

СЕЛЕКТИВНАЯ ПОВЕДЕНЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ TRICHOPLAX (PLASOZOA) НА RGB – СВЕТОВЫЕ СТИМУЛЫ

Капцов В.А.¹, Дейнего В.Н.¹, Козырицкий Д.В.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт гигиены транспорта Роспотребнадзора
Пакгаузное шоссе, 1, корп. 1, г. Москва, 125438, РФ; e-mail: kapcovva39@mail.ru

² Гимназия № 8 имени Н.Т. Хрусталева
ул. Хрусталева, 45, г. Севастополь, 299029, РФ; e-mail: d.kozyrytski@gmail.com

Поступила в редакцию: 15.07.2021

Аннотация. При гигиенических исследованиях актуальной задачей является поиск простых многоклеточных животных с социальным поведением для решения фундаментальных вопросов взаимодействия клеток с дестабилизирующими факторами внешней среды. К таким факторам относится световая среда, которая через спектральный состав света управляет биологическими часами живых организмов. Свет через систему ганглиозных клеток глаз и шишковидную железу с ее системой «серотонин-мелатонин» управляет «циркадными ритмами» человека. Шишковидная железа в своей структуре имеет пространственное распределение микрокристаллов CaCO₃, клетки синтеза серотонина и мелатонина из триптофана, а также нейропептидную сеть. Поиск животного для исследования и моделирования процессов в шишковидной железе человека является актуальной гигиенической задачей. Таким модельным животным может стать Trichoplax (Plasozoa), имеющий простейшую организацию среди известных организмов всего с шестью различными типами клеток, но с выдающимся социальным поведением. Проведен теоретический анализ спектрального состава света и степени его поляризации в морской среде обитания простейшего многоклеточного животного Trichoplax (Plasozoa), а также особенностей его генно-клеточного строения. Исходя из законов гидрооптики и стратегии выживания («пища-жертва») определены координатные оси световой среды для Trichoplax: (световая вертикаль (395 нм) и две горизонтальные световые оси – отраженный горизонтальный свет от пищи (зеленый – 532 нм) и исходящий от арагонитового панциря хищника моллюска флуоресцентный свет (красный – 630 нм). На основании реакций животного на эти RGB световые стимулы высказана и подтверждена гипотеза о наличии RGB-таксиса у Trichoplax. Для управления Trichoplax выбраны монохромные световые сигналы красный – 630 нм, зеленый – 532 нм и синий – 395 нм.

Ключевые слова: световые стимулы, Trichoplax, кристаллические клетки, арагонит, шишковидная железа, кристаллы кальцита, фототаксис, триптофан, серотонин, нейропептидная сеть, циркадные ритмы.

Одним из ключевых факторов, влияющих на здоровье человека, является свет, который действует на шишковидную железу, ответственную за циркадные ритмы и синтез, серотонина и мелатонина из триптофана. Шишковидная железа состоит из клеток с кристаллами кальцита и нейропептидной сети, которая связана с нейронами мозга человека. Одной из актуальных проблем гигиены является поиск простых и недорогих в содержании биологических объектов для проведения исследований по влиянию света на биохимические процессы, протекающие в системе «кристаллы кальцита и нейропептидная сеть». Такие животные найдены – это Trichoplax, которые представляют собой новые модельные организмы с огромным потенциалом для многих областей биологических, биомедицинских и гигиенических исследований [1].

Многоклеточные животные Trichoplax в своей структуре содержат кристаллические клетки кальцита, нейропептидную сеть, нейромедиатор серотонин, в них обнаружен триптофан и каналы для мелатонина. Изучение данного животного представляет интерес не только для специалистов по гигиене света, но и труда, коммунальной, гигиене детей и подростков, гигиене питания, как простая биологическая модель для проведения экспериментов по изучению неблагоприятных влияний на живые клетки. Специалисты считают, что этот вид может стать научной суперзвездой, несущей ключи к истокам развития многоклеточных животных, мозга и рака.

Trichoplax (Plasozoa) – это простейшее многоклеточное животное, появившееся 780 миллионов лет назад и дожившее до наших дней. Представляет собой «блинчик» размером менее 2 мм, толщиной 25 мкм, состоящий из трех слоев клеток и обитающий в теплых морях на глубине от 5 до 20 м [1]. С биологической точки зрения знания о его жизнестойкости, клеточном строении и межклеточном взаимодействии, а также коллективном поведении имеют большую ценность для познания эволюционных процессов развития животных и человека. Поиск светочувствительной системы у Trichoplax и открытие у него RGB-таксиса приоткрывает тайны выживания и эволюции цветного зрения у многоклеточных.

Основное условие эволюции – выживание в среде обитания, которая характеризуется спектром света, пищевыми ресурсами, множеством хищников, концентрацией веществ и газов (Ca, Na, Mg, Ru) в воде, уровнем кислотности pH, температурой. Эволюционный закон выживания определяет клеточное строение животного, функциональное взаимодействие между клетками и симбионтами, а также поведенческую реакцию животного на воздействия (изменения концентрации веществ, химические, световые), окружающей среды. Изменение концентрации Ca и Mg в воде влияет на животное Trichoplax: оно распадается на клетки при уменьшении

концентрации этих ионов или собирается из клеток вновь при возвращении концентрации веществ в норму. Выделяемые пищей вещества останавливают *Trichoplax* над ней с большой точностью. Животное *Trichoplax* выживает сотни миллионов лет в морской сине-зеленой световой среде. Это говорит о том, что сенсорная система *Trichoplax* и его строение отвечают закону необходимого разнообразия – для устойчивого существования биологической (в том числе кибернетической) системы необходимо, чтобы она обладала внутренним разнообразием, требуемым для блокирования любых внешних и внутренних возмущений [2].

