

GEENIEN VAIKUTUS MANSIKAN AISTITTAVIIN OMINAISUUKSIIN

TkK-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biotekniikka
5/2024
Adèle Rouvinen

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

ADELE ROUVINEN: Geenien vaikutus mansikan aistittaviin ominaisuuksiin

Kandidaatin tutkielma, 20 s.

Biotekniikka

5/2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavia piirteitä on tutkittu jo melko paljon. Tämä tutkielma kokoaa tietoa näihin ominaisuuksiin vaikuttavista geeneistä, minkä avulla tiedon löytäminen aiheeseen liittyvää kehitystyötä varten helpottuu. Eri mansikkalajikkeita on kehittynyt ja niitä on kehitetty vuosien mittaan risteytymällä, ja näiden uusien mansikkalajikkeiden aistittaviin ominaisuuksiin ovat vaikuttaneet emolajit. Esimerkiksi nykyinen kaupallinen mansikka *Fragaria x ananassa* on risteytys *F. virginianan* ja *F. chiloensis* välillä. Sen ominaisuuksiin vaikuttaa kuitenkin suuresti *F. vesca*, joka on yksi *F. x ananassa* alagenomeista, sillä *F. vesca* genomilla ilmenee voimakkaammin kuin monen muun lajikkeen genomilla. Mansikan miellyttävyyteen vaikuttavat muun muassa mansikan flavori ja ulkomuoto. Flavoriin vaikuttavat mm. sokerit, esterit, furanonit ja tanniinit, ja tärkeimmät flavoriin vaikuttavat geenit ovat *o*-metyylitransferaasigeeni (*FaOMT*), *AAT:n SAAT-* ja *FaAAT2*-geenit sekä nerolidolia syntetisoiva *FaNES1*-geeni. Ulkomuotoon vaikuttavat antosyaanit, joita säätelee *MYB-bHLH-WD40*-kompleksi, ja jotka pääasiassa määräävät mansikan värityksen, sekä kokoon ja muotoon vaikuttavat auksiini ja gibberelliinihappo, joiden pääasiallinen säätelijägeeni on *FveAGL62*. Näitä kaikkia yhdisteitä ja niiden biosynteesijä säätelävillä geeneillä on suuri rooli aistittavien ominaisuuksien synnyssä. Nykypäivänä risteyttämisen lisäksi aistittavia ominaisuuksia pystytään kehittämään markkeriavusteisen jalostuksen avulla. Tutkielmaan koottujen tietojen avulla eri lajikkeiden kehittäminen aistittavien ominaisuuksien parantamiseksi helpottuu.

Asiasanat: mansikka, risteytys, geeni, flavori, väritys, ulkomuoto

Sisällys

1 Johdanto	2
2 Geenien vaikutus lajikohtaisesti ja niiden hyödyntäminen mansikan ominaisuuksien kehityksessä	4
2.1 Puutarhamansikka <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i>	4
2.2 Ahomansikka <i>Fragaria vesca</i>	6
2.3 Muita lajeja ja hybridejä	7
3 Aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät ja geenit	9
3.1 Haju, maku ja flavori	9
3.2 Väri, koko ja muoto	11
3.3 Suutuntuma ja kemotunto	13
3.4 Uusien teknologioiden käyttö mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavien geenien määrittämisessä	15
4 Tulevaisuudennäkymät	17
5 Yhteenveto	18
Lähteet	19

1 Johdanto

Mansikka kuuluu ruusukasvien (Rosaceae) heimoon (Rey-Serra ja muut 2021), ja se luokitellaan epähedelmäksi, sillä se ei kasva munasolusta vaan kukkapohjuksesta (Schaart ja muut 2002). Mansikkaa alettiin käyttää ensimmäistä kertaa vuonna 1588. Tällöin mansikkaa käytettiin vain lääketieteellisiin tarkoituksiin, mutta myöhemmin Carl von Linnén ansiosta mansikasta tuli yleisesti syötävä hedelmä. (Ikram ja muut 2019.) Sen jälkeen mansikasta on tullut yksi tärkeimmistä ravintona käytetyistä hedelmistä. Mansikan maailmanlaajuinen kulutus on kaksinkertainen kaikkien muiden marjojen yhteiskulutukseen verrattuna, ja Yhdysvalloissa mansikan kulutus asukasta kohti on kaksinkertaistunut vuodesta 1970 vuoteen 2004. Nykypäivänä kulutetuin mansikka on puutarhamansikka, eli *Fragaria* × *ananassa*. (Liston ja muut 2014.)

Jo luonnostaan mansikoiden geenit ovat mukautuneet ilmaston, tautien vastustuskyvyn ja satoisuuteen liittyvien ominaisuuksien mukaisesti. Tämän takia mansikan eri lajikkeita esiintyy hyvin erityyppisissä ilmastoissa, kuten aavikkoisilla alueilla, mutta myös kosteimmilla alueilla ja jopa korkealla vuoristoissa. (Liston ja muut 2014.) Myös mansikoiden ominaisuuksien muokkaamista on tutkittu ja toteutettu pitkään. 1700-luvulla ensimmäinen mansikan risteytys saatiin onnistuneesti aikaan Ranskassa, joka oli siihen aikaan mansikan viljelyn edelläkävijä. (Ikram ja muut 2019.) Samalla vuosisadalla tutkimusten tuloksena saatiin selville, että onnistuneen mansikan tuottoon tarvitaan sekä naaras- että uroskasvi, joka tarkoittaa siis, että mansikka on kaksikotinen, eli sillä on kaksi sukupuolta. Ensimmäistä kertaa tieto esiintyi Antoine Nicolas Duchesnen kirjassa *Remarques Particulières* (suom. *Erityisiä Huomioita*). Tämän seurauksena Duchesne pölytti onnistuneesti *Fragaria chiloensis* -lajin hedekasvin *Fragaria moschata* -lajin emikasvin siitepölyllä, ja onnistui siten tuottamaan uusia suurikokoisia mansikoita. Duchesne yritti myös risteyttää *F. vescan* *F. chiloensiksen* kanssa tuloksetta. Noin puolitoista vuosisataa myöhemmin *Fragaria*-lajikkeista löydettiin polyploideja, jolloin Duchesnen risteytysyrityksen epäonnistumisen syyksi selvisi lajikkeiden kromosomien määrän eroavuus. Samoin Duchesnen aiemmin onnistunut risteytys oktoploidin *F. chiloensiksen* ja heksaploidin *F. moschatan* välillä tuotti täysin steriilin mansikan. Sekä lajien sukupuolijakaumaa että *Fragarian* polyploidisuutta on pidetty huonoina ominaisuuksina, sillä ne ovat estäneet monien risteytysten tekemistä. (Liston ja muut 2014.)

