ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱
صفحه۴۳۵-۴۲۳

بررسی الگوی بیان نسبی ژن‌های کلیدی در مسیر بیوسنتزی اسیدآمینه سیترولین دربافت‌های مختلف گیاه دارویی هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis* L.)

Study of relative of expression pattern of key genes in the biosynthetic pathway of amino acid of citrulline in various tissues of medicinal plant of *Citrullus colocynthis*

ندا سواری چبیدی [۱]، مریم ذوالفقاری [۲*] و کریم سرخه [۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه شهید چمران اهواز،اهواز، ایران.
۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
۳- استادیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

Neda Savari[1], Maryam zolfaghari [2*] and Karim Sorkheh [3]

1-Msc student of Medicinal plants, Horticulture Department, Faculty of Agriculture , Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2 - Assistant professor of Horticulture Department, Faculty of Agriculture. Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- Assistant professor of plant production and genetics Department, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:m.zolfaghari@scu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۸ - تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۶/۲۰)

چکیده

هندوانه ابوجهل یکی از با ارزش‌ترین گیاهان دارویی متعلق به خانواده کدوییان است و منبع عالی از ترکیبات شیمیایی نظیر گلوکوزیدها، رزین، املاح واسیدآمینه‌های مختلف از جمله سیترولین است. سیترولین یک- آلفا آمینو اسید غیرضروری بوده که ارتباط زیادی با اسید آمینه آرژنین و اورنتین دارد. این اسید آمینه در چرخه اوره، از اورنیتین و کرباموییل فسفات در یکی از واکنش‌های این چرخه تولید می‌گردد. از جمله ژن‌های درگیر در سنتز اسیدآمینه سیترولین، آرژیناز، آرژینوسوکسینات لیاز و نیتریک اکسیدسنتاز(NOS) می‌باشند. هدف از این مطالعه، بررسی الگوی بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی اسیدآمینه سیترولین در بافت‌های مختلف هندوانه ابوجهل به روشqRT-PCR است، به منظور درک بهتر تنظیم و تجمع سیترولین، بیان ژن‌های مرتبط با بیوسنتز و کاتابولیسم آن در بافت‌های ریشه، ساقه، برگ، پوست و گوشت میوه، بذر نارس و بذر رسیده مورد بررسی قرار گرفت. بررسی آماری میزان بیان ژن‌های دخیل در سنتز سیترولین در گیاه هندوانه ابوجهل بیانگر بیان متفاوت با اختلاف معنی‌دار دربافت‌های مختلف بود، به طوری که در بافت‌های گوشت و پوست میوه هندوانه ابوجهل به طور معنی داری($p< 0.01$) بیشتر از بافت‌های ریشه، ساقه، برگ، بذر نارس و بذر رسیده بوده است. به دلیل نقش حائز اهمیت سیترولین و نیز تجمع قابل توجه این اسید آمینه در پوست نسبت به سایر بافت‌های هندوانه ابوجهل، آنالیز بیان نسبی ژن‌های کلیدی در مسیر بیوسنتز سیترولین، درمقایسه با بافت پوست صورت گرفت که نشان داد ژن‌های ASS،ASL وOTC بیشترین میزان بیان داشته و کمترین بیان مربوط به ژن NOS بود. این مطالعه بر درک تجزیه و تحلیل بیان ژن های تنظیم کننده تجزیه کننده سیترولین متمرکز شده است.

واژه‌های کلیدی

هندوانه ابوجهل
سیترولین
qRT-PCR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

هندوانه ابوجهل با نام علمی *Citrullus colocynthis* از خانواده Cucurbitaceae است. منشأ این گیاه مناطق گرمسیری بوده و به صورت وحشی در مناطق گرم و خشک ایران و جهان رشد می‌کند(Grin et al. 2010; Safavi 2011). میوه آن دارای خواص ضد میکروبی و دارای گلیکوزیدهای تلخ ، مواد رزینی، پکتین، صمغ، آلفا الاترین_ساپونین، آلکالوئید، و تانن بوده و دانه‌های آن نیز دارای ۵۳ درصد روغن و ۲۳ درصد پروتئین می‌باشند. ترکیبات شیمیایی میوه هندوانه ابوجهل شامل دو نوع گلوکوزید به نام کلوسینتین (Colocinthine) و کوکوربیتاسین (Cucurbitacin) می‌باشد. کلوسینتین یک ترکیب بیوشیمیایی است که عمدتاً در تمام قسمت‌های گیاه هندوانه ابوجهل وجود دارد، کوکوربیتاسین نیز، یک ماده بیوشیمیایی تلخ بوده که در میوه و ریشه برخی از گیاهان خانواده کدوییان وجود دارد که برای حفاظت گیاه در برابرگیاهخواران تولید می‌شود و جنبه دفاعی برای گیاه دارد. این دو ترکیب قسمت عمده مواد مؤثره گیاه را تشکیل می‌دهند (Adam et al. 2001). ریشه این گیاه حاوی آلفاآلاترین، هنتریاکونتان و ساپونین است(Bankole et al. 2005). گیاه دارویی هندوانه ابوجهل حاوی چندین اسید آمینه از جمله اسیدآمینه‌های غیرپروتئینی (NPAAs) که اغلب به عنوان ترکیبات ثانویه در نظر گرفته می‌شوند. اسیدآمینه‌های غیر پروتئینی NPAAs به علت اثرهای آللوپاتیک خود نقش‌های مهمی در گیاهان بازی می‌کنند، از این وظایف می توان به دخالت در دریافت، جذب و انتقال مواد مغذی، همچنین به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان در طول تماس با عوامل پاتوژن یا بیماری زا، گیاه‌خواران و تنش محیطی اشاره کرد (Bell 2003; Huang et al. 2009; Vranova et al. 2011). از دهه‌های گذشته اسیدآمینه‌های غیر پروتئینی (NPAAs) درگیاهان به دلیل حضور در پپتیدها و استفاده در ساختار داروها با فعالیت بیولوژیکی و شرکت در لیگاندهای پپتیدومیمتیک برای افزایش فعالیت دارویی، اهمیت بیشتری یافته‌اند.

سیترولین (Citrulline)یک اسیدآمینه غیر پروتئینی NPAA است که پیش‌ساز اسید آمینه آرژنین (ARG) می‌باشد و نقش مهمی در سنتز نیتریک اکساید، پلی‌آمین‌ها و آلکالوئیدها دارد(Winter et al. 2015). اسیدآمینه سیترولین ($C_6H_{13}N_3O_3$) به عنوان یک واسطه سوخت و ساز در چرخه اوره و تشکیل اکسید نیتریک NO نقش دارد و یک رادیکال هیدروکسیل کارآمد است که به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی نیزگزارش شده است(Rimando and Perkins-Veazie 2005; Davis et al. 2010). بیشتر اعضای خانواده Cucurbitaceae دارای میزان بالایی ازسیترولین هستند اما میوه‌های هندوانه *Citrullus lanatus* بالاترین تجمع سیترولین آزاد را دارا هستند(Rimando and Perkins-Veazie 2005; Davis et al. 2010, 2011; Fish 2014; Jayaprakasha and Patil 2016; Akashi et al. 2017). اسید آمینه سیترولین طی شرایط تنش غیرزیستی در گیاهانی مانند هندوانه و هندوانه ابوجهل(Kawasaki et al. 2000; Akashi et al. 2017)، خربزه (Kusvuran et al. (2013) ، گوجه فرنگی Gong et al. (2010)، برنج(Shaik and Ramakrishna (2012); Borah et al. 2017) و نخود(Garg et al. (2016 تجمع پیدا می‌کند. در تحقیق دیگری گزارش شد که سیترولین به آنالوگ ساختاری خود آرژنین تبدیل می‌شود, آرژنین یک اسیدآمینه پروتئینوژنیک غنی از نیتروژن بوده و انتظار می‌رود نقش مهمی در متابولیسم نیتروژن داشته باشد (Akashi et al. 2017). همچنین گزارش شده است که سیترولین به طور مؤثر، DNA وآنزیم‌های متابولیکی را از آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند و این افزایش سطح سیترولین در پاسخ به تنش خشکی در هندوانه وحشی یک پدیده منحصر به فرد در گیاهان C3 است. Kawasaki et al (2000) گزارش دادند که در شرایط کم آبی و آفتاب شدید کویر، پس از پژمرده شدن گیاهانC4، هندوانه ابوجهل که یک گیاه C3 است، به دلیل تجمع سیترولین سبز باقی می‌ماند (Akashi et al. 2001; Yokota et al. 2002). در مطالعه دیگری الگوی تجمع سیترولین در میوه‌های هندوانه نابالغ و بالغ مورد بررسی قرار گرفت که در میوه‌های بالغ، بالاترین غلظت سیترولین در پوست میوه مشاهده شد (Rimando and Perkins-Veazie 2005). اهمیت عملکردی سیترولین در گیاهان به خوبی مشخص نیست، با این وجود پیشنهاد شده است که سیترولین ممکن است تاثیر عمده‌ای بر روندهای فیزیولوژیک مانند انتقال نیتروژن و حفظ اسمولاریته در طول تنش‌های غیرزیستی داشته باشد(Joshi and Fernie 2017).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مراحل سنتز سیترولین در هندوانه ابوجهل در شکل ۱ نشان داده شده است.

