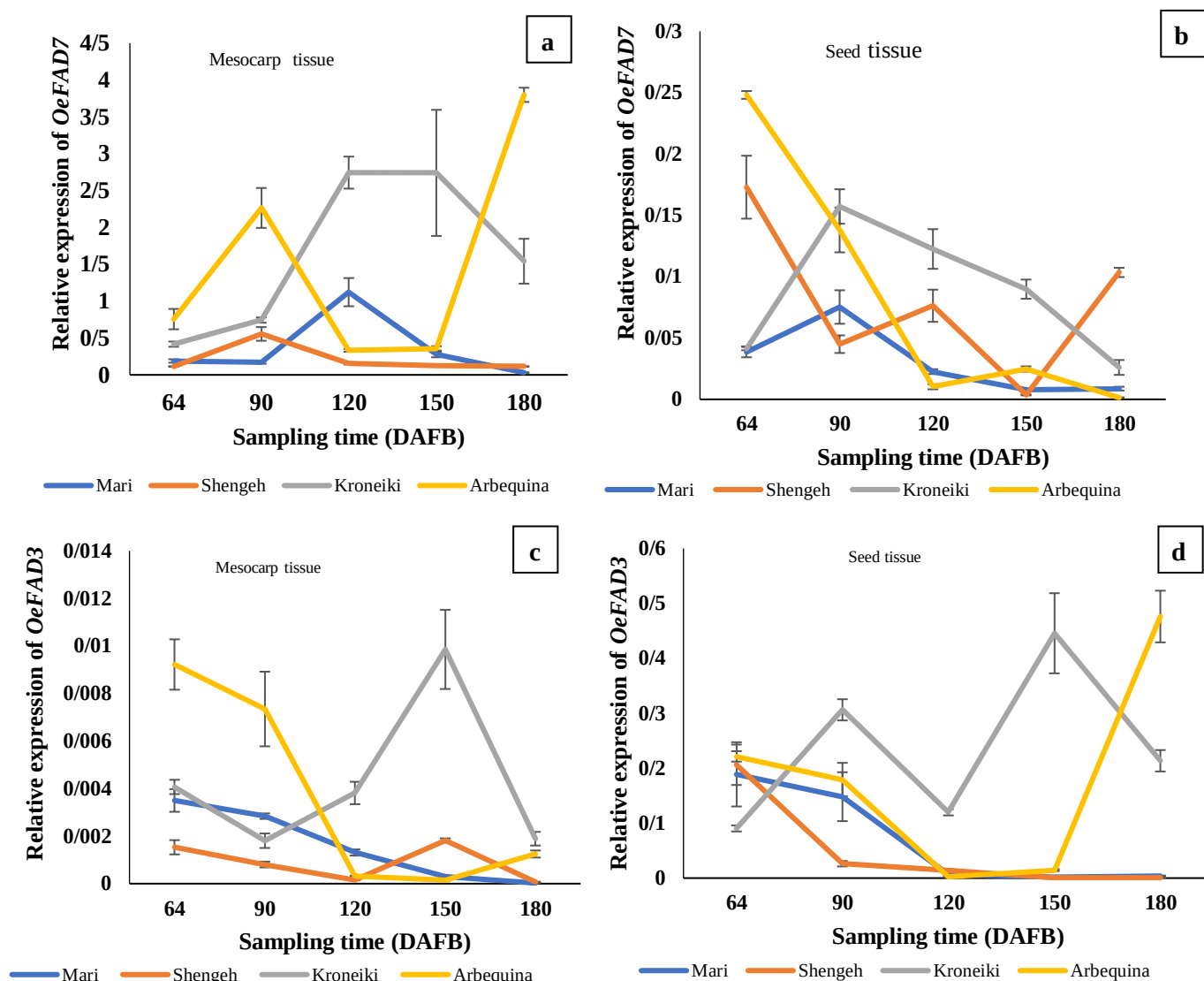
الگوی کلی بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه زیتون بین ارقام مطالعه‌شده بیانگر روند تقریباً یکنواخت با یک پیک افزایشی طی نمو میوه بود. تغییر بیان این ژن منطبق با نتایج گزارش‌های قبلی می‌باشد (Hernández et al., 2016, 2021; Poghosyan et al., 1999).

