

ISPAK ISLAHI VE ISPAK ISLAHINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

Yeşim DAL¹, Önder TÜRKMEN²

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Konya; ORCID: 0000-0002-3806-6465

²Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Konya; ORCID: 0000-0003-3218-6551

Geliş Tarihi / Received: 24.11.2019

Kabul Tarihi / Accepted: 30.01.2020

ÖZ

Ispanak (*Spinacia oleracea* L., $2n=2x=12$), *Amaranthaceae* familyasına ait, yüksek besin ve mineral içeriği nedeniyle sağlıklı beslenmede önemli sebze türlerinden biridir. Ekim alanlarını daha fazla genişletmenin mümkün olmadığı günümüzde, artan nüfusun besin ihtiyacını karşılamının en etkili yolu, birim alan verimini artırmaktır. Ispanakta verimdeki artış ancak hastalık ve zararlılara dayanıklı, stabilitesi yüksek ve her yörenin kendi ekolojik koşullarına uygun çeşitlerin geliştirilmesi ile sağlanabilir. Dünyada ıspanak yetiştiriciliğinin yapıldığı değişik ülkelerde, yaklaşık 200 yıldan beri ıspanak mildiyözü en tahripkâr ve ekonomik açıdan en önemli hastalık olarak tanımlanmaktadır. Hastalık doğrudan kayıplar yanında ürün kalitesini de düşürmektedir. Özellikle son 25 yılda patojenin ırk sayısının hızla artması mevcut çeşitlerin yerine yeni ırklara dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle gelişmiş ülkelerde son yıllarda patojenin genetik varyasyonu ve yeni ıspanak çeşitlerinin geliştirilmesi üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Türkiye’de önemi bilinmesine karşın bugüne kadar hastalığın yayılış ve şiddeti ile ilgili herhangi bir araştırmaya rastlanmamış olduğu gibi hastalık etmeninin ülkede bulunan ırkları hakkında da herhangi bir bilgi bulunmamaktadır. Uzun yıllar süren seleksiyonlarla genlerin belirli yönde seçilmesi genetik varyasyonu daraltmış ve istenen özellikleri taşıyan çeşitlerin klasik bitki ıslahıyla geliştirilmesini zorlaştırmıştır. Markör destekli seleksiyon (MAS) klasik bitki ıslahında karşılaşılan sorunları çözmek için kullanılan alternatif ve yardımcı bir tekniktir. Markör destekli seleksiyon agronomik olarak önemli ve birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen karakterlerin hızlı bir şekilde aktarılmasına olanak sağlamaktadır. Markör destekli seleksiyon tek başına klasik ıslahın yerine kullanılamamakla birlikte, klasik ıslahın başarısını arttıran tamamlayıcı ve destekleyici teknikler olarak kabul edilmektedir. Bu derleme, ıspanakta kullanılan klasik ve moleküler temelli ıslah yöntemleri ve ıspanak ıslahındaki güncel hedefler sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Ispanak, bitki ıslahı, markör destekli seleksiyon

SPINACH BREEDING AND NEW APPROACHES IN SPINACH BREEDING

ABSTRACT

Spinach (*Spinacia oleracea* L., $2n=2x=12$) is a plant belonging to the *Amaranthaceae* family. Spinach is an important vegetable species in healthy diet because of its high nutritional and mineral content. Nowadays, it is not possible to expand the cultivation areas further therefore, the most effective way to meet the nutritional needs of the growing population is to increase the yield per unit area. Yield increase in spinach can only be achieved by developing varieties that are resistant to diseases and pests and which are suitable for each region’s own ecological conditions. Spinach mildew has been described as the most destructive and economically most important disease for nearly 200 years in different countries where spinach is cultivated in the world. The disease, decrease product quality as well as direct losses. New races of this pathogen have been emerging at a rapid rate over the last 25 years. Therefore, in recent years, research has focused on the genetic variation of the pathogen and the development of new spinach varieties in developed countries. The selection of genes in certain directions through long years of selection narrowed the genetic variation. Therefore, varieties with the desired characteristics have become difficult to develop with classical plant breeding. Marker assisted selection (MAS) is an alternative and ancillary technique used to solve problems encountered in classical plant breeding. Marker assisted selection allows for the rapid transmission of agronomically important characters controlled by multiple genes or loci. Marker assisted selection alone cannot be used in place of classical plant breeding. MAS is considered to be complementary and supportive techniques that increase the success of classical breeding. This review presents classical and molecular based breeding methods used in spinach and current objectives in spinach breeding.

