

УДК 595.731

АССОЦИАТИВНОЕ ОБУЧЕНИЕ И ПАМЯТЬ ТРИПСОВ *THRIPS TABACI* (THYSANOPTERA, THRIPIDAE)

© 2022 г. М. А. Федорова^а, *, С. Э. Фарисенков^а, А. В. Тимохов^а, А. А. Полилов^а

^аМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра энтомологии, Москва, 119234 Россия

*e-mail: mariafedorova1997@gmail.com

Поступила в редакцию 10.03.2021 г.

После доработки 17.03.2021 г.

Принята к публикации 18.03.2022 г.

Миниатюризация приводит к значительным перестройкам в строении мозга насекомых. Вопрос о том, как эти перестройки влияют на работу мозга, представляет большой интерес для понимания эволюции мозга и когнитивных особенностей животных. Способность к обучению описана у нескольких видов миниатюрных насекомых, но условия эксперимента подбирались индивидуально для каждого вида и не были стандартизированы, что затрудняет сравнительный анализ данных. Используемая для обучения насекомых термоарена на основе водного лабиринта Морриса была преобразована нами для исследования возможности обучения микронасекомых. С помощью этой установки изучено поведение *Thrips tabaci* (Thysanoptera, Thripidae) и впервые выявлены способности к ассоциативному обучению и формированию памяти у трипсов.

Ключевые слова: микронасекомые, миниатюризация

DOI: 10.31857/S0044513422080062

Микронасекомые в последние годы становятся модельными объектами нейробиологии, так как их миниатюрный мозг с небольшим числом нейронов можно исследовать намного быстрее, чем мозг крупных животных (Makarova et al., 2021). Однако их способность к таким сложным формам поведения, как формирование ассоциативного обучения и памяти, остаются почти не исследованными.

Ассоциативное обучение – одна из форм обучения, при котором в ЦНС формируется стойкая связь между изначально безразличным для животного стимулом и тем, который оказывает на него определенное положительное или отрицательное действие. Поведение насекомых очень пластично, они способны к формированию моделей поведения, которые в определенных условиях приводят к максимальному успеху (Loukola et al., 2017; MaBouDi et al., 2020). Процесс обучения сопряжен с обобщением стимулов (Roper et al., 2017), благодаря чему насекомые узнают целевой паттерн даже при его частичном изменении. Например, они способны при наличии зрительных помех, таких как пятна и полосы, выбирать объект по признаку двцветности, абстрагируясь от других его характеристик (Мазохин-Поршняков, 1968, 1969). Наличие памяти или способности к сохранению личного опыта в виде обобщенных

представлений – это свойство животных с высокоорганизованной нервной системой, которое имеет большое адаптивное значение (Мазохин-Поршняков, 1970а). Особенности процесса обучения и время сохранения информации в памяти зависят от условий среды, силы стимула, биологии вида и индивидуальных особенностей особи (Карцев, Мазохин-Поршняков, 1989; Iakovlev, Reznikova, 2019; Reznikova, 2020; Nityananda, Chitka, 2021). Хотя для обучения насекомым достаточно и одного стимула (De Agrò et al., 2020), в дикой природе их восприятие мультимодально (Mansur et al., 2018; Minoli et al., 2018; Vuehlmann et al., 2020). Главными для насекомых являются зрительная (Мазохин-Поршняков, 1970; Bowdish, Bultman, 1993; Keasar et al., 2000; Wessnitzer et al., 2008) и ольфакторная сенсорные системы (Matsumoto, Mizunami, 2002; Watanabe et al., 2003; McGuire et al., 2005). Соответствующие им стимулы используются в экспериментах поодиночке (Watanabe et al., 2003; Baeder, King, 2004; McGuire et al., 2005) или в сочетании (Chilaka et al., 2012). Они позволяют насекомым искать места для успешных яйцекладок (Arthur, 1966; Prokory et al., 1982; Keasar et al., 2000), для строительства гнезд (Loukola et al., 2020) и питания (Dukas, Duan, 2000), позволяют быстрее находить половых партнеров, эффективнее избегать опасности.

Часто в экспериментах по обучению насекомых используются ольфакторные сигналы, так как в природе запахи являются значимыми стимулами для большинства насекомых (Kaissling, 1971). Обучение насекомых может происходить как с помощью попарного объединения стимулов, так и, напротив, их разобщения (Schleyer et al., 2018). Так, насекомых, приученных к тому, что пища находится там, где нет запаха, ольфакторные стимулы отталкивали. Запахи используют при аверсивном обучении, сочетая их с воздействием электрического тока (Tully, Quinn, 1985; McGuire et al., 2005) или солевого раствора (Matsumoto, Mizunami, 2002; Watanabe et al., 2003), или же, напротив, при обучении на основе положительного подкрепления, такого как успешная яйцекладка (Yong et al., 2007; Farahani et al., 2014). Несмотря на распространенность в лабораторных исследованиях, такой подход осложнен необходимостью тестирования насекомых на изначальное предпочтение запахов и выбирать привлекающие, отталкивающие либо нейтральные, в зависимости от того, положительные или отрицательные стимулы использовали при обучении (Matsumoto, Mizunami, 2002; Yong et al., 2007; Farahani et al., 2014).

Для обучения насекомых также часто используют визуальные стимулы. Перепончатокрылые, например, способны к обработке сложнейших визуальных стимулов, вплоть до распознавания лица (Avarguès-Weber et al., 2018). Такой метод, однако, применим только в отношении насекомых, у которых изначально выражено поисковое поведение, в то время как возможность аверсивного обучения требует от насекомого наличия только базовых безусловных рефлексов.

Результат обучения можно оценить по рефлексу вытягивания хоботка (Giurfa, Malun, 2004; Vinauger et al., 2013), рефлексу отдергивания конечности (Horridge, 1962; Disterhoft et al., 1968), по антеннальному ответу (Pomaville, Lent, 2018). В таких опытах также может применяться как обучение на основе положительного подкрепления – предъявление сахарного раствора (Giurfa, Malun, 2004) или запаха пищи (Pomaville, Lent, 2018), так и аверсивное обучение – воздействие высокой температурой (Vinauger et al., 2013) или электрическим током (Horridge, 1962; Disterhoft et al., 1968). Для использования такого метода подопытное насекомое должно быть достаточно крупным, чтобы можно было зафиксировать его для удобства наблюдения безусловных рефлексов, не повредив.

Метод обучения, который ранее был проверен на сверчках *Gryllus bimaculatus* De Geer 1773 (Orthoptera, Gryllidae) (Wessnitzer et al., 2008) и дрозофилах *Drosophila melanogaster* Meigen 1830 (Diptera, Drosophilidae) (Ofstad et al., 2011), основан на из-

бегании насекомым некомфортной температуры. Такой метод хорош своей универсальностью и простотой использования. Он подходит для работы с насекомыми любых размеров, имеющих любые физиологические особенности – можно подобрать подходящую температуру и визуальный стимул, в зависимости от решающей способности зрения данного вида.

Уменьшение размеров тела значительно влияет на организацию насекомого, и эти изменения в большой степени затрагивают нервную систему (Polilov, 2015). Значительная олигомеризация и компактизация центральной нервной системы, многократное уменьшение числа и размера нейронов – лишь часть из многих особенностей строения нервной системы микронасекомых (Polilov, 2015).

