СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2018, том 53, № 1, с. 15-28

УДК 633.491:581.1:577.121 doi: 10.15389/agrobiology.2018.1.15rus

МЕТАБОЛОМИКА — СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД ПРИ ИЗУЧЕНИИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К БИОТИЧЕСКОМУ И АБИОТИЧЕСКОМУ СТРЕССУ*

(обзор)

Р.К. ПУЗАНСКИЙ[1, 2], В.В. ЕМЕЛЬЯНОВ[1], М.Ф. ШИШОВА[1, 2]

Геномные и протеомные исследования в значительной степени расширили возможности решения спектра задач по расшифровке механизмов регуляции роста и развития растений в постоянно изменяющихся условиях окружающей среды. Не менее значимым стало появление еще одного направления системной биологии — метаболомики, сфокусированной на изучении динамики низкомолекулярных соединений, которые можно рассматривать как результат совокупности метаболических процессов в организме. Интенсивность этих процессов подвержена существенным изменениям при действии как биотических, так и абиотических стрессовых факторов. Исследования по метаболомному анализу проводятся не только на модельных объектах, но и на сельскохозяйственных растениях. К их числу относится картофель, входящий в десятку наиболее востребованных культур. Представленный обзор ставит целью обобщить имеющиеся в литературе данные о выявленных с помощью метаболомного подхода системных биохимических перестройках при действии патогенных вирусов и микроорганизмов, насекомых, а также абиотических стрессоров на растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.). Данные последних лет указывают на то, что метаболомный анализ позволяет не только охарактеризовать развитие вирусных и грибных болезней картофеля, но и тестировать устойчивость к ним у различных видов и сортов (H. Hamzehzarghani с соавт., 2016; T. Stare с соавт., 2015; H. Tai с соавт., 2014; S. Tomita с соавт., 2017). Для ряда соединений вторичного метаболизма показаны значимые изменения. Метаболомный подход достаточно чувствителен и для выявления перестроек при действии абиотических факторов. В обзоре рассмотрены метаболические перестройки, непосредственно связанные с дегидрированием клетки, в том числе при воздействии осмотических и температурных стрессоров. Особое значение имеет содержание аминокислот и сахаров. Однако требуется ряд дополнительных исследований, которые позволят выявить, насколько изменятся метаболические перестройки при совместном действии нескольких факторов, например недостатка влаги и повышения температуры (V. Arbona с соавт., 2013; M. Drapal с соавт., 2017; R.D. Hancock с соавт., 2014). Абсолютное большинство данных получено при изучении метаболома различных вегетативных органов растений картофеля. К сожалению, метаболомные особенности генеративных органов в настоящее время не изучены. Полностью отсутствуют сведения о метаболомном профилировании формирования пыльцы, в том числе у форм картофеля с цитоплазматической мужской стерильностью. Это указывает на актуальность развития обсуждаемого направления в исследовании метаболома у картофеля. Дальнейшая стандартизация протоколов метаболомного анализа и методов обработки полученных результатов позволит использовать метаболомику не только как важнейший компонент фундаментальных исследований, но со временем и как основу мониторинга коллекционных образцов, создаваемых сортов и гибридов картофеля. Анализ современных данных свидетельствует о перспективности такого подхода для фенотипирования различных генотипов картофеля, а также выявления форм, устойчивых к различным типам неблагоприятных воздействий.

Ключевые слова: метаболомика, *Solanum* spp., картофель, биотический стресс, патогены, вирусная инфекция, грибная инфекция, насекомые-вредители, абиотический стресс.

Растения синтезируют широкий спектр соединений различной химической структуры. Принято выделять соединения первичного метаболизма, обеспечивающего существование любого живого существа, и вторичного метаболизма, который характерен для определенных (иногда очень ограниченных) групп организмов. Установлено, что число растительных метаболитов может достигать более 100000, и лишь незначительная их часть на настоящий момент идентифицирована (1). Существенная интенсификация исследований разнообразия синтезируемых соединений стала возможна с развитием ряда методических подходов, позволяющих анализировать совокупность всех метаболитов биологической системы — организма, органа, ткани и т.д. (2, 3). Для разделения и идентификации метаболитов применяют сопряженные с масс-спектрометрией (MS) газо-

* Работа поддержана грантом РНФ № 16-16-04125.

вую (gas chromatography—mass spectrometry, GC-MS),), высокопроизводительную жидкостную (high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS), ультрапроизводительную жидкостную (ultra-performance liquid chromatography tandem mass-spectrometry, UPLC-MS) хроматографию, капиллярный электофорез (capillary electrophoresis—mass spectrometry, CE-MS) и спектроскопию ядерного магнитного резонанса (nuclear magnetic resonance, NMR) (4, 5). Технические возможности и стандартизация методов экстракции и детекции, доступность баз данных по идентификации различных соединений, а также развитие методов мультивариантной статистики (с обучением и без) дает прекрасные возможности для сравнения метаболитных профилей, что и составляет основу метаболомики.

Совокупностью синтезируемых соединений определяется значимость сельскохозяйственных культур при производстве продуктов питания и сырья для фармацевтической, химической и других отраслей промышленности (5). В связи с этим метаболомные исследования приобретают не только теоретическое, но и практическое значение, а модельными объектами становятся культурные растения, в частности картофель (*Solanum tuberosum* L.). Его мировой урожай достигает 300 млн т в год, чем определяется роль культуры для продовольственной безопасности (6). Одно из первых метаболомных исследований на растениях картофеля, выполненное в 2000 году (7) с использованием GC-MS, было сфокусировано на анализе соединений углеводного метаболизма. Авторы выявили различия между клубнями растений, выращенных in vitro и в полевых условиях, а также между диким типом и трансгенными линиями (7). В дальнейшем метаболомное профилирование позволило не только продемонстрировать различия между органами (например, листьями и клубнями картофеля, отвечающими за первичный синтез углеводов и их депонирование), но и доказать возможность использования метаболомики в качестве чувствительного метода при оценке результатов генетических модификаций и в селекционном процессе (8).

Представляемый обзор сфокусирован на анализе современных исследований, использующих метаболомный подход для изучения механизмов адаптации к биотическим и абиотическим стрессорам у растений картофеля и выявления их устойчивости.

Действие биотических факторов. Растения, которые в процессе роста и развития взаимодействуют с огромным числом организмов, включая патогенные, выработали в ходе эволюции механизмы устойчивости. Омиксные технологии позволяют проследить реализацию таких механизмов на разных уровнях — от генома (дифференцированная экспрессия генов, в том числе семейства *PR*-генов) через протеом (продукция защитных белков и ферментов синтеза низкомолекулярных соединений) до метаболома (изменение содержания алкалоидов, веществ фенольной природы и т.д.) (1, 9). У культурных растений вторичные метаболиты, к которым часто относятся соединения, участвующие в защите от инфекции, могут значительно снизить пищевую ценность урожая или даже оказаться ядовитыми (10, 11).