در ماتریکس میتوکندری کربامیل فسفات سنتتاز (CPS1) یک یون آمونیوم و یک یون بی‌کربنات را با صرف دو مولکول ATP ترکیب کرده و کربامیل فسفات را تولید می‌نماید. در این واکنش یک ATP بیکربنات را فعال کرده و دیگری، کربامیل فسفات را تامین می‌کند. در نهایت دو مولکولADP و یک Pi آزاد می‌شود. سپس سیترولین از میتوکندری وارد سیتوزول شده و بقیه واکنش‌های چرخه در سیتوزول انجام می‌شوند. در مرحله بعد سیترولین وآسپارات با آنزیم آرژینوسوکسینات سنتتاز کاتالیز وآرژینوسوکسینات تولید می‌گردد. این واکنش نیازمند هیدرولیز یک مولکول ATP به AMP و PPi می‌باشد که معادل هیدرولیز ۲ مولکول ATP است. آرژینوسوکسینات توسط آرژینوسوکسیناز(آرژینوسوکسینات لیاز) به فومارات و آرژنین تبدیل می‌شود. در این واکنش، کربن‌های آسپارتات در قالب فومارات آزاد می‌شود. فومارات ممکن است وارد میتوکندری شده و در چرخه کربس به اگزالواستات متابولیزه شود (Fereshtian et al. 2017). در ادامه آرژینین به وسیله آرژیناز به اورنیتین و اوره تبدیل می‌گردد. نهایتاً اورنیتین برای شروع مجدد چرخه، وارد ماتریکس میتوکندری می‌شود(Kusvuran et al. 2013).

گونه‌های جنس توس (*Betula*)، ممرز(*Carpinus*)، توسکا (*Alnus*)، گردو (*Juglans*)، کدو (*Cucurbita*) و جلبک قهوه‌ای(brown algae) دارای مقدار قابل توجهی سیترولین درعصاره بافت آوندی خود می‌باشند(Joshi and Fernie. 2017). سیترولین پیش‌ساز آرژنین (ARG) است و به علت این‌که دارای نقش مهمی در سنتز نیتریک اکساید، پلی آمین‌ها و آلکالوئیدها دارد، به صورت گسترده در گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین این اسید آمینه درگونه‌های Cucurbitaceous، به عنوان حامل اولیه نیتروژن آلی عمل می‌کند(Johnson et al. 2022). پروفایل متابولیک مقایسه‌ای به همراه آنالیز ترانسکریپتومی بافت‌های رویشی تحت شرایط نرمال می‌تواند اطلاعاتی جدید را در ارتباط با عملکرد بیولوژیک و تنظیم سیترولین فراهم کند. بنابراین با توجه به اهمیت این گیاه دارویی، بررسی بیان ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی اسیدآمینه سیترولین دربافت‌های مختلف گیاهی هندوانه ابوجهل مهم به نظر می‌رسد. این مطالعه بر درک تجمع سیترولین و بخش بندی آن در بافت‌های هندوانه ابوجهل، تجزیه و تحلیل بیان ژن های تنظیم کننده وتجزیه کننده سیترولین متمرکز شده است.

مواد و روش‌ها

در راستای بررسی نمونه بافت‌های هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) از شهرستان اهواز در استان خوزستان(عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۱۹ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۴۰ دقیقه شرقی)، در۲ تکرار طی فصل تابستان ۱۳۹۶ جمع آوری گردید و تا زمان استخراج RNA در یخچال ºC ۸۰- نگه‌داری شدند.

۵۰-۲۵ میلی‌گرم از نمونه بافت‌های برگ، ریشه، ساقه، پوست میوه، گوشت میوه، بذر نارس و بذر رسیده گیاه هندوانه ابوجهل برای استخراج RNA توسط ازت مایع پودر گردیدند استخراج RNA کل بافت‌ها با استفاده از کیت Bio basic BS82314 کانادا (www.biobasic.com) و مطابق دستورالعمل شرکت انجام شد. کمیت و کیفیت نمونه‌های RNA از روش‌های اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه فتومتر مدل ۶۱۳۱ (Eppendorf AG Biophotometer, Germany) بررسی شدند. نمونه‌های RNA جهت حذف DNA ژنومی باقی‌مانده با آنزیم DNase I (Takara, Ltd., Japan) تیمار گردیدند. در مرحله بعد عمل سنتز cDNA طبق دستورالعمل کیت prime script RT reagent (تاکارا، ژاپن) و با استفاده از پرایمرهای Oligo dt و Random انجام شد. با استفاده از نرم افزار آنلاین Primer (http://primer3.ut.ee) آغازگرهای مرتبط با هریک از ژن‌های آرژیناز، آرژینوسوکسینات، آرژینوسوکسینات لیاز، نیتریک اکسید سنتتاز، اورنتین کربومیل ترنسفراز در بافت‌های پوست، گوشت میوه، ریشه، ساقه، برگ، بذر نارس و بذر رسیده طراحی شدند و به کمک Primer Blast پایگاه NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) و Baecon designer (http://www.premierbiosoft.com) کیفیت سنجی آغازگرها بررسی گردید. ژن *Actin* اختصاصی هندوانه ابوجهل (GH626171) به عنوان ژن مرجع طراحی شد. لیست آغازگرها در جدول ۱ ارائه شده است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول۱- آغازگرهای رفت و برگشتی طراحی شده مربوط به ژن‌های مورد مطالعه و ژن اکتین

نام ژن	نام آغازگر	توالی‌های نوکلئوتیدی (5' → 3')	دمای‌اتصال	اندازه محصول (bp)
ARG	CC_006970-F	ATTTGCACCTCCTCGGATCA	58.4	۱۸۹
	CC_006970-R	ACCAGCTTTACAGACTCGCT	58.4	
ASL	CC_022154-F	GACTGCCGAGCTAGACTGAA	60.5	۲۲۱
	CC_022154-R	ACCCATTCTTCTCCCAGACG	60.5	
OTC	CC_020781-F	TCGGCGTCAAGTGTTTCAAG	58.4	۲۳۵
	CC_020781-R	TTCTGTGCGTGCATTCGATT	56.4	
ASS	CC_002609-F	TATCCGTCAATGCCCAGGTT	58.4	۱۶۰
	CC_002609-R	GGCTGCGAAAAGGATGGTTC	60.5	
NOS	CC_003592-F	TCTCACTCGAAACCTCCCAC	60.5	۲۳۴
	CC_003592-R	AAACCTTCAACGCCTTGTCC	58.4	
ACTIN	ACTIN-F	CAACATACATAGCAGGCACA	56.4	۲۱۹
	ACTIN-R	TGACTGAGGCTCCACTCAAC	60.5	

