

风洞技术*

李静静¹ 黄翠虹² 周琳¹ 闫凤鸣^{1**}

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 顺德职业技术学院, 广东 528333)

摘要 风洞技术是测定信息化学物质对昆虫行为影响研究中非常重要的实验手段, 可为确定信息物质的浓度、配比提供参考, 也可辅助诱芯的改进和诱捕器的设计。实际上风洞实验是一种信息物质田间应用前的室内模拟测试。风洞实验前要做好充分的准备, 观察和记录的指标因测试的是性信息素还是植物挥发物而不同。本文重点介绍了风洞实验的具体操作步骤, 列举了风洞技术在苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* 多成分性信息素研究和葡萄藤蛾 *Lobesia botrana* 对葡萄主要挥发物的行为反应研究中的两个应用实例, 最后还讨论了风洞与嗅觉仪的区别、风洞的优缺点, 以及风洞的日常维护等。

关键词 风洞, 昆虫行为, 操作步骤, 信息化学物质

The windtunnel technique

LI Jing-Jing¹ HUANG Cui-Hong² ZHOU Lin¹ YAN Feng-Ming^{1**}

(1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Shunde Polytechnic College, Guangdong 528333, China)

Abstract The windtunnel is an important tool for bioassays of the effects of infochemicals on insect behavior and can be used to improve lures and traps by testing suitable concentrations or component ratios of infochemicals. Windtunnels allow the testing of infochemicals under controlled laboratory conditions prior to their application in the field. All necessary preparations should be made before a windtunnel test, and the parameters to be observed and recorded should determined based on the type of chemical to be tested; i.e. insect sex pheromones or plant allelochemicals. In this paper, detailed procedures for the windtunnel tests are provided and two examples of the use of windtunnels to test insect pheromones and plant volatiles are given. Differences between the windtunnel testing and olfactometer assays, and the advantages and shortcomings of using windtunnels, as well as their maintenance, are discussed.

Key words windtunnel, insect behaviors, experimental procedures, infochemicals

1 引言

风洞技术 (Wind tunnel) 是化学生态学中的常用方法, 用于观察飞行昆虫在室内的行为反应, 是信息素或植物挥发物等活性成分及其诱芯在应用于田间之前, 进行模拟测试的一种有效方法。

风洞的大小、形状有许多种, 最常见的是水平风洞。风洞一般包括 3 个部分: 鼓气装置; 观察昆虫行为的工作区; 排气装置 (Howse *et al.*,

1998)。可以将摄像头安装在风洞的侧面、顶端, 与计算机相连, 在实验时自动记录昆虫的行为和三维飞行轨迹 (Witzgall and Arn, 1991), 以方便实验后做进一步分析。可在风洞底部用传送带使一些图案运动, 为昆虫提供视觉参考, 也可以用不同大小、不同颜色的圆形纸片摆放在风洞底部, 也能达到同样的效果。

风洞可以非常方便地测定信息化学物质的活性, 因为昆虫飞向气味源的轨迹、用时、降落点等, 都是非常直观的。目前风洞可以应用到下

* 资助项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201203036)

**通讯作者, E-mail: fmyan@henau.edu.cn

收稿日期: 2014-01-20, 接受日期: 2014-03-06

列方面：(1) 推测有效行为化合物组分及比例；(2) 测定次生代谢物质的行为功能；(3) 辅助诱芯的改进和诱捕器的设计；(4) 研究昆虫的定向及化学感受机制；(5) 研究杀虫剂的喷雾过程对昆虫行为的影响等（周弘春和杜家纬，2001）。

2 风洞实验过程

2.1 实验准备

正式实验开始前，要做好充分的准备工作，才可能取得理想的测试效果：(1) 将照明设置到实验的状态。进行蛾类昆虫的实验时，在测试时间和昆虫饲养的暗期相一致的情况下，光照通常只有零点几到几个勒克斯；(2) 通过前期观察和预实验，在昆虫对信息素或植物挥发性物质反应最灵敏的时间进行测试；(3) 待测昆虫要在测试前 0.5~1 h 之前转移到风洞所在的房间，使之适应测试环境，否则会影响实验效果；最好将待测昆虫放入玻璃管内，两端用脱脂棉塞住；(4) 秒表、记录纸、铅笔等也要事先放在方便取用的位置；(5) 如果使用摄像机和计算机，要提前开机，使之处于随时记录的状态；(6) 保持风洞房间内温度、湿度、光照等条件的稳定；(7) 整个实验环境要保持安静，避免人为干扰。

