

Перспективы метаболомных исследований растений картофеля

Р.К. Пузанский^{1, 2}, В.В. Емельянов², Т.А. Гавриленко^{1, 2}, М.Ф. Шишова^{1, 2}✉

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

По данным FAO, картофель представляет собой четвертую по объемам производства продовольственную культуру после риса, пшеницы, кукурузы и первую среди клубнеплодных и корнеплодных культур. Он служит ценным источником углеводов, антиоксидантов и витаминов. Огромное число работ сфокусировано на изучении метаболических процессов, происходящих в растениях картофеля, с тем чтобы расшифровать механизмы, отвечающие за продуктивность и накопление соединений, определяющих вкусовые и питательные качества, продолжительность периода покоя клубней, устойчивость растений и др. Результатом функционирования метаболических сетей является совокупность метаболитов, которую принято называть метаболомом. Комплексные исследования метаболического разнообразия с применением самых современных методов хроматографического анализа и детекции индивидуальных соединений выявили специфичность метаболомных спектров от субклеточного до организменного уровня, удивительную пластичность этих спектров при действии самых разнообразных факторов среды и внутренних стимулов. Уже сейчас метаболомные методы используют для фенотипирования линий, сортов и образцов диких и культурных видов картофеля, для изучения устойчивости растений к факторам окружающей среды и оценки изменений, происходящих в клубнях в процессе хранения. Метаболомный анализ активно применяется для изучения отличий генетически модифицированных форм картофеля от исходных растений. Даже небольшое число системных исследований, проведенных к настоящему времени и сочетающих оценку метаболома с изучением генома, транскриптома и протеома, указывает на значимую роль генетических факторов в определении интенсивности метаболизма растений картофеля. Очевидно, что поиск биохимических маркеров зависит от стандартизации методов выращивания, пробоподготовки и последующего анализа, от тех унифицирующих подходов, которые позволили достичь огромного прогресса в геномных и транскриптомных исследованиях. В перспективе анализ метаболома картофеля может дополнить традиционные и молекулярно-генетические методы селекции, направленные на создание новых гибридов, доноров ценных признаков, инбредных линий и сортов.

Ключевые слова: картофель; метаболомика; системная биология; селекция.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

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

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Puzanskiy R.K., Yemelyanov V.V., Gavrilenko T.A., Shishova M.F. The perspectives of metabolomics studies of potato plants. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(1):112-123. DOI 10.18699/VJ17.229

The perspectives of metabolomics studies of potato plants

R.K. Puzanskiy^{1, 2}, V.V. Yemelyanov²,
T.A. Gavrilenko^{1, 2}, M.F. Shishova^{1, 2}✉

¹ Federal Research Center the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

According to FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nation), potato is the fourth crop in terms of food production after rice, wheat and maize, and the first among the tubers and roots. The importance of potato is difficult to overestimate; it is a valuable source of carbohydrates, antioxidants and vitamins. A huge number of investigations are focused on the study of metabolic processes occurring in the potato plant in order to elucidate the mechanisms responsible for productivity and accumulation of compounds that determine taste and nutritional quality, keeping quality of tubers, plant resistance, etc. The sum of metabolites, which is produced as a result of metabolic network activity, is defined as metabolome. Complex studies of metabolic diversity with the use of modern state-of-the-art chromatography approaches and highly precise detection of individual compounds revealed specificity of metabolic spectra from sub-cellular to organism levels and its amazing plasticity under the influence of a variety of internal and external stimuli. Metabolomic approaches are already in use for phenotyping available species, lines and varieties as well as for evaluation of potato plant resistance to environmental challenges and for detection of changes in tubers during storage. Metabolome profiling is widely employed to study differences between genetically modified forms of potatoes from untransformed relatives. A limited number of systemic studies on potatoes combines metabolome investigation with genome, transcriptome and proteome analysis and suggests an important role of the genome in the determination of metabolic rates. It is obvious that the search for biochemical markers depends on standardization of cultivation techniques, sample preparation and subsequent analysis similar to what has been developed for progress in genomic and transcriptomic studies. In the future, potato metabolome studies might complete classical and molecular approaches to develop new lines and varieties.

Key words: potato; metabolomics; system biology; breeding.

В числе ста наиболее актуальных для общества вопросов биологии растений, сформулированных учеными, работниками сельского хозяйства и прессы, можно выделить и такие, в решении которых важную роль будет играть метаболомика (Grierson et al., 2011). Первая группа вопросов связана с созданием растений-продуцентов, разработкой методов кардинального повышения продуктивности растений и выявлением различий между генно-модифицированными и обычными сортами растений. Вторая нацелена на раскрытие механизмов взаимодействия растений с окружающей средой и с другими организмами. Третья группа проблем связана с изучением и сохранением биоразнообразия растений (Grierson et al., 2011). В последние годы появляется все больше исследований по перечисленным выше направлениям, которые выполняются не на модельных объектах (например, арабидопсисе), а с использованием генетических ресурсов культурных растений (пшеницы, риса, картофеля, гороха, кукурузы и др.). Накопленные данные свидетельствуют о метаболических перестройках, происходящих в растениях в ходе развития, а также при действии биотических и абиотических факторов и т. д. В ряде работ продемонстрирована значимая роль межвидовых и межсортных различий в качественных и количественных изменениях состава метаболитов. В связи с этим актуальность метаболомных исследований постоянно возрастает.

Методы анализа метаболитного состава, основанные на хроматографии, стали применяться в клинических исследованиях еще в 1960–1970-х гг. (Dalglish et al., 1966; Horning E., Horning M., 1971; Pauling et al., 1971). Но только в 1990-е гг. были разработаны методы на основе экстракции, силилирования и газовой хроматографии, применимые для изучения растений (Sauter et al., 1991). С развитием системного подхода в биологии по аналогии с терминами «геном» и «протеом» в 1998 г. был предложен термин «метаболом» для обозначения совокупности всех метаболитов биологической системы (Oliver et al., 1998; Tweeddale et al., 1998). Практически одновременно появился термин «метаболическое профилирование» для обозначения методов, позволяющих проанализировать большой спектр метаболитов в одной пробе (Trethewey et al., 1999). С 2000 г. начался экспоненциальный рост исследований, направленных на изучение метаболома растений (Fiehn et al., 2000).

В настоящее время существует широкий выбор технологических платформ, применяемых для метаболомных исследований. Наиболее распространенным методом детекции является масс-спектрометрия, в том числе квадрупольные масс-селективные детекторы и время-пролётные масс-анализаторы. Детекторы могут быть сопряжены с системами разделения метаболитов, в том числе с газовой хроматографией (ГХ-МС, или GC-MS), высокопроизводительной жидкостной хроматографией (ЖК-МС, HPLC-MS), ультрапроизводительной жидкостной хроматографией (УВЖХ-МС, UPLC-MS), капиллярным электрофорезом (КЭ-МС, CE-MS). Реже применяется масс-анализатор ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МА-ИЦР-МС, FT-ICR-MS) и спектроскопией ядерного магнитного резонанса (ЯМР, NMR).

Значимость результатов, получаемых с использованием этих методов, определяется прежде всего тем, что они позволяют охарактеризовать динамические преобразования в растениях от организменного до клеточного уровня, а также тем, что метаболом можно рассматривать в качестве конечного звена последовательных изменений транскриптома и протеома (Shepherd et al., 2011; Carrero-Quintero et al., 2013; Wolfender et al., 2013; Пузанский и др., 2015; Boughton et al., 2016). К настоящему времени уже созданы многочисленные базы данных, в которых аккумулированы результаты самых разных масс-спектрометрических и хроматографических исследований, необходимых для идентификации метаболитов (Frank, Engel, 2013; Fukushima, Engel, 2013). Интерпретация совокупности метаболических данных невозможна без соответствующих математических и программных инструментов. Применение методов мультивариантной статистики (с обучением и без) позволяет перейти от холистических данных к выявлению конкретных биомаркеров процессов, происходящих в клетке (Wolfender et al., 2013). На сегодня самый распространенный метод обработки – это метод главных компонент (principal component analysis – PCA), который представляет собой один из методов без обучения (Stacklies et al., 2007). Для классификации данных применяются различные методы с обучением, например метод проекций на латентные структуры (projection on latent structures – PLS) и его модификация – ортогональный PLS (OPLS) (Wold et al., 2001; Bylesjö et al., 2006; Wiklund et al., 2008). Другой широко используемый для классификации полученных данных метод – Random Forest (RF), с помощью которого обрабатываются данные с большим числом объектов и признаков (Breiman, 2001). Тандемное использование высокотехнологичных методов хроматографического анализа с математическими методами обработки данных привело к резкому всплеску интереса к метаболомным исследованиям.

При помощи перечисленных выше подходов удалось показать, что метаболом является важным биохимическим признаком фенотипа растений, позволившим выявить скрытые различия генотипов, морфологически и физиологически не различающихся между собой (Raamsdonk et al., 2001; Weckwerth et al., 2004; Liebeke et al., 2014). Успехи последних лет в области геномики инициировали новое направление в метаболомных исследованиях, направленное на поиск генетических факторов, определяющих химический состав растений. Весьма перспективен поиск локусов количественных признаков (QTL), контролирующих размеры пулов метаболитов. На сегодняшний день идентифицированы сотни QTL, определяющих содержание десятков метаболитов (Fernie, Schauer, 2009; Ruan, Teixeira da Silva, 2011; Joseph et al., 2014; Hill et al., 2015). Опубликованы первые работы, в которых рассматривается возможность использования метаболома как важного критерия оценки фенотипического проявления признака у аллоплазматических форм картофеля с различным составом органелльных геномов (Joseph et al., 2013, 2015). Исследования по метаболитному фенотипированию трансгенных растений открывают новые перспективы тестирования нежелательных последствий генетических модификаций (Hoekenga, 2008; Stewart, Shepherd, 2013).