جهت بررسی میزان بیان ژن‌های مورد نظر و مقایسه آن‌ها، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی استفاده شد. واکنش PCR با استفاده از مخلوط واکنش تاکارا حاوی SYBR-Green و آغازگرهای اختصاصی مرتبط با ژن‌ها انجام گردید. برای بررسی اختصاصی بودن پرایمرهای مورد استفاده از نمودار نقطه ذوب در طیف دمای ۹۵ درجه از هم باز شده و به ازای هر سیکل ۰/۳ درجه کم تا به دمای ۶۰ درجه (دمای اتصال پرایمرها) برسد. برای تجزیه و تحلیل نتایج از ژن اکتین به عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. نتایج حاصل از qRT-PCR با استفاده از روش $2^{-\Delta C_T}$ آنالیز شدند.

$$2^{-\Delta C_T} = [2^{-(C_T \text{ Gene studied} - C_T \text{ Internal control gene})}$$

معادله $2^{-\Delta C_T}$ زمانی استفاده می‌شود که تنها هدف تشخیص بیان نسبی هر یک از ژن‌ها و نسبت به ژن کنترل داخلی می‌باشد و نیز آزمایش بدون شاهد انجام شود(Schmittgen and Livak 2008). آزمون t-test بر روی داده‌ها برای تشخیص تفاوت‌ها و معنی‌دار بودن یا نبودن از نظر آماری استفاده شد. در نهایت پردازش داده‌ها و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

الگوی بیان ژن آرژیناز

نتایج آنالیز بیان نسبی ژن آرژیناز مورد مطالعه در بافت‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل با استفاده از qRT-PCR نشان داد که به ترتیب در بافت گوشت و بذر نارس بیشترین وکمترین میزان بیان درمقایسه با بافت پوست هندوانه ابوجهل دارند و بیان به صورت تنظیم مثبت می‌باشد (شکل۲). با توجه به آزمون آماری t-test، میانگین بیان نسبی ژن آرژیناز در بافت‌های گیاه هندوانه ابوجهل نسبت به پوست میوه این گیاه در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد اما در بافت گوشت اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در مطالعات انجام شده، مشخص گردید که میوه‌های بالغ هندوانه، بالاترین غلظت سیترولین در پوست را داشته‌اند درحالی که محتوای سیترولین درمیوه نارس ناچیز

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

گزارش شده بود (Akashi et al.2001; Yokota et al. (2002. بیان ژن آرژیناز در گیاهان تیمار شده با آرژینین توسط Mirzaie et al.(2014) بررسی و مشاهده کردند که بیان ژن در گیاهان تحت تنش بیشتر از گیاهان شاهد بوده است. این امر نشان دهنده نقش این ژن در بیوسنتز پلی‌آمین و یا پرولین و سیترولین در شرایط تنش خشکی می‌باشد. در پژوهشی دیگر با هدف بررسی نقش آرژیناز در حفاظت از گیاه در برابر نماتد در گیاه *Arabidopsis* نشان داده شد که در گیاهان آلوده به نماتد، ژن آرژیناز تنها در ریشه بیان شده و در شاخه‌ها مهار شده بود،۱۵ روز پس از آلودگی با نماتد، میزان بیان آرژیناز افزایش معنی‌داری داشته است، لیکن به دلیل آسیب دیواره سلولی و یا تغییرات متابولیسم ناشی از حمله نماتد، الگوی بیان ژن آرژیناز را تحت تاثیر قرارداده بود (Rozanska et al. 2013). با تجزیه و تحلیل مولکولی گسترده از ژن‌های کدکننده آرژیناز درگندم نان وسایر گونه‌های آن، سه ژن آرژیناز در گندم نان از قبیل TaARG-TaARG-2BS،2AS و TaARG-2D گزارش شد که میزان TaARG-2BS در بافت ساقه و غلاف وTaARG- 2DS در برگ بیان بالایی را نشان داد همچنین برای هر دو ژن TaARG- 2AS و TaARG-2DS روند مشابهی در مراحل مختلف نمو و پر شدن دانه مشاهده گردید(Maoyun et al. 2017). آرژیناز یکی از ژن‌های کلیدی دخیل در سنتز سیترولین می‌باشد که ابتدا آرژینین تحت اثر آنزیم آرژیناز به اسید آمینه اورنیتین تبدیل می‌گردد، سپس اورنیتین برای شروع مجدد چرخه وارد ماتریکس میتوکندری می‌شود. آنزیم‌های نیتریک اکسید سنتاز، آرژیناز و آرژینین دکربوکسیلاز سه مسیر اصلی متابولیسم آرژینین را کاتالیز می‌کنند. آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) آرژینین را به نیتریک اکسید و سیترولین هیدرولیز می‌کند در حالی که محصولات اصلی مسیرهای وابسته به آرژیناز و آرژینین دکربوکسیلاز ترکیبات پلی‌آمین و پرولین و سیترولین است(Neill et al. 2003).

الگوی بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز(NOS)

در بررسی بیان ژن نیتریک اکسید سنتاز در این مطالعه در بذر نارس و رسیده میوه هندوانه ابوجهل بیان بیشتری نسبت به بافت پوست داشته و به صورت تنظیم مثبت می‌باشند (شکل۳). براساس نتایج آزمون تی تست میانگین بیان نسبی این ژن در بافت‌های گیاه هندوانه ابوجهل به جز بافت ریشه نسبت به پوست میوه این گیاه در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری نشان داد اما بافت ریشه در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید. در مسیر متابولیسم سیترولین وآرژنین, آنزیم نیتریک اکسیدسنتاز(NOS) تولید NO وآنزیم آرژینین دکربوکسیلاز تولید پلی‌آمین را ازآرژینین کاتالیز می‌کند. درگیاهان، اکسید نیتریک در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیولوژیکی متعدد در طول نمو گیاه و پاسخ به تنش نقش دارد. اثرات NO بر تاخیر پیری و افزایش طول عمر برخی از گل‌ها یا میوه‌ها توسط Kumar et al (2012) و نیز Nasibi et al (2010) مورد مطالعه قرار گرفت. در برخی مطالعات دیگر گزارش شده است که نیتریک اکسید موجب کاهش مقدار اتیلن می‌شود و از این طریق عمر مفید برخی از سبزیجات، گل‌ها و میوه‌ها را طولانی‌تر می‌کند(Parra-Lobato and Gomez-Jimenez 2011). کاتابولیسم آرژینین می‌تواند به بازگردش سیترولین از طریق نیتریک اکسید سنتاز (NOS)، که به طور ناقص در گیاهان وجود دارد، منجر شود(Mur et al. 2013). با وجود شناسایی مسیرهای وابسته به NOS، آرژینین و سیترولین در گیاهان به ویژه در تنش‌های زیستی و غیرزیستی شواهد تجربی کمی در این زمینه وجود دارد. به خاطر تجمع بالای سیترولین در گیاهان نظیر هندوانه، به نظر می‌رسد که آنزیم‌های شبه NOS ممکن است به محتوای سیترولین در شرایط ویژه کمک کنند (Corpas et al. 2006 ; she et al. 2010).

الگوی بیان ژن آرژینو سوکسینات لیاز(ASL)

بیان نسبی ژن آرژینو سوکسینات لیاز در مطالعه حاضر در گوشت میوه بیشترین و در بذر نارس کمتر از بقیه بافت‌ها بوده و به صورت تنظیم مثبت می‌باشند (شکل۴). نتایج آزمون t-test نشان داد میانگین بیان نسبی این ژن در بافت‌های گیاه هندوانه ابوجهل به جز بافت گوشت میوه در سطح ۵ و۱ درصد معنی‌دار شدند. آرژینوسوکسینات سنتاز(ASS) وآرژینوسوکسیناز یا آرژینوسوکسینات لیاز (ASL) مسیر بیوسنتیک آرژینین و پلی‌آمین‌ها را تنظیم می‌کنند. آرژینو سوکسینات لیاز ASL که با نام آرژینو سوکسیناز (CC_023055) نیز شناخته می‌شود، نوعی آنزیم است که تجزیه برگشت‌پذیر آرژینو سوکسینات را که به تولید بیوسنتز آرژینین در تمام موجودات و نیز تولید اوره در موجودات

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

اورئوتلیک نقش دارد. اسیدآمینه آرژینوسوکسینیک یکی از پیش‌سازهای فومارات در چرخه اسیدسیتریک است. این واکنش توسط آنزیم آرژینوسوکسینات لیاز کاتالیز می‌شود. آرژینوسوکسینات سنتاز (ASS) وآرژینوسوکسیناز یا آرژینوسوکسینات لیاز (ASL) مسیر بیوسنتیک آرژینین و پلی‌آمین‌ها را تنظیم می‌کنند.