Suurin osa mansikan geneettisistä tutkimuksen ja kehityksen kohteista keskittyy viljelyyn liittyviin ominaisuuksiin, kuten esimerkiksi sen sadon runsauteen sekä ilmastosopeutumiskykyyn. Kuitenkin yksi mansikan arvostetuimmista ominaisuuksista on sen omalaatuinen maku. Myös muut aistittavat ominaisuudet, kuten mansikan ulkomuoto, ovat arvostettuja ominaisuuksia. (Liston ja muut 2014.) Tämän tutkielman tarkoituksena on keskittää huomio erityisesti mansikan aistittaviin ominaisuuksiin ja niihin vaikuttaviin geeneihin, jotta paremman tuotannon lisäksi mahdollistettaisiin myös kuluttajalle parhaan mahdollisen mansikan kehittäminen.

2 Geenien vaikutus lajikohtaisesti ja niiden hyödyntäminen mansikan ominaisuuksien kehityksessä

Mansikan eri lajikkeet ovat kyenneet sopeutumaan erityyppisiin ilmastoihin, ja niitä löytyy niin Aasiasta, Pohjois- ja Etelä-Amerikasta kuin Euroopastakin. (Edger ja muut 2019.)

Eri mansikkalajikkeet ovat keskenään hyvin erilaisia, ja juuri siksi ne ovat niin sopeutumiskykyisiä. Yksi suurimmista eroista, joka on vaikuttanut eri mansikkalajien muodostumiseen, on eri lajien lisääntymiserot. Mansikat voivat olla joko kaksikotisia, hermafrodiitteja tai molempia. Tämän takia vain tietyt mansikoiden risteymät toimivat. (Liston ja muut 2014.) Eri mansikkalajeilla on myös eri määrä kromosomeja. Mansikoita on olemassa niin diploideja kuin erilaisia polyploidejakin (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019; Liston ja muut 2014). Tämä on vaikuttanut mansikan aistittaviin ominaisuuksiin ja muihinkin piirteisiin, ja se on lisääntymiseröjen kanssa vaikeuttanut eri lajikkeiden risteyttämistä, ja siten estänyt tiettyjen ominaisuuksien saattamista yhteen. (Liston ja muut 2014.)

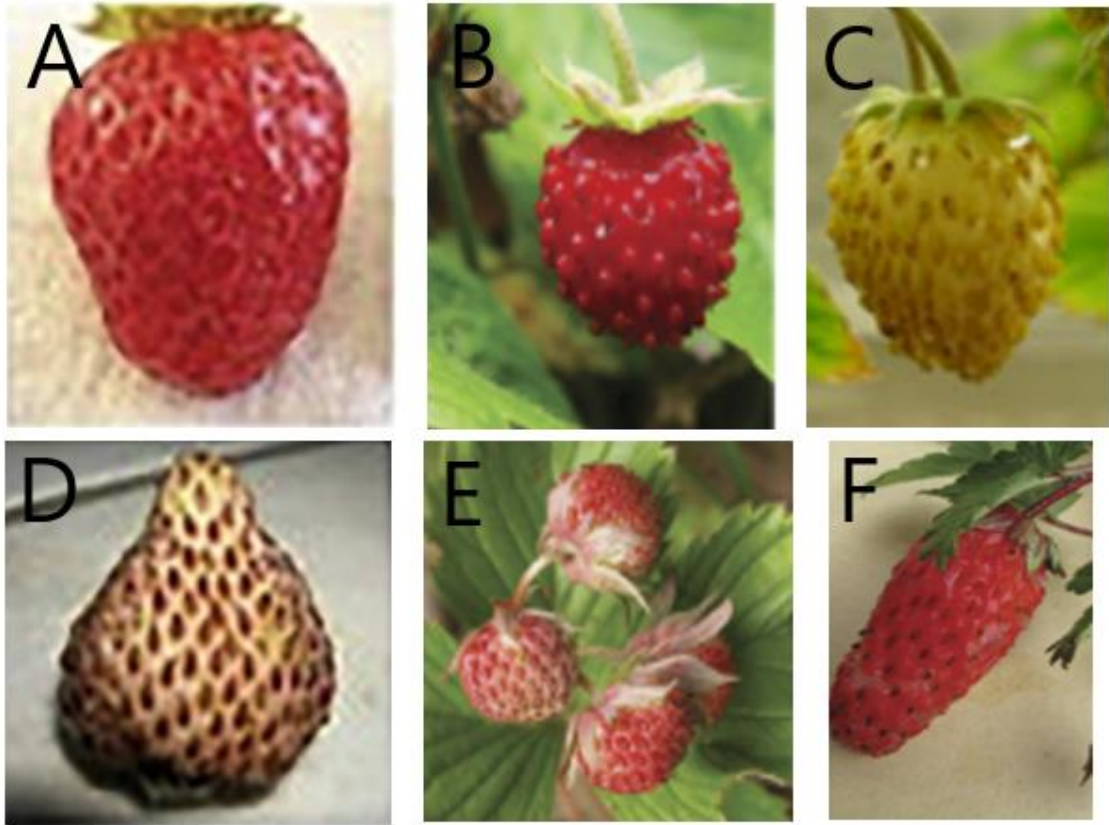
2.1 Puutarhamansikka *Fragaria* × *ananassa*

Puutarhamansikka *Fragaria* × *ananassa* on yleisin kaupallisesti viljelty mansikkalaji (Ikram ja muut 2019). Se on 1700-luvulla Euroopassa syntynyt hybridi kahden luonnon lajin, *F. virginianan* ja *F. chiloensiksen*, kanssa (Folta ja Barbey 2019; Liston ja muut 2014). Lajit tuotiin Eurooppaan Pohjois- ja Etelä-Amerikasta, ja niiden avulla tämä uusi kaupallisesti menestyvä laji hybridisoitiin. *F. virginiana* ja *F. chiloensis* myös hybridisoituvat luonnollisesti luoteisessa Pohjois-Amerikassa, mutta Amerikan alkuperäisasukkaiden *F.* × *ananassan* viljelystä ei ole todisteita. *Fragaria* × *ananassa* on hermafrodiitti, vaikka sen risteyttäneet lajit eivät kumpikaan ole täysin hermafrodiitteja. *F. virginiana* on kaksikotinen, kun taas *F. chiloensiksella* esiintyy sekä naaras- ja urosyksilöitä että hermafrodiitteja. (Liston ja muut 2014.)

