

## بررسی توام تنوع ژنتیک و تنوع ژنهای مقاومت به بیماریها در گندم توسط نشانگر مولکولی RGA

Combined analysis of genetic and resistance gene diversities in wheat cultivars using RGA molecular marker

علیرضا حبیبزاده، منصوره کشاورزی\*، فرزاد افشاری و محمدرضا نقوی

اهواز، موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی، کرج، موسسه تحقیقات اصلاح نژاد و بذر

بذریش ۱۳۸۶/۱۲/۱

دریافت ۱۳۸۵/۶/۲۱

### چکیده

مقایسه ترادف نوکلئوتیدی ژنهای مقاومت همسانه‌سازی شده از گیاهان مبین وجود نواحی حفاظت شده ای بنام Resistance Gene Analogues (RGA) در این ژنها می‌باشد. براساس ترادف‌های RGA، آغازگرهای دژنره طراحی گردیده و در بررسی مکانیسم‌های مقاومت و جدا سازی ژنهای مقاومت به کار برده شده‌اند. در این تحقیق از پنج جفت آغازگر RGA و سه سیستم الکتروفورز در بررسی تنوع ژنهای مقاومت به بیماریها و تنوع ژنتیکی ۳۰ رقم گندم خارجی و داخلی مقاوم و حساس به زنگ زرد استفاده گردید. براساس نتایج، سه جفت آغازگر نتایج قابل تکرار و چند شکلی مناسبی نشان دادند که مجموعاً از اینها ۱۴۸۶ باند واجد ۴۲-۳۳ در صد چند شکلی بدست آمد. آنالیز خوشه‌ای باندها با روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد نشان داد که ارقام ایرانی از خارجی در سطح تشابه ۴۴٪ تفکیک گردیده و مکان ارقام ایرانی در دندروگرام، تابع روابط خویشاوندی بین آنها بود. همچنین کلیه ارقام حساس به زنگ زرد در سطح تشابه ۳۱٪ از سایر ارقام جدا شدند. این تحقیق نشان داد که تکنیک RGA در بررسی توام تنوع ژنتیکی و تنوع آنالوگ ژنهای مقاومت از کارایی بالایی برخوردار

\* مسئول مکاتبه

است. در عین حال، تفسیر نتایج با توجه به دخالت دو صفت مجزا در تفکیک و کلاستر بندی ارقام، پیچیده است.

### کلمات کلیدی: RGA، گندم، ژن‌های مقاومت، زنگ زرد

#### مقدمه

بسیاری از ژن‌های گیاهی مسئول مقاومت به بیمارگرهای ویروسی، قارچی، باکتریایی و نماتود جداسازی و همسانه‌سازی گردیده‌اند (Jahal & Brigg 1992, Baker *et al.* 1997). بررسی ترادف نوکلئوتیدی ژنهای مقاومت نشان می‌دهد که گرچه هولوژی زیادی ندارند، اما بخش‌های دامانه‌های (Domains) خاصی بنام Resistance gene analogs (RGA) در آنها حفاظت شده می‌باشد. از ترادف دامانه‌های حفاظت شده در تکثیر پی سی آر به‌منظور همسانه‌سازی ژن‌های مقاومت و به عنوان نشانگر مولکولی RGA استفاده شده است. به‌عنوان مثال با استفاده از آغازگرهای دژنره RGA مبتنی بر ترادف LRR (leucine-rich repeat) حفاظت شده بین ژنهای مقاومت *RPS2* در *Arabidopsis thaliana* و *N* توتون، توالی تکثیر شده ای از سیب‌زمینی جدا گردید که همولوگ ژنهای مقاومت شناخته شده بود و ژنگاه *Gro1* مربوط به مقاومت به بلایت کاملاً همبستگی داشت (Leister *et al.* 1996). فویلد و همکاران (Feuillet *et al.* 1997) با استفاده از نشانگرهای RGA، ژن *Lr10* مسئول مقاومت به زنگ برگ در گندم را همسانه‌سازی نمودند. نشانگرهای RGA همچنین در ترسیم نقشه ژنتیکی پاره‌ای از ژنها (Kanazin *et al.* 1996, Collins *et al.* 2004) در Marker-assisted selection بمنظور نشان‌دار کردن ژن‌های (های) مقاومت (Keshavarzi *et al.* 2005, Yan *et al.* 2003, Shi *et al.* 2001) و بررسی توام تنوع ژن‌های مقاومت و ژنوم ژرم پلاسما برنج، گندم و جو به کار برده شده‌اند (Chen *et al.* 1998). کشاورزی و همکاران (Keshavarzi *et al.* 2004) با طراحی تعدادی نشانگر RGA بر پایه موتیف‌های حفاظت شده کلاس NBS-LRR و کاربرد آنها در توده ژنومی لاین‌های در حال افتراق گندم، ژنهای دخیل در مقاومت به زنگ زرد را نشان‌دار کردند. هدف از این تحقیق، بررسی تنوع ژنهای مقاومت به بیمارگرها در ۳۰ رقم گندم داخلی و خارجی اصلاح شده برای مقاومت به زنگ زرد توسط نشانگرهای دژنره RGA بود. همچنین کارایی نشانگرهای فوق در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام با در نظر گرفتن شجره آنها و نقش دخالت همزمان دو صفت مختلف (تنوع