الگوی بیان ژن‌های آرژینو سوکسینات سنتاز (ASS)

بررسی میزان بیان نسبی ژن آرژینوسوکسینات سنتاز در بافت‌های مختلف گیاه دارویی هندوانه ابوجهل در مطالعه حاضر نشان داد که بافت بذر نارس در مقایسه با بافت پوست میوه بیان بیشتری دارد و کمترین بیان در بافت ساقه مشاهده گردید(شکل۵) با توجه به آزمون آماری t-test, بیان نسبی ژن آرژینوسوکسینات سنتاز در بافت‌های مختلف گیاه هندوانه ابوجهل نسبت به پوست میوه این گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که بافت ساقه در سطح ۱درصد و بافت‌های گوشت و بذر رسیده در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهند. ژن آرژینو سوکسینات سنتاز ASS در سنتز آرژینو سوکسینات را از سیترولین و آسپارتات کاتالیز می‌کند. درراستای تحقیقات پیشین تنظیم کاهشی هماهنگ در هر دو نوع ژن های کاتابولیک (ASS ,ASL)، حاکی از نقش آن‌ها در حفظ تجمع تدریجی سیترولین در بافت‌های میوه هندوانه است. در تحقیقی الگوی RNA-seq میوه‌های هندوانه در حال رسیدن را مورد بررسی قرار دادند ونشان دادند که در میوه‌های حاوی سیترولین، ممکن است ژن‌های ASS و ASL در مغز میوه به صورت تنظیم منفی کنترل می‌شوند(Guo et al. 2013, 2015).

الگوی بیان ژن اورنیتین ترانس کاربامیلاز (Ornithine transcarbamylase)

در این تحقیق بالاترین میزان بیان نسبی ژن آنزیم OTC در بذر رسیده هندوانه ابوجهل بوده است(شکل۶). نتایج آزمون تی تست میانگین بیان نسبی ژن اورنیتین ترانس کاربامیلاز در بافت‌های گیاه هندوانه ابوجهل نسبت به پوست میوه این گیاه در سطح ۱درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیان اورنیتین کاربامویل ترانسفراز (OTC) که در مرحله نهایی سنتز سیترولین درگیر است و درهر دو نوع بافت گوشت و پوست پایدار و ثابت است. بیان بارز OTC در پوست و تجمع بالای سیترولین می‌تواند به دلیل این باشد که سیترولین در جای دیگری سنتز و به تدریج طی رشد میوه منتقل گردد یا به طور موضعی در پوست و در بافت‌های بین پوست و مغز میوه سنتز شود.بیان اورنیتین کاربامویل ترانسفراز (OTC) که در مرحله نهایی سنتز سیترولین درگیر است، درهر دو نوع بافت گوشت و پوست پایدار و ثابت است.

ژن اورنیتین ترانس کاربامیلاز(Ornithine transcarbamylase) که اورنیتین کاربامویل ترانسفراز و به اختصارOTC هم خوانده می‌شود واکنش بین کاربامویل فسفات و اورنیتین را کاتالیز می‌کند, که حاصل آن تولید سیترولین و فسفات است. این ژن عمل انتقال ـاورنیتین بر روی کربامیل فسفات و تولید سیترولین را بر عهده دارد و در همه بافت‌ها حضور دارد. فعالیت برگشت‌پذیر این ژن اجازه تولید اورنیتین و سیترولین را می‌دهد .Levine et al (2012). ژن‌های OTCase کربامیلاسیون L– اورنیتین را به شکل سیترولین در جلبک‌های ریز، گیاهان و پستانداران کاتالیز می‌کنند؛ در حالی که OTCase کاتابولیک واکنش برگشت تولید اورنیتین از سیترولین را ضمن فسفرولیز در میکروارگانیسم‌های پست‌تر پیش می‌برد(Stalon 1972; Haas et al. 1977). تعداد زیادی OTCs در گیاهانی نظیر نیشکر، *Pisum Sativum*، *Phaseolus vulgaris*، *Arabidopsis* و برنج شناسایی شده‌اند که فعالیت‌های آنابولیک آنها در اغلب گونه‌ها تائید شده است. سمیت القاء شده به علت اورنیتین بالا و عدم تجمع اورنیتین در محیط وقتی که ترکیب سیترولین یا آرژینین وجود دارند، فعالیت آنابولیک OTCase Arabidopsis را تائید می‌کند. حضور ایزوزیم‌های OTCase با دو موقعیت سلولی متفاوت با عملکردهای سیتوزولی و میتوکندریایی در سلول‌های سوسپانسیون نیشکر گزارش شده است(.Shi et al 2015. ژنوم هندوانه نیز یک ژن شبه OTC(Cla020781) دارد. ترتیب مورد انتظار توالی پروتئین OTCase هندوانه یک همولوژی بالا و دو دومین متصل شونده P–کربامیل و L-اورنیتین که برای فعالیت این ژن ضروری هستند را نشان داد McWilliam .(et al. 2013)

اسید آمینه اورنیتین وسیترولین نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تحمل تنش‌های غیرزیستی، پیش‌ساز پلی‌آمین‌ها، اسمولیت‌های فعال، حامل‌های نیتروژن و احتمالاً به عنوان مولکول‌های پیام رسان بازی می‌کنند. در شرایط خشکی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