F. × *ananassan* genomi sisältää noin 108 087 proteiinia koodaavaa geeniä ja noin 30 703 ei-koodaavaa RNA:ta koodaavaa geeniä (Edger ja muut 2019). *F.* × *ananassa* on oktoploidi (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019), ja sillä on seitsemän kromosomiryhmää eli yhteensä 56 kromosomia (Folta ja Barbey 2019). Jokainen solu siis sisältää neljän eri diploidin alagenomin jäänteitä, jotka vaikuttavat mansikan

ominaisuuksiin (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019). Monien tutkimusten mukaan *F. × ananassan* kantaisiä, ja täten alagenomin antajia, ovat *F. vesca* -lajin yksi esi-isistä *F. bracheata* (Folta ja Barbey 2019), jokin *F. iinumaen* alkuperäislajikkeista ja kaksi muuta tällä hetkellä tuntematonta lajia (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019). Näistä neljästä alagenomista *F. vescasta* tulleen alagenomin geenit ilmentyvät voimakkaimmin *F. × ananassassa*, ja niitä on eniten kaikkien alagenomien geeneistä (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019). *F. vesca* vaikuttaa siis voimakkaasti *F. × ananassan* ominaisuuksiin. *F. vescan* homologit vaikuttavat noin 89 % mansikan väriin vaikuttavien antosyaanien biosynteesistä, noin 95 % mansikkaan makeutta tuovan fruktoosin biosynteesistä ja noin 89 % mansikan aromiin vaikuttavan geranyyliasetatin biosynteesistä. (Edger ja muut 2019.)

Puutarhamansikka on yleisimmin melko suurikokoinen sydämenmuotoinen marja (kuva 1). Puutarhamansikan alalajikkeista ja johdannaisista löytyy kuitenkin hyvinkin erilaisia marjoja kasvattavia lajikkeita. Yleisimmät lajit omaavat tunnetusti kirkkaan punaisen värisiä marjoja, ja makean maun.



Kuva 1. Eri mansikkalajikkeiden mansikan ulkomuotoja. (A) *Fragaria* × *ananassa*. (B) *Fragaria vesca*. (C) *Fragaria vesca* lajike "Yellow wonder". (D) *Fragaria chiloensis*. (E) *Fragaria viridis*, (F) *Fragaria daltoniana*. (Muokattu kuvista Hollender ja muut 2012; Liston ja muut 2014; Morales-Quintana ja Ramos 2019).

2.2 Ahomansikka *Fragaria vesca*

Ahomansikka, eli *Fragaria vesca*, on luonnossa kasvava mansikka, jota ihmiset ovat kuitenkin kasvattaneet puutarhoissaan jo antiikin Rooman ajoilta asti (Liston ja muut 2014). Laji kasvaa luonnollisesti pohjoisella pallonpuoliskolla lauhkeilla ja subtrooppisilla alueilla (Couto ja muut 2020). Vain yksi *Fragaria vesca* alalaji *vesca* on pystynyt kasvamaan luonnollisissa olosuhteissa alkuperäisen kasvialueen ulkopuolella (Liston ja muut 2014). *F. vesca* on yksi ensimmäisistä kasveista, jonka parissa on tehty genomitutkimusta Mendelin lakien uudelleenlöytämisen jälkeen (Liston ja muut 2014). *F. vesca* on paljon käytetty geneettisessä tutkimuksessa sen pienen genomikoon, nopean lisääntymissyklin ja kasvin pienen koon takia (Chambers ja muut 2018). Ahomansikan genomisekvenssi on jo mahdollistanut merkittäviä harppauksia kukkimisen ja hedelmöinnin funktionaalisessa genomiikassa (Liston ja muut 2014).

Fragaria vesca on diploidi mansikka (Chambers ja muut 2018; Liston ja muut 2014), jonka genomi sisältää arvioltaan 34809 proteiinia koodaavaa geeniä (Liston ja muut 2014). *F. vesca* genomi sisältää suhteellisen vähän transposoituvia elementtejä, jotka vaimentavat geenien ilmentymistä. Tämän takia *F. vesca* geenit ilmentyvät vahvemmin muihin lajeihin verrattuna, ja ollessaan alagenomina jossain lajikkeessa *F. vesca* geenit ilmentyvät muita alagenomeja tehokkaammin. Niinpä *F. vesca* risteytyksissä tai lajikkeissa, joissa esiintyy risteymän jäänteitä, esiintyy suurella todennäköisyydellä mansikoita, jotka omaavat *F. vesca* aistittavia ominaisuuksia tai niitä muistuttavia piirteitä, kuten esimerkiksi yllä mainitussa *Fragaria* × *ananassassa*. (Edger ja muut 2019; Folta ja Barbey 2019.)

Ahomansikka on pieni ja pehmeä marja. Se omaa vahvan flavorin ja on erittäin aromaattinen. Suurin osa *F. vesca* alalajikkeista tuottaa punaisia marjoja, mutta alalajikkeista löytyy myös keltaisia marjoja tuottavia lajikkeita. (Couto ja muut 2020.) Kuvassa 1 näytetään *F. vesca* kahden eri alalajikkeen ulkomuodot.

2.3 Muita lajeja ja hybridejä

Eri mansikkalajeja on risteytetty tai ne ovat itse risteytyneet sekä ploiditason sisäisesti, että eri ploiditasojen välillä. Koska eri ploiditason mansikkalajit kasvavat samoilla alueilla, niiden risteytymisen mahdollisuus on suuri. Kuitenkin vain parilliset polyploidiset lajit pystyvät itsenäisesti lisääntymään. Sekä Kiinassa että Kaliforniassa on havaittu pentaploideja yksilöitä, ja Euroopassa *F. vesca* × *F. moschata* pentaploideja ja heptaploideja on havaittu. Nämä yksilöt eivät kuitenkaan kykenisi selviytymään, elleivät ne esiintyisi emolajin kanssa, jolloin ne kykenevät klonaaliseen lisääntymiseen. Ploiditason sisäisiä hybridisaatioita on havaittu ympäri maailmaa. Esimerkiksi Euroopassa nimetty *F. vesca* – ja *F. viridis* -diploidien risteytys *F. vesca* × *bifera* esiintyy kaikkialla, missä molemmat emolajit kasvavat. Monia hybridisaatioita ei kuitenkaan olla vielä tutkittu, ja syyt vaihteleville lisääntymisasteille eri ploiditasojen sisällä ja niiden välillä ovat vielä tuntemattomia. (Liston ja muut 2014.)