Вирусные инфекции. В настоящее время известно около 40 вирусов, поражающих картофель (http://www.kartofel.org/bolezn/virus/virus.htm). Масштабный анализ выявил семь основных типов устойчивости культуры к вирусам (12, 13): устойчивость к инфекции (полевая устойчивость), устойчивость к накоплению вируса, ограничение его транспорта, устойчивость зрелых растений, толерантность, устойчивость к переносчикам вирусов и реакция сверхчувствительности. В обеспечении каждого типа устойчивости участвует большое число систем растения на разных уровнях — от клеточного до организменного. Данные последних лет указывают на то, что ви-

русная атака инициирует изменение активности ряда метаболических путей, в том числе углеводного обмена и синтеза аминокислот (14-16). Следовательно, метаболомика может стать инструментом в анализе механизмов устойчивости к вирусной инфекции у видов и сортов картофеля.

Y-вирус картофеля (potato virus Y, PVY, сем. *Potyviridae*) относится к наиболее экономически значимым (потери урожая у восприимчивых сортов — до 80 %). PVY впервые описан более 80 лет назад как агент, вызывающий дегенеративные процессы у картофеля (17, 18). Первые данные о модификациях первичного метаболизма при воздействии агрессивного изолята PVY^{NTN} получили на картофеле сорта Desiree (19). Было установлено, что эти процессы опосредованы размножением вируса в тканях. Авторы, изучив преимущественно углеводный метаболизм, показали корреляцию между снижением содержания углеводов и изменением экспрессии генов, кодирующих белки фотосинтетического аппарата и ферменты фотоассимиляции. У трансгенных растений сорта Desiree со сверхэкспрессией гена салицилатгидроксилазы *NahG* от *Pseudomonas putida* наблюдали более выраженное замедление фотосинтетических процессов и уменьшение количества салициловой кислоты — гормона биотического стресса (19).

Метаболомное профилирование с помощью GC-MS позволило оценить динамику содержания 168 метаболитов при мониторинге развития инфекции PVY в листьях картофеля и выявить различия между кластерами, которые связаны с синтезом аминокислот, вторичных метаболитов, образованием/деградацией компонентов клеточной стенки (9). Анализ полученных данных методом главных компонент (principal component analysis, PCA) показал кластеризацию, соответствующую времени заражения вирусом. На 3-и сут изменчивость реакции растений на заражение была высокой, тогда как ответ, наблюдаемый на 1-е и 6-е сут, оказался более единообразным. Дисперсионный анализ (ANOVA) показал, что для 83 метаболитов (32 идентифицированы) изменения в зависимости от времени после заражения и штамма PVY (PVY^{N} или PVY^{NTN}) статистически значимы ($p < 0,01$). Инфекция PVY^{N} протекает бессимптомно, а PVY^{NTN} вызывает мозаичность, хлоротические и некротические поражения листьев, а также клубней. При заражении PVY^{NTN} к изменяющимся метаболитам можно отнести γ-аминомасляную кислоту (ГАМК), α-кетоглутарат, глицерат, малеат, мальтозу, фенилаланин, пируват, сукцинат, сахарозу и валин. Количество сахарозы, глицерата, сукцината и треоната статистически значимо уменьшалось в начале развития болезни в зараженных листьях по сравнению с контрольными. При инфицировании PVY^{N} содержание сахарозы тоже значительно снижалось, несмотря на то, что этот изолят менее агрессивен. Подобная динамика наблюдалась и для большинства других метаболитов, участвующих в аминокислотном метаболизме, цикле Кребса, ГАМК-шунтировании, нейтрализации активных форм кислорода (АФК) и фенилпропаноидов. Валин и соединения, связанные с метаболизмом фенилпропаноидов, обнаруживали в зараженных листьях в больших количествах на 6-е сут, когда происходило интенсивное размножение вируса. PVY^{N} в отличие от PVY^{NTN} вызывал более раннее накопление в листьях нейтрализующих АФК соединений, что, видимо, связано с меньшими повреждениями, вызываемыми менее агрессивным штаммом PVY^{N} (9).

Выявленные метаболомные изменения хорошо согласуются с данными транскриптомного анализа. Характер изменений углеводного обмена, ГАМК-шунтирования, фенилпропаноидного и антиоксидантного метаболизма зависел от времени развития инфекции и штамма вируса (9). Следовательно, метаболомный анализ применим для детекции вирусной

инфекции и анализа ответных реакций у растений.

Грибные инфекции. Фитофтороз. Phytophthora infestans — один из самых вредоносных грибных патогенов картофеля, который может приводить к полной потере урожая (20, 21). Для борьбы с фитофторозом используются фунгициды, однако эти соединения достаточно дорогостоящие и негативно влияют на окружающую среду. Кроме того, регулярное применение таких препаратов стимулирует развитие резистентных к ним патогенных штаммов. В качестве одной из альтернатив рассматривается выведение устойчивых сортов (22). Резистентность растений картофеля к фитофторозу контролируется многими взаимодействующими генами и локусами количественных признаков (quantitative trait loci, QTL), часть которых определяет соответствующие биохимические признаки (23, 24). Метаболомика может быть инструментом для описания их изменений и выявления биохимических маркеров резистентности при грибных инфекциях (25).

Сравнительный анализ метаболитных профилей надземных частей растений у контрастных по восприимчивых к фитофторе генотипов картофеля, выращенных в контролируемых условиях, показал, что с устойчивостью прежде всего связаны фенилпропаноиды (особенно амиды гидроксикоричной кислоты), флавоноиды, алкалоиды и жирные кислоты, синтез которых сильнее индуцируется после заражения устойчивых линий. Вместе с изменением содержания метаболитов при патогенезе усиливалась экспрессия генов, участвующих в биосинтезе амидов гидроксикоричной кислоты и флавоноидов. Известно, что эти метаболиты ассоциированы с антимикробной защитой и утолщением клеточной стенки (последнее помогает предотвратить распространение патогенов в тканях растения за пределы очага инфекции и может рассматриваться как защитная реакция) (26-28).

В полевых условиях метаболические изменения у растений происходят вследствие совместного действия различных факторов окружающей среды, что вызывает повышенный интерес к данным, полученным в полевых экспериментах. Так, при сравнительном метаболитном профилировании листьев методом ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) у контрастных по устойчивости линий картофеля после заражения фитофторой PCA выявил четкую кластеризацию образцов, собранных во время проявления симптомов у восприимчивых форм (29). Факторные нагрузки показали, что с устойчивостью связаны жирные кислоты, малат и рутин, содержание которых выше в листьях резистентных сортов. Повышение количества сукцината, наоборот, характерно для восприимчивых линий. Для выявления связи метаболитного профиля с устойчивостью к патогену в полевых условиях использовали также метод проекций на латентные структуры (projections on the latent structures, PLS). Разработанная для нескольких сортов модель имела высокую степень соответствия между интенсивностью поражения (область развития болезни, areas under disease progress curve, AUDPC) и метаболитным профилем. Значения VIP (variable importance in the projection) показали, что малат, рутин и сахароза играют наибольшую роль в предсказании степени развития болезни, причем содержание сахарозы положительно коррелирует с величиной AUDPC, а малата и рутина — отрицательно (29). Метаболомный анализ образцов, собранных на разных этапах поражения фитофторозом, привел к предположению, что на основе такого подхода оценить степень устойчивости растения картофеля к патогену можно только при сравнении профилей в процессе развития инфекции. Применение метода PCA показало, что метаболитные профили тестируемых образцов, собранных с промежутком 12 сут, сильно различаются, причем эти различия сильнее межсортовых. В качестве маркерных метаболитов авторы указали

сахарозу и малат. Ферментный анализ содержания L-малата для оценки его связи с устойчивостью к фитофторозу подтвердил возможность применения метаболомики для оценки резистентности растений к патогенам и поиска биомаркеров устойчивости (29).