این مرحله بیان به‌مرور کاهش یافت، به‌طوری که کمترین بیان ژن در دو رقم بومی 'ماری' و 'شنگه' در آخرین مرحله نمونه‌برداری (۱۸۰ روز پس از تمام‌گل) مشاهده گردید. در مورد رقم 'آربکین' در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل نسبت به دو مرحله قبل، بیان این ژن مقداری افزایش یافت (شکل ۱c). بیان ژن *OeFAD3* در رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام تا حدودی متفاوت بود، به‌طوری که پس از کاهش در مرحله ۹۰ روز پس از تمام‌گل، میزان بیان افزایش یافت و به بیشترین میزان خود در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل رسید. به هر حال در این رقم هم کمترین میزان بیان در مرحله رسیدن میوه ثبت گردید. به‌طورکلی، بیان این ژن در اکثر مراحل رشدی در ارقام بین‌المللی مورد مطالعه بیشتر از ارقام بومی ایران بود. همچنین بیشترین و کمترین بیان ژن *OeFAD3* در این پژوهش به‌ترتیب مربوط به رقم 'کرونیکی' در مرحله ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل و رقم 'ماری' در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل مشاهده گردید (شکل ۱c). همچنین بیان ژن *OeFAD3* نسبت به بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه زیتون ارقام مورد مطالعه بسیار پایین‌تر بود و روند نسبتاً متفاوتی را طی مراحل رشد دارا بود.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت دانه میوه زیتون

بیان ژن *OeFAD3* در دانه میوه زیتون، هم تحت تأثیر مرحله رشدی میوه قرار گرفت و هم در بین ارقام مختلف مورد بررسی متفاوت بود (جدول ۲). بیشترین بیان این ژن در رقم 'آربکین' و در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل ثبت گردید، درحالی‌که کمترین بیان در همین مرحله و در رقم 'شنگه' مشاهده شد (جدول ۲). الگوی بیان ژن *OeFAD3* در دانه زیتون تا حدودی شبیه به الگوی بیان این ژن در بافت مزوکارپ میوه بود، ولی در تمام مراحل آزمایش، میزان بیان بسیار بیشتری از این ژن در دانه نسبت به مزوکارپ میوه ثبت گردید. در مورد دو رقم بومی زیتون مورد استفاده، روند کلی بیان ژن *OeFAD3* در طی مراحل نمو میوه بسیار شبیه هم بود، به‌طوری که بیشترین بیان در هر دو رقم مربوط به مرحله اول نمونه‌گیری (۶۴ روز پس از تمام‌گل) بود و به‌مرور بیان این ژن با نمو میوه کاهش یافت و در مرحله رسیدن میوه به کمترین میزان رسید (شکل ۱d).

در رقم 'آربکین' نیز مانند دو رقم ایرانی، میزان بیان ژن *OeFAD3* در دانه طی نمو میوه کاهشی بود، ولی در مرحله ۱۸۰ روز پس از تمام‌گل، بیان این ژن افزایش قابل توجهی از خود نشان داد، به‌طوری که بیشترین میزان بیان در این رقم را ثبت نمود. مشابه با روند مشاهده‌شده در بافت مزوکارپ میوه، بیان ژن *OeFAD3* در دانه



شکل ۱- الگوی بیان ژن‌های *OeFAD7* و *OeFAD3* در دو بافت مزوکارپ و دانه ارقام زیتون وارداتی ('آربکین' و 'کرونیک') و بومی ('ماری' و 'سنگه') در مراحل مختلف نمو و رسیدگی میوه

Figure 1- Expression pattern of *OeFAD7* and *OeFAD3* genes in two tissues, mesocarp and seed, of imported olive cultivars ('Arbequina' and 'Koroneiki') and native cultivars ('Mari' and 'Shengheh') at different stages of fruit development and ripening

DAFB: روزهای پس از باز شدن کامل گل‌ها، میله‌های خطا: نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف از میانگین

DAFB: days after full bloom; Error bars: represent mean $\pm$ SD

A: بیان *OeFAD7* در بافت مزوکارپ؛ b: بیان *OeFAD7* در بافت دانه؛ c: بیان *OeFAD3* در بافت مزوکارپ؛ d: بیان *OeFAD3* در بافت دانه

A: *OeFAD7* expression in mesocarp; b: *OeFAD7* expression in seed; c: *OeFAD3* expression in mesocarp; d: *OeFAD3* expression in seed.