Keywords: Spinach, plant breeding, marker assisted selection

¹Sorumlu yazar / Corresponding author: dalyesim@gmail.com

GİRİŞ

Ispanak (*Spinacia oleracea* L.) *Amaranthaceae* familyasına ait tarımı yapılan tek yıllık bir bitkidir. Ispanak başlangıçta Güneybatı Asya'da ortaya çıkarken 14. yüzyılda Araplar tarafından İspanya'ya daha sonrada 16. yüzyıldan itibaren Avrupa'da yaygın olarak yetiştirildiği bilinmektedir. İlk önceleri tohumları dikenli olan *Spinacia oleracea* var. *inermis* üretilmiş daha sonrada tohumları dikensiz olan ıspanaklar yayılmıştır. Ispanak en besleyici sebzelerden biri olarak kabul edilmekle, beta karoten ve folat, kalsiyum, fosfor, demir, potasyum, B vitamini ve C vitamini gibi yüksek miktarda mineral ve vitamin içeriği nedeniyle hem taze tüketim hem de işleme için kullanılan önemli bir bitkisel üründür [35, 31, 11]. Bunların dışında ıspanak, yaşla ilgili makula dejenerasyonunu önleyen bir karotenoid olan yüksek düzeyde lutein içerir [29].

Dünyada ıspanak üretiminde Çin (26 milyon ton) ilk sırada yer almaktadır. Çin'i sırasıyla ABD (332 bin ton), Japonya (240 bin ton) ve Türkiye (222 bin ton) takip etmektedir [14]. Türkiye 4.700 ton ıspanak ihracatı karşılığında 3.8 milyon dolar ihracat geliri elde etmiş ve yine aynı yıl 9 tonluk ithalat gerçekleştirilmiştir [37].

Ispanak birçok iklimde başarıyla yetişmesine rağmen tohum üretimi için uzun gün koşullarını tercih etmektedir. Ispanak, genellikle dioik çiçek yapısına sahip bir bitki türüdür. Cinsiyet, çift cinsiyet kromozomları (XY) tarafından kontrol edilir [9, 28]. XX kromozomlarına sahip bitkiler dişi, XY kromozomlarına sahip bitkiler ise erkek karakter göstermektedir. Bunun dışında farklı çiçek yapısına sahip bitkilerde görülmektedir. Ispanak yetiştiriciliğinde F₁ hibrit çeşit kullanımı yaygındır. F₁ tohum genellikle iki evcikli (dioik) hatlardan elde edilmektedir. Monoik bitkilerden elde edilen genotipler genellikle standart tohumluk eldesinde kullanılmakla birlikte, zorunlu hallerde F₁ çeşit eldesinde de kullanılabilir. Ispanak tohumluk eldesinde de kullanılabilir.

Ispanak yaprak yapısına göre 3 tipe ayrılmaktadır. Bunlar; kıvrıkcık kabartılı (savoy) yapraklara sahip taze tüketim için üretilenler, düz yapraklı kıvrımsız (semi-savoy) genellikle gıda sanayine yönelik üretilenler ve son olarak da (baby leaf) bebek mamaları ve salatalarda hoş tadı ve nazik yapısı için kullanılmak üzere üretilen yapılarıdır. Ticari olarak genellikle üreticiler tarafından, kıvrıkcık olmayan düz yapraklı çeşitlerin üretimi, yaprak sapının mekanik hasada

uygunluğu ve bitkilerin düzgün görünüşü için tercih edilmektedir [25].

