

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
«Брянский городской лицей №2 им. М. В. Ломоносова»

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА
«ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПАЛЕОДИЕТЫ С ПОМОЩЬЮ
МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ»

Направление Генетика

Выполнил: ученик 8б класса
Васильцов Всеволод Александрович
Руководитель: Заведующий
лабораторией ЦОД «ОГМА»
Силина Наталья Игоревна
Консультант: учитель биологии
Голикова Виктория Сергеевна

Брянск 2023

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1 СВЯЗЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И АРХЕОЛОГИИ	7
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	9
2.1 Объекты исследования.....	9
2.2 Методы исследования	10
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ	14
ГЛАВА 4 ВЫВОДЫ.....	16
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	17
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
Приложение А	20
Приложение Б.....	21

ВВЕДЕНИЕ

На огромной территории нашей страны, в её недрах, хранится великое множество фактов о далеком прошлом человечества. Поиск этих фактов и их исследованием занимается наука археология. В своей работе я использую материалы научной экспедиции, полученные от раскопок археологов Новосибирского университета, проходивших в Минусинской межгорной котловине. Земли, в данной области, весьма интересны для археологов и существенно помогают историкам восстановить прошлое Сибири. Минусинская котловина находится на границе Хакасии и Красноярского края. Территория окружена с трех сторон горами. По долине протекают реки Абакан и Енисей. Рельеф неоднородный (равнинный, холмистый). Земля Минусинской котловины буквально переполнена историей. Она издавна славится богатством следов пребывания человека самых разных эпох, от палеолита до Средневековья. На протяжении многих тысячелетий народы сменяли друг друга. У каждого из них была своя культура, которая отражала страницы жизни отдельных племен: афанасьевская, окуневская, андроновская, карасукская, тагарская, таштыкская и древнетюркская. Эти культуры существовали здесь с III тысячелетия до н. э. до 1-й половины I тысячелетия н. э.[2]

Уже почти триста лет ученые-археологи проводят исследования в этом месте. Советский археолог М. П. Грязнов отмечает, что «в степях Среднего Енисея нет, кажется, такого места, где не было бы видно курганов тагарской культуры»[2]. А за сто лет до этого академик В. В. Радлов писал, что курганы здесь «встречаются повсюду в таком количестве, что даже едущий по почтовой дороге не может не обратить на них внимание». Земля Минусинской котловины хранит память о кипевшей ранее бурной жизни: здесь постоянно находят все новые следы поселений, оросительных каналов, крепостей, могильников.

Самые крупные курганы оставили здесь люди тагарской эпохи. Расположенная близ Абакана «Могильная степь» буквально заполнена десятками больших и малых курганов. Оплывшие от времени конусообразные земляные насыпи окружены вертикально поставленными камнями. Таштыкская культура является археологической культурой Южной Сибири железного века (1 -5 в. н.э.).

Могильные комплексы и похоронные обряды – это неотъемлемая часть культа предков, сформировавшегося на заре человечества. Священные могилы являлись стражами на границе родовой территории. В древности захоронениям придавалось большее значение, чем жилью, поэтому до наших дней дошли лишь немногочисленные остатки жилищ при огромном количестве могильников. Поэтому, именно изучение могильников, даёт наибольшее представление о культуре племени. А их трансформация является одним из признаков смены культур.

Исследования могильников позволили археологу С. А. Теплоухову в 1920-х гг. выделить памятники таштыкской культуры[3]. Она сменила в I веке до н. э. тагарскую и просуществовала до V века н. э. Свое название эта культура получила по раскопкам у села Батени на реке Таштык к северу, от Абакана. Таштыкскую культуру же сменил другой народ образовавшийся в результате смешения местного алтайского населения с пришлым родом Ашина. Образовалась древнетюркская культура. Она существовала в VI – VIII в. н. э. Основным видом хозяйства тюрков было полукочевое и кочевое скотоводство.

Люди, жившие во времена таштыкской и древнетюркской культур, считали, что потребности у умершего такие же, как и у живого человека, поэтому ему необходимо питаться той же пищей что и при жизни. Наличие в захоронении животной и растительной пищи говорит о том, что и при жизни люди, проживающие на этой местности, употребляли в пищу мясо животных, которых разводили и злаки, которые выращивали, при ведении земледельческо-скотоводческого хозяйства.