У всех ранее изученных миниатюрных насекомых и пауков было подтверждено наличие способности к обучению. Яйцевые паразитоиды *Trichogramma thalense* Pinto et Oatman 1985 (Hymenoptera, Trichogrammatidae) обучались запоминать цвет подложки, на которой находились яйца хозяина, и предпочитали этот цвет при последующем поиске и выборе хозяина (Keasar et al., 2000). В экспериментах с *T. ostrinae* Pang et Chen 1974, *T. evanescens* Westwood 1833 и *T. brassicae* Bezdenko 1968 особей учили ассоциировать различные запахи с наличием кладки яиц хозяина (Yong et al., 2007; Huigens et al., 2009; Farahani et al., 2014). Жуки-перокрылки *Nephanes titan* Newman 1834 (Coleoptera, Ptiliidae) были способны как к аверсивному обучению, так и к обучению на основе положительного подкрепления – в этих случаях подложки разных цветов были пропитаны раствором соли либо раствором питательных компонентов соответственно (Polilov et al., 2019). При сравнении числа ошибок при плетении паутины у разных видов пауков-кругопрядов Araneidae Clerck 1758 (Araneae) не было обнаружено различий между представителями видов среднего и мелкого размерных классов (Eberhard, 2007). Результаты этих экспериментов говорят о том, что значительные перестройки ЦНС в ходе миниатюризации не приводят к потере возможности формировать ассоциативные связи.

Некоторое влияние размеров тела на память было показано на примере миниатюрных паразитоидов *Nasonia vitripennis* Walker 1836 (Hymenoptera, Pteromalidae) и *T. evanescens*. Путем искусственного отбора были получены более мелкие и более крупные особи обоих видов. Память у мелких *N. vitripennis* была хуже, чем у крупных, но их скорость реакции в тестах с ольфакторными стимулами оказалась выше. У *T. evanescens*, относительный размер мозга которых примерно одинаков у крупных и мелких особей, размер тела не влиял на память (van der Woude et al., 2018).

У животных существует несколько типов памяти, каждому из которых присущи свои функции (Shettleworth, 1993). Динамика их формирования различна у разных видов. Кратковременная память насекомых длится не более часа, среднепродолжительная длится до пяти часов (Schwärzel, Müller, 2006). Оба этих типа памяти являются чувствительными к анестезии и пропадают под ее воздействием (Davis, Zhong, 2017). По разным данным, либо через два часа (Margulies et al., 2005), либо сразу после тренировки (Davis, Zhong, 2017) начинает формироваться память, устойчивая к анестезии. Ее длительность составляет как минимум до 24 ч у *D. melanogaster* (Margulies et al., 2005) и до 72 ч у наездников из рода *Cotesia* Cameron 1891 (Hymenoptera, Braconidae) (Smid et al., 2007). Через 72 ч после тренировки остается только память, требующая подключения механизмов белкового синтеза, — долговременная (Smid et al., 2007).

Трипсы (Thysanoptera) — один из древнейших отрядов рецентных насекомых (Rasnitsyn, Quicke, 2002; Grimaldi, Engel, 2005). Нервная система миниатюрных представителей отряда претерпевает типичные для микронасекомых изменения, такие как олигомеризация и компактизация (Макарова, Полилов, 2017). Исследования их сложных глаз говорят о высокой светочувствительности, но низкой разрешающей способности зрения ввиду небольшого количества фасеток (Мазохин-Поршняков, Казякина, 1983). Трипсы демонстрируют явный положительный фототаксис (Shull, 1902; Salas, 1994) и предпочтение разных цветов (Beavers et al., 1971; Beckham, 1969; Lu, 1990; Demirel, Yildirim, 2008; Elimem, Chermiti, 2012) в зависимости от вида. Способность к обучению у представителей этого отряда ранее не была изучена.

В данной работе представлены результаты исследований способности трипсов к ассоциативному обучению и формированию памяти.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования — имаго *Thrips tabaci* Lindeman 1889 (Thysanoptera, Thripidae) (длина тела 1.4 ± 0.1 мм). Сбор материала и эксперименты были проведены на Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского в июле 2019 г. Трипсы были собраны на нивянике *Leucanthemum* sp. (Asteraceae) и клевере *Trifolium* sp. (Fabaceae). До эксперимента насекомые находились в боксах с кормовыми растениями не более пяти часов. Во время перерывов между тестами насекомых (вместе с фрагментами соцветий кормовых растений) отсаживали в отдельные пластиковые пробирки объемом 2 мл.

Экспериментальная установка представляет собой термоарену. Прототипом термоарены послужила установка для обучения *Drosophila melanogaster* (Ofstad et al., 2011), которая, в свою очередь, была адаптацией водного лабиринта Морриса (Morris, 1981) для работы с насекомыми. Установка Морриса состояла из небольшого бассейна с поочередно поднимающимися островками и экрана вокруг него. Вместо воды и островков в термоарене присутствуют горячая поверхность и участки с комфортной температурой соответственно. Принцип работы таких установок состоит в том, что животное, в попытках избежать воды или высокой температуры, ищет комфортный участок — сушу или прохладу. В тестовой группе этому участку соответствует целевой паттерн на экране. С увеличением числа попыток животное должно обучаться находить комфортный участок по визуальному ориентиру.

Основная часть установки состоит из модуля температурной регуляции, арены и светодиодного экрана (рис. 1).

Модуль температурной регуляции представляет собой массивный радиатор, на котором закреплены нагревательные элементы и термоэлектрические модули Пельтье Tec1-00706. Нагревательные элементы поддерживают заданную температуру радиатора и управляются цифровым контроллером с термореле. Термопара контроллера установлена непосредственно под поверхностью, контактирующей с ареной. При нулевом гистерезисе амплитуда колебаний температуры радиатора не превышает 1°C . Модули Пельтье питаются от стабилизированного источника тока, регуляция температуры осуществляется с помощью инфракрасного тепловизора Seek Thermal Compact PRO путем тонкой подстройки тока питания, при этом разница температур между модулями не превышает 1°C . При включении и выключении модуля Пельтье температура стабилизируется за 15 с.

Арена состоит из рамки, на которую наклеено покровное стекло с тонким кольцом, ограничивающим свободу передвижения насекомых в пределах круга диаметром 28 мм. Толщина стекла составляет 0.15 мм, благодаря чему оно быстро охлаждается, а при включении и выключении холодных точек не возникает дополнительной временной задержки. В то же время, за счет достаточно высокого удельного теплового сопротивления стекла на границе горячей и холодной зоны обеспечивается резкий температурный градиент. Нижняя поверхность стекла окрашена белой краской. Высота рабочей зоны составляет 0.3 ± 0.025 мм, сверху она закрыта круглым покровным стеклом. Высота достаточна для свободного перемещения насекомых внутри, но при этом не позволяет им переходить на верхнее стекло. Рам-