Более подробное исследование динамических изменений метаболома клубней картофеля проводилось на неустойчивом сорте AC Novachip (30). В работе проанализированы полярные и неполярные экстракты, что выявило суммарно 106 метаболитов, из которых 95 идентифицировали. Из них 42 отнесли к патоген-зависимым, так как их содержание существенно менялось при фитофторозе. Наиболее сильным изменениям была подвержена группа аминокислот, часть которых служат предшественниками в синтезе вторичных метаболитов, участвующих в защите от патогена. У сортов картофеля Caesar и AC Novachip с неодинаковой устойчивостью к фитофторному поражению метаболитное профилирование клубней и листьев методом GC-MS выявило 77 соединений, содержание которых менялось по мере развития болезни (31). К числу защитных метаболитов были отнесены индол-3-ацетонитрил, тригидроксибутират, D-маннитол, дигидрокумарин и пропионат, так как они гораздо сильнее накапливались у растений более устойчивого сорта Caesar. Спектр этих соединений в клубнях и листьях несколько различался, что может, по мнению авторов, указывать на особенности механизмов защиты в разных органах. Обсуждается также перспективность использования метаболомного анализа, основанного на новых методических подходах (например, ЯМР), в селекции картофеля на повышение устойчивости (31).

Следует остановиться еще на одном сообщении, показавшем тесную взаимосвязь результатов транскриптомных и метаболомных исследований. РНК-секвенирование, выполненное для листьев двух устойчивых (F06025 и F06037) и одного чувствительного (Russet Burbank) генотипов картофеля, выявило, что заражение *P. infestans* вызывает различия в экспрессии 4216 генов (32), часть которых кодирует ферменты, вовлеченные в различные метаболические пути. Усиление экспрессии этих генов у устойчивых линий приводило к накоплению фенилпропаноидов, флавоноидов, алкалоидов и терпеноидов, рассматриваемых в качестве защитных метаболитов.

Ризоктониоз. Болезни картофеля, вызываемые грибом *Rhizoctonia solani*, поражают подземные части растения с образованием черной парши (black scurf) на столонах и клубнях (33), что приводит к значительному снижению продуктивности (34). Метаболомный анализ, сочетающий FT-ICR/MS (Fourier-transform ion cyclotron resonance) и GC-MS, выявил особенности метаболизма у зараженных этим патогеном побегов картофеля (1). PCA-анализ метаболомных данных (270 идентифицированных метаболитов) обнаружил различия между интактными и инфицированными *R. solani* растениями. Четкую разницу между метаболомами здоровых и пораженных проростков показали также с помощью метода PLS. Картирование метаболомных изменений позволило заключить, что после заражения изменяется содержания метаболитов, которые вовлечены в 40 биосинтетических путей и биохимически связаны со 107 ферментами, кодируемыми 222 генами (1). Следующий этап этого исследования был связан с поиском маркерных метаболитов. Увеличение активности мевалонатного и дезоксиксилулозофосфатного путей приводило к росту биосинтеза псевдоалкалоидов сесквитерпенового ряда (фитуберин, фитоалексины ришитин и солаветивон) и стероидных алкалоидов, имеющих в качестве агликонов соласодин и соласодинин. В инфицированных проростках отмечалось повышение содержания большинства карбоновых кислот, например цитрамалата,

оксалата, глюконата и α-кето-D-глюконата, но уменьшались пулы глюкуроновой и галактуроновой кислот — компонентов клеточной стенки. При заражении росла концентрация веществ, потенциально участвующих в реализации системной приобретенной устойчивости (systemic acquired resistance, SAR) и реакции сверхчувствительности (hypersensitive response, HR), например азелаиновой и щавелевой кислот. Содержание протеиногенных аминокислот (за исключением пироглутаминовой кислоты) значительно снижалось в инфицированных проростках. Наряду с этим в зараженных побегах изменялся пул сахаров: на фоне роста количества остальных углеводов уменьшалось содержание D-фруктозы и *мио*-инозитола. Патоген влиял и на накопление фенольных соединений: при заражении в тканях растений количество α-токотриенола и феруловой кислоты возрастало, хлорогеновой кислоты — снижалось. При этом увеличилось содержание амидов фенилпропаноидов, связанных с клеточной стенкой, в частности N-ферулоилтирамина, тогда как количество N-ферулоилпутресцина уменьшалось (1).

Порошистая парша. Заболевание картофельных клубней и корней, вызываемое плазмодиомицетом *Spongospora subterranea* (Wallr.) Lagerh, резко снижает продуктивность растений, а также длительность хранения клубней, что наносит существенный экономический вред. Развитие спор, покоящихся в почве, инициируется корневыми экссудатами. Метаболомный анализ был применен для выявления маркерных соединений, необходимых для прорастания спор (35). Анализ проводили с использованием HILIC-хроматографии (hydrophilic interaction liquid chromatography), сопряженной с MS. В результате проанализировали в основном гидрофильную фракцию корневых экссудатов, идентифицировав 24 низкомолекулярных соединений, большую часть которых составляли аминокислоты. Сравнительный анализ экссудатов растений картофеля разных сортов (Agria, Gladiator, Russet Burbank и Iwa) выявил некоторые различия в зависимости от устойчивости сорта к патогену (35).

Таким образом, данные последних лет неоспоримо свидетельствуют, что с помощью метаболомного анализа на основе разных методических подходов можно не только охарактеризовать развитие вирусных и грибных инфекций, но и тестировать устойчивость к ним у видов и сортов. Метаболомное профилирование устойчивых сортов картофеля позволит развивать их селекцию, используя биохимические маркеры.

Насекомые-вредители. Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata* Say), поедающий листья картофеля, вызывает до 30-50 % потерь урожая (36). Гликоалкалоиды представляют собой класс токсичных метаболитов, содержащихся в тканях растений, в том числе картофеля, и защищающих растения от поедания травоядными животными. Основные гликоалкалоиды *Solanum tuberosum* — соланин и хаконин (10), однако разнообразие гликоалкалоидов у других видов рода *Solanum* гораздо шире (37, 38). Содержащиеся в листьях гликоалкалоиды лептин и α-томатин снижают количество биомассы, поедаемой взрослыми жуками, и повышают смертность преимагинальных личинок (39, 40). Помимо алкалоидов, многие другие метаболиты участвуют в формировании устойчивости к поеданию колорадским жуком. Например, макроципины, ингибируя цистеиновые протеазы, препятствуют питанию травоядных (41). Токсичность проявляют эфиры ряда жирных кислот и сахаров (42), а также сесквитерпены (43).