تجمع سیترولین، امکان تنظیم کاتابولیسم را فراهم می‌آورد. تحقیقات انجام شده توسط Gong et al(2010); Borah et al(2017) ; Nawaz et al(2018) نشان داد که ژن‌های درگیر در بیوسنتز سیترولین CPS(Cla005591 و Cla022915)، N–استیل‌گلوتامات سنتاز(Cla014036)، N–استیل اورنیتین آمینوترانسفراز(Cla015337)، N–استیل گلوتامات کیناز(Cla022273)، استیل اورنیتین داستیلاز(Cla016179 و Cla016181)، اورنیتین کربامیل ترانسفراز/ترانس کربامیلاز (Cla020781) تنظیم افزایشی داشتند، در حالی که ژن‌های دخیل در کاتابولیسم سیترولین نظیر آمینوسوکسینات سنتاز (Cla019267 و Cla002609) و N–استیل اورنیتین گلوتامات استیل ترانسفراز (Cla017879) تنظیم کاهشی را نشان دادند. فعال شدن متابولیسم اورنیتین امکان استفاده از آن را به عنوان بیومارکر در مقاومت در برابر خشکی در کدو پیان نشان می‌دهد. گزارشات Gong et al(2010); Shaik and Ramakrishna (2012); Borah et al (2017) در زمینه بررسی سیترولین القاء شده در برگ‌ها و بافت آوندی گیاه خربزه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، نشان دادند که میزان اسید آمینه سیترولین تغییری نداشته درحالی که درهندوانه محتوای سیترولین در میوه به طور صعودی افزایش یافت. تغییرات سیترولین ناشی از شوری و خشکسالی در ۴ ژنوتیپ خربزه مورد بررسی قرار دادند و شاهد تغییر قابل توجه در تجمع سیترولین بودند به طوری که پیشنهاد دادند میزان تجمع سیترولین درپاسخ به تیمارهای داده شده به عنوان یک شاخص بیوشیمیایی در نظر گرفته شود (Kusvuran et al. 2013). در بررسی دیگری تجمع سیترولین ناشی از خشکسالی در بافت‌های رویشی هندوانه تیمارهای تنش با استفاده از اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیکی انجام شد. پروفایل اسید آمینه برگ و ساقه در پاسخ به تنش خشکی به ترتیب تا ۳۸ و ۱۶ برابر افزایش محتوای سیترولین را نشان داد. همبستگی بین اسیدهای آمینه نشان دهنده فعال شدن همزمان یک مسیر متابولیک شامل سیترولین، پیش ساز آن (اورنیتین) و محصول کاتابولیک (آرژنین) بود. مطابق با تجمع آن، تجزیه و تحلیل بیان ژن و تعیین توالی RNA فعال شدن ژن های مرتبط با بیوسنتز سیترولین Ornithine carbamoyl-transferase (OTC)، N-acetylornithine deacetylase (AOD) و Carbamoyl phosphate synthases (CPS) را تایید کرد(Song et al. 2020). در پژوهشی نتایج بررسی سیترولین در بخش‌های مختلف در هندوانه نشان داد که ممکن است سیترولین در بافت‌های مختلف گیاه سنتز و سپس به میوه‌های هندوانه در حال رسیدن انتقال یابد، اما سطح پایدار سیترولین در میوه‌های رسیده می‌تواند حاصل کاهش کاتابولیسم، افزایش بیوسنتز، انتقال از فاصله دور و تعامل پوست و بافت‌های مغز میوه باشد (Sandlin et al. 2012; Ren et al. 2014). محتوای سیترولین دربافت‌های رویشی (برگ‌ها و ریشه‌ها) در طول رشد پایدار باقی مانده و به طور قابل ملاحظه‌ای با آغاز پیری شروع به کاهش کرده است، به استثنای تجمع وابسته به تنش، تنها مقدار اندکی سیترولین در ارتباط و اتصال با سایر اسیدهای آمینه در بافت های رویشی گیاهانی ازجمله هندوانه، آرابیدوپسیس و خربزه شناسایی و تشخیص داده شده است(Dasgan et al. 2009; Massange- Sánchez et al. 2016; Xiangfei et al.2021). براساس مشاهدات، افزایش مستمر در تجمع سیترولین طی رسیدن و رشد میوه به صورت مستقل مورد تایید قرار گرفت (Liu et al. 2010; Guo et al. 2013; Maoyun et al. 2017; Akashi et al. 2017). تغییرات در میزان سیترولین پوست و گوشت تحت تاثیر ژنوتیپ و فاکتورهای محیطی است(Fish 2014). با استفاده از GC-MS میزان محتوای سیترولین موجود در انواع ارقام، گوشت و بافت‌های مختلف هندوانه گزارش گردید؛ محتوای سیترولین برحسب میلی‌گرم برگرم وزن خشک و در میان هندوانه‌های انواع هسته دار، بدون هسته به ترتیب ۱۶,۶ و ۲۰,۳ میلی‌گرم وزن خشک بود. همچنین میزان سیترولین پوست هندوانه در مقایسه با گوشت آن نیزتجمع بیشتری را نشان داده است. این نتایج نشان می‌دهد که پوست هندوانه می‌تواند منبع طبیعی و مهمی برای سیترولین باشد (Rimando and Perkins-Veazie 2005).

تصور بر این است که انتقال دهنده‌های AAP هندوانه می‌توانند یک نقش فعال در انتقال از راه دور و برداشت سیترولین در بافت میوه در حال رسیدن بازی کنند. سیترولین ممکن است در بخش-های مختلف سنتز شده و به میوه‌های در حال رسیده انتقال یابد. مقادیر نسبتا محدود سیترولین آزاد در برگ‌ها، ساقه‌ها، ریشه‌ها و عدم تطابق با تجمع افزایشی در بافت‌های مزوکارپ و اگزوکارپ

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

میوه نشان می‌دهد. انتقال سیترولین در مسافت‌های طولانی طی رشد فعال میوه بعید به نظرمی‌رسد. سطح پایدار سیترولین در میوه‌های رسیده، حاصل کاهش کاتابولیسم، افزایش بیوسنتز، انتقال از فاصله دور، و تعامل پوست و بافت‌های مغز میوه باشد. سیترولین ممکن است بر فرآیندهای فیزیولوژیکی اصلی در گیاهان، انتقال سیترولین وحفظ اسمولاریته سلول‌ها طی تنش‌های زیستی تاثیر داشته باشد.

شواهد قابل بررسی در درختان، گونه‌های تیره پروانه آساها و غیر پروانه آساها، و دیاتوم‌های آبزی پتانسیل سیترولین را به عنوان برداشت کننده کارامد NH_4^+ تنفس نوری یا انتقال دهنده از فاصله دور نیتروژن در گیاهان را نشان می‌دهد(Guo et al 2013, 2015; Zhu et al. 2017). مشاهدات نشان داده است که در طی بلوغ میوه (۲۶ روز پس از گرده‌افشانی) مقدار سیترولین افزایش قابل ملاحظه داشته؛ درحالی که محتوای سیترولین در زمان رسیدن میوه (۳۴ روز پس از گرده‌افشانی) دچار کاهش ناگهانی شده است (Guo et al. 2013). مشاهدات مشابهی همچنین توسط چندین گروه مستقل ذکر شده است که هیچ تغییر قابل توجهی در تجمع سیترولین در طی رشد اولیه میوه ثبت نشده است. اما افزایش مداوم آن در زمان بلوغ میوه مشابه سایر مواد مغذی در هندوانه نظیر لیکوپن، لوتئین یا ساکاروز نسبت به قبل از آن دیده شده است (Liu et al. 2010; Fish.2014; Akashi et al. 2017). با این حال، یک الگوی تجمع دو قطبی نشان دهنده شیب غلظت سیترولین از پوست خارجی میوه (بافت سبز) به مرکز میوه نشان دهنده نقش احتمالی پوست به عنوان یک محل گذارا اثبات می‌کند (Rimando and Perkins-Veazie 2005; Davis et al. 2011).

مقدار زیاد سیترولین در پوست وجود دو آنزیم بیوسنتزN– استیل اورنیتین آمینوترانسفراز (Cla015337) وN-استیل گلوکز آمین سنتاز (Cla014036) را نشان می‌دهد که به عنوان تنظیم کننده رشد میوه در بافت پوست عمل می‌کنند (Guo et al. 2013, 2015; Zhu et al. 2017). اگر چه محل دقیق سنتز و نحوه انتقال سیترولین در هندوانه به خوبی مشخص نشده است، اما شواهد زیادی وجود سلول‌هایی که از مناطق دور از میوه در این امر دخیل هستند را مشخص می‌کنند. انتقال سیترولین وجود الگوهای متفاوتی از بیان ژن‌هایی که در متابولیسم سیترولین دخیل هستند را نیز نشان می‌دهد (Guo et al. 2013, 2015). بیان بارز OTC در پوست و تجمع بالای سیترولین می‌تواند به دلیل این باشد که سیترولین در جای دیگری سنتز و به تدریج طی رشد میوه منتقل گردد یا به طور موضعی در پوست و در بافت‌های بین پوست و مغز میوه سنتز شود (Joshi and Fernie. 2017).