Mansikkalajit voivat erota suurestikin toisistaan aistittavien ominaisuuksien suhteen. Ulkomuodoltaan mansikoita on monen sorttisia. Mansikat eroavat toisistaan sekä väritykseltään että kooltaan ja muodoltaan. Mansikoita on olemassa punaisia, kuten esimerkiksi kaikkien tuntema puutarhamansikka, mutta mansikoita on myös olemassa keltaisia (*Fragaria vesca* ”Yellow wonder”, kuva 1) ja valkoisia (*Fragaria chiloensis*,

kuva 1). On myös olemassa sellaisia lajikkeita, joissa kuori on punainen, mutta sisältä mansikka on valkoinen. Mansikan koko vaihtelee pienistä marjoista, kuten *F. vesca* marjoista suurempiin marjoihin (*Fragaria* × *ananassa*). Muoto voi olla hyvinkin erilainen lajikkeesta riippuen. Perinteisenä muotona pidetään sydämenmuotoista mansikkaa, jota edustaa muun muassa puutarhamansikka, mutta muoto voi olla myös kartiomainen, pitkänomainen (*Fragaria daltoniana*, kuva 1) tai pallomainen (*Fragaria viridis*, kuva 1). (Liu ja muut 2023.)

3 Aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavat tekijät ja geenit

Mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavat monet eri seikat. Aistittavia ominaisuuksia, jotka määrittelevät mansikan miellyttävyyden ja ainutlaatuisuuden, on monia. Tärkeimmät niistä ovat maku, haju ja ulkomuodolliset seikat, kuten väri, koko ja muoto, mutta myös suutuntuma ja kemotunto. Näihin jokaiseen ominaisuuteen vaikuttavat monipuolisesti erilaiset yhdisteet ja niiden rakennegeenit sekä niitä säätelevät geenit.

3.1 Haju, maku ja flavori

Flavori on erittäin monipuolinen ominaisuus, ja siihen vaikuttavat maku ja retronasaalinen haju. Se on yhdistelmä monista ihmisen aistimista kemiallisista yhdisteistä. Kieli tunnistaa reseptoreillaan sokereita ja happoja, ja haihtuvat yhdisteet liikkuvat retronasaalisti nenän reseptoreihin. Näiden reseptorien lähettämät viestit aivoihin yhdistyvät yhdeksi aistimukseksi. (Bood ja Zabetakis 2002; Porter ja muut 2023.) Mansikan flavori on yksi monimutkaisimmista flavoreista, sillä siihen vaikuttaa noin 350 eri komponenttia (Bood ja Zabetakis 2002). Mansikan flavori on kuluttajille mansikan tärkeimpiä ominaisuuksia, ja valtaosan mieltymyksiin kuuluvat makeat ja hedelmäiset ominaisuudet, kun taas happamuutta arvostetaan vähemmän. Kuitenkin mansikan kasvattajille flavorin merkitys ei ole ollut yhtä tärkeä kuin esimerkiksi säilymiseen liittyvät ominaisuudet, ja siksi monen mansikkalajin flavori on miedompi. (Porter ja muut 2023.)

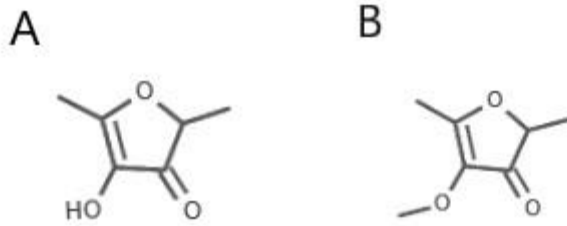
Mansikan flavoriin vaikuttavat vahvasti mansikan geenit. Muihin hedelmiin verrattuna mansikan flavoriin vaikuttaa suuri määrä estereitä, furanoneja ja linalooli-nimistä terpeeniä. Muita flavoriin vaikuttavia yhdisteitä ovat aldehydit, laktonit, alkoholit, ketonit, rikkiyhdisteet ja sokerit. (Porter ja muut 2023.)

Sokereilla on kaikista yhdisteistä vahvin vaikutus mansikan flavoriin. Ne tuovat mansikkaan makeutta ja voimistavat sen makua. Eniten mansikassa on sakkaroosia, glukoosia ja fruktoosia, jotka muodostavat 99 % kaikista mansikan sokereista. (Bood ja Zabetakis 2002; Porter ja muut 2023.) Sokerit toimivat hiilenlähteinä aromia tuottaville lähtöaineille. Marjan kypsyessä sokeritaso kasvaa, jolloin myös aromin tuotantoon kykeneviä lähtöaineita on enemmän, ja sitä kautta aromista tulee vahvempi. (Bood ja Zabetakis 2002.) Sokerisisältöä arvioidaan pääasiassa liukenevien kuiva-aineiden

pitoisuudella. Mansikan liukenevien kuiva-aineiden pitoisuus on vahvasti geneettisesti ohjattua, ja sitä ohjaavia geenejä tutkimalla on päästy huonosti mihinkään tulokseen geneettisen ohjauksen monimutkaisuuden takia. Kuitenkin monet tutkimukset ovat kyenneet todistamaan kohtalaista geneettistä perinnöllisyyttä mansikoiden sokeripitoisuuksissa. On myös pystytty todistamaan, että liukenevien kuiva-aineiden pitoisuus ja mansikoiden tuottomäärä ovat geneettisellä tasolla kääntäen verrannollisia. (Porter ja muut 2023.)

Esterit tuovat mansikkaan makeutta ja hedelmäisyyttä ja vaikuttavat siten sen flavoriin. Esterit tuovat myös vahvoja tuoksuun vaikuttavia piirteitä ja vaikuttavat retronasaalisesti flavoriin. (Bood ja Zabetakis 2002; Porter ja muut 2023.) Mansikassa esiintyvät suurimmat esteriyhdisteet ovat metyyli- ja etyylibutyraatti, metyyli- ja etyyliheksanoaatti (Bood ja Zabetakis 2002; Porter ja muut 2023) sekä heksyyliasetaatti ja *trans*-2-heksenyliasetaatti (Bood ja Zabetakis 2002). Esterien tuotanto tapahtuu alkoholi-asyyli-transferaasi-nimisen (AAT) entsyymin avulla. Entsyymi katalysoi asetyyli-CoA:n ja alkoholin välistä reaktiota, josta syntyy esteri. Esterien tuottoon tarvitaan siis alkoholi, eli esterin tuotanto on riippuvainen alkoholin tuotannosta. (Bood ja Zabetakis 2002.) Mansikassa kaksi alkoholi-asyyli-transferaasigeeniä, *SAAT* ja *FaAAT2*, vaikuttavat monien eri esterien tuotantoon. Mansikan, erityisesti villien mansikkalajien, flavoriin vaikuttaa myös antraniilihapon esterijohdannainen metyyliantranilaatti (MA), joka tuo mansikalle rypäleen tai puun tuoksun. MA:n synteessin viimeistä vaihetta on todistettu katalysoivan antraniilihappometyyli-transferaasi (FanAAMT). Sen lisäksi viime aikoina on löydetty toinen geeni, antranilaattisyntaasi alfa-alayksikkö 1 (*FaASa1*), joka tehostaa MA:n tuotantoa. (Porter ja muut 2023.)