Все эти результаты в значительной степени расширили функциональную значимость метаболомики.

Метаболомное профилирование нашло практическое применение в прикладных исследованиях, направленных на решение задач сельского хозяйства и пищевой промышленности. Информация о качестве и безопасности продуктов питания становится все более актуальной для потребителя и, соответственно, востребована производителями пищевых продуктов. Она позволяет совершенствовать существующие технологии выращивания растений, сбора, транспортировки, хранения и производства растительных продуктов, делая их безопаснее, полезнее и вкуснее (Dixon et al., 2006; Hall et al., 2008; Stewart et al., 2011; Chin, Slupsky, 2013). Особый интерес в последние годы представляет применение метаболомных данных в селекционных исследованиях по интрогрессивной межвидовой гибридизации (Schauer et al., 2006; López-Caamal, Tovar-Sánchez, 2014). Объектом изучения стали различные культурные растения, включая горох, капусту, кукурузу, люцерну, маш, пшеницу, рис, сою, томат, ячмень и др. (Frank, Engel, 2013). Предлагаемый обзор обобщает метаболомные исследования по ряду перечисленных направлений, выполненные на картофеле, который по данным FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nation, <http://www.fao.org/faostat/ru/#data/QC>), представляет собой четвертую по объемам производства продовольственную культуру.

Разнообразие метаболома картофеля

В 2000 г. метод ГХ-МС был впервые применен для метаболомного профилирования клубней картофеля (Roessner et al., 2000). В одной пробе этот метод позволил детектировать в общей сложности 150 соединений, 77 из которых были химически идентифицированы. Полученные результаты отличались высокой воспроизводимостью. Их незначительная вариабельность, обусловленная процедурами экстракции, химической модификации и анализа, оказалась несущественной по сравнению с биологической изменчивостью образцов. Следует подчеркнуть, что, помимо описания совокупности метаболитов, в этой работе было опровергнуто мнение, основанное на многочисленных биохимических, морфологических и молекулярных исследованиях, о том, что микроклубни, полученные в культуре *in vitro*, представляют собой фенотипы клубней, выращенных в почве (Visser et al., 1994; Desire et al., 1995; Debon et al., 1998; Veramendi et al., 1999). ГХ-МС выявила различия в содержании аминокислот, синтезируемых из альфа-кетоглутарата и оксалоацетата: в микроклубнях их содержание было в 10 раз и более выше, тогда как содержание тирозина, глицина, аланина, β-аланина и фенилаланина было во столько же раз ниже. Еще одно важное отличие микроклубней заключалось в повышенном содержании соединений, связанных с осмотическим стрессом, таких как глицерин, маннит, инозит и пролин. Авторы предположили, что причиной возможного осмотического стресса могло быть высокое содержание сахарозы в культуральной среде (Roessner et al., 2000). В следующей работе была продемонстрирована роль экзогенных соединений в модуляции метаболомного профиля клубней картофеля на примере глюкозы.

Показано, что только при концентрации моносахарида не менее 200 мМ между образцами клубней картофеля выявляются различия по сравнению с контролем. Наибольшими изменениями характеризовались аспарагин, глюкоза, мальтоза, пролин и триптофан. Анализ совокупности полученных данных методом PCA выявил четкую тенденцию к усилению различий между образцами, полученными из интактных клубней, и образцами, проинкубированными в средах с увеличением концентрации глюкозы (Roessner et al., 2001). Тем самым еще в начале 2000-х гг. были получены данные о разнообразии метаболитного профиля растений картофеля и доказана его функциональная значимость.

Тканевая гетерогенность метаболома

Высшие растения представляют собой дифференцированные организмы, обладающие осевой и радиальной полярностью, что может определять метаболомную гетерогенность. Метаболомное профилирование образцов, отобранных из различных зон клубней картофеля полевых растений (сердцевина, внутренняя кора, внешняя кора и кожура), показало наличие как радиальных, так и аксиальных градиентов метаболитов (от апекса клубня до столона). В основном градиенты концентраций метаболитов были радиальными (Shepherd et al., 2007). Например, ряд аминокислот, таких как метионин, треонин, тирозин и аланин, преимущественно содержался во внутренних зонах клубня. Напротив, содержание аспарагина было максимальным в кожуре и снижалось к сердцевине. Положительный градиент концентрации, направленный к центру, был свойствен сахарам (фруктоза, глюкоза), а противоположный – целому ряду соединений вторичного метаболизма (путресцину, кофейной и хлорогеновой кислотам и т. д.). Продольный градиент выявлен только для аланина, лимонной кислоты и малата. Эти соединения имели максимальную концентрацию на апикальном конце клубня по сравнению с его основанием (Shepherd et al., 2007).

Анализ методами ГХ-МС и ЖХ-МС клубней картофеля исходных растений сорта Desiree и полученных на его основе генетически модифицированных линий показал, что тканеспецифичность – важнейший фактор, определяющий концентрацию большого числа метаболитов. Из 90 метаболитов 63 демонстрировали значимые различия в содержании в зависимости от типа ткани. Концентрация 40 метаболитов была выше в кожуре. Среди них: 12 жирных кислот, 9 жирных спиртов, гликоалкалоиды, фитостерины, сахара, органические кислоты. Кожура отличалась повышенным содержанием хлорогеновой и кофейной кислот, являющихся защитными веществами, а также антиоксидантами, а картофель, как известно, представляет собой богатый источник антиоксидантов полифенольной природы в рационе человека (Lachman et al., 2000; Lachman, Hamouz, 2005; Shepherd et al., 2016). Среди метаболитов, концентрации которых были выше в сердцевине клубня, преобладали аминокислоты (почти все протеиногенные), гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), пантотеновая кислота (витамин B5), сахара (фруктоза и сахароза), галактозил-глицерин и антиоксидант глутатион (Shepherd et al., 2016).

Клеточная компартментализация метаболома

Большим достижением метаболомных исследований можно считать появление подходов, позволяющих анализировать метаболитные профили отдельных компартментов клетки. Они не только указывают на метаболическое значение каждой отдельной органеллы, но и позволяют установить связи между компартментами при формировании внутриклеточных метаболических сетей (Geigenberger et al., 2011; Tiessen et al., 2012; Fly et al., 2015).

Углеводный обмен, несомненно, играет важнейшую роль в формировании клубней картофеля. В начале формирования клубней происходит ряд метаболических перестроек, в том числе изменение баланса сахаров на клеточном уровне. Показано усиление активности сахарозосинтазы и снижение активности кислой инвертазы (Ferne, Willmitzer, 2001). Для выявления роли инвертаз в регуляции углеводного метаболизма был проведен сравнительный анализ клубней исходных растений сорта Désirée и двух трансгенных линий: U-IN2-30, экспрессирующей ген, кодирующий дрожжевую инвертазу, и линии U-IN1-33, экспрессирующей ген, кодирующий инвертазу, но содержащий последовательность апопластной локализации фермента. Сравнительный анализ продемонстрировал, что внутриклеточное перераспределение фермента оказывало значительное действие как на фенотип, так и на биохимические характеристики клубней (Farre et al., 2008). Метаболитный ГХ-МС профайлинг в сочетании с субклеточным фракционированием (non-aqueous fractionation) позволил выявить неравное распределение 50 метаболитов между компартментами в клетках клубней картофеля. Драматические изменения наблюдались в субклеточном распределении сахаров. Например, если в клетках исходных и трансгенных растений, экспрессирующих ген инвертазы апопластной локализации, глюкоза содержалась главным образом в вакуоли, то сверхэкспрессия гена цитозольной инвертазы у трансгенных растений приводила к росту содержания глюкозы в цитоплазме до уровня, свойственного вакуоли. С другой стороны, если в клубнях исходных растений сахароза была локализована преимущественно в вакуоли, то при экспрессии трансгенов инвертазы происходило резкое увеличение доли сахарозы, содержащейся в цитоплазме и пластидах, за счет снижения ее содержания в вакуоли и роста в других компартментах, причем в случае апопластной формы инвертазы эффект проявлялся заметно сильнее. Некоторые сахара, такие как мальтоза, изомальтоза, мальтит и трегалоза, были обнаружены только в клетках трансгенной линии, экспрессирующей ген цитозольной инвертазы. Существенные различия наблюдались в субклеточных концентрациях производных сахаров. Так, наблюдалось увеличение цитозольной концентрации глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата, 3-фосфоглицерата и общей концентрации маннита при экспрессии гена, кодирующего цитозольную инвертазу. Наряду с этим усиление экспрессии генов цитозольной, но не апопластной инвертазы вызывало значительное перераспределение пула инозита из вакуоли в цитоплазму (Farre et al., 2008).

