**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ, НАУКИ И МОЛОДЁЖИ РЕСПУБЛИКИ КРЫМ**

**ГБОУ ДПО РК «КРЫМСКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ИНСТИТУТ ПОСТДИПЛОМНОГО ПЕДАГОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ»**



**Материал**

**для учителей биологии**

**СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ**

**Омельченко Светлана Олеговна**

кандидат биологических наук,

доцент кафедры

естественно-математического образования

ГБОУ ДПО РК КРИППО

**г. Симферополь**

**2020**

В период предупреждения распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) учащиеся продолжают обучение с использованием дистанционных образовательных технологий.

В данном материале изложены представления о современных достижениях промышленной биотехнологии, при изучении биологии в 11 классе. В нем представлена информация по современным биотехнологическим процессам, основанным на использовании бактерий, вирусов и грибов.

Материал подготовлен в помощь учителям биологии, для расширения и углубления знаний по наиболее сложным вопросам преподавания биологии, в области биотехнологии, эффективного использования информации, полезной для учащихся, во время образовательного процесса, а также при подготовке к ЕГЭ.

В настоящее время организовано крупнотоннажное производство различных веществ на основе биотехнологии. Можно смело утверждать, что это технологии будущего. В пользу такого положения дел свидетельствует ряд реально существующих предпосылок:

* с помощью генной инженерии разработаны методы конструирования штаммов бактерий и дрожжей с чужеродными генами и заранее заданными наследственными качествами;
* появилась возможность использовать высокоактивные штаммы продуцентов;
* микробная клетка способна вырабатывать необычайно широкий комплекс биологически активных веществ;
* разнообразное и дешевое сырье: отходы пищевых производств, сельскохозяйственных и химических производств, которое содержит белки, полисахариды, углеводороды, спирты, кислоты, азотистые соединения;
* количественная неограниченность получения микробной биомассы;
* интенсивность производства и возможность получения любого необходимого продукта.

Вышеизложенные предпосылки свидетельствуют о преимуществах получения продуктов путем микробного синтеза (синтез самых разнообразных веществ с помощью микроорганизмов), по сравнению с продуктами растительного и животного происхождения, или получения их с помощью химического синтеза.

***МИКРООРГАНИЗМЫ И ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ***

В современных биотехнологических процессах, основанных на использовании микроорганизмов – продуцентов белковых и биологически активных веществ, применяют дрожжи, мицелиальные грибы, бактерии и микроскопические водоросли. Широко распространенные в природе, они редко находят оптимальные условия для роста и образования тех или иных продуктов в среде их естественного обитания, тогда как в условиях искусственного культивирования, например в ферментере, или биореакторе, можно создавать оптимальную среду для их выращивания и образования целевых продуктов. Благодаря огромному биосинтетическому потенциалу, всеядности, высокой скорости роста микроорганизмы оказались очень эффективными и во многих случаях незаменимыми «рабочими лошадками» в различных секторах производства.

В промышленной биотехнологии они используются как своего рода химические «нанофабрики» для получения различных целевых продуктов. Эти миниатюрные организмы размером всего несколько мкм оказывают существенное влияние на экономику и качество нашей жизни. Рекомбинантные ДНК-технологии позволяют осуществлять направленные изменения микробных ДНК с целью улучшения работы «клеточной фабрики». В качестве примера метаболической инженерии можно привести пекарские дрожжи, которые сегодня превратились в многоцелевую клеточную фабрику, производящую целый ряд продуктов – от вина до лекарств. Так, половина мирового производства инсулина обеспечивается генетически модифицированными дрожжами, которые являются также мощными продуцентами топливного этанола.

Важным преимуществом применения генетически модифицированных микроорганизмов в промышленности является то, что они работают в строго контролируемых условиях биореактора, не попадают в окружающую среду и поэтому не вызывают экологических проблем!!!

Продукты микробного синтеза не перестают удивлять разнообразием, новизной и сложностью строения молекул. В крупнейших фармацевтических компаниях типичные коммерческие коллекции микроорганизмов, например актиномицетов, которые считаются главным источником получения биоактивных соединений, могут состоять из десятков тысяч культур.