(Hernández et al., 2021). از طرفی، مطالعات نوردن بلات از بیان ژن *OeFAD7* در زیتون نشان داد که بیشترین بیان این ژن در مراحل اولیه نمو میوه و حدود پنج هفته پس از گل‌دهی حاصل شد و میزان رونوشت این ژن در مرحله بزرگ شدن میوه کاهش یافت (Poghosyan et al., 1999). همچنین این محققان بیان نمودند که

بررسی بیان ژن *FAD7-1* در مزوکارپ رقم 'ابوکنانی' بیانگر یک پیک بیان در مرحله تغییر رنگ تا بلوغ میوه بود، درحالی‌که در ژنوتیپ 'کلون-۱۴' تغییرات زیادی در مراحل نمو میوه نشان نداد

1- Abou Kanani
2- Klon-14

رشدی در اکثر ارقام نزولی بود. الگوی بیان *OeFAD3* در این پژوهش منطبق با گزارش‌های قبلی از بیان این ژن در دیگر ارقام زیتون می‌باشد (Hernández et al., 2016). به هر حال در پژوهش حاضر، بیان *OeFAD3* در بافت مزوکارپ رقم 'کرونیکی' نسبت به دیگر ارقام تا حدودی متفاوت بود و یک مرحله افزایش بیان که پیک آن در زمان ۱۵۰ روز پس از تمام‌گل بود را به ثبت رساند. لازم به ذکر است که هرناندز و همکاران (Hernández et al., 2016) گزارش نمودند که بیان *OeFAD3* دو رقم زیتون 'پیکوال' و 'آربکین' طی نمو میوه کاهشی بود، ولی رقم 'پیکوال' در مراحل آخر یک پیک افزایش بیان را در ژن *OeFAD3A* دارا بود. همچنین مشابه با بیان *OeFAD7*، رقم 'کرونیکی' در مراحل میانی رشد میوه نسبت به بقیه ارقام، میزان رونوشت‌های بیشتری از ژن *OeFAD3* را داشت. به‌علاوه، الگوی بیان ژن *OeFAD3* در این پژوهش رابطه معکوسی با محتوای اسید لینولئیک بافت مزوکارپ میوه گزارش شده در مطالعات قبلی از خود نشان داد (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). به عبارتی، رقم 'کرونیکی' که در مراحل میانی این پژوهش بیشترین بیان مربوط به *OeFAD3* را ثبت نمود، دارای کمترین میزان اسید لینولئیک در بین ارقام زیتون مطالعه شده بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). از طرفی، رقم 'شنگه' که در مطالعات گذشته بالاترین میزان لینولئیک را در بین ارقام مورد بررسی به خود اختصاص داده بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022)، کمترین بیان ژن *OeFAD3* را در تمام مراحل نمونه‌گیری دارا بود. به‌علاوه، بیان این ژن در مزوکارپ میوه در تمام مراحل رشدی بررسی شده، در رقم 'ماری' بیشتر از رقم 'شنگه' بود. لازم به ذکر است که گزارش‌ها بیانگر این مطلب است که کیفیت روغن زیتون رقم 'ماری' نسبت به رقم 'شنگه' بسیار بالاتر می‌باشد (Razeghi-Jahromi et al., 2021). بنابراین براساس نتایج این پژوهش، یکی از دلایل این کیفیت برتر را می‌توان به فعالیت بیشتر ژن *OeFAD7* و *OeFAD3* در مزوکارپ 'ماری' نسبت داد. این پیشنهاد می‌تواند به ارقام وارداتی مورد استفاده در این پژوهش هم تعمیم داده شود، به‌طوری که رقم 'کرونیکی' که به‌عنوان یک رقم دارای روغن با کیفیت بالا مطرح می‌باشد (Katsoyannos et al., 2011; Kandyli et al., 2015)، میزان بیان بیشتری از هر دو ژن *OeFAD3* و *OeFAD7* را در بافت مزوکارپ خود نسبت به رقم 'آربکین' داشت. این نتایج بیانگر نقش تأثیرگذار این ژن‌ها در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک می‌باشد که نقش پررنگی در تغییر محتوای اسیدهای چرب در این میوه ایفا می‌کنند. البته باید به این نکته توجه نمود که محتوای اسیدهای چرب از جمله اسید لینولئیک یکی از عوامل کیفی موجود در روغن زیتون می‌باشد و کیفیت کلی

