

基于气载微流控芯片的作物病害孢子流式动态检测方法

杨 宁¹ 张素亮¹ 王亚飞² 袁寿其³ 毛罕平² 张晓东²

(1. 江苏大学电气信息工程学院, 镇江 212013; 2. 江苏大学农业工程学院, 镇江 212013;

3. 江苏大学流体机械工程技术研究中心, 镇江 212013)

摘要: 为解决微流控芯片孢子检测复用率低的问题,提出一种基于气载微流控芯片的作物病害孢子流式动态检测方法。根据微尺度下作物病害孢子气体动力学特征设计平行双鞘流聚焦的微流控芯片,实现孢子的聚焦流动;利用光路聚焦原理和双向 Mie 散射原理设计光电检测结构;将微流控芯片和光电检测结构组合搭建光电检测系统,根据前向散射光强信息建立粒径与光强的检测模型,并融合前向和侧向散射光强信息,实现稻曲病孢子和聚苯乙烯微球的有效分类。仿真和实验结果表明:样品在芯片入口流速为 2.5 mL/min、鞘流流速为 12 mL/min 时,粒子聚焦宽度为 8 μm,粒子富集率可达 96.7%;稻曲病孢子和聚苯乙烯微球粒径与光强检测模型的决定系数为 0.966 6,平均检测误差为 7.04%,芯片复用率提高约 9 倍。研究结果为作物病害检测传感器的研发提供了理论基础。

关键词: 稻曲病孢子;聚苯乙烯微球;微流控芯片;Mie 散射理论;光电检测

中图分类号: S435.111.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-1298(2022)10-0318-08

OSID:



Crop Disease Spore Flow Dynamic Detection Method Based on Airborne Microfluidic Chip

YANG Ning¹ ZHANG Suliang¹ WANG Yafei² YUAN Shouqi³ MAO Hanping² ZHANG Xiaodong²

(1. School of Electrical and Information Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

2. School of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

3. Research Center of Fluid Machinery Engineering and Technology, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Crop disease monitoring has always been a research hotspot in the field of agricultural engineering because of its serious damage to the world's food. In recent years, the use of microfluidic chip microbial sensors for crop disease detection has received attention from scholars. However, most of current microfluidic chips have the defect of low reuse rate. In response to this problem, a parallel double sheath flow focusing microfluidic chip was proposed, which was composed of an injection channel, a double sheath flow channel, a partial pressure channel, a detection channel and a circular chamber. Fungal spores entered the chip from the sampling channel with the airflow, and then were arranged in the center of the chip by the action of the double sheath airflow. Air pressure was controlled by the partial pressure channel to ensure that the fungal spores entered the detection area of the chip at the speed required by the test. Subsequently, fungal spores followed the airflow into the circular enrichment area. Experimental data showed that the spore velocity was decreased with the increase of the chamber diameter. Circular chamber diameter of 2 500 μm had the best enrichment effect, and the particle enrichment rate can reach 96.7%. An air pump was connected to the outlet of the chip to extract fungal spores, which can improve the reuse rate of the chip. Rice spores used were from the China National Rice Research Institute, and polystyrene microsphere samples were purchased from Tianjin Daye Technology Co., Ltd.. The experimental platform was built by aerosol generator, semiconductor laser, microfluidic chip, circuit board, focusing optical path device and other equipment. In order to realize the focused arrangement of fungal spores, the sample inlet flow rate and sheath flow rate needed to be

收稿日期: 2021-12-02 修回日期: 2022-01-12

基金项目: 江苏大学农装学部项目(NZXB20200205)、国家自然科学基金项目(32171895、32071905)、水稻生物学国家重点实验室开放项目(20200303)和江苏省优势学科项目(PAPD)