Промышленная биотехнология используется для крупномасштабного получения различных химических веществ и энергии в результате применения экологически чистых, ресурсо- и энергосберегающих процессов с минимальным образованием отходов. Она вносит основной вклад в так называемую зеленую химию, в которой возобновляемые источники сырья и энергии, такие как сахара или растительные масла, превращаются в различные химические соединения, в том числе в лекарственные вещества, красители, растворители, детергенты, пластики, витамины, пищевые добавки, этанол и дизельное топливо. Вместо ископаемых источников энергии, таких как газ и нефть, в основном используется сельскохозяйственное сырье и растительные отходы.

Основой для промышленной биотехнологии, является способность объекта осуществлять определенную модификацию исходного сырья и образовывать тот или иной необходимый продукт. К ***объектам биотехнологии*** относятся:

а) субклеточные структуры (вирусы, плазмиды, ДНК митохондрий и хлоропластов, ядерная ДНК);

б) бактерии и цианобактерии;

в) водоросли;

г) лишайники;

д) грибы;

д) простейшие;

е) культуры клеток растений и животных.

Остановимся на некоторых из них.

***Вирусы*** ***как объекты и инструменты биотехнологии*** занимают особое место в современной индустрии и инновационных разработках.

Большую частьвирусов с любым типом строения можно считать нанобиочастицами, которые построены из нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК) и нескольких видов многократно повторяющихся белковых молекул, формирующих правильно упорядоченные структуры и даже кристаллы. У некоторых вирусов нуклеокапсид покрыт липидной оболочкой с встроенными в нее вирусными гликопротеинами, индуцирующими в зараженном организме вируснейтрализующие антитела. Размеры большинства вирусов человека, животных и растений обычно не превышают 100 нм и такие вирусы могут быть использованы для получения наноконтейнеров, магнитных наночастиц, наноэлектродов, нанопроводников и нанокристаллов с заранее заданными свойствами. Присущие вирусам механизмы самосборки вирионов стали новым принципиальным подходом для конструирования вирусоподобных частиц с полезными свойствами.

***Нанотехнологические исследования*** в области вирусологии, основанные на сочетании новых *наноматериалов* и биотехнологических конструкций с использованием вирусных частиц или их компонентов, могут привести к созданию сверхминиатюрных и эффективных диагностических тест-систем, принципиально новых лекарственных препаратов, а также новых методов научного познания. К таким исследованиям можно отнести разработку новых методов индикации вирусов на основе генных чипов, мультиплексного анализа генного и антигенного вирусного полиморфизма, а также методы анализа полиморфизма клеточных генов млекопитающих и человека для изучения молекулярных механизмов патогенеза вирусных инфекций. Таким образом, использование уникальных свойств вирусов как нуклеопротеидных частиц, формирующихся путем самосборки биополимеров (нуклеиновой кислоты и белка), привело к созданию новой технологической платформы для решения задач в области медицины, фармацевтического производства, новых приемов исследования биологических систем, электроники и других направлений.

В основе новых технологий лежит*возможность направленной химической или генетической модификации вирусной частицы, в результате чего она приобретает новые свойства.* Так, например, ***инкапсулирование в вирусную частицу неорганических веществ*** (репортерных материалов или металлов) открывает новые возможности для создания неинвазивных методов ранней диагностики и лечения инфекционных и соматических заболеваний. Вирусы, тропные к определенным тканям человека, представляют собой идеальную, созданную природой основу в качестве векторов для избирательной доставки реагентов в клетки-мишени. С этой целью интенсивно исследуются представители вирусов разных семейств – вирусные наночастицы (ВНЧ) и лишенные генома вирусоподобные частицы (ВПЧ). С помощью генетических, молекулярно-биологических и генно-инженерных методов ВНЧ и ВПЧ модифицируют и применяют в медицине в качестве носителей полезной информации (лекарственные препараты, создание новых вакцин). Для этого отбирают вирусы, которые репродуцируются в высоких титрах (до 106 частиц на клетку) в их естественных хозяевах, а для накопления ВПЧ наиболее удобны гетерологичные системы экспрессии.