Для выяснения биохимических механизмов устойчивости картофеля к колорадскому жуку было проведено метаболитное профилирование листьев методом UPLC-qTOF-MS (ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time flight spectrometry) у представителей диких

видов картофеля *S. tarijense*, *S. oplocense*, *S. piurae*, *S. acroglossum*, *S. chomatophilum*, *S. paucissectum* и культурного *S. tuberosum*, различающихся устойчивостью к поеданию колорадским жуком (44). Поиск метаболитов, связанных с этим признаком, показал, что только *S. tuberosum* продуцирует гликоалкалоиды, содержащие трисахаридные гликоны соланин и хаконин. У изученных диких видов синтезировались гликоалкалоиды с тетрасахаридами в боковых цепях. У *S. oplocense, S. paucisectum, S. chomatophilum* и *S. piurae* устойчивость к коларадскому жуку определяли дегидрокоммерсонин, томатин и неотоматин. Ряд других метаболитов, не относящихся к гликоалкалоидам, например гидроксикумарин и другие фенилпропаноиды, которые синтезировали только растения диких видов, тоже были связаны с устойчивостью (44).

Еще одна группа вредителей — сосущие насекомые, к которым относятся тли. Наряду с повреждениями покровов растений и потреблением их метаболитов, насекомые этой группы зачастую переносят вирусные инфекции. Все это существенно снижает урожайность картофеля (45, 46). К сожалению, в настоящее время имеется только одна публикация (45) о метаболомных исследованиях при действии тлей на картофель. Особенность работы в том, что метаболитные профили в листьях на разных этапах развития, при действии тлей и при вирусном заражении сравнили с помощью ЯМР у исходных и ГМО-линий. Во всех случаях выявили изменения разной интенсивности. При генетической модификации наиболее сильные метаболомные различия проявлялись у молодых листьев. Показано значительное снижение содержания сахарозы и увеличение — фенолов и малата. Генетическая модификация не влияли на число питающихся на растении тлей, но оно зависело от содержания гликоалкалоидов, к которым относятся α-соланин и α-хаконин. У молодых листьев накопление этой группы метаболитов было выше, что снижало численность насекомых.

Таким образом, метаболомный анализ позволяет охарактеризовать маркерные метаболиты, изменение содержания которых лежит в основе ответной реакции на поражение листогрызущими и сосущими насекомыми.

В целом можно заключить, что при более доступном техническом оснащении метаболомное профилирование может стать ключевым подходом в анализе устойчивости растений картофеля к биотическим факторам.

Действие абиотических факторов. Рост растений в значительной степени определяется изменениями условий окружающей среды (физических и/или химических факторов). Спектральный состав света, комплекс макро- и микроэлементов, температурный и водный режимы способны как ускорять, так и замедлять развитие растений. Расшифровке механизмов, лежащих в основе устойчивости растений к абиотическим стрессорам на транскриптомном и протеомном уровне, с 2000-х годов посвящено огромное число исследований, но примеры метаболомных исследований при этом немногочисленны.

Засуха и осмотический стресс. Глобальное потепление приводит к изменению климата, в том числе значительно влияет на количество и длительность осадков. Как следствие, возможны засухи, засоление или затопление сельскохозяйственных угодий. Устойчивость растений к дефициту влаги представляется наиболее изученной. Так, показана важная роль накопления осмолитов (аминокислот, сахаров, полиолов и т.д.), антиоксидантов (глутатиона, аскорбиновой кислоты и др.), что указывает на изменение интенсивности и направленности метаболических процессов (47), в связи с чем метаболомное профилирование представляется важным подходом для изучения адаптации растений к этому абиотическому стрессу (48).

Известно, что растения картофеля достаточно чувствительны к не-

достатку влаги (49). Возможные метаболические перестройки и их различия в зависимости от устойчивости к засухе были проанализированы для листьев, клубней и корней у пяти генотипов картофеля (50). Исследование включало как нетаргетированный, так и таргетированный подходы. В первом случае изучили около 7000 соединений, во втором — 60, в том числе первичные (глюкоза, малат, пролин и т.д.) и вторичные (каротиноиды, фенольные соединения и т.д.) метаболиты. Были показаны различия в метаболических перестройках как между органами, так и между генотипами. Стресс-индуцированные метаболические изменения, специфичные для каждого клона, проанализировали с использованием таргетированного подхода. Особое внимание уделялось процессам в клубнях. Были установлены 45 соединений с органоспецифическими изменениями. Так, при недостатке влаги накопление более сложных соединений фенольной природы (нарингенина, рутина и умбелиферона) инициируется в листьях, но не в корнях и клубнях. Напротив, содержание их предшественников и интермедиатов фенилпропаноидного пути (например, фенилаланин, хлорогеновая и другие фенилпропановые кислоты) возрастало во всех органах и у всех генотипов, но с разной интенсивностью. Еще одна группа метаболитов, которые накапливались в клубнях, — аминокислоты, пример глутамин, лейцин, изолейцин, триптофан и др. В то же время содержание сахаров в клубнях практически не зависело от действия стресс-фактора (в большинстве случаев изменения касались только инозитола и сорбозы) (50).

Сходные результаты были получены при сравнении метаболомов листьев у двух сортов андийского картофеля (*S. tuberosum* subsp. *andigena*) — Negra Ojosa и Sullu. Местные сорта этого картофеля более устойчивы к засухе, чем сорта возделываемого картофеля *S. tuberosum* subsp. *tuberosum*. Метаболитное профилирование при дефиците влаги выявило накопление трегалозы, пролина и ГАМК, причем более выраженное у менее устойчивого сорта Negra Ojosa (51). Количество гексоз и комплексных сахаров практически не изменялось и не различалось у обоих сортов, но более устойчивый сорт Sullu характеризовался повышенным содержанием органических кислот цикла Кребса при засухе, что может свидетельствовать о большей активности и стабильности митохондрий.

Цель масштабного исследования с использованием 31 сорта картофеля (52) заключалась в поиске маркеров устойчивости к засухе на транскриптомном и метаболомном уровнях с применением РНК-секвенирования и нецелевого метаболомного GC-MS детектирования. Минимальный набор маркеров составил 20 генов и метаболитов. Они позволяют предсказать устойчивость к засухе еще на очень ранних этапах возделывания. Интересно, что некоторые маркеры были связаны с устойчивостью не только к засухе, но и к патогенам, что позволяет предположить общность механизмов устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам.

Таким образом, метаболомное профилирование может использоваться для фенотипирования генотипов с разной устойчивостью к засухе и исследования их физиологических и молекулярных адаптаций (50, 51).

На другой модельной системе в условиях in vitro с использованием осмотически активного соединения сорбитола (53) среди представителей двух видов *Solanum* и 18 сортов *S. tuberosum* отобрали два генотипа, наиболее контрастных по засухоустойчивости. Сравнение их протеомов в стрессовых условиях выявило различия в интенсивности деградации белков, сочетающееся с изменением окислительно-восстановительного статуса (54). Для этих двух генотипов выполнили таргетированное метаболомное профилирование полярных соединений. Изменения были зарегистрированы для 26

из 42 исследованных метаболитов (53). Авторы оценивали соотношение количества этих соединений у опытных и контрольных растений. В большинстве случаев отмечалось индуцированное засухой снижение накопления метаболитов. Такая динамика была характерна для аскорбата, аспартата, сукцината и др. Наиболее существенные изменения показаны для пролина: стресс вызывал его накопление у обоих генотипов, но у устойчивого оно было в 11,39 раза выше. Также отмечали аккумуляцию глицина, фенилаланина и сахарозы. Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований по динамике ряда соединений (55).