Mansikassa esiintyvät furanonit tuovat ominaisia piirteitä sen flavoriin. Ne ovat sokerijohdannaisia yhdisteitä ja tuovat mansikkaan makean ja karamellimaisen tuoksun. (Porter ja muut 2023.) Mansikan flavoriin vaikuttavat furanonit ovat 2,5-dimetyyli-4-hydroksi-3(2*H*)-furanoni eli furaneoli ja 2,5-dimetyyli-4-metoksi-3(2*H*)-furanoni eli mesifuraasi (kuva 2) (Bood ja Zabetakis 2002; Porter ja muut 2023). Kinonioksidoreduktaasilla (FaQR) on todistettu olevan tekemistä furaneolin biosynteesin kanssa, mutta geneettiset tutkimukset eivät ole vielä löytäneet luonnon alleleleita, jotka vaikuttaisivat furaneolin vaihteluun jalostuksessa. Mesifuraanin tuotanto on riippuvainen o-metyyli-transferaasigeenistä (*FaOMT*)-, joka on yhdistetty kromosomiin 7D. (Porter ja muut 2023.)



Kuva 2. Mansikassa esiintyvien furanonien rakennekaavoja. (A) Furaneoli eli 2,5-dimetyyli-4-hydroksi-3(2H)-furanoni. (B) Mesifuraasi eli 2,5-dimetyyli-4-metoksi-3(2H)-furanoni.

Kaksi laktonia, γ -dekalaktoni ja γ -dodekalaktoni, ovat pääasialliset mansikan makuun ja hajuun vaikuttavat laktonit. γ -Dekalaktoni tuo mansikkaan persikkamaisen aromin, ja γ -dodekalaktoni tuo makean ja hedelmäisen maun. γ -Dekalaktonin tuottoa kontrolloi yksi rasvahappodesaturaaasideeni *FaFAD1*. γ -Dodekalaktonin määrää mansikassa kontrolloi pysyvä polygeeninen ominaisuusalue VII-1-sidosryhmässä ja kaksi muuta polygeenistä ominaisuusaluetta, jotka sijaitsevat kromosomeilla 6B ja 7B. (Porter ja muut 2023.)

Osalla mansikassa esiintyvistä terpenoideista on voimakas vaikutus mansikan flavoriin. Villimansikoissa on monia eri terpenoideja, mutta puutarhamansikassa esiintyy suurissa määrin vain kahta eri terpenoideja: linaloolia ja nerolidolia. Nämä kaksi terpenoideja tuovat puutarhamansikkaan kukkaisen ja sitruksisen flavorin ja lisäävät makeutta. Kuitenkin on myös todistettu linaloolin lisäävän mansikan karvasta makua. Nerolidolia syntetisoi geeni *FaNES1*, joka tuottaa katkaistua proteiinia yksinomaan puutarhamansikassa. Sen on huomattu lisäävän sekä nerolidolin että linaloolin tuottoa. (Porter ja muut 2023.)

3.2 Väri, koko ja muoto

Mansikan ulkomuotoon vaikuttavat mansikan väri, koko ja muoto. Nämä kolme ominaisuutta vaikuttavat vahvasti mansikan houkuttelevuuteen kuluttajan silmissä. Mansikan värin lähtöperää ja siihen vaikuttavia tekijöitä on tutkittu paljon, mutta kokoa ja muotoa taas on tutkittu melko vähän, ja niiden lähtöperä ei ole niin tarkkaan tiedetty. (Labadie ja muut 2022; Liu ja muut 2023)

Mansikan väriin vaikuttavat pääasiassa mansikan tuottamat flavonoidit. Antosyaanit ovat syy mansikan punaiselle värille, mutta mansikasta löytyy myös muita flavonoideja, kuten flavonoleja, flavanoleja ja proantosyaaneja. (Labadie ja muut 2022; Liu ja muut 2023.)

Flavonolit ja flavanolit ovat kversetiinin ja kaempferolin glykosideja sekä katekiinin ja epikatekiinin johdannaisia, kun taas antosyaanit ovat syanidiinin ja pelargonidiinin glykosideja, jotka antavat mansikalle värisävyn kirkkaan punaisesta (pelargonidiinijohdannaiset) tummanpunaiseen (syanidiinijohdannaiset) (Labadie ja muut 2022). Kaikki flavonoidit syntyvät flavonoidien biosynteesireitin, eli fenyylipropanoidibiosynteesireitin (Labadie ja muut 2022) haarojen kautta.

Väriin liittyvät geenit ovat melko monitahoisia ja väriin vaikuttavia osia on löydetty eri lajikkeissa genomien monilta eri alueilta (Labadie ja muut 2022). Proantosyaanien synteesi tapahtuu marjan kasvun alussa, ja niitä on kaikista flavonoideista eniten myös täysin kypsässä mansikassa. Proantosyaanien biosynteesiä säätelee eräs transkription säätelykompleksi, joka koostuu FaMY89/FaMYB11:sta, FabHLH3:sta ja FaTTG1:sta. (Liu ja muut 2023.)