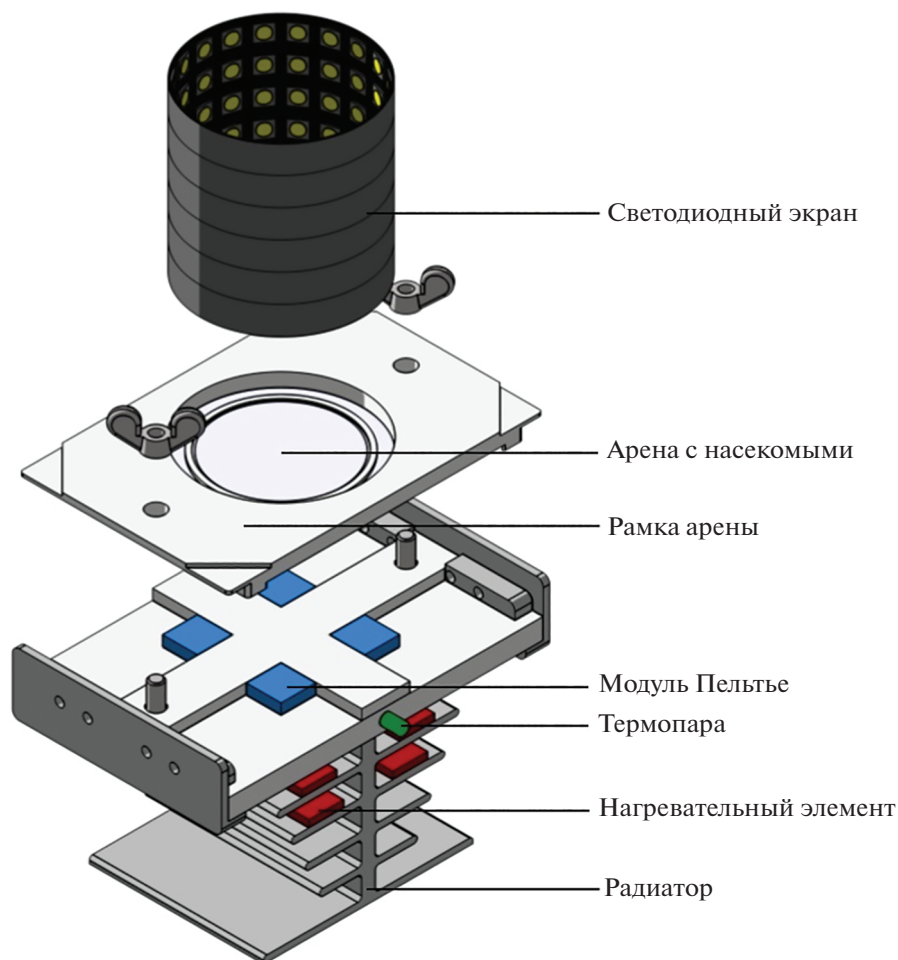


Рис. 1. Установка для экспериментов с микронасекомыми.

ка арены жестко фиксируется на модуле терморегуляции и имеет посадочный паз для экрана.

Кольцевой экран с внешним диаметром 44 мм выполнен в виде матрицы адресуемых (индивидуально управляемых) RGB светодиодов WS2812B. Каждый из 6 рядов пикселей экрана состоит из 20 светодиодов, чего достаточно ввиду низкой разрешающей способности зрения микронасекомых (Макарова, Polilov, 2018).

Управление экраном и холодными точками реализовано на платформе Arduino M0 Pro на базе микроконтроллера ATSAMD21G18 с помощью оригинального программного обеспечения Insect Controller.

Протокол эксперимента был разработан на основе работы по обучению *D. melanogaster* (Ofstad et al., 2011). В результате проведенных нами модификаций данная методика позволяет изучать способность к ассоциативному обучению различных мельчайших насекомых.

Трипсов индивидуально помещали на арену (рис. 2). Поверхность под ней была нагрета до температуры $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. В ходе предварительных экспериментов температура была подобрана таким образом, чтобы насекомое стремилось ее избегать, но не погибло и не испытывало перегрева. Температура холодного участка составляла $25 \pm 1^\circ\text{C}$, что соответствует температуре, при которой насекомых содержали до экспериментов и между тестами.

Рисунок экрана (рис. 3) состоял из целевого паттерна — вертикальной черной полосы, обрамленной двумя вертикальными белыми полосами, и горизонтальных полос, необходимых для выравнивания яркости по периметру, чтобы избежать фототаксиса у насекомых. Яркость экрана была настроена таким образом, что освещенность в рабочей зоне была близкой к естественной и составляла 100 лк. Целевой паттерн с вертикальными полосами в тестовом эксперименте располагался напротив холодного участка, в то время как в контрольном эксперименте этот паттерн пере-

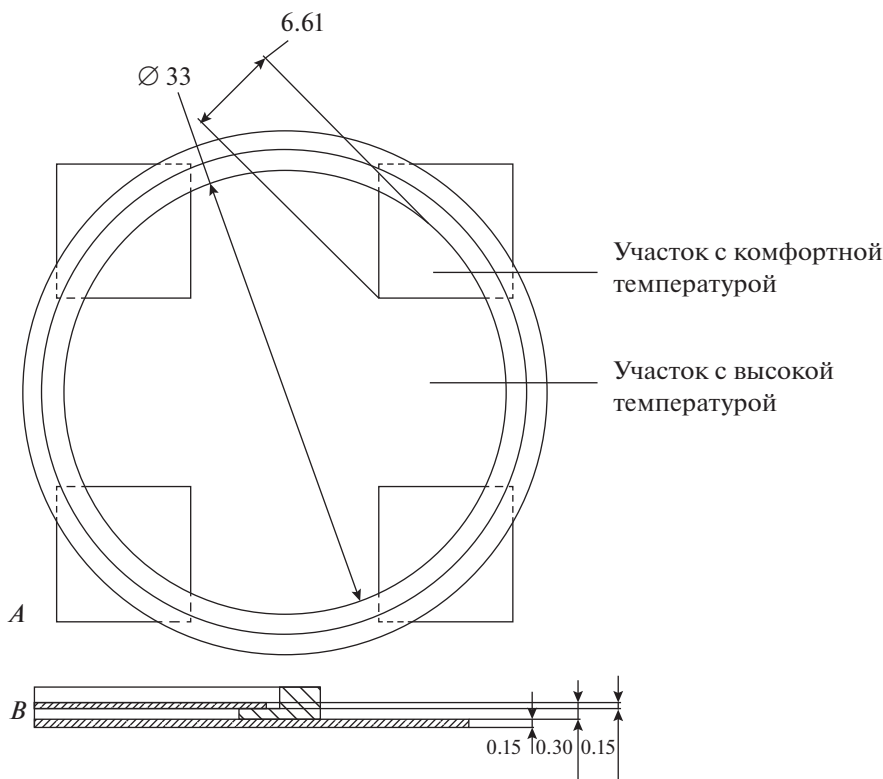


Рис. 2. Чертеж арены: *A* — вид сверху; *B* — арена в разрезе, снизу вверх: нижнее стекло, рабочая зона, покрывное стекло. Размеры приведены в миллиметрах.

ключался случайно в одно из четырех возможных положений.

Эксперимент состоял из предварительного теста (T_0), 10 повторностей обучения и трех последующих тестов на память. В начале эксперимента насекомое помещали на арену без включенных холодных участков и 1 мин регистрировали его перемещения по арене. Результаты этого теста (T_0) служили контролем для дальнейших тестов и возможных исходных предпочтений в выборе сектора. Далее начинался сеанс обучения, был включен один из холодных участков (с соответствующим положением экрана), и трипс должен был найти его. Через 1 мин после того, как насекомое находило холодный участок и располагалось в его пределах (время, предположительно необходимое для выработки ассоциации местоположения с визуальными стимулами на экране), его выключали одновременно с включением одного из соседних (по часовой стрелке или против часовой стрелки), одновременно с этим происходило переключение рисунка экрана в соответствующее положение. Насекомое непрерывно проходило через 10 циклов поиска холодного участка, каждый из которых сопровождался последующей минутной задержкой перед переключением. Сеанс обучения в общей сложности занимал 18–24 мин. Сразу после прохождения 10 циклов обучения

проводили первый тест (T_1), в ходе которого визуальный ориентир переключали в новое положение, как и во время сеанса обучения, но соответствующий холодный участок не включали. При этом регистрировали перемещение насекомого на горячей арене в течение 1 мин с момента пересечения им границы ранее охлажденного сектора. Через час после сеанса обучения проводили второй тест (T_2), в ходе которого насекомому также предлагали только визуальный стимул и через 24 ч аналогичным образом проводили третий тест (T_3).

