

ДОЛГОСРОЧНАЯ ПАМЯТЬ ТРИПСОВ *THRIPS TABACI* (THYSANOPTERA, THRIPIDAE)

© 2024 г. М. А. Федорова^{а,*}, С. Э. Фарисенков^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 08.09.2023 г.

После доработки 27.04.2024 г.

Принята к публикации 24.05.2024 г.

У многих микронасекомых описаны способности к ассоциативному обучению, но возможности сохранения памяти у большинства из них не изучены. Ранее были обнаружены способности трипсов *Thrips tabaci* (Thysanoptera, Thripidae) к ассоциативному обучению и формированию кратковременной памяти. В данном исследовании мы продемонстрировали, что при увеличении числа сеансов обучения и разнесении их во времени сохранение следов памяти у *T. tabaci* наблюдается вплоть до 24 ч после эксперимента. Таким образом, впервые было описано наличие консолидированных форм памяти у представителей отряда Thysanoptera.

Ключевые слова: память, ассоциативное обучение, Thripidae, *Thrips tabaci*, микронасекомые, миниатюризация

DOI: 10.31857/S0044513424040063, **EDN:** UXWPOW

Микронасекомые — это насекомые, размер которых не превышает двух миллиметров. Они обладают набором уникальных качеств, позволяющих им при столь малых размерах не терять способность успешно выживать и размножаться. Несмотря на значительные перестройки нервной системы, они демонстрируют полный набор обычных форм поведения, таких как полет, поиск половых партнеров и хозяев (Pfeffer, Wolf, 2020), они способны к ассоциативному обучению (Farahani et al., 2014; Polilov et al., 2019) и формированию памяти (Woude et al., 2018). Исследование поведения микронасекомых позволяет приблизиться к расшифровке фундаментальных нейронных механизмов, позволяющих их нервной системе уменьшаться без потери когнитивных способностей.

Накопление информации через обучение на основе проб и ошибок приводит к образованию истинного условного рефлекса (Мазохин-Поршняков, 1975). Эта способность к ассоциативному обучению и наличие памяти помогают животным адаптироваться к постоянно меняющимся условиям среды и, следовательно, значительно повышают выживаемость организма и его плодovitость (Dukas, Duan, 2000). У насекомых формируются два основных типа памяти, различающиеся по длительности и устойчивости — кратковременная и консолидированная (Tully et al., 1994).

Выделяют два типа консолидированной памяти — устойчивую к шоку (или устойчивую к анестезии

(Журавлев и др., 2015)) и долгосрочную (Isabel et al., 2004). При формировании устойчивой к шоку памяти не задействуются механизмы синтеза белков (Lagasse et al., 2012; Tully et al., 1994), однако формируются структурные и функциональные изменения в цитоскелете нейронов, которые изменяют проводимость клеточной мембраны и возбудимость нейрона (Kotoula et al., 2017). Процесс формирования долгосрочной памяти требует синтеза новых белков (Montarolo et al., 1986). При этом через четыре часа после эксперимента память действует только механизмы транскрипции генов, а через сутки после обучения память зависит как от транскрипции, так и трансляции белков, что было показано на медоносной пчеле (Villar et al., 2020).

Механизмы долгосрочной и устойчивой к шоку памяти антагонистичны — при усилении одной из них другая становится менее производительной (Lagasse et al., 2012), поэтому условия их формирования различаются и зависят от силы стимула, биологии вида и частоты встречающегося стимула. Так, стимулы, встретившиеся насекомому в нескольких разных, то есть независимых ситуациях, важнее, чем стимул, встретившийся лишь один раз. Поэтому лишь для запоминания важных стимулов имеет смысл запускать сложный механизм экспрессии генов и формировать долговременную память (Isabel et al., 2004).

