

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ

ИНСТИТУТ
ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ
им. К.А. Тимирязева
Российской академии наук

127276, Москва, И-276, Ботаническая ул., 35
Тел. (499) 678-54-00, Факс (499) 678-54-20
E-mail: ifr@ippras.ru

№ _____
на № _____ от _____

“УТВЕРЖДАЮ”
Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения
науки Института физиологии
растений им. К.А. Тимирязева РАН

_____ 
член-корр. РАН Д.А. Лось

“09” апреля 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
о научно-практической ценности диссертации

Ставицкой Златы Олеговны

на тему «Пути накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в плодах *Malus baccata* (L.) Borkh. и её гибридов F1», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

Актуальность работы

Диссертационная работа Златы Олеговны Ставицкой посвящена изучению особенностей биосинтеза, накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в тканях плодов *Malus baccata* (L.) Borkh. и её гибридов F1 с *M. domestica* (Suckow) Borkh. на разных стадиях развития. Известно, что яблоня занимает лидирующую позицию в мировом плодовом производстве,



а повышение содержания аскорбиновой кислоты (витамин С) в ее плодах является стратегической задачей селекции. Особенно важно это для регионов с суровым климатом, где доступ к высоковитаминным фруктам ограничен. И в этом случае *M. baccata* (яблоня сибирская), как представитель аборигенных видов-доноров, представляет собой уникальный генетический ресурс, характеризующийся значительным накоплением аскорбиновой кислоты в плодах относительно такового у *M. domestica* (яблоня домашняя или садовая). При этом до настоящего времени крайне мало известно о метаболических и генетических основах этого процесса в плодах (кожица-мякоть) нескольких генотипов яблонь. В связи с этим диссертационная работа Златы Олеговны Ставицкой по изучению биохимических и молекулярно-генетических аспектов биосинтеза аскорбиновой кислоты и его регуляции на примере *M. baccata*, *M. domestica* и их F1 гибридов имеет как фундаментальное, так и прикладное значение.

Научная новизна

В ходе выполнения работы автором впервые проведено комплексное сравнительное изучение динамики накопления аскорбиновой кислоты, относительной экспрессии ключевых генов ее биосинтеза (*GGP1*, *GGP3*) и рециркуляции (*MDHAR1*, *DHAR3*), активности ферментов аскорбат-глутатионового цикла (МДГАР, ДГАР, АПО), а также содержания метаболитов-предшественников (растворимых сахаров, пектинов) в тканях плодов *M. baccata* и *M. domestica*, а также их гибридов F1 на разных стадиях их развития. Приоритетным результатом является установление принципиально иной стратегии накопления АК у *M. baccata* по сравнению с *M. domestica*, что проявляется в значительном ее содержании уже на ювенильной стадии развития плодов и возрастании до стадии биологической зрелости. Впервые показано, что поддержание высокого уровня аскорбиновой кислоты в зрелых плодах *M. baccata* обусловлено повышенной экспрессией генов *GGP* и особенно *MDHAR1* (более чем в 7 раз превышающая таковую у других генотипов), высокой активностью фермента МДГАР, а также наличием дополнительных путей биосинтеза аскорбиновой кислоты – миоинозитолового и галактуронового. Все это свидетельствует о принципиальном отличии от известной для *M. domestica* модели, где доминирующая роль отводится гену *DHAR* и ферменту ДГАР. Важным практическим итогом работы является обоснование гена *MDHAR1* в качестве перспективного кандидатного маркера для селекции яблони на высокое содержание витамина С в плодах.

Характеристика содержания работы

Диссертационная работа, в целом, написана по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитированной литературы.

После краткого введения, в котором определены цель и задачи исследования, проведен анализ литературных источников, которые имеют непосредственное отношение к изучаемой проблеме. Обзор литературы охватывает широкий круг проблем и включает 3 раздела.

В первом разделе соискатель излагает современные данные об аскорбиновой кислоте, как об одном из самых распространенных и многофункциональных соединений в растительных тканях. При этом особое внимание уделено результатам исследований путей биосинтеза аскорбиновой кислоты в растениях. Достаточно детально описаны 4 пути биосинтеза аскорбиновой кислоты: L-галактозный, D-галактуроновый, миоинозитольный и L-гулозный, которые достаточно полно изучены с использованием плодов таких растений как клубника и киви. Особое внимание уделено соискателем и пути рециркуляции аскорбиновой кислоты в растительных клетках, как важного механизма, поддерживающего необходимый уровень АК в клетках для обеспечения их жизнедеятельности. На основе анализа современных литературных данных соискатель далее приводит детальные данные о содержании аскорбиновой кислоты и её локализации в клетках и тканях растений, а также дальнем транспорте этого соединения в клетках растений.