Tüm Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de ıspanak yetiştiriciliğinde en önemli problem ıspanak mildiyösünün oluşturduğu zarardır. Ispanak mildiyösü ıspanak tarımının yapıldığı tüm alanlarda sorun oluşturmaktadır. Tüm ıspanak ıslahı programlarında bu hastalığa dayanıklılık en önemli hedeflerden birisidir [29, 9].

Ispanak Mildiyösü (Peronospora farinosa f.sp. Spinaciae), Zarar Mekanizması, Mücadelesi ve Dayanıklılık

Dünyada ıspanak yetiştiriciliğinin yapıldığı değişik ülkelerde, yaklaşık 200 yıldan beri ıspanak mildiyösü en önemli hastalık olarak tanımlanmaktadır [3, 15]. Hastalığa neden olan etmen *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae* obligat parazit olup ıspanağa özelleşmiş bir patojendir. Ispanak mildiyösü ile ilgili dünyadaki ilk kayıt 1824 yılına aittir. Daha sonra 1950 yılında etmenin 1 no.lu ırkına karşı dayanıklılık lokusu belirlenmiş ve bu dayanıklılığı taşıyan ticari çeşitler geliştirilmiştir. Bunu takiben 1958'de 2 no.lu ırk ve 1976'da 3 no.lu ırk ortaya çıkmıştır. Söz konusu 3 ırka karşı dayanıklı melez çeşitler geliştirilmiş, ancak 1990'da ırk 4, 1996'da ırk 5, 1998'de ırk 6, 1999'da ırk 7, 2004'de ırk 8, 9 ve 10, 2008'de ırk 11, 2009'da ırk 12, 2011'de ırk 13, 2012'de ırk 14, 2014'de ırk 15 ve son olarak da 2016'da ırk 16 saptanmıştır [1, 28, 23, 24, 32]. Irk sayısının son yıllarda hızla artması; ıspanak üretilen alanların genişlemesi, ıspanak talebinin artması sonucu yetiştiriciliğin tüm yıla yayılması, farklı çeşitlerin devreye girmesiyle daha sık tohum ekiminin yapılması, oosporların tohumla taşınabilmesi nedeniyle yeni ırkların farklı alanlara kolayca yayılabilmesi, iklim koşullarındaki değişiklikler [19], heterotallik olan patojenin her iki eşey tipinin varlığı ile eşeyli üremenin gerçekleşmesi veya patojenin endemik hatlarının mutasyonları gibi değişik faktörlere bağlanmaktadır [15].

Etmen ıspanak yaprakları üzerinde sınırları belirsiz sarı lekeler oluşturmakta, özellikle nemli koşullarda bu lekelerin yaprakların alt yüzüne gelen kısımlarında gri-menekşe renkte küf tabakası yani etmenin sporları oluşmaktadır. Hastalık tüm yaprağı kaplayarak bitkinin ölümüne neden olabilmektedir. İklim koşullarının hastalık için uygun olması durumunda hızla gelişen epidemiler kısa sürede tüm ürünün kaybına neden

olabilmektedir. Hastalık doğrudan kayıplar yanında ürün kalitesini de düşürmektedir [34, 6, 8, 9]. Buna ek olarak mildiyö ile bulaşık ıspanakların hasat edilmesi ıspanağın raf ömrünü de kısaltmaktadır. Bu durum çiftçileri mildiyö hastalığına dayanıklı hibrit çeşitlerle üretim yapmaya zorlamaktadır. Patojen, toprak, bulaşık bitki artıkları ve tohum kaynaklı olabilmektedir. Hastalıkla mücadelede temiz tohumluk kullanımı, ekim nöbeti, sık ekimden kaçınmak gibi kültürel önlemler yanında, hastalık belirtileri görülmeye başlandıktan sonra kimyasal preparatların kullanımı önerilmektedir. Ispanağın yaprağı tüketilen bir sebze olması nedeniyle hasattan sonra ürün üzerinde bulunabilecek fungusit kalıntıları insan sağlığı açısından risk taşımaktadır. Bu nedenle en etkin ve güvenli mücadele yöntemi olarak dayanıklı çeşit kullanımı önem kazanmaktadır.