Обратимся еще к одному исследованию, в котором метаболомный анализ был применен для оценки устойчивости к недостатку влаги у трансгенного картофеля с конститутивно экспрессируемым геном арабидопсиса, кодирующим транскрипционный фактор DREB, который индуцируется при дегидратации (DRE-binding protein/C-repeat binding factor; dehydration-responsive element). DREB/CBF белки связываются с особым сайтом в промоторе и регулируют экспрессию генов при засухе и низкой температуре (56). Применение нецелевого метаболомного подхода позволило проанализировать 165 метаболитов (из них 113 идентифицировали) и выявить различия в клубнях у контрольных и трансгенных растений. Наиболее значимые изменения (рост накопления у трансгенных растений) отмечали для соединений, вовлеченных в метаболизм глутатиона и ГАМК, что, по мнению авторов, указывает на активацию адаптационных механизмов за счет экспрессии гена, кодирующего DREBA. Наличие этого белка может оказывать как прямое (в результате изменения экспрессии), так и непрямое действие, например при инициации синтеза фитогормона этилена (56). Особо следует подчеркнуть, что у трансгенных линий не наблюдалось накопления токсичных соланина и хаконина, то есть повышение устойчивости трансгенных линий не приводило к снижению потребительских свойств клубней. Следовательно, метаболомный анализ достаточно чувствителен для выявления различий у конструируемых линий картофеля.

Высокие температуры. Температура — один из самых непредсказуемых абиотических факторов, влияющих на рост и урожайность картофеля (57). Принимая во внимание, что картофель был доместицирован в высокогорных районах центральных Анд Южной Америки, не удивительно, что эти сорта наиболее продуктивны в диапазоне температур 15-19 °С (58). В перспективе из-за потепления климата мировое производство картофеля может снизиться на 20-30 % (59), поэтому селекция на устойчивость к повышенным температурам все более актуальна.

Геномные и транскриптомные исследования позволяют заключить, что устойчивость к повышению температуры регулируется большим числом генов, изменение экспрессии которых влияет на биохимические и физиологические реакций (57). Тем интереснее результаты изучения адаптационных механизмов картофеля к повышению температуры одновременно на транскриптомном и метаболомном уровнях (60). Значимые изменения показаны для 89 из 123 детектированных метаболитов. При гипертермии уменьшалось содержание большинства из них, в том числе аминокислот и ряда азотсодержащих соединений, например этаноламина и путресцина. Накопление последних снижалось как в листьях, так и клубнях. Ту же тенденцию наблюдали для органических кислот, связанных с циклом трикарбоновых кислот, и для углеводов. Уменьшение содержания фумарата и сукцината было особенно выражено в клубнях. В листьях более интенсивное снижение отмечалось для фруктозы, галактозы и их фосфорилированных форм. Клубнеспецифическое изменение метаболома при повышении

температуры затронуло содержание спиртов (снижение количества сорбитола и маннитола, повышение — инозитола), состав липидов (повышение насыщенности жирнокислотного состава, бóльшая представленность жирных кислот ряда C28-C30) и увеличение содержания жирных спиртов, особенно фитостеролов. Выявленные метаболитные перестройки полностью коррелируют с изменением экспрессии генов, кодирующих ферменты соответствующих биохимических циклов, что свидетельствует о возможности использовать метаболомный подход для анализа биохимических перестроек у растений картофеля при действии абиотических стрессоров (60).

Имеющиеся данные указывают на достаточную чувствительность метаболических подходов при оценке последствий воздействия стрессоров, непосредственно связанных с дегидрированием клетки (изменения преимущественно касаются состава сахаров и аминокислот). Для выяснения того, каким образом на метаболические перестройки повлияют несколько факторов одновременно, например, недостаток влаги в сочетании с повышением температуры, требуются дополнительные исследования.

Устойчивость к биотическим агентам определяет иммунная система растения, включающая рецепторы узнавания (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs, или microbe-associated molecular pattern, MAMPs) и индуцированный иммунитет (effector-triggered immunity) (13). Устойчивость к абиотическим факторам также основана на высокоспецифичном узнавании стрессора и последующем формировании адаптивного ответа, который можно условно подразделить на неспецифический и специфический. Огромное число исследований доказало, что в основе резистентности лежит активация генов, в том числе отвечающих за количественные признаки (QTLs) (61). В представленном обзоре мы на примере картофеля показали, что происходящие при этом разнообразные метаболические перестройки представляют собой динамический процесс, зависящий от типа и силы стрессора, а также от генотипа растения. Адаптация к биотическим и абиотическим факторам обеспечивается накоплением вторичных метаболитов и изменением баланса аминокислот и сахаров.

При создании сортов картофеля, устойчивых к стрессорам, используется межвидовая гибридизация с дикорастущими формами, клеточная инженерия и генетическая трансформация (62). В настоящее время наряду с геномными и протеомными технологиями метаболомные методы начинают активно использоваться для изучения устойчивости растений, фенотипирования образцов диких и культурных видов, гибридов, сортов, а также трансгенных форм (8). Недавно предложена стратегия повышения эффективности картофелеводства на основе производства семян гетерозисных диплоидных гибридов (true potato seeds, TPS) (63). Отметим, что каждое из этих направлений имеет свои преимущества и ограничения.

Фактически все данные по метаболому картофеля получены при изучении вегетативных органов растений. Метаболомные особенности генеративных органов в настоящее время не изучены, полностью отсутствуют сведения о метаболомном профиле ЦМС-форм картофеля, необходимых гибридной гетерозисной селекции (64). Имеющиеся результаты косвенно указывают на значительные изменения метаболитного профиля при формировании пыльцы у представителей семейства *Solanacea*, особенно под влиянием повышенных температур (65), чем подтверждается актуальность этого направления в исследовании метаболома картофеля.

Итак, метаболомное профилирование становится неотъемлемой частью фундаментальных исследований, расшифровывающих механизмы формирования устойчивости к неблагоприятным биотическим и абиотиче-

ским условиям. Кроме того, метаболомный анализ (при соответствующей стандартизации используемых методов и обработки полученных результатов) может стать ключевым звеном, а со временем и основой мониторинга коллекционных образцов, создаваемых сортов и гибридов картофеля. Несомненно, что подобные исследования перспективны для фенотипирования генотипов картофеля, а также для выявления форм, устойчивых к различным типам неблагоприятных воздействий.