Antosyaanien biosynteesiin vaikuttavat monet eri entsyymit. Niiden ilmentymistä säätelee MYB-bHLH-WD40 -kompleksi, joka rakentuu MYB:sta, heliksi-kierre-heliksi-transkriptiofaktorista ja WD-proteiinista. Kuitenkin eniten tutkittu mansikan väriin vaikuttava transkription säätelijä on MYB10. Sekä MYB10 että FveMYB10 vaikuttavat antosyaanien määrään kypsässä marjassa. FveMYB10 vaikuttaa myös kokonaisvaltaisesti antosyaanisynteesiin, ja esimerkiksi *FveMYB10*-geenin puuttuessa huomataan myös muutoksia rakennegeenien ilmentymisessä. (Labadie ja muut 2022; Liu ja muut 2023.) MYB-alue sisältää moniin eri mansikkalajeihin vaikuttavia geenimutaatioita, jotka vaikuttavat mansikan pigmenttiin. Keltaista väriä, jota voi havaita monissa *F. vesca* yksilöissä, aiheuttaa eräs snippi, joka aiheuttaa W12S-aminohappomuutoksen *FveMYB10*-geenissä. Valkoisen värin, jota voi myös havaita joissain *F. vesca* yksilöissä, huomattiin johtuvan muun muassa siitä, että transposonin liittyessä kolmanteen eksoniin proteiinit alkoivat pilkkoutua. Eri lajeilla on kuitenkin huomattu myös monia muita syitä mansikan valkoiselle värille, kuten esimerkiksi *F. nilgerrensiksessä*, jossa valkoinen väri johtuu sekvenssinvaihtelusta matalan ekspresion FnMYB10:n ylävirran säätelyalueella. Jotkut mansikkalajikkeet tuottavat marjoja, joiden kuori on punainen, mutta marja sisältä on valkoinen, kun taas toisissa marjoissa sekä kuori että marja sisältä ovat punaisia. Kun FaMYB10-2-promootterista löytyy CACTA:n kaltainen transposoni, joka johtaa lisääntyneeseen FaMYB10-2-ekspressioon, mikä taas johtaa antosyaanien kertymiseen hedelmälihaan. MYB10 vaikuttaa siis mansikan väriin monella tapaa ja monien eri mutaatioiden kautta, ja vaikka sitä on tutkittu jo paljon,

tutkittavaa riittää vielä. Myös antosyaanien kuljetus vaikuttaa mansikan väriin. Glutanioni-*S*-transferaaseilla on keskeinen rooli antosyaanien kuljetuksessa. ”Reduced Anthocyanidin in Petioles” (RAP) koodaa eniten mansikan pigmenttiin vaikuttavaa glutanioni-*S*-transferaasia, ja on huomattu, että kun RAP:n toiminta estyy, mansikkaan ei kerry antosyaaneja, kun taas RAP:n ilmentyessä liikaa mansikasta tulee purppuran värinen. (Liu ja muut 2023.)

Mansikan kokoon ja muotoon vaikuttaa vahvasti onnistunut pölytys. Tämä johtuu siitä, että mansikan pähkylöillä tuotettua auksiinia ja gibberelliinihappoa tarvitaan hedelmän kehittymiseen. Yksi tärkeimmistä mansikan pähkylän auksiinin biosynteesiin vaikuttavista säätelijöistä on FveAGL62. Se aktivoi epäsuorasti auksiinin ja gibberelliinihapon biosynteesigeenit pähkylöissä, ja aktivoituu itse hedelmöityksen yhteydessä. Mansikan kokoa on tutkittu melko vähän, joten siihen vaikuttavia tekijöitä ei kaikkia tunneta. Kuitenkin auksiinin ja gibberelliinihapon vaikutusta mansikan muotoon on tutkittu jonkun verran. On huomattu, että gibberelliinin määrä vaikuttaa marjan pituuteen, kun taas auksiinin määrä vaikuttaa marjan paksuuteen. Koska mansikka kasvaa kukkapohjuksesta, joka on kasvitieteellisesti sukua kukkameristeemille, mansikan muotoon voi myös vaikuttaa kukkameristeemin säätely. Epigeneettiset säätelymekanismit taas vaikuttavat marjan kokoon. DNA:n metylaatiolla on vaikutus mansikan kasvukehitykseen. Kypsymisen aiheuttama metylaatio mansikassa johtuu RNA-ohjatun DNA-metylaatioreitin (RdDM) säätelystä, joka on vastuussa de novo DNA:n metylaatiosta kaikissa sekvenssikonteksteissa kasveissa. RdDM-reitin komponentin mutaatio FveFDM1 johti pieniin pyöreisiin marjoihin *F. vesca* -lajilla johtuen vähentyneestä solunjakautumisesta ja samalla DNA-metylaation vähenemisestä. (Liu ja muut 2023.)

3.3 Suutuntuma ja kemotunto

Kaikkien muiden aistittavien ominaisuuksien lisäksi kuluttajille on tärkeää, että mansikka tuntuu miellyttävältä suussa. Tähän vaikuttavat sekä suutuntuma, että kemotunto. Kemotunto liitetään flavoriin, joten se vaikuttaa vahvasti kuluttajan mielipiteeseen marjan miellyttävyydestä. Mansikassa tärkeimpänä kemotuntoon vaikuttaa astringoivuus (He ja muut 2015). Suutuntuman tärkeimpänä ominaisuutena mansikassa pidetään marjan kiinteyttä, joka vaikuttaa vahvasti kuluttajan mielipiteeseen, sillä mansikan pehmeys yhdistetään usein pilaantumiseen (Liu ja muut 2023).

Astringoivuutta kuvaillaan usein kuivana ja karkeana tuntemuksena suussa. Se johtuu pääasiassa tanniineista ja muista polyfenoleista ja syntyy kun tanniinit ja syljen proteiinit reagoivat keskenään. Mansikassa astringoivuuteen vaikuttavat flavonoidien kondensoidut tanniinit ja antosyaanit. Fenyylialaniiniammoniakkilyaasi (PAL) katalysoi fenyylialaniinin reaktiota, jossa se muuttuu kanelihapoksi. Tämä reaktio on suuressa osassa flavonoidien synteesissä. Toinen mansikan astringoivuuteen vaikuttava tekijä on leukoantosyanidiinireduktaasi (LAR), joka kuuluu isoflavonireduktaasien alaryhmään. LAR on rakennegeeni, joka katalysoi kondensoitujen tanniinien synteesiä. On huomattu, että muutokset flavonoidien määrässä ja tyypissä ovat yhteydessä LAR:n ilmentymiseen mansikassa. Astringoivuuden syytä mansikassa ei kuitenkaan olla tutkittu paljoa, joten tarkkaa tietoa kaikista siihen vaikuttavista tekijöistä ei ole. (He ja muut 2015.)

Mansikan kiinteyteen vaikuttavat useat tekijät, ja siihen vaikuttavat reaktiot tapahtuvat ajan mittaan. Mansikka on raakana kiinteä ja pehmenee sitten kypsyessään ja myöhemmin pilaantuessaan. Hedelmän kiinteyden määrittää soluseinän rakenne, mukaan lukien primäärinen soluseinä ja keskilamellit. Primäärinen soluseinä rakentuu selluloosamikrofibrilleistä ja matriisielementistä, joka edelleen koostuu pektiinistä ja hemiselluloosasta. Keskilamelleissa on suuri määrä pektiiniä, joka pitää vierekkäiset solut yhdessä. (Liu ja muut 2023.)

