

УДК 581.1:581.557:579.6

## МЕТАБОЛОМІКА РОСЛИН: ЇЇ ОСНОВИ ТА РОЛЬ У ВИВЧЕННІ РОСЛИНО-МІКРОБНИХ ВЗАЄМОДІЙ

А.С. ЛЕВІШКО, П.М. МАМЕНКО, С.Я. КОЦЬ

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України  
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17  
e-mail: alodua@rambler.ru*

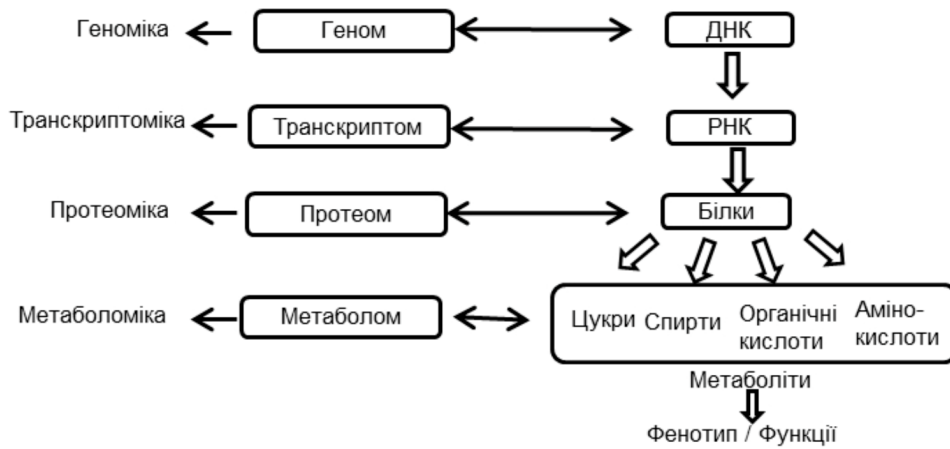
Розглянуто новий напрям розвитку молекулярних досліджень біологічних об'єктів — метаболоміку, що нині інтенсивно розвивається й уможливує комплексний аналіз метаболітів. Наведено методи вивчення рослинних метаболітів, висвітлено деякі досягнення та перспективи використання метаболомних технологій у фізіології рослин.

*Ключові слова:* метаболом, мікробно-рослинний симбіоз, метаболіти.

Значні досягнення геноміки протягом останніх 20 років і завершення секвенування геному багатьох біологічних об'єктів спонукало до активного розвитку «постгеномних» технологій — протеоміки, транскриптоміки, метаболоміки, які дають змогу не лише вивчити генетичний потенціал досліджуваних об'єктів, а й визначити шляхи реалізації генетичної інформації в живих організмах. Такий системний підхід забезпечує глибше й повніше розуміння сутності біологічних процесів — від генетичних передумов до їх фенотипного прояву.

Метаболомний аналіз сьогодні розглядають як один із найперспективніших напрямів розвитку молекулярних методів системної біології. Якщо дані експресії мРНК генів і протеомного аналізу стосуються лише протеїнів, які хоч і є головними складовими метаболізму клітини, проте повністю не розкривають її функціонального стану, то метаболічні профілі здатні дати миттєвий «знімок» перебігу фізіологічних процесів у клітині. Запорукою успіху застосування подібного підходу є можливість одночасної якісної та кількісної характеристики дуже великої кількості малих біомолекул у досліджуваному зразку. Біохімічний стан системи, що описується метаболічним профілем, значною мірою допомагає зрозуміти процеси, що відбуваються на молекулярному рівні, і навіть можуть дати ключ до реалізації керування цими процесами [6, 12, 14, 17].

«Метаболічним профілем» прийнято вважати одномоментний «знімок» із пулу метаболітів. Цей термін запровадив Хорнінг у 1971 р. після того, як вдалося довести, що газову хромато-мас-спектрометрію можна використовувати для визначення сполук в екстрактах тканин людини з метою проведення швидкої медичної діагностики [39]. Сама ідея метаболоміки запропонована й розроблена лише в останні 10—15 років. Із розвитком аналітичного обладнання та підвищенням його чутливості метаболоміка набула широкого визнання [26]. Вона вивчає унікальні біохімічні процеси, які відбуваються в живій клітині. Об'єктом її



Метаболоміка серед «постгеномних» технологій

дослідження є метаболом — сукупність метаболітів (проміжних і кінцевих продуктів обміну речовин із молекулярною масою меншою за 3000 Д), які беруть участь в усіх метаболічних реакціях, необхідні для підтримання гомеостазу, росту і нормального функціонування клітин. Термін «метаболом» запровадив у 1998 р. Олівер та співавт. за аналогією із транскриптомом і протеомом (рисунок) [12, 16, 23, 27].