Предметом исследования является особенности палеодиеты таштыкской и древнетюркской культуры.

Объектом настоящего исследования являются соскобы с археологической находки, сделанной в 1996г. на территории памятника «Маркелов мыс 2». Это могильник, раскопки в котором проводились сплошным раскопом и дали огромное количество находок, изучение которых проводится по сей день. К тому же новые методы исследований позволяют повторно изучать уже изученные находки и получать новые знания.

Всё это обусловило **актуальность темы исследования**, а именно:

- В настоящее время развитие науки о человеке невозможно без максимального объединения дисциплин из различных областей знаний (палеогенетики, археологии, биологии и многих других). Применение методов исследования одной науки (молекулярной биологии) для изучения артефактов другой науки (археологии), позволяет не только получить новые знания, но благодаря эффекту синергии, многократно увеличить эффективность исследований.

- Наиболее важным и постоянным элементом, определяющим повседневный быт человека, была и остается система питания, являющаяся не только частью биологического процесса, но и ежедневной социокультурной практикой. Именно изучение особенностей питания, позволяет узнать, в каких условиях жили наши предки, чем преимущественно занимались в быту, ведь добыча пищи важнейшее занятие для древнего человека, вокруг которого и возникали культурные особенности каждого племени.

- Исследование привлекает к вниманию в первую очередь ученых антропологов, историков, археологов, экскурсоводов, также немалый интерес вызывает у ботаников, биологов и экологов.

Целью проектно-исследовательской работы является изучение особенностей палеодиеты людей, живших во времена древнетюркской и таштыкской культуры с помощью методов молекулярной биологии.

Гипотеза: В соскобах из погребальных сосудов обнаруживаются фрагменты ДНК, соответствующие растительной или животной пищи. Гипотеза об органическом происхождении исследуемых образцов.

Для достижения заявленной цели, необходимо выполнить **следующие задачи:**

1. Изучить литературные данные об особенностях питания людей, живших во времена, таштыкской культуры и древнетюркской культуры;
2. Освоить метод выделения ДНК из предоставленных образцов, взятых из сосудов, найденных в местах археологических раскопок;
3. Проанализировать результаты ПЦР в реальном времени на выявление в образцах ДНК фрагментов, характерных для некоторых растительных и животных организмов;
4. Сделать выводы о наличии тех или иных продуктов питания в предоставленных образцах.

В работе использовались как теоретические (анализ, дедукция и пр.) так и эмпирические научные методы познания (сравнение, измерение, эксперимент и пр.).

ГЛАВА 1 СВЯЗЬ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И АРХЕОЛОГИИ

В настоящее время благодаря междисциплинарному подходу в изучении того или иного явления появилось множество наук, использующих и объединяющих в себе самые разные методы исследования, тем самым дополняя уже известную информацию или же получая новые знания. Трудно найти науку, которая бы использовала один-два метода. Уникальные открытия происходят на стыке наук, при использовании комплексного подхода. Именно так и была открыта Фрэнсисом Криком и Джеймсом Уотсоном самая главная молекула жизни – ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) [9].

Сегодня генетика активно внедряется в различные сферы деятельности человека, предлагая новые подходы исследования биологических объектов и процессов. Выросшая на её основе молекулярная биология является междисциплинарной наукой, которая объединяет в себе методы физики, биохимии, генетики, информатики, математический анализ. Её достижения используют в медицине, сельском хозяйстве, промышленности [7].

Стремительный прогресс в области молекулярной генетики в последнее десятилетие прошлого века привел к настоящему взрыву числа публикаций по генетике человека, животных и растений. В популяционной генетике человека по мере того, как накапливалось все больше информации о генетической структуре ядерной ДНК и мтДНК различных этнических групп людей со всего мира, популяционные генетики использовали её, чтобы делать выводы о доисторических демографических событиях и подтверждать сообщения из исторических источников. При этом им пришлось согласовать свои выводы с выводами археологов, лингвистов и палеоантропологов. Некоторые специалисты в этих областях с радостью приветствовали вклад генетиков, в то время как другие продемонстрировали ожидаемое сопротивление новым подходам и парадигмам. Возможно, самым ярким сторонником генетики в археологии является выдающийся археолог Колин

Ренфрю. Именно он предложил новое название «археогенетика», которую он определил как изучение исторического прошлого с использованием методов молекулярной генетики [2].