Thrips tabaci (Thysanoptera, Thripidae) — широко распространенное растительноядное насекомое

с неполным превращением, размером до 1.5 мм, жизненный цикл которого занимает в среднем 19 дней (Clausen, 1978). Ранее были описаны способности *T. tabaci* к ассоциативному обучению и сохранению следов памяти вплоть до часа после обучения (Федорова и др., 2022). В данном исследовании было доказано, что увеличение числа попыток обучения (см. раздел Методика) усиливает следы памяти, а разнесение сеансов обучения во времени позволяет насекомым консолидировать кратковременную память в устойчивую к шоку или долговременную.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования — имаго *Thrips tabaci* Lindeman 1889 (Thysanoptera, Thripidae). Сбор материала и эксперименты были проведены на Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского в июле 2021 и 2022 гг. Трипсы были собраны на таволге вязолистной (*Filipendula ulmaria*, Rosaceae).

Для проведения ассоциативного обучения и тестов памяти использовали универсальную термоарену для микронасекомых. Устройство термоарены было описано в предыдущих работах, посвященных обучению и памяти трипсов и трихограммы (Федорова и др., 2022, 2023). Насекомое помещали на арену, температура которой достигала 37 ± 0.5 °C, что вызывало реакцию избегания. Температура комфортного участка составляла 25 ± 1 °C. Рисунок на светодиодном экране вокруг арены состоял из вертикальных полос (зрительный ориентир) и горизонтальных полос, обеспечивающих равномерное освещение. Зрительный ориентир в экспериментах с тестовой группой совпадал с комфортным участком, за счет чего насекомые могли находить его, ориентируясь по рисунку на экране. Для насекомых из контрольной группы зрительный ориентир и местоположение комфортного участка перекрывали случайным образом, что делало невозможным формирование ассоциативной связи.

Схема эксперимента

Проводили два эксперимента. В первом применяли методику, использованную ранее в наших экспериментах по изучению памяти миниатюрных насекомых (Федорова и др., 2022, 2023). Эксперимент состоял из предварительного теста ($T_{предв.}$), одного сеанса обучения, который включал 10 попыток обучения, и тестов на память спустя 4 (T_4) и 24 ч после обучения (T_{24}). Предварительный тест и тесты памяти проходили идентично — на арене отсутствовал участок с комфортной температурой, но зрительный ориентир был включен и находился на протяжении каждого теста в одном случайном положении. Длительность тестов составляла 1 мин. После $T_{предв.}$ начинался сеанс обучения, который

состоял из 10 попыток. Каждая попытка состояла из этапа поиска комфортного участка, минуты отдыха на этом участке и переключения комфортного участка и зрительного ориентира в другое случайно выбранное положение. По прошествии 10 попыток, сеанс обучения завершался, и насекомое помещали в пробирку объемом 2 мл вместе с соцветиями кормовых растений и фильтровальной бумагой, пропитанной водой. Далее насекомых делили на две группы — половина проходила тестирование памяти через 4 ч (T_4), другая половина — через 24 ч (T_{24}). Напомним, что тестирования проходили при выключенных комфортных участках.

Второй эксперимент был изменен таким образом, чтобы улучшить сохранение следов памяти через 24 часа после обучения. Через час после первого сеанса обучения, состоящего из 10 попыток, проводили второй, включающий 7 попыток. Через 24 ч после второго сеанса обучения проводили тест на память (T_{24}).

Регистрация и анализ данных

Передвижение насекомых было зафиксировано на цифровую камеру Moticam 3. С помощью программы Tracker 5.0.5 (<https://physlets.org/tracker>) были получены координаты траекторий движения. По координатам была рассчитана длина пути при поиске комфортного участка, а также доля времени, проведенного в каждом из четырех секторов в тестах памяти ($T_{предв.}$, T_4 и T_{24}).

В тестах памяти оценивали долю времени в целевом секторе и индекс обучения. Целевой сектор — это та четверть арены, которая соответствует зрительному ориентиру на экране. Индекс обучения рассчитывали как отношение разности между временем в целевом секторе и временем в противоположном секторе к общему времени в этих двух секторах. Время в секторах, расположенных по бокам от целевого, в индексе обучения не учитывается.