Эксперимент проведен на 44 особях (по 22 в тестовой и контрольной группах), из которых в итоговом анализе использованы 36 (21 в тестовой группе и 15 в контрольной). Особи, которые не могли найти холодный участок в течение 5 мин или не смогли выполнить 10 циклов поиска, были выбракованы.

Регистрация и анализ данных. Передвижение насекомых было зафиксировано на цифровую камеру Moticam 3, смонтированную на штативе; далее с помощью программы Tracker 5.0.5 (<https://physlets.org/tracker>) были получены координаты траекторий движения. По координатам были рассчитаны скорость, время и длина треков между холодными участками, а также время, проведенное в каждом из четырех секторов.

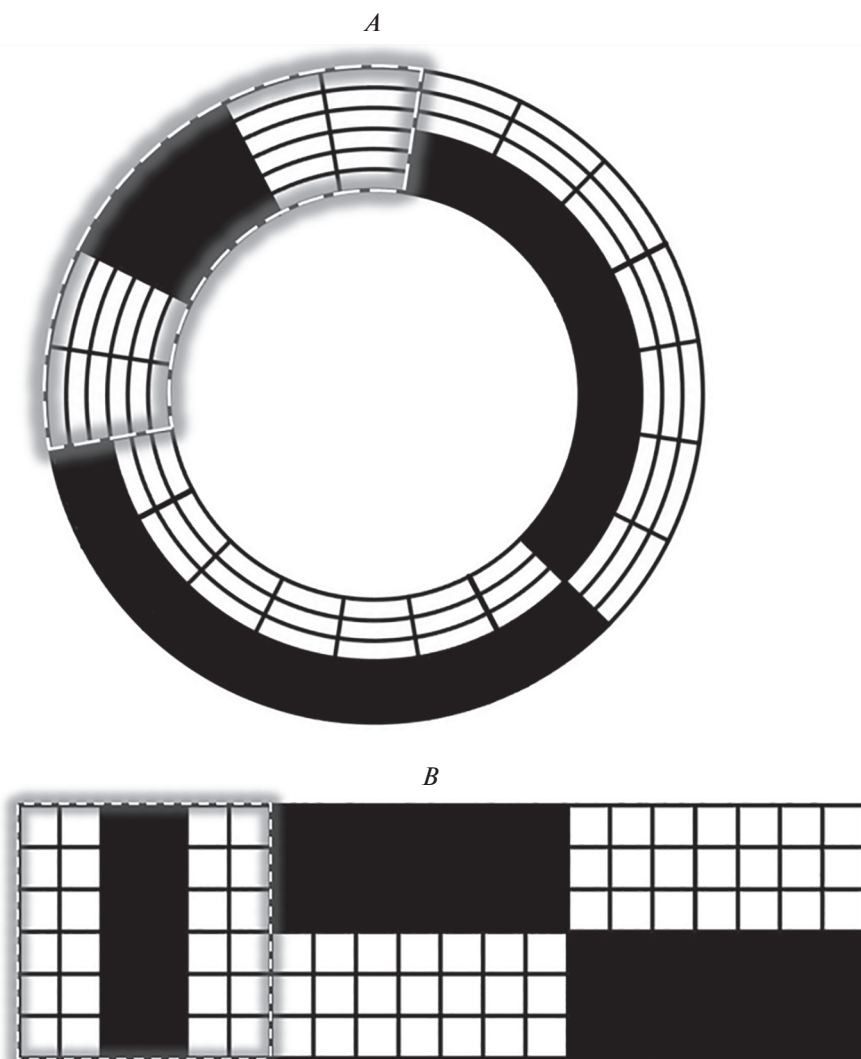


Рис. 3. Экран сверху (A) и его развертка (B). Пунктиром отмечен целевой паттерн.

Поведение насекомых во время сеансов обучения и во время тестирования анализировали отдельно. В первом случае анализировали динамику изменения времени поиска очередного холодного участка, длину пройденного при этом пути и среднюю скорость передвижения во время обучения. Во время тестирования анализировали долю времени (%), проведенного в целевом секторе (четверть арены, соответствующая целевому паттерну экрана), и индекс обучения. Чтобы рассчитать индекс обучения разность между временем, проведенным в целевом секторе, и временем, проведенным в противоположном, делили на суммарное время, проведенное в двух этих секторах. В этом критерии использовали эти два сектора, так как они находятся на одинаковом расстоянии от изначального, но в противоположных направлениях. Статистический анализ выполнен в среде R (*t*-test и ANOVA), пакеты *rt.test* и *semnova*.

При проведении множественных попарных сравнений применялась поправка Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ поведения трипсов во время предварительного теста (T0) показывает отсутствие достоверной разницы между тестовой и контрольной группами как по распределению трипсов по секторам (рис. 4), так и по критерию индекса обучения (рис. 5), что свидетельствует об отсутствии выраженных исходных предпочтений какого-либо сектора и визуальных стимулов.

В T1 трипсы тестовой группы демонстрировали предпочтение целевого сектора по сравнению с T0, как по доле времени (рис. 4, табл. 1, ANOVA, $df = 3$, $F = 4.413$, $p = 0.006$), так и по индексу обучения (рис. 5, ANOVA, $df = 1$, $F = 8.179$, $p = 0.008$). Также в T1 процент времени, проведенного в це-

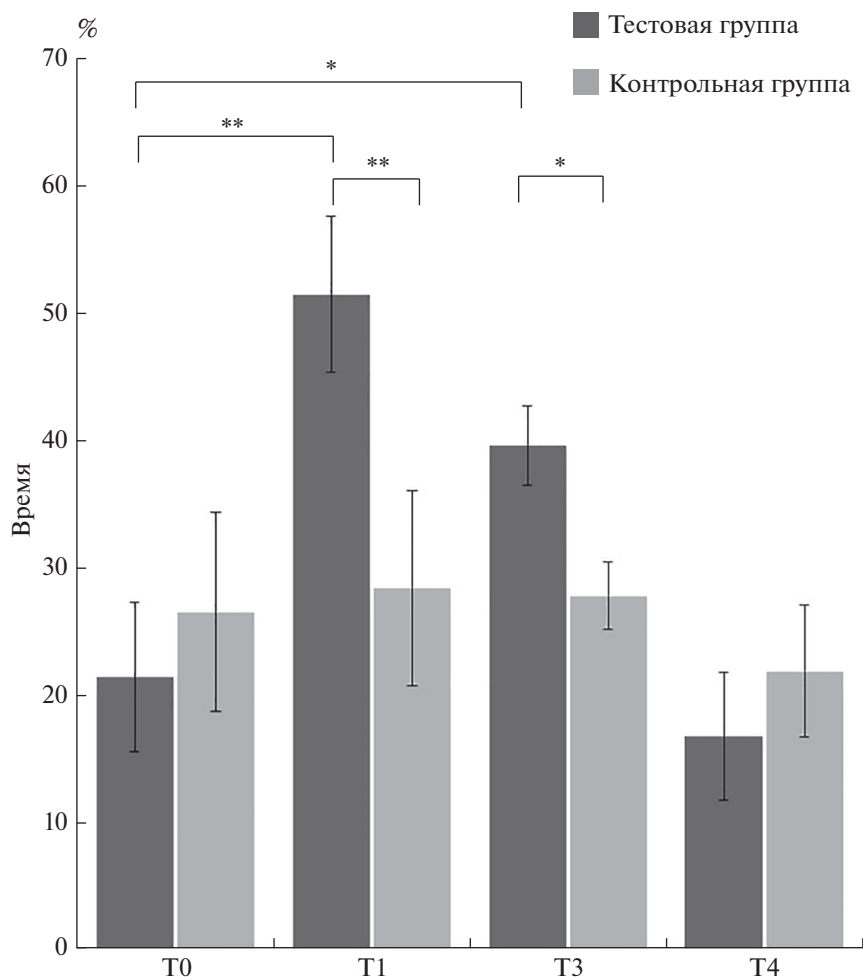


Рис. 4. Время (%), проведенное *Thrips tabaci* в целевом секторе в каждом из четырех тестов ($M \pm SE$). ANOVA: * $0.01 \leq p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