Высокая жизнеспособность простейшего многоклеточного животного *Trichoplax* H2 при минимально необходимом внутреннем разнообразии определяется наличием: – клеток (шесть типов клеток при их общем количестве около 50000 штук); – симбиотов (бактерии *Grellia incantans* G. и Рутманния); – генов (геном *Trichoplax* включает 11,5 тысяч генов [3]); – сенсоров – кристаллических клеток (0,2% от общего количества клеток). Это минимальное разнообразие и привлекло внимание к простейшему животному *Trichoplax* исследователей из университетов многих стран, которые в основном изучают:

- генно-клеточное строение *Trichoplax*, типы клеток: вентральные эпителиальные; липофильные; железистые; волокнистые; дорсальные эпителиальные. Кристаллические клетки, содержащие кристалл арагонит, были открыты только в 2014 г. [4];

- процессы пищеварения, хемотаксиса и размножения *Trichoplax* [5];

- функционирование нейропептидной [6] системы и нейромедиаторов. Активно исследуется роль триптофана и серотонина в жизни *Trichoplax* [7];

- различные каналы (ионов кальция, натрия и сигнальных молекул NO).

В кристаллических клетках обнаружены натриевые потенциалы действия [8], определяющие биомеханику движения тела животного и его клеток [9, 10], система кристаллических клеток с кристаллами арагонита – как гравитационные сенсоры [11, 12]. В то же время мы не нашли работы, в которых бы рассматривались вопросы фототаксиса и тем более RGB-таксиса.

Проблема состоит в том, что сегодня отсутствует классификация сенсорных систем *Trichoplax*, а механизмы их действия малоизучены и полны противоречий. Авторами проанализированы работы международного коллектива исследователей *Trichoplax* различных континентов. Инициаторами работ по изучению биологии *Trichoplax* (в частности, электрической активности его кристаллических клеток, нейропептидной системы и сигнальных молекул NO) являются Л. Мороз (Флоридский университет) с соавторами, российский специалист по пластинчатым М. Никитин (МГУ им. Ломоносова), а также сотрудники Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Д. Романова и И. Смирнов [13-15]. Ранние исследования о *Trichoplax* изложены в книге Серавина Л.Н. и Гудкова А.В. [16]. Каролин Смит, нейробиолог из Национального института здоровья в Бетесде (США, штат Мэриленд) и Томас Риз обнаружили в протонервной системе *Trichoplax* клетки, которые содержат разновидность минерального кристалла. Этот кристалл всегда опускается на «дно» клетки, независимо от того, в каком положении находится животное: стоит он ровно, под наклоном или перевернут. Таким образом, *Trichoplax* использует эти клетки, чтобы «почувствовать», где находится верх, а где низ [17]. Каролин Смит указывает, что кристаллические клетки являются частью протонервной системы *Trichoplax*. Это важное положение для понимания роли митохондрий в кристаллической клетке и влияния системы этих клеток на поведенческие реакции *Trichoplax*. Новые знания о строении и поведении *Trichoplax* обсудят на Конференции «Origin of metazoans» (2021 г. Роскофф (Франция)). На ней с докладом «Типы клеток плакозоя – аналоги типов клеток других типов животных?» выступит специалист по кристаллическим клеткам (как гравитационным датчикам) Татьяна Майорова (NIH, Bethesda, США). Также считается, что *Trichoplax* движется по псевдослучайной траектории к пище и является необучаемым и неуправляемым животным [11]. Вопросам динамики движения клеток в теле *Trichoplax* уделяет большое внимание группа исследователей под руководством профессора Ману Пракаш (Университет Стэнфорд, США) [9,10]. В этих исследовательских центрах специалистами не рассматривались вопросы влияния водной световой среды на генно-клеточное формирование *Trichoplax* и его поведенческие реакции. Только в одной статье говорилось о том, что ночью в чашке Петри активность *Trichoplax* ограничена (они собираются в группу), а при свете они разбегаются [18]. Эффект «разбегания» группы *Trichoplax* под воздействием яркого искусственного светодиодного света (от подсветки предметного столика оптических микроскопов) наблюдали многие исследователи, но при этом каждый давал свою трактовку этому эффекту [7,20].

В природе жизнь животного *Trichoplax* тесно связана с солнечным светом, который меняет интенсивность и спектр, поярусно наполняя морские глубины красками цветов. Водный мир в сине-зеленом свете на глубине обитания *Trichoplax* от 5 до 20 м наполнен многообразием цветов, которое увеличивается за счет флуоресцентного света от кристаллов арагонита, гуанина и других органических соединений флоры и фауны. В этом многообразии цветов световых стимулов простейшее многоклеточное животное *Trichoplax* ориентируется уже 780 миллионов лет и успело накопить большой список генов опсинов (RDD38879.1, RDD36429.1). В морской воде эти многоклеточные по свету от флуоресценции и отраженному свету распознают врагов и источники пищи. При этом происходит межвидовая коммуникация [21] и ориентация животного в координатах «свет – цвет пищи – цвет врага». Для ориентации в этом хаосе цветов необходимо выбрать систему световых координат и команд для соответствующей поведенческой реакции (пища - стоп и можно есть, продолжить движение, опасность – изменить направление движения).