***Получение интерферона*** – особого клеточного белка, препятствующего размножению вирусов, – широко ис­пользуют в медицине, особенно во время вспышек эпидемий гриппа. Это вещество универсального действия, активное по отношению ко многим вирусам, хотя чувствительность разных вирусов к нему неодинакова. Будучи продуктом са­мой клетки, интерферон полностью лишен токсического воздействия на нее. Сейчас применяют готовый интерфе­рон, его можно синтезировать в клетках, культивируемых вне организма.

***Бактерии и цианобактерии как объекты биотехнологии.***

Микроорганизмов, синтезирующих продукты или осуществляющих реакции, полезные для человека, несколько сотен видов. Биотехнологические функции бактерий разнообразны. Бактерии используются при производстве:

уксуса *(Gluconobacter* *oxydans*); молочнокислых напитков и продуктов (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*) и др.; микробных инсектицидов (*Bacillus thuringiensis)* и гербицидов*;* белка (*Methylomonas*); витаминов *(Clostridium* - рибофлавин); при переработке отходов; получении бактериальных удобрений; растворителей и органических кислот; биогаза и фотоводорода.

Уксуснокислые бактерии, представленные родами *Gluconobacter и Acetobacter*  – это грамотрицательные бактерии, превращающие *этанол*в *уксусную кислоту*, а последнюю в *углекислый газ и воду*.

Бактерии рода *Bacillus* используются для производства вредных для насекомых токсинов, а также для синтеза антибиотиков и аминокислот. Род *Bacillus*относится к *грамположительным бактериям*, которые способны образовывать эндоспоры и имеют жгутики. ***В. subtilis*** – строгий аэроб, а ***В. thuringiensis*** может жить в анаэробных условиях.

Анаэробные, образующие споры бактерии представлены родом ***Clostridium****.* ***С. acetobutylicum*** сбраживает сахара в ацетон, этанол, изопропанол и n-бутанол (ацетонобутиловое брожение), другие виды могут также сбраживать крахмал, пектин и различные азотсодержащие соединения.

К ***молочнокислым бактериям*** относятся представители родов ***Lactobacillus, Leuconostoc, Lactococcus****и****Streptococcus****,* которые не образуют спор, грамположительные и нечувствительны к кислороду. Гетероферментативные молочнокислые бактерии рода *Leuconostoc* превращают углеводы в молочную кислоту, этанол и углекислый газ. Гомоферментативные молочнокислые бактерии рода *Streptococcus* продуцируют только молочную кислоту, а брожение, осуществляемое представителями рода *Lactobacillus*, позволяет получить наряду с молочной кислотой ряд разнообразных продуктов.

К бактериям рода *Corynebacterium (коринебактерии)***,** неподвижные *грамположительные клетки* которых не образуют эндоспор, к ним относятся патогенные (*С.* *diphtheriae, С. tuberculosis) и непатогенные почвенные виды, имеющие промышленное значение.* ***С. glutamicum*** *служит источником аминокислоты лизина и улучшающих вкус нуклеотидов*. ***Corynebacterium****,* хотя и считаются факультативными анаэробами, лучше растут аэробно. Бактерии используются для микробного выщелачивания руд и утилизации горнорудных отходов.

Широко используется такое свойство некоторых бактерий, как диазотрофность, то есть способность к фиксации атмосферного азота.

Выделяют две большие группы диазотрофов**:**

* ***симбионты****:* без корневых клубеньков (азотобактер - лишайники, азоспириллум - лишайники, анабена - лишайники, азолла), с корневыми клубеньками (бобовые - ризобии, ольха, лох, облепиха - актиномицеты);
* ***свободноживущие*:** гетеротрофы (азотобактер, клостридиум, метилобактер), автотрофы (хлоробиум, родоспириллум и амебобактер).

Микробные клетки используют для трансформации веществ. Бактерии также широко используются в генно-инженерных манипуляциях при создании геномных клонотек, введении генов в растительные клетки (агробактерии).

***Производственные штаммы*** микроорганизмов должны соответствовать определенным требованиям:

* способность к росту на дешевых питательных средах;
* высокая скорость роста и образования целевого продукта;
* минимальное образование побочных продуктов;
* стабильность продуцента в отношении производственных свойств;
* безвредность продуцента и целевого продукта для человека и окружающей среды.