Снижение вакуолярного и увеличение цитозольного пулов fumarата и сукцината при сверхэкспрессии гена цитозольной инвертазы было единственным значительным

изменением субклеточного распределения органических кислот в клетках трансгенных растений (Farre et al., 2008). Следует отметить, что в клетках листа аминокислоты были преимущественно локализованы в цитозоле (Leidreiter et al., 1995; Benkeblia et al., 2007), а в клетках клубней определялись в вакуоли, что может свидетельствовать о специализации клеток клубней к депонированию (Farre et al., 2008). Экспрессия гена цитозольной инвертазы приводила к снижению содержания в вакуолях гомосерина, лизина, метионина, 5-оксопролина и росту содержания триптофана. Экспрессия гена апопластной инвертазы сопровождалась увеличением пластидного и уменьшением вакуолярного пула аланина, валина, изолейцина, лейцина, лизина, метионина, триптофана, фенилаланина и тирозина. В отличие от линии с апопластной формой фермента, трансгенная линия, экспрессирующая цитоплазматическую форму инвертазы, характеризовалась увеличенным содержанием во всех компартментах нескольких основных аминокислот, таких как аспарагин, ГАМК и глутамат, тогда как увеличение содержания триптофана было ограничено вакуолью.

Таким образом, комплексные метаболомные изменения происходят не только на уровне отдельного организма и/или органа, но и на субклеточном органелльном уровне.

Суточные колебания метаболома

Накопленные данные позволяют сделать вывод о том, что изменения метаболомных профилей могут носить достаточно динамичный характер. Суточные колебания содержания углеводов и широкого спектра метаболитов в листьях картофеля (*Solanum tuberosum*, сорт Désirée) были проанализированы с помощью метода ГХ-МС. Данное исследование представляет особый интерес, так как в тандеме с метаболомным анализом проводился анализ транскриптома с использованием микрочипов (Urbanczyk-Wochniak et al., 2005). Установлено, что некоторые метаболиты (глутаровая кислота, мальтоза, сахароза, изомальтоза) имели сравнительно большую связь с первой главной компонентой, в пространстве которой временные кластеры отделены друг от друга. Содержание интермедиатов фотодыхания, таких как глицин и серин, а также многих других аминокислот, например тирозина, достигало максимума в конце светового периода. В то же время интермедиаты цикла Кребса характеризовались различной динамикой их содержания. Так, для цитрата и изоцитрата отмечено уменьшение пулов в течение светового периода и увеличение – в темное время суток, тогда как содержание малата росло в течение светового периода и снижалось в темноте. При освещении наблюдалось резкое увеличение пулов фруктозо-6-фосфата, глюкозо-6-фосфата и множества сахаров и сахароспиртов, в темное время суток накапливались мальтоза, мальтит и урацил. Выявленные суточные изменения содержания углеводов, аминокислот и органических кислот в листьях картофеля во многом аналогичны тем, которые ранее наблюдались у табака и арабидопсиса (Urbanczyk-Wochniak et al., 2005).

Обращаясь к системному анализу изменений на метаболомном и транскриптомном уровнях, следует отметить, что в течение суточного периода было зарегистрировано 56 значимых различий в содержании метаболитов и

832 значимых различия в уровнях транскриптов. Необходимо подчеркнуть, что лишь относительно небольшое число изменений в экспрессии генов сильно коррелирует с изменениями в уровнях метаболитов. Полученные результаты подтверждают метаболическую регуляцию на геномном уровне (Urbanczyk-Wochniak et al., 2005).

Генотип и метаболитный профиль

Общеизвестно, что картофель был domestцирован в Южной Америке. Центром происхождения и разнообразия аборигенных южноамериканских сортов является бассейн оз. Титикака. По мнению отечественных систематиков, второй независимый центр происхождения картофеля находился на территории Южного Чили (Юзепчук, Букасов, 1929). Разнообразие культурных видов картофеля представлено аборигенными (местными) южноамериканскими сортами четырех уровней плоидности. Среди исследователей существуют глубокие разногласия по вопросам происхождения и таксономического состава группы культурных видов картофеля (Spooner et al., 2014). Огромное разнообразие местных южноамериканских сортов (в генбанках сохраняются тысячи образцов) по самому широкому спектру признаков на протяжении нескольких столетий активно используется в селекционных программах разных стран.

Селекционные сорта картофеля характеризуются узким спектром генетического разнообразия, что связано с историей интродукции картофеля в европейские и североамериканские страны. Малочисленные южноамериканские аборигенные сорта были интродуцированы в Европу начиная с конца XVI в. При этом в новой среде (обстановке) отбирались формы, способные формировать клубни в условиях длинного летнего дня умеренных и северных широт, что привело к резкому сужению генетического разнообразия селекционных сортов, выведенных за пределами Южной Америки в XVII – начале XX в. Расширение генетического разнообразия современных селекционных сортов достигается применением методов межвидовой гибридизации, хромосомной, клеточной и генной инженерии.

О возможности использования результатов метаболомного профилирования для дифференциации сортов картофеля и поиска у них специфических метаболитов свидетельствуют данные, полученные в последние годы. С использованием ГХ-МС было изучено фитохимическое разнообразие низкомолекулярных полярных и неполярных метаболитов в клубнях 27 тетраплоидных сортов картофеля (включая аборигенные чилийские, а также старые европейские и современные селекционные сорта) и двух диплоидных сортов *Inca Sun* и *Mayan Gold*, полученных на основе *S. phureja* (Dobson et al., 2008).

Показано, что отдельные сорта анализируемой выборки отличались по содержанию ряда соединений. Например, сорта *Glenna* и *Mogag* имели разный профиль полярных метаболитов. В частности, сорт *Glenna* содержал больше фруктозы, глюкозы, глюкаровой и галактаровой кислот и меньше глицериновой, фумаровой и треоновой кислот, инозита, мочевины, и R-глицерофосфата. Метаболитные профили клубней сорта *Pentland Javelin* отличались от других повышенным содержанием аминокислот – ала-

нина, валина, изолейцина, тирозина, лейцина, глицина, оксопролина, метионина, фенилаланина и лизина. Анализ профилей неполярных метаболитов выявил своеобразие сорта *Mayan Gold*, характеризовавшегося большим, по сравнению с другими культурными и аборигенными сортами, содержанием minorных жирных кислот (15:0, 17:0, 15:1, 19:1) (Dobson et al., 2008).

Однако различия между группами селекционных и аборигенных сортов были невелики и в ряде случаев сравнимы с межсортными и межклональными, а также сопоставимы с различиями, выявляемыми при анализе растений, выращенных в разных условиях. Такой результат мог быть обусловлен неравным физиологическим состоянием анализируемых растений, поскольку скорость развития растений, в том числе клубней, различается в зависимости от генотипа (Dobson et al., 2008), а в процессе формирования клубней наблюдаются изменения баланса метаболитов, например, отмечено снижение содержания фруктозы, глюкозы и сахарозы в клубнях (Richardson et al., 1990; Kolbe, Stephan-Beckmann, 1997). Тем не менее совокупный анализ данных с использованием метода главных компонент показал, что вариабельность метаболитных профилей (между повторностями) у сортов была различной, что свидетельствует о разной степени влияния окружающей среды на метаболом растений с различным генотипом.

Позже в этой же лаборатории было проведено аналогичное исследование по изучению профилей метаболитов клубней 46 коллекционных образцов, представленных тетраплоидными (группы *Tuberosum*, *Andigena*) и диплоидными (группы *Phureja*, *Stenotomum*) аборигенными сортами картофеля из групп *Tuberosum* и *Andigena*, собранных в различных эколого-географических условиях. Были выявлены значимые различия в содержании 24 из 43 неполярных метаболитов и 17 из 49 полярных метаболитов. Иерархическая кластеризация на основе сравнения четырех исследованных групп выявила восемь групп метаболитов, различающихся паттерном содержания (Dobson et al., 2010). Однако применение метода PCA не обнаружило существенного влияния географического происхождения на метаболитный профиль в объеме всей выборки. В то же время некоторые различия были найдены для местных сортов группы *Andigena*, имеющих разное географическое происхождение. Так, боливийские сорта группы *Andigena* содержали больше аминокислот (глицина, аланина и ГАМК) и сахаров (фруктозы и глюкозы) по сравнению с эквадорскими сортами. Установлено, что метаболитные профили местных сортов, принадлежащих к группам *Phureja* и *Stenotomum*, имели достаточно большое сходство между собой, но отличались от таковых у сортов из группы *Tuberosum* и большинства представителей *Andigena* (Dobson et al., 2010). В работе (Dobson et al., 2010) использована классификация культурных видов K. Dodds (1962).

О значимости генотипа в определении метаболического профиля свидетельствуют выявленные различия между отдельными сортами. Изучение клубней шести селекционных сортов картофеля методом ГХ-МС в сочетании с PCA показало, что в пространстве первых двух главных компонент сорт *Hórehely* отличается от остальных сортов по содержанию пальмитиновой, стеариновой кислот и

ГАМК, уровень которых был относительно высок именно в клубнях этого сорта. Последующее сравнение метаболомов показало, что к переменным можно отнести и сорта Somogyi kifli и Katica. Однако сорта Venusz Gold, Lorett и White Lady были довольно однородными по метаболитному составу клубней. По-видимому, существуют как метаболически однородные, так и гетерогенные сорта (Uri et al., 2014).

Метаболомные различия, выявленные как между группами сортов, так и между сортами одной группы, указывают на генетическую регуляцию метаболических процессов. При этом следует учитывать, что наличие изменчивости метаболитного профиля при различных условиях выращивания растений тоже зависит от генотипа исследуемых сортов. Проблема генетической детерминации метаболома, безусловно, требует дальнейших исследований.