У зв'язку з розробкою різноманітних методів визначення клітинних метаболітів у розвитку метаболоміки за минулі 15 років відбувся значний прогрес.

До останнього часу метаболомічні дослідження базувались на використанні явища ядерного магнітного резонансу (ЯМР-спектроскопія) [19]. ЯМР — єдиний метод, який не потребує розділення суміші досліджуванних метаболітів, дає змогу використовувати зразки для подальшого аналізу. Всі види низькомолекулярних метаболітів можна визначати одночасно. Основною перевагою ЯМР-аналізу є висока відтворюваність і простота підготовки зразків. Однак цей метод значно менш чутливий, ніж мас-спектрометричний (МС), потребує відносно великого об'єму досліджуваного зразка (0,5 мл), має високу собівартість.

Поряд із ЯМР-спектроскопією використовують інші методи, такі як високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) з електрохімічним детектуванням, тонкошарова хроматографія з ізотопними мітками. Основним ускладненням при застосуванні ВЕРХ є необхідність постійного внесення стандартів і слабе програмне забезпечення баз даних метаболітів, цей метод також вважається менш надійним, ніж ЯМР і МС.

Сучасна метаболоміка застосовує методи, що ґрунтуються на мас-спектрометрії, під час якої шаблон біологічного зразка формується набором мас метаболітів та інтенсивністю мас-спектрометричних піків. Мас-спектрометрію використовують для ідентифікації та кількісного аналізу метаболітів після їх розділення. Основні методи розділення метаболітів — газова хроматографія (ГХ), ВЕРХ, капілярний електрофорез (КЕ) [4]. Кожен із них має як недоліки, так і переваги. Так, ГХ вважають одним із найпотужніших методів, який широко застосовується і має дуже високу хроматографічну роздільну здатність, але для визначення багатьох молекул необхідно проводити їх хімічну дериватизацію, бо без неї можуть бути проаналізовані лише леткі сполуки [30]. ВЕРХ порівня-

но з ГХ дає нижче хроматографічне розділення, але це компенсується ширшим спектром сполук, які потенційно можуть бути визначені [15]. КЕ має вищу теоретичну ефективність розділення, ніж ВЕРХ, його можна використовувати для дослідження ширшого діапазону сполук, ніж при ГХ, але, як і всі електрофоретичні методи, він найзручніший для розділення заряджених молекул [20]. Методом, що не потребує попереднього розділення зразків, є прямий мас-спектрометричний аналіз, який полягає у безпосередньому внесенні біоматеріалу в джерело іонізації мас-спектрометра. Так, Смедсгард та співавт. [34, 35] за допомогою електроспрейного джерела іонізації в режимі реєстрації позитивно заряджених іонів та квадрупольного мас-детектора проаналізували неочищений екстракт грибів. Хоча цей метод швидший і добре відтворюваний, він має низку серйозних недоліків, зокрема через ідентичність молекулярних мас неможливо розпізнати хімічні ізомери, виражена іонна супресія, що впливає на кількісність мас-спектрометричних вимірювань.

У результаті розвитку мас-спектрометричної техніки сформувались методи, що дають змогу ефективно досліджувати метаболом, в якому найшвидше і найвиразніше відбуваються всі зміни в організмі, зумовлені як внутрішніми, так і зовнішніми чинниками. Ця обставина робить метаболоміку високоефективним засобом виявлення змін усередині клітини. У наш час її вважають одним із найперспективніших фундаментальних напрямків серед постгеномних технологій. Інформація, отримана в результаті метаболомного аналізу, є найточнішою для розуміння росту, функціонування та реакцій біологічного об'єкта у межах певного середовища [40].