левом секторе (ANOVA, $df = 1$, $F = 5703$, $p = 0.024$) и индекс обучения (ANOVA, $df = 1$, $F = 9.898$, $p = 0.004$) достоверно различаются в тестовой и контрольной группах. В T2 трипсы тестовой группы продолжали предпочитать целевой сектор по сравнению с T0, что видно при сравнении времени, проведенного трипсами в разных секторах (рис. 4, табл. 1, ANOVA, $df = 3$, $F = 3.067$, $p = 0.031$) и по индексу обучения (ANOVA, $df = 1$, $F = 3.630$, $p = 0.067$). Достоверная разница по индексу обучения в T2 наблюдалась также между тестовой и контрольной группами (ANOVA, $df = 1$, $F = 6.013$, $p = 0.021$). T3 показал, что время, которое трипсы проводили в целевом секторе, не отличается у тестовой и контрольной группы по обоим критериям. Трипсы контрольной группы проводили в разных секторах одинаковое количество времени во всех четырех тестах.

При исследовании динамики обучения наиболее показательным критерием для трипсов оказалась длина пройденного пути (рис. 6). Время по-

иска в тестовой группе по ходу эксперимента достоверно уменьшается (табл. 2). Достоверного увеличения скорости движения с ростом числа попыток не обнаружено.

При попарном сравнении длины пути в каждой попытке между тестовой и контрольной группами, достоверные различия проявляются в 8-й (t -test, $df = 25$, $t = 2.060$, $F = 3.557$, $p = 0.049$), 9-й (t -test, $df = 26$, $t = 3.281$, $F = 2.298$, $p = 0.003$) и 10-й (t -test, $df = 24$, $t = 2.878$, $F = 5.868$, $p = 0.008$) попытках (рис. 6, 7). Это позволяет предположить, что трипсы, обладающие надежным зрительным ориентиром, в результате обучения сокращают путь до искомого участка с комфортной температурой. Также средний путь в попытках 8–10 для тестовой группы достоверно сокращается по сравнению с длиной среднего пути тестовой группы во 2-3-й пробегах (t -test, $df = 85$, $t = 3.174$, $F = 4.395$, $p = 0.002$).

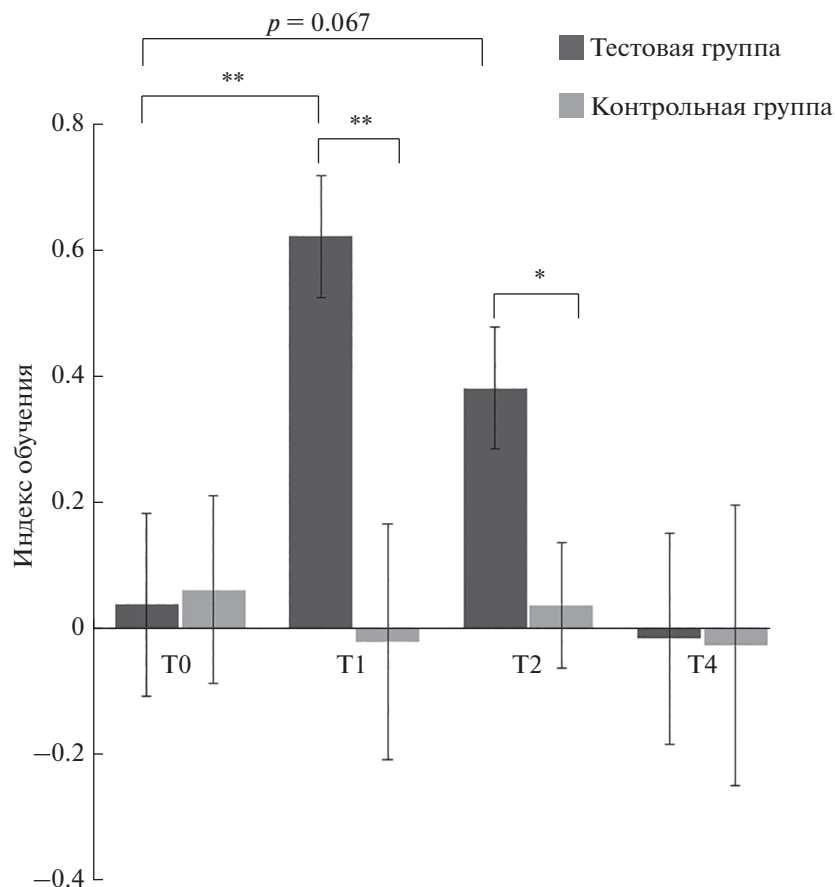


Рис. 5. Индекс обучения (отношение разности между временем в целевом секторе и временем в противоположном секторе к общему времени в этих двух секторах) *Thrips tabaci* в каждом из четырех тестов ($M \pm SE$). ANOVA: * $0.01 \leq p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

ОБСУЖДЕНИЕ

С увеличением числа попыток у трипсов тестовой группы длина пути уменьшается, следовательно, насекомые оптимизируют свой поиск

(рис. 7). Использование водного лабиринта Морриса или его аналогов для разных животных, т.е. применение сходного алгоритма обучения, позволяет сравнивать скорости обучения. Так, крысам для обучения требуется в среднем 20 попыток

Таблица 1. Доля времени ($M \pm SE$), проведенного *Thrips tabaci* в разных секторах в процессе тестирования

Номер теста	Группа насекомых	Целевой сектор	Сектор по часовой стрелке от целевого	Сектор напротив целевого	Сектор против часовой стрелки от целевого
T0	Тестовая	0.21 ± 0.06	0.28 ± 0.08	0.23 ± 0.07	0.28 ± 0.06
	Контрольная	0.26 ± 0.08	0.25 ± 0.09	0.24 ± 0.08	0.25 ± 0.08
T1	Тестовая	$0.51 \pm 0.06^{**}$	0.12 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.24 ± 0.06
	Контрольная	0.28 ± 0.08	0.13 ± 0.05	0.32 ± 0.09	0.19 ± 0.05
T2	Тестовая	$0.39 \pm 0.03^*$	0.20 ± 0.03	0.18 ± 0.03	0.22 ± 0.02
	Контрольная	0.28 ± 0.03	0.23 ± 0.04	0.27 ± 0.03	0.22 ± 0.04
T3	Тестовая	0.17 ± 0.05	0.23 ± 0.10	0.18 ± 0.05	0.43 ± 0.10
	Контрольная	0.22 ± 0.05	0.24 ± 0.07	0.31 ± 0.10	0.23 ± 0.04

Примечания. T0 – тестирование до обучения, T1 – сразу после обучения, T2 – через час, T3 – через 24 ч. * Наличие достоверной разницы между целевым сектором и всеми остальными секторами, а также достоверной разницы между тестовой и контрольной группами, ANOVA $0.01 \leq p < 0.05$, ** то же, $p < 0.01$.