Obligat patojen olan *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae* Byford (= *P. effusa*), spesifiktir ve ıspanak dışındaki diğer bitkilerde hastalık oluşturmamaktadır. Bu hastalığın yeni ırkları son 15 yılda hızla artmış ve günümüzde ıspanakta mildiyö hastalığına neden olan 16 farklı ırkı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Hastalığın bu ırklarına karşı dayanıklılık sağlayan 6 farklı dayanıklılık lokusu (RPF1-RPF6) olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 1’de belirtilen ıspanak genotiplerinin yanı sıra; taşıdıkları R lokusları ve farklı ırklara gösterdikleri dayanım durumları (update on downy mildew spinach) belirlenmiş olan ıspanak genotipleri de aşağıda verilmiştir [15, 7].

RPF1 lokusu patojenin 1-7, 9, 11, 13, 15 ırklarına dayanıklılık sağlamaktadır. RPF3 lokusu ise patojenin 1, 3, 5, 8, 9, 11, 12, 14 ırklarına karşı dayanıklılığa neden olmaktadır. Çizelgeden de görüldüğü gibi RPF1 ve RPF3 ıspanakta mildiyöye karşı dayanımda birbirinin tamamlayıcısıdır [15]. Her iki lokus da baskın (dominant) karakterde olduğundan bu iki lokusun heterozigot olarak hibrit çeşitte bir araya getirilmesi ile hastalığın 10. ırkı hariç bütün ırklarına karşı dayanıklılık sağlamaktadır.

Son yıllarda patojenin ırk sayısının hızla artması mevcut çeşitlerin yerine yeni ırklara dayanıklı yeni çeşitlerin geliştirilmesi zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu nedenle gelişmiş ülkelerde son yıllarda patojenin genetik varyasyonu ve yeni ıspanak çeşitlerinin geliştirilmesi üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır [28, 15]. Türkiye’de ise bitki hastalıkları ile ilgili ilk yayınlarda ıspanak mildiyösünün serin ve

yağışlı bölgelerde yaygın olduğu bildirilmektedir [2, 20]. Hastalığın önemi bilinmesine karşın Türkiye’de bu etmenin bulunan ırkları hakkında net bir bilgiye ulaşılamamıştır. Buna karşın, dünyada özellikle Avrupa’da bulunan ırklara karşı dayanıklı olduğu belirtilen uluslararası firmalarda geliştirilmiş hibrit tohumluklar üreticiye yüksek fiyatlarla sunulmaktadır.

Çizelge1. *Peronospora farinosa* f. sp. *spinaciae*’ya dayanıklılık sağlayan 6 farklı lokusun hastalığın 15 ırkına karşı dayanıklılık

Lokus	İrklar															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
RPF1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-
RPF2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
RPF3	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-
RPF4	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
RPF5	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RPF6	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-