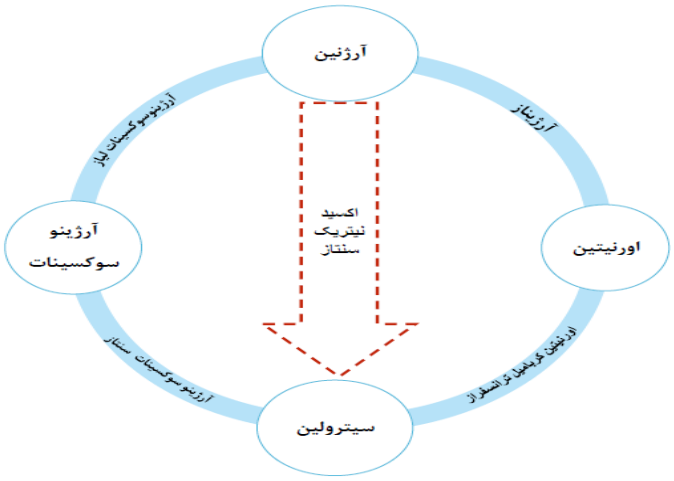
نتایج تحقیق نشان داد که نمونه‌های با سطوح سیترولین و آرژنین بالا مواد جامد محلول پایینی داشته که عمدتاً از قند تشکیل شده‌اند و کمتر شیرین هستند(kim et al. 2020). در بررسی دیگر محتوای سیترولین با رسیدن میوه افزایش یافت و ۴۵ روز پس از گلدهی در هندوانه پیوندی به بالاترین سطح رسید (Soteriou et al. 2014). در مطالعه دیگری مشاهده شد که محتوای آمینواسیدهای آزاد، عمدتا آمینواسیدهای غیرپروتئینی، مانند β–آلانین، اسید β–آمینو بوتیریک، اورنیتین و سیترولین، در معرض تنش خشکی افزایش یافته و به عنوان آنتی اکسیدان عمل می‌کنند(Vranova et al. 2012). اهمیت اسید آمینه سیترولین توسط Xiangfei et al. (2021) مورد ارزیابی قرار گرفت وگزارش داد که سیترولین می‌تواند برای ارتقای زیست توده، بازسازی ATP و بازده سوخت‌های زیستی مفید باشد، همچنین مشخص شد که سیترولین می‌تواند ATP اضافی را فراهم کند و زیست توده و نرخ رشد ویژه را برای *C.carboxidivorans* P7 در هر دو شرایط هتروتروف و اتوتروف افزایش دهد. علاوه بر این، با افزودن سیترولین نسبت تولید الکل به اسید را ۶۰/۳٪ در شرایط اتوتروف افزایش می‌یابد.

در این پژوهش هدف شناسایی ژن‌های درگیر در متابولیسم اسید آمینه سیترولین و الگوی بیان ژن‌های کلیدی از جمله ژن آرژیناز، نیتریک اکسید سنتاز، آرژینو سوکسینات لیاز، آرژینو سوکسینات سنتاز و اورنیتین ترانس کاربامیلاز در بافت‌های ریشه، ساقه، برگ، گوشت و پوست میوه، بذر نارس وبذر رسیده با استفاده از تکنیک qRT- PCR بوده است. شدت بیان این ژن‌ها با هم متفاوت و به صورت تنظیم مثبت بوده و در سطح احتمال یک درصد معنی دار شدند، در ژن‌های بررسی شده بیشترین میزان بیان در پوست و گوشت میوه هندوانه ابوجهل مشاهده گردیدند. میزان بیان ژن‌های بررسی شده در بافت های رویشی، (ساقه، برگ وریشه) به شکل

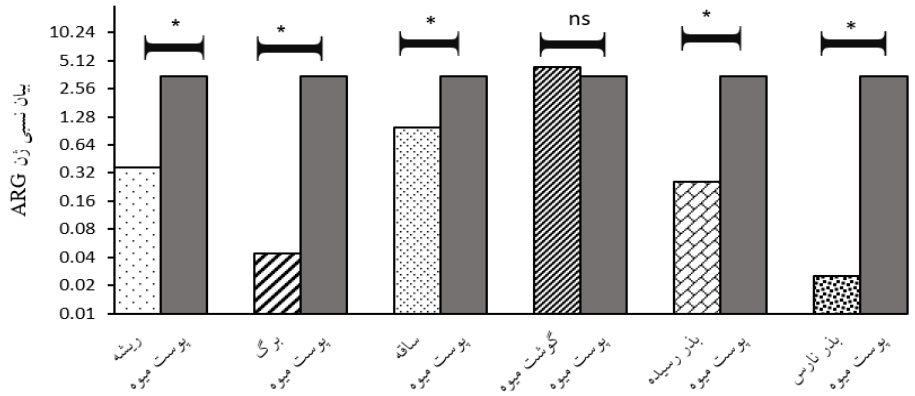
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

قابل توجهی نسبت به بافت میوه کمتر بوده است وتنظیم هماهنگ شده‌ای بین ژن‌های سیترولین میوه هندوانه ابوجهل وجود دارد که اجازه بیان و تجمع بیش از حد سیترولین را فراهم می‌آورد. پروفایل آمینواسیدی بافت‌های مختلف هندوانه Charleston Gray در طول رشد و تکامل گیاه انباشت تدریجی سیترولین تنها دربافت گوشت میوه و پوست آن را تایید کرده است.

جنبه‌های زیادی در مورد متابولیسم سیترولین در گیاهان وجود دارد که هنوز ناشناخته هستند، مانند انتقال سیترولین از آوندها، تنظیم رشد، موقعیت بافت‌های ویژه، تنظیم سنتز، انتقال و ترکیب که نیاز به بررسی بیان ژن‌ها، ویژگی‌های بیوشیمیایی آنزیم‌های اصلی و انتقال دهنده‌ها، همچنین تنوع طبیعی در ژن‌های مربوط به متابولیسم دارد. بسیاری از آنزیم‌های دخیل در متابولیسم سیترولین در گیاهان هنوز به طور کامل شناخته نشده اند. از این رو، مدل مطالعات آینده می‌تواند تنظیم یا انتقال سیترولین از طریق سیستم آوندی را روشن سازد.



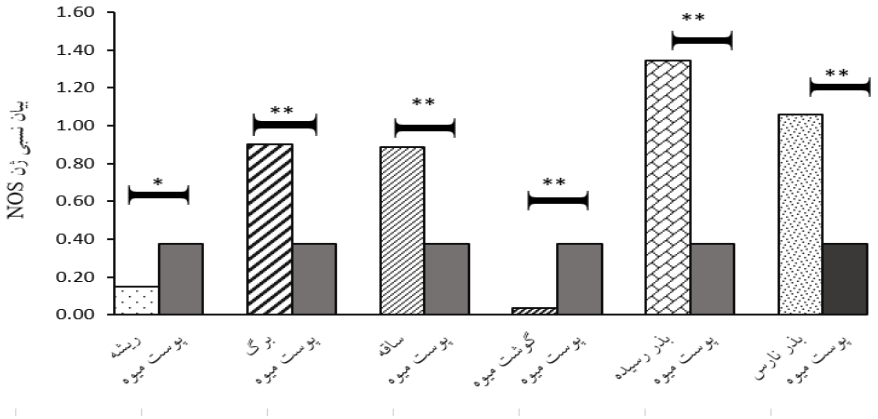
شکل۱- مسیر بیوسنتز سیترولین در هندوانه ابوجهل



شکل۲- الگوی میزان بیان ژن آرژیناز برای بافت‌های هندوانه ابوجهل در مقایسه با بافت پوست که با روش $2^{-\Delta C_T}$ محاسبه گردید.

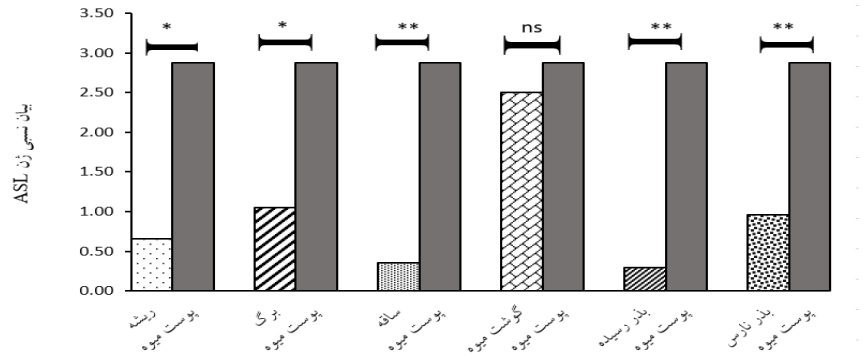
ns و * : به ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



