Управление образования и спорта администрации

Бутурлинского муниципального округа Нижегородской области

**Муниципальное автономное общеобразовательное учреждение**

**Бутурлинская СОШ имени В.И.Казакова**

**научно-учебная лаборатория «Агрокуб»**

Всероссийский конкурс юных исследователей окружающей среды «Открытия 2030»

**ТЕМА** «Разработка биостимулятора на основе экстракта чайного гриба для выращивания микрозелени свеклы»

Выполнил: учащийся 8 класса

Емелин Глеб Михайлович

Руководитель: педагог дополнительного образования

МАОУ Бутурлинской СОШ имени В.И.Казакова

Андреева Екатерина Александровна

2021 год

**Содержание**

|  |  |
| --- | --- |
|  Введение | 3 |
| Глава 1. Анализ литературных источников по теме исследования | 5 |
| 1.1 Определение понятия микрозелени |  5 |
| 1.2 Польза микрозелени свеклы | 6 |
| 1.3 Чайный гриб как стимулятор роста растений | 7 |
| Глава 2. Разработка биостимулятора на основе экстракта чайного гриба | 9 |
| 2.1  Характеристика объекта исследования | 9 |
| 2.2  Методы исследования | 9 |
| 2.2.1 Методика выращивания микрозелени свеклы | 9 |
| 2.2.2 Методика приготовления раствора чайного гриба | 9 |
| 2.2.3 Методика определения всхожести и энергии прорастания | 9 |
| 2.2.4 Методика исследования морфометрических показателей микрозелени свеклы | 10 |
| 2.2.5 Методика определения пигментов в растительном материале | 10 |
| 2.2.6 Методика исследования содержания беталаинов в растительном материале | 10 |
| 2.3 Анализ результатов исследования | 11 |
| Заключение | 14 |
| Литература | 15 |
| Приложение | 16 |

**Введение**

В последние годы значительно возросла потребность в потреблении фруктов и овощей, характеризующихся высоким содержанием биологически активных веществ, так как они обеспечивают необходимые питательные вещества для человеческого организма, а также оказывают важное влияние на здоровье. Однако в отношении некоторых видов фруктов и овощей существует трудность в их выращивании, а также наблюдается высокая стоимость, что привело потребителей к поиску альтернатив. Так, среди сторонников здорового питания молодые проростки и микрозелень приобрели большую популярность среди овощных и зеленых культур.

Микрозелень и проростки обладают высокой пищевой ценностью, а именно, колоссальным содержанием микро- и макроэлементов, витаминов, белков, флавоноидов и фенольных кислот, таким образом, делая их новой категорией функциональной органической продукцией.

 Особое внимание к качеству и составляющим продуктов связано с ненормированным применением химических препаратов, обладающих токсичными свойствами не только для патогенной микрофлоры, но и для организма человека. Широко применяемые в агротехнологиях современные стимуляторы роста отличаются высокой эффективностью и простотой применения, но не всегда полностью безопасны для организма, особенно в случаях неправильного применения или несоблюдения точности дозировок. Однако существует множество природных стимуляторов, которые безопасны для разных культур, приносят хороший результат и невероятно просты в заготовке. Для приготовления натуральных биостимуляторов используются те растения и продукты, которые богаты фитогормонами и способны стимулировать рост многих культур.

В качестве изучаемых видов растений на стадии ростков и микрозелени нами был выбран такой вид культуры, как свекла, в связи с тем, что ее можно использовать в качестве замены зелени в салатах или просто как полезный гарнир. Она содержит большое количество витаминов (A, B, C, E, K, PP), много железа, кальция, калия, магния, йода, фолиевой кислоты.

В качестве стимулятора роста нами был выбран раствор экстракта чайного гриба. Что касается применения чайного гриба в растениеводстве, то масштабных исследований не проводилось. Вероятно, его можно использовать, но не для всех растений. Настой гриба кислый и подкисляет почву. А список растений, которые любят кислую почву, весьма ограничен.

В связи с этим, разработка биостимулятора на основе экстракта чайного гриба для микрозелени свеклы является актуальным вопросом для изучения.

**Цель работы:** на основе анализа литературы по теме исследования разработать биостимулятор на основе экстракта чайного гриба для выращивания микрозелени.