2.2 实验操作

2.2.1 实验步骤 (1) 实验开始时，首先将待测样品放在风洞的上风口；(2) 等待 1~2 min，待气迹均匀后，将试虫放在下风口。可在下风口正对气味源的位置，放一个支架，将试虫玻璃管水平放置在支架上，使试虫的位置正好与气味源处在一个水平上；可以通过观察氢氧化铵或氨水的烟迹是否为有规律的圆锥形以及是否经过放有试虫的平台来进一步确定试虫的摆放位置；或在上风口燃烧一根香料棒也可以观察气迹的走向，以确定气味源和试虫的相对位置；(3) 去掉玻璃管两端的脱脂棉，让昆虫自由运动；(4) 观察、记录昆虫的反应。

2.2.2 风洞实验观察指标 根据不同的昆虫种类和待测化学物质的性质，设计不同的观察指标，如对蛾类昆虫性信息素，可以观察昆虫是否有兴奋（表现为快速地交替摆动一对触角，来回爬动，振翅）、起飞（围绕气迹上下左右来回搜索）、定向（沿气流逆风之字形飞行，距离达风洞长度的 1/2 以上）、沿信息素气迹继续逆风飞行、近距离

定位（在诱芯下风通常 20~30 cm 处盘旋进退数次选择降落点）、降落、搜寻信息素源（雄蛾边振翅边向诱芯爬行并不断摆动触角）、探测（用触角接触诱芯）、预交尾（雄蛾腹部伸长，抱握器伸出）和交尾（雄蛾将抱握器对向诱芯，伸出阳茎）等行为（周弘春和杜家纬，2001）。

而昆虫对植物源气味的定向行为反应则不同，一般只表现出起飞、定向、逆风飞行和降落到诱源等行为。与取食或产卵有关的行为，昆虫可以表现出伸喙、取食或腹部卷曲、伸出产卵器刺探等行为（Mechaber *et al.*, 2002）。

3 风洞实验示例

3.1 苹果蠹蛾多成分性信息素研究

1) 研究背景

苹果蠹蛾的性信息素的主成分是 E8, E10-12OH，即蠹蛾醇（Codlemone）。但在实验中发现，腺体抽提物比蠹蛾醇更能吸引雄蛾，推测还有其它成分在性吸引中起作用。本实验主要为了研究苹果蠹蛾是利用多成分信息素还是单成分信息素（EL-Sayed *et al.*, 1999）。

2) 风洞实验过程

灯灭后 1 h 开始实验，持续 3~4 h。测试开始 15 min 前，将 2 日龄雄蛾单独放入玻璃管（15 cm × 2.5 cm）内，两端用纱布封口。单头昆虫在风洞的下风口释放，允许有 2 min 的反应时间。

对于单信息素气味，每天测试 15 头雄虫，连续测试 4 d，共实验 60 头昆虫；选择性测试中，分别比较雄蛾对求偶雌蛾、腺体抽提物和合成信息素的反应。两种气味源摆放在上风口，距离 11 cm。试虫释放位置距气味源约 2 m。每次测试重复 4 次，每次使用 20~30 头雄虫，使得 15 头雄虫降落在气味源之一上。两个气味源在测试重复时更换位置。

3) 结果分析

结果表明，求偶雌虫和腺体抽提物均比合成信息素更能吸引雄虫；在选择性测试中，雄蛾降落在求偶雌虫和腺体抽提物上的个体比例显著比降落在合成信息素上的高（图 1）。说明除蠹蛾醇外，其它成分也在性吸引中起作用。

3.2 葡萄藤蛾对葡萄主要挥发物的行为反应

1) 研究背景

寄主植物释放的挥发性气味物质吸引雌虫

前来产卵。识别这些挥发物的组分对于正确理解昆虫与植物的相互关系以及指导植物抗虫育种都是至关重要的。研究发现来自葡萄的 3 种萜类化合物如 (*E*)- β -石竹烯, (*E*)- β -金合欢烯和 DMNT 能引起葡萄藤蛾的产卵反应(Tasin *et al.*, 2006)。这些化合物在植物界中普遍存在, 但为什么会引起该虫的产卵行为呢?