К методам археогенетики, в частности, относят:

- анализ ДНК, полученной из археологических останков (древней ДНК);
- анализ ДНК современных популяций (людей, домашних растений и животных) с целью изучения человеческого прошлого и генетического наследия взаимодействия человека с биосферой;
- применение статистических методов молекулярной генетики к археологическим данным.

Благодаря тому, что, геномы большинства растений, животных, микроорганизмов расшифрованы методами молекулярной биологии, мы имеем возможность проанализировать выделенную ДНК с различных предметов древности. С точки зрения археологии очень интересно проанализировать содержимое погребальных сосудов, в которые клали пищу, провожая своих соплеменников в последний путь и составить представление о рационе питания древних людей, в котором, как свидетельствуют раскопки, могли присутствовать как мясная составляющая, так и местные дикорастущие растения.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнение работы осуществлялось на базе Инноцентра «Сколково» г. Москва, в лаборатории клонального микроразмножения и генетических исследований центра одарённых детей «ОГМА» г. Брянск, а также определенная часть работы была реализована при помощи группы ученых под руководством Ворониной Е.Н., к.б.н., с.н.с. зав. группы молекулярной генетики ИХБФМ СОРАН.

2.1 ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе используется 5 образцов (табл. 1). Все образцы были найдены при раскопках памятника «Маркелов Мыс 2» в 1996 году (рис. 1).



Рис. 1. Образцы №№ 1-3, полученные при раскопках памятника «Маркелов Мыс 2» в 1996 году.

Таблица 1. Исследуемые образцы.

№ образца	Название образца	Могила/склеп	Номер сосуда/часть сосуда	Культура/время
1	Казановка 6, 2020	курган 9	61 (1), д	тагарская культура (VII-III вв. до н.э.)
2	Казановка 6, 2020	курган 9	61 (1), с-3	
4	Маркелов Мыс II- 1996	курган 75	с25/2/д	древнетюркская культура (VI-IX век н.э.)
5	Маркелов Мыс II- 1996	курган 75	с25/2/с-2	
6	Маркелов Мыс II- 1996	курган 79	с27/д	
7	Маркелов Мыс II- 1996	курган 79	с27/с-2	
14	Маркелов Мыс II 1996	курган 78	11 (8)/д	таштыкская культура (II век до н. э. — V век н. э.)

2.2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выделение ДНК из образцов, полимеразно-цепная реакция (ПЦР) на определение ДНК растительных или животных организмов, а также электрофорез в агарозном геле полученных фрагментов после ПЦР проводились на базе Инноцентра «Сколково» г. Москва.

Выделение ДНК производилось с помощью специальных наборов реактивов, присланных учеными Новосибирского университета для осуществления проекта. Протокол включает в себя следующие стадии: лизис, добавление сорбента, несколько стадий промывки буферами, элюция.

Чтобы выделить ДНК для начала нужно разрушить клеточные мембраны и клеточные ядра, так чтобы содержимое клетки — ДНК, белки, липиды и сахара — вышли в раствор. Для этого используем лизисный буфер (Рис Б.1.). Вышедшую в раствор ДНК нужно освободить от связанных с ней белков (рис Б.3.). Одновременно с этим необходимо инактивировать ДНКазы — ферменты, которые атакуют «оголенную» ДНК. За разрушение клеточных белков отвечает еще один компонент лизисного буфера — «протеин К», фермент. Дальше мы отделяем ДНК от примесей. Центрифугируем раствор в пробирках с кремниевой мембраной, которая связывается с ДНК и пропускает остальные органические компоненты клетки (Рис Б.4.). Центрифугирование многократно увеличивает скорость фильтрации сквозь мембрану (Рис Б.5.). Мембрану со связанной ДНК несколько раз промывают спиртом. Для данного этапа нам понадобились центрифуга (Рис А.2.), перчатки, вортекс (Рис А.3.), наконечники для дозаторов, сами дозаторы (Рис А.1.) и пробирки.