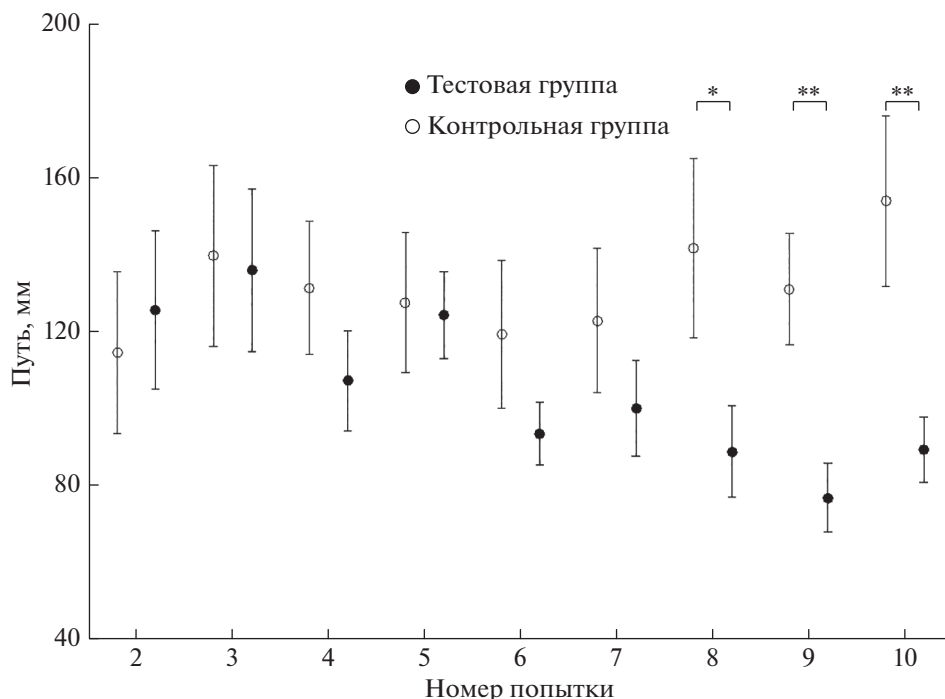


Рис. 6. Зависимость длины пути ($M \pm SE$) *Thrips tabaci* при поиске участка с комфортной температурой от числа попыток. * t -test $0.01 \leq p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

(по четыре попытки в течение пяти дней) (Brandeis et al., 1989; Vorhees, Williams, 2006). Сверчкам в похожих условиях необходимо 10 попыток (Wessnitzer et al., 2008). У трипсов результаты ассоциативного обучения проявляются, начиная с восьмой попытки. Как видно из этих данных, у насекомых необходимое для запоминания число попыток заметно меньше. Следовательно, наличие более крупного мозга у позвоночных,

обеспечивая большую чувствительность к стимулам и детализацию их восприятия, не обязательно приводит к более высоким результатам при решении некоторых задач (Chittka, Niven, 2009).

Данные тестов на формирование памяти свидетельствуют о наличии у трипсов кратковременной и, возможно, среднепродолжительной памяти, которая была ранее выявлена у дрозофилы

Таблица 2. Характеристики перемещения *Thrips tabaci* ($M \pm SE$) по арене в последовательных попытках в процессе обучения

Номер попытки	Длина пути, мм		Скорость, мм/с		Время, с	
	Тестовая группа	Контрольная группа	Тестовая группа	Контрольная группа	Тестовая группа	Контрольная группа
1	112.6 ± 16.2	137.7 ± 18.5	2.68 ± 0.39	4.43 ± 0.32	53.6 ± 11.1	32.9 ± 5.0
2	125.4 ± 20.6	114.3 ± 21.0	2.33 ± 0.30	2.63 ± 0.31	55.6 ± 5.4	44.1 ± 7.0
3	135.7 ± 21.2	139.4 ± 23.4	2.48 ± 0.24	2.83 ± 0.21	55.2 ± 7.8	47.5 ± 5.9
4	107.0 ± 13.0	131.2 ± 17.2	2.35 ± 0.17	3.02 ± 0.20	49.5 ± 7.1	45.7 ± 6.1
5	124.1 ± 11.3	127.3 ± 18.1	2.77 ± 0.13	2.93 ± 0.22	45.9 ± 4.0	43.8 ± 6.3
6	93.3 ± 8.1	119.2 ± 19.1	2.49 ± 0.18	2.49 ± 0.26	39.1 ± 3.2	47.8 ± 5.0
7	99.9 ± 12.3	122.7 ± 18.8	2.32 ± 0.22	2.70 ± 0.29	42.4 ± 5.0	44.1 ± 3.7
8	88.7 ± 11.9*	141.4 ± 23.3*	2.28 ± 0.27	2.88 ± 0.24	40.0 ± 3.2	47.3 ± 6.0
9	76.7 ± 8.9**	130.8 ± 14.5**	2.16 ± 0.22	2.80 ± 0.23	36.1 ± 2.4*	46.3 ± 3.2*
10	89.1 ± 8.5**	153.6 ± 22.1**	2.26 ± 0.12	3.07 ± 0.22	40.4 ± 3.9	48.3 ± 4.8

Примечания. * Наличие достоверной разницы между тестовой и контрольной группами, t -test $0.01 \leq p < 0.05$, ** то же, $p < 0.01$.

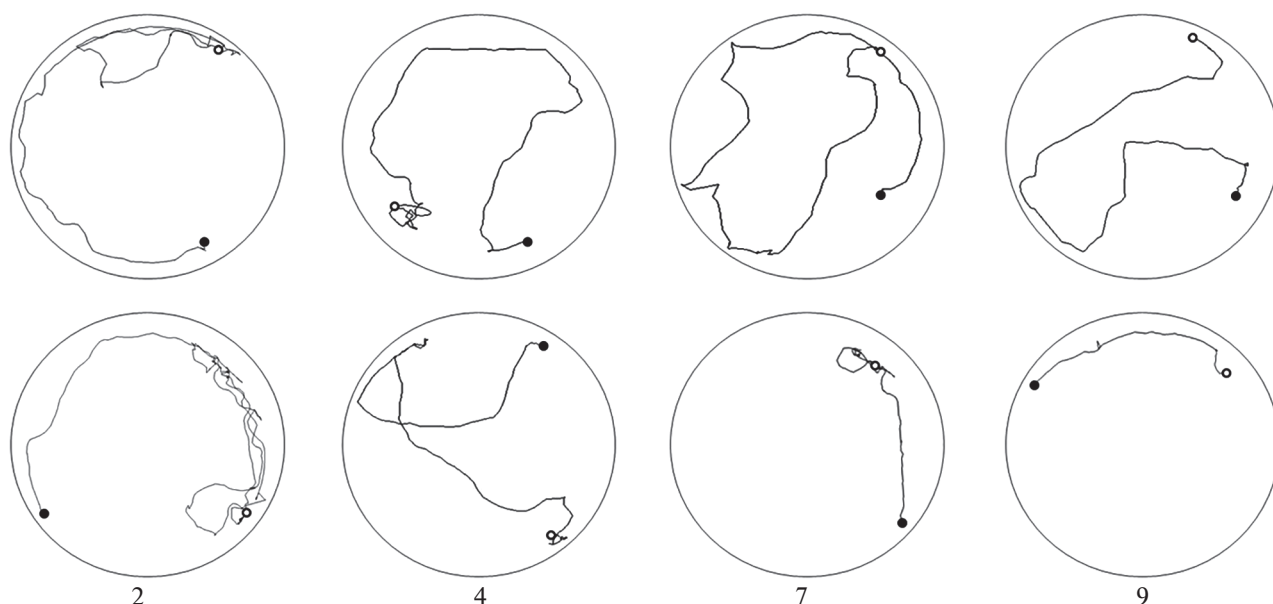


Рис. 7. Пример изменения траектории движения и длины пути с увеличением количества попыток *Thrips tabaci*. Сверху – в контрольной группе, снизу – в тестовой. Цифрами отмечены номера попыток. Белая точка – стартовая позиция, черная – конечная на границе холодного участка.