В связи с этим все микроорганизмы, используемые в промышленности, проходят длительные испытания на безвредность для людей, животных и окружающей среды. Важным свойством продуцента является устойчивость к инфекции, что важно для поддержания стерильности, и фагоустойчивость.

Все ***цианобактерии*** обладают способностью к ***азотфиксации***, что делает их весьма перспективными ***продуцентами белка***. ***Анабена*** (*Anabaena*) - нитчатая сине-зеленая водоросль. В цитоплазме клеток откладывается близкий к гликогену запасной продукт - *анабенин*. Такие представители ***цианобактерий****, как* ***носток, спирулина, триходесмиум*** - съедобны и непосредственно употребляются в пищу. ***Носток*** образует на бесплодных землях корочки, которые разбухают при увлажнении. В Японии местное население использует в пищу пласты ***ностока***, образующиеся на склонах вулкана, и называет их ячменным хлебом *Тенту* (Тенту - добрый горный дух).

Свое шествие ***спирулина*** *(Spirulina platensis)* начала из Африки - население района озера Чад давно употребляет ее в пищу, называя этот продукт «дихе». Другое место, откуда начала распространяться спирулина, но иного вида *(Spirulina maxima*) - воды озера Тескоко в Мексике. Еще ацтеки собирали с поверхности озер и употребляли в пищу слизистую массу ***сине-зеленой водоросли******спирулины***. Впервые галеты «текуитлатл» упомянуты испанцем Кастильо в 1521 г. Эти галеты продавались на базаре в Мехико и состояли из высушенных слоев *S. maxima.* В 1964 г. бельгийский ботаник Ж. Леонар обратил внимание на галеты сине-зеленого цвета, которые местное население изготовляло из водорослей, растущих в щелочных прудах вокруг озера Чад. Эти ***галеты*** представляли собой ***высушенную массу спирулины***. Анализ образцов ***Spirulina***показал, что в ней содержится 65 % белков (больше, чем в соевых бобах), 19 % углеводов, 6 % пигментов, 4 % липидов, 3 % волокон и 3 % золы. Для белков этой водоросли характерно сбалансированное содержание аминокислот. Клеточная стенка этой водоросли хорошо переваривается. Как озеро Тескоко, так и водоемы района озера Чад имеют в воде очень высокое содержание щелочей. Характерно, что в таких озерах ***спирулина*** полностью доминирует и растет почти как монокультура — составляет в отдельных озерах до 99 % общего количества водорослей. Растет ***спирулина*** в щелочной среде при pH вплоть до 11. Ее собирают также из озер около г. Мехико, получая до 2 т сухого веса биомассы водоросли в сутки, и эта продукция рассылается в США, Японию, Канаду. В других странах спирулину культивируют обычно в искусственных водоемах или специальных емкостях. Спирулину можно культивировать в открытых прудах или, как в Италии, в замкнутой системе из полиэтиленовых труб. Урожайность очень высокая: получают до 20 г сухой массы водоросли с 1 м2 в день, а расчеты на год показали, что она превысит выход пшеницы примерно в 10 раз.

***Преимущества спирулины*** но сравнению с другими съедобными водорослями не только в простоте культивирования, но и в несложности сбора биомассы, высушивания ее, например, под солнцем. В ряде стран выращивают спирулину вида *Spirulina platensis.* Недавно было показано, что в клетках спирулины, помимо ценного белка, углеводов, липидов, витаминов, в значительных количествах запасается, например, такое ценное вещество, как поли-b-оксибутират. Отечественная фармацевтическая промышленность выпускает препарат «Оплат» на основе цианобактерии ***Spirulina platensis****.* Он содержит комплекс витаминов и микроэлементов и применяется как общеукрепляющее и иммуностимулирующее средство.

