

## ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора биологических наук, доцента Степановой Надежды Юльевны на диссертационную работу Ольковой Анны Сергеевны на тему: «Разработка стратегии биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов», представленную к публичной защите в диссертационный совет Д 212.025.07 при ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология).

Несмотря на широкое распространение токсикологических методов, имеются недостатки в современной методологии биотестирования, а именно, отсутствует целостная концепция планирования и проведения эксперимента, направленная на получение достоверных и экологически значимых оценок токсичности тестируемых сред, учитывающая многофакторность ответных реакций тест-организмов. В этой связи диссертационная работа Ольковой А.С., посвященная обоснованию разработки стратегии биотестирования природных и антропогенных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов, является **актуальной**.

**Целью** диссертационной работы Ольковой А.С. было теоретическое и экспериментальное обоснование стратегии биотестирования водных сред, направленной на получение экологически значимых оценок токсичности тестируемых сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Обосновать эффективность целевого выбора биотестов с использованием универсального алгоритма, для определения наиболее чувствительных и предпочтительных методов биотестирования водной среды, загрязненной минеральными и органическими токсикантами.

2. В целях диагностики загрязнения водных сред различными веществами, обосновать использование *D. magna* в качестве базового тест-организма по критериям оптимальных условий его культивирования и многообразия тест-функций.

3. Экспериментально определить ряды чувствительности четырех аттестованных методов биотестирования на основе реакций тест-организмов *Daphnia magna* Straus, *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, *Paramecium caudatum* Ehrenberg и *Escherichia coli* штамм М-17 применительно к различным токсикантам на примере солей тяжелых металлов, азота и фосфора, а также гербицидов, нефтепродуктов и фталатов.

4. Разработать стратегию биотестирования водных сред, сочетающую в себе получение оперативного ответа о токсичности тестируемой среды и определение экологически значимых эффектов загрязняющих веществ в условиях неуставленного фактора токсичности, в том числе при ассоциированном действии веществ.

5. На примере *D. magna* выявить условия стандартизации тест-культур для определения их пригодности к биоанализам по расширенному перечню критериев здоровья тест-организмов.

6. Экспериментально установить влияние факторов культивирования на основные параметры жизнедеятельности модельных групп *D. magna* и выявить среди них оперативные и пожизненные критерии благополучия тест-организмов.

7. Разработать функциональную модель системы научно-обоснованной стратегии для планирования и проведения биотестирования, как вспомогательного инструмента управления качеством биоанализов.

**Достоверность** полученных в диссертационной работе результатов обеспечивается использованием комплекса современных биологических и физико-химических методов экспериментальных исследований, выполненных по аттестованным методикам измерений в аккредитованной экоаналитической лаборатории, статистической обработкой полученных результатов.

**Теоретическое значение работы.** Проведена систематизация современных научных данных в области биотестирования, раскрывающих влияние различных факторов на результаты биотестов. Предложено определение понятия «методология биотестирования», введены новые понятия – «базовый тест-организм» и «здоровье тест-организмов». Предложенная и апробированная стратегия планирования и проведения исследований с использованием биотестов вносит вклад в развитие современной методологии биотестирования.

#### **Научная новизна работы.**

Впервые предложена альтернатива «батареи биотестов» – главенствующему подходу в планировании и применении методов биотестирования, которая заключается в качественном переходе от увеличения числа биотестов к стратегии научно-обоснованного выбора методов биотестирования и использования надежных стандартизированных тест-культур.

На основе экспериментов, выполненных по унифицированному алгоритму, проведен сравнительный анализ чувствительности четырех аттестованных методик биотестирования к распространенным экотоксикантам минеральной и органической природы. Показано, что для периодической диагностики установленного фактора токсичности эффективен предварительный выбор максимально чувствительного биотеста, а не увеличение их числа.

