

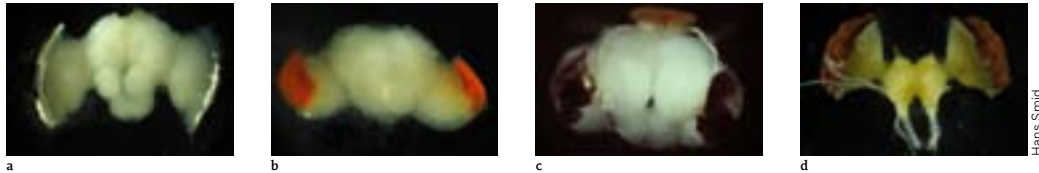
Insecten kunnen leren

Door Hans Smid

Een bij kan leren waar hij het beste nectar kan vinden en je hebt langzaam- en snellerende sluipwespen. Dat betekent overigens nog niet dat een langzaamlerende wesp dom is. Insecten zijn ideale proefkonijnen als we willen begrijpen wat er bij leren eigenlijk gebeurt in de hersenen. En hoe tover je in een paar minuten een sluipwesp om tot hasjwesp?

Insecten zijn lagere diersoorten maar toch kan hun gedrag knap ingewikkeld zijn. Een mooi voorbeeld is de balts van bananenvliegjes. De bewegingen van insecten grenzen aan het ongelooflijke, denk maar aan de vliegkunst van een huisvlieg. Informatie die nodig is voor dit gedrag wordt opgevangen door verschillende zintuigen voor bijvoorbeeld licht, geur, smaak en geluid. Libellen kunnen met hun ogen zo goed zien dat ze hun prooi in vlucht kunnen vangen. Insecten ruiken met hun extreem gevoelige voelsprieten (antennen). Sprinkhanen kunnen geluiden horen met een speciale structuur (het *tympanum*), dat veel lijkt op ons eigen gehoororgaan, inclusief trommelvlies.

Titelfoto
Libelle.



Figuur 1
De hersenen van een aantal verschillende insecten. Van links naar rechts: honingbij, bananenvlieg, sluipwesp en sprinkhaan. De groene balkjes die bij respectievelijke figuren a-d horen staan voor 0,5 mm.



Figuur 2
Honingbij



Hans Smid

Multifunctioneel minibreïn

Het complexe gedrag van insecten is natuurlijk alleen mogelijk dankzij een puik stel hersens. De hersenen van een insect zijn weliswaar klein (figuur 1) maar in hun prestaties zijn ze groot. Afhankelijk van de soort is het volume meestal kleiner dan een microliter. Er zitten natuurlijk beperkingen aan zo'n minibreintje. Zo zijn insecten voor een belangrijk deel veroordeeld tot het uitvoeren van voorgeprogrammeerd (*stereotiep*) gedrag. Een honingbij heeft bijvoorbeeld een uitgebreid stel aangeboren gedragsmogelijkheden dat het diertje in staat stelt te communiceren met soortgenoten, de larven te voeren, voedsel te zoeken in bloemen en brutale honingdieven te steken. Een honingbij reageert op voorspelbare - en daarvoor meestal precies de goede - manier op haar omgeving. Meer breinvolume is niet nodig, kost energie en is daarom alleen maar tot last. Aangeboren gedrag alleen is niet altijd voldoende om te overleven. Soms veranderen de omstandigheden en is het aangeboren gedrag helemaal verkeerd. Gelukkig kunnen insecten leren hun gedrag aan te passen. De honingbij (figuur 2) onthoudt waar de bijenkorf staat zodat ze de weg terug naar huis kan vinden. Of dat bloemen met een bepaalde geur of kleur vandaag meer nectar afgeven dan andere. Het insect verbetert zo het zoekgedrag naar voedsel door het verband te onthouden tussen geur of vorm (bloem) en voedselbeloning (nectar). Ook dit leren is voorgeprogrammeerd gedrag, want een insect past aangeboren gedragsvormen door leren aan de heersende omstandigheden aan. Geheel nieuwe gedragsvormen leren kan een insect veel minder goed.

Waarom leren insecten?