作者简介: 杨宁(1984—),男,教授,博士生导师,主要从事微传感与自动化检测技术研究,E-mail: yangn@ujs.edu.cn

通信作者: 毛罕平(1961—),男,教授,博士生导师,主要从事设施农业装备与技术研究,E-mail: maohpujs@163.com

optimized. Optimization results showed that, when the sampling flow rate and sheath flow rate of the chip were 2.5 mL/min and 12 mL/min, respectively, the particle focus width was 8 μm , which can realize the particle focus arrangement and flow through the detection area in a row. The entire detection system was also composed of a focusing optical path device and a signal acquisition circuit. The focusing optical path device was composed of a filter, a half lens with a focal length of 14 mm and an aperture surface of 10 μm , which can focus the light source to about 10 μm . The laser would excite spores passing through the detection area to produce forward and side scattered light, and then these two scattered lights would be collected by the signal collection circuit and transmitted to the upper computer. The forward scattered light signal contained the size information of the particles. Based on the experimental results, a detection model for the particle size and light intensity was established, with coefficient of determination of 0.966 6, which had a good linearity. The side-scattered light signal contained the complexity of the particles. The forward and side-scattered light intensity information was fused to achieve effective classification of rice spore spores and polystyrene microspheres, with an average detection error of 7.04%, and the chip reuse rate was increased by about 9 times. The research result can provide a basis for the research and development of crop disease monitoring sensors.

Key words: spores of rice smut; polystyrene microspheres; microfluidic chip; Mie scattering theory; photoelectric detection

0 引言

据联合国粮农组织最新统计,每年因作物病害造成的粮食损失量约占总产量的 10%^[1],作物病害的监测与预防对于减少粮食损失尤为重要。作物真菌病害主要由空气中的真菌孢子感染引起^[2-4],因此,对空气中病害孢子的监测成为近年来的研究热点^[5]。

当前真菌孢子检测的传统方法主要有平板菌落计数法、分子生物学检测法、微悬臂梁检测法和显微图像法。如 MATIC 等^[6]、CHEONG^[7]用眼观察平板中菌落与背景的差异来识别平板中的菌落,并借助菌落计数器实现平板中的菌落准确计数。ALICIA 等^[8]用 PCR 技术实现了梭菌孢子生存能力的快速检测。NUGAEVA 等^[9]利用镀金和未涂覆的硅微机械悬臂阵列快速定量检测黑曲霉和酿酒酵母的浓度。李小龙等^[10]、齐龙等^[11]利用形态学鉴定的方法对捕捉的孢子实现准确计数。姜玉英等^[12]将自动对焦显微镜集成到孢子捕捉仪上实现孢子捕捉数量的大概统计。雷雨等^[13]提出基于改进 CenterNet 孢子自动检测方法,该方法能够精准检测并分割图像中的孢子。以上方法虽能对病害孢子进行有效检测,但平板计数法存在操作繁琐、检测时间长、具有一定的主观性等问题^[14];分子生物学检测法存在需要特异性抗体且需专业人员操作的问题^[15];微悬臂梁检测法存在对检测环境要求严格,难以适应复杂环境条件的问题^[16];显微图像法存在工作量大、误差大、自动化程度低的问题^[17]。目前,病害孢子在线检测主要是孢子捕捉仪^[18],如托普云农智能孢子捕捉仪,该设备将孢子捕捉与显微识别相结合,一定

程度上实现了孢子在线检测,但该方法需借助高精度显微镜进行辅助检测,无法推广实施。

随着微纳米技术加工工艺的发展,基于微流控芯片的微生物传感器检测系统因其具有集成度高、成本低、高通量、光学性能好等优点成为当前研究热点^[19-23]。微流控芯片虽在一定程度上解决了检测效率低和便捷性差的问题^[24-28],但上述实验液体中粒子分离芯片大多为一次性微流控芯片,易造成资源浪费;气体中粒子分离主要基于微环境惯性原理,不同质量粒子随气流运动到芯片固定位置,之后在固定位置检测粒子,这易造成芯片结构设计过于复杂,气动式芯片使用一次后,固定位置粒子不易清理,易导致芯片复用率不高的问题。

基于此,提出一种基于气载微流控芯片的作物病害孢子流式动态检测方法,无需将孢子运动到芯片固定位置进行检测。通过设计一种平行双鞘流聚焦的微流控芯片,实现孢子的聚焦流动;利用光路聚焦原理和双向 Mie 散射原理设计光电检测结构;将微流控芯片和光电检测结构组合搭建光电检测系统,实现稻曲病孢子动态检测,以解决微流控芯片孢子检测复用率低的问题。

1 检测原理与系统构成

1.1 实验材料

实验所用稻曲病孢子来源于中国水稻研究所实验室,聚苯乙烯微球样本购自天津大鹅科技有限公司。制备稻曲病孢子(7~9 μm)和聚苯乙烯微球(4 μm)样本溶液,其菌体浓度和质量浓度分别为 4.08×10^8 个/mL 和 0.625 mg/mL。实验利用气溶胶发生器将稻曲病孢子和聚苯乙烯微球样本制作成