Впервые предложена диагностика экологически значимых эффектов при неустановленном факторе токсичности по единственному – базовому – тест-организму *Daphnia magna*. При исследовании спектра откликов *D. magna* установлено, что тест-функция двигательной активности сигнализирует о токсическом действии веществ в нелетальных дозах наиболее оперативно (от 1 часа экспозиции). Дальнейшая оценка реакций *D. magna* в течение жизненного цикла опытных особей, а также второго и третьего опытных поколений, позволяет выявлять летальные, сублетальные и отсроченные во времени эффекты тестируемой среды. Это определяет



целесообразность и научную ценность использования стратегии сочетания экспресс-биотестирования и системного биотестирования.

На примере лабораторных культур *D. magna* впервые в экспериментах показано, что тест-организмы, удовлетворяющие требованиям чувствительности к эталонному токсиканту, могут значительно различаться по другим критериям благополучия, объединенных в понятие «здоровье тест-организмов». Таким образом, доказана необходимость новой стратегии стандартизации тест-культур и определения их пригодности к биоанализам. Установлены оперативные и пожизненные критерии здоровья *D. magna*, выявлены их качественные и количественные ориентиры.

#### **Практическая значимость и внедрение результатов исследований.**

Предложенная в работе стратегия планирования и проведения биотестирования направлена на получение достоверных и экологически значимых оценок токсичности тестируемых сред. Комплекс разработок является универсальным – может использоваться для всей группы методов, применяться для любых тест-систем и организмов.

Результаты работы используются при обучении студентов бакалавриата и магистратуры по направлению «Экология и природопользование».

#### **Основные положения и результаты, выносимые на защиту:**

1. В целях получения экологически значимых оценок токсичности водных сред необходимо перейти от увеличения числа выполняемых биотестов к стратегии планирования и проведения биотестирования с учетом факторов, влияющих на ответные реакции тест-организмов.

2. Диагностику влияния установленного основного фактора токсичности более эффективно проводить не увеличением «батареи биотестов», а путем предварительного целевого выбора наиболее чувствительных методов биотестирования.

3. При неустановленном факторе токсичности, сформированном одним или несколькими веществами, экологически значимые эффекты токсикантов необходимо определять системным биотестированием, включающим оценку спектра откликов базового тест-организма.

4. Стандартизация тест-культуры и определения её пригодности к биоанализам должна включать контроль ключевых критериев здоровья культуры с учетом факторов химического состава культивационной воды и биоритмов тест-организмов.

5. Стратегия планирования и проведения биотестирования, включающая целевой выбор биотестов, системное биотестирование по спектру ответных реакций тест-организмов, стандартизацию тест-культур по научно обоснованным критериям, позволяет учитывать основные факторы, влияющие на результат оценки токсичности водной среды.

#### **Общая характеристика, структура и оформление работы.**

Диссертационная работа Ольковой А.С. выполнена в традиционной манере и состоит из введения, 3-х глав, выводов и приложений. В списке литературы 419



источника, в том числе 89 на иностранных языках. Общий объем диссертации 358 страниц, из них 265 страниц основного текста, 60 таблиц и 23 рисунков.

Во **введении** (стр. 7 – 16) изложена актуальность, практическая значимость работы, приведены цель, задачи, положения, вносимы на защиту.

В **главе 1 «Биотестирование в охране окружающей среды (литературный обзор)»** (стр. 17 – 81) рассматриваются базовые понятия, принципы биотестирования, история развития биотестирования в России как научное и прикладное направление в области управления охраной окружающей среды, освещаются современные тенденции развития методологии биотестирования. Отдельное внимание уделено рассмотрению факторов, влияющих на результаты биотестирования, условиям проведения экспериментов, механизмам различной чувствительности организмов к токсикантам. Особое внимание уделено характеристике *Daphnia magna* Straus как базовому тест-организму при проведении экотоксикологических испытаний. Автором вводится понятие «здоровье тест-организмов» как совокупность параметров благополучия тест-культур, обеспечивающих стандартизацию тест-культур и условий проведения биоанализов.

**Глава 2 «Материалы и методы исследований»** (стр. 82 – 92) содержит информацию об использованных методах биотестирования, физико-химического анализа, статистической обработки результатов.