‘+’ hassas; ‘-’ dayanıklı

Ispanak Islahı

Son yıllara kadar, ıspanak üretim hacmi pek çok kültür bitkisi ile kıyaslandığında minör bir bitki oluşu, bu bitkide genetik kaynaklar ve potansiyelin belirlenmesine yönelik çalışmaların sınırlı kalmasına neden olmuştur [6]. Diğer taraftan, ıspanağın rüzgârla tozlanan dioik bir bitki olması ıslah sürecinin diğer bitkilerden farklı olmasına neden olmaktadır. Bu bağlamda pratikte saf hat eldesinde teorik olarak kendileme çalışmaları yerine tam kardeşlerle saflaştırma yoluna gidilme zorunluluğu vardır. Bu ise saf hat eldesinde sürecin uzamasına neden olmaktadır. Ayrıca, bitki ıslah programlarında moleküler markör kullanımının yaygın şekilde yer bulmuş olmasına rağmen, ıspanakta hastalığa dayanıklılık gibi önemli özelliklere yönelik ıslahta henüz moleküler markörlerin kullanımı yeterince gerçekleştirilebilmiş değildir [18]. Ispanak genomu henüz yeterli çözünürlükte haritalanmıştır ve germplasm karakterizasyonuna ilişkin raporlar ve dolayısı ile geliştirilmiş markörler sınırlı sayıdadır [16, 17, 21, 22].

Değişen küresel şartlara adapte olabilen, tüketicilerin ve üreticilerin taleplerine uygun yeni çeşitlerin kazandırılması ıslah çalışmalarının temel amacını oluşturmaktadır. Burada hem bitkinin verim ve verim kompenetlerinin geliştirilmesi hem de bitkinin maruz kaldığı biotik ve abiotik stres unsurlarına dayanım göstermesi bir zorunluluktur. Stres unsurlarına karşı dayanımı

sağlayan gen veya genleri belirlemek, bunları ıslah programında kullanarak dayanıklı bireyler elde etmek ıslahın temel hedeflerindedir.

Ispanak yukarıda da değinildiği gibi verimliliği sınırlandıran en önemli patojen ıspanak midiyösüdür [7]. Islah programlarında mildiyö hastalığına karşı direnci tanımlamak için patojenite dayanıklılık testleri yapılmaktadır [28]. Ancak hastalık etmeninin obligat bir patojen olmasından dolayı patojenin izolatlarının canlı dokular üzerinde saklanması gereklidir. Patojenite testleri, zaman alıcı, çok fazla işgücü isteyen, çevre koşullarından da etkilenen metotlardır. Buna ek olarak ıslah çalışmalarında dayanıklı bitkiler belirlenirken inokülasyon için gerekli olan hastalık etmeninin uygun koşullarda saklanması ve üretilmesi de gerekmektedir. Bu çalışmaların daha kolay ve hızlı bir şekilde yürütülebilmesi için önerilebilecek en etkili yöntem ise moleküler işaretleyicilerden yararlanılarak yapılan seleksiyondur (MAS).

Marker destekli seçim (MAS), ürünün iyileştirilmesinde spesifik genlerin/allellerin seçiminde genelde başarıyla kullanılmaktadır [27, 4, 5, 39]. MAS uygulamaları ile seleksiyon hızı ve etkinliği artırılabilir. Geliştirilmiş yeni nesil dizileme (NGS) ile artık herhangi bir bitki için milyonlarca tek nükleotid polimorfizmi (SNP) keşfetmek ve bu markerleri istenen fenotipik özelliklere bağlamak mümkündür. Sıralama yoluyla genotipleme (GBS) kullanılarak NGS (yeni nesil dizileme) teknolojilerinin DNA dizilimi, genom dizilimi ve SNP keşfi için bitkiler de dahil olmak üzere çok çeşitli organizmalara uygulanabilmektedir [38, 13]. GBS, örnek işlemeyi azaltan, daha az PCR ve saflaştırma aşaması gerektiren, boyut kesilmesi olmayan ve ucuz barkotlama kullanan, azaltılmış gösterim kütüphaneleri oluşturmak için basit, çok katlı bir sistem kullanan yeni nesil dizileme platformlarını kullanan genotipleme yaklaşımları arasındadır [13]. GBS, genetik özellik haritalama ve birleştirme için hızlı ve daha ucuz bir yaklaşım olup, moleküler ıslahta kullanılabilmektedir. Böylece ıslahçının, genom ve GBS için önceden geniş bir bilgi birikimine sahip olan ve olmayan herhangi bir germplazma veya tür üzerinde genomik seçim yapmasına olanak sağlayabilmektedir [36, 12, 30]. Bu nedenle, bir GBS platformu kullanmak, genom çapında SNP keşfi, genetik çeşitlilik analizi, genetik harita yapımı, bağlantı haritası, genom çapında

ilişkilendirme ve ıspanakta MAS için güçlü bir yaklaşım olabilir [10, 33, 26].