Авторы благодарят профессора Т.А. Гавриленко (ВИР) за обсуждение рукописи и ценные замечания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aliferis K.A., Jabaji S. FT-ICR/MS and GC-EI/MS metabolomics networking unravels global potato sprout's responses to *Rhizoctonia solani* infection. *PLoS ONE*, 2012, 7(8): e42576 (doi: 10.1371/journal.pone.0042576).
2. Oliver S.G., Winson M.K., Kell D.B., Baganz F. Systematic functional analysis of the yeast genome. *Trends Biotechnol.*, 1998, 16(9): 373-378.
3. Tweeddale H., Notley-McRobb L., Ferenci T. Effect of slow growth on metabolism of *Escherichia coli*, as revealed by global metabolite pool ("Metabolome") analysis. *J. Bacteriol.*, 1998, 180(19): 5109-5116.
4. Aliferis K.A., Chrysayi-Tokousbalides M. Metabolomics in pesticide research and development: review and future perspectives. *Metabolomics*, 2011, 7: 35 (doi: 10.1007/s11306-010-0231-x).
5. Hong J., Yang L., Zhang D., Shi J. Plant metabolomics: an indispensable system biology tool for plant science. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, 17(6): 767 (doi: 10.3390/ijms17060767).
6. Birch P.R.J., Bryan G., Fenton B., Gilroy E.M., Hein I., Jones J.T., Prashar A., Taylor M.A., Torrance L., Toth I.K. Crops that feed the world. 8: Potato: are the trends of increased global production sustainable? *Food Secur.*, 2012, 4(4): 477-508 (doi: 10.1007/s12571-012-0220-1).
7. Roessner U., Wagner C., Kopka J., Trethewey R.N., Willmitzer L. Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography—mass spectrometry. *Plant J.*, 2000, 23(1): 131-142 (doi: 10.1046/j.1365-313x.2000.00774.x).
8. Пузанский Р.К., Емельянов В.В., Гавриленко Т.А., Шишова М.Ф. Перспективы метаболомных исследований растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2017, 21(1): 112-123 (doi: 10.18699/VJ17.229).
9. Kogovšek P., Pompe-Novak M., Petek M., Fragner L., Weckwerth W., Gruden K. Primary metabolism, phenylpropanoids and antioxidant pathways are regulated in potato as a response to potato virus Y infection. *PLoS ONE*, 2016, 11(1): e0146135 (doi: 10.1371/journal.pone.0146135).
10. Friedman M. Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54(23): 8655-8681 (doi: 10.1021/jf061471).
11. Ginzberg I., Tokuhisa J.G., Veilleux R.E. Potato steroidal glycoalkaloids: Biosynthesis and genetic manipulation. *Potato Res.*, 2009, 52(1): 1-15 (doi: 10.1007/s11540-008-9103-4).
12. Barker H., Dale M.F.B. Resistance to viruses in potato. In: *Natural resistance mechanisms of plants to viruses* /G. Loebenstein, J.P. Carr (eds.). Springer, Dordrecht, 2006: 341-366.
13. Макарова С.С., Макаров В.В., Тальянкий М.Э., Калинина Н.О. Устойчивость картофеля к вирусам: современное состояние и перспективы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2017, 21(1): 62-73 (doi: 10.18699/VJ17.224).
14. Pompe-Novak M., Gruden K., Baebler Š., Krečič-Stres H., Kovač M., Jongsma M., Ravnikar M. Potato virus Y induced changes in the gene expression of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2006, 67(3-5): 237-247 (doi: 10.1016/j.pmpp.2006.02.005).
15. Baebler Š., Krečič-Stres H, Rotter A., Kogovšek P., Cankar K., Kok E.J., Gruden K., Kova M., Žel J., Pompe-Novak M., Ravnikar M. PVY^{NTN} elicits a diverse gene expression response in different potato genotypes in the first 12 h after inoculation. *Mol. Plant Pathol.*, 2009, 10(2): 263-275 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2008.00530.x).
16. Goyer A., Hamlin L., Crosslin J.M., Buchanan A., Chang J.H. RNA-Seq analysis of resistant and susceptible potato varieties during the early stages of potato virus Y infection. *BMC Genomics*, 2015, 16: 472 (doi: 10.1186/s12864-015-1666-2).
17. Quenouille J., Vassilakos N., Moury B. Potato virus Y: a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity. *Mol. Plant Pathol.*, 2013, 14(5): 439-452 (doi: 10.1111/mpp.12024).
18. Crosslin J.M., Hamm P.B., Eastwell K.C., Thornton R.E., Brown C.R., Corsini D., Shiel P.J., Berger P.H. First report of the necrotic strain of potato virus Y (PVYN) on potatoes in the Northwestern United States. *Plant Dis.*, 2002, 86(10): 1177-1177 (doi: 10.1094/PDIS.2002.86.10.1177C).
19. Stare T., Ramšak Ž., Blejec A., Stare K., Turnšek N., Weckwerth W., Wienkoop S., Vodnik D., Gruden K. Bimodal dynamics of primary metabolism-related responses in tolerant potato-