В **главе 3 «Разработка и апробация научно-методологической стратегии биотестирования с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов»** (стр. 93 – 261) дается обоснование выбора токсикантов для апробации стратегии биотестирования, приводятся ряды чувствительности биотестов (*D. magna*, *C. affinis*, *E. coli*, *P. caudatum*) к минеральным веществам: соединениям тяжелых металлов, азота и фосфора. Приводятся результаты экспериментов по чувствительности вышеперечисленных биотестов к водным средам, содержащим органические вещества: гербициды, бензин, фталаты.

Автор обосновывает применение алгоритма выбора целевых биотестов для оценки протекторного действия биологически активных веществ (восстановленного глутатиона, белковых биорегуляторов) и нативных сред (загрязненной почвы). Приводятся результаты тестирования модельных токсикантов и нативных сред по реакциям базового тест-организма *D. magna* по двигательной активности, обосновывается широкий спектр тест-функций *D. magna* для системного биотестирования. Автор предлагает расширить тест-функции *D. magna* для комплексной оценки токсичности водных сред, к которым относится трофическая активность, двигательная активность, признаки молодежи *D. magna* (возраст до 24 ч.: движения, размер, окраска покровов, наличие мертворожденной молодежи, деформации раковин, деформации хвостовой иглы (изогнутость, отсутствие), отсутствие щетинок на антеннах), учет абортивных яиц, оценка токсичности в ряду поколений. На основании полученных данных разработана шкала токсичности, которая отражает время проявления тест-функций.



Для анализа проблем культивирования и проведения биоанализов автором был проведен социологический опрос работников 10 токсикологических лабораторий по заранее разработанному опроснику.

Проведены эксперименты по изучению влияния плотности посадки и температуры на смертность, продолжительности жизни и плодовитость *D. magna*, а также химического состава культивационной воды, сезонности на чувствительность *D. magna* по отношению к эталонному токсиканту. На основании полученных данных автор разработал рекомендации по культивированию и контролю здоровья тест-культур на примере *D. magna*.

**Заключение** (стр. 262 – 263) отражает краткое изложение основных результатов проведенного исследования.

**Выводы** (стр. 263 – 265) из результатов проведенного исследования:

1. На основе проведенных исследований показано, что реализация стратегии планирования и проведения токсикологических анализов, включающая в себя комплекс действий по целевому выбору биотестов, сочетанию экспрессных оценок токсичности с системным биотестированием и использованию тест-культур, стандартизированных по критериям здоровья тест-организмов, позволяет получать экологически значимые результаты оценок токсичности водных сред.

2. Установлено, что тесты по смертности *D. magna* и *C. affinis* наиболее чувствительны при загрязнении водной среды минеральными соединениями азота. Показано, что тест по снижению биолюминесценции *E. coli* предпочтителен при загрязнении минеральными солями Cd, фосфатами и пирофосфатами, органическими стабилизаторами ортофталатами. При загрязнении водной среды минеральными солями Cd, Pb, Zn, нефтепродуктами, органическими гербицидами клопиралидом, пикорамом, имазетапиром, имазамоксом следует использовать тест по снижению хемотаксической реакции *P. caudatum*.

3. Показано, что предложенная стратегия биотестирования, включающая экспресс-биотест и системное биотестирование с оценкой спектра откликов базового тест-организма, позволяет выявлять предлетальные, летальные и отсроченные эффекты загрязняющих веществ и ранжировать их по степени проявления, тогда как при оценке единичной тест-функции снижается эффективность диагностики экологически значимых последствий загрязнения.

4. Установлено, что изменение двигательной активности *D. magna* является предпочтительной оперативной тест-функцией, прогнозирующей летальные и хронические эффекты токсикантов. Достоверное угнетение тест-функции при экспозиции 1-24 часа сигнализирует о потенциальной токсичности пробы в остром 96-часовом эксперименте. Значимая реакция в течение 96 часов позволяет прогнозировать наличие хронических токсических эффектов.