2) 风洞实验过程

在经活性炭过滤的空气流速为 25 cm/s, 光照 10 lx, 温度 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 40%~60% 的风洞 (63 cm \times 90 cm \times 200 cm) 中进行。葡萄串 (100~150 g, 直径 5~10 mm) 放在圆柱形的玻璃容器内, 顶端用棉纱封口。葡萄顶空收集物及合成的化合物通过电子喷雾器释放, 优点是保证植物挥发物以精确的数量和不变的速度释放。以上 3 种气味源均放在风洞的上风口。将单头交配过的葡萄藤雌蛾于风洞的下风口处释放。10 头雌虫为一批, 连续进行 4 d。对逆风上行至少 60 cm 的雌虫归为“逆风飞行组 (Flying upwind)”; 对逆风上行 180 cm 以上降落在气味源位置的归为“降落组 (Landing)”。分别加以计数统计。

3) 结果分析

风洞结果表明, 交配雌蛾被来自葡萄源的气味所吸引, 10% 的试虫径直逆风上行 180 cm 以上, 降落在葡萄上后产卵 (图 2: A); 葡萄顶空收集物经电子微形喷雾器喷洒后, 也有效地吸引雌蛾逆风上行至气味源 (图 2: B), 且与葡萄本身吸引的雌虫数没有差别, 这表明顶空收集物捕获了葡萄挥发物的关键成分。其中 (*E*)- β -石竹烯的含量最丰富。而且雌虫飞向诱源的行为反应与雄虫定向飞向雌虫释放的性信息素的行为表现有相似之处。含有 (*E*)- β -石竹烯, (*E*)- β -金合欢烯和 DMNT 3 种化合物的混合物是吸引雌虫逆风上行和降落产卵的关键成分。而

且配比同样重要, 在配比是 100 : 78 : 9 的情形下比 37 : 17 : 100 的配比吸引了更多雌虫降落, 相反, 后者不能诱发葡萄藤蛾的定向行为 (图 2: C)。

该研究表明, 植物界中普遍存在的一些化合物, 只因组分的配比特异性, 仅以低至昆虫性信息的微小含量就可引起特定昆虫的行为反应。对它们配比的研究将会帮助我们理解昆虫与植物之间微秒的相互关系。

4 风洞的优势及应用注意事项

4.1 风洞的优势

昆虫向着气味源的逆风飞行是一种高度综合的行为, 对任何微小的变化都非常敏感, 人们为观察这些微小变化及其原因, 设计和应用了风洞。对飞行生物如昆虫进行化学通讯行为的测定, 风洞实验比野外研究有明显的优越性 (闫凤鸣, 2011): 第一, 环境条件可以人为控制, 可以一次设定一个可变的条件, 其它条件可以固定, 这样可以比较容易找出影响昆虫飞行的因素, 获得它们与行为变化间的联系; 每次实验中温度、湿度、风速和携有化学物质的气流可以保持一致, 不必像在田间那样考虑这些条件的变化。第二, 虽然风洞无法同时再现田间那样宽的气缕 (Plume) 和远距离传送的低浓度信息化学物质, 但应用可变的释放速率, 也可以使昆虫表现出对远或近距离的行为反应; 在昆虫飞行时移动风洞底部的可视图版, 同样可以模拟昆虫远距离的飞行。第三, 风洞实验可以常年进行, 而田间实验则受季节的限制。第四, 风洞是一个非常灵敏的装置, 可以测定几个纳克的化学物质引起