Leren is voor een insect een manier om optimaal om te gaan met de beperkte mogelijkheden van de hersenen. Zo heeft een honingbij voor iedere bloem speciale vaardigheden nodig om er de nectar uit te halen. Deze vaardigheden leert een bij door te oefenen. Na een paar bloemen gaat het steeds beter. Als de bij echter steeds verschillende bloemen zou bezoeken moet ze steeds veranderen van tafelmanieren en dat is erg onhandig. Daarom leren bijen steeds dezelfde soorten bloemen te bezoeken, zodat ze per bloem zo weinig mogelijk tijd kwijt zijn. Andere bloemsoorten, waarvoor andere tafelmanieren nodig zijn, laten ze links liggen.



De Bij van Pavlov

Het klassieke experiment van Pavlov ('de hond van Pavlov'), toont aan dat een hond kan leren om het verband te leggen tussen een geluid en een voedselbeloning. Een hond gaat gewoonlijk kwijlen bij het zien van voedsel en niet bij het horen van een belletje. Pavlov liet het zien van voedsel echter steeds voorafgaan door het geluid van een belletje. Zo leerde hij zijn hond om de bel te associëren met voedsel: de bel voorspelt de beloning, en de hond gaat al kwijlen bij het horen van de bel. Voor het onderzoek aan leren bij insecten wordt een vergelijkbare test gebruikt, gebaseerd op het uitstrekken van de snuit van een insect als reactie op een voedselbeloning, de snuituitsteekreflex (figuur 3). Nu wordt direct voor de voedselbeloning een geur over de antennen geblazen waardoor het insect de geur leert te associëren met het voedsel. Daarna steekt het zijn snuit ook uit als het alleen de geur ruikt. Deze eenvoudige test is heel populair bij onderzoek aan leren bij insecten en heeft veel kennis opgeleverd over de *dynamiek* van geheugen: hoe lang blijft geheugen in de hersenen aanwezig en welke factoren zijn daarop van invloed? Het blijkt dat hongerige bijen veel beter leren dan verzadigde bijen, en dat het herhalen van de leerervaring ervoor zorgt dat de geur langer wordt onthouden, maar alleen als er minstens een minuut tussen de herhalingen zit en niet als de herhalingen direct achter elkaar gegeven worden.

Hoe associatief leren precies werkt op het niveau van hersenen is nog grotendeels onbekend, maar bij insecten is een tip van de sluier opgelicht door onderzoek van Duitse wetenschappers aan de honingbij. Zij wisten de snuituitsteektest te combineren met het meten van de activiteit van zenuwcellen die betrokken zijn bij associatief leren. De associatie van geur met voedselbeloning blijkt te herleiden tot de activiteiten van één enkele zenuwcel! Deze zenuwcel reageert zeer sterk op stimulatie van de antennen en monddelen met suikerwater. Het signaal van deze zenuwcel gaat naar alle delen van de hersenen die betrokken zijn bij de verwerking van geurinformatie (figuur 4). Wordt de suikerbeloning vervangen door kunstmatige prikkeling van deze zenuwcel, dan leert de honingbij net zo goed als met een beloning. Een beloning kan volledig worden vervangen door kunstmatige stimulatie van één zenuwcel.

Figuur 3
Net als bij de 'hond van Pavlov', bestaat er ook voor insecten een test om geheugen aan te tonen. Hierbij leert het insect een geur associëren met een beloning, een druppeltje suikerwater.

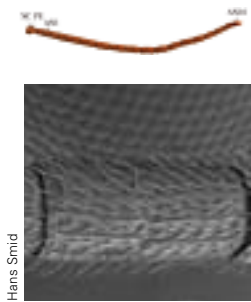
Hierbij wordt een honingbij vastgezet zodat alleen de antennen en snuit vrij kunnen bewegen.

a
Hier is te zien hoe de bij voor de leerervaring niet reageert op de 'bloemengeur', die over de antennen wordt geblazen, de snuit wordt niet uitgestrekt.

b
De antennen en de snuit worden aangeraakt met een druppel suikerwater, direct nadat er een geur wordt toegediend. De gelijktijdige waarneming van geur en beloning veroorzaakt geheugenvorming.

c
Als daarna alleen de geur wordt toegediend associeert de bij de geur met een beloning. De bij steekt de snuit uit, in blijde verwachting van een druppel suikerwater.