5. Экспериментально обоснована эффективность стратегии биотестирования с учетом стандартизации тест-культур на примере *D. magna*, заключающейся в определении ее пригодности для биотестирования по критериям здоровья, зависящим от абиотических и биотических факторов содержания организмов: плотности

модельных групп, биоритмов организмов, химического состава культивационной воды, температуры культивирования

6. Показан механизм потери пригодности культуры *D. magna* для биотестирования при отклонении условий ее культивирования от оптимальных параметров: 20°C и 25 особей/дм<sup>3</sup>. В партеногенетических группах *D. magna* при естественной смертности особей наблюдается компенсаторный линейный эффект увеличения плодовитости оставшихся самок ( $r=0,98\pm 0,02$ ), что приводит к снижению продолжительности жизни в 1,7 раза в группах с низкой плотностью 10 особей/дм<sup>3</sup> за счет стимуляции размножения избытком жизненного пространства. Снижение удельной плодовитости особей в 1,5 раза в группах с плотностью посадки, увеличенной до 50 особей/дм<sup>3</sup>, обусловлено торможением процессов созревания и дальнейшего размножения дафний.

7. Установлено, что при оптимальных условиях культивирования: температуре 20°C и плотности посадки 25 особей/дм<sup>3</sup>, оперативным критерием здоровья тест-организмов *D. magna* является «день первого появления молоди» – 10±3 дня. Критериями, определяемыми за полный цикл жизни особей *D. magna*, являются средняя продолжительность жизни, составляющая 79,7±1,0 дней, максимальный срок жизни особи в группе, достигающий 114,0±1,7 дней при удельной плодовитости особей – 74,3±2,4.

8. Основой комплексного менеджмента качества анализов с использованием методов биотестирования, учитывающего многофакторность получения достоверных результатов биотестов, является стратегия биотестирования, основанная на целевом выборе биотестов при установленном факторе токсичности, использовании системного биотестирования с оценкой спектра откликов тест-организма при неустановленном характере загрязнения и применении надежных стандартизированных тест-культур.

#### **Замечания и вопросы.**

После ознакомления с текстом диссертации А.С. Ольковой к соискателю возникли вопросы и замечания.

1. В задаче 3, а также по тексту диссертации автор использует термин «нефтепродукты», в то время как исследование проводилось с использованием только бензина.
2. Глава 2 малоинформативна, что вызывает много вопросов при чтении работы. В материалах и методах дается подробное описание токсикологических методов, которые нашли отражение в утвержденных государственных методиках, а методика оценки токсичности по двигательной активности приводится в главе 3, ее целесообразнее было бы перенести в Главу 2. Отсутствует описание мест отбора проб почвы, воды.

Нет детального описания проведения эксперимента с внесением пирофосфата в почву (имеется лишь краткое описание в главе 3, с.127), что вызывает ряд вопросов. Например, в каком виде вносили пирофосфат? В какое время года? Проводили ли вспашку поля? Каков химический и механический состав почв?



Отсутствует подробное описание схемы проведения эксперимента с поливинилхлоридными (ПВХ) пластикатами, что также вызывает вопросы. Как были сформированы низкопластифицированный (НПЛ), среднепластифицированный (СПЛ), высокопластифицированный (ВПЛ) образцы? Почему были взяты те соотношения компонентов, которые указаны в табл. 24? Где были взяты компоненты, чем измельчались? Схему проведения эксперимента и определение действующего вещества в экстрактах ПВХ пластикатов следовало привести в Главе 2.

При оценке протекторного действия восстановленного глутатиона также отсутствует подробное описание схемы эксперимента. Почему в растворы сульфата меди добавляли восстановленный глутатион в таких соотношениях 0:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4? Как проводили анализ содержания меди в тест-организмах *D. magna*, после их экспозиции в модельных растворах? Нет описания процедуры, которую также необходимо было привести в Главе 2. Что на рис. 14 является контролем? Какие варианты эксперимента значимо отличаются от контроля? Является ли методика приготовления белкового биорегулятора из чистотела авторской? Ее описание также следовало бы перенести в Главу 2. В каком количестве добавляли биорегулятор к раствору сульфата меди?