ژنهای مقاومت و تنوع ژنتیک) در کلاستر بندی ارقام بررسی گردید.

### روش بررسی

**مواد گیاهی:** تعداد ۳۰ رقم گندم خارجی و داخلی اصلاح شده برای مقاومت به زنگ زرد به همراه چند رقم حساس به کار برده شدند. اسامی ارقام، حساسیت آنها به زنگ زرد و pedigree ارقام ایرانی در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- نام، شجره و مقاومت ارقام گندم مورد مطالعه

Table 1. Name, pedigree and resistance status of wheat varieties

ارقام ایرانی Local varieties	نام Name	مقاومت به زنگ زرد Resistance to yellow rust	ارقام خارجی Foreign varieties
شجره Pedigree			نام Name
Attila (CM85836-4Y-0M-0Y-8M-0Y-OPZ)	Shirodi (شیرودی)	(R) مقاوم	Chinese 166
Attila (CM85836-50Y-0M-3M-0Y)	Chamran (چمران)	(S) حساس	Lee
Byt/4/jar/cfn/sr70/3/jup "S"	Hyrmand (هیرمند)	(R) مقاوم	Moro
STM/3/KAL/V534/JIL716	Kavir (کویر)	(R) مقاوم	Compair
GV/D630//ALD "S"/3/AZD	Shiraz (شیراز)	(S) حساس	Anza
ALVAND//ALDAN/IAS58	Pishtaz (پیشناز)	(R) مقاوم	Yr1/6 Avocet S
KVZ/BUHO "S"//KAL/BB	Falat (فالات)	(S) حساس	Yr6/6 Avocet S
RSH/5/WT/4/NORLO/K54*2//FN/3/PTR/6/OMID//K AL/BB	Gods (قدس)	(R) مقاوم	Flanders
1-27-6275/CF1770	Alvand (الوند)	(S) حساس	Jupateco S
TI/PCH/5/MT48/3/WT*/NAR59/TOTA63/4/MUS	Mahdavi (مهدوی)	(S) حساس	Heines Kolben
BOW "S"//NKT "S" (CM67428-GM-LR-5M-3R-LB-Y)	Tajan (تاجان)	(S) حساس	Heines Peko

جدول ۱- (ادامه)	Table 1 (continued)	
TP981	حساس (S)	TOS (طوس)
Bolani	حساس (S)	Shahriar (شهریار)
MV17	مقاوم (R)	Kohdasht (کوه‌دشت)
		Zagross (زاگرس)
		Atrak (اترک)

\* کلیه ارقام ایرانی بجز Falat, Quds و Bolani از نظر مقاومت به زنگ زرد در مرحله گیاهچه‌ای مقاوم هستند.

<sup>1</sup>All local varieties except Falat, Bolani and Gods are resistant to yellow rust at seedling satge.