Метаболом при изменении количественных признаков

Наиболее распространенный подход для поиска генетических факторов, влияющих на проявление сложных количественных признаков организма, – картирование локусов количественных признаков (quantitative trait loci – QTL). QTL-картирование основано на интеграции молекулярно-генетических и фенотипических данных, обработанных методами статистического анализа (Doerge, 2002). В последние годы этот подход начал применяться и в исследованиях по метаболомному профилированию клубней, что позволило у картофеля картировать ряд mQTL (metabolic quantitative trait locus), ассоциированных с метаболомными признаками.

Заметных успехов в этой области достигли исследователи Университета Вагенингена, что во многом связано с их предыдущими работами по картированию многочисленных QTL, детерминирующих признаки качества клубней, выполненными с использованием различных систем ДНК-маркеров, геномных и транскриптомных подходов (van Eck et al., 1994; Kloosterman et al., 2010). Созданные в этих исследованиях картирующие диплоидные высокогетерозиготные популяции, полученные в межвидовых скрещиваниях дигиплоидов картофеля (*S. tuberosum*) с культурным (*S. phureja*) и диким (*S. vernei*) видами, были использованы и для метаболитного профилирования методом GC-TOF-MS, что позволило выявить генетические факторы (mQTL), определяющие изменчивость первичного метаболизма картофеля. В общей сложности в ходе анализа было детектировано 139 полярных метаболитов. Анализ генетической информации с применением машинного обучения, методом Random Forest, позволил выявить локусы mQTL для 72 % метаболитов (Carreno-Quintero et al., 2012). Эти результаты были сопоставлены с данными по QTL-картированию 26 признаков качества клубней (например, окраска мякоти и кожуры, пригодность к определенному типу приготовления, продолжительность периода покоя клубней и др.). В ходе исследования удалось показать, что большое число признаков локализовано с локусом, детерминирующем продолжительность вегетации растения на хромосоме 5. Однако ряд mQTL был картирован за пределами этой области, что косвенно указывает на наличие регуляторных сетей, независимых

от стадии развития растений. Изменчивость признака «размер зерен крахмала», например, определяется QTL на хромосоме 8, где также локализуется mQTL целого ряда аминокислот, органических кислот и углеводов. Признаки, детерминирующие окраску чипсов, локализованы с mQTL органических кислот сукцината, фумарата и бутирата на хромосомах 2 и 9. Еще один признак – уровень фосфорилирования крахмала – определяет его вязкость и ряд химических свойств клубней и, соответственно, имеет большое значение для последующего использования картофеля в пищу. QTL данного признака локализован на хромосомах 2, 9 и 5 вместе с mQTL аланина, бутирата, ГАМК, сукцината, 5-оксопролина, фенилаланина, глутамина, тирозина, триптофана и галактинола (Carreno-Quintero et al., 2012).

Выявленные факты колокализации QTL и mQTL позволили авторам статьи высказать предположение об общих регуляторных факторах, контролирующих синтез ряда метаболитов и одновременно детерминирующих изменчивость ряда признаков качества клубней.

Метаболомика и фенотип картофеля

Вкус. Изолейцин, лейцин, тирозин и фенилаланин – важные предшественники ароматических соединений, определяющих вкус вареного картофеля (Duckham et al., 2001; Martin, Ames, 2001). Именно изолейцин, лейцин и тирозин являются основными субстратами для реакций Стрекера, в результате которых выделяются летучие альдегиды (метилбутаналь и бензальдегид), которые придают «миндальный» и «поджаренный/сладкий» аромат вареному картофелю. Свободный тирозин также служит основным субстратом для полифенолоксидазы (Corsini et al., 1992), которая ответственна за нежелательный биосинтез меланина в механически поврежденных клубнях картофеля. В свою очередь хлорогеновая кислота не только является субстратом для полифенолоксидазы в клубнях некоторых сортов, но и вместе со своими предшественниками фенилаланином, хинатом и кофеатом вовлечена в неферментные реакции, вызывающие потемнение картофеля после приготовления (Dao, Friedman, 1992). Тем самым метаболом растений определяет потребительские свойства картофеля. Выявление и описание свойств различных сортов сельскохозяйственных культур, связанных с хозяйственно важными признаками, может быть проведено с использованием недавно разработанного метода FIE-MS (flow infusion electrospray ionization mass spectrometry). В исследовании клубней нескольких сортов картофеля (Agria, Desiree, Granola, Linda, Solara) с помощью метода FIE-MS и последующего RF-анализа удалось выявить лишь 24 значимых метаболита, характеризующих метаболический профиль сорта. К их числу можно отнести тирозин, рафинозу, фенилаланин, ГАМК, глюконат, изолейцин, лейцин, метионин и аспарат. Например, сорт Desiree отличается от других высоким содержанием тирозина. Следовательно, метаболитный профиль можно рассматривать в качестве ключевого показателя, характеризующего вкусовые качества клубней картофеля у различных сортов (Beckmann et al., 2007).

В работе (Uri et al., 2014) методом ГХ-МС проведен анализ метаболитных профилей клубней шести селекци-

онных сортов картофеля (Hópehely, Katica, Lorett, Somogyi kifli, Vénusz Gold, White Lady), различающихся содержанием крахмала, продолжительностью периода покоя клубней, окраской мякоти клубней и рассыпчатостью тканей клубня, пригодных к разным способам приготовления. По результатам исследований сделан вывод о том, что в целом изменчивость метаболитного профиля клубней не связана с принадлежностью сортов к определенным группам по содержанию крахмала или по типу приготовления. Отметим, что данные выводы можно считать предварительными, так как в каждой группе было проанализировано не более одного-двух сортов. В то же время в этой работе выявлены межсортовые различия в профилях метаболитов как свежесобранных клубней (значимые отличия для сорта Hópehely), так и клубней в процессе хранения (в темноте при 20–22 °C). У всех сортов, кроме Somogyi kifli, были выявлены значимые межсортовые различия в динамике изменений многих метаболитов, которые не зависели от продолжительности периода покоя клубней. Относительная стабильность метаболитного состава клубней отмечена только у сорта Somogyi kifli, в родословной которого не участвовали дикие виды, в то время как остальные пять сортов получены на основе интрогрессивной гибридизации (Uri et al., 2014).

Окраска кожуры и мякоти. Транскриптомное и метаболомное (LC-MS) профилирование клубней родительских диплоидных селекционных клонов С (USW533.7) и Е (77.2102.37), а также гибридной С × Е расщепляющейся популяции позволило прояснить механизмы формирования важных качественных признаков, таких как окраска кожуры и мякоти клубней, а также ферментативное обесцвечивание клубней после очистки (Acharjee et al., 2011). Применение RF для установления связи метаболома и окраски мякоти клубней выявило несколько значимых метаболитов. Набор этих метаболитов объяснял 77 % дисперсии признака окраски клубней. Этот список включал каротиноиды – виолоксантин и зеаксантин, а также ряд неидентифицированных соединений. Спектр метаболитов, статистически связанный с ферментативным обесцвечиванием клубней после очистки, отличался от предыдущего, однако 6 метаболитов были общими для обоих признаков, в том числе виолоксантин. Интеграция метаболомных и транскриптомных данных позволила существенно увеличить выявляемую долю дисперсии признаков клубней, объясняемую при RF-анализе, по сравнению с рассчитанными отдельно – либо в транскриптомном, либо в метаболомном анализе: 82 % дисперсии для окраски клубней и 51 % для признака обесцвечивания клубней после очистки (Acharjee et al., 2011).

В следующей работе этого коллектива авторов для выявления связей генетических и метаболитических факторов с фенотипическими, в том числе хозяйственно ценных признаков, было проведено системное исследование диплоидной расщепляющейся популяции, включающее анализ экспрессии генов, метаболитное профилирование (ГХ-МС и ЖХ-МС) и протеомный анализ (Acharjee et al., 2016). Оказалось, что профили метаболитов слабо связаны с ценными фенотипическими признаками. Полученные методом RF модели для предсказания изменчивости фенотипических признаков на основе ГХ-МС объясняют

не более 12 % дисперсии, а модели на основе ЖХ-МС показали связь содержания метаболитов с фенотипом только для признака окраски клубней (63 % объясненной дисперсии). В то же время объединение всех факторов, определяющих окраску мякоти картофеля, включая изменчивость экспрессии генов, кодирующих бета-каротин-гидроксилазу и зеаксантин-эпоксидазу, метаболиты и белки, объясняет 75 % дисперсии, что лишь немногим больше, чем одиночные данные транскриптомного или ЖХ-МС профилирования. В случае признака формы клубней только транскриптомные данные объясняют существенную долю дисперсии. Изменчивость показателя желатинизации крахмала, измеряемого с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (differential scanning calorimetry – DSC), значимо связана с экспрессией 12 генов, содержанием 5 метаболитов (ЖХ) и 2 белков. Эти 19 переменных объясняли 45 % дисперсии. Транскриптомный и метаболомный анализ изучаемой популяции по изменчивости признака ферментативного обесцвечивания после очистки клубней выявил 420 значимых генов и 8 значимых метаболитов (ЖХ), среди которых два были идентифицированы как хлорогеновая кислота и метиловый эфир тирозина (Acharjee et al., 2016).