На особливу увагу заслуговують дослідження в галузі метаболоміки рослин. Рослини поглинають із навколишнього середовища необхідні поживні речовини, які залучаються у складні метаболічні цикли. В результаті цих фізіолого-біохімічних реакцій підтримуються структура і функціонування клітин, тканин, органів, рослинного організму загалом. Їх метаболіти визначають якість і поживну цінність як самих рослин, так і продуктів, виготовлених із них, та як наслідок безпосередньо впливають на здоров'я і самопочуття людини [5]. Загальна кількість метаболітів у рослинах перевищує 200 тис., з них ідентифіковано близько 50 тис. Всі вони істотно різняться за структурою вуглецевого скелета молекули, наявністю різних функціональних груп, фізико-хімічними властивостями, внаслідок чого виявляють різну біологічну активність. Припускають, що метаболом типової рослинної клітини може містити 1–5 тис. сполук.

Метаболоміка визнана найліпшою технологією для аналізу мутантів або бібліотек моделей експериментальних трансгенних рослин, таких як арабідопсис (*Arabidopsis*), рис (*Oryza*) та ін. [21, 41]. Однією з основних цілей метаболоміки у фізіології рослин є отримання їхніх метаболічних профілів, а також кількісне визначення метаболітів у клітинах і тканинах за різноманітних умов навколишнього середовища.

Для метаболомного дослідження рослинних екстрактів відомий класичний підхід, який складається з методів розділення й виявлення метаболітів і поділяється на такі етапи: 1) відбирання проб; 2) екстрагування; 3) концентрування та стабілізація карбонільних залишків; 4) дериватизація (отримання похідних); 5) аналіз та обробка отриманих результатів за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС-аналіз) [28].

Основна ідея використання метаболоміки у фізіології рослин полягає у виявленні метаболічних змін після впливу різних чинників, які мо-

жуть бути пов'язані з відомою або гіпотетичною первинною (ферментативною) зміною. Цей підхід дає змогу здобути найповнішу інформацію про обмін речовин у тканині, обраній за об'єкт дослідження й отриманій у контрольних або експериментальних умовах у певний момент часу [12, 13, 26, 28]. Розвиток сучасних досліджень систем живлення рослин тісно пов'язаний із вивченням механізмів дії різних стресових чинників на рослини. Метаболічні профілі часто використовують для виявлення реакції рослин на будь-які зміни, в тому числі й навколишнього середовища. В останні роки цей напрям інтенсивно розвивається, набуває нових обрисів у численних працях передусім Шулаєва та співавт. [33], Упхирч [38], Сенаратна [32], Крамера [10], Хернандеза [18] та ін. Визначення різних сполук, таких як побічні продукти метаболізму при стресі, молекули передачі стресового сигналу або молекули, залучені в реакції рослин при аклімації — важливі для вивчення біології стресу й адаптації рослин до умов навколишнього середовища. Наприклад, досліджено зміни рівня амінокислот у листках під час добових ритмів та у відповідь на зміни інтенсивності фотосинтезу й фотодихання. Це дало змогу довести, що рослини використовують складні механізми підтримання відносно сталого рівня головних метаболітів, а також продемонструвати різочу подібність співвідношення окремих амінокислот за одночасних радикальних змін їх загального рівня [24, 25, 31].

Із погляду метаболоміки для процесів адаптації важливі три різні типи сполук: 1) речовини, що беруть участь у процесі аклімації, такі як антиоксиданти, осмопротектори; 2) побічні продукти стресу, які з'являються у клітинах через порушення нормального гомеостазу внаслідок зміни умов зростання; 3) сигнальні молекули, що безпосередньо включаються у відповідь на аклімацію рослин. Відомі деякі рослинні метаболіти, які є частиною відповіді на біотичний/абіотичний стрес. Це поліоли (маніт, сорбіт), сполуки диметилсульфату (диметилсульфопропіонат), бетаїноліцину (триметилглїцин); цукри (сахароза, фруктоза), амінокислоти (пролін, аланін, що виконують роль осмопротекторів для захисту рослин за сольового стресу, посухи, зневоднення). Саліцилова і жасмонова кислоти, інші молекули, які утворюються в результаті стресу, можуть слугувати сигнальними молекулами активації системного захисту та відповіді у процесі аклімації рослин [29, 33].

Детальним аналізом метаболічного профілю рослин за стресу можна виявити безліч згаданих вище сполук, а також тих, яких ще не знаходили за нормальних умов. Це може слугувати важливим інструментом виявлення таких метаболітів для ідентифікації біологічних молекул, які з'являються на пізніших етапах за умов стресу [33, 37].