Дальнейшая работа состоит в том, чтобы проанализировать выделенную ДНК методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Цель ПЦР — получить множество одинаковых двухцепочечных кусочков ДНК строго определенной длины. Для наработки необходимого количества фрагментов ДНК для осуществления электрофореза была поставлена полимеразно-цепная реакция

(ПЦР) с помощью амплификатора (рис.2, рис. 3 и Приложение Рис. А.4.).
 Программа амплификации показана в таблице 2.

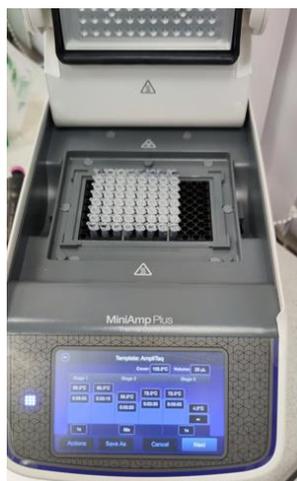


Рис. 2. Настройка программы амплификации.



Рис. 3. Постановка ПЦР.

Таблица 2. Программа амплификации.

Температура, °С	Время
Предварительная денатурация, 95	5 мин
Цикл:	
Денатурация, 95	10 сек
Отжиг, 55	20 сек
Элонгация, 72	72 сек
Всего циклов: 52	
Финальная элонгация	5 мин

Для проведения полимеразно-цепной реакции были использованы искусственно синтезированные праймеры на растительные и животные организмы, представленные в таблице 3.

Таблица 3. Используемые праймеры для постановки ПЦР в реальном времени и ожидаемые длины фрагментов.

№	Праймеры	Длина ожидаемого ПЦР-продукта, п.н.
1	Положительный контроль выделения ДНК	141
2	Ячмень	81
3	Овес	83
4	Пшеница	100
5	Злаковые/просовые	150/215
6	Корова	190
7	Курица	183
8	Овца	119
9	Кролик	119

В данном исследовании мы пользовались также результатами метода ПЦР в реальном времени, которые были получены научной группой Новосибирского государственного университета под руководством Ворониной Е.Н.

Постановка ПЦР в реальном времени осуществлялась с применением искусственно синтезированных праймеров, специфичных к определенным растительным и животным организмам (табл. 3). Положительным результатом наличия того или иного специфического фрагмента являлось значение больше 1. Данное значение говорит о том, что присутствует целевая ДНК и её достаточное количество.

Электрофорез проводился в агарозном геле с целью идентификации фрагментов ДНК после проведения ПЦР. Для этого необходимы следующие материалы: источник питания, камера для проведения электрофореза, 1,8%

агароза, TAE-буфер, интеркалирующий краситель, трансиллюминатор для детекции полос. Условие для электрофореза 80 В, 25 мин с использованием интеркалирующего красителя SYBR, позволяющего определить молекулы ДНК в УФ свете.

Все методы, использованные в исследовании, были выполнены со строгим соблюдением техники безопасности.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ

Для анализа выделенной ДНК и прохождения полимеразно-цепной реакции был проведен гель-электрофорез в 1,8% агарозном геле. Результаты проведения гель-электрофореза представлены на рисунке 2.



Рис. 2. Результаты гель-электрофореза. Образцы №№ 1,2,4,6.

Результаты гель-электрофореза получились неоднозначными. Результаты образца №1 некорректны, вследствие того, что не был обнаружен К+. Предполагается, что полимеразно-цепная реакция не прошла как следует. Образцы №№ 4 и 6 не содержат искомым фрагментов по всем праймерам, но ПЦР прошла корректно, так как обнаруживается К+. Образец № 2 содержит только один искомый фрагмент ≈ 83 п.н., соответствующий овсу, остальные фрагменты, обнаруженные при анализе образца, являются нецелевыми.

Для того, чтобы убедиться в правильной интерпретации результатов гель-электрофореза, мы воспользовались данными ПЦР в реальном времени. По результатам ПЦР в реальном времени были получены следующие результаты (табл. 4):

Таблица 4. Обработанные результаты ПЦР в реальном времени.

