

УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ МОНІТОРИНГУ РЕАКЦІЇ МЕТАХРОМАЗІЇ ВОЛЮТИНОВИХ ГРАНУЛ ДРІЖДЖІВ ТА ВАРІАЦІЙ ГЕОМАГНІТНОГО ПОЛЯ

Опаленик М.М.¹, Горго Ю.П.¹, Грецький І.О.², Громозова О.М.²

¹КПІ ім. Ігоря Сікорського, babka055@gmail.com,

²Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН
України

Abstract.

*The conditions for monitoring the color changes of the metachromatic reaction of volutinous granules of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and the values of the geomagnetic field intensity at frequencies below 1 Hz for further determination of the correlation coefficients between them, at which significant changes in the reaction are noted.*

Keywords: *metachromasia reaction, geomagnetic field, monitoring*

Вступ. Раніше в дослідженнях було визначено, що варіації кольорових та структурних змін реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів зберігають високий ступінь подібності з варіаціями геомагнітного поля (ГМП) [1], особливо під час магнітних збурень та бур [2]. Існує теорія, що ступінь впливу ГМП на біологічні об'єкти залежить від його інтенсивності, яка є найвищою за наднизькочастотних значень (<1 Гц) ГМП [2,3]. Було розроблено підхід до розрахунків напруженості магнітного поля Землі (МПЗ) на різних частотах та запропоновано визначати вплив інтенсивності ГМП на низьких частотах на молекулярні та клітинні процеси шляхом визначення коефіцієнтів кореляції [4]. Але не були визначені особливості проведення моніторингу кольорових змін реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів та інтенсивності ГМП за варіацій різної частоти.

Метою роботи було виявлення умов проведення моніторингу кольорових змін реакції метахромазії волютинових гранул дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* та значень напруженості ГМП на частотах нижче 1 Гц, за яких відмічаються суттєві зміни реакції.

Матеріали та методи. Моніторинг змін кольору реакції метахромазії та варіацій ГМП треба проводити за співпадіння часу та місця досліджень. В роботі були використані щоденні значення реакцій метахромазії волютинових гранул дріжджів, проведені в моніторинговому режимі в Інституті мікробіології та вірусології НАН України в 2009 році.

Дріжджі були культивовані протягом 24 годин на середовищі сусло-агар в сухоповітряному термостаті ТС-80М за температури 28°C протягом доби. Проводили пересівання клітин на свіже живильне середовище і робили мазок на предметному склі за методом живої краплі. Частина клітин була ресуспендована в краплі дистильованої води безпосередньо на поверхні скла, утворюючи моношар. Після висихання мазку клітини були фіксовані жаром і забарвлені метиленовим синім за методом Льюфлера [5]. Оцінку забарвлення волютинових гранул дріжджів *S.cerevisiae* у разі реакції метахромазії проводили мікроскопіюванням зразків в світловому полі за допомогою об'єктива зі збільшенням $\times 100 / 1.30$. Забарвлення клітин у разі метахромазії оцінювали за

такою системою кодування: «1» – відсутність метакрохроматичної реакції (волютинові гранули забарвлюються у синьо-блакитний колір), «2» – переважає насичений фіолетовий відтінок у забарвленні волютинових гранул, «3» – переважає пурпурний (фіолетово-червоний) відтінок у забарвленні волютинових гранул [6]. Оцінку забарвлення реакції метакрохроматизації проводили щоденно о 12 годині за Київським часом за весь період 2009 року.

Експериментальні значення інтенсивності МПЗ на території Києва були отримані із даних магнітометричної обсерваторії (Демидів, Київська область) та Інституту геофізики НАН України за допомогою сервісу INTERMAGNET. Ці дані були отримані з частотою дискретизації 1 Гц, що робило достовірним визначення наднизькочастотних значень із масиву даних. Для отримання даних переходили за посиланням: <https://www.intermagnet.org/data-donnee/download-eng.php#view>, знаходили розділ “Data” і вибирали дату початку і кінця періоду (весь 2009 рік). З цих даних для подальших розрахунків і обробки був обраний X компонент магнітного поля (KIVX). Створювали масив усереднених щохвилинних значень амплітуди МПЗ протягом доби за допомогою базових функцій комп’ютерної програми “Microsoft Excel 2021”.