میزان بیان این ژن در جنین و آندوسپرم میوه بسیار کم و با روش نوردن بلات در حد غیر قابل ردیابی بود (Poghosyan et al., 1999). مشابه با نتایج حاصل از این پژوهش، هرناندز و همکاران (Hernández et al., 2016) گزارش کردند که بیان *OeFAD7* در زیتون رقم پیکوال طی مراحل رشدی میوه ابتدا کاهشی بوده و سپس در مرحله ۲۸ هفته پس از گل‌دهی با افزایش شدید به بیشترین میزان خود رسید و بعد از این مرحله دوباره روند کاهشی از خود نشان داد. همچنین این محققان گزارش نمودند که الگوی بیان این ژن در دانه میوه روند یکنواخت‌تری را در مراحل نمو میوه نشان داد و قله افزایشی مشاهده شده در مزوکارپ میوه را دارا نبود.

همچنین مقایسه میزان بیان ژن‌های غیراشباع‌کننده اولئات در این پژوهش، منطبق با نتایج پژوهش قبلی می‌باشد که بیانگر روند افزایشی اسید لینولنیک در بافت مزوکارپ زیتون طی نمو میوه در ارقام مورد بررسی بود (Hernández et al., 2021). به عبارتی، می‌توان تصور نمود که افزایش بیان ژن *OeFAD7* می‌تواند یکی از دلایل افزایش محتوای اسید لینولنیک طی مراحل رسیدن میوه در ارقام مورد بررسی باشد. به‌طور مشابه، مقایسه بیان ژن *OeFAD7* در ارقام مورد مطالعه، با محتوای اسید لینولئیک مزوکارپ این ارقام که در مطالعات قبلی گزارش شده است (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022)، بیانگر رابطه منفی بین این دو شاخصه در بافت مزوکارپ می‌باشد. به عبارتی، رقم 'کرونیکی' که بین ارقام مطالعه شده در این پژوهش بیشترین بیان ژن *OeFAD7* را در اکثر مراحل نمو به خود اختصاص داده بود، میزان اسید لینولئیک کمتری نسبت به بقیه ارقام دارا بود (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). به‌علاوه بیشترین میزان اسید لینولئیک در این رقم در مرحله آخر نمونه‌گیری حاصل شد، مرحله‌ای که در این پژوهش با کاهش شدید بیان ژن *OeFAD7* همراه بود. از طرفی، ارقام 'آربکین' و 'شنگه' که در اکثر مراحل مورد بررسی بیان کمتری از ژن *OeFAD7* دارا بودند، میزان اسید لینولئیک بیشتری در بافت مزوکارپ خود دارا بودند (Razeghi-Jahromi, Zarei et al., 2022). این مشاهدات بیانگر این موضوع است که سطوح بیان ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه همبستگی منفی با میزان اسید لینولئیک بافت مزوکارپ میوه دارد که بیانگر نقش پررنگ این ژن در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک در مزوکارپ میوه زیتون می‌باشد. البته نوسانات بیان ژن در برخی مراحل و ارقام باعث می‌گردد که نتیجه‌گیری قطعی در این خصوص با احتیاط گرفته شود.

بررسی الگوی بیان ژن *OeFAD3* در بافت مزوکارپ بیانگر این موضوع بود که در مورد اکثر ارقام، بیشترین بیان این ژن در مرحله اول نمونه‌گیری وجود داشت و روند کلی بیان این ژن طی مراحل

علاوه بر میزان بالای اسید چرب تک غیر اشباعی اسید اولئیک و درصد مناسب اسید لینولئیک و اسید لینولنیک برآیندی از عوامل مختلف از جمله انواع مولکول‌های کوچک فعال از قبیل فنول‌ها، فیتواسترول‌ها، اسکوالن و توکوفرول که از جنبه تغذیه‌ای مطلوب هستند، می‌باشند (Zhang et al., 2024).