<sup>2</sup>The data correspond to resistance to yellow rust at seedling stage, R: resistant; S: susceptible

#### استخراج دی آن ا و پی سی آر

استخراج دی آن ا از برگ گیاهان در مرحله دو برگچه‌ای و با استفاده از روش دل‌اپورتا و همکاران (Dellaporta *et al.* 1983) صورت گرفت. کیفیت و کمیت دی آن ا با اسپکتروفتومتری سنجیده شد. واکنش پی سی آر در ۲۵ میکرولیتر مخلوط پی سی آر شامل ۵ میکرولیتر دی آن آی الگو (یک نانوگرم / میکرولیتر)، ۰/۲ میلی مولار مخلوط dNTP، ۵ میلی مولار  $MgCl_2$ ، یک واحد Taq DNA Polymerase، ۲/۵ میکرولیتر بافر پی سی آر (۱۰×) و ۱۰ پیکومول از هر آغازگر RGA (Keshavarzi *et al.* 2004) صورت گرفت. چرخه های پی سی آر شامل مرحله واسرشته سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در ۹۴ درجه سانتیگراد، ۴۵ چرخه شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد، یک دقیقه در ۴۵ درجه سانتیگراد و ۱۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد و مرحله بسط نهایی ۷ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه سانتیگراد بود (Chen *et al.* 1998). فهرست و توالی آغازگرهای بکاربرده شده در جدول ۲ آمده است. از مارکر وزن ملکولی در محدوده 100-12000 bp استفاده گردید.

#### الکتروفورز، رنگ آمیزی و عکس برداری

محصولات پی سی آر در سیستم‌های مختلف به شرح زیر الکتروفورز گردید. الکتروفورز

جدول ۲- لیست آغازگرهای دژنره RGA و توالی آنها

Table 2. List and sequence of degenerate RGA primers

آغازگر Primer	جهت آغازگر <sup>۲</sup> direction	توالی Sequence (5' → 3')
P1	Forward (F)	GGIAAIACIACICTGCI
P4N	Reverse (R)	IAGIGCIAGIGGIAGIAA
P5	F	CTTITTGTIGTGAT
P4N	R	IAGIGCIAGIGGIAGICC
P8	F	ATCCTGGTGACIACICGI
P10	R	TGIAGCAAGTTGATIAG

<sup>۱</sup>جفت آغازگر P1-P4N براساس ساختار حفاظتی LZ-NBS-LRR ژنهای *Yr10* گندم، *Mla* جو، *RPS2* و *HRT* ارابیدوپسیس تالیانا، *Prf* گوجه و *RX1* سیب زمینی طراحی شده‌اند. جفت آغازگر P5-P4N براساس ساختار حفاظتی TIR-NBS-LRR ژنهای *M* و *L6* کتان و *N* توتون طراحی شده‌اند. جفت آغازگر P10-P2 براساس ساختار حفاظتی NBS-LRR ژنهای *Cre3* گندم، *I2* گوجه‌فرنگی و *Bs2* فلفل طراحی شده‌اند.

<sup>۱</sup>P1-P4N Primer pair was designed based on LZ-NBS-LRR conserved motifs in *Yr1* and *Mla* resistance genes in wheat and barley, respectively, *RPS2* and *HRT* resistance genes in *Arabidopsis thaliana*, *Prf* and *RX1* in tomato and potato, respectively. P5-P4N primer pair was designed based on TIR-NBS-LRR motifs in *M*, *L6* and *N* resistance genes from tobacco and cotton, respectively. P10-P2 primer pair was designed according to nucleotide sequence of NBS-LRR conserved motifs of *Cre3*, *I2* and *Bs2* resistance genes from wheat, tomato and pepper, respectively.

اولیه به صورت افقی در آگارز ۱-۱/۴ درصد، ولتاژ ۸۰، بمدت ۴۵ دقیقه و با رنگ آمیزی اتیدیم برومید صورت گرفت. به منظور افزایش وضوح باندهای، از ژل پلی اکریل آمید واسرشت کننده ۶٪ و سیستم عمودی با ابعاد کوچک (۲۰۰×۲۰۰ میلی‌متر) میلی متر، ولتاژ ۲۴۰ و زمان یک ساعت استفاده شد. در نهایت از الکتروفورز عمودی توالی یاب دی ان ا (ابعاد ۴۰۰×۴۰۰×۰/۴ میلی‌متر)، ولتاژ ۱۶۰۰، زمان ۲-۲/۵ ساعت و ژل پلی اکریل آمید

واسرشت کننده استفاده شد. رنگ‌آمیزی با نیترات نقره و عکسبرداری توسط اسکنر صورت گرفت.