**Объект**исследования: микрозелень свеклы.

**Предмет**исследования: влияние чайного гриба на морфометрические и биохимические показатели микрозелени свеклы.

**Задачами** исследования являются:

1. Проанализировать литературные источники по теме исследования.

2. Вырастить микрозелень свеклы.

3. Оценить влияние экстракта чайного гриба на содержание пигментов в микрозелени свеклы.

4. Оценить влияние экстракта чайного гриба на содержание беталаинов в микрозелени свеклы.

**Методы исследования**:

1. Теоретические: анализ литературы по теме исследования.

2. Эмпирические: наблюдение, методики: определение содержания пигментов в микрозелени свеклы, количественное определение беталаиновых пигментов.

3. Методы количественной и качественной обработки данных.

Исследование проводилось на базе научно-учебной лаборатории «Агрокуб», в период с 04 по 21 октября 2021 года.

**Теоретическая значимость исследования** заключается в том, чтобы определить понятие микрозелень, изучить пользу микрозелени свеклы и чайный гриб как стимулятор роста растений.

**Практическая значимость исследования** заключается в том, чтобы определить оценить влияние экстракта чайного гриба на содержание пигментов (хлорофилла и беталаинов) в микрозелени свеклы.

**Структура работы**: введение, 2 главы, выводы, заключение, список литературы, приложение.

**Глава 1. Анализ литературных источников по теме исследования**

* 1. **Определение понятия микрозелень**

## Микрозелень - это пророщенные растения в фазе семядольных листьев высотой до 15 см, имеющие 1-2 настоящих листа. Ее выращивают из семян обычной зелени и семян зерновых культур. От посева семян до сбора урожая требуется 10 - 14 дней[2].

## Основное преимущество микрозелени – молодые побеги легко усваивается организмом и все нужные микроэлементы усваиваются в полном объеме. Идентичный состав микроэлементов усваивается из микрозелени в разы быстрее и лучше, чем из семян. Отчасти это достигается благодаря тому, что микрозелень перед использованием не обрабатывается высокими температурами - соответственно, в ней сохраняются все витамины и микроэлементы, необходимые организму человека. Лабораторные исследования показывают, что концентрация важных для организма микроэлементов в ростках в 5 раз выше, по сравнению с теми же самыми растениями во взрослом состоянии. С биологической точки зрения причина такой разницы в уровне полезных микроэлементов объясняется тем, что в период роста всходам необходимо максимальное количество питательных соединений, которыми они активно запасаются.

## В состав микрозелени входят:

1. Ферменты – это белковые молекулы со сложной структурой, отвечающие за стабилизацию обмена веществ и нормальное усвоение пищи в организме человека. От количества ферментов зависит корректность работы нашего метаболизма, что влияет на здоровье всех остальных органов и систем. Уровень содержания ферментов в микрозелени иногда в десятки и даже сотни раз превосходит аналогичные показатели во взрослых растениях того же вида.

2. Антиоксиданты – это вещества, нейтрализующие атаки свободных радикалов. Основная роль антиоксидантов – замедление в клетках различных патологических процессов, в том числе – окисления. Это снижает риск развития заболевания сердечно-сосудистой системы, помогает стабилизировать работу нервной системы, поддерживать в порядке кожу – она долго остается здоровой и упругой, если в рационе присутствует достаточное количество антиоксидантов.

3. Хлорофилл – это зеленый пигмент растений, необходимый для фотосинтеза, в ходе которого углекислый газ под воздействием солнечного света превращается в органику. Относительно недавно хлорофилл стал использоваться как биодобавка, применяемая для стимуляции иммунной системы. В микрозелени хлорофилл содержится в естественном виде – и регулярное употребление ее в пищу помогает привести в норму давление; это происходит благодаря тому, что кровь получает больше кислорода. Данный аспект особенно важен для людей, проживающих в регионах, где мало солнца.

4. Минералы и витамины, полученные из растительных питательных веществ (нутриентов), усваиваются организмом быстро и полностью. Все виды микрозелени обогащены рекордным количеством витамина С. Помимо витаминов, она содержит минеральные элементы (кальций, калий, фосфор, магний, йод, железо и т.д.), незаменимые аминокислоты, хлорофилл. Также в ней содержатся витамины группы В, Е, РР, фолиевая кислота, железо, фосфор и магний. Входящие в состав эфирные масла благотворно влияют на процесс деления клеток и снижают риск возникновения внутриклеточных мутаций[3].