***Грибы как объекты биотехнологии***

Биотехнологические функции грибов разнообразны. Их используют для получения таких продуктов, как:

* + - ***антибиотики*** (пенициллины, цефалоспорины);
    - ***гиббереллины*** *и* ***цитокинины*** (фузариум и ботритис);
    - ***каротиноиды*** (например, астаксантин, придающий мякоти лососевых рыб красно-оранжевый оттенок, вырабатывают *Rhaffia rhodozyma,* которых добавляют в корм на рыбозаводах);
    - ***лимонная кислота*** (аспергиллус);
    - ***белок*** (Candida, *Saccharomyces lipolitica*);
    - ***сыры типа рокфор*** *и* ***камамбер*** (пенициллы);
    - ***соевый соус*** (*Aspergillus oryzae*).

Из 500 известных видов **дрожжей** первым люди научились использовать:

***Saccharomyces cerevisiae***, этот вид наиболее интенсивно культивируется, и нашел самое широкое применение в ***пивоварении, виноделии****,* ***производстве японской рисовой водки*** *(сакэ) и др.* ***алкогольных напитков****, а также в* ***хлебопечении.*** Промышленные дрожжи обычно неразмножаются половым путем, не образуют спор и полиплоидны. Последним объясняется их сила и способность адаптироваться к изменениям среды культивирования (в норме ядро клетки ***S. cerevisiae*** содержит 17 или 34 хромосомы, т.е. клетки либо гаплоидны, либо диплоидны).

К дрожжам, **сбраживающим лактозу**, относится  вид ***Kluyveromyces fragilis****,* который используют для получения **спирта** из **сыворотки**.

***Saccharomycopsis lipolytica*** деградирует **углеводороды** и употребляется для получения **белковой массы**. Все три вида принадлежат к классу **аскомицетов**.

Другие полезные виды относятся к классу **дейтеромицетов** (несовершенных грибов), так как они размножаются не половым путем, а почкованием.

***Candida utilis*** используют как источник белка и витаминов и выращивают на непищевом сырье: сульфитных щелоках (отходы производства целлюлозы сульфитным методом).

***Trichosporon cutaneum****,* окисляет многие органические соединения, в том числе токсичные (например, **фенол**), и используется в **системах аэробной переработки стоков.**

***Phaffia rhodozyma***синтезирует **астаксантин – каротиноид**, который придает мякоти форели и лосося, выращиваемых на фермах, характерный оранжевый или розоватый цвет.

***Плесени*** (микроскопические грибы) вызывают многочисленные превращения в твердых средах, которые происходят пред брожением. Их наличием объясняется гидролиз рисового крахмала при производстве сакэ и гидролиз соевых бобов, риса и солода при получении пищи, употребляемой в азиатских странах (мисо, темпе и др.). Пищевые продукты на основе сброженных плесневыми грибами ***Rhizopus oligosporus*** соевых бобов или пшеницы содержат в 5-7 раз больше таких витаминов, как рибофлавин, никотиновая кислота, и отличаются повышенным в несколько раз содержанием белка.

Плесени также продуцируют ферменты, используемые в пищевой промышленности(амилазы, протеазы, пектиназы, целлюлазы), пищевые кислоты (лимонную, молочную, уксусную) и антибиотики. Их применяют и в производстве сыров, например, камамбера и рокфора.

Искусственное выращивание грибовспособно внести и иной, не менее важный вклад в дело обеспечения продовольствием возрастающего населения земного шара. Люди употребляют грибы в пищу с глубокой древности. Поэтому сделать грибы такой же управляемой сельскохозяйственной культурой, как зерновые злаки, овощи, фрукты, давно уже стало актуальной задачей. Наиболее легко поддаются искусственному выращиванию древоразрушающие грибы. Это связано с особенностями их биологии, которые стали нам известны и понятны только сейчас. Их способность легко расти и плодоносить использовали с древнейших времен.

***Искусственное разведение*** древоразрушающих грибов получило довольно широкое распространение. Мицелий съедобных грибов можно выращивать на жидких средах, например на молочной сыворотке и другом, в специальных ферментерах, в так называемой **глубинной культуре**. Эго полностью механизированный и автоматизированный процесс. Разработаны и апробированы в опытном производстве способы получения белковых грибных препаратов ***даедалина*** *и* ***пантегрина*** из мицелия древоразрушающих грибов ***дедалеопсиса бугристого*** *и* ***пилолистника тигрового****,* с высоким содержанием белка и биологически активных веществ. По содержанию белка 1 кг этих препаратов эквивалентен 2 кг мяса. По биологической ценности белок этих препаратов не уступает растительным и приближается к животным белкам. Перевариваемость белков данных препаратов составляет свыше 80 %.