Световая среда обитания характеризуется уровнем освещенности, спектром света, степенью его поляризации. Для морских обитателей ключевой характеристикой света является поляризация, так как многие

обитатели морской стихии имеют в светочувствительной системе линзы из кристаллов кальцита (арагонита), который обладает двулучепреломлением. Это основа их поляризационного зрения, эффективность которого усиливается при наличии в глазах отражателей из кристалла гуанина. Также эти кристаллы на чешуе рыб обеспечивают их обладателям невидимость на углах атаки хищников [20], а флюоресценция этих кристаллов обеспечивает межвидовую коммуникацию [21,23].

Поляризованный свет сужает сектор обзора животного, но обеспечивает ему «квазипрямолинейное» движение к цели (источнику пищи). Для расширения сектора обзора необходимо иметь множество разнонаправленных фоточувствительных датчиков с арагонитом, как у хитона, или постоянно крутить телом, на котором находятся эти световые датчики. В поляризованном свете в мутной воде видно дальше и контрастней. Подводная поляризация света является максимальной, когда вы смотрите под углом 90° в сторону от основного направления распространения света, и минимальной при направлении взгляда, как по направлению распространения света, так и от него. Опускаясь глубже, независимо от положения солнца, самый яркий свет идет сверху вниз, поэтому поляризация минимальна, если смотреть прямо вверх и прямо вниз, и максимальна, если смотреть горизонтально [24]. Если смотреть снизу-вверх (от дна на поверхность моря), то в соответствии с законом полного отражения будет виден светлый круг, из которого истекает свет [25]. Этот свет является световой вертикалью и несет информацию для многоклеточного, где находится верх. Зелено-фиолетовый свет освещает зеленые водоросли (пища для *Trichoplax*), которые в отраженном (поляризованном) свете имеют ярко-зеленую окраску. У маленького *Trichoplax* есть враги, например, брюхоногие моллюски или стрекающие [26]. Панцирь всех моллюсков содержит карбонат кальция (CaCO_3), который может находиться в виде двух модификаций: - арагонита — характерен для более древних моллюсков; перламутровый слой всегда состоит только из арагонита; - кальцита — по-видимому, эта модификация более позднее приобретение моллюсков.

Кристаллы кальцита (арагонита) при облучении светом 395 нм светятся красным светом 630–650 нм. Этот горизонтально распространяющийся свет демаскирует хищника и многоклеточные *Trichoplax* покидают его территорию. Итак, для пространственной ориентации у многоклеточного *Trichoplax* есть три световые координаты. Это две горизонтальных координаты - направления на зеленый и красный свет и одно вертикальное направление - фиолетовый свет, идущий сверху вниз (гелиовертикаль). В лучах фиолетового света животное *Trichoplax* узнает, где находится пища или враг.

Исходя из особенностей клеточного строения (в частности, наличия кристаллических клеток с кристаллами арагонита) и перечня генов опсинов была высказана гипотеза о наличии RGB-таксиса у животного *Trichoplax*. Рассмотрим, насколько генно-клеточное строение *Trichoplax* способствует стратегии выживания и ориентации по световым координатам (фиолетового, зеленого и красного света). Фиолетово-зеленый свет интегрально воздействует на все клетки *Trichoplax*, при этом кристаллические клетки по своему строению выполняют роль светового сенсора по следующим характеристикам:

- большое количество этих клеток в теле одного животного (75 шт), подобно тому, как у моллюска хитона имеется множество арагонитовых глаз;
- размещение их в зоне края пластинки тела (10-20 мкм от края);
- наличие в них кристалла арагонита (как основы поляризационного зрения);
- тесная связь с другими клетками (с волокнистыми и липофильными) актиновыми нитями [11].

Систему кристаллических клеток хорошо видно в поляризованном свете на краях пластинчатого тела *Trichoplax* H2. У животного *Trichoplax* H4 под слоем верхних дорсальных клеток расположены ряды кристаллических клеток [8] содержащих линзовидные, ромбовидные кристаллы арагонита ~ 2 мкм в диаметре, чашевидное ядро, прилегающее к одной стороне клетки, и две центрально расположенные митохондрии, фланкирующие кристалл арагонита. Эти кристаллы арагонита обновляются, как у хитона. За их формирование в кристаллических клетках отвечает процесс биоминерализации [27]. Множество двулучепреломляющих кристаллов арагонита оказывает влияние на характер движения *Trichoplax*. Перед началом движения *Trichoplax* вращается и после нескольких оборотов движется в выбранном направлении. Такое сканирующее движение системой кристаллических клеток характерно для животного, у которого имеется поляризационное зрение, а также для систем, проводящих стохастическую оценку величины и направления светового сигнала.

При этом необходимо отметить, что кристалл арагонита при облучении светом 395 нм светится красным светом 630 нм, который благотворно влияет на фланкирующие его митохондрии. Красный свет стимулирует выработку митохондриями дополнительной порции АТФ [28] или кванта энергии [29], если она (митохондрия) находится в протонервной системе [17] и в клетке есть окись азота, которая подавляет выработку АТФ [31]. Этот факт очень интересен в свете открытия в кристаллических клетках *Trichoplax* потенциал-зависимых каналов действия [30].

О функционировании и строении кристаллических клеток в настоящее время известно мало, но исследования их строения продолжаются [11, 30]. Так в работе [11] показано следующее:

- эпителиальные клетки, контактировавшие с кристаллическими клетками, принадлежали эпителию по окружности животного и имели столбчатую форму с узким концом на поверхности. Более того, они отличались от других эпителиальных клеток тем, что содержали заметные пучки актиновых нитей по всему периметру [11];
- слой актина окружает кристаллические клетки [11]. Возможно, сокращение актиновых нитей вызывает формирование центров сжатия на верхней поверхности дорсальных клеток [9].