Hans Smid



Hans Smid

■ 10 µm

Figuur 4
Insecten ruiken met hun antennen. Op de antennen bevinden zich verschillende typen *sensillen*, bijvoorbeeld de haarvormige *sensillen* op de foto hierboven. Geurgevoelige zintuigcellen in de geursensillen sturen de informatie via de antennale zenuw naar de hersenen. In de hersenen komen de antennale zenuwen (AN) aan in de antennale lob, die bestaat uit vele tientallen bolvormige structuren, de *glomeruli*. Dit deel van de hersenen werkt als een soort filter, dat de ruwe informatie vanuit de antenne in sterk gereduceerde vorm doorstuurt naar de hogere hersencentra.

Supersnellerende bananenvlieg

De honingbij is niet het enige insect dat wordt gebruikt voor onderzoek aan leren. Ook het bij genetici en moleculair biologen geliefde bananenvliegje is zeer belangrijk. Dit kleine beestje is zeer geschikt om de invloed van genetische veranderingen op het leergedrag te bepalen. Dit onderzoek heeft duidelijk gemaakt dat er in moleculair opzicht veel overeenkomsten zijn tussen geheugenprocessen bij vlieg en mens. Eigenlijk leert een vlieg op dezelfde manier als de mens. Sommige dingen worden maar even onthouden in het kortetermijn geheugen, andere zaken worden langer onthouden in het langetermijn geheugen.

Een belangrijke ontdekking uit onderzoek met bananenvliegjes en slakken is de vondst van een schakelaar tussen het korte- en langetermijn geheugen. De mate waarin een leerervaring wordt omgezet in geheugen blijkt nauwkeurig geregeld door een samenspel van geheugenstimulerende en -remmende genen. Een grote doorbraak werd behaald toen Amerikaanse onderzoekers erin slaagden genetisch gemodificeerde bananenvliegen te maken, waarbij een geheugenremmend gen was uitgeschakeld. Deze bananenvliegen, die normaal een aantal herhalingen nodig hebben om langetermijn geheugen te vormen, hebben dan slechts één leerervaring nodig om iets levenslang te onthouden. Het omgekeerde blijkt ook mogelijk: bananenvliegen waarin het geheugenremmende gen extra actief is gemaakt vertonen geen langetermijn geheugen, maar alleen kortetermijn geheugen. Dit mechanisme blijkt universeel: het werkt op dezelfde manier van muis tot slak.

Waarom zijn er eigenlijk geheugenremmende genen? Zou het niet veel handiger zijn als we alles in een keer konden onthouden, zonder eerst moeite te hoeven doen van het steeds herhalen? Hersenen werken niet op die manier, omdat dan veel te veel foute informatie zou worden opgeslagen in het geheugen. Alleen als een geur herhaaldelijk samen met de beloning wordt waargenomen, wordt de geur langdurig onthouden als betrouwbare voorspeller van de beloning. Een éénmalige combinatie van geur en beloning kan toeval zijn. Als de, door genetische modificatie, supersnel lerende bananenvlieg in de natuur wordt losgelaten dan slaat het allemaal onzinnige informatie op, en maakt daardoor verkeerde keuzes. Te snel leren is dus niet slim! Het samenspel van geheugenstimulerende en geheugenremmende genen zorgt juist voor een perfect afgesteld filter voor het opslaan van informatie in het geheugen: niet te langzaam, maar ook niet te snel. Leren kost tijd. Of is er toch een manier om deze natuurlijke barrière te omzeilen?

De leerpil

Het onderzoek aan geheugenremmende genen bij de bananenvlieg en vergelijkbaar onderzoek aan de Californische zeeslak maakt duidelijk waar aangrijpingspunten liggen om medicijnen te ontwikkelen die geheugenstoornissen kunnen verhelpen. De onderzoekers die het geheugenonderzoek uitvoerden zijn hun eigen bedrijf gestart. Ze zijn momenteel gevorderd met de ontwikkeling van medicijnen die het geheugen kunnen verbeteren. De 'leerpil' uit science-fiction verhalen bestaat binnenkort echt. In eerste instantie bedoeld voor patiënten met een geheugenstoornis. Misschien kunnen ook gezonde mensen de verleiding niet weerstaan hun leersnelheid te verhogen met af en toe een leerpilletje voor een examen, of voor een belangrijke business meeting....