***Благодаря грибам российские ученые создали растения, светящиеся в темноте!*** <https://ria.ru/20200428/1570670712.html>

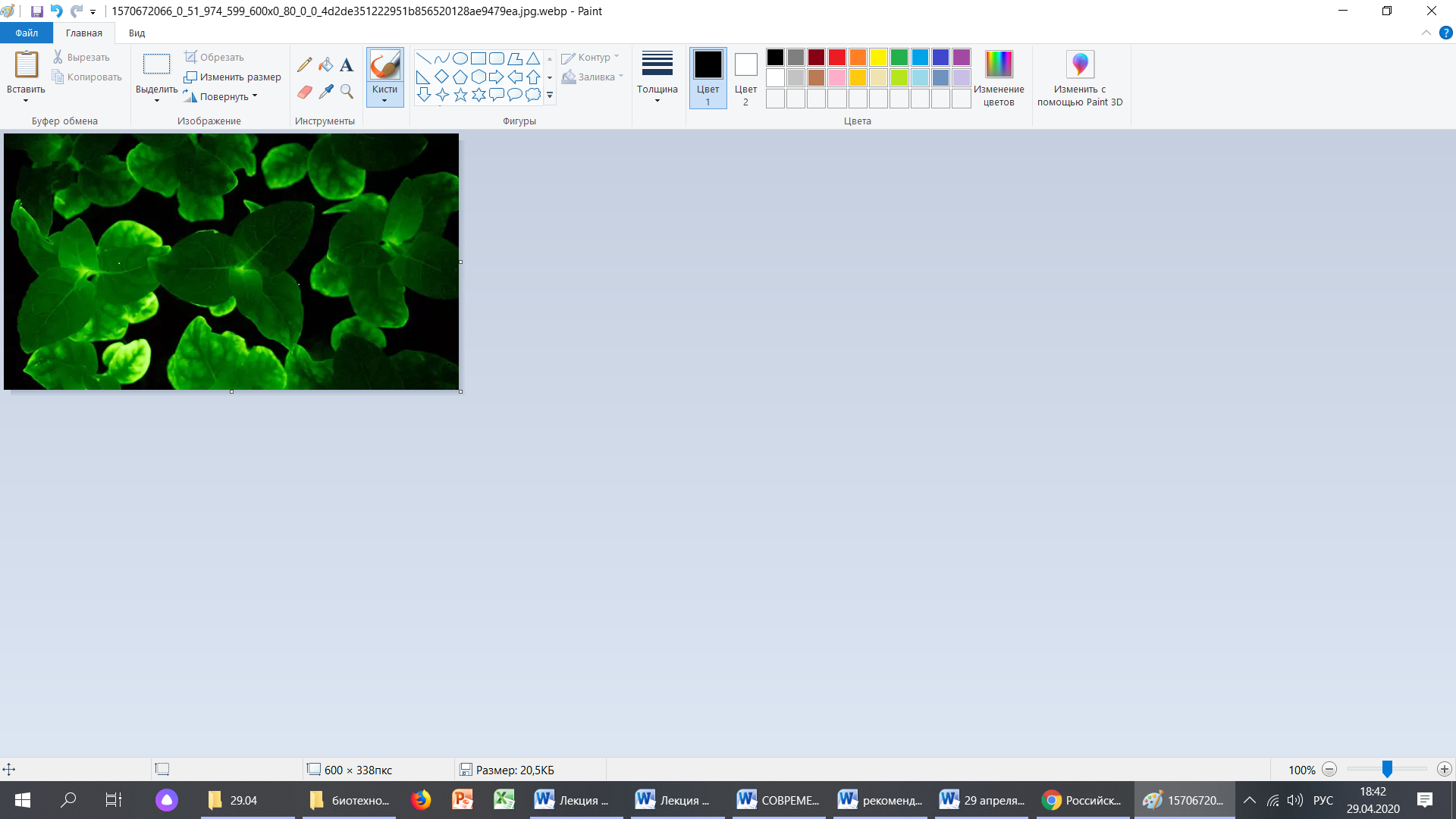
Природная биолюминесценция плохо изучена. До недавнего времени полностью был расшифрован только механизм свечения бактерий. Однако попытки создать стабильно светящиеся растения, используя бактериальную систему, не увенчались успехом.