№ образца	Ячмень	Овес	Пшеница	Просо	Корова	Овца	Птица
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
4	0,192109	0,493116	0,013697	0,072796	0,00012	3,24901	0,31864
5	0,114229	0,027584	0,000553	0,049721	1,70527	2,68E-05	0,107321
6	0,005373	0,000233	0,000937	0,002152	353E-06	1,16E-06	0,011125
7	0,029977	4,20E-06	7,11E-05	0,051474	8,45E-05	2,77E-05	0,001736
14	0,185565	0,094078	0,00198	1,765406	1,853176	8,574188	0,043889

Наши результаты гель-электрофореза по образцу № 2 не совпадают с результатами ПЦР в реальном времени, фрагмент длиной ≈ 83 п.н., соответствующий овсу не обнаруживается. При этом данная методика позволила обнаружить в образцах №№ 4 и 5 фрагменты ДНК, характерные для овцы и коровы соответственно. Образец № 14 содержит фрагменты ДНК, характерные для просо, коровы и овцы. Результаты по остальным образцам №№ 1 и 6 совпадают, там значения результатов либо ниже порогового, либо не определены.

ГЛАВА 4 ВЫВОДЫ

1. Были изучены литературные данные об особенностях питания людей, живших во времена тагарской, таштыкской и древнетюркской культуры. Наши результаты подтверждают данные научной литературы о том, что люди, жившие во времена таштыкской и древнетюркской культуры, вели земледельческо-скотоводческое хозяйство.

2. Был освоен метод выделения ДНК из предоставленных образцов, взятых из сосудов, найденных в местах археологических раскопок. Метод выделения ДНК основывается на явлении сорбции на кремниевых частицах.

3. Проанализировали данные, полученные с помощью ПЦР в реальном времени (PCR-RT) и методом гель-электрофореза. Проанализированы результаты ПЦР в реальном времени на выявление в образцах ДНК фрагментов, характерных для некоторых растительных и животных организмов. Дно сосуда №11(8), взятого с кургана 78 таштыкской культуры, содержало фрагменты характерные для ДНК проса, овцы и коровы. Сосуд №25/2 с кургана 75 древнетюркской культуры, содержал на дне и стенке фрагменты, характерные для ДНК овцы и коровы соответственно. Остальные образцы, к сожалению, не показали, значимых результатов.

4. Содержание фрагментов ДНК, характерных для растительных и животных организмов, может косвенно указывать на наличие тех или иных продуктов питания. К сожалению, мы не можем точно утверждать, что в сосудах содержалась только мясная пища или только молочные продукты. Например, наличие молекулы ДНК коровы, говорит о том, что в сосуде могло содержаться молоко, сыр или же мясо, то есть продукты животного происхождения. В сосудах, в которых не была найдена ДНК, могла содержаться вода или сама молекула ДНК была полностью фрагментирована за такой длительный срок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основной задачей научно-исследовательского проекта было экспериментальное подтверждение возможности использования исследовательских методов молекулярной биологии для изучения археологических находок.

Результатом исследовательской работы стало подтверждение предположения, что применение методов исследования одной науки (молекулярной биологии) для изучения артефактов другой науки (археологии), позволяет не только получить новые знания, но благодаря эффекту синергии, многократно увеличить эффективность исследований.

В данной работе не только подтвердилось предположение об органическом происхождении образцов, но и было выяснено, что эти образцы содержали фрагменты ДНК просо, мясо овцы и коровы.

Современные достижения молекулярной биологии помогают не только делать открытия в других областях знаний, но при изучении археологических находок.