В работах [13,30] приведены результаты комбинированного анализа геномных, молекулярных и микрохимических исследований, демонстрирующие присутствие в кристаллических клетках *Trichoplax* функциональных ферментов синтеза монооксида азота (NOS) [13, 30].

Субстратом для NO-синтаз в синтезе оксида азота NO является L-аргинин [13], который является оптически активным. В зависимости от его концентрации меняется плоскость поляризации обыкновенного и необыкновенного лучей света, исходящих из кристалла арагонита. Окись азота может влиять на режим функционирования митохондрий [31], которые фланкируют кристалл арагонита. L-аргинин с металлоорганическими соединениями, может организовывать светочувствительные комплексы, такие как рутений-полипиридин [32] и другие металлы [33]. Они могут поглощаться из морской воды или из синие-зеленых водорослей и взаимодействовать с азотистыми соединениями цитоплазмы, в которых имеются дополнительные включения - светлые и темные пузырьки и аппарат Golgi [11, 30]. Известно, что с помощью везикулярного транспорта прошедшие через аппарат Golgi белки доставляются «по адресу» в зависимости от полученных ими в аппарате Golgi «меток». Везикулярный транспорт способствует формированию в кристаллической клетке кристалла арагонита [34], а наличие белков, гуанина и цитоплазмы создает предпосылки для формирования иридоцитов на поверхности чашевидного ядра.

Иридоциты — пигменты, в которых чередуются слои белковых пластин, кристаллов гуанина и цитоплазмы [19]. Из-за разных показателей преломления этих слоев пигменты интерферируют световые волны и могут отражать свет от ультрафиолетового до дальнего красного. Функции у пигментов иридоцитов самые разные: они могут предотвращать диффузию газов, защищать от перегрева, быть частью зрительной системы, помогать внутривидовой коммуникации или служить маскировкой. Отражающие свойства кристаллов гуанина зависят от их ориентации, которая может определяться параметрами внешнего магнитного поля [35-37]. Наличие в кристаллических клетках иридоцитов позволит расширить их функциональную роль.

Сегодня точные функции кристаллических клеток не классифицированы и учеными рассматриваются разные гипотезы их функционального назначения. В работах [11] экспериментально доказывается гипотеза, что кристаллические клетки являются статоцитами. Автор работы [11] считает: поскольку кристаллы кажутся достаточно тяжелыми, чтобы менять положение внутри кристаллической ячейки в ответ на гравитацию и разрушаются во время секционирования, мы предположили, что на самом деле это маленькие камни; - кристаллы CaCO_3 толщиной от 30 до 150 мкм встречаются в некоторых хитонах [38,39], хрупких морских звездах [40] и вымерших трилобитах [41], где они, как полагают, фокусируют свет, но кристаллы в *Trichoplax*, по-видимому, слишком малы, чтобы функционировать таким образом [11]. По данным работы [11], эксперименты проводились в затемненном помещении при постоянной цветовой температуре света, исходящего из прецизионного светового короба с регулируемой интенсивностью и контролем температуры (Northern Light Technologies, Inc., Канада). Стеклоянный контейнер с *Trichoplax* помещали на пластиковую чашку Петри, центрированную по уровню освещенности поверхности от светильника (светового короба) (освещенность 276 люкс). Известно, что светильники Northern Light Technologies, Inc., Канада применяются для светотерапии человека (при управлении циркадными ритмами) и построены на базе энергосберегающей лампы Northern Light Technologies с цветовой температурой 3500 К с подавлением УФ в спектре светильника. В спектре данного источника света преобладают красные и зеленые составляющие. Энергетически преобладает зеленый свет, фотоны которого имеют большую энергию, чем фотоны красного света [42]. По данным работы [11], при зелено-красном спектре света светильника Northern Light Technologies животные *Trichoplax* с разным содержанием кристаллических клеток вели себя по-разному на вертикальной стенке стеклянного контейнера. Возникает вопрос, что определило поведенческую реакцию *Trichoplax* в этом эксперименте - сила тяжести или спектральный состав света?

В рамках этого вопроса приобретает актуальность высказанная гипотеза о том, что у *Trichoplax* присутствует RGB-таксис. Для экспериментальной проверки гипотезы о наличии RGB-таксиса у *Trichoplax* под руководством руководителя проекта «*Trichoplax* для бионики» д.б.н. Кузнецова А.В. были проведены экспериментальные исследования на базе лаборатории биоразнообразия и функциональной геномики Мирового океана ФИЦ «ИнБИОМ им. А. О. Ковалевского РАН».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на лабораторных животных *Trichoplax* sp. H2. Культивирование животных в лабораторных условиях осуществлялось в закрытых чашках Петри, заполненных фильтрованной морской водой (соленость 35‰, pH 7,6–8,2) в холодильном шкафу (Серийный номер A279251217. Фирма Polair.) В условиях длительного культивирования у животных отсутствовали значительные морфологические изменения [43]. Исследования поведенческой реакции *Trichoplax* выполняли с использованием современных методов оптической микроскопии:

- оптический микроскоп Nikon Eclipse Ts2R-F1;
- оптические микроскопы: Nikon SMZ-1270, Stemi 305;
- оптический микроскоп «Леонардо 3.0» (специально разработанный под проект), позволяющий одновременно наблюдать поведение группы *Trichoplax* и каждого *Trichoplax* этой группы при низком уровне освещенности и стабильной температуре водной среды его обитания. В микроскопе были применены две веб-камеры – верхняя с матрицей 1,9 Мп и нижняя – 5 Мп). Микроскоп был оборудован манипулятором для подачи по оптоволокну световых стимулов. С двух камер изображение выводилось на экран ноутбука HP laptop Model14-

dk0028ur, на котором записывались и хранились видеофайлы. Фиксация поведенческой реакции животных осуществлялась с помощью цифровой камеры INFINITY.