Ispanağın rüzgârla tozlanan dioik bir bitki olması ıslah sürecinin diğer bitkilerden farklı olmasına neden olur. Bu farklılıklar üretim yapılan alanlarda ekolojik koşullar tarafından da etkilenir. Örneğin yazları serin geçen alanlarda melezlemeler ve saflaştırma (kardeşler arası dölleme) için izolasyonu sağlayan küçük çadırlar kullanılabilir. Ayrıca bitkiler generatif evreye geçtiği zaman bitkilerin cinsiyeti belirlenebilir daha sonrasında bitkiler bu izolasyon çadırlarına yerleştirilir. Dişi bitkiler her zaman erkek bitkilerin etrafını saracak şekilde yerleştirilir. Bu işlem polenlerin dişi bitkilere uçuşunu kolaylaştırır ve aynı zamanda yabancı bir polen tanesinin kafese girmesi ve dişi bitkileri tozlaştırması olasılığını azaltır. Dölleme sağlandıktan sonra bireysel kafeslerde olgunlaşmaya izin verilir. Tohum daha sonra toplanır, temizlenir ve belli taramaların yapılabilmesi için geri ekim yapılır ve daha büyük ölçekli testler için yeterince düzgün olana kadar döngü tekrarlanır. Ispanakta klasik ıslah yöntemleri önemli agronomik özelliklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Ancak sürecin uzun, emeğin yoğun ve ekonomik unsurlar gibi başlıca nedenlerle, tek başına klasik ıslah yöntemleri ile elde edilen çıktılar, artan gıda ihtiyacı, hastalık ve zararlılar gibi etmenlere karşı artan talebi karşılamak için yeterli olamamaktadır.

SONUÇ

Son dönemlerde bitki moleküler genetik çalışmaları ile ıspanak bitkisine özel yeni markör setleri geliştirilmiştir. Ancak hala sayı birçok bitki türüne kıyasla yok denilecek kadar azdır. Çalışmaların azlığından ziyade çalışmalar sonucu elde edilen verilerin yayınlanmadığı ve bu bilgilerin çok uluslu şirketlerin bilgileri dahilinde olduğu düşünülmektedir. Ispanak için geliştirilen markörler olası tüm moleküler genetik çalışmalarda kullanılabilecek olup bilimsel literatürde çok önemli bir katkı sağlayacak aynı zamanda MAS uygulamalarının hızlanması gereken ıspanak bitkisinde önemli bir veri kaynağı olacaktır. Yeni nesil DNA dizileme teknolojileri ile birlikte farklı genetik altyapılara sahip çeşit ve ıslah materyalleri birlikte analiz edilerek özellikle hastalık dayanıklılığı alanında bağlantı haritalamaları çalışmalarına göre çok daha yüksek çözünürlükte ve ilgilenilen fenotipe sıkı sıkıya