Эти показатели оценивали в трех тестах. Первый тест был предварительным ($T_{предв.}$). Второй тест проводили через 4 часа после обучения (T_4). Третий тест проводили через 24 часа после обучения (T_{24}).

Статистический анализ был выполнен в программе STATISTICA 12 (t-test). При проведении множественных попарных сравнений применялась поправка Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эксперимент 1, с одним сеансом обучения (рис. 1А, 2А)

В предварительном тесте ($T_{предв.}$) нет различий между тестовой и контрольной группами, особи

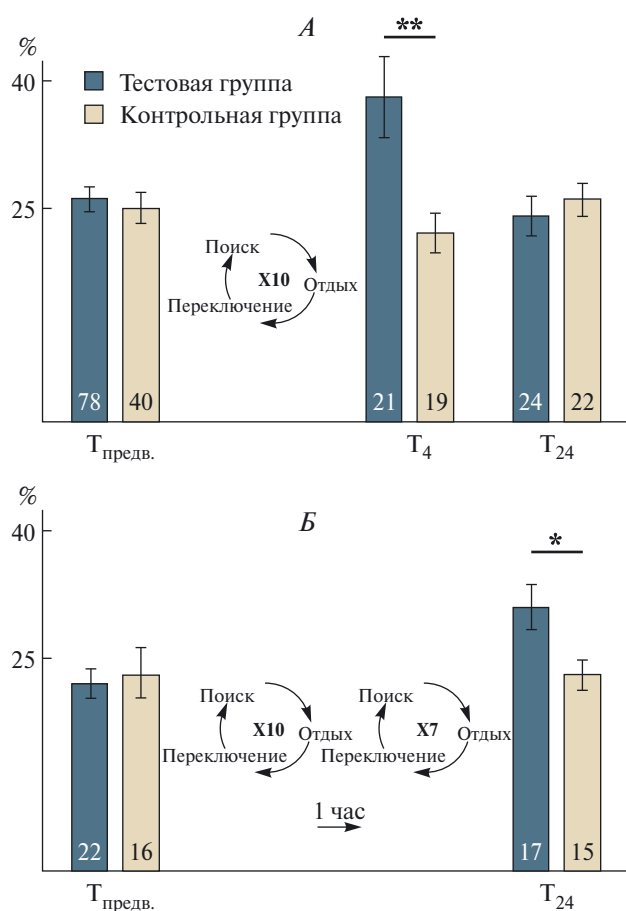


Рис. 1. Доля времени (%), проведенного *T. tabaci* в целевом секторе в каждом из тестов ($M \pm SE$) в эксперименте с одним сеансом обучения (А) и эксперименте с двумя сеансами обучения (Б). $T_{предв.}$ — предварительный тест, T_4 — через 4 ч после обучения, T_{24} — через 24 ч. t-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. В основании каждого столбца — число изученных насекомых.

проводят сравнимое количество времени во всех секторах арены. Процент времени (рис. 1А), проведенного в целевом секторе через 4 ч (T_4) после обучения, у тестовой и контрольной групп достоверно различается (t-test, $df = 38$, $F = 4.601$, $t = 2.812$, $p = 0.008$), как и индекс обучения (рис. 2А) (t-test, $df = 38$, $F = 1.139$, $t = -2.964$, $p = 0.005$). В эксперименте с одним сеансом обучения не наблюдается различий между тестовой и контрольной группами через 24 ч (T_{24}) после обучения.

Эксперимент 2, с двумя сеансами обучения (рис. 1Б, 2Б)

В предварительном тесте ($T_{предв.}$) нет различий между тестовой и контрольной группами.