气溶胶粒子,均匀释放在 1 L 的容器中。实验采样时间为 60 s,分别取 20 mL 溶液进行实验。

1.2 微流控芯片结构设计

为实现微流控光电检测系统的聚焦和检测,设计的微流控芯片由进样通道、鞘流通道、分压通道、检测通道和圆形腔室微结构组成(图 1)。其中:芯片通道高度为 70 μm;芯片进样接口用于真菌孢子进样,直径为 500 μm;为实现孢子在芯片中心排成一行,设计平行双鞘流结构,鞘流聚焦通道宽 500 μm;为实现粒子减速进入检测区,设计分压通道结构,且分压通道宽度为 700 μm;为实现光电检测系统检测,粒子经过检测区被激光激发发生前向和侧向散色光,芯片检测区宽度为 350 μm;为实现粒子准确富集在富集区表面,设置圆形腔室结构,且圆形腔室直径为 2 500 μm。

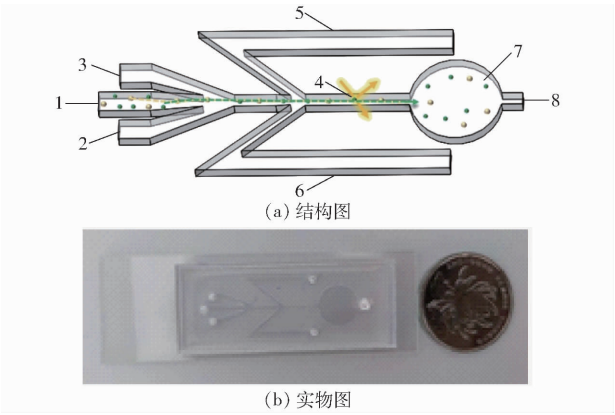


图 1 微流控芯片

Fig. 1 Microfluidic chip

1. 进样通道 2、3. 鞘流通道 4. 芯片检测区 5、6. 分压通道
7. 富集区 8. 芯片出口

1.3 工作原理

1.3.1 粒子聚焦原理

样品在通道内在鞘流的挤压下有明显的聚焦区,区域宽度 d 小于初始进口宽度 D_2 。如图 2 所示,通过控制聚焦流的大小,可以让微球逐个单独通过聚焦区。样品流的状态是从宽的入口形态变成一条细的聚焦线状态。

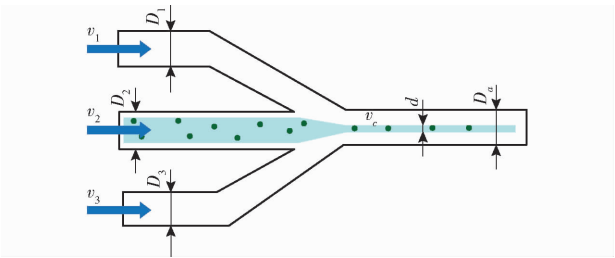


图 2 粒子聚焦示意图

Fig. 2 Schematic of particle focusing

由质量守恒定律可知,同时通过中心处的流体

质量和聚焦流中通过的流体质量相等,即

$$v_2 D_2 = v_c d \tag{1}$$

式中 D_2 、 d ——样品流和聚焦流宽度,μm

v_2 、 v_c ——样品流和聚焦流流速,mL/min

微观状态的流体处于层流状态,因此一些宏观流体的性质,如样品聚焦流体和鞘气之间的物质扩散、混合等被忽略。根据这样的假设和质量守恒定律,可得

$$v_a = \frac{\rho_1 v_1 D_1 + \rho_2 v_2 D_2 + \rho_3 v_3 D_3}{\rho_a D_a} \tag{2}$$