bağlı markörler geliştirilmesi düşünülmektedir. Markör destekli seleksiyon tek başına klasik ıslahın yerine kullanılamamakla birlikte, klasik ıslahın başarısını arttıran tamamlayıcı ve destekleyici teknikler olarak kabul edilmektedir. Bu derleme, ıspanakta kullanılan klasik ve moleküler temelli ıslah yöntemleri ve ıspanak ıslahındaki güncel hedefler sunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Brandenberger, L.P., Morelock, T.E., Correll, J.C., 1992. Evaluation of spinach germplasm for resistance to a new race (race 4) of *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae*. *Hortscience* 27:1118-1119.
2. Bremer, H., 1954. Türkiye fitopatolojisi, bahçe kültürleri hastalıkları. *Ziraat Vekâleti Neşriyat ve Haberleşme Müdürlüğü, Ankara*, 3:295.
3. Choi, Y., Thines, M., Han, J., Shin, H., 2011. Mitochondrial Phylogeny reveals intraspecific variation in *Peronospora effusa*, the spinach downy mildew pathogen. *The Journal of Microbiology* 49:1039-1043.
4. Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B., Pang, E.C.K., 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica* 142:169-196.
5. Collard, B.C.Y., Mackill, D.J., 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B.12*; 363:557-572. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2170> PMID:17715053.
6. Correll, J.C., Bluhm, B.H., Feng, C., Lamour, K., du Toit, L.J., Koike, S.T., 2011. Spinach: better management of downy mildew and white rust through genomics. *European Journal of Plant Pathology* 129:193-205.
7. Correll, J.C., C. Feng, M.E. Matheron, M. Porchas, S.T. Koike, 2017. Evaluation of spinach varieties for downy mildew resistance. *Plant Disease Management Reports* 11:108.
8. Correll, J.C., Feng, C., Irish, B.M., Koike, S.T., Morelock, T.E., Bentley, T.C., Tomlinson, A.N., 2007. Spinach downy mildew: overview of races and the development of molecular markers linked to major resistance genes. *Pages 135-142 in: Advances in downy mildew research, vol. 3. A.S.P. Lebeda, P.T.N., ed.*
9. Correll, J.C., Morelock, T.E., Black, M.C., Koike, S.T., Brandenberger, L. P., Dainello, F.J., 1994. Economically important diseases of spinach. *Plant Disease* 78:653-660.
10. Deschamps, S., Llaca, V., May, G.D., 2012. Genotyping by sequencing in plants biology 1:460-483.
11. Dicoteau, D.R., 2000. Vegetable crops. 221-237 *Prentice Hall*.
12. Elmer, I., Humira, S., François B., 2015. Association mapping of QTLs for sclerotinia stem rot resistance in a collection of soybean plant introductions using a genotyping by sequencing (GBS) approach. *BMC Plant Biol.* 15(1):5.
13. Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun Q., 2011. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PloS One* 6(5):19379.
14. FAO, 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/qc> (Erişim Tarihi: Kasım 2019).
15. Feng, C., Correll, J.C., Kammeijer, K.E., Koike, S.T., 2014. Identification of new races and deviating strains of the spinach downy mildew pathogen *Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae*. *Plant Disease* 98:145-152.
16. Groben, R., Wricke, G., 1998. Occurrence of microsatellites in spinach sequences from computer databases and development of polymorphic SSR markers. *Plant Breeding* 117:71-274.
17. Hue, J., Mou, B., Vick, B.A., 2007. Genetic diversity of 38 spinach (*Spinacia oleracea* L.) germplasm accessions and 10 commercial hybrids assessed by TRAP markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 54(8):1667-1674.
18. Irish, B., M., Correll, J.C., Feng, C., Bentley, T., De Los Reyes, B.G., 2008. Characterization of a resistance locus (Pfs-1) to the spinach downy mildew pathogen (*Peronospora farinosa* f.sp. *spinaciae*) and development of a molecular marker linked to Pfs-1. *Phytopathology* 98(8):894-900.
19. Irish, B.M., Correll, J.C., Koike, S.T., Morelock, T.E., 2007. Three new races of the spinach downy mildew pathogen identified by a modified set of spinach differentials. *Plant Disease* 91:1392-1396.
20. Karaca, İ., 1965. Sistematik bitki hastalıkları (*Phycomycetes, Basidiomycetes*) Cilt 2. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayın No: 107, İzmir, 180s.*
21. Khatkhat, J.Z.K., Torp, A.M., Andersen, S.B., 2006. A genetic linkage map of *Spinacia oleracea* and localization of a sex determination locus. *Euphytica* 148:311-318.