Через 24 ч (T_{24}) после обучения процент времени (t-test, $df = 30$, $F = 2.648$, $t = 2.680$, $p = 0.012$) (рис. 1Б) и индекс обучения (t-test, $df = 30$, $F = 1.878$,

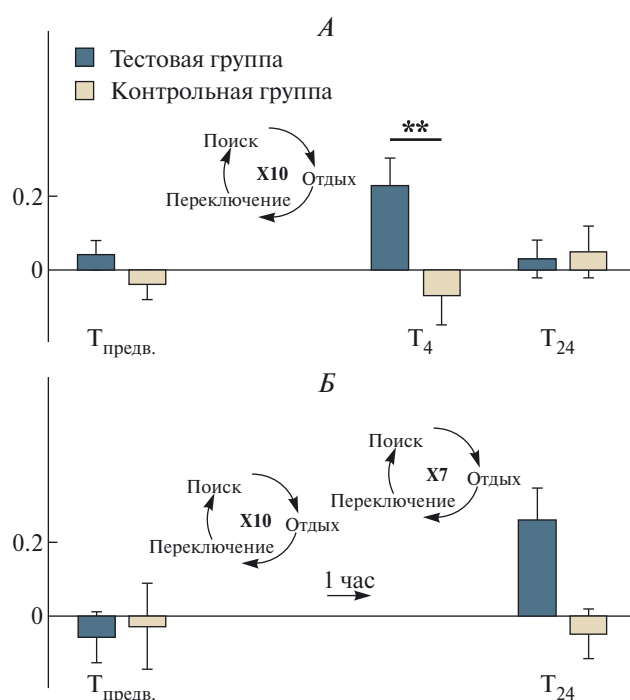


Рис. 2. Индекс обучения (отношение разности между временем в целевом секторе и временем в противоположном секторе к общему времени в этих двух секторах) *T. tabaci* в каждом из тестов ($M \pm SE$) в эксперименте с одним сеансом обучения (А) и эксперименте с двумя сеансами обучения (Б). $T_{предв.}$ — предварительный тест, T_4 — через 4 ч после обучения, T_{24} — через 24 ч. t-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

$t = 2.710$, $p = 0.011$) (рис. 2Б) достоверно различаются у тестовой и контрольной групп.

Итак, особи, прошедшие два сеанса обучения (рис. 1Б и рис. 2Б), проводили в целевом секторе достоверно больше времени, чем контрольные, что доказывает сохранение памяти в течение 24 ч.

ОБСУЖДЕНИЕ

У некоторых насекомых долгосрочная память, в отличие от памяти, устойчивой к шоку, может формироваться, только если воздействие стимулами разнесено во времени (Tully et al., 1994). На дрозофилах при помощи ольфакторного обучения было показано, что после 10 повторений, следующих непрерывно одно за другим, память сохранялась на протяжении трех дней, так же как и после единичного повторения. Однако когда между сеансами обучения были добавлены интервалы в 15 мин, память сохранялась на протяжении как минимум семи дней (Tully et al., 1994).

В экспериментах с ольфакторным обучением на муравьях, пчелах и мухах долгосрочная память формировалась уже после одной попытки обучения (Piqueret et al., 2019; Villar et al., 2020; Yu et al.,

2022), однако было показано, что увеличение числа попыток обучения, разнесенных во времени, приводило к улучшению памяти (Yu et al., 2022). Сверчкам (Matsumoto, Mizunami, 2002) и тараканам (Sakura, Mizunami, 2001; Watanabe et al., 2003) было достаточно 2–3 попыток обучения, разнесенных во времени, чтобы вызвать сохранение памяти в течение 4 дней. Однако для многих насекомых, в связи с их экологией, память при обучении на ольфакторные стимулы может оказаться более устойчивой из-за большей значимости этих стимулов для насекомого, поэтому при использовании других типов обучения понадобится большее число попыток.

С помощью термической арены успешно исследовали способности к обучению у дрозофил (Foucaud et al., 2010; Ofstad et al., 2011) и пчел (Scheiner et al., 2020). Эксперименты проводили по схеме, аналогичной схеме нашего эксперимента, но без разнесения попыток обучения во времени. В одном из исследований проводили тесты памяти, показавшие сохранение ее следов спустя 8 ч (Ofstad et al., 2011).