Для описания реакции животного на световые стимулы мы использовали следующую терминологию:

- кинезис – это ненаправленное движение организма или клетки в ответ на стимул, поиск комфортного уровня освещенности.

- таксис – это движение или ориентация клетки, организма или части организма в ответ на внешний стимул и движение к стимулу или от него. Фототаксис- движение на свет или от света без анализа спектра.

- RGB-таксис – это селективная поведенческая реакция на световой стимул с разной длиной волны (разного цвета). RGB-таксис предполагает, что у животного имеется способность к анализу и принятию решения при регистрации световых стимулов с различной длиной волны.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе исследований была применена технология черного ящика, которая заключалась в следующем: животных по стандартной методике помещали в чашку Петри, фиксировали их положения на видеокамеру, после чего с помощью оптоволоконка подавались световые сигналы (532 нм, 630 нм, 395 нм) к местам нахождения животных и осуществлялась видеофиксация их поведения. Источники световых стимулов были выбраны исходя из спектра солнечного света, достигающего глубин обитания *Trichoplax*, поляризованных источников света в среде его обитания, строения кристаллических клеток и перечня генов опсинов. Обобщенные данные выбора приведены в таблице 1.

Для исключения влияния постороннего освещения на проводимый эксперимент был собран оптический микроскоп «Леонардо 3.0» с двумя веб-камерами, которые могут работать с минимальным уровнем освещенности, намного меньшим, чем указанный в работе [11]. Предметный столик микроскопа был обклеен светопоглощающей черной тканью. Данный микроскоп позволил открыть эффект RGB-таксиса у *Trichoplax*.

Фрагменты изменения формы тела *Trichoplax* при воздействии УФ 395нм представлены на рисунке 1.

Таблица 1. Обобщенные результаты выбора световых стимулов

Характеристика светового стимула	Глубина, на которой поглощается 99% света, (м)	Наличие генома опсина, соответствующего определенной длине волны света	Источники света в среде обитания	Источники света для моделирования
УФ 395нм	107	RDD38879.1 Violet-sensitive opsin [<i>Trichoplax</i> sp. H2]	Солнечная гелиовертикаль	Профессиональный фонарь геолога
Зеленый	113	RDD36429.1 Green-sensitive opsin [<i>Trichoplax</i> sp. H2]	Отраженный от водорослей свет	Лазер 532нм с оптоволоконном
Красный	4	Вопрос открыт	Отраженный от арагонитового панциря хищника моллюска свет	Лазер 630нм-650нм
Синий	254	RDD38730.1 Blue-sensitive opsin [<i>Trichoplax</i> sp. H2] RDD42761.1 Blue-sensitive opsin [<i>Trichoplax</i> sp. H2] RDD39212.1 Blue-sensitive opsin [<i>Trichoplax</i> sp. H2]		Светодиодные источники света при 6500К
Оранжевый и Желтый	25 и 51	нет		Лампа накаливания

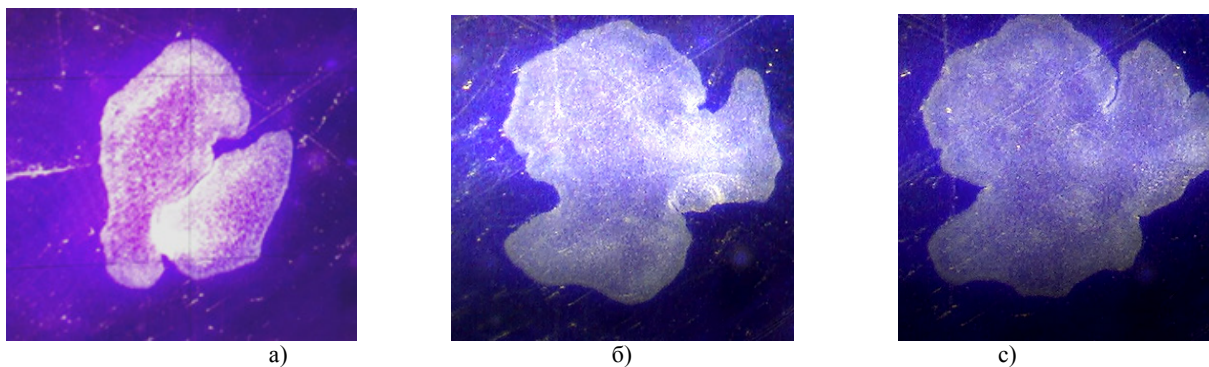


Рисунок 1. а) Форма тела Trichoplax при воздействии УФ 395нм. Trichoplax пытается раскрутить пластинку тела, свернутого в восьмерку; б) Форма пластинки Trichoplax при раскручивании восьмерки; в) Восстановленная форма пластинки Trichoplax после восстановления в УФ свете 395 нм (авторское фото, увеличение 60х)

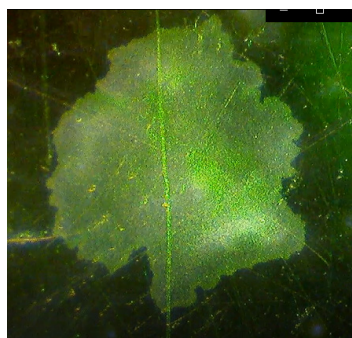


Рисунок 2. Форма края пластинки Trichoplax при воздействии зеленого света 532 нм с зубцами по линии края тела. Эффект «кленового листа» (авторское фото, увеличение 60х)

Под воздействием зеленого света 532 нм Trichoplax останавливается, края становятся изрезанными, фестончатыми (типа «кленового листа», рис. 2).