Для подальших розрахунків та візуалізації флуктуацій магнітного поля Землі на низьких частотах з використанням методу перетворень Фур’є була розроблена програма, яка була реалізована на мові програмування Python з використанням пакету MagPy, що є у вільному доступі. Для запуску програми використовували графічну оболонку ConEmu, але також можна використати інші графічні оболонки, такі як bash, cmd, powershell. Для перегляду та редагування коду програми використовували “Sublime Text”, але можна використовувати інше середовище для розробки на мові Python, PyCharm або Python IDLE. Для роботи програми необхідно встановити Python версії 3.7+.

Також був встановлений пакет “MagPy”, який має у своїх залежностях модулі “fft” та “irfft”. Ці модулі представляють можливість для маніпулювання дискретними сигналами: їх моделювання, фільтрації та здійснення Фур’є-перетворень. Також для правильної роботи програми були встановлені пакети “numpy”, “matplotlib”, “magpylib” та “pandas”. Всі пакети були встановлені з офіційних репозиторіїв за допомогою команди `pip install`. Після завантажень всіх пакетів та залежностей вони автоматично інтегрувались до оболонки ConEmu. Після встановлення програми через графічну оболонку були встановлені робочі директорії за допомогою функції `cd` (повний шлях до програми), і після цього запускання програми за допомогою функції Python. Дані для програми подавались обов’язково у форматі двох стовпчиків, перший – час у хвилинах, другий – значення магнітного поля у нТл (X компонент магнітного поля Землі).

Після визначення необхідних даних програма проводила обчислення відхилень від середнього значення для коливань та використовувала фільтр низьких частот з пакету MagPy для ізоляції наднизькочастотної складової магнітного поля Землі з отриманого набору. Цей фільтр давав змогу виділяти коливання за певних заданих частот з відомою частотою дискретизації і був

застосований для частот 0.1, 0.01, 0.001 та 0.0001Гц. Значення якої вибраної для розрахунків частоти за необхідністю можна змінити у змінній freqs.

Після виконання обчислень флуктуацій ГМП на вибраних частотах програма візуалізації низькочастотних коливань магнітного поля Землі створювала та зберігала 4 файли у форматі png, які відображали коливання інтенсивності ГМП на певній заданій частоті. Додатково, програма створювала 4 текстові файли, що містять значення МПЗ після застосування фільтру низьких частот. Ці файли призначені для подальшої обробки даних. Крім того, формувалась композитна інтегрована візуалізація, яка включала всі 4 графіки з вибраними частотами для певної дати. Для побудови графіків та діаграм було використано мову програмування Python з використанням графічного пакету matplotlib та за допомогою комп'ютерної програми "Microsoft Excel 2021". Для отримання додаткових функціональних можливостей програми використовували допоміжні пакети numpy та pandas мови програмування Python.

Для статистичної обробки даних використовували методи описової статистики для обчислення середнього арифметичного та стандартного відхилення, а також індуктивної математичної статистики для розрахунків непараметричного коефіцієнту кореляції Спірмена. Такий коефіцієнт кореляції необхідно було використовувати в роботі тому, що значення інтенсивності ГМП на певних частотах та кольорові значення реакції метакромазії за порівняння мають якісно різні ознаки.

Результати та обговорення. Для отримання коефіцієнтів кореляції були порівняні щоденні похвилинні та сумарні добові значення напруженості ГМП на частотах 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001Гц для всіх днів 2009 р., коли визначали кольорові значення реакції метакромазії волютинових гранул дріжджів *S.cerevisiae*. Оскільки реакцію метакромазії завжди проводили в період доби з 11.30 по 12.30, в обчисленнях були використані середні значення щохвилинної інтенсивності ГМП на низьких частотах за період в 1 годину в цей самий період доби. Це дало змогу порівнювати біологічні та геофізичні дані, що були отримані в єдиному просторі та часі.