Во втором разделе представлены современные данные о предшественниках биосинтеза аскорбиновой кислоты. И основные акценты в этом разделе сделаны на участие растворимых сахаров, которые можно назвать ключевыми компонентами биосинтеза аскорбиновой кислоты, включая информацию о пути их метаболизма и транспорта, а также взаимосвязи развития плодов яблони с метаболизмом растворимых сахаров. Следует подчеркнуть, что этот раздел состоит из подразделов, в которых детально рассмотрен пектин как один из основных компонентов клеточной стенки растений и его роль в биосинтезе аскорбиновой кислоты, за счет анализа современных данных о путях его биосинтеза и деградации, структуре пектинов, а также распространении пектинов в клетках и тканях растений.

В следующем разделе «Обзора литературы» приводятся современные представления о роде *Malus*, затрагиваются вопросы введения этих растений в культуру в сибирском регионе и их селекционный потенциал. Отмечены перспективы развития пребридинговых исследований, представляющих особый интерес в силу неопределимой экологической и экономической значимости растений этого рода.

Таким образом, на основании анализа литературных источников соискатель четко определяет насущные научные задачи в этой области исследований. Такой раздел в составе главы «Обзор литературы» является целесообразным, поскольку позволяет оценить, насколько соискатель знает научную проблему и какую цель, и основные задачи, предполагает решить в рамках диссертационной работы.

В целом, обзор литературы написан хорошим языком, современен и касается тех проблем, которые имеют непосредственное отношение к теме диссертационной работы. Весьма отраднo, что Злата Олеговна при написании литературного обзора, использует не только научные результаты зарубежных коллег, но и хорошо знает и цитирует научные публикации российских исследователей. Следует отметить, что все литературные данные анализируются соискателем квалифицированно и подробно, поэтому цель и задачи, поставленные автором работы, звучат вполне убедительно.

Традиционно после обзора литературы приводится описание материалов и методов исследования. В этой главе соискателем детально изложены методические особенности и приемы работы. Использован целый арсенал современных методов, применяемых в мировой практике количественного анализа вторичных соединений, активности ферментов и транскрипции целевых генов. Следует отметить вполне удовлетворительную разрешающую способность избранных для работы экспериментальных и теоретических методов, и в ряде случаев их успешную модификацию с учетом специфики проводимых исследований.

Аналитическое рассмотрение Главы "Результаты и Обсуждение" позволяет заключить следующее: автором была предпринята серия экспериментов, спланированных на хорошем профессиональном уровне, которые позволили полностью решить поставленные в ходе работы задачи. Эта Глава включает пять разделов.

Первоначально, Златой Олеговной проведены исследования, направленные на оценку динамики изменения содержания аскорбиновой кислоты в процессе развития плодов яблони у растений яблони *M. baccata*, её гибридов F1, а также сортов *M. domestica*. Выявленные изменения содержания аскорбиновой кислоты в процессе развития плодов у растений яблони сортов *M. baccata* и *M. domestica* позволили соискателю предположить, что разные стратегии накопления аскорбиновой кислоты на разных стадиях развития плода у изученных генотипов обеспечиваются регуляцией различных путей ее синтеза.

В связи с этим, вполне логичной видится следующая часть работ, которая направлена на детальный анализ относительного уровня транскрипции генов, задействованных в биосинтезе аскорбиновой кислоты, а также на поддержание её рециркуляции.