**1.2 Польза микрозелени свеклы**

Свекла – овощная культура с древнейшей историей из семейства Амарантовых. Лечебное значение столовой свеклы обусловлено наличием в ней многочисленных физиологически активных веществ в количествах, оказывающих лечебно-профилактическое воздействие (антиоксидантное, противовоспалительное, сосудоукрепляющее). По содержанию йода красная свекла занимает одну из лидирующих позиций среди овощей. Свекла имеет исключительную питательную ценность и благодаря своим свойствам неоценима с точки зрения лечебного и диетического питания.

Листья столовой свеклы обладают большим лекарственным потенциалом по сравнению с корнеплодами: в листьях свеклы больше витамина С, тиамина (витамин В1), рибофлавина (витамин В2), пиридоксина (витамин В6), витамина А, витамина Е, витамина К.

Стебли проростков имеют насыщенный малиновый цвет с приятными ярко-зелеными листьями. Регулярное употребление микрозелени свеклы в пищу способствует улучшению работы сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, укреплению ногтей, волос и зубов. Наиболее качественной и полезной считается микрозелень свеклы, возраст которой составляет 7-14 дней. За это время проростки напитываются полезными веществами, приобретают приятный вкус и насыщенность цвета.

Свекла — богатый источник аскорбиновой кислоты, фенольных кислот, флавоноидов, растительных пигментов (хлорофилла, беталаинов). Растительные пигменты – это органические соединения, которые окрашивают ткани растений в разные цвета. Растительные пигменты участвуют  в фотосинтезе и процессах роста растений, защищают от  избыточного ультрафиолетового излучения и неблагоприятных факторов окружающей среды, подавляют рост бактерий, вирусов и грибков, повышают  морозостойкость растений.

Попадая в организм с продуктами питания, растительные пигменты положительно влияют на здоровье человека:

- являются антиоксидантами, участвуют в окислительно **-** восстановительных реакциях;

- предотвращают повреждение и денатурацию белковых молекул;

- повышают иммунитет организма;

- обладают противовоспалительным действием;

- защищают от бактерий и вирусов;

- повышают эластичность кровеносных сосудов;

- уменьшают уровень сахара и холестерина в крови;

- обеспечивают синтез пигмента мелатонина, витаминов, ферментов, коферментов и гормонов;

 - обладают желчегонным действием, улучшают пищеварение и работу печени;

- предотвращают мутации в генах клетки;

- защищают от атеросклероза, инсультов, инфарктов, аллергии, раковых заболеваний.

Норма потребления хлорофилла – не менее 300 мг в сутки.

Беталаины — это азотсодержащие пигменты, встречающиеся в разнообразных продуктах. Беталаины свеклы подразделяют на две группы: красные – бетацианины и желтые – бетаксантины. Красных пигментов в свекле больше, чем желтых, – до 95% общего содержания беталаинов[5].

Помимо придания окраски беталаины обладают полезными биологическими свойствами для организма человека. Недавние исследования показывают, что беталаины обладают антиоксидантными и противовоспалительными, антилипидемическими и антимикробными свойствами.

**1.3 Чайный гриб как стимулятор роста растений**

Чайный гриб - симбиотическая культура, в которой сосуществуют различные формы уксуснокислых бактерий и дрожжевых грибков [4]. Гриб представляет собой толстую слоистую слизистую плёнку, плавающую на поверхности жидкой питательной среды (сладкого чая). Дрожжи сбраживают сахар с образованием спирта и углекислоты, а бактерии окисляют этиловый спирт в уксусную кислоту. В чайном грибе развиваются дрожжи, которые в природных условиях обитают на поверхности мягких плодов или в забродивших плодово-ягодных соках. Дрожжевые грибы и уксуснокислые бактерии образуют огромную колонию, внешне похожую на медузу. Верхняя часть колонии блестящая, плотная, а нижняя выполняет функцию ростковой зоны и имеет вид многочисленных свисающих нитей. Жидкость превращается в кисло-сладкий слегка газированный напиток — «чайный квас».