Marjan pehmeneminen johtuu vesiliukoisten pektiinien määrän nopeasta kasvusta sekä hemiselluloosan ja selluloosan hajoamisesta. Näihin reaktioihin vaikuttavat monet eri entsyymit ja proteiinit, joista tärkeimpinä mansikan pehmeytteen vaikuttajina ovat pektinolyttiset entsyymit. Pektaattilyaasi kykenee tuhoamaan primäärisessä soluseinässä ja keskilamelleissa sijaitsevia β -1,4-linkattuja pektiinin galakturonosyyliähteitä. Pektaattilyaasin geenit *plC*, *plA* ja *plB* vaikuttavat kaikki mansikan kiinteyteen, ja on huomattu, että näiden geenien ilmentymisen ollessa vähäistä mansikan soluseinän pektiinien vesiliukoisuus on vähäistä, ja mansikka on kiinteämpi. Ylävirran transkriptiotekijä FveWRKY48 sitoutuu FvePLA-promoottoriin ja edistää sen transkriptiota, jolloin mansikka taas alkaa pehmentyä. Polygalakturonaasi on soluseinän hydrolyyttinen entsyymi, joka katalysoi α -1,4-glykosyylin hydrolyysiä homogalakturonaanin galakturonihappotähteiden välillä. Polygalakturonaasin geenit *FaPG1* ja *FaPG2* edesauttavat mansikan pehmenemistä, ja niiden ollessa hiljennettyjä mansikka on kiinteämpi. Tämä johtuu siitä, että *FaPG1*:n ja *FaPG2*:n ollessa hiljennettyjä soluseinän pektiinit ovat vähemmän vesiliukoisia, ja tiiviimmin soluseinään

sitoutuneitten pektiinien polymerisaatio on vähäisempää. Myös pektiinimetyyliesteriäsi vaikuttaa mansikan kiinteyteen *FvePME38*- ja *FvePME39*-geenien kautta, sillä näiden geenien ollessa hiljennettyjä on huomattu myös mansikan pehmenemisen pysähtyvän. Ekspansiinit ovat soluseinäproteiineja, jotka edesauttavat mansikan pehmenemistä katkaisemalla vetysidoksia selluloosan ja hemiselluloosamikrofibrillien välillä ja siten hajottamalla soluseinää. Mansikasta on tunnistettu kaksi ekspansiinigeeniä, jotka todistetusti edesauttavat pehmenemistä: *FaEXP1* ja *FaEXP2*. Mansikassa esiintyvien ekspansiinien geenejä ei kuitenkaan olla tutkittu vielä kovin yksityiskohtaisesti, ja mansikan pehmenemiseen vaikuttavat mahdollisesti myös muut ekspansiinigenit. Monet muut entsyymit vaikuttavat soluseinän hajoamiseen mansikan kypsymisen aikana. Ramnogalakturonaattilyaasin geeni *FaRGlyase1* edesauttaa keskilamellien hajoamista ja siten nopeuttaa mansikan pehmenemistä. Myös β -galaktosidaasin geenit *Fa β Gal1*, *Fa β Gal2*, *Fa β Gal3* ja *Fa β Gal4*, sekä sellulaasin geenit *Cell/FaEG1* ja *Cel2/FaEG3* säätelevät mansikan pehmentymistä. Vaikka monta mansikan kiinteyteen vaikuttavaa entsyymiä on löydetty, kaikkia kiinteyteen vaikuttavia tekijöitä ja niiden yhteisvaikutuksia ei olla löydetty tai tutkittu. (Liu ja muut 2023.)

3.4 Uusien teknologioiden käyttö mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavien geenien määrittämisessä

Melko uusi keino paikantaa tiettyihin ominaisuuksiin vaikuttavia geenejä tai geeniryhmiä on ”GWAS” (genome-wide association study, suom. koko genomien kattava assosiaatioanalyysi) ja sen avulla tehtävä ”QTL mapping” (Quantitative Trait Loci mapping) (Muñoz ja muut 2024; Rey-Serra ja muut 2021). QTL mapping:in avulla pystytään selvittämään ominaisuuksien periytymistä ja määrittämään markkereita, joilla on vahva yhteys tiettyyn ominaisuuteen. Mansikan polyploidisuuden takia GWAS ja QTL mapping ovat paras tapa tutkia ominaisuuksien periytymistä, sillä polyploidisuus vähentää ominaisuuksien vaihteluun vaikuttavien päägeenien esiintymistä. Mansikan genomista on määritetty useita genomikarttoja, jotka ovat kuitenkin keskittyneet mansikan tautien vastustuskykyyn eivätkä niinkään aistittaviin ominaisuuksiin. Genomikarttojen avulla määritettyjen QTL-alueiden kokoa voidaan pienentää markkerien löytämisen helpottamiseksi. Lähimenneisyydessä joitain myös aistittaviin ominaisuuksiin keskittyviä genomikarttoja on julkaistu, jolloin QTL-alueiden määrittäminen on helpottunut. (Rey-Serra ja muut 2021.)

Mansikan aistittavat ominaisuudet ovat vahvasti riippuvaisia ympäristöllisistä tekijöistä, ja niihin vaikuttavat QTL-alueet ovat jakautuneet koko genomille. Toistaiseksi eri kannoilla tehtyjen tutkimusten tulosten välillä ei ole havaittu monia korrelaatioita, mutta muutamia merkittäviä löytöjä on kuitenkin jo tehty. (Rey-Serra ja muut 2021.) Merkittäviä markkereita ovat muun muassa eräs mansikan kiinteyteen vaikuttava linkkiryhmissä FIR_7C oleva markkeri (Rey-Serra ja muut 2021) ja kromosomissa 6A sijaitseva alue, josta on identifioitu aiemmin mainittu kiinteyteen vaikuttava *FaPGL*-geeni (Muñoz ja muut 2024), sekä eräs mansikan muotoon vaikuttava linkkiryhmissä FSR_3A oleva markkeri. Monia muitakin mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavia markkereita on määritetty. (Rey-Serra ja muut 2021.)

4 Tulevaisuudennäkymät

Mansikan aistittavien ominaisuuksien kehittämiseksi tärkeitä askeleita ovat tiedon kerääminen eri lajeista ja niiden ominaisuuksista, sekä tieto siitä, mistä jokainen aistittava ominaisuus mansikassa syntyy.