Більшість відомих робіт щодо визначення складу метаболітів виконано на арабідопсисі (*Arabidopsis thaliana*). Лізек та співавт. [22] розробили метод отримання метаболітів, що уможливив виділення цільових груп таких сполук із цієї тестової модельної рослини. Останнім часом одним із головних об'єктів метаболомних досліджень стали бобові. Дані, отримані під час метаболічного профілювання, в поєднанні з геномікою можна використовувати для спостереження змін метаболомного складу бобових рослин за дії різноманітних стресових чинників на різних етапах росту і розвитку рослин, у тому числі при формуванні симбіотичних взаємовідносин. Відомо, що біологічна фіксація азоту — складний процес, в якому беруть участь ферменти, які відновлюють азот, регуляторні білки, величезна кількість інтермедіатів. Засвоєння азоту є фізіологічним процесом, що забезпечує синтез пластичних речовин і, як результат,

сприяє накопиченню біомаси рослин. Метаболічна регуляція азотфіксації досліджена недостатньо, тому детальне вивчення процесів формування і функціонування симбіотичних азотфіксувальних систем є актуальним [1, 2].

Перші дослідження з виділення метаболітів бобових рослин виконані наприкінці 1980-х років за допомогою звичайної (іонообмінної) рідинної хроматографії з наступним вивченням зразків на аналізаторі. Так, у 1987 р. Стрітер та співавт. [36] виділяли метаболіти з бактероїдів і цитозолу бульбочок, але через складність виконання, довготривалість, низьку вірогідність їх дослідження не отримали широкого визнання. Лише активний розвиток хромато-мас-спектрометрії спростив подальше дослідження метаболомного складу бобових рослин. Так, Десброссес та співавт. [11] ГХ-МС-аналізом виявили близько 40 основних метаболітів бульбочок лядвенцю (*Lotus japonicus*), більшість яких становили: октодеканова кислота, аспарагін, глутамат, гомосерин, цистеїн, путресцин, маніт, треонат, глюконова кислота. Сучасними методами метаболічного профілювання досліджено зміни метаболізму в бульбочках лядвенцю, виявлено кілька спільних метаболічних шляхів, у тому числі в гліколізі, фіксації CO<sub>2</sub>, біосинтезі амінокислот, органічних кислот, пуринів, гему, в окисно-відновному метаболізмі [9].

Броеклінг та співавт. [8] на моделі люцерни (*Medicago truncatula*) ґрунтовно дослідили й продемонстрували істотні зміни у відносно великій кількості метаболітів, що були виявлені в результаті перепрограмування основного обміну речовин у відповідь на стрес. Особливо цікавими є зниження рівня сахарози, збільшення кількості амінокислот із розгалуженим ланцюгом, аланіну. Такі зміни наводять на думку про перерозподіл вуглецю зі сполук основного обміну речовин, зокрема сахарози, до компонентів вторинного метаболізму, таких як тритерпенові сапоніни, ізофлавоноїди. Припускають, що підвищення вмісту розгалужених амінокислот, путресцину,  $\gamma$ -аміномасляної кислоти,  $\beta$ -аланіну в сукупності є зміненим біосинтезом КоА. Крім того, ці дані підтвердили наявність треонінальдолази, яку до цього у рослинах не виявляли.

Актуальним є вивчення мікробно-рослинних систем. При застосуванні метаболомного профілювання Брехенмахер та співавт. [7] виявили й ідентифікували 166 малих молекул, що утворюються в корнях і кореневих волосках під час їх інфікування ризобіями. У результаті виконаного ними аналізу корневих волосків рослин сої, інокульованої бактеріями *Bradyrhizobium japonicum*, виявлено речовини, що беруть участь у взаємодії рослини й мікроорганізму. Зроблено припущення, що кореневі волоски у відповідь на інокуляцію вищезгаданими бактеріями синтезують флавоноїди, амінокислоти, жирні кислоти, карбонові кислоти, різноманітні вуглеводи, серед яких високим вмістом вирізнялась трегалоза. За інокуляції рослин сої мутантами *B. japonicum*, дефектними за генами трегалозосинтази, трегалозо-6-фосфатсинтази, мальтоолігозилтрегалозосинтази, доведено, що трегалоза, яку виявляли у корневих волосках інокульованої сої, була саме бактеріального походження [7]. Трегалоза відома як осмопротектор, тому отримані дані свідчать на користь того, що цей цукор є одним із чинників, який сприяє зменшенню осмотичного навантаження під час інфікування бактеріями чи утворення інфекційної нитки. Визначено також низку сполук, більшість яких і раніше була відома як компоненти різних рослино-мікробних взаємодій. Наприклад,  $\gamma$ -аміномасляна кислота, гексагідрогексаоксибензол-О-метил, глутамін, лауринова кислота допомагають бактеріям *B. japonicum* подолати захист рос-

лини під час інфікування. Ці ізофлавоноїди і жирні кислоти у вільному стані з'являються головним чином у зв'язку з їх сигнальною роллю у симбіозі за потреби посилення клітинного біосинтезу для створення структурних компонентів (наприклад, інфекційної нитки), необхідних для підтримання розвитку симбіозу.