Leerverschillen bij sluipwespen

De dynamiek van het geheugen – hoeveel leerervaringen zijn nodig om het geheugen een bepaalde tijd vast te houden of hoelang wordt een geur onthouden na een bepaald aantal leerervaringen- is van groot belang voor het overleven en de voortplanting van een insect. Te langzaam leren kost tijd, maar het verkeerde leren is nog erger! De optimale balans tussen die twee bepaalt de dynamiek van het geheugen, en die balans kan per soort heel verschillend zijn. Voor een kortlevend insect is tijd kostbaar. Het is dan beter de gok te wagen en snel te leren. Voor een insect dat erg veel variatie tegenkomt is de kans om het verkeerde te leren groot, en dan is het beter om langzamer te leren en fouten te voorkomen.

Een groep insectensoorten die erg variabel is in leren, en daarmee heel geschikt om verschillen in leren te onderzoeken, zijn sluipwespen, zoals *Cotesia* (figuur 5). Dit zijn parasitaire insecten, die hun eitjes leggen in bijvoorbeeld rupsen van vlinders. De eitjes komen uit in de rups en de larven ontwikkelen zich totdat ze volgroeid zijn. Ze vreten zich daarna door de huid van de rups heen, spinnen een cocon en verpoppen zich. De volwassen sluipwesp moet vervolgens op zoek naar geschikte jonge rupsen, maar die zijn niet gemakkelijk te vinden. De rupsen zijn goed gecamoufleerd en verraden zich niet door hun geur. Heel iets anders dus dan nectar verzamelen uit bloemen! Dat doen sluipwespen ook, maar dit is een relatief eenvoudige taak vergeleken met het zoeken naar jonge rupsen.

De rupsen verraden zichzelf doordat ze de planten waar ze van eten beschadigen. De plant reageert op stoffen in het speeksel van de rupsen door extra geurstoffen te verspreiden waar de sluipwespen gek op zijn. Jonge sluipwespen zijn voorgeprogrammeerd om de geuren lekker te vinden van de meest voorkomende plantensoort waarop vaak geschikte rupsen zitten. Ze kunnen echter leren om van voorkeur te veranderen, nadat ze rupsen hebben gevonden op een andere plantensoort. Er vindt dan iets vergelijkbaars plaats als bij het leren van geuren door de honingbij, met suikerwater als beloning. Het leggen van eitjes in de rups is de beloning, en de geur die de plant verspreidt als hij door rupsen wordt aangevreten is de geur die wordt geleerd (figuur 6).



figuur 5
sluipwesp *Cotesia*.



Hans Smid

Figuur 6
Voorkeuren leren bij sluipwespen. Bij associatief leren van de sluipwesp kan het leggen van een ei in een rups als beloning dienen. De geur van de plant waarop de rups zich bevindt wordt nu geassocieerd met de rups. Dit kunnen we meten door de wesp voor en na de eilegervaring te laten vliegen in een windtunnel, waarbij ze kan kiezen tussen de plant waarop ze de eilegervaring had en een andere plant.

De mate waarin sluipwespen hun voorkeur aanpassen na een eilegervaring verschilt als dag en nacht tussen verschillende nauwverwante soorten. Zo heeft de sluipwesp *Cotesia glomerata*, die het liefst rupsen van het grote koolwitje parasiteert, een duidelijke voorkeur om die rupsen te zoeken op spruitkoolplanten. Ze kan echter zeer snel van voorkeur veranderen, als ze die rupsen één keer op een andere plantensoort vindt. De zustersoort *Cotesia rubecula*, die rupsen van het kleine koolwitje parasiteert, doet dat helemaal niet. Zelfs als ze vijf keer achter elkaar rupsen op die andere plantensoort vindt, blijft deze sluipwesp stug kiezen voor de plantensoort die ze vanouds het meest aantrekkelijk vindt, namelijk spruitkool. Dat komt door een belangrijk verschil in het gedrag tussen het kleine en het grote koolwitje. Het vrouwtje van het kleine koolwitje legt steeds één

eitje per plant, en zet deze eitjes zo verspreid mogelijk af, op verschillende plantensoorten. Een eilegervaring met een rups van het kleine koolwitje op een bepaalde plantensoort wil dus helemaal niet zeggen dat je als sluipwesp naar die plantensoort moet gaan zoeken. Daarvoor is het eileggedrag van het kleine koolwitje veel te onbetrouwbaar.