### آنالیز اطلاعات

در هر ژل، برای هر رقم ماتریس صفر و یک تشکیل داده شد که با استفاده از ضریب تشابه جاگارد، به ماتریس تشابه تبدیل گردید. تجزیه کلاستر توسط نرم افزار SPSS و روش UPGMA انجام و دندروگرام تشابه ترسیم گردید.

### نتیجه و بحث

در ژل آگارز، به طور معمول اسمیری حدود ۸۰۰-۱۰۰ bp باند دهی محدودی مشاهده گردید که گر چه برای نمره دهی مناسب نبود، اما خود دلیلی بر موفقیت تکثیر ژنومی بود (Chen *et al.* 1998). الکتروفورز پلی آکریل آمید در سیستم عمودی با ابعاد کوچک موجب بهبود نسبی باندهای گردید اما شرایط بهینه در سیستم بزرگ الکتروفورز (توالی یاب دی ان ا) بدست آمد و توسط آن باندهای چند شکل متعددی از هر نشانگر آشکار شد (اشکال ۱-۳). بر این اساس مشخص گردید که بسیاری از باندها در سیستم عمودی کوچک همپوشانی داشته و بدرستی تفکیک نگردیده بودند. سیستم الکتروفورز توالی یاب دی ان ا می‌تواند تفاوت‌های تا یک نوکلئوتید را مشخص نماید. تا سال ۱۹۹۸، برای جداسازی محصولات پی سی آر بر پایه نشانگرهای RGA فقط از ژل آگارز و RFLP استفاده می‌شد لذا هتروژن بودن یک باند منفرد حاصل از ژل آگارز مکرراً گزارش می‌گردید (Leister *et al.* 1996, Yu *et al.* 1996, Kanzan 1996). در سال ۱۹۹۸، چن و همکاران (Chen *et al.* 1998) با کاربرد ژل پلی آکریل آمید و سیستم الکتروفورز عمودی بزرگ توانستند مشکل همپوشانی باندها را حل نمایند.

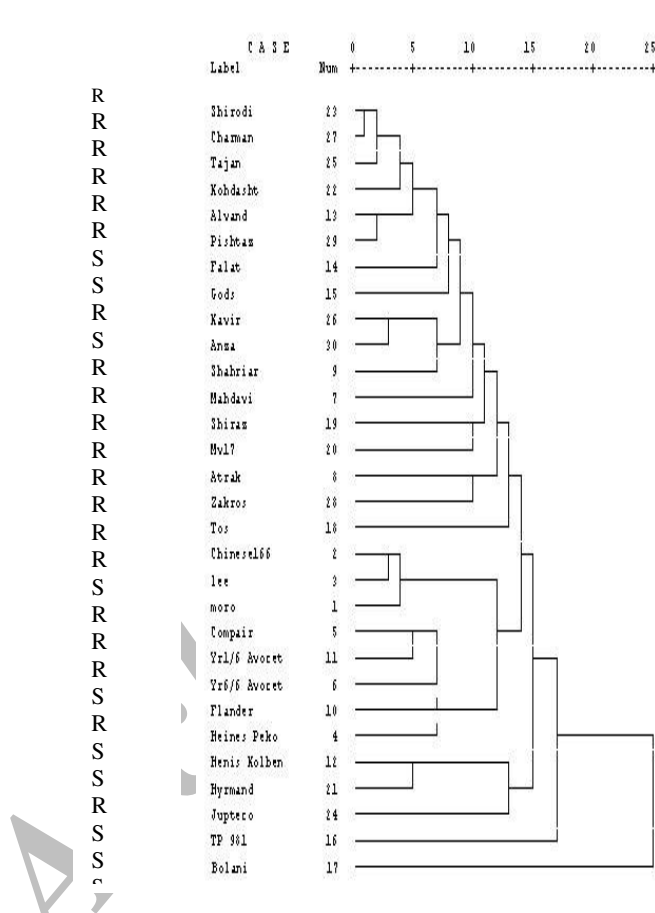
آنالیز باندهای بدست آمده (اشکال ۱-۳) نشان داد که سه نشانگر RGA توانستند چند شکلی نسبتاً بالایی ایجاد کنند. بطوریکه تعداد (درصد) باندهای چند شکل ایجاد شده توسط نشانگرهای P54N, P810 و P14N بترتیب معادل ۲۱۷ (٪۴۲)، ۱۶۵ (٪۳۳) و ۱۸۱ (٪۳۹) مشخص گردید. این سه نشانگر در مجموع ۱۴۸۶ باند اصلی تکثیر نمودند که ۴۲-۳۳ درصد آنها چند شکل بودند. بالاترین تعداد باند و بیشترین درصد باندهای چند شکل، بترتیب ۴۳۰

باند کامل و ۴۲٪ چند شکلی، توسط نشانگر P810 ایجاد گردید.