В Інституті фізіології рослин і генетики НАН України досліджено метаболічний склад коренів рослин сої, інокульованої штамми *B. japonicum* різної ефективності за оптимального (60 % ПВ) і недостатнього (40 % ПВ) водозабезпечення [3]. В неінокульованих рослинах за умов посухи та в усіх варіантах інокуляції за обох рівнів водозабезпечення спостерігалось значне збільшення вмісту малонової та бурштинової кислот, а також низки цукрів і багатомольних спиртів, що, як відомо з літературних джерел, відіграють важливу роль у захисних реакціях рослин [33]. Зразки коренів рослин сої як інокульованих, так і не інокульованих, за обох рівнів водозабезпечення були подібними за вмістом насичених і ненасичених жирних кислот. Серед них переважали стеаринова і пальмітинова, вміст яких максимально зростає під час інтенсивного формування бульбочок. Утворення вільних жирних кислот очевидно є наслідком посилення клітинного біосинтезу мембранних ліпідів, адже відомо, що рівень насичення мембран жирними кислотами може істотно змінити толерантність рослин до посухи. У рослин, вирощених за умов недостатнього водозабезпечення, значно підвищувався вміст проліну, який відомий своєю осмопротекторною функцією, діє як осморегулятор, сприяє утриманню води, запобігає дегідратації білків, збільшує обводнення мембран, стабілізує їх структуру [7]. В усіх досліджених зразках за 40 % ПВ збільшувалась кількість проліну, який був майже відсутній у коренях неінокульованих рослин за оптимального водозабезпечення [3].

Отже, результати дослідження метаболітів розширили уявлення про фізіологічні механізми симбіотичних відносин рослин із мікросимбіонтами, сприяли пошуку шляхів підвищення продуктивності бобових рослин, їх резистентності до впливу несприятливих чинників, що забезпечуватиме високий рівень урожаїв за різних умов вирощування рослин, незважаючи на вплив як біотичних, так і абіотичних чинників.

Глибоке дослідження метаболому рослин дає змогу отримати детальне уявлення про фізіологічні процеси, які відбуваються у рослинах, що уможливить коректне прогнозування функцій біологічної системи від змін на генетичному рівні й до метаболізму, а також у процесі росту та розвитку рослини. Все це робить метаболоміку принципово важливим додатковим елементом геноміки і протеоміки, оскільки забезпечує одночасний аналіз у біологічному зразку надзвичайно широкого набору метаболітів. У зв'язку з важливою роллю метаболітів у біологічних системах метаболоміка посіла гідне місце в сучасній фізіології рослин як у фундаментальному, так і в прикладному аспектах.

1. Коць С.Я., Моргуєн В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота. Бобово-ризобиальный симбиоз. — К.: Логос, 2010. — Т. 1. — 506 с.
2. Коць С.Я., Моргуєн В.В., Патыка В.Ф. и др. Биологическая фиксация азота. Бобово-ризобиальный симбиоз. — Киев: Логос, 2011. — Т. 2. — 523 с.
3. Левишко А.С., Шиманська Д.Ф., Хоменко Ю.О. та ін. Вплив інокуляції на білковий та метаболічний профілі симбіотичних систем сої за різного водозабезпечення / Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. «Екологічний шлях у майбутнє» (Київ—Умань, 29—30 березня, 2012). — Київ—Умань, 2012. — С. 129—131.
4. Лохов П.Г., Арчаков А.И. Масс-спектрометрические методы в метаболомике // Биомед. химия. — 2008. — 54, № 5. — С. 497—511.