В предыдущих исследованиях памяти трипсов было выявлено наличие следов памяти через час после эксперимента, однако отсутствовали следы памяти спустя 24 ч (Федорова и др., 2022). Обучение в этом случае состояло из одного сеанса, т.е. из 10 попыток, следующих одна за другой.

Настоящий эксперимент предусматривал разнесение сеансов во времени. Трипсы, которые проходили два сеанса, разнесенных во времени, помнили зрительные ориентиры, позволяющие избежать перегрева, по меньшей мере в течение суток после обучения. Полученные данные подтверждают гипотезу о том, что увеличение количества повторений и добавление временных интервалов между ними улучшают сохранение следов памяти. Полученные нами данные подтверждают высказанное ранее другими авторами (Isabel et al., 2004) мнение о том, что в природе для организма невыгодно тратить ресурсы на консолидацию, если животное сталкивается со стимулом лишь однажды. Консолидация требуется лишь когда столкновение со стимулом происходит в разных условиях, в данном случае — в разное время.

В данном исследовании мы наблюдаем наличие консолидированных форм памяти. Мы не можем определить, какая именно это память — устойчивая к шоку или долгосрочная, так как это потребовало бы блокировки генов *radish* (Folkers et al., 1993), *NOS1* (Takahashi et al., 2009) и других. Другой способ определить тип памяти — добавить в углеводный корм одной из экспериментальных групп ингибитор синтеза белков циклогексимид (Lagasse et al., 2009), что, вероятно, станет следующим этапом исследования физиологии памяти миниатюрных насекомых.

Устойчивая к шоку память успешно формируется без разнесения попыток обучения во времени, в отличие от долгосрочной памяти (Tully et al., 1994). Таким образом, память трипсов через 4 ч предположительно можно отнести к памяти, устойчивой к шоку, а память спустя 24 ч — к долгосрочной.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 22-74-10008).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных, соответствующих критериям Директивы 2010/63/EU.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Журавлев А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В., 2015. Обучение и память у дрозофилы: физиолого-генетические основы // Успехи физиологических наук. Т. 46. № 1. С. 76–92.
- Мазохин-Поршняков Г.А., 1975. Информационная организация и механизмы поведения у насекомых // Журнал общей биологии. Т. 36. С. 48–60.
- Федорова М.А., Фарисенков С.Э., Тимохов А.В., Полилов А.А., 2022. Ассоциативное обучение и память трипсов // Зоологический журнал. Т. 101. № 8. С. 1–12.
- Федорова М.А., Фарисенков С.Э., Тимохов А.В., Полилов А.А., 2023. Ассоциативное обучение и память наездников *Trichogramma telengai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) // Зоологический журнал. Т. 102. № 3. С. 284–290.
- Clausen C.P., 1978. Onion Thrips (*Thrips tabaci* Lindeman) // Parasites and Predators of Arthropod Pests and Weeds: A World Review. P. 20–21.
- Dukas R., Duan J.J., 2000. Potential fitness consequences of associative learning in a parasitoid wasp // Behavioral Ecology. V. 11. № 5. P. 536–543.
- 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.
- Folkers E., Drain P., Quinn W.G., Daint P., 1993. *Radish*, a *Drosophila* mutant deficient in consolidated memory // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. V. 90. № 17. P. 8123–8127.