Химический состав напитка, получаемого при помощи чайного гриба, довольно сложен. В него входят:

1. Органические кислоты:

- яблочная, принимает участие в дыхательных процессах растения, а также способствует лучшему синтезу хлорофилла;

- молочная, противостоит ряду грибковых заболеваний;

- уксусная, стимулирует в растениях механизмы засухоустойчивости;

- глюконовая, повышает устойчивость растений к грибным и бактериальным заболеваниям;

- лимонная, применяется в качестве бактерицидного и антисептического вещества, убивает и подавляет плесень;

- щавелевая, обладает способностью подавлять развитие болезнетворных бактерий;

- фосфорная, минеральные удобрения, содержащие фосфор, являются важнейшим источником питания и энергии для растений;

- койевая, обладает выраженным бактерицидным, инсектицидным и противогрибковыми действием.

2. Витамины:

- витамин С (аскорбиновая кислота), регулирует важные процессы обмена веществ, влияет на водный обмен, может управлять ростом растений;

- витамины группы В (B1 — тиамин, РР — ниацин), ускоряют обмен веществ, укрепляют корни.

3. Ферменты: липаза, амилаза, сахараза, протеаза, каталаза, зимаза, карбогидраза, триптические ферменты.

4. Липиды: фосфатиды, стерины, жирные кислоты.

5. Полисахариды: гиалуроновая кислота, хондроитин-сульфат, мукоитинсульфат[1].

**Глава 2. Разработка биостимулятора на основе чайного гриба**

**2.1 Характеристика объекта исследования**

В качестве объекта исследования были выбраны семена свеклы сорта «Смуглянка». Среднеспелый сорт, который радует богатым урожаем и не требует особого ухода. Свёкла имеет округло-плоскую форму, тонкую кожу без трещин, сочную мякоть бордово-красного цвета и свежий аромат. Корнеплод хорош для употребления в свежем или вареном виде, пригоден для консервации и приготовления заготовок на зиму.

Выращивать микрозелень свеклы в домашних условиях довольно легко, потому что она не требует особых условий. Свекла имеет интересный цвет: темно-зелёный лист и бордово красные стебли. По вкусу микрозелень свеклы похожа на обычную спелую свеклу и шпинат.

**2.2 Методы исследования**

**2.2.1 Методика выращивания микрозелени свеклы**

1. На дно емкости укладывают грунт.

2. Субстрат смачивают водой до достижения умеренной влажности. Слой субстрата в лотке должен быть не больше 3-4 сантиметров.

3. Подготовленные семена равномерно распределяют в контейнере. Семена должны покрывать субстрат, но, в то же время, не должны лежать друг на друге.

4. Необходимо накрыть лоток сверху пищевой пленкой, предварительно проделав вентиляционные отверстия. И поставить его в темное место для прорастания.

5. Поливать семена необходимо снова с помощью распылителя. Полив нужен каждый день. Земля не должна быть ни сухой, ни слишком влажной.

6. После того, как семена взошли, необходимо переместить растения на свет. Держать свет включенным 14-16 часов в день.

7. На 10 день проводили измерения.

**2.2.2 Методика приготовления раствора чайного гриба**

1. Развести чайную заварку горячей водой, добавить сахар и оставить на 15 минут.

2. Процедить настой, остудить его до комнатной температуры и перелить в банку. Туда же поместить гриб, накрыть марлей и поставить в теплое темное место.

3. Через 5–10 дней напиток готов. Гриб необходимо промыть и опустить его в новую банку с подготовленным чаем.

Получившийся напиток разбавляли для получения необходимых концентраций и использовали для полива растений.

**2.2.3 Методика определения всхожести и энергии прорастания**

Всхожесть и энергию прорастания определяли по ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести (с Изменениями N 1, 2). Энергию прорастания считали на 5, всхожесть на 10 день.

**2.2.4 Методика исследования морфометрических показателей свеклы**

По завершению эксперимента определяли массу сухого вещества в 1 г. растительного материала, путём взвешивания на лабораторных весах после высушивания при t = 65oC в течение двух часов.