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که بیان ژن *OeFAD3* نسبت به ژن *OeFAD7* در بافت مزوکارپ میوه ارقام زیتون مطالعه شده، بسیار کمتر بود که بیانگر نقش کمتر غیراشباع‌کننده‌های اولئات میکروزمی (شبکه آندوپلاسمی) نسبت به همتای پلاستیدی در فرآیند تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک می‌باشد. این نتایج همسو با گزارش‌های قبلی از بررسی بیان این ژن‌ها در بافت مزوکارپ ارقام 'کرونیکی' (Banilas et al., 2007; Poghosyan et al., 1999)، 'کانینو'، 'فرانتویو' و 'مورایولو' (Matteucci et al., 2011)، 'پیکوال' و 'آربکین' (Hernández et al., 2016) و 'ابوکنانی' و 'کلون-۱۴' (Hernández et al., 2021) می‌باشد. این مطالعات بیان می‌کند که از بین دو ژن *OeFAD7* و *OeFAD3*، ژن *OeFAD7* اهمیت بالاتری در تولید اسید لینولنیک در بافت مزوکارپ میوه زیتون، و کیفیت روغن آن دارا می‌باشد (Hernández et al., 2021). به‌طور اختصاصی‌تر گزارش‌ها بیانگر این است که ژن اولئات دساجوراز پلاستیدی (*OeFAD7*) به‌عنوان ژن اصلی در تبدیل اسید لینولئیک به اسید لینولنیک بافت مزوکارپ زیتون و در نتیجه روغن آن عمل می‌کند، درحالی‌که ژن اولئات دساجوراز میکروزمی (*OeFAD3*) نقش مهم‌تری در تولید اسید لینولنیک در دانه میوه زیتون دارد (Hernández et al., 2016). همچنین پیشنهاد شده که در مزوکارپ میوه زیتون، لینولئیک اسیدی که در شبکه آندوپلاسمی توسط ژن‌های *OeFAD2* سنتز می‌شود، به کلروپلاست منتقل شده و در این اندامک توسط ژن‌های *OeFAD7* فرآیند غیر اشباع‌سازی بیشتر روی آن انجام می‌گردد و تبدیل به اسید لینولنیک می‌شود و سپس دوباره به شبکه آندوپلاسمی منتقل می‌گردد و در ساختار تری آسیل گلیسرول به کار می‌رود (Hernández et al., 2021). نتایج مطالعات قبلی حاکی از این است که mRNA ژن *FAD3* در هر دو بافت برگ و ریشه گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) و تنباکو (*Nicotiana tabacum*) گزارش شده است، درحالی‌که رونوشت‌های *FAD7* فقط در بافت‌های دارای کلروفیل این دو گونه گزارش شده است (Nishiuchi et al., 1999). این محققان گزارش کردند که ژن *FAD7* ترجیحاً در بافت‌های کلروفیلی بیان می‌شود،