3. Глава 3. В данной главе приводятся не только результаты собственных исследований, но и литературные данные, например, табл. 4, что целесообразнее было перенести в литературный обзор. Результаты биотестирования (табл. 5, 6, 7, 11, 12, 14, 22, 25, 31) по смертности рачков приводятся без разброса данных, отражающих воспроизводимость результатов. Примечание: - погрешность в пределах норматива методик - касается достоверности полученных результатов в одной серии экспериментов. Сколько серий экспериментов проводилось для того, чтобы определить воспроизводимость результатов?
4. В разделе «Чувствительность тест-организмов к минеральным соединениям азота» концентрации солей аммония, нитритов, нитратов приводятся в кратности превышения ПДК, установленных для рыбохозяйственных водоемов. Делается заключение о рядах чувствительности тест-объектов по отношению к данным соединениям. Известно, что ПДК устанавливают по ответу самого чувствительного организма, к которым могут не относиться тест-объекты, используемые в работе. В этой связи целесообразно использовать не кратность ПДК, а концентрации испытуемых веществ, что может изменить ряды по чувствительности выбранных тест-объектов к исследованным соединениям.
5. Табл. 6. Почему при меньшей концентрации нитрат и нитрит ионов в модельных растворах количество абортивных яиц больше? Табл. 10. Есть ли статистически значимая разница в результатах биотестирования на *E. Coli* и *P. Caudatum* при различных концентрациях ионов аммония?
6. Почему автор выбрал гербициды для изучения воздействия на выбранные тест-объекты? Гербициды разрабатываются для воздействия на нежелательные растения, в этом случае целесообразно было использовать биотесты на водорослях или высших растениях. Не удивительно, что ракообразные показали низкую чувствительность к



выбранным пестицидам (табл. 20). Табл. 19 с характеристикой исследованных гербицидов целесообразнее перенести в Главу 2.

7. Нет подробного описания эксперимента с внесением бензина в почву, а также в почву с торфом и торфогелем. Подробную схему эксперимента необходимо было привести в Главе 2, что сняло бы ряд вопросов, например, как вносили бензин в образцы с разными видами почв? Какое соотношение почвы и торфа, почвы и торфогеля? Каков химический состав исследованных образцов? Каково содержание органических веществ, которые, по мнению автора, являются мешающим фактором при определении нефтепродуктов методом ИК-спектроскопии? Если методом ИК-спектроскопии нельзя определить содержание бензина в образцах, то нужно было использовать другие методы анализа, например, хроматографические. На стр.144 автор отмечает, что в России отсутствуют утвержденные нормативы содержания нефтепродуктов в почве. С этим трудно согласиться, т.к. существуют утвержденные региональные ПДК содержания нефтепродуктов, например, в почвах Республики Татарстан на уровне 1,5 г/кг. Однако этот норматив был разработан для суммы нефтепродуктов, а не для бензина.
8. В разделе 3.1.5 приводятся результаты апробации стратегии выбора целевого биотеста и полученных с ее помощью рядов чувствительности четырех аттестованных методик биотестирования на примере урбаноземов г. Владикавказа. Где именно отобраны пробы? Отсутствует карта-схема отбора проб почв, воды «водоемов техногенных ландшафтов, сформированных вокруг г. Кирово-Чепецка (Кировская область)». Каков химический состав последних? На стр. 186 приводится только содержание аммонийных и нитратных солей. На чем основано утверждение автора об информативность метода двигательной активности дафний при исследовании вод с загрязнением ионами аммония? В работе обсуждаются данные 8 проб (табл. 39), достаточно ли такого количества данных для подобного заключения?
9. В примечании к табл. 48 автор приводит «значимые отклонения от контроля» на уровне 20% угнетения и 30% стимуляции плодовитости дафний. Однако данное словосочетание подразумевает статистическую обработку результатов, на основании чего делается заключение о токсичности по критерию ингибирования плодовитости. Табл. 49, 50, 51, 52, 53: почему предложено именно такое ранжирование уровня токсичности?
10. В п.3.3.1 уделяется излишне много внимания анкетированию работников токсикологических лабораторий. В п.3.3.2 приводятся результаты экспериментов с вариациями плотности посадки дафний и температурой культивирования. Данная часть работы хорошо обсуждена и проиллюстрирована. Несмотря на это, остается вопрос: Почему автор поставил перед собой данную задачу, если существуют стандартизованные отечественные и международные методики, где обоснованы и подробно прописаны данные параметры? Это касается и части исследования состава культивационной воды. В стандартизованных методиках (ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.12-06, Т 16.1:2:2.3:3.9-06, ФР 1.39.2007.03222, ISO 6341-2012, ЕРА 821/R-02/012 и др.) имеются четкие требования к химическому составу культивационной воды. Кроме