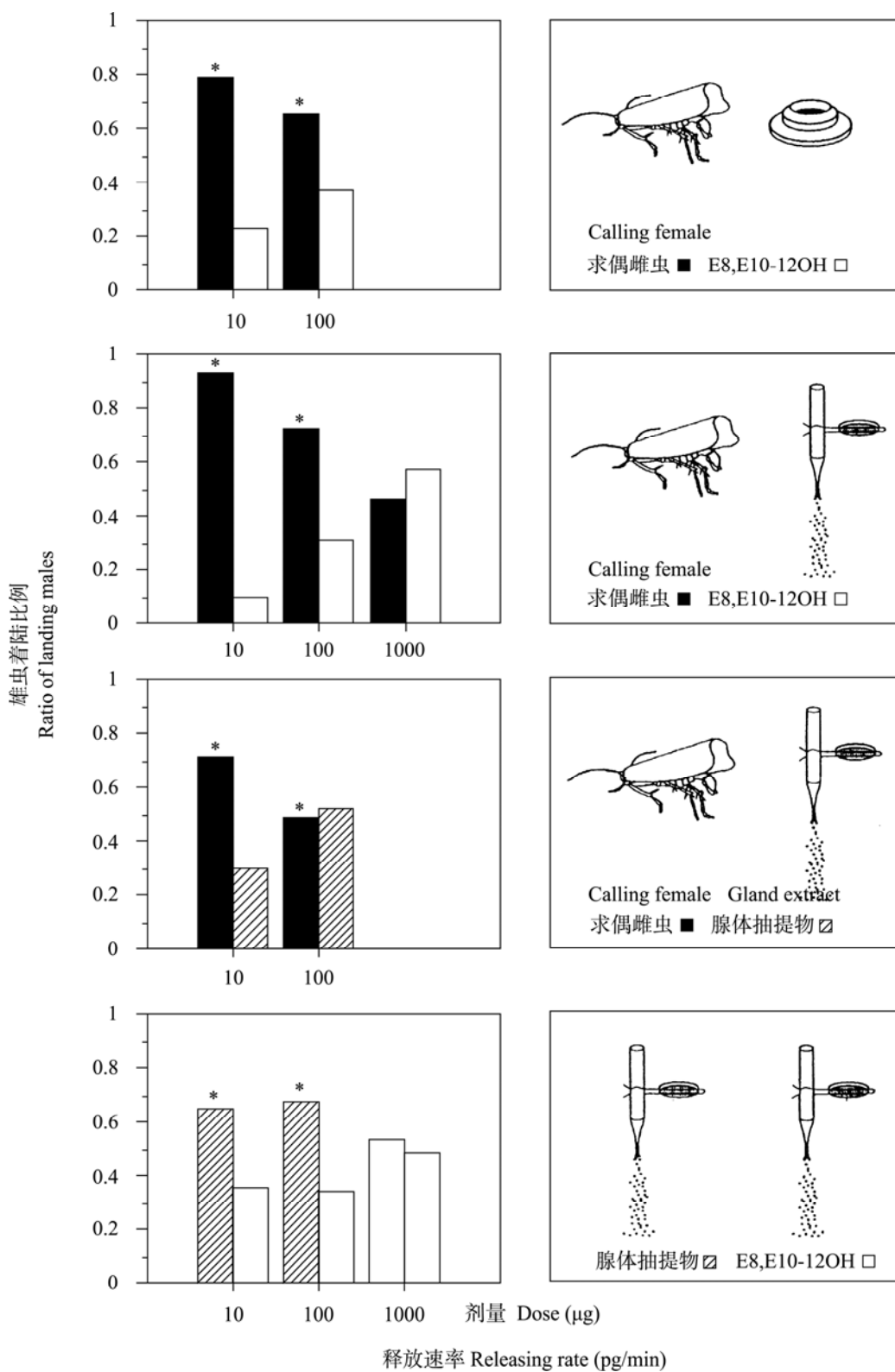


图 1 苹果蠹蛾雄蛾 ($n = 60$) 降落在求偶雌蛾、腺体抽提物和合成信息素上的比例 (引自 EL-Sayed 等, 1999)

* 资助项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201203036)

**通讯作者, E-mail: fmyan@henau.edu.cn

收稿日期: 2014-01-20, 接受日期: 2014-03-06

Fig. 1 Ratio of codling moth males ($n = 60$) landing on calling female, gland extracts and synthetic pheromones (from EL-Sayed *et al.*, 1999)