در مطالعات چن و همکاران (Chen *et al.* 1998) بر روی بررسی تنوع ژنهای مقاومت در ارقام گندم اصلاح شده برای مقاومت به زنگ زرد با استفاده از نشانگر RGA، درصد چند شکلی ۲۷٪ محاسبه گردید. محققین فوق پائین بودن نسبی درصد چند شکلی را ناشی از روابط نزدیک خویشاوندی بین ارقام مورد مطالعه که همگی از اجداد مشترکی برای مقاومت به زنگ زرد اصلاح شده بودند، دانستند. درصد باندهای چند شکل بدست آمده در تحقیق حاضر در مقایسه با سایر نشانگرها از سطح نسبتاً قابل قبولی برخوردار می باشد. به عنوان مثال درصد چند شکلی در ارقام اصلاح شده گندم توسط نشانگرهای AFLP و ISSR به ترتیب ۱۷ و ۲۸ درصد محاسبه گردید (Nagoaka & Ogihara 1997, Manifesto *et al.* 2001). ژونگ و همکاران (Zhuang *et al.* 2002) نشان دادند که میزان پلی مورفیسم ایجاد شده در برنج توسط نشانگرهای RFLP و RGA بترتیب ۳۰٪ و ۳۸٪ بوده و نتایج تنوع ژنتیک توسط این دو نشانگر با همدیگر همبستگی داشتند. نتایج آخرین مطالعات بیانگر کارایی بسیار بالای نشانگر AFLP در ترکیب با RGA می باشد. بر این اساس، نشانگر AFLP-RGA معرفی گردیده است که می تواند در ارقام پنبه تا ۵۷٪ پلی مورفیسم نشان می دهد و در تهیه نقشه ژنهای مقاومت کاندید کارایی بالایی داشته باشد (Zhang *et al.* 2007).

دندروگرام تشابه رسم شده براساس ضریب تشابه جاکارد در نمودار ۱ آمده است. مطالعه اولیه دندروگرام نشان می دهد که ارقام اصلاح شده در ایران و خارج (به جز چند رقم که ذکر آن خواهد آمد)، از یکدیگر تفکیک شده اند. علت تفکیک ژنتیکی ارقام خارجی و داخلی را می توان ناشی از فشار انتخاب بر روی ژنهای مقاومت محلی دانست. بدین ترتیب که در هر کشور، در طی برنامه های اصلاحی، ژنهای مقاومتی انتخاب و تقویت شده اند که علیه نژادهای فیزیولوژیک بیمارگرهای آن منطقه موثر بوده اند. لذا قرار گرفتن ارقام ایرانی در یک کلاستر جداگانه می تواند بدلیل قرابت ژنتیکی آنها ناشی از وجود مجموعه ژنهای مقاومت مشترک باشد. بنابراین نشانگر RGA می تواند بیانگر میزان تشابه و تنوع ژنهای مقاومت ارقام باشد. با وجود تفکیک ارقام ایرانی و خارجی، دو رقم هیرمند و انزا از این تقسیم بندی تبعیت نمی کنند. بدین ترتیب که رقم ایرانی هیرمند در کلاستر ارقام خارجی و در کنار ژوپتکو-اس واقع