Het grote koolwitje past een andere tactiek toe. Zij legt heel veel eitjes op één plant. De rupsen die uit deze eitjes komen, eten die plant binnen de kortste keren helemaal kaal, en dan moeten de rupsen verhuizen naar een nieuwe plant van dezelfde soort. Rupsen zijn namelijk nogal kieskeurig, als ze éénmaal gewend zijn aan een plantensoort willen ze geen andere plant meer vreten. Er moeten dus een aantal planten van dezelfde soort in de buurt staan. Moeder koolwitje proeft daarom uitgebreid aan een groot aantal planten in de buurt om dat te controleren, voordat ze haar eitjes legt. Op zulke groepen van dezelfde planten komen vaak meerdere koolwittjes af om eitjes te leggen. Een eilegervaring met een rups van het grote koolwitje betekent dus: bingo! Dan moet je als sluipwesp vooral naar de soort plant blijven zoeken waarop je die rupsen gevonden had en de jackpot keert uit!

Is het dan heel dom van het grote koolwitje om haar eitjes zo bij elkaar te leggen? Nee, want er zitten ook voordelen aan deze tactiek. Een 'kudde' rupsen kan zich namelijk beter verdedigen tegen sluipwespaanvallen. De rupsen bijten de sluipwesp dan in de poten en vleugels. Bepaalde stoffen in het speeksel van de rupsen verlammen de sluipwesp waardoor ze stopt met parasiteren. Zo ontkomt een deel van de rupsen aan de dood. Het rupsje van het kleine koolwitje heeft die mogelijkheid niet, die is redeloos verloren als het gevonden wordt door een sluipwesp.

Het verschil in eileggedrag van de twee vlindersoorten is dus een mogelijke verklaring voor het verschil in leervermogen tussen de twee sluipwespen. Het kleine koolwitje zorgt voor veel variatie, is onvoorspelbaar in de keuze van de plant waarop ze haar eitjes legt, en de sluipwesp leert daarom niet van een eilegervaring (slim!). Het grote koolwitje is heel voorspelbaar in haar eileggedrag en de sluipwesp leert wel van een eilegervaring op de rups van het grote koolwitje (ook slim!).

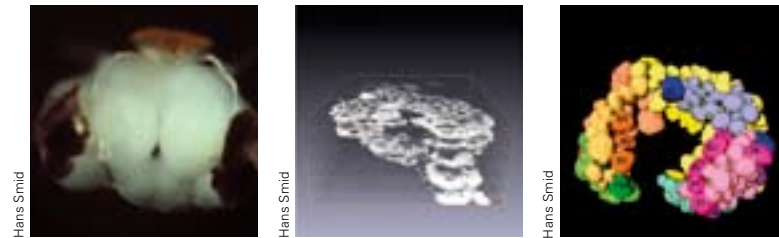
Goed- en slechtlerende sluipwespen

Twee nauwverwante sluipwespsoorten die zo verschillen in leervermogen vormen een ideale mogelijkheid om te onderzoeken wat de verschillen zijn in de hersenen van de goed en slecht lerende sluipwespen. Verschillen de eigenschappen van een soortgelijke zenuwcel die in de honingbij door de suikerbeloning wordt gestimuleerd? Of heeft de slechtlerende soort meer geheugenonderdrukkende genen? De hersenen van beide soorten lijken op het eerste gezicht volkomen gelijk. De verschillen moeten inderdaad in details als leergenen of eigenschappen van enkele zenuwcellen worden gezocht.

Figuur 7
Getrainde sluipwesp op rotje.