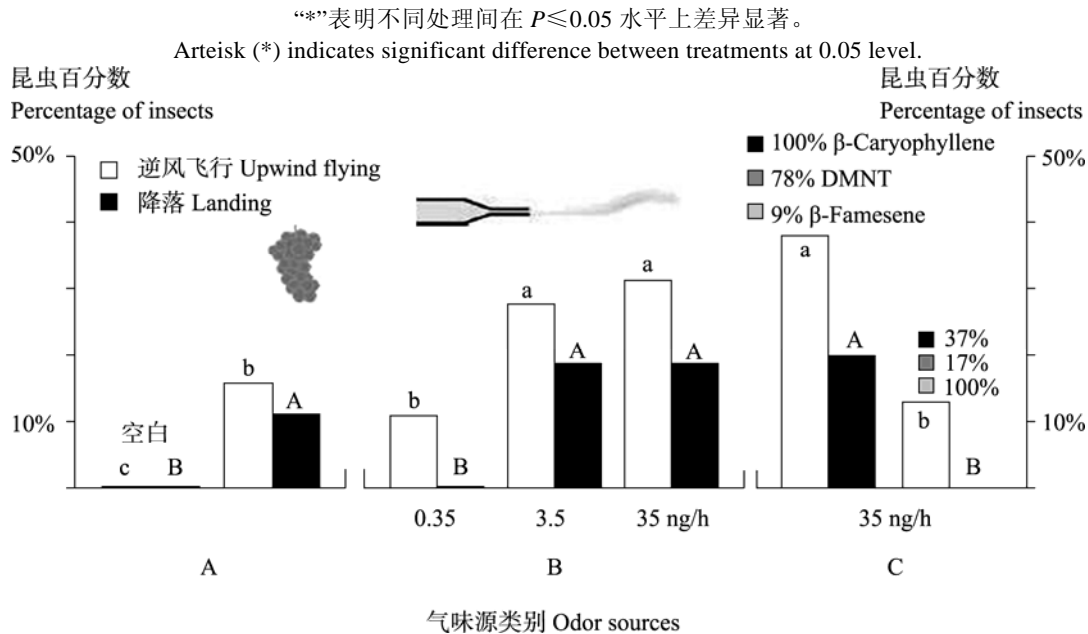


图 2 在风洞实验中葡萄藤蛾趋向葡萄和葡萄气味物质的行为 (引自 Tasin 等, 2006)

Fig. 2 Attraction of mated grapevine moth to grape fruits and grape volatiles in windtunnel (from Tasin *et al.*, 2006)

注: 气味源类别: A: 葡萄; B: 收集的葡萄挥发物; C: 不同配比的 3 种化合物。图中柱上方字母表明不同气味源测试之间数值差异显著性, 小写字母 (a, b, c) 为逆风飞行行为, 大写字母 (A, B) 为降落行为。

Odor sources: A: Grape ; B: Collected grape volatiles; C: 3 compounds with different ratios. Letters on the top of boxes in the figure indicate statistical significances among treatments, lowercase letters (a, b, c) for upwind flying and capital letters (A, B) for landing.

的昆虫的行为反应。但是, 利用风洞进行研究也有不足之处, 例如需要定期清洁等。

4.2 风洞与嗅觉仪的比较

在国内应用风洞的不多, 多数应用嗅觉仪进行生测。风洞和嗅觉仪均是利用昆虫对于挥发性气味的趋性, 研究化学物质对于昆虫行为的影响, 但又各有优缺点, 了解了这些特点, 有助于在研究中选择合适的技术手段。

第一, 嗅觉仪小巧灵活, 设计、制作和使用都很方便, 形式也有很多种, 清洗简便, 不需占用很多空间; 而风洞虽然也有多种形式, 有大有小, 但总的来说属于大型设备, 需要专门的房间, 维护相对比较麻烦;

第二, 嗅觉仪适合研究小型昆虫的行为, 而且可以测试成虫或幼虫, 飞行的或爬行的昆虫均可进行试验; 而风洞则适合于大型昆虫, 而且只能是飞行的昆虫成虫;

第三, 嗅觉仪可以测试挥发性化学物质对于昆虫的引诱或趋避活性 (大部分用于引诱试验), 而风洞则只能进行引诱活性测定;

第四, 使用嗅觉仪进行的活性化学物质对于昆虫行为影响的测试相对比较粗放, 只能观察昆虫的少数行为, 而风洞则能比较精确地模拟田间条件, 能够观察到昆虫的多种行为反应, 所以风洞试验结果对于活性化学物质的田间应用更有指导意义。

4.3 风洞实验注意事项

设计风洞时, 至少须考虑两个方面: 一是如何使空气运动。建议用风扇送风, 而不是抽风, 因为如果抽风, 空气可能来自各个方面 (如门、窗或墙缝等), 任何干扰都可能影响实验效果, 为操作带来很多不便。二是如何保持空气清洁、没有污染, 因为如果空气被污染, 待测昆虫会逐步产生适应, 在正式测试时昆虫的反应