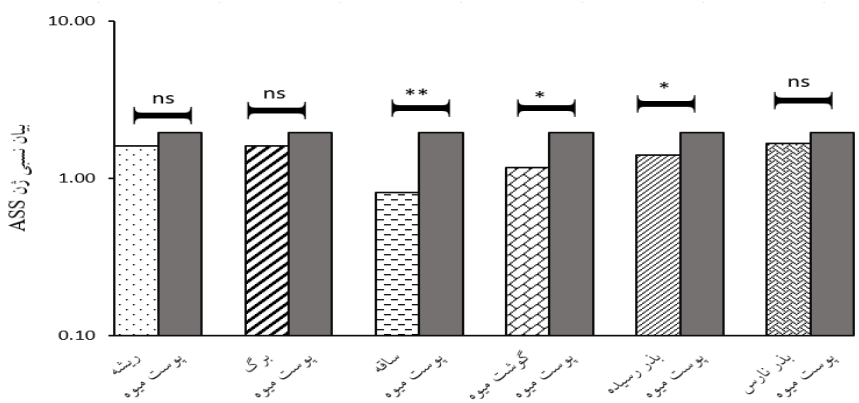
شکل۳- الگوی میزان بیان ژن NOS در بافت‌های مختلف هندوانه ابوجهل در مقایسه با بافت پوست و با روش $2^{-\Delta C_T}$ محاسبه گردید.

ns و * و **به ترتیب تفاوت غیرمعنی دار و معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



شکل۴- الگوی بیان ژن ASL بافت‌های مختلف هندوانه ابوجهل در مقایسه با بافت پوست که با روش $2^{-\Delta C_T}$ محاسبه گردید.

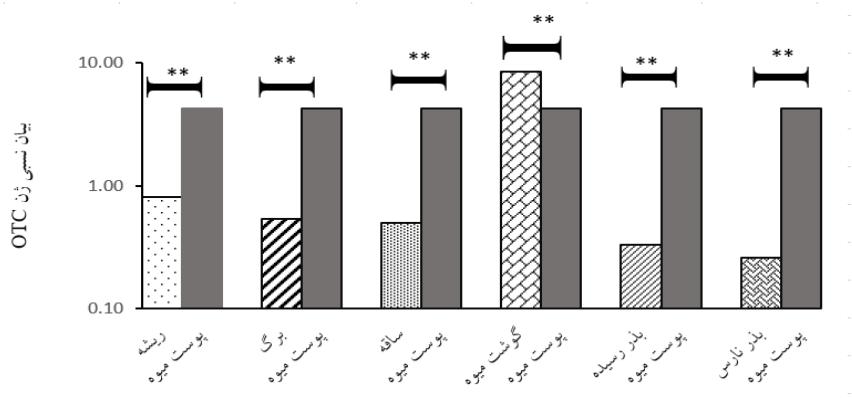
ns و * و **به ترتیب تفاوت غیرمعنی دار و معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



شکل ۵- الگوی بیان ژنASS در بافت‌های مختلف هندوانه ابوجهل در مقایسه با بافت پوست و با روش $2^{-\Delta C_T}$ محاسبه گردید.

ns و* و ** به ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]



شکل۶- الگوی بیان ژن اورنیتین ترانس کاربامیلاز(OTC) در بافت‌های مختلف هندوانه ابوجهل در مقایسه با بافت پوست که با روش $2^{-\Delta C_T}$ محاسبه گردید.

ns و * و **به ترتیب تفاوت غیرمعنی دار و معنی داری در سطح احتمال5 درصد و 1 درصد

منابع

Adam S, Al-Yahya M& Al-Farhan A H (2001) Response of Najdi sheep to oral administration of Citrullus colocynthis fruits, Nerium oleander leaves or their mixture. Small Rumin Research, 40:239-244.

Akashi K, Miyake C, Yokota A (2001) Citrulline, a novel compatible solute in drought-tolerant wild watermelon leaves, is an efficient hydroxyl radical scavenger. Federation of European Biochemical Societies letters 508:438–442.

Akashi K, Mifune Y, Morita K, Ishitsuka S, Tsujimoto H, Ishihara T (2017) Spatial accumulation pattern of Citrulline and other nutrients in immature and mature watermelon fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture. 97:479–487.

Assefa A D, Hur OS, Ro NY, Lee JE, Hwang AJ, Kim BS, Rhee JH, Yi JY, Kim JH, Lee HS, Sung JS, Kim MK, Noh JJ (2020) Fruit Morphology, Citrulline, and Arginine Levels in Diverse Watermelon (Citrullus lanatus) Germplasm Collections. Plants (Basel). 19:1054.

Bankole S A, Osho A, Joda A O, Enikuomehin O A(2005) Effect of drying method on the quality and storability of 'egusi'melon seeds (Colocynthis citrullus L.)," African Journal of Biotechnology 4:799–803.

Bell E A (2003) Non-protein amino acids of plants: significance in medicine, nutrition, and agriculture. J. Agric. Food Chem. 51:2854–2865.

Borah P, Sharma E. Kaur A, Chandel G, Mohapatra T, Kapoor S, Khurana J. P (2017). Analysis of drought-responsive signaling network in two contrasting rice cultivars using transcriptome-based approach. Sci. Rep. 7, 42131.

Corpas F. J, Barroso J. B, Carreras A, Valderrama R, Palma J.M, Leon A. M, San-dalio L. M. del Rio L.A. (2006) Constitutive argininedependent nitric oxide synthase activity in different organs of pea seedlings during plant development. Planta 224:246–254.

Dasgan H Y, Kusvuran S, Abak K, Leport L, Larher F, Bouchereau A (2009) The relationship between citrulline accumulation and salt tolerance during the vegetative growth of melon (*Cucumis melo* L.). Plant Soil Environ. 55:51–57.

Davis A R, Fish W , Levi A, King S, Wehner T, Perkins-Veazie P(2010) l-Citrulline levels in watermelon cultivars from three locations. Cucurbit Genet Coop Rep 33:36–39.

Davis A R, Webber CL III, Fish WW, Wehner TC, King S, Perkins- Veazie, P (2011) l-Citrulline levels in watermelon cultigens tested in two environments. Hort Science 46:1572–1575.

Fereshtian M, Soltani F , Kashi A, Babalar M (2017) Evaluation of genetic diversity of some Citrullus colocynthis accessions based on morphological and phytochemical traits, Iranian Journal of Horticaltural Sciences, 48:293-303 (In Farsi).

Fish WW (2014). The expression of Citrulline and other members of the Arginine metabolic family in developing watermelon fruit. Int J Agric Innov Res (International Journal, Agriculture, Innovations, Research) 2:665–672.

Gong P, Zhang J, Li H, Yang C, Zhang C, Zhang X Khurram Z Zhang, Y Wang, T Fei, Z Ye, Z (2010) Transcriptional profiles of drought-responsive genes in modulating transcription signal transduction, and biochemical pathways in tomato. Journal of Experimental Botany. 61:3563-3575.

Grin A, Matsum, L. and Nakai, O. (2010). Taxon Citrullus lanatus (Thunb) Taxonomy for plants. Germplasm Resources Information Network. Agricultural Research Service, Beltsville Area. http://www.arsgringovbin/npgs/html/tax_search.pl

Guo, Sun H., Zhang H, Liu J, Ren Y, Gong G et al (2015) Comparative transcriptome analysis of cultivated and wild watermelon during fruit development. PLoS One 10:e0130267.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Guo S, Zhang J, Sun H, Salse J, Lucas W J, Zhang H et al (2013) The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus*) and resequencing of 20 diverse accessions. Nat Genet (Nature Genetics publishes the very highest quality research in genetics) 45:51–58.

Haas D, Holloway B W, Schambock A, Leisinger T (1977) The genetic organization of arginine biosynthesis in Pseudomonas aeruginosa.Mol Gen Genet 154:7–22.

Huang S, Li R, Zhang Z, Li L, Gu X, et al (2009) The genome of the cucumber,Cucumis sativus L. Nat Genet 41:1275–1281.

Jayaprakasha, G. K, Patil B S (2016) A metabolomics approach to identify and quantify the phytochemicals in watermelons by quantitative (1) HNMR. Talanta 153:268–277.