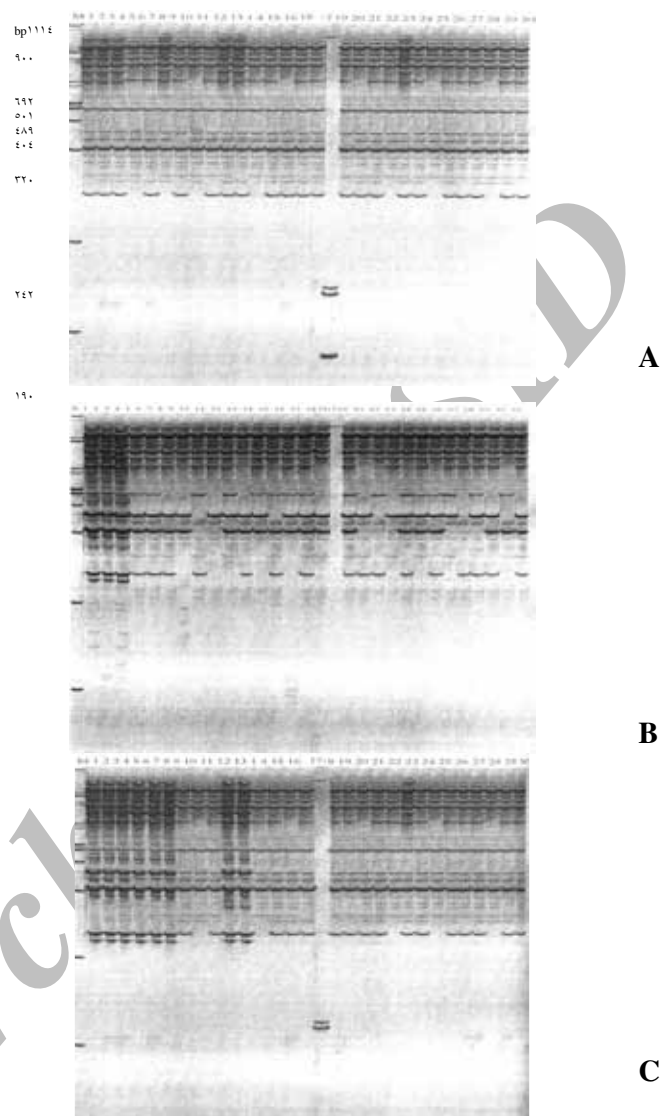
گردیده است. بررسی شجره این رقم نشانگر وجود ژوپتکو-اس در آن می‌باشد و احتمالاً هیرمند بدلیل قرابت ژنتیکی در کنار آن قرار گرفته است. وجود رقم خارجی انزا در کلاستر ارقام ایرانی و در کنار رقم شهریار نیز ممکن است به دلیلی مشابه بوده است زیرا انزا جزو شجره شهریار می‌باشد.



نمودار ۱- دندروگرام تعیین میزان خویشاوندی و تنوع ژنهای مقاومت ارقام گندم با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد.

Fig. 1. Dendrogram of genetic relatedness and resistance gene diversity in wheat using UPGMA method and Jaccard's coefficient. R: resistant; S: susceptible.





شکل ۱- نقوش الکتروفورزی قطعات تکثیر شده براساس نشانگرهای P54N (C), P810 (B), P14N (A). اعداد بیانگر شماره ارقام می باشد.

Fig. 1. Banding pattern of PCR products from P14N (A), P810 (B) and (C) P54N primer pairs. The numbers correspond to cultivars.