В дальнейшем планируется провести повторное исследование, так как чем больше повторность в опыте, тем точнее результаты. При этом планируется анализ других образцов, взятых с места раскопок. Результат исследований будет представлен на итоговой конференции по археологии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. 100 великих археологических открытий /Андрей Низовский электронный ресурс URL:https://oldevrasia.ru/library/Andrey-Nizovskiyy_100-velikikh-arkheologicheskikh-otkrytiy/62?ysclid=ld6as6kpow167269247 (дата обращения: 28. 02. 2023)
2. Archaeogenetics: DNA and the Population Prehistory of Europe/Robert R. Sokal электронный ресурс URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1226043/> (дата обращения: 28. 02. 2023)
3. Вадетская Е.В. Таштыкская эпоха в истории Сибири // Центр «Петербургское востоковедение», 1999. – 440 с.
4. Герман П.В., Онищенко С.С, Савельева А.С., Святко С.В. Ключевые аспекты экономики населения тагарской культуры: Основные концепции и проблемы изучения скотоводства // Вестник Томского государственного университета. 2020. № 457. С. 110–122.
5. Матвеева Н.П. Ларина Н.С., Берлина С.В., Чикунова И.Ю. Комплексное изучение условий жизни древнего населения Западной Сибири (Проблемы социокультурной адаптации в раннем железном веке) // Изд-во СО РАН, Новосибирск, 2005. – 229 с.
6. Минусинская котловина — «царство археологии» электронный ресурс URL: <https://arheologija.ru/minusinskaya-kotlovina-tsarstvo-arheologii/?ysclid=ld6ao3p9ne623468471> (дата обращения: 28. 02. 2023)
7. Молекулярная биология Валерия Семеняк электронный ресурс URL: <https://biomolecula.ru/articles/molekuliarnaia-biologija> (дата обращения: 28. 02. 2023)
8. Молодин. В.И. История Сибири Т. 2: Железный век и Средневековье / отв. редактор В. И. Молодин; Рос. акад. наук, Сиб. отд-ние, Ин-т археологии и этнографии [и др.]. – Новосибирск: Изд-во ИАЭТ СО РАН, 2019. – 643 с.

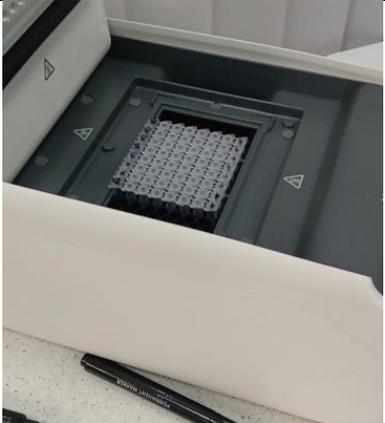
9. Открытие структуры ДНК/ Максим Франк-Каменецкий электронный ресурс URL: <https://postnauka.ru/video/42611> (дата обращения: 28. 02. 2023)
10. Членова Л.Н. Происхождение и ранняя история племен тагарской культуры. // Изд-во Наука, 1967. – 303 с.

Приложение А

№	Наименование	Фото
А.1.	<p>Дозатор - приспособление, позволяющее отмерять точное количество любого вещества, необходимого для выполнения лабораторных работ.</p>	 <p style="text-align: center;">Рис А.1.</p>
А.2.	<p>Центрифуга - предназначена для разделения жидких образцов на фракции путем воздействия центробежной силы.</p>	 <p style="text-align: center;">Рис А.2.</p>
А.3.	<p>Вортекс - нужен для быстрого и эффективного смешивания/перемешивания компонентов маловязких жидкостей за счет создания сильного вихревого движения смеси в емкости.</p>	 <p style="text-align: center;">Рис А.3.</p>
А.4.	<p>Амплификатор - прибор, предназначенный для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР).</p>	 <p style="text-align: center;">Рис А.4.</p>

Приложение Б

№	Наименование	Фото
Б.1.	Выданные образцы и химические реактивы, которые нужны для выделения ДНК.	 <p data-bbox="1190 663 1321 696">Рис Б.1.</p>
Б.2.	Рабочие место для проведения выделения ДНК.	 <p data-bbox="1190 1178 1321 1211">Рис Б.2.</p>
Б.3.	Процесс выделения ДНК из представленных образцов.	 <p data-bbox="1190 1585 1321 1619">Рис Б.3.</p>
Б.4	Центрифугирование.	 <p data-bbox="1190 1948 1321 1982">Рис Б.4.</p>

<p>Б.5.</p>	<p>Получивший осадок после центрифугирования (начальные этапы работы).</p>	 <p>Рис Б.5.</p>
<p>Б.6.</p>	<p>Смешивание компонентов для постановки ПЦР.</p>	 <p>Рис Б.6.</p>
<p>Б.7.</p>	<p>Нагревание опытных образцов для проведения ПЦР.</p>	 <p>Рис Б.7.</p>
<p>Б.8.</p>	<p>Проведение ПЦР в амплификаторе.</p>	 <p>Рис Б.8.</p>