Johnson J. B., Ohri B, Walsh K B. Naiker M (2022) A Simple Isocratic HPLC–UV Method for the Simultaneous Determination of Citrulline and Arginine in Australian Cucurbits and Other Fruits. Food Anal. Methods 15:104–114.

Joshi V, Fernie A. R (2017) Citrulline metabolism in plants. Amino Acids 49:1543–1559.

Kawasaki S, Miyake C, Kouchi MT, Yokota A (2000) Responses of wild watermelon to drought stress: accumulation of an Arg homologue and Citrulline in leaves during water deficit. Plant Cell Physiol 41:864–873.

Kim Y C, Choi D, Cha A, Lee Y.-G, Baek, N.-I, Rimal S , Lee S (2020) Critical enzymes for biosynthesis of cucurbitacin derivatives in watermelon and their biological significance. Communication Biology 3:444.

Kumar R, Solankey S S & Singh M (2012) Breeding for drought tolerance in vegetables. Vegetable Science, 39:1-15.

Kusvuran S, Dasgan H Y.Abak K (2013) Citrulline is an important biochemical indicator in tolerance to saline and drought stresses in melon. Sci. World J, 253414.

Levine A B, Punihaole D, Levine T B (2012) Characterization of the role of nitric oxide and its clinical applications. Cardiology 122:55-68.

Liu W, Zhao S, Cheng Z, Wan X, Yan Z, King S (2010) Lycopene and Citrulline concentrations in watermelon (*Citrullus lanatus*) fruit with different ploidy and changes during fruit development. In Sun X (Ed) Proc. 4th Intl. Symp on Cucurbits Acta Hort 871:543–550.

Maoyun she , Xingguo Y, Yueming y, Howit C, Belgard M, Wujun M (2017) Comprehensive molecular analysis of arginase-encoding genes in common wheat and its progenitor species. Scientific reports 7:6641.

Massange-Sanchez J A, Palmeros-Suarez P A, Espitia-Rangel E, Rodriguez-Arévalo I, Sanchez-Segura L, Martinez-Gallardo N, Alatorre- Cobos F, Tiessen A, Délano-Frier JP (2016) Overexpression of grain amaranth (A hypochondriacus) AhERF or AhDOFtranscription factors in Arabidopsis thaliana increases water deficit- and salt-stress tolerance, respectively, via contrasting stress-amelioration mechanisms. PLoS One 11:e0164280.

McWilliam H, Li W, Uludag M, Squizzato S, Park Y M, Buso N, Cowley AP, Lopez R (2013) Analysis tool web services from the EMBL-EBI. Nucleic Acids Res 41:W597–W600.

Mirzaie F, Yaghoobi M M, Manouchehri Kalantari Kh and Nasibi f(2014) Effects of two arginine enantiomers (L and D) pre-treatment on some physiological parameters and the expression of arginase 1 gene in tomato plants under drought Stress'. Iranian Journal of Plant Physiology 4:1005-1013.

Mur L A. J, Hebelstrup K H, Gupta KJ (2013) Striking a balance: does nitrate uptake and metabolism regulate both NO generation and scavenging? Front Plant Sci 4:288.

Nasibi F (2011) Effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on oxidative damages induced by drought stress in tomato plant. Iranian Journal of Plant Biology 3:63-74 (In Farsi).

Nawaz M, Chen C, Shireen F, Zheng Z, Sohail H, Afzal M, Ali M, Bie Z, Huang Y (2018) Genome-wide expression profiling of leaves and roots of watermelon in response to low nitrogen. BMC Genomics 19:456.

Nimmakayala P, Islam-Faridi N, Tomason Y R, Lutz F, Levi A, Reddy UK (2011). Citrullus Wild crop relatives: genomic and breeding resources (pp. 59-66).

Nimmakayala P, Islam-Faridi N, Tomason Y R, Lutz F, Levi A, Reddy U K (2011) Citrullus Wild crop relatives: genomic and breeding resources (pp. 59-66).

Parra-Lobato M C and Gomez-Jimenez M C (2011) Polyamine-induced modulation of genes involved in ethylene biosynthesis and signalling pathways and nitric oxide production during olive mature fruit abscission. Journal of Experimental Botany. 62:4447-4465.

Ren Y, Mc Gregor C, Zhang Y, Gong G, Zhang H, Guo S, Sun H, Cai W, Zhang J, Xu Y (2014) An integrated genetic map based on four mapping populations and quantitative trait loci associated with economically important traits in watermelon (*Citrullus lanatus*). BMC Plant Biol 14:33.

Rimando AM, Perkins-Veazie P (2005) Determination of Citrulline in watermelon rind. J Chromatogr (Journal of Chromatography A) 1078:196–200.

Rozanska E., Labudda M, Dzik J M, Sobczak M (2013) Enzymatic activity and arginase gene expression in Arabidopsis plants infected with a cyst-forming nematode. BioTechnologia. Journal of Biotechnology Computational Biology and Bionanotechnology 94(3).

Safavi S R (2016) A new species of Scorzonera L. (Asteraceae) from Natanz Iran. The Iranian Journal of Botany, No. 22 (1): 1-5. Tehran (In Farsi).

Sandlin KC, Prothro JM, Heesacker AF, Khalilian N, Okashah R,Xiang W, Bachlava F,Caldwell D, Seymour D,White V, Chan E, Tolla G, White C,Safran D, Graham E, Knapp SJ, McGregor CE (2012) Comparative mapping in watermelon *Citrullus lanatus* (Thunb). Theor Appl Genet 125:1603–1618.

Shaik R, Ramakrishna W. (2012) Bioinformatic analysis of epigenetic and MicroRNA mediated regulation of drought responsive genes in rice. PLoS One 7:e49331.

Shi D, Allewell N.M, Tuchman M (2015). From genome to structure and back again: a family portrait of the transcarbamylase. The International Journal of Molecular Science. 16:18836–18864.

Song Q, Joshi M, DiPiazza J, Joshi V (2020) Functional Relevance of Citrulline in the Vegetative Tissues of

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Watermelon During Abiotic Stresses. Front Plant Sci. 5:11-512.
Soteriou G, Kyriacou M, Siomos A, Gerasopoulos D (2014) Evolution of watermelon fruit physicochemical and phytochemical composition during ripening as affected by grafting. Food chemistry165:282-289.
Stalon V. (1972). Regulation of the catabolic ornithine carbamoyltransferase of Pseudomo-nas fluorescens. A study of the allosteric interactions. Eur J Biochem 29:36-46.
Schmittgen T. D., Livak K. J. (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. Nat Protocols 3, 1101–1108.
Vranova E., Coman D., Gruissem W. (2012). Structure and dynamics of the isoprenoid pathway network. Mol Plant .5:318–333.
Wang L, Cao C, Ma Q, Zeng Q, Wang H, Cheng Z, Zhu G, Qi J, Ma H, Nian H, Wang Y (2014). RNA-seq analyses of multiple meristems of soybean: novel and alternative transcripts, evolutionar and functional implications. BMC Plant Biology. 14:169.
Winter G, Todd C D, Trovato M, Forlani G, Funck D. (2015) Physiological implications of arginine metabolism in plants. Front. Plant Sci. 6:534.
Xiangfei L., Rumeng H., Teng B,Tolbert O, Xian Z., Meijuan X., Taowei Y., Zhiming R. (2021) Citrulline deim,inase pathway provides ATP and boosts growth of Clostridium carboxidivorans P7. Biotechnology for Biofuels. 14:1-10.
Yokota A., Kawasaki S., Iwano M., Nakamura C., Miyake C., Akashi K. (2002) Citrulline and DRIP-1 protein (ArgE homologue) in drought tolerance of wild watermelon. Ann Bot (Annals of Botany) (Lond.) 89:825–832.
Zhu Q., Gao P., Liu S., Zhu Z., Amanullah S., Davis A.R., Luan F. (2017). Comparative transcriptome analysis of two contrasting watermelon genotypes during fruit development and ripening. BMC Genomics 18:3.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]