Обобщенные результаты первого опыта приведены в таблице 2.

По результатам серии опытов, проведенных при участии руководителя проекта «Trichoplax бионики» д.б.н. Кузнецова А.В., можно сделать следующие выводы:

Таблица 2. Обобщенные результаты испытаний на оптическом микроскопе Леонардо 3.0

Испытуемый Trichoplax хранился в стандартных условиях лаборатории, при пересадке в чашку Петри перекрутил тело по типу «восьмерки».			
№цикла	Длина волны светового стимула	Реакция испытуемого Trichoplax	Время воздействия, секунд
1цикл	532нм	Замер и сохранял перекрученную форму	58
	Led6500K	Форма восьмерки сохранилась	12
	395нм	Начал интенсивно двигаться раскручивая восьмерку	60
2цикл	532нм	Процесс раскручивания остановлен, замер и на краях пластинки появились зубцы –эффект	37
	395нм	Начался активный процесс раскручивания восьмерки до полного восстановления формы тела до стандартной	50
		Начал активно двигаться в сторону источника света	
3цикл	532нм	Остановили активное движение, на краях пластинки появились зубцы	34
	395нм	Восстановилась активность движения, края пластинки округлились	82
4цикл	532нм	Активность спала до остановки, края пластинки заострились	60
	395нм	Края округлились, активность движения возросла	55
5цикл	532нм	Остановился, края пластинки заострились	33
	395нм	Началось активное движение, края пластинки округлились	100

1. При воздействии зеленого света (532 нм) останавливается движение Trichoplax, замирает движение клеток в его внутренней структуре.
2. Под воздействием ультрафиолетового света (395 нм) возникают вихревые движения внутренних клеток с последующим изменением формы Trichoplax и началом его движения в сторону источника ультрафиолетового света, который является преобладающим в световой среде на глубине обитания Trichoplax.
3. При воздействии красного света (650 нм) уменьшается скорость движения Trichoplax, происходит замирание движения внутренних клеток на время паузы, через некоторое время Trichoplax начинает движение от источника красного света. Данные результаты получены при комфортной для Trichoplax температуре водной среды.
4. Впервые с помощью световых сигналов проведено управление поведением Trichoplax и его клетками, а также доказано наличие у Trichoplax RGB-таксиса.
5. Представленный метод может использоваться в гигиенических исследованиях влияния внешних загрязнителей на окружающую среду, а также при воздействии света на шишковидную железу человека.

Список литературы/References:

1. Schierwater B., DeSalle R. Placozoa. *Current Biology*, 2018, vol. 28, no. 3, pp. 97-98.
2. Брылев В.А., Крючков В.Н., Залепухин В.В. *Теоретические аспекты биоразнообразия: Учебное пособие*. Волгоград: Изд-во ВолГУ, 2003. [Brylev V.A., Kryuchkov V.N., Zalepukhin V.V. *Theoretical aspects of biodiversity: Tutorial*. Volgograd: VolGU Publishing House, 2003. (In Russ.)]
3. Srivastava M. et al. The Trichoplax genome and the nature of placozoans. *Nature*, 2008, vol. 454, pp. 955-960.
4. Smith C. et al. Novel Cell Types, Neurosecretory Cells and Body Plan of the Early-Diverging Metazoan, Trichoplax adhaerens 2014. *Curr Biol.*, 2014, vol. 24, no. 14, pp. 1565-1572. doi: 10.1016/j.cub.2014.05.046
5. Smith C.L., Pivovarova N., Reese T.S. Coordinated Feeding Behavior in Trichoplax, an Animal without Synapses. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 9, e0136098. DOI: 10.1371/journal.pone.0136098
6. Moroz L.L. NeuroSystematics and Periodic System of Neurons: Model vs Reference Species at Single-Cell Resolution. *ACS Chemical Neuroscience*, 2018, vol. 9, pp. 1884-1903. doi:10.1021/acscchemneuro.8b00100
7. Никитин М. Нейротрансмиттеры и их функции у трихоплакса - животного без нервной системы. <https://www.youtube.com/watch?v=OwnA4oFro0w>. [Nikitin M. Neurotransmitters and their functions in Trichoplax - an animal without nervous systems. (In Russ.)]
8. Romanova D.Y., Smirnov I.V. et al. Sodium action potentials in placozoa: Insights into behavioral integration and evolution of nerveless animals. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.08.020
9. Armona Sh., Storm Bullb M., Aranda-Diaz A., Manu Prakasha. C Ultrafast epithelial contractions provide insights into contraction speed limits and tissue integrity. *PNAS*, 2018, vol. 115, no. 44.
10. Ilton M. et al. The principles of cascading power limits in small, fast biological and engineered systems. *Science*, 2018, vol. 360, eaao1082.
11. Mayorova T.D. et al. Cells containing aragonite crystals mediate responses to gravity in Trichoplax adhaerens (Placozoa), an animal lacking neurons and synapses. *PLoS One* 13, 2018, e0190905. doi: 10.1371/journal.pone.0190905
12. Mayorova T.D. et al. A Gravity-Sensing Cell in Trichoplax adhaerens, an Early Branching Metazoan. 337.04. Conference: Society for Neuroscience 2016, in San Diego.
13. Moroz L.L., Romanova D.Y., Nikitin M.A., Dosung Sohn, Kohn Andrea B. The diversification and lineage-specific expansion of nitric oxide signaling in Placozoa: insights in the evolution of gaseous transmission Emilie Neveu, and Dirk Fasshauer Frederique Varoquaux Scientific reports, Nature Publishing Group (United Kingdom), 2020. doi: 10.13020-10
14. Nikitin M. Bioinformatic prediction of Trichoplax adhaerens regulatory peptides. *General and Comparative Endocrinology, Academic Press (United States)*, 2014. doi: 10.1016/j.ygcen.2014.03.049
15. Романова Д.Ю. Разнообразие клеточных типов у гаплотипа H4 PLACOZOA SP. *Морской биологический журнал*, 2019, т. 4, № 1, pp. 81-90. [Romanova D.Yu. Diversity of cell types in the H4 PLACOZOA SP. *Nautical biological journal*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 81-90. (In Russ.)]
16. Серавин Л.Н., Гудков А.В. Trichoplax adhaerens (тип Placozoa) – одно из самых примитивных многоклеточных животных. Санкт-Петербург: ТЕССА, 2005, т. 69. [Seravin L.N., Gudkov A.V. Trichoplax adhaerens (type Placozoa) is one of the most primitive multicellular animals. St. Petersburg: TESSA, 2005, vol. 69. (In Russ.)]
17. Знакомьтесь: Трихоплакс, простейшее животное на Земле <https://scientificrussia.ru/articles/znakomtes-trihoplaks-prostejshee-zhivotnoe-na-zemle>. [Meet Trichoplax, the simplest animal on Earth (In Russ.)]
18. Heyland A., Coll R., Goodall S., Kranyak J., Wyeth R. Trichoplax adhaerens, an Enigmatic Basal Metazoan with Potential Trichoplax adhaerens, February. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 2014, vol. 1128, pp. 45-61.
19. Журавлев Ю.Н., Карпенко А.А., Гузев М.А. К многообразию функций гуанинсодержащих структур в живых системах. *Вестник ДВО РАН*, 2021, № 2. [Zhuravlev Yu.N., Karpenko A.A., Guzev M.A. To the variety of functions of guanine-containing structures in living systems. *Bulletin FEB RAS*, 2021, no. 2. (In Russ.)] doi: 10.371102/0869-7698_2021_02_01
20. Mansi Srivastava. The Trichoplax genome and the nature of placozoans. *Nature*, 2008, vol. 454, pp. 955-960.