Для этого первоначально соискатель проводит оценку относительного уровня транскрипции ряда генов. А именно, *GGP1* и *GGP3*, продукты которых – ГДФ-Л-

галактозофосфорилазы – участвуют в превращении ГДФ-L-галактозы в L-галактозо-1-фосфат, и являются ключевыми в последующем процессе биосинтеза аскорбиновой кислоты. Помимо этого, диссертант анализирует и относительный уровень транскрипции генов *DHAR3* и *MDHAR1*, продукты которых - монодегидроаскорбатредуктаза (МДГАР) и дегидроаскорбатредуктаза (ДГАР) - могут играть важную роль в поддержании оптимального уровня аскорбиновой кислоты во время процесса её рециркуляции. Полученные Златой Олеговной результаты позволили выявить ряд важных закономерностей: (1) уровень транскрипции гена *MDHAR1* многократно превышал уровень транскрипции гена *DHAR3*; (2) основным путём биосинтеза аскорбиновой кислоты в тканях плодов изученных генотипов являлся путь Смирнова-Уилера; (3) в тканях плодов *M. baccata* и её гибридов, помимо пути Смирнова-Уилера, потенциально функционируют миоинозитоловый и галактуроновый пути синтеза аскорбиновой кислоты; (4) большее значение для поддержания высокого уровня аскорбиновой кислоты на стадии зрелости плодов играет активность системы рециркуляции.

В диссертационной работе Златы Олеговны Ставицкой уделено внимание и оценке модуляции активности ферментов рециклинга аскорбиновой кислоты в тканях на разных стадиях развития плодов. Диссертантом отмечено, что в плодах *M. baccata* активность ферментов, как и экспрессия кодирующих их генов, участвующих в рециркуляции АК, отличалась от таковых у *M. domestica*, что, вероятно, может быть одной из причин высокого содержания аскорбиновой кислоты в плодах *M. baccata*.

На разных этапах развития плодов ферменты МДГАР и ДГАР функционировали по-разному. В то время как МДГАР был активен на стадии биологической зрелости, ДГАР играл ключевую роль на этапе активного роста плодов. Дополнительно соискателем проанализирована активность фермента АПО (аскорбатпероксидазы), который показал высокую активность у всех исследуемых генотипов. При этом, активность АПО была выше, чем активность МДГАР, что говорит в пользу ключевой роли ферментов МДГАР и АПО в метаболизме аскорбиновой кислоты у исследуемых генотипов растений яблони.

Дальнейшие усилия соискателя направлены на то, чтобы выяснить насколько накопление аскорбиновой кислоты в различных тканях плодов (кожица, мякоть) зависит от уровня ее предшественников, включая представители растворимых сахаров (сорбит, глюкоза, фруктоза, сахароза), а также пектинов (водорастворимой формы и протопектина), которые связаны с путем Смирнова-Уилера через общие метаболиты – маннозу и L-галактозу, в регуляторной точке биосинтеза аскорбиновой кислоты. Получены оригинальные данные по балансу всех этих метаболитов на различных этапах созревания плодов. Отмечено высокое содержание сорбитола у *M. baccata* и ряда ее гибридов F1, что диссертант позиционирует как их видоспецифическую характеристику. Изучение накопления пектинов в зрелых плодах показало, во-первых,

большее накопление протопектина относительно водорастворимого пектина во всех исследованных вариантах, что было более выражено у *M. baccata* и большинства ее гибридов. Во вторых, практически равную степень этерификации пектиновых фракций плодов всех генотипов (свыше 50%) и это свидетельствует о сходстве в их биосинтезе и накоплении и малой взаимосвязи с накоплением аскорбиновой кислоты.

Помимо изучения особенностей биосинтеза, накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в тканях плодов *Malus baccata* и её гибридов F1 на разных стадиях развития, соискатель поставил перед собой еще одну и не менее важную задачу. Это касается оценки функционирования в них не только основного пути биосинтеза аскорбиновой кислоты - путь Смирнова-Уилера, но и других дополнительных путей - галактуронового и миоинозитонового, которые могут работать как постоянно, так и в ответ на стрессовое воздействие. Для решения этого вопроса был использован метод совместного инкубирования предшественников синтеза аскорбиновой кислоты с исследуемыми тканями, т.н. метод фидинга. На основании результатов серии проведенных экспериментальных работ Злата Олеговна формулирует вполне логичное предположение, что при инкубации тканей плодов (кожица, мякоть) с метаболитами-предшественниками синтеза аскорбиновой кислоты основным путем ее биосинтеза в изученных генотипах является путь Смирнова-Уилера. При инкубации также отмечался отклик на 1,4-гулонолактон, миоинозитол, галактуроновую кислоту, что можно рассматривать как возможность синтеза аскорбиновой кислоты по миоинозитольному и галактуроновому пути.