Чуть более года назад ученые российского научного стартапа «Планта» установили все компоненты, необходимые для биолюминесценции в грибах. *Впервые был полностью расшифрован механизм свечения* в сложном многоклеточном организме.

В новой работе авторы открытия показывают, что систему люминесценции грибов можно эффективно перенести на растения. Созданные ими растения трансгенного табака светятся, как минимум, в десять раз ярче по сравнению с предыдущими опытами.

Зеленое свечение исходит от листьев, стеблей, корней и цветков, его видно невооруженным глазом. Что немаловажно, устойчивое свечение не мешает растениям нормально расти и развиваться.

В отличие от других широко используемых типов биолюминесценции, для поддержания стабильного свечения с помощью нового подхода не требуется добавления химических реагентов. Растения, содержащие грибную ДНК, светятся непрерывно на протяжении всего жизненного цикла, с момента прорастания до цветения. Свечение постоянно меняется, может образовывать необычные узоры и волны на листьях растения, позволяя впервые наблюдать внутренние процессы, обычно скрытые от глаз.



Усиление свечения наблюдается через некоторое время после рассвета и сразу же при переходе к темноте, а если выключить свет на несколько дней, то "волны" свечения еще некоторое время продолжаются по внутренним "биологическим часам" растения. Новая технология позволяет оценивать фенольный метаболизм в минутных интервалах времени, и получать информацию о локализации процессов с точностью до миллиметров"

Ранее ученые выяснили, что грибы для свечения используют вещество фенольной природы — кофейную кислоту, которая также присутствует в растениях. Чтобы появился свет, кофейная кислота должна пройти метаболический цикл с участием четырех ферментов. Два фермента превращают кофейную кислоту в более сложную молекулу, которая затем окисляется третьим ферментом с испусканием фотона — возникает свечение. Еще один фермент превращает продукт реакции обратно в кофейную кислоту, замыкая цикл. Таким образом, для получения светящихся растений, исследователям было достаточно перенести всего четыре гена из грибов в растения. Ученые проводили эксперимент на двух видах табака, однако, ученые отмечают, что созданная ими система биолюминесценции легко может быть перенесена и в другие растения.

**Список литературы**

1. Бирюков В. В. Основы промышленной биотехнологии. – М.: КолосС, 2004. – 296 с.
2. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Р. Шмид; пер. с нем. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 325 с.
3. Биотехнология: теория и практика: Учеб. пособие для вузов / Н.В. Загоскина, Л.В. Назаренко, Е.А. Калашникова, Е. А. Живухина. – М.: Изд-во Оникс, 2009. – 496 с.
4. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
5. Луканин А. В. Инженерная биотехнология: основы технологии микробиологических производств. – М.: Изд-во: ООО «Научно-издательский центр ИНФРА-М», 2016. – 304 с.
6. Биотехнология биологически активных веществ. Учебное пособие для студентов высших учебных заведений / Под ред. И. М. Грачевой, Л. А. Ивановой. – М.: Изд-во НПО «Элевар», 2006. – 453 с.
7. Основы биотехнологии переработки сельскохозяйственной продукции: учебное пособие / Д. Ю. Ильин, Г. В. Ильина. – Пенза: РИО ПГСХА, 2016. – 115 с.
8. Технология микробного синтеза антибиотиков, витаминов и ферментов: электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 02 «Технология лекарственных препаратов» специализации 1-48 02 02 01 «Промышленная технология лекарственных препаратов» / И. Н. Кузнецов. – Минск: БГТУ, 2018. – 175 с.
9. Выделение и очистка продуктов биотехнологии. Методическое пособие / авт.: Д. А. Новиков. – Минск: БГУ, 2014. – 256 с.