**2.2.5 Методика определения пигментов в растительном материале**

Навеску растительного материала (100 мг) измельчают ножницами, помещают в фарфоровую ступку и растирают с добавлением 1- 2 мл 96 %-ного этилового спирта. Для нейтрализации кислот клеточного сока и предотвращения образования феофитина в ступку добавляют небольшое количество растертого мела. Добавляют еще 4-5 мл спирта и полученную вытяжку фильтруют в пробирку через плотно вставленный в воронку ватный тампон. Ступку ополаскивают новыми порциями спирта, которые количественно без потерь сливают каждый раз в воронку. Общий объем использованного для одной пробы растворителя должен быть 10 мл. Фильтрат содержит смесь зеленых и желтых пигментов.

Концентрацию хлорофилла "а" и "б" рассчитывают по формулам:

С хл."а" = 13,70 Д665 - 5,76 Д649;

С хл."б" = 25,80 Д649 - 7,60 Д665.

где С хл."а", С хл."б"\_ - соответственно концентрации хлорофиллов "а" и "б", мг/л;

Д665 и Д649 - экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн (665 и 649 нм).

Установив концентрацию пигментов в вытяжке, рассчитывают их содержание в листьях с учетом объема вытяжки и навески листьев по формуле:

$$А=\frac{V\*C}{P\*1000}$$

где А - содержание пигмента в листьях, мг/г сырой массы;

С - концентрация пигмента, мг/л;

V - объем вытяжки, мл;

Р - навеска листьев, г.

**2.2.6 Методика исследования содержания беталаинов в растительном материале**

Для количественного определения беталаиновых пигментов навеску мелкоизмельченной свеклы (1 г) экстрагируют порциями 2% муравьиной кислоты по 5 мл при растирании в ступке с пестиком. Полученный гомогенат фильтруют через бумажный складчатый фильтр и фильтрат собирают в мерную колбу на 50 мл. Операцию повторяют до полного обесцвечивания растительной ткани. Объем в мерной колбе доводят до метки 2% муравьиной кислотой.

В полученном фильтрате определяют оптическое поглощение при 535 нм. Содержание бетацианинов (мг/г сырой массы) в пересчете на бетанин (гликозид бетанидина) рассчитывают по формуле:

$С=\frac{A535\*V\*M\*1000}{ε535\*L\*1000\*m}$, где

ε535 – коэффициент молярной экстинкции бетацианинов (для бетанина – 60000 М-1 см-1),

L – длина оптического пути, см,

V – объем экстракта, мл,

M – молярная масса бетанина, 550 г/моль,

m – масса навески ткани растения, г.

**2.3 Анализ результатов исследования**

Исследование проводилось на базе научно-учебной лаборатории «Агрокуб» в соответствии с поставленной целью и задачами.

В ходе исследования были измерены морфометрические показатели побегов, определены энергия прорастания и всхожесть, масса сухого и сырого вещества, определено содержание пигментов: хлорофилла а, b; беталаинов в микрозелени свеклы.

Рисунок 1. Энергия прорастания и всхожесть семян свеклы

Анализируя полученные результаты по морфометрическим показателям (рис.1), можно сделать следующий вывод: наибольшая энергия прорастания и всхожесть была показана в 10% растворе экстракта чайного гриба, тогда как остальные концентрации раствора экстракта чайного гриба оказывали ингибирующий эффект (приложение 1, рис. 1,4,5).

Концентрацию фотосинтетических пигментов проводили спектрофотометрическим методом. Этот метод позволил с большой точностью провести анализ пигментов без предварительного их разделения. Измерения проводили на 10-й день (приложение 1, рис.2).

Таблица 1. Результаты определения пигментов в растительном материале

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Концентрация пигментов, мг/л | Содержание пигментов, мг/г сырого вещества |
| Хлорофилл а | Хлорофилл b | Хлорофилл а | Хлорофилл b |
| Контроль | 0,0845 | 0,2167 | 0,53318 | 0,248207 |
| 10% р-р чайного гриба | 0,1177 | 0,2661 | 1,0143 | 0,296762 |

Рисунок 2. Результаты определения пигментов в растительном материале

Анализируя результаты определения пигментов в растительном материале (таблица 1, рис. 2) можно сделать вывод, что в микрозелени свеклы, которую поливали 10% раствором экстракта чайного гриба, содержание пигментов - хлорофилла а и b больше, чем в микрозелени, которую поливали водой, на 90% и 16% соответственно.