Окрашенный картофель содержит антоцианы, обладающие антиоксидантными свойствами (Stushnoff et al., 2010; Truong et al., 2010; Chong et al., 2013). На сегодняшний день известно более 635 антоцианов, содержащихся в различных цветных фруктах, овощах и цветках. Антоцианидины дельфинидин, петунидин и мальвидин окрашивают ткани в темные и фиолетовые цвета, в то время как цианидин и пеларгонидин придают растениям ярко-красную окраску (Jaakola, 2013). Сорта Hongyoung и Jayoung с окрашенными клубнями были получены в скрещиваниях сорта Atlantic с неокрашенной мякотью клубней и селекционного клона AG34314 с темно-пурпурными клубнями (Park et al., 2009a, b). Hongyoung имеет светло-красную кожуру и мякоть, а клубни сорта Jayoung окрашены в темно-фиолетовый цвет. Анализ данных профилирования методом PCA показал, что метаболитные профили этих сортов различаются в пространстве первых двух главных компонент (Cho et al., 2016). В частности, состав флавоноидов сильно различался у сортов Hongyoung и Jayoung, что свидетельствует, возможно, о решающей роли этих метаболитов в определении пигментации картофеля. Апигенин, кемпферол, дигидрокемпферол и производные пеларгонидина содержались в больших количествах у сорта Hongyoung, тогда как производные пеонидина, петунидина и мальвидина – у сорта Jayoung (Cho et al., 2016).

Метаболомика генно-модифицированного картофеля

Особого внимания заслуживает серия работ, в которых рассматриваются метаболитические изменения при получении генетически модифицированных растений. Совокупность приведенных в настоящем обзоре данных свидетельствует о том, что метаболом картофеля (как и других видов растений) очень отзывчив на любые изменения на уровне генома. Тогда возникает вопрос, можно ли использовать метаболитическое профилирование для

идентификации генно-модифицированных растений, а также для доказательства их безопасности для окружающей среды. Выше мы уже приводили данные о значении модуляции экспрессии инвертазы и ее локализации в клетке на изменение внутриклеточных метаболитических градиентов. Рассмотрим результаты еще нескольких исследований.

Фосфоглюкомутаза (PGM) катализирует взаимопревращение глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат и является основной точкой бифуркации обмена веществ между депонированием и гликолизом (Ray, Peck, 1973; Guedon et al., 2000). Трансгенный картофель со сниженной экспрессией пластидной фосфоглюкомутазы (PPGM) не демонстрировал никаких внешних фенотипических особенностей, но характеризовался резким снижением накопления крахмала в клубнях и значительным увеличением уровня содержания сахарозы и гексозофосфатов (Tauberge et al., 2000). Снижение активности PPGM приводило к снижению накопления крахмала в листьях картофеля и сопровождалось небольшим уменьшением уровня сахарозы (Lytovchenko et al., 2002a). При репрессии синтеза PPGM снижался объем пулов глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата и глюкозо-1-фосфата, однако соотношение глюкозо-6-фосфата и глюкозо-1-фосфата существенно не изменялось. Наблюдалось значительное уменьшение содержания триозофосфатов и неорганического фосфата (Φ_n). Рост соотношения фосфосахаров и Φ_n указывает на то, что уровень транспорта фотосинтатов в трансгенных линиях мог быть лимитирован фосфатом. При этом падали концентрации фосфоенолпирувата и пирувата, понижались содержание УДФ-глюкозы и соотношение АТФ/АДФ. В то же время в трансгенных растениях пул аминокислот (аспарагин, глутамат, изолейцин, лизин, фенилаланин, серин, тирозин и валин) увеличивался, а большинства органических кислот (сукцинат, цитрат, α -кетоглутарат, шикимат, бензоат) уменьшался (Lytovchenko et al., 2002a).

В клубнях генно-модифицированных растений со сниженной активностью цитозольной фосфоглюкомутазы (cPGM) наблюдалось падение уровня мобилизации сахарозы и накопления крахмала, и растения демонстрировали малорослый (stunted) фенотип (Fermie et al., 2002). В листьях трансформантов скорость фотосинтеза была снижена, но при этом уровень фотосинтетического синтеза сахарозы менялся слабо (Lytovchenko et al., 2002b). Содержание гексозофосфатов и триозофосфатов снижалось, тогда как размер пула Φ_n не отличался от дикого типа, а соотношение фосфоэфиров сахаров и Φ_n было значительно меньше. Также значительно ниже в трансформантах было содержание фосфоенолпирувата и пирувата. Снижение активности cPGM вызывало снижение уровня аденилатов и в частности АТФ, при этом соотношение АТФ/АДФ немного росло. Пул УДФ-глюкозы существенно снизился. Кроме того, наблюдалось значительное снижение содержания аспарагина, изолейцина, лейцина, лизина, серина, тирозина и валина. При этом росло содержание карбоновых кислот – цитрата и кетоглутарата, а пул шикимата уменьшался (Lytovchenko et al., 2002b).

Другой фермент – фруктокиназа – катализирует фосфорилирование фруктозы с образованием фруктозо-6-фосфата. Трансформация растений картофеля сортов Desiree

и Record смысловой и бессмысловой последовательностями гена фруктокиназы под контролем 35S промотора вызывала изменения количества и активности этого фермента (Davies et al., 2005). Сравнительный анализ листьев и клубней показал, что эта изоформа вносит лишь небольшой вклад в общую фруктокиназную активность в тканях листьев, но является преобладающей в клубнях. Антисмысловое ингибирование фруктокиназы приводило к снижению урожая клубней, напротив, ее избыточная экспрессия не оказывала никакого влияния на этот параметр. Видимо, фруктокиназа не определяет метаболизм крахмала, поскольку модуляция ее активности слабо влияла на метаболизм углеводов, за исключением общего увеличения содержания глюкозы в антисмысловых линиях (Davies et al., 2005). Последующий анализ показал, что изменение активности фруктокиназы вызывало небольшое количество изменений в содержании органических и аминокислот, а также минорных углеводов в клубнях картофеля, причем многие из этих изменений не коррелировали с уровнем экспрессии или зависели от генетического фона. Отмечалась положительная корреляция уровня активности фруктокиназы с содержанием дегидроаскорбата и арабинозы. Другие наблюдаемые различия зависели от генетического фона, т. е. от линии исходного растения. Так, в случае трансгенных растений сорта Record избыточная экспрессия фруктокиназы приводила к увеличению пулов аланина, аспарагина, орнитина и пролина, сахарата, хината, цитрата, фукозы и глицерин-1-фосфата, в то время как подавление экспрессии вызывало увеличение содержания ГАМК, глутамина, лизина, тирозина, валина, fumarата, малата и хината и снижение пула мальтозы. У трансгенных растений сорта Desiree было отмечено меньше изменений, вызванных репрессией фруктокиназы, по сравнению с сортом Record. Растения с репрессией фруктокиназы характеризовались ростом содержания малата, галактозы и маннозы и снижением бета-аланина, тирамина, сахарата и шикимата, тогда как сверхэкспрессия приводила к снижению уровня содержания глицина, тирамина, тирозина и сукцината. Анализ активности метаболитических потоков с использованием меченых субстратов показал, что в метаболизме трансгенных линий происходит заметный сдвиг. Эти данные свидетельствуют о важной роли фруктокиназы, действующей совместно с сахарозосинтазой, в поддержании баланса между синтезом и деградацией сахарозы (Davies et al., 2005).

Анализ метаболома методами ЯМР и ВЭЖХ-УФ клубней 40 генно-модифицированных линий, относящихся к четырем группам образцов, полученных у сортов Record и Desiree и несущих модификации генов первичного метаболизма углерода, синтеза крахмала, процессинга гликопротеинов и метаболизма полиаминов и этилена, в сочетании с мульти- и юнивариантной статистикой выявил существенное влияние генотипа на метаболом (Defernez et al., 2004). Полученные данные неоспоримо свидетельствуют о том, что изменения генотипа могут существенно влиять на метаболическую перестройку растений картофеля.

Важным прикладным направлением в создании ГМО является получение растений, синтезирующих соедине-

ния, полезные для здоровья человека. К числу таких растений относятся сорта картофеля, содержащие инулины. Инулины стимулируют рост бифидобактерий в кишечнике и помогают повысить резистентность пищеварительного тракта к патогенам (Hellwege et al., 2000). Однако создание генно-модифицированных растений требует постоянного контроля за их биохимическим фенотипом. Для этого были исследованы клубни обычных растений и трансгенных линий, полученных на основе сорта Desiree, которые содержат в больших количествах фруктаны инулинового типа. FIE-MS фингерпринтинг 600 образцов, представляющих все генотипы, в сочетании с PCA показал, что по метаболомным признакам можно выделить три основных метакласса генотипов: исходных сортов и трансгенных линий с изменением экспрессии сахароза:сахароза-1-фруктозилтрансферазы (SST) и фруктан:фруктан-1-фруктозилтрансферазы (SST/FFT) (Catchpole et al., 2005).

Еще более масштабное метаболитное профилирование методом GC-TOF-MS с использованием 2182 клубней 12 генотипов с регистрацией 252 метаболитов (90 идентифицированы, 89 отнесены к определенному классу и 73 неизвестны) также показало метаболомные различия генотипов, отличающихся по экспрессии SST и FFT. Таким образом, именно целенаправленные изменения, вызванные генетической трансформацией, определяли главные изменения метаболитного профиля картофеля (Catchpole et al., 2005).