(Margulies et al., 2005). Через 24 ч (ТЗ) у трипсов связь между рисунком на экране и комфортными условиями утрачивается. Таким образом, у них не удалось выявить долговременную память, обнаруженную, например, у паразитоидов рода *Cotesia* (Hymenoptera, Braconidae) (Smid et al., 2007).

Работа с микронасекомыми осложняется как их размерами, так и подбором действенных стимулов. В этой ситуации аверсивное обучение на термоарене оказывается универсальным для исследования когнитивных способностей микронасекомых из разных отрядов, поскольку подкрепление в виде высоких температур может применяться к любым объектам.

Хотя миниатюризация и влечет за собой значительные морфологические изменения нервной системы, это не приводит к принципиальному снижению эффективности ее работы. Миниатюрные насекомые сохраняют способность к обучению и формированию памяти.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы благодарны студентам Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова Забаве Адаевой, Артёму Долгову, Никите Моторину, Анне Росинской и Анастасии Мельниковой за помощь в проведении экспериментальной части исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 19-74-10019).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Карцев В.М., Мазохин-Поршняков Г.А., 1989. Разнообразие индивидуально приобретаемых реакций у насекомых // Биологические науки. Т. 3. С. 5–18.
- Мазохин-Поршняков Г.А., 1968. Обучаемость насекомых и их способность к обобщению зрительных стимулов // Энтомологическое обозрение. Т. 47. № 36. С. 362–379.
- Мазохин-Поршняков Г.А., 1969. Обобщение зрительных стимулов как пример решения пчелами отвлеченных задач // Зоологический журнал. Т. 48. С. 1125–1136.
- Мазохин-Поршняков Г.А., 1970. Зрительная ориентация и навигация насекомых // Пространственная ориентация животных. С. 24–28.
- Мазохин-Поршняков Г.А., 1970а. Только ли инстинкт управляет поведением насекомых? // Природа. Т. 5. С. 55–62.
- Мазохин-Поршняков Г.А., Казякина В.И., 1983. Морфологическое описание сложных глаз и теменных глазков трипсов (Thysanoptera) // Биологические науки. Т. 1. С. 57–60.
- Макарова А.А., Полилов А.А., 2017. Особенности строения и ультраструктуры головного мозга насекомых, связанные с миниатюризацией. IV. Трипсы (Ehysanoptera, Thripidae) // Зоологический журнал. Т. 96. № 4. С. 410–417.
- De Agrò M., Oberhauser F.B., Loconsole M., Galli G., Dal Cin F., Moretto E., Regolin L., 2020. Multi-modal cue integration in the Black Garden ant // Animal Cognition. V. 23. № 6. P. 1119–1127.
- Arthur A.P., 1966. Associative learning in *Itopectis conquisitor* (Say) (Hymenoptera: Ichneumonidae) // The Canadian Entomologist. V. 98. № 2. P. 213–223.

- Avarguès-Weber A., d'Amaro D., Metzler M., Finke V., Baracchi D., Dyer A.G.*, 2018. Does Holistic processing require a large brain? Insights from honeybees and wasps in fine visual recognition tasks // *Frontiers in Psychology*. V. 9. P. 1–9.
- Baeder J.M., King B.H.*, 2004. Associative learning of color by males of the parasitoid wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae) // *Journal of Insect Behavior*. V. 17. № 2. P. 201–213.
- Beavers J.B., Shaw J.G., Hampton R.B.*, 1971. Color and height preference of the Citrus thrips in a navel orange grove // *Journal of Economic Entomology*. V. 64. № 5. P. 1112–1113.
- Beckham C.M.*, 1969. Color preference and flight habits of thrips associated with cotton // *Journal of Economic Entomology*. V. 62. № 3. P. 591–592.
- Bowdish T.I., Bultman T.L.*, 1993. Visual cues used by mantids in learning aversion to aposematically colored prey // *American Midland Naturalist*. V. 129. № 2. P. 215.
- Brandeis R., Brandys Y., Yehuda S.*, 1989. The use of the Morris water maze in the study of memory and learning // *International Journal of Neuroscience*. V. 48. P. 29–69.
- Buehlmann C., Mangan M., Graham P.*, 2020. Multimodal interactions in insect navigation // *Animal Cognition*. V. 23. № 6. P. 1129–1141.
- Chilaka N., Perkins E., Tripet F.*, 2012. Visual and olfactory associative learning in the malaria vector *Anopheles gambiae* sensu stricto // *Malaria Journal*. V. 11. № 27. P. 1–11.
- Chittka L., Niven J.*, 2009. Are bigger brains better? // *Current Biology*. V. 19. № 21. P. 995–1008.
- Davis R.L., Zhong Y.*, 2017. The biology of forgetting – a perspective // *Neuron*. V. 95. № 3. P. 490–503.
- Demirel N., Yildirim A.*, 2008. Attraction of various sticky color traps to *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) and *Empoasca decipiens* Paoli (Homoptera: Cicadellidae) in cotton // *Journal of Entomology*. V. 5. № 6. P. 389–394.
- Disterhoft J., Nurnberger J., Corning W.C.*, 1968. 'P–R' differences in intact cockroaches as a function of testing interval // *Psychonomic Science*. V. 12. № 5. P. 205–206.
- Dukas R., Duan J.J.*, 2000. Potential fitness consequences of associative learning in a parasitoid wasp // *Behavioral Ecology*. V. 11. № 5. P. 536–543.
- Eberhard W.G.*, 2007. Miniaturized orb-weaving spiders: behavioural precision is not limited by small size // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. V. 274. № 1622. P. 2203–2209.
- Elimem M., Chermiti B.*, 2012. Color preference of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera; Thripidae) and *Orius* sp. (Hemiptera; Anthicorridae) populations on two rose varieties // *Floriculture and Ornamental Biotechnology*. V. 7. № 1. P. 94–98.
- Farahani H.K., Ashouri A., Goldansaz S.H., Shapiro M.S., Golshani A., Abrun P.*, 2014. Associative learning and memory duration of *Trichogramma brassicae* // *Progress in Biological Sciences*. V. 4. № 1. P. 87–96.
- Giurfa M., Malun D.*, 2004. Associative mechanosensory conditioning of the proboscis extension reflex in honeybees // *Learning & Memory*. V. 11. № 3. P. 294–302.
- Grimaldi D., Engel M.S.*, 2005. Evolution of the insects. New York: Cambridge University Press. P. 733.
- Horridge G.A.*, 1962. Learning of leg position by the ventral nerve cord in headless insects // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. V. 157. № 966. P. 33–52.
- Huigens M.E., Pashalidou F.G., Qian M-h., Bukovinszky T., Smid H.M., van Loon J.J.A., Dicke M., Fatouros N.E.*, 2009. Hitch-hiking parasitic wasplearns to exploit butterfly antiaphrodisiac // *PNAS*. V. 106. № 3. P. 820–825.
- Iakovlev I., Reznikova Z.*, 2019. Red wood ants display natural aversive learning differently depending on their task specialization // *Frontiers in Psychology*. V. 10. № 710. P. 1–9.
- Kaissling K.-E.*, 1971. Insect olfaction // *Handbook of Sensory Physiology*. V. 4. № 1. P. 351–431.
- Keasar T., Ney-Nifle M., Mangel M.*, 2000. Evidence for learning of visual host-associated cues in the parasitoid wasp *Trichogramma thalense* // *Israel Journal of Zoology*. V. 46. № 3. P. 243–247.
- Loukola O.J., Gatto E., Híjar-Islas A.C., Chittka L.*, 2020. Selective interspecific information use in the nest choice of solitary bees // *Animal Biology*. V. 70. № 2. P. 215–225.
- Loukola O.J., Perry C.J., Coscos L., Chittka L.*, 2017. Bumblebees show cognitive flexibility by improving on an observed complex behavior // *Science*. V. 355. № 6327. P. 833–836.
- Lu F.M.*, 1990. Color preference and using silver mulches to control the onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman // *Chinese Journal of Entomology*. V. 10. № 3. P. 337–342.
- MaBouDi H.D., Solvi C., Chittka L.*, 2020. Bumblebees learn a relational rule but switch to a win-stay/lose-switch heuristic after extensive training // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. V. 14. P. 1–9.
- Makarova A.A., Polilov A.A., Chklovskii D.B.*, 2021. Small brains for big science // *Current Opinion in Neurobiology*. V. 71. P. 77–83.
- Makarova A.A., Polilov A.A.*, 2018. Structure and ultrastructure of the *Acrotichis grandicollis* (Coleoptera: Ptiliidae) Compound Eyes and the Eye Features Related to Miniaturisation // *Doklady Biological Sciences*. V. 480. P. 97–99.
- Mansur B.E., Rodrigues J.R.V., Mota T.*, 2018. Bimodal patterning discrimination in harnessed honey bees // *Frontiers in Psychology*. V. 9. P. 1–14.
- Margulies C., Tully T., Dubnau J.*, 2005. Deconstructing memory in drosophila // *Current Biology*. V. 15. № 17. P. 700–713.
- Matsumoto Y., Mizunami M.*, 2002. Lifetime olfactory memory in the cricket *Gryllus bimaculatus* // *Journal of Comparative Physiology A*. V. 188. № 4. P. 295–299.
- Mcguire S.E., Deshazer M., Davis R.L.*, 2005. Thirty years of olfactory learning and memory research in *Drosophila melanogaster* // *Progress in Neurobiology*. V. 76. № 5. P. 328–347.
- Minoli S., Cano A., Pontes G., Magallanes A., Roldán N., Barrozo R.B.*, 2018. Learning spatial aversion is sensory-specific in the hematophagous insect *Rhodnius prolixus* // *Frontiers in Psychology*. V. 9. P. 1–11.