بررسی کلاستر ارقام ایرانی نشان می‌دهد که جایگاه اکثر ارقام در درون کلاستر تابع روابط خویشاوندی می‌باشد. به عنوان مثال ارقام شیرودی و چمران که در زیر کلاستر واحدی قرار گرفته‌اند، هر دو از آتیلا اصلاح گردیده‌اند. رقم پیشتاز که در کنار الوند واقع شده، ریشه از آن گرفته است. ارقام فلات و قدس که در یک زیر کلاستر جا دارند، دارای اجداد مشترک BB و KAL می‌باشند. کویر نیز که در کنار قدس قرار گرفته، در شجره KAL با آن مشترک است. نزدیکی شهریار و انزا می‌تواند بدلیل این باشد که انزا در شجره آن بوده است و مهدوی و شهریار که در کنار هم‌اند، دارای جد مشترک NAR می‌باشند. سه رقم ایرانی طوس، اترک و زاگرس رابطه خویشاوندی خاصی نداشته و در انتهای کلاستر ارقام ایرانی واقع شده‌اند. در مورد شجره ارقام خارجی اطلاعی در دست نبوده و لذا تحلیل دقیق آن مقدور نمی‌باشد. بررسی کلاستر بندی ارقام بر پایه تنوع ژنهای مقاومت به بیماریها نیز نتایج کمابیش مشابهی نشان می‌دهد. به عنوان مثال کلیه ارقام حساس به زنگ زرد شامل ارقام بولانی، ژوپتکو-اس، تی پی ۹۸۱، هینس پکو، هینس کولبن، آووست Yr6/6 در انتهای کلاستر در کنار هم واقع شده و سایر ارقام که مقاوم یا نیمه مقاوم‌اند، بطور نسبی از آنان تفکیک گردیده‌اند. وجود رقم مقاوم هیرمند در بین ارقام حساس می‌تواند ناشی از این باشد که ژوپتکو-اس در شجره آن بوده است. وجود رقم حساس لی در میان ارقام مقاوم ممکن است بدلیل تشابه ژنهای مقاومت به زنگ زرد مرحله گیاهچه‌ای آنها باشد زیرا ارقام لی و چاینیز ۱۶۶ که در یک زیر کلاستر واحد قرار گرفته‌اند، هر دو دارای ژنهای مقاومت به زنگ زرد یکسان (Yr6, 24, 35, 43, 45 /17) می‌باشند. رقم مورو (Yr6, 17, 35, 45/24, 43) نیز که در کنار رقم لی واقع شده است، حداقل در ژنهای مقاومت به زنگ زرد مرحله گیاهچه‌ای Yr6, 35, 45 با رقم لی مشترک است. با توجه به این نتایج بنظر می‌رسد نشانگر RGA می‌تواند بطور نسبی بیانگر میزان تشابه و تنوع ژنهای مقاومت نیز باشد. نتایج مشابهی مبنی بر تفکیک موفق ارقام مختلف جو، گندم و برنج بر پایه شجره و ژنهای مقاومت به بیماریها توسط RGA قبلاً گزارش گردیده است (Chen et al. 1998). در جو، تکنیک RGA ارقام بدون پوشینه را از پوشینه دار و ارقام مقاوم به سفیدک پودری را از حساس تفکیک نمود (زمانی‌زاده، ۱۳۸۵؛ Chen et al. 1998). همچنین ارقام برنج *Oryza sativa japonica* بطور کامل از *O. sativa indica* توسط این تکنیک تفکیک

### نتیجه

بنابر این نشانگر RGA می‌تواند ترکیبی از قرابت‌های ژنتیکی و مقاومتی ارقام را بیان نماید. از آنجائیکه این تکنیک دو صفت مختلف یعنی تنوع ژنتیکی و تنوع ژنهای مقاومت را بطور همزمان بررسی می‌نماید، کلاستر بندی حاصله ترکیبی از هر دو صفت بوده و در نتیجه ممکن است نتواند نتیجه گیری کاملاً مشخصی بر پایه تنها یک صفت ارائه دهد. با این وجود، در برنامه‌های اصلاح برای مقاومت به بیماری‌ها، غربالگری ژنومی RGA به سایر نشانگرها ارجحیت دارد زیرا نشانگر RGA بر خلاف سایر نشانگرها، به خودی خود ژنهای مفیدی را بیان می‌کند. کلیه ژنهای حاوی بخش NBS-LRR ژنهای مقاومت به بیماریها می‌باشند که مستقیماً در تشخیص پاتوزن نقش داشته یا کد کننده پروتئینی در مسیر مخابره پیام دفاعی می‌باشند. تکنیک RGA قابل تکرار و غیر رادیو اکتیو است، میزان چند شکلی حاصله بالا بوده و با ترکیبات مختلف آغازگرهای یک گروه می‌توان توالی‌های متنوعی را تکثیر نمود.

اگر کلاستر بندی ژنوتیپها توسط RGA، تنوع عملی مقاومت به بیماریها را بیان کند، این اطلاعات می‌تواند در انتخاب ارقام برای اصلاح ژنتیکی توام با اصلاح برای مقاومت به بیماریها کمک کند. اطلاعات دقیق در مورد تنوع ژنتیکی افراد، می‌تواند در پیش بینی هتروزیس به کار رود و اطلاع در مورد تنوع ژنهای مقاومت می‌تواند در هر می ساختن ژنهای مقاومت به منظور افزایش مقاومت به بیماریها کاربرد داشته باشد.

### منابع

جهت ملاحظه به صفحات (121-123) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: علیرضا حبیب‌زاده، منصوره کشاورزی، فرزاد افشاری و محمدرضا نقوی  
اهواز، موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی، کرج، موسسه تحقیقات اصلاح نهال  
و بذر، نویسنده مسئول مکاتبات mansureh\_1343@yahoo.com کرج،

پردیس کشاورزی دانشگاه تهران