ولی زخم زدن گیاه باعث می‌شود که این ژن در بافت‌های غیر کلروفیلی هم بیان شود (Nishiuchi et al., 1999). دلیل این امر نیز وجود نواحی القاء‌شونده در اثر زخم‌زنی در پیش‌بر این ژن می‌باشد که در پاسخ گیاه به تنش از طریق افزایش تولید اسید لینولنیک و در نهایت اسید جاسمونیک دخیل می‌باشد (Nishiuchi et al., 1999). همچنین گزارش شده است که *OeFAD7* در زیتون غیراشباع‌کننده‌ای است که بیشترین بیان را در مراحل اولیه روغن‌زایی^۴ داشته و میزان آن بعد از اعمال سرما، صرف نظر از نوع ژنوتیپ افزایش می‌یابد (Matteucci et al., 2011). بنابراین، به نظر می‌رسد که القای بیان این ژن در پاسخ به تنش‌های مختلف بیانگر نقش مهم این ژن در سنتز اسید لینولنیک، که پیش‌ساز هورمون جاسمونیک است، و در جهت افزایش توان دفاعی گیاه می‌باشد. با توجه به اینکه مزوکارپ میوه زیتون دارای فعالیت فتوسنتزی می‌باشد (Garrido et al., 2023; Hernández et al., 2016)، میزان بالاتر بیان ژن اولئات دساجوراز بافت مزوکارپ نسبت به دانه آن را می‌توان تا حدودی به محتوای بالاتر کلروفیل میوه زیتون نسبت به دانه آن نسبت داد. به عبارتی، می‌توان تصور کرد که کاهش بیان ژن *OeFAD7* که بیشتر در مراحل آخر رسیدن میوه مشاهده گردید، ممکن است در اثر تجزیه کلروفیل و رنگ گرفتن میوه باشد که در مرحله رسیدن میوه اتفاق می‌افتد. در تأیید گزارش ذکرشده، نتایج این پژوهش نشان داد که میزان بیان ژن *OeFAD3* در دانه میوه بسیار بیشتر از مزوکارپ بود و حتی بیان این ژن در دانه در اکثر مراحل نمونه‌گیری بیشتر از بیان ژن *OeFAD7* در دانه بود. مطالعات قبلی بیان این ژن در بافت‌های مختلف زیتون نیز بیانگر این بود که ایزوفر *OeFAD3A* بیشترین بیان را در دانه و برگ‌های جوان زیتون داشت و رونوشت‌های آن در مزوکارپ میوه بسیار کم و تقریباً غیر قابل ردیابی بود (Hernández et al., 2016). همچنین بانیلان و همکاران (Banilas et al., 2007)، نشان دادند که الگوهای بیان *OeFAD3* زیتون در بافت‌های مختلف دانه و مزوکارپ طی نمو میوه نشان از مشارکت حداقلی آن در بیوسنتز و اصلاح روغن زیتون دارد. بااین‌حال، مطالعات نشان داده است که بیان *FAD3* پیچیده بوده و به مرحله نمو گیاه وابسته است و از هورمون‌های گیاهی تأثیر می‌پذیرد (Banilas et al., 2007).

نتیجه‌گیری

تغییرات بیان لینولئات دساجورازهای *OeFAD7* و *OeFAD3* در مراحل نمو ارقام مختلف زیتون ایرانی و وارداتی در هر یک از بافت‌های دانه و مزوکارپ میوه، طی فرآیند نمو و رسیدگی میوه مورد

- 1- Canino
- 2- Frantoio
- 3- Moraiolo

4- Oleogenic

اهمیت بیشتری در این فرآیند در دانه میوه ایفا می‌کند. به‌طور کلی، داده‌های این پژوهش بیانگر تأثیر بالای این ژن‌ها در تجزیه لینولئیک روغن زیتون، و در نتیجه افزایش شاخص کیفی آن از نظر نسبت اسید اولئیک به اسید لینولئیک و اسید لینولنیک می‌باشد.

بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تفاوت‌های معنی‌دار در بیان این ژن‌ها در مراحل مختلف رشدی، بافت‌های متفاوت و ارقام مختلف می‌باشد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود که ژن *OeFAD7* نقش مهمی در فرآیند غیر اشباع‌سازی اسیدهای چرب در بافت مزوکارپ میوه زیتون ایفا می‌کند، درحالی‌که ژن *OeFAD3*