22. Khattak, J.Z.K., Christiansen, L., Torp, AM., Andersen, SB., 2007. Genic microsatellite markers for discrimination of spinach cultivars. *Plant Breed.* 126(4):454-456.
23. Koike, S.T., 2012. Race 15 new spinach downy mildew race confirmed. (<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=15035>; Erişim Tarihi: Kasım 2019).
24. Koike, S.T., Correll, J., 2014. Race Pfs:14 another new race of the spinach downy mildew pathogen (<http://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=8353>; Erişim Tarihi: Kasım 2019).
25. Lestrangé, M., Koike, S., Valencia, J., Chaney, W., 1999. Spinach production in California. *Vegetable Research and in Information Center of America, Vegetable Production Series. University of California Division of Agriculture and Natural Resources* 653-659.
26. Minoche, A.E., Dohm, J.C., Schneider, J., Holtgrawe, D., Viehover, P., Montfort, M., 2015. Exploiting single molecule transcript sequencing for eukaryotic gene prediction. *Genome Biol.* 16:184.27.
27. Moose, S.P., Mumm, R.H., Molecular plant breeding as the foundation for 21. Century crop improvement. *Plant Physiol.* 2008. 147:969-977. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118232> PMID: 18612074.
28. Morelock, T.E., Correll, J.C., 2008. Spinach breeding. In *J. Prohens & F. Nuez (Eds.). Vegetables I pp:183-212. New York: Springer.*
29. Morelock, T.E., Correll, J.C., 2008. Spinach, handbook of plant breeding. Ed. *J. Prohens, F. Nuez, M.J. Carena. (pp:196-199). Springer Science.*
30. Nimmakayala, P., Levi, A., Abburi, L., Abburi, V.L., Tomason, Y.R., Saminathan, T., 2014. Single nucleotide polymorphisms generated by genotyping by sequencing to characterize genome-wide diversity, linkage disequilibrium and selective sweeps in cultivated watermelon. *BMC Genomics* 15(1):767.
31. Nonnicke, I.L., 1989. Vegetable production. *Van Nostrand Reinhold.*
32. Plantum, 2016. Denomination of Pfs: 16, a new race of downy mildew in spinach (<http://www.plantum.nl/321519635/document?documentregistrationid=780926983>; Erişim Tarihi: Kasım 2019).
33. Poland, J.A., Rife, T.W., 2012. Genotyping by sequencing for plant breeding and genetics the plant. *Genome* 5:92-102. (doi:10.3835/plantgenome2012.05.0005).
34. Richards, M.C., 1939. Downy mildew of spinach and its control. *Cornell Univ. Agr. Expt. Sta. Bull.* 718.
35. Ryder, E.J., 1979. Leafy salad vegetables. *New York: AVI.*
36. Schmitz-Linneweber, C., Maier, R.M., Alcaraz, J., Cottet, A., Herrmann, R. Gl, Mache, R., 2001. The plastid chromosome of spinach (*Spinacia oleracea*): complete nucleotide sequence and gene organization. *Plant Molecular Biology.* 45:307-315.
37. Sonah, H., Bastien, M., Iquira, E., Tardivel, A., Legare, G., 2013. An improved genotyping by sequencing (GBS) approach offering increased versatility and efficiency of SNP discovery and genotyping. *PLoS One* 8:54603.
38. TÜİK, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu (<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>; Erişim Tarihi: Kasım 2019).
39. Van Dijk, EL., Auger, H., Jaszczyszyn, Y., Thermes, C., 2014. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet.* 30(9):418-26. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.07.001> PMID: 25108476.
40. Xu, Y., Crouch, JH., 2008. Marker assisted selection in plant breeding: from publications to practice. *Crop Sci.* 48:391-407.