Важным аспектом контроля метаболизма ГМ-растения является выяснение действия на фенотип факторов окружающей среды в условиях реального агробиоценоза в течение длительного времени. Сравнение трех трансгенных линий, синтезирующих инулины, с шестью традиционными полученными показало, что влияние окружающей среды в полевых условиях и особенностей экспериментов, проводившихся в течение двух сезонов, было пренебрежимо мало по сравнению с дисперсией, определяемой генотипом. Данные, полученные в разные годы и с использованием разных инструментов, показали возможность использования метаболомного профилирования не только для быстрой оценки сходства между генотипами растений, но и для выявления метаболитных сигналов, которые могли бы объяснить различия между классами генотипов (Enot et al., 2007).

Другой вектор создания генно-модифицированных линий картофеля обусловлен необходимостью повышения устойчивости растений к вредителям и патогенам. Известно, что стероидные гликоалкалоиды – это природные токсины, вырабатываемые растениями семейства пасленовых. Клубни картофеля накапливают преимущественно два гликоалкалоида – хаконин и соланин (van Gelder, 1990). Функцией этих соединений является защита растения от насекомых и патогенов, однако их накопление снижает качество и безопасность последующего потребления картофеля (Wink, 2003; Friedman, 2006; Nema et al., 2008).

Метаболитное профилирование методами LC-MS и GC-MS было использовано для выявления непреднамеренных изменений химического состава клубней картофеля при генетической модификации, нацеленной на уменьшение содержания гликоалкалоидов, с помощью

репрессии трех генов *SGT1*, *SGT2* и *SGT3*, которые участвуют в их биосинтезе. Показаны не только ожидаемые изменения в содержании гликоалкалоидов в модифицированных линиях, но и значительные изменения содержания других метаболитов (Shepherd et al., 2015). Метаболитное профилирование клубней методом LC-MS выявило 91 соединение, а анализ данных PCA четко разделил образцы на три отдельные группы в соответствии с генотипом в пространстве первых двух главных компонент. В то же время были выявлены изменения в метаболизме растений, трансформированных «пустым» вектором, что говорит о чувствительности метаболомного профилирования, а также заставляет скрупулезно анализировать влияние любых факторов и внимательно подходить к выбору контролей для сравнения (Shepherd et al., 2015).

Заключение

Накопленные данные свидетельствуют о значимой роли генотипа в проявлении такого фенотипического признака, как метаболом. Даже минорные генетические модификации могут инициировать изменения метаболитных сетей от субклеточного до организменного уровня. Подводя итог краткому анализу современных направлений метаболомных исследований картофеля, их общетеоретических и прикладных аспектов, следует подчеркнуть, что метаболомное профилирование является перспективным и высокочувствительным методом. Однако очевидно, что поиск биохимических маркеров зависит от стандартизации методов выращивания, пробоподготовки и последующего анализа, а также от тех унифицирующих подходов, которые позволили достичь огромного прогресса в геномных и транскриптомных исследованиях.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Science Foundation, project 16-16-04125.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Acharjee A., Kloosterman B., de Vos R.C., Werij J.S., Bachem C.W., Visser R.G.F., Maliepaard C. Data integration and network reconstruction with -omics data using Random Forest regression in potato. *Anal. Chim. Acta.* 2011;705(1-2):56-63. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.03.050>.
- Acharjee A., Kloosterman B., Visser R.G., Maliepaard C. Integration of multi-omics data for prediction of phenotypic traits using random forest. *BMC Bioinformatics.* 2016;17(5):180. DOI 10.1186/s12859-016-1043-4.
- Beckmann M., Enot D.P., Overy D.P., Draper J. Representation, comparison and interpretation of metabolome fingerprint data for total composition analysis and quality trait investigation in potato cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 2007;55(9):3444-3451. DOI 10.1021/jf0701842.
- Benkeblia N., Shinano T., Osaki M. Metabolite profiling and assessment of metabolome compartmentation of soybean leaves using non-aqueous fractionation and GC-MS analysis. *Metabolomics.* 2007;3(3):297-305. DOI 10.1007/s11306-007-0078-y.
- Boughton B.A., Thinakaran D., Sarabia D., Bacic A., Roessner U. Mass spectrometry imaging for plant biology: a review. *Phytochem. Rev.* 2016;15(3):445-488. DOI 10.1007/s11101-015-9440-2.

- Breiman L. Random Forests. *Mach. Learn.* 2001;45(1):5-32. DOI 10.1023/A:1010933404324.
- Bylesjö M., Rantalainen M., Cloarec O., Nicholson J.K., Holmes E., Trygg J. OPLS discriminant analysis: combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. *J. Chemometrics.* 2006;20(8-10): 341-351. DOI 10.1002/cem.1006.
- Carreno-Quintero N., Acharjee A., Maliepaard C., Bachem C.W., Mumm R., Bouwmeester H., Visser R.G., Keurentjes J.J. Untargeted metabolite quantitative trait loci analyses reveal a relationship between primary metabolism and potato tuber quality. *Plant Physiol.* 2012;158(3):1306-1318. DOI 10.1104/pp.111.188441.
- Carreno-Quintero N., Bouwmeester H.J., Keurentjes J.J. Genetic analysis of metabolome-phenotype interactions: from model to crop species. *Trends Genet.* 2013;29(1):41-50. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2012.09.006>.
- Catchpole G., Beckmann M., Enot D., Mondhe M., Zywicki B., Taylor J., Hardy N., Smith A., King R., Kell D., Fiehn O., Draper J. Hierarchical metabolomics demonstrates substantial compositional similarity between genetically modified and conventional potato crops. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102(40):14458-14462. DOI 10.1073/pnas.0503955102.
- Chin E., Slupsky C. Applications of metabolomics in food science: food composition and quality, sensory and nutritional attributes. *Metabolomics in Food and Nutrition.* Elsevier, 2013;217-230. DOI <http://dx.doi.org/10.1533/9780857098818.2.217>.
- Cho K., Cho K.S., Sohn H.B., Ha I.J., Hong S.Y., Lee H., Kim Y.M., Nam H.M. Network analysis of the metabolome and transcriptome reveals novel regulation of potato pigmentation. *J. Exp. Bot.* 2016;67(5):1519-1533. DOI 10.1093/jxb/erv549.
- Chong E.S.L., McGhie T.K., Heyes J.A., Stowell K.M. Metabolite profiling and quantification of phytochemicals in potato extracts using ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Sci. Food Agr.* 2013;93(15):3801-3808. DOI 10.1002/jsfa.6285.
- Corsini D.L., Pavek J.J., Dean B. Differences in free and protein-bound tyrosine among potato genotypes and the relationship to internal blackspot resistance. *Am. Potato J.* 1992;69(7):423-435. DOI 10.1007/BF02852293.
- Dalgliesh C.E., Horning E.C., Horning M.G., Knox K.L., Yarger K. A gas-liquid-chromatographic procedure for separating a wide range of metabolites occurring in urine or tissue extracts. *Biochem. J.* 1966;101(3):792-810. DOI 10.1042/bj1010792.
- Dao L., Friedman M. Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *J. Agric. Food Chem.* 1992;40(11):2152-2156. DOI 10.1021/jf00023a022.
- Davies H.V., Shepherd L.V., Burrell M.M., Carrari F., Urbanczyk-Wochniak E., Leisse A., Hancock R.D., Taylor M., Viola R., Ross H., McRae D., Willmitzer L., Fernie A.R. Modulation of fructokinase activity of potato (*Solanum tuberosum*) results in substantial shifts in tuber metabolism. *Plant Cell Physiol.* 2005;46(7):1103-1115. DOI 10.1093/pcp/pci123.
- Debon S.J.J., Tester R.F., Millam S., Davies H.V. Effect of temperature on the synthesis, composition and physical properties of potato micro-tuber starch. *J. Sci. Food Agric.* 1998;76(4):599-607. DOI 10.1002/(SICI)1097-0010(199804)76:4<599::AID-JSFA995>3.0.CO;2-F.
- Defernez M., Gunning Y.M., Parr A.J., Shepherd L.V., Davies H.V., Colquhoun I.J. NMR and HPLC-UV profiling of potatoes with genetic modifications to metabolic pathways. *J. Agric. Food Chem.* 2004;52(20):6075-6085. DOI 10.1021/jf049522e.
- Desire S., Couillerot J.P., Hilbert J.L., Vasseur J. Protein changes in *Solanum tuberosum* during *in vitro* tuberization of nodal cuttings. *Plant Physiol. Biochem.* 1995;33(4):303-310.
- Dixon R.A., Gang D.R., Charlton A.J., Fiehn O., Kuiper H.A., Reynolds T.L., Tjeerdema R.S., Jeffery E.H., German J.B., Ridley W.P., Seiber J.N. Applications of metabolomics in agriculture. *J. Agric. Food Chem.* 2006;54(24):8984-8994. DOI 10.1021/jf061218t.
- Dobson G., Shepherd T., Verrall S.R., Conner S., McNicol J.W., Ramsay G., Shepherd L.V., Davies H.V., Stewart D. Phytochemical diversity in tubers of potato cultivars and landraces using a GC-MS metabolomics approach. *J. Agric. Food Chem.* 2008;56(21):10280-10291. DOI 10.1021/jf801370b.
- Dobson G., Shepherd T., Verrall S.R., Griffiths W.D., Ramsay G., McNicol J.W., Davies H.V., Stewart D. A metabolomics study of cultivated potato (*Solanum tuberosum*) groups Andigena, Phureja, Stenotomum, and tuberosum using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58(2):1214-1223. DOI 10.1021/jf903104b.
- Dodds K.S. Classification of cultivated potatoes. The Potato and its Wild Relatives. Ed. D.S. Correll. *Contrib. Texas Res. Foundation, Bot. Stud.* 1962;4:517-539.
- Doerge R.W. Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. *Nature Rev. Genet.* 2002;3(1):43-52. DOI 10.1038/nrg703.
- Duckham S.C., Dodson A.T., Bakker J., Ames J.M. Volatile flavour components of baked potato flesh. A comparison of eleven potato cultivars. *Nahrung.* 2001;45(5):317-323. DOI 10.1002/1521-3803(20011001)45:5<317::AID-FOOD317>3.0.CO;2-4.
- Enot D.P., Beckmann M., Draper J. Detecting a difference – assessing generalisability when modelling metabolome fingerprint data in longer term studies of genetically modified plants. *Metabolomics.* 2007; 3(3):335-347. DOI 10.1007/s11306-007-0064-4.
- Farre E.M., Fernie A.R., Willmitzer L. Analysis of subcellular metabolite levels of potato tubers (*Solanum tuberosum*) displaying alterations in cellular or extracellular sucrose metabolism. *Metabolomics.* 2008;4(2):161-170. DOI 10.1007/s11306-008-0107-5.
- Fernie A.R., Schauer N. Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends Genet.* 2009;25(1):39-48. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2008.10.010>.
- Fernie A.R., Tauberger E., Lytovchenko A., Roessner U., Willmitzer L., Trethewey R.N. Antisense repression of cytosolic phosphoglucomutase in potato (*Solanum tuberosum*) results in severe growth retardation, reduction in tuber number and altered carbon metabolism. *Planta.* 2002;214(4):510-520. DOI 10.1007/s004250100644.
- Fernie A.R., Willmitzer L. Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. *Plant Physiol.* 2001;127(4):1459-1465. DOI 10.1104/pp.010764.
- Fiehn O., Kopka J., Dormann P., Altmann T., Trethewey R.N., Willmitzer L. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nature Biotechnol.* 2000;18(11):1157-1161. DOI 10.1038/81137.
- Fly R., Lloyd J., Krueger S., Fernie A., Van der Merwe M.J. Improvements to define mitochondrial metabolomics using nonaqueous fractionation. *Methods Mol. Biol.* 2015;1305:197-210. DOI 10.1007/978-1-4939-2639-8_14.
- Frank T., Engel K. Metabolomic analysis of plants and crops. *Metabolomics in Food and Nutrition.* Elsevier, 2013;148-191. DOI 10.1533/9780857098818.2.148.
- 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/jf061471t.
- Fukushima A., Engel M. Recent progress in the development of metabolome databases for plant systems biology. *Front. Plant Sci.* 2013; 4:73. DOI 10.3389/fpls.2013.00073.
- Geigenberger P., Tiessen A., Meurer J. Use of non-aqueous fractionation and metabolomics to study chloroplast function in Arabidopsis. *Methods Mol. Biol.* 2011;775:135-160. DOI 10.1007/978-1-61779-237-3_8.
- Grierson C.S., Barnes S.R., Chase M.W., Clarke M., Grierson D., Edwards K.J., Jellis G.J., Jones J.D., Knapp S., Oldroyd G., Poppy G., Temple P., Williams R., Bastow R. One hundred important questions facing plant science research. *New Phytol.* 2011;192(1):6-12. DOI 10.1111/j.1469-8137.2011.03859.x.
- Guedon E., Desvaux M., Pettitdémange H. Kinetic analysis of *Clostridium cellulolyticum* carbohydrate metabolism: importance of glucose 1-phosphate and glucose 6-phosphate branch points for distribution of carbon fluxes inside and outside cells as revealed by steady-state continuous culture. *J. Bacteriol.* 2000;182(7):2010-2017. DOI 10.1128/JB.182.7.2010-2017.2000.