В разделе «Заключение», диссертант кратко суммирует полученные результаты.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационная работа Златы Олеговны Ставицкой совмещает в себе и фундаментальность, и практическую значимость. Полученные соискателем результаты важны для развития фундаментальных представлений об особенностях путей биосинтеза и рециркуляции аскорбиновой кислоты в тканях плодов *M. baccata* и её гибридов F1 с *M. domestica*. С практической точки зрения данная работа интересна тем, что обнаруженные закономерности открывают перспективы для приложения результатов исследования в области сельского хозяйства и биотехнологии и могут быть полезны при создании хозяйственно-ценных растений, за счет тестирования на этапе зрелости плодов активности фермента МДГАР, в совокупности с транскрипцией генов *MDHAR1* и *GGPI* как маркеров высокого содержания аскорбиновой кислоты в плодах яблони.

Достоверность и апробация полученных результатов

Использование для исследований классических и современных методов физиологии и биохимии растений, а также методов анализа экспериментального материала, подтверждает обоснованность и достоверность экспериментальных результатов, представленных в диссертационной работе Златы Олеговны Ставицкой, а также выносимых на защиту положений и выводов.

Основные положения и результаты исследований по диссертации опубликованы в 4 статьях в престижных зарубежных изданиях, рекомендованных ВАК, доложены на международных и российских научных форумах. Рукопись автореферата соответствует содержанию рассматриваемой диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Вопросы и замечания

При аналитическом рассмотрении представленных в диссертационной работе материалов возник ряд вопросов:

- Почему в разделе Обзор литературы не представлена информация о деградации аскорбиновой кислоты в растительных клетках, хотя соискатель отмечает важность этого процесса для поддержания необходимого для растения ее уровня?
- Почему не проведен анализ уровня транскрипции гена АПО (аскорбатпероксидазы), а только проведен анализ активности его белкового продукта?
- Гены *GGP1* и *GGP3*, продукты которых - ГДФ-L-галактозофосфорилазы – это ортологи или паралоги? Известно ли сколько их представлено в геноме яблони? Насколько специфичны праймеры, использованные для оценки уровня транскрипции этих генов? Каков уровень идентичности у них?
- Вопросы о номерах GenBank последовательностей, которые были использованы для подбора праймеров при проведении ПЦР в реальном времени. В таблице 4 диссертационной работы - Геноспецифичные последовательности праймеров тестируемых генов, и таблице 2 автореферата - Нуклеотидная последовательность праймеров изученных генов указаны номера последовательность GenBank к которым диссертант подбирал праймеры. Исходя из данных последовательностей в этот ресурсе один из них GenBank acc. no. XM_008370485 указан как - PREDICTED: *Malus domestica* glutathione S-transferase (ascorbate) DHAR3, chloroplastic-like (LOC103432300), transcript variant X3, mRNA – а соискатель в таблицах указывает, что это последовательность

дегидроаскорбат-редуктаза. На какой информации базируется это утверждение, т.е. что последовательность кодирует именно дегидроаскорбат-редуктазу?

- При изложении экспериментальных данных как в диссертации, так и в автореферате соискатель придерживается исключительно описательного стиля по каждому разделу. В работе отсутствуют промежуточные обобщения и выводы, что затрудняет восприятие логики исследования и оценку значимости полученных результатов.
- Почему содержание различных метаболитов (аскорбиновая кислота, углеводы, пектины) приводится в расчете на сырой вес ткани, хотя он весьма различен как у генотипов, так и на разных этапах роста плодов, а не на сухой вес (как это принято для большинства исследований)?

По разделам диссертационной работе Златы Олеговны Ставицкой имеется ряд замечаний и пожеланий, которые могут быть учтены в дальнейших работах соискателя:

1. Целесообразно, на наш взгляд, было бы представить Заключение в конце раздела Обзор литературы, в котором обозначить ключевые проблемы в области исследований по тематике диссертационной работы.
2. В тексте имеются стилистические погрешности, неточности, неудачные выражения и не вполне профессиональное использование некоторых терминов и обозначений. Например, диссертант использует термин «F – прямая грунтовка и R – обратная грунтовка грунтовка» в примечании к таблице 2, автореферата, когда описывает праймеры – прямой и обратный. В некоторых местах диссертационной работы обозначение генов приведено не курсивом, что может быть ввести в заблуждение и принять их за белковые продукты генов.
3. Частая подмена термина «транскрипция» на термин «экспрессия». Соискатель проводит анализ оценку уровня мРНК целевых генов – а это процесс транскрипции! Транскрипция – это, безусловно, важный этап экспрессии генов, ее эффективность вносит значительный вклад, однако транскрипция не единственный биологический процесс, определяющий преобразование наследственной информации от гена в функциональный продукт (экспрессия гена), прежде всего, в белок. Экспериментально доказано, что регуляция экспрессии проходит и на других уровнях – трансляции, стабильность белкового продукта и др.
4. Во многих разделах диссертации использован термин «синтез» (получение химических соединений из составных частей путём химической реакции) в отношении биосинтеза (процесс, при котором живая клетка производит сложные органические вещества из более простых молекул) аскорбиновой кислоты в растениях. Можно пожелать соискателю в дальнейшем применять корректное обозначение.

5. В диссертации и в автореферате на рисунках и в подписях к ним имеются неточности/ошибки (например, E при оценке активности ферментов – какова величина этого показателя? Содержание углеводов/сахаров) и др.

Все замечания к работе исчерпываются выше названными, большинство из которых, видимо, следует отнести к разряду досадных неточностей в оформлении работы. Высказанные замечания не носят принципиального характера, не затрагивают сути научных выводов, сделанных диссертантом, и не умаляют значения представленной работы, выполненной, в целом, на высоком научном и методическом уровне, и оставляющей только хорошее впечатление.


Результаты представленной к защите диссертации свидетельствуют о высокой квалификации ее автора – Златы Олеговны Ставицкой. Возвращаясь к несомненным достоинствам диссертации, следует подчеркнуть, что автором проделана большая и полезная работа. Составные части исследования осуществлены и изложены в последовательности, отражающей логику реализации конечной цели всей работы – изучение особенностей синтеза, накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в тканях плодов *Malus baccata* и её гибридов F1 на разных стадиях развития. Диссертантом использованы для исследований современные и классические методы физиолого-биохимического и молекулярно-генетического анализа. Диссертант в достаточной степени эрудированна, хорошо знакома с литературой по теме диссертации. Список использованной литературы составляет 213 работ, большинство из которых на английском языке. Следует отметить правильность выбранной стратегии исследования и высокую квалификацию исполнения, что положительно характеризует самого исследователя, а также, безусловно, свидетельствует о высоком уровне исследований научного подразделения, в котором выполнялась данная работа. Все вышеизложенное свидетельствует о соответствии соискателя Златы Олеговны Ставицкой ученой степени, на которую она претендует.

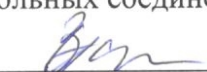
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ставицкой Златы Олеговны на тему «**Пути накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в плодах *Malus baccata* (L.) Borkh. и её гибридов F1**», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. - Физиология и биохимия растений, соответствует требованиям, установленным в главе II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям и является научно-квалификационной работой,

посвященной актуальной проблеме исследования процессов накопления и рециркуляции аскорбиновой кислоты в плодах *Malus baccata* (L.) Borkh. и её гибридов F1, а ее автор, Ставицкая Злата Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Отзыв обсужден и одобрен на расширенном заседании Межлабораторного семинара, при участии сотрудников Лаборатории функциональной геномики и Лаборатории фенольных соединений Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Протокол № 04\26 от «06» апреля 2026 г.).

Зав. Лабораторией функциональной геномики Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, в.н.с., д.б.н.  Ирина Васильевна Голденкова-Павлова.

Зав. Лабораторией фенольных соединений Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, в.н.с., д.б.н.  Наталья Викторовна Загоскина

Подписи сотрудников Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук Ирины Васильевны Голденковой-Павловой и Натальи Викторовны Загоскиной удостоверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, к.б.н.

 Николай Васильевич Лобус

«08» апреля 2026 года

Я, Голденкова-Павлова Ирина Васильевна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Златы Олеговны Ставицкой, и их дальнейшую обработку.

«08» апреля 2026 года  Ирина Васильевна Голденкова-Павлова

Я, Наталья Викторовна Загоскина, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Златы Олеговны Ставицкой, и их дальнейшую обработку.

«08» апреля 2026 года  Наталья Викторовна Загоскина