21. «Невидимая» рыба может осветить путь к лучшим оптическим устройствам <https://ru.livingorganicnews.com/invisible-fish-could-light-way-better-optical-devices> 775007. [Invisible Fish May Light the Way to Better Optics (In Russ.)]
22. Characterization of Light Reflection of Fish Guanine Crystals by Diamagnetic Micromanipulation.
23. Michiels N.K., Anthes N., Hart N.S., Herler J., Meixner A.J., Schleifenbaum F., Schulte G., Siebeck U.E., Sprenger D., Wucherer M.F. Red fluorescence in reef fish: A novel signalling mechanism? *BMC Ecology*, 2008, vol. 8, no. 16. doi: 10.1186/1472-6785-8-16
24. Johnsen S. The Optics of Life: A Biologist's Guide to Light in Nature "Оптика жизни: руководство биолога по свету в природе" <https://babylonzoo.blog/optics/index.html>
25. Очаковский Ю.Е., Копелевич О.В., Войтов В.И. Свет в море <https://coollib.com/b/279274/read>. [Ochakovsky Yu.E., Kopelevich O.V., Voitov V.I. Light in the sea (In Russ.)]
26. Eitel M., Osigus H.J., DeSalle R., Schierwater B. Global diversity of the Placozoa. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 4, e57131. DOI: 10.1371/journal.pone.0057131. PMID 23565136.
27. Wenjie Zhu, a Jiaping Lin, a Chunhua Caia, Yingqing Lua. Biomimetic mineralization of calcium carbonate mediated by a polypeptide-based copolymer.
28. Nicolette Nadene Houreld Shedding Light on a New Treatment for Diabetic Wound Healing: A Review on Phototherapy *ScientificWorldJournal*. 2014 doi: 10.1155/2014/398412.
29. Чачина Н.А., Кирток А.Н., Фролова М.С., Векшин Н.Л. Митохондрии – силовые электростанции нейронных сетей. *Нейроинформатика: Сборник статей. Ч. 1*, М., 2013, с. 219-229. [Chachina N.A., Kirtok A.N., Frolova M.C., Vekshin N.L. Mitochondria – power plants of neural networks. *Neuroinformatics Collection of articles. Part 1*, М., 2013, pp. 219-229. (In Russ.)]
30. Романова Д.Ю. *Сравнительный анализ организации типов клеток и поведения у PLACOZOA*. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. 2020, 26 с. [Romanova D.Yu. *Comparative analysis of the organization of cell types and behavior in PLACOZOA*. Abstract of dissertation for the degree of candidate biological sciences. 2020, 26 p. (In Russ.)]
31. Novikov V.E., Levchenkova O.S., Pozhilova E.V. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. *Smolensk State Medical University*, Smolensk, Russia, 2016, vol. 14, no. 2, pp. 38-46.
32. Perez Y.R., Etchenique R. Optical manipulation of animal behavior using a ruthenium-based phototrigger. *Photochemical & Photobiological Sciences Issue*, 2019, vol. 1.
33. Юрре Т.А., Рудая Л.И., Климова Н.В., Шаманин В.В. Органические материалы для фотовольтаических и светоизлучающих устройств. *Физика и техника полупроводников*, 2003, т. 37, № 7. [Yurre T.A., Rudaya L.I., Klimova N.V., Shamanin V.V. Organic materials for photovoltaic and light-emitting devices. *Physics and technology of semiconductors*, 2003, vol. 37, no. 7. (In Russ.)]
34. Crystallization Pathways in Biomineralization. *Annual Review of Materials Research*, 2011, vol. 41, pp. 21-40. doi: 10.1146/annurev-matsci-062910-095803
35. Mizukawa Y. Characterization of Light Reflection of Fish Guanine Crystals. *Diamagnetic Micromanipulation Doctoral Theses*, 2016, vol. 111.
36. Chikashige T., Iwasaka M. Magnetically-assembled micro/mesopixels exhibiting light intensity enhancement in the (012) planes of fish guanine crystals. *AIP Advances* 8, 2018, 056704. doi: 10.1063/1.5006135
37. Gur D., Palmer B.A., Weiner S., Addadi L. Light Manipulation by Guanine Crystals in Organisms: Biogenic Scatterers, Mirrors, Multilayer Reflectors and Photonic Crystals *Advanced functional materials*, 2017, vol. 27, iss. 6, 20171603514.
38. Speiser D.I., Eernisse D.J., Johnsen S. A chiton uses aragonite lenses to form images. *Curr Biol.*, 2011, vol. 21, pp. 665-670. doi: 10.1016/j.cub.2011.03.033 PMID: 21497091.
39. Speiser D.I., DeMartini D.G., Oakley T.H. The shell-eyes of the chiton *Acanthopleura granulate* (Mollusca, Polyplacophora) use pheomelanin as a screening pigment. *J Nat Hist.*, 2014, vol. 48, pp. 2899-2911. doi: 10.1080/00222933.2014.959572
40. Aizenberg J., Tkachenko A., Weiner S., Addadi L., Hendler G. Calcitic microlenses as part of the photoreceptor system in brittlestars. *Nature*, 2001, vol. 412, pp. 819-822. doi: 10.1038/35090573 PMID: 11518966
41. Ga'1 J., Horva'th G., Clarkson E.N.K., Haiman O. Image formation by bifocal lenses in a trilobite eye? *Vision Res.*, 2000, vol. 40, pp. 843-853. doi: 10.1016/S0042-6989(99)00216-3 PMID:10683460
42. Козлов Д.В. Физическая химия, лекции <https://studfile.net/preview/4482440/>. [Kozlov D.V. Physical chemistry, lectures (In Russ.)]
43. Разгадать тайны Черного моря: какие работы ведутся в лабораториях ИнБИОМа https://www.youtube.com/watch?v=MEbz9t4eVVA&feature=emb_logo. [Unravel the secrets of the Black Sea: what work is being done in the laboratories of in IBSS (In Russ.)]