Potato virus Y interaction. *BMC Genomics*, 2015, 16: 716 (doi: 10.1186/s12864-015-1925-2).
20. Fry W. *Phytophthora infestans*: the plant (and *R* gene) destroyer. *Mol. Plant Pathol.*, 2008, 9(3): 385-402 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x).
21. Haas B., Kamoun S., Zody M., Jiang R., Handsaker R., Cano L. et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature*, 2009, 461(7262): 393-398 (doi: 10.1038/nature08358).
22. Ma Z., Michailides T.J. Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.*, 2005, 24(10): 853-863 (doi: 10.1016/j.cropro.2005.01.011).
23. Turkensteen L.J. Durable resistance of potatoes against *Phytophthora infestans*. In: *Durability of disease resistance* /T.H. Jacobs, J.E. Parlevliet (eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1993: 115-124.
24. Akino S., Takemoto D., Hosaka K. *Phytophthora infestans*: a review of past and current studies on potato late blight. *J. General Plant Pathol.*, 2013, 80(1): 24-37 (doi: 10.1007/s10327-013-0495-x).
25. Kushalappa A., Gunnaiah R. Metabolo-proteomics to discover plant biotic stress resistance genes. *Trends Plant Sci.*, 2013, 18(9): 522-531 (doi: 10.1016/j.tplants.2013.05.002).
26. Pushpa D., Yogendra K., Gunnaiah R., Kushalappa A., Murphy A. Identification of late blight resistance-related metabolites and genes in potato through nontargeted metabolomics. *Plant Mol. Biol. Rep.*, 2013, 32(2): 584-595 (doi: 10.1007/s11105-013-0665-1).
27. Yogendra K., Kushalappa A., Sarmiento F., Rodriguez E., Mosquera T. Metabolomics deciphers quantitative resistance mechanisms in diploid potato clones against late blight. *Funct. Plant Biol.*, 2014, 42(3): 284-298 (doi: 10.1071/fp14177).
28. Yogendra K., Pushpa D., Mosa K., Kushalappa A., Murphy A., Mosquera T. Quantitative resistance in potato leaves to late blight associated with induced hydroxycinnamic acid amides. *Funct. Integrat. Genomics*, 2014, 14(2): 285-298 (doi: 10.1007/s10142-013-0358-8).
29. Tomita S., Ikeda S., Tsuda S., Someya N., Asano K., Kikuchi J., Chikayama E., Ono H., Sekiyama Y. A survey of metabolic changes in potato leaves by NMR-based metabolic profiling in relation to resistance to late blight disease under field conditions. *Magn. Reson. Chem.*, 2017, 55(2): 120-127 (doi: 10.1002/mrc.4506).
30. Abu-Nada Y., Kushalappa A.C., Marshall W.D., Al-Mughrabi K., Murphy A. Temporal dynamics of pathogenesis-related metabolites and their plausible pathways of induction in potato leaves following inoculation with *Phytophthora infestans*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2007, 118(4): 375-391 (doi: 10.1007/s10658-007-9150-8).
31. Hamzehzarghani H., Vikram A., Abu-Nada Y., Kushalappa A.C. Tuber metabolic profiling of resistant and susceptible potato varieties challenged with *Phytophthora infestans*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2016, 145(2): 277-287 (doi: 10.1007/s10658-015-0840-3).
32. Yogendra K.T., Kushalappa A.C. Integrated transcriptomics and metabolomics reveal induction of hierarchies of resistance genes in potato against late blight. *Funct. Plant Biol.*, 2016, 43(8): 766-782 (doi: 10.1071/FP16028).
33. Hide G., Read P., Sandison J.P. Stem canker (*Rhizoctonia solani*) of maincrop potatoes. II. Effects on growth and yield. *Ann. Appl. Biol.*, 1985, 106(3): 423-437 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1985.tb03133.x).
34. Carling D., Leiner R., Westphale P. Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. *American Potato Journal*, 1989, 66(11): 693-701 (doi: 10.1007/BF02896825).
35. Balendres M.A., Nichols D.S., Tegg R.S., Wilson C.R. Metabolomes of potato root exudates: Compounds that stimulate resting spore germination of the soil-borne pathogen *Spongospora subterranean*. *J. Agric. Food Chem.*, 2016, 64(40): 7466-7474 (doi: 10.1021/acs.jafc.6b03904).
36. McLeod C., Tolman J.H. Evaluation of losses in potatoes. In: *Potato pest management in Canada: Proceedings of a Symposium on Improving Potato Pest Protection, Fredericton, NB* /G. Boiteau, R.P. Singh, R.H. Parry (eds.). New Brunswick Department of Agriculture, Fredericton, 1987: 363-373.
37. Kozukue N., Yoon K.-S., Byun G.-I., Misoo S., Levin C.E., Friedman M. Distribution of glycoalkaloids in potato tubers of 59 accessions of two wild and five cultivated *Solanum* species. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(24): 11920-11928 (doi: 10.1021/jf802631t).
38. Shakya R., Navarre D.A. LC-MS analysis of solanidane glycoalkaloid diversity among tubers of four wild potato species and three cultivars (*Solanum tuberosum*). *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56(16): 6949-6958 (doi: 10.1021/jf8006618).
39. Barbour J.D., Kennedy G.G. Role of steroidal glycoalkaloid α-tomatine in host-plant resistance of tomato to Colorado potato beetle. *J. Chem. Ecol.*, 1991, 17(5): 989-1005 doi: 10.1007/BF01395604).
40. Rangarajan A., Miller A.R., Veilleux R.E. Leptine glycoalkaloids reduce feeding by Colorado potato beetle in diploid *Solanum* sp. hybrids. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 2000, 125(6): 689-693.
41. Sabotič J., Smid I., Gruden K., Gašparič M.B., Koruza K., Petek M., Pohleven J., Brzin J., Janko K., Zel J. Inhibition of the growth of Colorado potato beetle larvae by macrocypins, protease inhibitors from the parasol mushroom. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61(51): 12499-12509 (doi: 10.1021/jf403615f).
42. King R.R., Pelletier Y., Singh R.P., Calhoun L.A. 3,4-Di-Oisobutyryl-6-O-caprylsucrose: the major component of a novel sucrose ester complex from the type B glandular trichomes of *Solanum berthaultii* Hawkes (PI473340). *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1986, (14): 1078-1079 (doi: 10.1039/C39860001078).

43. Carter C.D., Gianfagna T.J., Sacalis J.N. Sesquiterpenes in glandular trichomes of a wild tomato species and toxicity to the Colorado potato beetle. *J. Agric. Food Chem.*, 1989, 37(5): 1425-1428 (doi: 10.1021/jf00089a048).
44. Tai H., Worrall K., Pelletier Y., De Koeyer D., Calhoun L. Comparative metabolite profiling of *Solanum tuberosum* against six wild *Solanum* species with Colorado potato beetle resistance. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62(36): 9043-9055 (doi: 10.1021/jf502508y).
45. Plischke A., Choi Y.H., Brakefield P.M., Klinkhamer P.G.L., Bruinsma M. Metabolomic plasticity in GM and non-GM potato leaves in response to aphid herbivory and virus infection. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60(6): 1488-1493 (doi: 10.1021/jf204864y).
46. Plischke A. *Non-target effects of GM potato: an eco-metabolomics approach. PhD thesis.* Leiden University, The Netherlands, 2013.
47. Evers D., Lefevre I., Legay S., Lamoureux D., Hausman J., Rosales R.O., Marca L.R., Hoffmann L., Bonierbale M., Schafleitner R. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach. *J. Exp. Bot.*, 2010, 61(9): 2327-2343 (doi: 10.1093/jxb/erq060).
48. Arbona V., Manzi M., Ollas C., Gymez-Cadenas A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, 14(3): 4885-4911 (doi: 10.3390/ijms14034885).
49. Iwama K., Yamaguchi J. Abiotic stresses. In: *Handbook of potato production, improvement and postharvest management* /J. Gopal, S.M.P. Khurana (eds.). Food Product Press, NY, 2006: 231-278.
50. Drapal M., Vignolo E.R.F., Rosales R.O.G., Bonierbale M., Mihovilovich E., Fraser P.D. Identification of metabolites associated with water stress responses in *Solanum tuberosum* L. clones. *Phytochemistry*, 2017, 135: 24-33 (doi: 10.1016/j.phytochem.2016.12.003).
51. Vasquez-Robinet C., Mane S.P., Ulanov A.V., Watkinson J.I., Stromberg V.K., De Koeyer D., Schafleitner R., Willmot D.B., Bonierbale M., Bohnert H.J., Grene R. Physiological and molecular adaptations to drought in Andean potato genotypes. *J. Exp. Bot.*, 2008, 59(8): 2109-2123 (doi: 10.1093/jxb/ern073).
52. Sprenger H., Erban A., Seddig S., Rudack K., Thalhammer A., Le M.Q., Walther D., Zuther E., Köhl K.I., Kopka J., Hincha D.K. Metabolite and transcript markers for the prediction of potato drought tolerance. *Plant Biotechnol. J.*, 2017 (in press) (doi: 10.1111/pbi.12840).
53. Bündig C., Blume C., Peterhänsel C., Winkelmann T. Changed composition of metabolites in *Solanum tuberosum* subjected to osmotic stress in vitro: is sorbitol taken up? *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 2016, 127(1): 195-206 (doi: 10.1007/s11240-016-1042-1).
54. Bündig C., Jozefowicz A.M., Mock H.P., Winkelmann T. Proteomic analysis of two divergently responding potato genotypes (*Solanum tuberosum* L.) following osmotic stress treatment in vitro. *J. Proteomics*, 2016, 143: 227-241 (doi: 10.1016/j.jprot.2016.04.048).
55. Schafleitner R., Gaudin A., Gutierrez R., Alvarado C., Bonierbale M. Proline accumulation and real time PCR expression analysis of genes encoding enzymes of proline metabolism in relation to drought tolerance in Andean potato. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2007, 29(1): 19-26 (doi: 10.1007/s11738-006-0003-4).
56. Iwaki T., Guo L., Ryals J.A., Yasuda S., Shimazaki T., Kikuchi A., Watanabe K.N., Kasuga M., Yamaguchi-Shinozaki K., Ogawa T., Ohta D. Metabolic profiling of transgenic potato tubers expressing *Arabidopsis* dehydration response element-binding protein 1A (DREB1A). *J. Agric. Food Chem.*, 2013, 61(4): 893-900 (doi: 10.1021/jf304071n).
57. Levy D., Veilleux R.E. Adaptation of potato to high temperatures and salinity — a review. *Am. J. Potato Res.*, 2007, 84(6): 487-506 (https://doi.org/10.1007/BF02987885).
58. Van Dam J., Kooman P.L., Struik P.C. Effects of temperature and photoperiod on early growth and final number of tuber in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Potato Res.*, 1996, 39(1): 51-62 (doi: 10.1007/BF02358206).
59. Hijmans R.J. The effect of climate change on global potato production. *Am. J. Pot. Res.*, 2003, 80(4): 271-279 (doi: 10.1007/BF02855363).
60. Hancock R.D., Morris W.L., Ducreux L.J.M., Morris J.A., Usman M., Verrall S.R., Fuller J., Simpson C.G., Zhang R., Hedley P.E., Taylor M.A. Physiological, biochemical and molecular responses of the potato (*Solanum tuberosum* L.) plant to moderately elevated temperature. *Plant Cell Environ.*, 2014, 37(2): 439-450 (doi: 10.1111/pce.12168).
61. Abdelrahman M., Burrittc D.J., Tran L.-S.P. The use of metabolomic quantitative trait locus mapping and osmotic adjustment traits for the improvement of crop yields under environmental stresses. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2017, Jun 28, pii: S1084-9521(16)30394-9 (Epub ahead of print) (doi: 10.1016/j.semcdb.2017.06.020).
62. Bethke P.C., Halterman D.A., Jansky S. Are we getting better at using wild potato species in light of new tools? *Crop Sci.*, 2017, 57(3): 1241-1258 (doi: 10.2135/cropsci2016.10.0889).
63. Jansky S.H., Charkowski A.O., Douches D.S., Gusmini G., Richael C., Bethke P.C., Spooner D.M., Novy R.G., De Jong H., De Jong W.S., Bamberg J.B., Thompson A.L., Bizimungu B., Holm D.G., Brown C.R., Haynes K.G., Sathuvalli V.R., Veilleux R.E., Miller J.C. Jr., Bradeen J.M., Jiang J. Reinventing potato as a diploid inbred line-based crop. *Crop Sci.*, 2016, 56(4): 1412-1422 (doi: 10.2135/cropsci2015.12.0740).
64. Анисимова И.Н., Гавриленко Т.А. Цитоплазматическая мужская стерильность и перспективы ее использования в селекционно-генетических исследованиях и семеноводстве кар-

тофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2017, 21(1): 83-95 (doi: 10.18699/VJ17.226).
65. Paupiere M.J., van Heusden A.W., Bovy A.G. The metabolic basis of pollen thermo-tolerance: perspectives for breeding. *Metabolites*, 2014, 4(4): 889-920 (doi: 10.3390/metabo4040889).

[1]ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет,
199034 Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9,
e-mail: puzansky@yandex.ru, bootika@mail.ru, mshishova@mail.ru ✉;
[2]ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

Поступила в редакцию 27 сентября 2017 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2018, V. 53, № 1, pp. 15-28

METABOLOMICS AS A MODERN APPROACH FOR THE INVESTIGATION OF POTATO PLANT ADAPTATION TO BIOTIC AND ABIOTIC STRESS FACTORS
(review)

R.K. Puzanskiy[1, 2], V.V. Yemelyanov[1], M.F. Shishova[1, 2]

[1]*Saint-Petersburg State University,* 7/9, Universitetskaya nab., St. Petersburg, 199034 Russia, e-mail puzansky@yandex.ru, bootika@mail.ru, mshishova@mail.ru (✉ corresponding author);
[2]*Federal Research Center the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,* Federal Agency for Scientific Organizations, 42-44, ul. Bol'shaya Morskaya, St. Petersburg, 190000 Russia
ORCID:
Puzanskiy R.K. orcid.org/0000-0002-5862-2676 Shishova M.F. orcid.org/0000-0003-3657-2986
Yemelyanov V.V. orcid.org/0000-0003-2323-5235
The authors declare no conflict of interests
Acknowledgements:
The authors are grateful to Prof. T.A. Gavrilenko (VIR) for the discussion of the manuscript and valuable comments.
Supported by Russian Science Foundation (grant № 16-16-04125)
Received September 27, 2017 doi: 10.15389/agrobiology.2018.1.15eng

Abstract

The progress in genomic and proteomic investigations has greatly expanded the range of subjects aimed in discovering of mechanisms involved in the regulation of plant growth and development under changing of environmental conditions. Another systemic biology approach, which is known as metabolomics, has almost the same significance. It focuses on the study of dynamics of low molecular compounds which results from the complex metabolic processes in the cell. The intensity of these processes is under the influence of both biotic and abiotic stress factors. Studies on metabolic analysis are carried out not only with model objects, but also with cultivated plants, including potatoes, listed among top 10 of the most valuable crops. This review aims to summarize the available literature data on systemic biochemical rearrangements detected with metabolic approach in potato under the action of pathogenic viruses and microorganisms, insects, as well as under the influence of abiotic stressors on potato plants. Recent data indicates that metabolic analysis allows characterization of the development and progression of viral and bacterial diseases, as well as testing resistance to the infections in various potato species and varieties (H. Hamzehzarghani et al., 2016; T. Stare et al., 2015; H. Tai et al., 2014; S. Tomita et al., 2017). Significant changes in a number of secondary metabolites are shown. The metabolic approach has sufficient sensitivity to detect also alterations under environmental stress. In the review, it was considered that the results of metabolic rearrangements of the potato cell are directly linked to dehydrogenation, including osmotic and temperature stressors. The changes in the content of amino acids and sugars are of particular importance. However, a number of additional studies are required for evaluation of shifts in potatoes metabolism which are triggered under the combined stress factors action, for example, desiccation and hyperthermia (V. Arbona et al., 2013; M. Drapal et al., 2017; R.D. Hancock et al., 2014). An absolute majority of the metabolic data was obtained with various vegetative organs of potato plants. Unfortunately, metabolic profiles of generative organs have not been studied yet. There is no information on the metabolic profiling of pollen formation, including CMS-forms of potatoes. This indicates the importance of this direction in the investigation of potato metabolome. Further standardization of the metabolic analysis and methods of result processing will make it possible to use the metabolomics not only as an important component of fundamental research, but in time, as a basis for monitoring of collection samples and newly created varieties and hybrids of potatoes. Analysis of modern data indicates their perspective for phenotyping of different potato genotypes, as well as for identifying forms that are resistant to various types of unfavorable conditions.

Keywords: metabolomics, *Solanum* spp., potato, biotic stress, pathogens, viral infection, fungal infection, pests, abiotic stress.