- Hall R.D., Brouwer I.D., Fitzgerald M.A. Plant metabolomics and its potential application for human nutrition. *Physiol. Plant.* 2008; 132(2):162-175. DOI 10.1111/j.1399-3054.2007.00989.x.
- Hellwege E., Czapla S., Jahnke A., Willmitzer L., Heyer A. Transgenic potato (*Solanum tuberosum*) tubers synthesize the full spectrum of inulin molecules naturally occurring in globe artichoke (*Cynara scolymus*) roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97(15):8699-8704. DOI 10.1073/pnas.150043797.
- Hill C.B., Taylor J.D., Edwards J., Mather D., Langridge P., Bacic A., Roessner U. Detection of QTL for metabolic and agronomic traits in wheat with adjustments for variation at genetic loci that affect plant phenology. *Plant Sci.* 2015;233:143-154. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.01.008>.
- Hoekenga O.A. Using metabolomics to estimate unintended effects in transgenic crop plants: problems, promises, and opportunities. *J. Biomol. Tech.* 2008;19(3):159-166.
- Horning E.C., Horning M.G. Human metabolic profiles obtained by GC and GC/MS. *J. Chromatogr. Sci.* 1971;9(3):129-140. DOI 10.1093/chromsci/9.3.129.
- Jaakola L. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends Plant Sci.* 2013;18(9):477-483. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2013.06.003>.
- Joseph B., Atwell S., Corwin J.A., Li B., Kliebenstein D.J. Meta-analysis of metabolome QTLs in *Arabidopsis*: trying to estimate the network size controlling genetic variation of the metabolome. *Front. Plant Sci.* 2014;5:461. DOI <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2014.00461>.
- Joseph B., Corwin J.A., Kliebenstein D.J. Genetic variation in the nuclear and organellar genomes modulates stochastic variation in the metabolome, growth, and defense. *PLoS Genet.* 2015;11(1):e1004779. DOI 10.1371/journal.pgen.1004779.
- Joseph B., Corwin J.A., Li B., Atwell S., Kliebenstein D.J. Cytoplasmic genetic variation and extensive cytonuclear interactions influence natural variation in the metabolome. *eLife.* 2013;2:e00776. DOI 10.7554/eLife.0077.
- Juzepczuk S.W., Bukasov S.M. K voprosu o proiskhozhdenii kartofelya [A contribution to the question of the origin of potato]. *Trudy Vsesoyuznogo s'ezda po genetike, selektsii, semenovodstvu i plemennomu zhivotnovodstvu* [Proceedings of the All-Union Congress on genetics, seed farming, and livestock breeding]. 1929;3:593-611. (in Russian)
- Kloosterman B., Oortwijn M., uitdeWilligen J., America T., de Vos R., Visser R.G.F., Bachem C.W. From QTL to candidate gene: genetical genomics of simple and complex traits in potato using a pooling strategy. *BMC Genomics.* 2010;11:158. DOI 10.1186/1471-2164-11-158.
- Kolbe H., Stephan-Beckmann S. Development, growth and chemical composition of the potato crop (*Solanum tuberosum* L.). II. Tuber and whole plant. *Potato Res.* 1997;40(2):135-153. DOI 10.1007/BF02358240.
- Lachman J., Hamouz K. Red and purple coloured potatoes as a significant antioxidant source in human nutrition – a review. *Plant Soil Environ.* 2005;51(11):477-482.
- Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Pivec V. Potato tubers as a significant source of antioxidants in human nutrition. *Rostlinná Vyroba.* 2000;46(5):231-236.
- Leidreiter K., Kruse A., Heineke D., Robinson D.G., Heldt H.W. Subcellular volumes and metabolite concentrations in potato (*Solanum tuberosum* cv. Desiree) leaves. *Bot. Acta.* 1995;108(5):439-444. DOI 10.1111/j.1438-8677.1995.tb00518.x.
- Liebeke M., Bruford M.W., Donnelly R.K., Ebbels T.M.D., Hao J., Kille P., Lahive E., Madson R.M., Morgan A.J., Pinto-Juma G.A., Spurgeon D.J., Svendsen C., Bundy J.G. Identifying biochemical phenotypic differences between cryptic species. *Biol. Lett.* 2014; 10(9):20140615. DOI 10.1098/rsbl.2014.0615.
- López-Caamal A., Tovar-Sánchez E. Genetic, morphological, and chemical patterns of plant hybridization. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 2014; 87:16. DOI 10.1186/s40693-014-0016-0.
- Lytovchenko A., Bieberich K., Willmitzer L., Fernie A.R. Carbon assimilation and metabolism in potato leaves deficient in plastidial phosphoglucomutase. *Planta.* 2002a;215(5):802-811. DOI 10.1007/s00425-002-0810-9.
- Lytovchenko A., Sweetlove L., Pauly M., Fernie A.R. The influence of cytosolic phosphoglucomutase on photosynthetic carbohydrate metabolism. *Planta.* 2002b;215(6):1013-1021. DOI 10.1007/s00425-002-0826-1.
- Martin F., Ames J.M. Formation of Strecker aldehydes and pyrazines in a fried potato model system. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49(8):3885-3892. DOI 10.1021/jf010310g.
- Nema P.K., Ramayya N., Duncan E., Niranjan K. Potato glycoalkaloids: formation and strategies for 392 mitigation. *J. Sci. Food Agr.* 2008;88(11):1869-1881. DOI 10.1002/jsfa.3302.
- 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. DOI [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799\(98\)01214-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-7799(98)01214-1).
- Park Y., Cho J., Cho H., Yi J., Seo H., Choung M. A new potato cultivar “Hongyoung”, with red skin and flesh color, and high concentrations of anthocyanins. *Korean J. Breed. Sci.* 2009a;41(4):502-506.
- Park Y., Cho J., Cho H., Yi J., Seo H., Chung M. A new potato cultivar “Jayoung”, with high concentration of anthocyanin. *Korean J. Breed. Sci.* 2009b;41(1):51-55.
- Pauling L., Robinson A.B., Teranishi R., Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1971;68(10):2374-2376.
- Puzanskiy R.K., Shavarda A.L., Shishova M.F. Dinamika metaboloma kletok avtotrofnoy kul'tury *Chlamydomonas reinhardtii* v period eksponentsial'noy i stacionarnoy fazy rosta. [Dynamics of autotrophic *Chlamydomonas reinhardtii* metabolome during exponential and stationary phase]. *Vestnik Leningradskogo gosudarstvennogo universiteta im. A.S. Pushkina* [Vestnik of Pushkin Leningrad State University Ser. 3]. 2015;1:104-121. (in Russian)
- Raamsdonk L.M., Teusink B., Broadhurst D., Zhang N., Hayes A., Walsh M.C., Berden J.A., Brindle K.M., Kell D.B., Rowland J.J., Westerhoff H.V., van Dam K., Oliver S.G. A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations. *Nature Biotechnol.* 2001;19(1):45-50. DOI 10.1038/83496.
- Ray W.J., Peck E.J. Phosphoglucomutases. *The Enzymes.* New York: Acad. Press, 1973;407-488.
- Richardson D.L., Davies H.V., Ross H.A. Potato tuber sugar content during development and storage (10 °C): possible predictors of storage potential and the role of sucrose in storage hexose accumulation. *Potato Res.* 1990;33(2):241-245. DOI 10.1007/BF02358452.
- Roessner U., Luedemann A., Brust D., Fiehn O., Linke T., Willmitzer L., Fernie A.R. Metabolic profiling allows comprehensive phenotyping of genetically or environmentally modified plant systems. *Plant Cell.* 2001;13(1):11-29. DOI 10.1105/tpc.13.1.11.
- 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.
- Ruan C.J., Teixeira da Silva J.A. Metabolomics: creating new potentials for unraveling the mechanisms in response to salt and drought stress and for the biotechnological improvement of xero-halophytes. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2011;31(2):153-69. DOI <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2010.505908>.
- Sauter H., Lauer M., Fritsch H. Metabolic profiling of plants a new diagnostic technique. *ACS Symp. Ser.* 1991;443:288-299. DOI 10.1021/bk-1991-0443.ch024.
- Schauer N., Semel Y., Roessner U., Gur A., Balbo I., Carrari F., Pleban T., Perez-Melis A., Bruedigam C., Kopka J., Willmitzer L., Zamir D., Fernie A.R. Comprehensive metabolic profiling and phenotyping of interspecific introgression lines for tomato improvement. *Nature Biotechnol.* 2006;24(4):447-454. DOI 10.1038/nbt1192.
- Shepherd L.V., Fraser P., Stewart D. Metabolomics: a second-generation platform for crop and food analysis. *Bioanalysis.* 2011;3(10):1143-1159. DOI 10.4155/bio.11.61.