5. *Осипов В.И., Быков В.А.* Метаболомика растений: основы технологии и области применения // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Биотехнология. Вода и пищевые продукты» (Москва, 11–13 марта, 2008). — М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2008. — С. 472.
6. *Allwood J.W., Ellis I.D., Goodacre R.* Metabolomic technologies and their application to the study of plants and plant-host interactions // *Physiol. Plant.* — 2008. — **132**. — P. 117–135.
7. *Brechenmacher L., Lei Z., Libault M. et al.* Soybean metabolites regulated in root hairs in response to the symbiotic bacterium *Bradyrhizobium japonicum* // *J. Plant Physiol.* — 2010. — **153**, N 4. — P. 1808–1822.
8. *Broeckling C.D., Huhman D.V., Farag M.A. et al.* Metabolic profiling of *Medicago truncatula* cell cultures reveals the effects of biotic and abiotic elicitors on metabolism // *J. Exp. Bot.* — 2005. — **56**, N 410. — P. 323–336.
9. *Colebatch G., Desbrosses G., Ott T. et al.* Global changes in transcription orchestrate metabolic differentiation during symbiotic nitrogen fixation in *Lotus japonicus* // *Plant J.* — 2004. — **39**. — P. 487–512.
10. *Cramer G.R., Ergul A., Grimplet J. et al.* Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles // *Funct. Integr. Genomic.* — 2007. — **7**. — P. 111–134.
11. *Desbrosses G.G., Kopka J., Udvardi M.K.* *Lotus japonicus* metabolic profiling development of gas chromatography-mass spectrometry resources for the study of plant-microbe interactions // *J. Plant Physiol.* — 2005. — **137**. — P. 1302–1318.
12. *Fiehn O.* Metabolomics — the link between genotypes and phenotypes // *Plant Mol. Biol.* — 2002. — **48**. — P. 155–171.
13. *Fiehn O.* Study of metabolic control in plants by metabolomics // *Annu. Plant Rev.: Control of Primary Metabolism in Plants* / Eds: W.C. Plaxton et al. — Oxford; Blackwell Publ. Ltd, 2006. — Vol. 22. — P. 60–84.
14. *Fukusaki E., Kobayashi A.* Plant metabolomics: Potential for practical operation // *J. Biosci. Bioeng.* — 2005. — **100**, N 4. — P. 347–354.
15. *Gika H.G., Theodoridis G.A., Wingate J.E., Wilson I.D.* Within-day reproducibility of an HPLC-MS-based method for metabolomic analysis: application to human urine // *J. Proteome Res.* — 2007. — **6**, N 8. — P. 3291–3303.
16. *Griffin J.L.* The Cinderella story of metabolic profiling: does metabolomics get to go to the functional genomics ball? // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* — 2006. — **361**. — P. 147–161.
17. *Hall R.D.* Plant metabolomics in a nutshell: potential and future challenges // *Annu. Plant Rev.* — 2011. — **43**. — P. 1–24.
18. *Hernandez G., Valdes-Lopez O., Ramirez M. et al.* Global changes in the transcript and metabolic profiles during symbiotic nitrogen fixation in phosphorus-stressed common bean plants // *J. Plant Physiol.* — 2009. — **151**. — P. 1221–1238.
19. *Kim H.K., Choi Y.H., Verpoorte R.* NMR-based metabolomic analysis of plants // *Natl. Protoc.* — 2010. — **5**, N 3. — P. 536–549.
20. *Lapainis T., Rubakhin S.S., Sweedler J.V.* Capillary electrophoresis with electrospray ionization mass spectrometric detection for single-cell metabolomics // *Analyt. Chem.* — 2009. — **81**, N 14. — P. 5858–5864.
21. *Lisec J., Meyer R.C., Steinfath M. et al.* Identification of metabolic and biomass QTL in *Arabidopsis thaliana* in a parallel analysis of RIL and IL populations // *Plant J.* — 2008. — **53**. — P. 960–972.
22. *Lisec J., Schauer N., Kopka J. et al.* Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants // *Natl. Protoc.* — 2006. — **1**, N 1. — P. 387–396.
23. *Maloney V.* Plant metabolomics // *Biotechnol. J.* — 2004. — **2**. — P. 92–99.
24. *Masclaux-Daubresse C., Valadier M.H., Carrayol E. et al.* Diurnal changes in the expression of glutamate dehydrogenase and nitrate reductase are involved in the C/N balance of tobacco source leaves // *Plant Cell Environ.* — 2002. — **35**. — P. 1451–1462.
25. *Matt P., Geiger M., Walch-Liu P. et al.* The immediate cause of the diurnal changes of nitrogen metabolism in leaves of nitrate-replete tobacco: a major imbalance between the rate of nitrate reduction and the rates of nitrate uptake and ammonium metabolism during the first part of the light period // *Ibid.* — 2001. — **24**. — P. 177–190.
26. *Nikolau B.J., Wurtele E.S.* *Concepts in Plant Metabolomics.* — Dordrecht: Springer, 2007. — 297 p.
27. *Obata T., Fernie A.R.* The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses // *Cell Mol. Life Sci.* — 2012. — **69**, N 19. — P. 3225–3243.
28. *Roessner U., Bacic A.* Metabolomics in plant research // *Aust. Biochem.* — 2009. — **40**, N 3. — P. 9–20.
29. *Roessner U., Bowne J.* What is metabolomics all about? // *Biotechniques.* — 2009. — **46**, N 5. — P. 363–365.