就会不灵敏。

值得注意的是,昆虫在风洞中的行为受很多因素的影响,如虫龄。一般雄蛾对信息素的反应水平在羽化初期逐渐升高。因此,选择合适日龄的成虫进行行为测定非常关键。同时,还应避免同一性别不同个体间的干扰反应,在每次实验过程中,放飞的雄虫应有一定的时间间隔。而要研究雌虫的产卵选择行为,选择适合状态的雌虫也非常关键,与未经交配的处女雌蛾和交配后 2 d 的烟草天蛾相比,交配 3 d 的雌蛾逆风飞向盆栽寄主植物番茄的数量更多,并表现产卵行为 (Mechaber *et al.*, 2002)。交配状态、风速、一天中测试的时间也都显著影响测试昆虫的行为反应 (Cha *et al.*, 2008)。

对同一剂量的化学物质,一般至少测试 20 头昆虫。当遇到实验结果不正常时,如怀疑化学物质的成分或浓度是否适当,昆虫反应是否正常时,可以使用正在求偶的雌虫作为对照,以检验待测雄虫是否有正常的行为反应。

昆虫对植物源化学物质的反应不像对信息素那样具有特异性,所以,在研究昆虫对植物源化学物质的反应时,可以首先使用植物植株作为气味源,在下风口,释放 10 头左右的昆虫,观察昆虫是否向植物定向飞行,5 min 或 10 min 后检查落在待测植物和对照植物上的昆虫数量。当然,试虫并不都表现出对气味源直接的定向飞行行为,有的可能做非定向飞行 (Mechaber *et al.*, 2002)。

4.4 风洞的日常维护

下面所列的要点,既是风洞试验前的注意事项,同时也是风洞日常维护所要注意的方面 (闫凤鸣, 2011): 1) 保持放置风洞的房间及风洞内空气的清洁; 2) 风洞房间内应设有排气扇,须常年运转以避免污染; 3) 对风洞内壁进行定期的清洗,每次实验后也应立即清洗。玻璃的用丙酮擦洗; 有机玻璃的用乙醇擦洗; 4) 风洞上风端的挡网易受污染,须定期用丙酮擦洗; 5) 风

洞内的各种配件如诱芯支架、释放笼等在使用前用有机溶剂浸泡或高温处理; 6) 至少在实验前 1~2 h, 将风扇打开,使空气流通; 7) 选择合适的风速并保持稳定; 不同昆虫对风速的要求不同,风速过高或过低均影响昆虫正常的行为反应。通常的风速在每秒几十厘米的范围内。

参考文献 (References)

- Cha DH, Nojima S, Hesler SP, Linn Jr CE, Roelofs WL, Loeb GM, 2008. Identification and field evaluation of grape shoot volatiles attractive to female grape berry moth (*Paralobesia viteana*). *J. Chem. Ecol.*, 34: 1180–1189.
- El-Sayed A, Bengtsson M, Rauscher S, Löfqvist J, Witzgall P, 1999. Multicomponent sex pheromone in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.*, 28(5): 775–779.
- Howse PE, Stevens IDR, Jones OT, 1998. *Insect Pheromones and Their Use in Pest Management*. London: Chapman & Hall. 169.
- Machaber WL, Capaldo CT, Hildebrand JG, 2002. Behavioral responses of adult female tobacco hornworms, *Manduca sexta*, to hostplant volatiles change with age and mating status. *J. Insect Sci.*, 2: 1–8.
- Tasin M, Bäckman AC, Bengtsson M, Ioriatti C, Witzgall P, 2006. Essential host plant cues in the grapevine moth. *Naturwissenschaften*, 93: 141–144.
- Witzgall P, Arn H, 1991. Recording flight tracks of *Lobesia botrana* in the wind tunnel// Hrdý I (ed). *Insect Chemical Ecology Czechoslovakia*: SPB Academic Publishing bv. 187–196.
- 闫凤鸣, 2011. 化学生态学 (第二版). 北京: 科学出版社. 349–357. [YAN FM, 2011. *Chemical Ecology (2nd Edition)*, Beijing: Science Press. 349–357.]
- 周弘春, 杜家纬, 2001. 风洞技术在昆虫化学通讯研究中的应用. *昆虫知识*, 38(4): 267–272. [ZHOU HC, DU JW, 2001. Wind tunnel technique in the study of insect chemical communication. *Entomological Knowledge*, 38(4): 267–272.]