- Shepherd L.V., Hackett C.A., Alexander C.J., McNicol J.W., Sungurtas J.A., McRae D., McCue K.F., Belknap W.R., Davies H.V. Impact of light-exposure on the metabolite balance of transgenic potato tubers with modified glycoalkaloid biosynthesis. *Food Chem.* 2016; 200:263-273. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.095>.
- Shepherd L.V., Hackett C.A., Alexander C.J., McNicol J.W., Sungurtas J.A., Stewart D., McCue K.F., Belknap W.R., Davies H.V. Modifying glycoalkaloid content in transgenic potato – Metabolome impacts. *Food Chem.* 2015;187:437-443. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.111>.
- Shepherd T., Dobson G., Verrall S., Conner S., Griffiths D., McNicol J., Davies H., Stewart D. Potato metabolomics by GC-MS: what are the limiting factors? *Metabolomics.* 2007;3(4):475-488. DOI 10.1007/s11306-007-0058-2.
- Spooner D.M., Ghislain M., Simon R., Jansky S.H., Gavrilenko T. Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *Bot. Rev.* 2014;80(4):283-383. DOI 10.1007/s12229-014-9146-y.
- Stacklies W., Redestig H., Scholz M., Walther D., Selbig J. pcaMethods—a bioconductor package providing PCA methods for incomplete data. *Bioinformatics.* 2007;23(9):1164-1167. DOI 10.1093/bioinformatics/btm069.
- Stewart D., Shepherd L.V.T. Metabolomics for the safety assessment of genetically modified (GM) crops. *Metabolomics in Food and Nutrition.* Elsevier, 2013;192-216. DOI <http://dx.doi.org/10.1533/9780857098818.2.192>.
- Stewart D., Shepherd L.V.T., Hall R., Fraser P. Crops and tasty, nutritious food – How can metabolomics help? *Annual Plant Rev.* 2011;43:181-217.
- Stushnoff C., Ducreux L.J., Hancock R.D., Hedley P.E., Holm D.G., McDougall G.J., McNicol J.W., Morris J., Morris W.L., Sungurtas J.A. Flavonoid profiling and transcriptome analysis reveals new gene – metabolite correlations in tubers of *Solanum tuberosum* L. *J. Exp. Bot.* 2010;61(4):1225-1238. DOI 10.1093/jxb/erp394.
- Tauberger E., Fernie A.R., Emmermann M., Renz A., Kossmann J., Willmitzer L., Trethewey R.N. Antisense inhibition of plastidial phosphoglucomutase provides compelling evidence that potato tuber amyloplasts import carbon from the cytosol in the form of glucose-6-phosphate. *Plant J.* 2000;23(1):43-53. DOI 10.1046/j.1365-313x.2000.00783.x.
- Tiessen A., Nerlich A., Faix B., Hümmer C., Fox S., Trafford K., Weber H., Weschke W., Geigenberger P. Subcellular analysis of starch metabolism in developing barley seeds using a non-aqueous fractionation method. *J. Exp. Bot.* 2012;63(5):2071-2087. DOI 10.1093/jxb/err408.
- Trethewey R.N., Krotzky A.J., Willmitzer L. Metabolic profiling: a Rosetta Stone for genomics? *Curr. Opin. Plant Biol.* 1999;2(2):83-85. DOI 10.1016/S1369-5266(99)80017-X.
- Truong V.-D., Deighton N., Thompson R.T., McFeeters R.F., Dean L.O., Pecota K.V., Yencho G.C. Characterization of anthocyanins and anthocyanidins in purple-fleshed sweetpotatoes by HPLC-DAD/ESI-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58(1):404-410. DOI 10.1021/jf902799a.
- 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.
- Urbanczyk-Wochniak E., Baxter C., Kolbe A., Kopka J., Sweetlove L.J., Fernie A.R. Profiling of diurnal patterns of metabolite and transcript abundance in potato (*Solanum tuberosum*) leaves. *Planta.* 2005;221(6):891-903. DOI 10.1007/s00425-005-1483-y.
- Uri C., Juhász Z., Polgár Z., Bánfalvi Z. A GC-MS-based metabolomics study on the tubers of commercial potato cultivars upon storage. *Food Chem.* 2014;159:287-292. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.010>.
- van Eck H.J., Jacobs J.M., Stam P., Ton J., Stiekema W.J., Jacobsen E. Multiple alleles for tuber shape in diploid potato detected by qualitative and quantitative genetic analysis using RFLPs. *Genetics.* 1994; 137(1):303-309.
- van Gelder W.M.J. Chemistry, toxicology, and occurrence of steroidal glycoalkaloids: potential contaminants of the potato (*Solanum tuberosum* L.). *Poisonous Plant Contamination of Edible Plants.* Boca Raton, Florida: CRC Press, 1990;117-156.
- Veramendi J., Willmitzer L., Trethewey R. *In vitro* grown potato microtubers are a suitable system for the study of transgenic lines altered in primary carbohydrate metabolism. *Plant Physiol. Biochem.* 1999;37(9):693-697. DOI [http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428\(00\)80100-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0981-9428(00)80100-X).
- Visser R.G.F., Vreugdenhil D., Hendriks D., Jacobsen T. Gene expression and carbohydrate metabolism during stolon to tuber transition in potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Physiol. Plant.* 1994;90(2):285-292. DOI 10.1111/j.1399-3054.1994.tb00389.x.
- Weckwerth W., Loureiro M.E., Wenzel K., Fiehn O. Differential metabolic networks unravel the effects of silent plant phenotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101(20):7809-7814. DOI 10.1073/pnas.0303415101.
- Wiklund S., Johansson E., Sjöström L., Mellerowicz E.J., Edlund U., Shockcor J.P., Gottfries J., Moritz T., Trygg J. Visualization of GC/TOF-MS-based metabolomics data for identification of biochemically interesting compounds using OPLS class models. *Anal. Chem.* 2008;80(1):115-122. DOI 10.1021/ac0713510.
- Wink M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry.* 2003;64(1):3-19. DOI [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5).
- Wold S., Sjöström M., Eriksson L. PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemometr. Intell. Lab.* 2001;58(2):109-130. DOI [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-7439\(01\)00155-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-7439(01)00155-1).
- Wolfender J.L., Rudaz S., Choi Y.H., Kim H.K. Plant metabolomics: from holistic data to relevant biomarkers. *Curr. Med. Chem.* 2013;20(8):1056-1090. DOI 10.2174/0929867311320080009.