Беталаины – водорастворимые пигменты, являющиеся ароматическими производными индола. Результаты исследования содержания беталаинов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты определения беталаинов в растительном материале

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Оптическая плотность экстракта пигментов при длине волны 535 нм, мг/л | Содержание бетацианинов, мг/г сырого вещества |
| Контроль | 0,1218 | 0,176871 |
| 10% р-р чайного гриба | 0,1608 | 0,252588 |

Рисунок 3. Результаты определения беталаинов в растительном материале

Анализируя результаты (таблица 2, рис. 3) можно сделать вывод, что в микрозелени свеклы, которую поливали 10% раствором экстракта чайного гриба, содержание беталаинов больше на 30%, чем в микрозелени, которую поливали водой (приложение 1, рис.3).

Таблица 3. Результаты исследования морфометрических показателей микрозелени свеклы

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Контроль |  | 10% р-р чайного гриба |
| № | Масса сырого вещества, мг | Масса сухого вещества, мг | № | Масса сырого вещества, мг | Масса сухого вещества, мг |
| 1 | 1000 | 189,5 | 1 | 1000 | 183,5 |
| 2 | 1000 | 183,7 | 2 | 1000 | 190,7 |
| 3 | 1000 | 190,8 | 3 | 1000 | 202,4 |
| Среднее значение | 1000 | 188 | Среднее значение | 1000 | 192,2 |

В таблице 3 представлены результаты исследования морфометрических показателей микрозелени свеклы. По полученным данным можно сделать вывод, что масса сухого вещества больше в микрозелени свеклы, которую поливали 10% раствором экстракта чайного гриба, в среднем на 4,2 мг(2,1%) (приложение 1, рис.6,7).

Таким образом, проведенное исследование показало зависимость разработанного биостимулятора и исследуемых параметров. Было выявлено положительное влияние 10% раствора экстракта чайного гриба на морфометрические показатели, содержание пигментов: хлорофилла и беталаинов в микрозелени свеклы.

**Заключение**

Микрозелень обладает арсеналом полезных свойств, что делает ее незаменимым дополнением к повседневным блюдам. Все виды микрозелени обогащены рекордным количеством витамина С. Также в ней содержатся витамины группы В, Е, РР, фолиевая кислота, железо, фосфор и магний. Входящие в состав эфирные масла обладают антиоксидантными свойствами.

В молодом возрасте овощи набирают в себя максимальное количество полезных качеств, что превышает средний показатель «взрослых особей» в 5-6 раз. Научно подтверждено, что на первых этапах жизни растения лучше усваиваются организмом.

В ходе исследования была достигнута поставленная цель - разработан биостимулятор на основе экстракта чайного гриба для выращивания микрозелени свеклы. Наибольшую эффективность и стимулирующий эффект на различные показатели микрозелени свеклы показал 10% раствор экстракта чайного гриба.

Перспективы дальнейшего исследования проблемы мы видим в изучении влияния экстракта чайного гриба на микрозелень растений других видов сельскохозяйственных культур.

**Литература**

1. Антибактериальный потенциал и перспективы использования чайного гриба / Е. В. Алиева, К. М. Болтачева, Л. Д. Тимченко, Н. И. Бондарева, Ю. М. Добрыня // Ульяновский медико-биологический журнал. 2018. №4.

2. Т. М. Бабурина, А. А. Кравченко, Д. В. Шкурина. Санитарно-микробиологический контроль микрозелени // Вопросы науки и образования. 2020. №25 (109).

3. Сравнительный анализ пищевой ценности семян, ростков и микрозелени растений linum usitatissimum / Л. А. Надточий, Д. В. Кузнецова, М. Б. Мурадова, А. В. Проскура, // Ползуновский Вестник. 2020. №2.

4. Сотников В. А. Марченко В. В. Напиток "Чайный гриб" и его технологические особенности // Пищевая промышленность. 2014. №12.

5. Тоцкая П. Д. Стабильность беталаинов свеклы beta vulgaris при экстракции и хранении Научный руководитель магистр биол. наук, ассист. Кохановская Е. Ю. // Кафедра общей химии Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск.

Приложение 1

Рисунок 1



Рисунок 2



Рисунок 3





Рисунок 7

Рисунок 6

Рисунок 5

Рисунок 4