References

1. Azimi, M., Arji, A., Zeinanlo, A. A., Taslimpour, M. R., & Ramazani-Malekroodi, M. (2016). Evaluation of adaptability of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars in different climates of Iran. *Seed and Plant Journal*, 1(32), 275-292. (In Persian). <https://doi.org/10.22092/spij.2016.112605>
2. Banilas, G., Nikiforiadis, A., Makariti, I., Moressis, A., & Hatzopoulos, P. (2007). Discrete roles of a microsomal linoleate desaturase gene in olive identified by spatiotemporal transcriptional analysis. *Tree Physiology*, 27(4), 481-90. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.481>
3. Chen, G., Xing, Z. K., Pan, W. L., Bai, L. P., Ye, J. F., Ma, D. J., Wei, Z. P., Fan, J. G., & Guo, Z. F. (2011). Cloning of a novel stearoyl-acyl desaturase gene from white ash (*Fraxinus americana*) and evolution analysis with those from other plants. *African Journal of Biotechnology*, 10, 18185-18193.
4. El Faqer, A., Rabeh, K., Alami, M., Filali-Maltouf, A., & Belkadi, B. (2024). *In silico* identification and characterization of fatty acid desaturase (FAD) Genes in *Argania spinosa* L. Skeels: Implications for oil quality and abiotic stress. *Bioinformatics and Biology Insights*, 5(18), 11779322241248908. <https://doi.org/10.1177/11779322241248908>
5. Erfani-Moghadam, J., & Zarei, A. (2025) Calcium and silicon nanofertilizers improved morphological attributes and fatty acid composition in olive; an insight to synergistic interaction between these elements. *BMC Plant Biology*, 25, 997. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-07027-2>
6. Garrido, A., Conde, A., Serôdio, J., De Vos, R. C. H., & Cunha, A. (2023). Fruit photosynthesis: More to know about where, how and why. *Plants*, 12(13), 2393. <https://doi.org/10.3390/plants12132393>
7. Gómez-González, S., Ruiz-Jiménez, J., & De Castro, M. D. L. (2011). Oil content and fatty acid profile of Spanish cultivars during olive fruit ripening. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 1737-1745. <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1840-x>
8. Hernández, M. L., Guschina, I. A., Martí nez-Rivas, J. M., Mancha, M., & Harwood, J. L. (2008). The utilization and desaturation of oleate and linoleate during glycerolipid biosynthesis in olive (*Olea europaea* L.) callus cultures. *Journal of Experimental Botany*, 59, 2425-2435. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern121>
9. Hernández, M. L., Sicardo, M. D., & Martínez-Rivas, J. M. (2016). Differential contribution of endoplasmic reticulum and chloroplast ω-3 fatty acid desaturase genes to the linolenic acid content of olive (*Olea europaea*) fruit. *Plant Cell Physiology*, 57, 138-151. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcv159>
10. Hernández, M. L., Sicardo, M. D., Belaj, A., & Martínez-Rivas, J. M. (2021). The oleic/linoleic acid ratio in olive (*Olea europaea* L.) fruit mesocarp is mainly controlled by *OeFAD2-2* and *OeFAD2-5* genes together with the different specificity of extraplastidial acyltransferase enzymes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 653997. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.653997>
11. International Olive Council (IOC). (2019). International trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils. Available online at: <https://www.internationaloliveoil.org/what-we-do/chemistry-standardisation-unit/standards-and-methods>. June 27, 2020.
12. Kandyli, P., Vekari, A. S., Kanellaki, M., Grati Kamoun, N., Msallem, M., & Kourkoutas, Y. (2011). Comparative study of extra virgin olive oil flavor profile of Koroneiki variety (*Olea europaea* var. Microcarpa alba) cultivated in Greece and Tunisia during one period of harvesting. *LWT - Food Science and Technology*, 44(5), 1333-1341. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.021>
13. Katsoyannos, E., Batrinou, A., Chatzilazarou, A., Bratakos, S. M., Stamatopoulos, K., & Sinanoglou, V. J. (2015). Quality parameters of olive oil from stoned and nonstoned Koroneiki and Megaritiki Greek olive varieties at different maturity levels. *Grasas Y Aceites*, 66(1), e067. <http://dx.doi.org/10.3989/gya.0711142>
14. Leon, L., De La Rosa, R., Gracia, A., Barranco, D., & Rallo, L. (2008). Fatty acid composition of advanced olive selections obtained by cross breeding. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 1921-1926. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3296>
15. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2 CT method. *Methods*, 25, 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