- Foucaud J., Burns J.G., Mery F., 2010. Use of spatial information and search strategies in a water maze analog in *Drosophila melanogaster*. V. 5. № 12. P. e15231.
- Isabel G., Pascual A., Preat T., 2004. Exclusive consolidated memory phases in *Drosophila* // Science. V. 304. № 5673. P. 1024–1027.
- Kotoula V., Moressis A., Semelidou O., Skoulakis E.M.C., 2017. Drk-mediated signaling to Rho kinase is required for anesthesia-resistant memory in *Drosophila* // Proceedings of the National Academy of Sciences. V. 114. № 41. P. 10984–10989.
- Lagasse F., Moreno C., Preat T., Mery F., 2012. Functional and evolutionary trade-offs co-occur between two consolidated memory phases in *Drosophila melanogaster* // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. V. 279. № 1744. P. 4015–4023.
- Lagasse F., Devaud J.-M., Mery F., 2009. A Switch from cycloheximide-resistant consolidated memory to cycloheximide-sensitive reconsolidation and extinction in *Drosophila* // The Journal of Neuroscience. V. 29. № 7. P. 2225–2230.
- Matsumoto Y., Mizunami M., 2002. Lifetime olfactory memory in the cricket *Gryllus bimaculatus* // Journal of Comparative Physiology A. V. 188. P. 295–299.
- Montarolo P.G., Goelet P., Castellucci V.F., Morgan J., Kandel E.R., Schacher S., 1986. A critical period for macromolecular synthesis in long-term heterosynaptic facilitation in *Aplysia* // Science. V. 234. № 4781. P. 1249–1254.
- Ofstad T.A., Zuker C.S., Reiser M.B., 2011. Visual place learning in *Drosophila melanogaster* // Nature. V. 474. № 7350. P. 204–207.
- Pfeffer S., Wolf H., 2020. Arthropod spatial cognition // Animal Cognition. V. 23. № 6. P. 1041–1049.
- Piqueret B., Sandoz J.-C., Ettore P.d., 2019. Ants learn fast and do not forget: associative olfactory learning, memory and extinction in *Formica fusca* // Royal Society Open Science. V. 6. № 190778.
- 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 & Development. V. 48. P. 98–102.
- Sakura M., Mizunami M., 2001. Olfactory learning and memory in the cockroach *Periplaneta americana* // Zoological Science. V. 18. № 1. P. 21–28.
- Scheiner R., Frantzmänn F., Jäger M., Mitesser O., Helfrich-Förster C., Pauls D., 2020. A novel thermal-visual place learning paradigm for honeybees (*Apis mellifera*). V. 14. P. 56.
- Takahashi T., Hamada A., Miyawaki K., Matsumoto Y., Mito T., Noji S., Mizunami M., 2009. Systemic RNA interference for the study of learning and memory in an insect // Journal of Neuroscience Methods. V. 179. № 1. P. 9–15.
- Tully T., Preat T., Boynton S.C., Del Vecchio M., 1994. Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila* // Cell. V. 79. № 1. P. 35–47.
- Villar M.E., Marchal P., Viola H., Giurfa M., 2020. Redefining single-trial memories in the honeybee // Cell Report. V. 30. № 8. P. 2603–2613.
- 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.
- 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.
- Yu J.X., Hui Y.M., Xue J.A., Qu J.B., Ling S.Q., Wang W., Zeng X.N., Liu J.L., 2022. Formation characteristics of long-term memory in *Bactrocera dorsalis* // Insect Science. № 0. P. 1–15.

LONG-TERM MEMORY IN *THRIPS TABACI* (THYSANOPTERA, THRIPIDAE)

M. A. Fedorova^{1,*}, S. E. Farisenkov¹, A. A. Polilov¹

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

*e-mail: mariafedorova1997@gmail.com

Microinsects are capable of associative learning and memory retention despite significant reduction in the number and size of neurons. Previously, the capabilities of *Thrips tabaci* (Thysanoptera, Thripidae) for associative learning and the formation of short-term memory have been demonstrated. In this study, an additional training session was added, as well as a time interval between them. Increasing the number of training sessions and spacing these out over time allowed us to demonstrate the persistence of memory traces for up to 24 hours. Thus, for the first time, the presence of consolidated forms of memory in the order Thysanoptera has been revealed.

Keywords: associative learning, memory retention, microinsects, miniaturization