Отримані потижневі та помісячні коефіцієнти кореляції між інтенсивністю ГМП на низьких частотах та даними реакції метакромазії волютинових гранул дріжджів коливались в межах $R = -0,32 \div 0,15$ – на частоті 0.1Гц; $R = -0,8 \div 0,29$ – на частоті 0.01Гц; $R = -0,18 \div 0,32$ – на частоті 0.001Гц; $R = 0,4 \div 0,67$ – на частоті 0.0001Гц. Отримані результати порівнянь свідчили, що збільшення коефіцієнтів кореляції відбувається із пониженням частоти варіацій ГМП. Це вказує на підвищення впливу значень інтенсивності геомагнітного поля, у разі пониження його частоти, на кольорові зміни реакції метакромазії волютинових гранул дріжджів, які пов'язані із молекулярними та функціональними характеристиками поліфосфатів.

В цьому разі коефіцієнти кореляції нерегулярно досягали і більших значень: $R = 0,31$ – на частоті 0.1Гц; $R = 0,37$ – на частоті 0.01Гц; $R = 0,41$ – на частоті 0.001Гц; $R = 0,69$ – на частоті 0.0001Гц. Такі варіації визначених щодобових і потижневих коефіцієнтів кореляції вказують на їх суттєву

залежність від стохастичних, важко прогнозованих змін інтенсивності геомагнітного поля, які відбуваються за магнітних бур.

Крім того, отримані дані інтенсивності геомагнітного поля на частотах < 1Гц показали, що амплітуда ГМП на частоті 0,0001Гц має найвищий розкид значень – до 10мкТл порівняно з іншими вибраними частотами: до 3нТл – за 0,1Гц, до 18нТл – за 0,01Гц. Це вкладається в теоретичні розрахунки, що зі зменшенням частоти флуктуацій збільшується інтенсивність ГМП [2,3,7].

Висновки. Виявлений коефіцієнт кореляції $R = 0,69$ вказує на суттєві впливи різкого збільшення інтенсивності геомагнітного поля на частоті 0.0001 Гц на зміни кольору реакції метакромазії і зміни поліфосфатного статусу волютинових гранулах дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

Розроблена програма розрахунків та візуалізації флуктуацій геомагнітного поля на частотах 0,1; 0,01; 0,001 та 0.0001Гц підтвердило значне зростання інтенсивності ГМП з пониженням частоти, що дає змогу розробити механізми змін молекулярної чутливості поліфосфатів у разі підвищення інтенсивності низькочастотних флуктуацій геомагнітного поля.

Список використаної літератури:

1. Research of Metachromatic Reaction of *Saccharomyces cerevisiae* / E. N. Gromozova et al. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2016. Vol. 78, no. 3. P. 45–51. URL: <https://doi.org/10.15407/microbiolj78.03.045>
2. Особливості функціонування біологічних об'єктів за дії низькочастотних магнітних полів різного походження / Ю. Горго та ін. *Вісник КНУ. Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2005. Т. 10. С. 28–29.
3. Binhi V. N., Rubin A. B. Theoretical Concepts in Magnetobiology after 40 Years of Research. *Cells*. 2022. Vol. 11, no. 2. P. 274. URL: <https://doi.org/10.3390/cells11020274>
4. Горго Ю., Разумовський А. До питання визначення впливу низькочастотних параметрів магнітного поля Землі на біологічні об'єкти. *Молодий вчений*. 2015. Т. 21, № 6. С. 8–11.
5. Information Technology of Color Imaging Assessment of *Saccharomyces cerevisiae* UCM Y-517 Yeast Volutin Granules / O. M. Gromozova et al. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2020. Vol. 82, no. 5. P. 30–35. URL: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.05.030>
6. Microorganisms As A Model System For Studying The Biological Effects Of Electromagnetic Non-Ionizing Radiation / E. Gromozova et al. *Safety Engineering*. 2012. Vol. 2, no. 2. P. 89–92. URL: <https://doi.org/10.7562/se2012.2.02.06>
7. Gromozova, O.M.; Kachur, T.L.; Vishnevsky, V.V.; Sychev, O.S. Information Technology of Color Imaging Assessment of *Saccharomyces cerevisiae* UCM Y-517 Yeast Volutin Granules. *Mikrobiol. Z.* 2020; 82(5):30-35. (Ukrainian). doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj82.05.030>.