того, для повышения воспроизводимости результатов тестирования предлагается использовать искусственную пресную воду, рецепт приготовления которой также приводится в методиках. На стр. 238 автор ссылается на статью Janssen C. R. с соавторами, где критикуют использование эфипий рачков как способ отказа от культивирования тест-культуры. Действительно, микроботесты (не Microtox®, где используются биолюминесцентные бактерии) были предложены как альтернатива традиционной процедуре тестирования с поддержанием тест-культуры в лабораторных условиях, они отличаются высоким уровнем воспроизводимости результатов тестирования за счет стандартизации таких факторов как синхронизация культуры, состав культивационной (разводящей) воды. Указанная статья входит в книгу *New Microbiotests for Routine Toxicity Screening and Biomonitoring (2000)*, посвященной преимуществам использования микроботестов в экотоксикологической практике.

11. По тексту диссертации встречаются неудачные выражения, например, «раствор, загрязненный .....» (стр. 103), «почва без внесения исследуемого *загрязняющего вещества*» в отношении исследуемого тестируемого соединения (стр.129), ошибки и описки (табл.7, 10).

Несмотря на вышеуказанные замечания, работа в целом производит хорошее впечатление, написана хорошим научным языком, логично структурирована, результаты исследования прошли апробацию на многочисленных зарубежных и отечественных конференциях, публикациями в рейтинговых журналах. Большим достоинством работы является внедрение ее результатов в хозяйственную и управленческую деятельность региона. Сформулированные в работе выводы раскрывают цель исследования и соответствуют поставленным задачам, подтверждены фактическими данными и полностью проиллюстрированы. Достоверность результатов подтверждена методами математической статистики. Полученные результаты имеют научную и практическую значимость.

Список опубликованных работ отражает объем диссертационных исследований и соответствует требованиям ВАК. По теме диссертации в научной печати опубликовано 95 научных работ, в том числе 29 статей в журналах, рекомендованных ВАК, один патент, 9 статей в журналах, входящих в международные базы данных. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертационной работы.

### **Заключение**

Представленная к защите диссертационная работа Ольковой А.С. на тему «Разработка стратегии биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов» представляет собой законченную и самостоятельно выполненную работу, в которой на основании выполненных автором исследований изложена новая стратегия биотестирования водных сред с учетом многофакторности ответных реакций тест-организмов.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к

диссертациям на соискание степени доктора биологических наук, а ее автор – Олькова Анна Сергеевна заслуживает присуждения ей ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биология).

Официальный оппонент:

доктор биологических наук (03.02.08 – экология), доцент, профессор кафедры прикладной экологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Надежда Юльевна Степанова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Юридический адрес: 420008, Россия, РТ, г. Казань, ул. Кремлевская, д.18.

Телефон организации: +7 (843) 233-71-09.

E-mail организации: public.mail@kpfu.ru

Официальный сайт организации: www.kpfu.ru

Телефон официального оппонента: 89050222568

E-mail официального оппонента: step090660@yandex.ru

Официальный оппонент

д.б.н., доцент

«12» ноября 2020 года

 Н.Ю. Степанова

  
СТРЕЛКОВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
DEPARTMENT OF HIGHER EDUCATION AND HUMAN RESOURCES  
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАЗАНЬ  
КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАЗАНЬ

 А.А. Хуссамова  
заверяю