Hans Smid



Sluipwesp als speurneus

Het onderzoek naar het leervermogen van bijen en sluipwespen en de mechanismen die de verschillen in leren veroorzaken levert veel kennis op maar kent ook toepassingen. Er wordt bijvoorbeeld hard gewerkt aan het inzetten van bijen en sluipwespen als speurneus bij het opsporen van explosieven of drugs (figuur 7). De enorme gevoeligheid van de geurreceptoren van insecten, gekoppeld aan het vermogen op elke geur te kunnen leren reageren, levert een ideaal beest op om in te zetten bij gevaarlijke klusjes als het opsporen van landmijnen. Het blijkt dat bijen en sluipwespen de geuren van dynamiet of drugs heel goed kunnen leren detecteren. Ze hebben ook geen langdurige training nodig om te reageren op de specifieke geuren; een paar keer oefenen is genoeg! Momenteel wordt speciale elektronica ontwikkeld om gedragsveranderingen van sluipwespen om te zetten in een bruikbaar elektrisch signaal, zodat de detectie van een geur door de sluipwesp elektronisch kan worden geregistreerd.

Ideale proefkonijnen

Insecten lenen zich erg goed voor neurobiologisch onderzoek, omdat insecten complex gedrag hebben die interessante onderzoeksvragen mogelijk maken. Terwijl de hersenen toch klein en relatief eenvoudig zijn. De chemische processen zijn zeer vergelijkbaar met die van hogere dieren, maar de neurale netwerken zijn veel makkelijker te begrijpen. Het eerder genoemde onderzoek waarbij de suikerbeloning wordt vervangen door kunstmatige beloning van één zenuwcel in de honingbij is een goed voorbeeld van hoe de eenvoud van de hersenen het mogelijk maakt om het mechanisme van een leerproces te begrijpen. Met moderne laserscanning microscopen kunnen de miniaturhersen in insecten in één stap driedimensionaal in hoge resolutie gedigitaliseerd worden (figuur 8). Dit versnelt het onderzoek enorm. Bovendien is het gebruik van insecten als proefdieren veel goedkoper en voor de meeste mensen veel beter aanvaardbaar dan onderzoek aan proefdieren als muis en rat. Om deze redenen zijn vooral bananenvliegen in trek als diemodel voor onderzoek aan hersenziekten als Alzheimer, Parkinson en Huntington. Er zijn inmiddels voor onderzoek genetisch gemodificeerde bananenvliegen beschikbaar waarin deze ziekten precies worden nagebootst. Ook processen die een rol spelen in drugsverslaving worden onderzocht met bananenvliegen, die net als mensen onder invloed van cocaïne eerst in overactieve feestbeesten veranderen, waarna een fase van totale apathie volgt. Het is duidelijk dat de hersenen van de mens meer overeenkomsten hebben met die van insecten dan je op het eerste gezicht zou denken. Gezien de minimale afmetingen van insectenhersenen zijn insecten in staat tot fenomenale leerprestaties. Het insectenbreintje is een prachtig voorbeeld van 'minder is meer' en insecten zullen een belangrijke rol blijven spelen in het onderzoek naar leren.

Figuur 8
Insectenhersenen in 3D. De hersenen van de sluipwesp zijn uit de kop verwijderd en vervolgens worden structuren zichtbaar gemaakt met fluorescerende kleurstoffen. In dit geval is de kleurstof in de antennale zenuw gepompt om de bolvormige structuren in de antennale lob (de glomeruli) zichtbaar te maken. Het deel van de hersenen met de glomeruli wordt vervolgens met een *confocaal laserscanning microscoop* driedimensionaal ingescand. Zonder te snijden in de hersenen kan deze microscoop steeds dieper in de hersenen scherpstellen en zo kunnen virtuele plakjes hersenen worden bekeken. Als de hersenen van boven naar onder zijn ingescand is er een stapel virtuele plakjes digitaal opgeslagen, die een computer vervolgens weer kan verwerken tot een driedimensionale representatie, maar dan met alle informatie van de gekleurde structuur in hoge resolutie! Deze techniek maakt het mogelijk om zeer snel resultaten van verschillende hersenen met elkaar te vergelijken, structuren te merken met verschillende kleuren, en verschillende resultaten te combineren in een standaard hersenmodel.