Nykypäivänä on tehty paljon tutkimusta, joissa monia eri mansikkalajeja ja niiden genomeita on tutkittu. Monia näistä tutkituista genomeista pystytään jatkossa käyttämään vertailugenomeina, joista voidaan kehittää homologispesifisiä markkereita kasvattajien käyttöön (Edger ja muut 2019).

Vaikka mansikan aistittavien ominaisuuksien syntyperää on tutkittu, ja monia geneettisiä vaikuttavia tekijöitä on löydetty, edelleen kaikkea ei tiedetä mansikan aistittavien ominaisuuksien genetiikasta. Muun muassa flavoriin vaikuttavat tekijät, kuten esterit ja furanonit, vaativat lisätutkimusta niiden vaikutusten ymmärtämiseen täysin. Tämän lisäksi osa näistä aistittavista ominaisuuksista, kuten esimerkiksi makeus, vaativat kuluttajien mielestä tietyissä lajikkeissa vielä parannuksia. Koska ajan myötä tiedossa olevat genomit edustavat monipuolisemmin mansikan genetiikkaa, aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavia uusia alleleja löydetään useammin. (Porter ja muut 2023.) Spesifisiin aistittaviin laatuominaisuuksiin vaikuttavien snippien ja DNA-varianttien tunnistaminen on mahdollistanut sellaisten DNA-markkerien kehittämisen, jotka helpottavat markkeriavusteista jalostusta haluttujen alleelien tuomiseksi nykyaikaisiin lajikkeisiin (Labadie ja muut 2022; Liu ja muut 2023; Porter ja muut 2023). Kuitenkin markkerien kehittämisessä on vielä paljon tehtävää, ja monia QTL-alueita on vielä määrittämättä (Rey-Serra ja muut 2021).

5 Yhteenveto

Tämä tutkielma kokoaa tietoa mansikan aistittaviin ominaisuuksiin vaikuttavista tekijöistä, sekä eri mansikkalajien ominaisuuksista ja niihin vaikuttaneista kantalajeista ja sitä kautta geneeistä. Nämä tiedot mahdollistavat nykyisten mansikkalajikkeiden parantamisen ja uusien mansikkalajien kehittämisen kuluttajien mieltymysten mukaisesti. Mansikoiden aistittavien ominaisuuksien kehittäminen on ollut taka-alalla, sillä mansikan kasvattajat ovat asettaneet etusijalle tuottavuuden ja tautiensietokyvyn. Aistittaviin ominaisuuksiin liittyvän tiedon avulla mansikan kasvattajat voivat kehittää uusia mansikkalajikkeita, joissa yhdistyvät tuotannolliset ja aistittavat ominaisuudet, jotta sekä kasvattajat että kuluttajat hyötyisivät mansikan kehitetyistä ominaisuuksista. Myös tutkijat voivat hyödyntää näitä tietoja, ja tarkentaa tutkimustaan entisestään, jotta ominaisuuksien kehittäminen helpottuisi.

Lähteet

Bood, K. g. & Zabetakis, I. (2002) The Biosynthesis of Strawberry Flavor (II): Biosynthetic and Molecular Biology Studies. *J Food Sci* **67**:2–8.

Chambers, A., Moon, P., Fu, Y., Choiseul, J., Bai, J., Plotto, A. & Baldwin, E. (2018) Yield and Fruit Quality of Sixteen *Fragaria vesca* Accessions Grown in Southern Florida. *HortScience* **53**:1396–1403.

Couto, J., Figueirinha, A., Batista, M. T., Paranhos, A., Nunes, C., Gonçalves, L. M., ... Pina, M. E. (2020) *Fragaria vesca* L. Extract: A Promising Cosmetic Ingredient with Antioxidant Properties. *Antioxidants* **9**:154.

Edger, P. P., Poorten, T. J., VanBuren, R., Hardigan, M. A., Colle, M., McKain, M. R., ... Knapp, S. J. (2019) Origin and evolution of the octoploid strawberry genome. *Nat Genet* **51**:541–547.

Folta, K. M. & Barbey, C. R. (2019) The strawberry genome: A complicated past and promising future. *Hortic Res* **6**:1–3.

He, M., Tian, H., Luo, X., Qi, X. & Chen, X. (2015) Molecular Progress in Research on Fruit Astringency. *Molecules* **20**:1434–1451.

Hollender, C. A., Geretz, A. C., Slovin, J. P. & Liu, Z. (2012) Flower and early fruit development in a diploid strawberry, *Fragaria vesca*. *Planta* **235**:1123–1139.

Ikram, S., Abassi, U. & Khalid, N. (2019) STRAWBERRY (*Fragaria ananassa* Duch): PHYTOCHEMICALS, NUTRACEUTICALS AND HEALTH BENEFITS. A BRIEF REVIEW. *World J Biol Biotechnol* **4**:25.

Labadie, M., Vallin, G., Potier, A., Petit, A., Ring, L., Hoffmann, T., ... Denoyes, B. (2022) High Resolution Quantitative Trait Locus Mapping and Whole Genome Sequencing Enable the Design of an Anthocyanidin Reductase-Specific Homoeo-Allelic Marker for Fruit Colour Improvement in Octoploid Strawberry (*Fragaria* × *ananassa*). *Front Plant Sci* **13**: 869655.

Liston, A., Cronn, R. & Ashman, T.-L. (2014) *Fragaria*: A genus with deep historical roots and ripe for evolutionary and ecological insights. *Am J Bot* **101**:1686–1699.

Liu, Z., Liang, T. & Kang, C. (2023) Molecular bases of strawberry fruit quality traits: Advances, challenges, and opportunities. *Plant Physiol* **193**:900–914.

Morales-Quintana, L. & Ramos, P. (2019) Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis*): An integrative and comprehensive review. *Food Res Int* **119**:769–776.

Muñoz, P., Roldán-Guerra, F. J., Verma, S., Ruiz-Velázquez, M., Torreblanca, R., Oiza, N., ... Amaya, I. (2024) Genome-wide association studies in a diverse strawberry collection unveil loci controlling agronomic and fruit quality traits. *bioRxiv*.

Porter, M., Fan, Z., Lee, S. & Whitaker, V. M. (2023) Strawberry breeding for improved flavor. *Crop Sci* **63**:1949–1963.

Rey-Serra, P., Mnejja, M. & Monfort, A. (2021) Shape, firmness and fruit quality QTLs shared in two non-related strawberry populations. *Plant Sci* **311**:111010.

Schaart, J., Salentijn, E. & Krens, F. (2002) Tissue-specific expression of the β -glucuronidase reporter gene in transgenic strawberry (*Fragaria* \times *ananassa*) plants. *Plant Cell Rep* **21**:313–319.