16. Matteucci, M., D'Angeli, S., Errico, S., Lamanna, R., Perrotta, G., & Altamura, M. M. (2011). Cold affects the transcription of fatty acid desaturases and oil quality in the fruit of *Olea europaea* L. genotypes with different cold hardiness. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3403–3420. <https://doi.org/10.1093/jxb/err013>
17. Nishiuchi, T., Kodama, H., Yanagisawa, S., & Iba, K., (1999). Wound-induced expression of the FAD7 gene is mediated by different regulatory domains of its promoter in leaves/stems and roots. *Plant Physiology*, 21, 1239–1246. <https://doi.org/10.1104/pp.121.4.1239>
18. Niu, E., Gao, S., Hu, W., Zhang, C., Liu, D., Shen, G., & Zhu, S. (2022). Genome-wide identification and functional differentiation of fatty acid desaturase genes in *Olea europaea* L. *Plants*, 11, 1415. <https://doi.org/10.3390/plants11111415>
19. Parvini, F., Zeinanloo, A. A., Ebrahimie, E., Tahmasebi-Enferadi, S., & Hosseini-Mazinani, M. (2014) Differential expression of fatty acid desaturases in Mari and Shengeh olive cultivars during fruit development and ripening. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(4), 523-531. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400327>
20. Poghosyan, Z. P., Haralampidis, K., Martsinkovskaya, A. I., Murphy, D. J., & Hatzopoulos, P. (1999). Developmental regulation and spatial expression of a plastidial fatty acid desaturase from *Olea europaea*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 37(2), 109-119. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(99\)80072-2](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(99)80072-2)
21. Razeghi-Jahromi, F., Hosseini-Mazinani, M., Razavi, K., & Zarei, A. (2021). Analysis of fatty acid compositions and differential gene expression in two Iranian olive cultivars during fruit ripening. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(3), 1-43. <https://doi.org/10.1007/s11738-021-03218-0>
22. Razeghi-Jahromi, F., Parvini, F., Zarei, A., & Hosseini-Mazinani, M. (2022). Sequence characterization and temporal expression analysis of different SADs and FAD2-2 genes in two Iranian olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, 305, 111415. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111415>
23. Razeghi-Jahromi, F., Zarei, A., Parvini, F., & Hosseini-Mazinani, M. (2022). Change in oil composition and the major fatty acids and triacylglycerol biosynthesis genes in drupe of selected olive cultivars during growing season; a two years study. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124(12), 2200079. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202200079>
24. Sabetta, W., Blanco, A., Zelasco, S., Lombardo, L., Perri, E., Mangini, G., & Montemurro, C. (2013). Fad7 gene identification and fatty acids phenotypic variation in an olive collection by EcoTILLING and sequencing approaches. *Plant Physiology and Biochemistry*, 69, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.04.007>
25. Serrano, A., García-Martín, J., Moret, M., Martínez-Rivas, J. M., & Luque, F. (2024). Transcriptomic analysis during olive fruit development and expression profiling of fatty acid desaturase genes. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(20), 11150. <https://doi.org/10.3390/ijms252011150>
26. Sharma, A., & Chauhan, R. S. (2012). *In silico* identification and comparative genomics of candidate genes involved in biosynthesis and accumulation of seed oil in plants. *Comparative and Functional Genomics*, 2012, 914843. <https://doi.org/10.1155/2012/914843>
27. Skodra, C., Titeli, V. S., Michailidis, M., Bazakos, C., Ganopoulos, I., Molassiotis, A., & Tanou, G. (2021). Olive fruit development and ripening: Break on through to the “-Omics” side. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5806. <https://doi.org/10.3390/ijms22115806>
28. Tous, J., & Vega, V. (2022). Chemical characterization of ‘Arbequina’ extra-virgin olive oils produced in different growing areas of Spain. *International Journal of Food Science and Agriculture*, 6(3), 253-259. <https://doi.org/10.26855/ijfsa.2022.09.003>
29. Wallis, J. G., & Browse, J. (2002). Mutants of *Arabidopsis* reveal many roles for membrane lipids. *Progress in Lipid Research*, 41, 254-278. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(01\)00027-3](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(01)00027-3)
30. Zarei, A., Erfani-Moghadam, J., Hashemi, S., & Shirmardi, A. (2023). Effect of foliar application of silicon and potassium nanoparticles on the fatty acid composition of olive oil cv. Zard. *Seed and Plant*, 39, 597-619. (In Persian), <https://doi.org/10.22092/spj.2024.366669.1375>
31. Zhang, Z., Tong, Z., Shao, Y., Su, G., Li, K., & Li, C. (2024). Comparing and evaluating the oil composition of olive oil of 85 olive varieties in the Liangshan region, China. *Agronomy*, 14(2), 304. <https://doi.org/10.3390/agronomy14020304>