30. Schauer N., Steinhäuser D., Strelkov S. et al. GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples // FEBS Lett. — 2005. — **579**, N 6. — P. 1332–1337.
31. Scheible W.R., Gonzalez-Fontes A., Morcuende R. et al. Tobacco mutants with a decreased number of functional nia genes compensate by modifying the diurnal regulation of transcription, post-translation modification and turnover of nitrate reductase // Planta. — 1997. — **203**. — P. 304–319.
32. Senaratna T., Merritt D., Dixon K. et al. Benzoic acid may act as the functional group in salicylic acid and derivatives in the induction of multiple stress tolerance in plants // Plant Growth Regul. — 2003. — **39**, N 1. — P. 77–81.
33. Shulaev V., Cortes D., Miller G., Mittler R. Metabolomics for plant stress response // Physiol. Plant. — 2008. — **132**, N 2. — P. 199–208.
34. Smedsgaard J., Frisvad J.C. *Terverticillate penicillia* studied by direct electrospray mass spectrometric profiling of crude extracts: I. Chemosystematics // Biochem. Syst. Ecol. — 1997. — **25**. — P. 51–64.
35. Smedsgaard J., Frisvad J.C. Using direct electrospray mass spectrometry in taxonomy and secondary metabolite profiling of crude fungal extracts // J. Microbiol. Methods. — 1996. — **25**, N 1. — P. 5–17.
36. Streeter J.G. Carbohydrate, organic acid, and amino acid composition of bacteroids and cytosol from soybean nodules // J. Plant Physiol. — 1987. — **85**. — P. 768–773.
37. Thapa G., Dey M., Sahoo L., Panda S.K. An insight into the drought stress induced alterations in plants // Biol. Plant. — 2011. — **55**, N 4. — P. 603–613.
38. Upchurch R.G. Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress // Biotechnol. Lett. — 2008. — **30**, N 6. — P. 967–977.
39. Van der Greef J., Smilde A.K. Symbiosis of chemometrics and metabolomics: past, present and future // J. Chemomet. — 2005. — **19**. — P. 376–386.
40. Weckwerth W. Metabolomics in systems biology // Annu. Rev. Plant Biol. — 2003. — **54**. — P. 669–689.
41. Wu J., Yu H., Dai H. et al. Metabolite profiles of rice cultivars containing bacterial blight-resistant genes are distinctive from susceptible rice // Biochim. Biophys. Acta. — 2012. — **44**, N 8. — P. 650–659.

Отримано 29.05.2013

#### МЕТАБОЛОМИКА РАСТЕНИЙ: ЕЕ ОСНОВЫ И РОЛЬ В ИЗУЧЕНИИ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

А.С. Левишко, П.Н. Маменко, С.Я. Коць

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Рассмотрено новое направление развития молекулярных исследований биологических объектов — метаболомику, которая сегодня интенсивно развивается и делает возможным комплексный анализ метаболитов. Приведены методы изучения растительных метаболитов, освещены некоторые достижения и перспективы использования метаболомных технологий в физиологии растений.

#### PLANT METABOLOMICS: FUNDAMENTALS AND ROLE IN THE STUDY OF PLANT-MICROBE INTERACTIONS

A.S. Levishko, P.M. Mamenko, S.Ya. Kots

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylkivska St., Kyiv, 03022, Ukraine

Metabolomics as a new trend of molecular researches of biological objects which intensively develops currently and makes it possible to implement a comprehensive analysis of metabolites is observed. The methods of researches of plant metabolites and some achievements and prospects of metabolomics technologies in plant physiology are analyzed.

*Key words:* metabolome, microbe-plant symbiosis, metabolites.