- Morris R.G.M., 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues // *Learning and Motivation*. V. 12. № 2. P. 239–260.
- Nityananda V., Chittka L., 2021. Different effects of reward value and saliency during bumblebee visual search for multiple rewarding targets // *Animal Cognition*. V. 24. № 4. P. 803–814.
- Ofstad T.A., Zuker C.S., Reiser M.B., 2011. Visual place learning in *Drosophila melanogaster* // *Nature*. V. 474. № 7350. P. 204–207.
- Polilov A.A., 2015. Small is beautiful: Features of the smallest insects and limits to miniaturization // *Annual Review of Entomology*. V. 60. № 1. P. 103–121.
- Polilov A.A., Makarova A.A., Kolesnikova U.K., 2019. Cognitive abilities with a tiny brain: neuronal structures and associative learning in the minute *Nephanes titan* (Coleoptera: Ptiliidae) // *Arthropod Structure and Development*. V. 48. P. 98–102.
- Pomaville M.B., Lent D.D., 2018. Multiple representations of space by the cockroach, *Periplaneta americana* // *Frontiers in Psychology*. V. 9. P. 1–15.
- Prokopy R.J., Averill A.L., Cooley S.S., Roitberg C.A., 1982. Associative learning in egg-laying site selection by apple maggot flies // *Science*. V. 218. № 4567. P. 76–77.
- Rasnitsyn A.P., Quicke D.L.J. (Eds), 2002. *History of insects* // Kluwer Academic Publishers.
- Reznikova Z., 2020. Spatial cognition in the context of foraging styles and information transfer in ants // *Animal Cognition*. V. 23. № 6. P. 1143–1159.
- Roper M., Fernando C., Chittka L., 2017. Insect bio-inspired neural network provides new evidence on how simple feature detectors can enable complex visual generalization and stimulus location invariance in the miniature brain of honeybees // *PLoS Computational Biology*. V. 13. № 2. P. 1–23.
- Salas J., 1994. Biology and life habits of the onion thrips (*Thrips tabaci* Linderman) // *Acta Horticulture*. V. 358. P. 383–388.
- Schleyer M., Fendt M., Schuller S., Gerber B., 2018. Associative learning of stimuli paired and unpaired with reinforcement: evaluating evidence from maggots, flies, bees, and rats // *Frontiers in Psychology*. V. 9. P. 1–15.
- Schwärzel M., Müller U., 2006. Dynamic memory networks: dissecting molecular mechanisms underlying associative memory in the temporal domain // *Cellular and Molecular Life Sciences*. V. 63. № 9. P. 989–998.
- Shettleworth S.J., 1993. Varieties of learning and memory in animals // *Animal Behaviour Processes*. V. 19. № 1. P. 5–14.
- Shull F., 1902. Biology of the thysanoptera. I. Factors governing local distribution // *The American Naturalist*. V. 142. P. 161–176.
- Smid H.M., Wang G., Bukovinszky T., Steidle J.L.M., Bleeker M.A.K., van Loon J.J.A., Vet L.E.M., 2007. Species-specific acquisition and consolidation of long-term memory in parasitic wasps // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. V. 274. № 1617. P. 1539–1546.
- Tully T., Quinn W.G., 1985. Classical conditioning and retention in normal and mutant *Drosophila melanogaster* // *Journal of Comparative Physiology A*. V. 157. P. 263–277.
- Vinauger C., Lallement H., Lazzari C.R., 2013. Learning and memory in *Rhodnius prolixus*: Habituation and aversive operant conditioning of the proboscis extension response // *Journal of Experimental Biology*. V. 216. № 5. P. 892–900.
- Vorhees C.V., Williams M.T., 2006. Morris Water Maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory // *Nature Protocols*. V. 1. № 2. P. 848–858.
- van der Woude E., Huigens M.E., Smid H.M., 2018. Differential effects of brain size on memory performance in parasitic wasps // *Animal Behaviour*. V. 141. P. 57–66.
- Watanabe H., Kobayashi Y., Sakura M., Matsumoto Y., Mizunami M., 2003. Classical olfactory conditioning in the cockroach *Periplaneta americana* // *Zoological Science*. V. 20. № 12. P. 1447–1454.
- Wessnitzer J., Mangan M., Webb B., 2008. Place memory in crickets // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. V. 275. № 1637. P. 915–921.
- Yong T.-H., Pitcher S., Gardner J., Hoffmann M.P., 2007. Odor specificity testing in the assessment of efficacy and non-target risk for *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) // *Biocontrol Science and Technology*. V. 17. № 2. P. 135–153.

ASSOCIATIVE LEARNING AND MEMORY IN *THRIPS TABACI* (THYSANOPTERA, THIRIPIDAE)

M. A. Fedorova¹, *, S. E. Farisenkov¹, A. V. Timokhov¹, A. A. Polilov¹

¹Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

*e-mail: mariafedorova1997@gmail.com

Miniaturization leads to significant changes in the structure of the insect brain. The question of how these rearrangements affect the functioning of the brain is of great interest for understanding the evolution of the brain and the cognitive characteristics of animals. Previously, learning ability has been shown in several microinsects, but approaches to learning were highly specialized, which made comparative work difficult. We have developed a setup based on the Morris water maze paradigm for the aversive associative teaching of various miniature insects to visual stimuli. This setup was used to study the behavior of *Trips tabaci* (Thysanoptera, Thripidae), allowing for the ability for associative learning and memory formation to be demonstrated in thrips for the first time.

Keywords: microinsects, miniaturization