SELECTIVE BEHAVIORAL RESPONSE OF TRICHOPLAX (PLACAZOIA) ON RGB-LIGHT STIMULI

Kaptsov V.A.¹, Deynego V.N.¹, Kozyritsky D.V.²¹ All-Russian Research Institute of Transport Hygiene of Rospotrebnadzor
Pakgauznoe highway, 1, bldg. 1 Moscow, 125438, Russia, e-mail: kaptsovva39@mail.ru² Gymnasium № 8 named after N.T. Khrustalev
Khrustalev st., 45, Sevastopol, 299029, Russia, e-mail: d.kozyrytski@gmail.com

Abstract. When conducting hygienic research, an urgent task is to search for simple multicellular animals with social behavior to solve the fundamental issues of the interaction of cells with destabilizing environmental factors. Such factors include the light environment, which controls the biological clock of living organisms through the spectral composition of the light spectrum. Light through the system of ganglion cells of the eyes and the pineal gland with its "serotonin-melatonin" system controls the "circadian rhythms" of a person. The pineal gland in its structure has a spatial distribution of CaCO₃ microcrystals, serotonin and melatonin synthesis cells from tryptophan, as well as a neuropeptide network. The search for a modal animal for the study and modeling of processes in the human pineal gland is an urgent hygienic task. Such a model animal can become a marine animal Trichoplax (Placozoa) has the simplest organization among all known animals with only six distinguishable cell types, but with outstanding social behavior. The theoretical analysis of the spectral composition of light and the degree of its polarization in the marine environment of the simplest multicellular animal Trichoplax (Placozoa), as well as the features of its gene-cell structure, is carried out. Based on the laws of hydrooptics and the survival strategy ("food-prey"), the coordinate axes of the light medium for Trichoplax are determined (the light vertical (395 nm) and two horizontal light axes – the reflected horizontal light from the food (green – 532 nm) and the fluorescent light coming from the aragonite shell of the predator mollusk (red – 630 nm). Based on the animal's reactions to these RGB light stimuli, a hypothesis is made about the presence of an RGB taxis in Trichoplax. The monochrome light signals red – 630 nm, green – 532 nm and blue – 395 nm are selected for Trichoplax control. Experimentally, within the framework of the work "Trichoplax for Bionics", the discovery of an RGB taxi in Trichoplax was confirmed. Trichoplax Movement control RGB -taxis – YouTube

Key words: light stimuli, Trichoplax, crystal cells, aragonite, pineal gland, calcite crystals, phototaxis, tryptophan, serotonin, neuropeptide network, circadian rhythms.