式中 D_1 、 D_3 ——两个鞘气通道宽度,μm

v_1 、 v_3 ——鞘气流速,mL/min

v_a ——在出口 D_a 处的流体平均速度,mL/min

ρ_1 、 ρ_2 、 ρ_3 ——对应 3 个入口通道内部流体密度,kg/m³

D_a ——芯片检测区通道宽度

ρ_a ——整个气体出口处所有流体平均密度,kg/m³

假设此时,在通道出口处的微观流体是完全的层流状态,则在 D_a 处的流速剖面呈抛物线分布,则

$$v_c = v_{\max} = 1.5 v_a \tag{3}$$

通过推导可知,流体聚焦后的宽度可表示为^[29]

$$d = \frac{\rho_a D_a}{1.5 \left(\frac{\rho_1 v_1 D_1}{v_2 D_2} + \rho_2 + \frac{\rho_3 v_3 D_3}{v_2 D_2} \right)} \tag{4}$$

式(4)可以用来预测聚焦流的宽度,聚焦流的宽度随着鞘气流和样品流的速度比上升而下降。

1.3.2 激光散射基本原理

当粒子粒径接近或大于入射光波长时称为 Mie 散射现象,Mie 散射适用于较大的粒子散射,一束波长为 λ 的激光照射到与其相距 l 的一个颗粒时,该粒子产生的散射光强为 I_s ,其运算关系为^[30]

$$I_s = \frac{\lambda^2 I_0 (i_1 + i_2)}{8 \pi^2 l^2} \tag{5}$$

其中

$$\begin{cases} i_1 = |S_1(F, \theta, \alpha)|^2 = \left| \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(2n+1)(a_n \Pi_n + b_n T_n)}{n(n+1)} \right|^2 \\ i_2 = |S_2(F, \theta, \alpha)|^2 = \left| \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(2n+1)(a_n \Pi_n + b_n T_n)}{n(n+1)} \right|^2 \end{cases} \tag{6}$$

$$\alpha = 2r \quad T_n = \theta$$

式中 I_0 ——入射光强,cd/m²

l ——激光与散射体的距离,mm

θ ——散射角,(°)

i_1 、 i_2 ——在垂直和水平方向散射光强度函数

α ——粒子尺度参数
 r ——粒子半径, μm
 F ——粒子相对复振幅函数
 Π_n ——角散射系数
 a_n, b_n ——米氏散射系数

1.4 系统结构

系统检测平台如图 3 所示。实验所涉及的设备主要包括 532 nm 半导体激光器(深圳市华上激光科技有限公司)、微流控芯片、微型气泵、流量计、电路板、聚焦光路装置等。

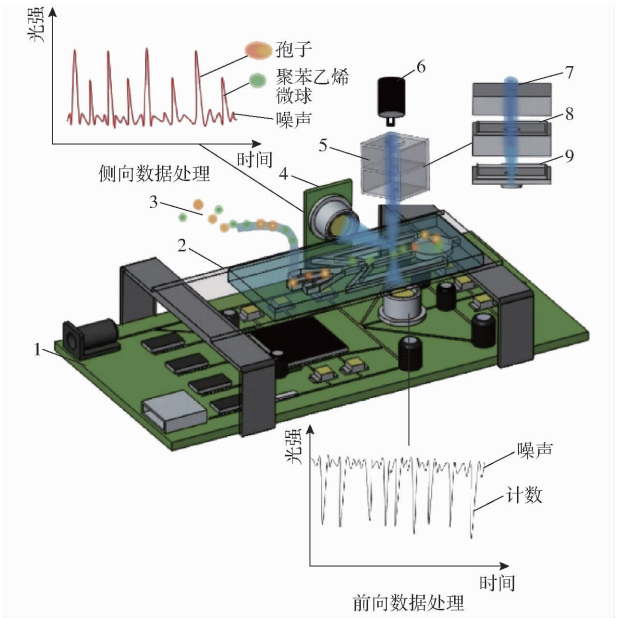


图 3 系统检测平台

Fig. 3 System testing platform

1. 电路板 2. 微流控芯片 3. 样本 4. 光电二极管 5. 聚焦光路结构 6. 半导体激光器 7. 光源 8. 半凸透镜(焦距 14 mm) 9. 孔径 10 μm 光阑面

系统的激发光源由 532 nm 半导体激光器和一个聚焦光路装置组成,聚焦光路装置为将光源聚焦到实验所需要的光斑直径(10 μm),聚焦光路装置由滤光片、焦距为 14 mm 半透镜和小孔直径为 10 μm 光阑面组成。激发光源经过聚焦光路结构对流经微流控芯片中的粒子进行激发,激发后的信号分别被前向和侧向的光电二极管(S8745-01型)采集。实验将通量为 2.5 mL/min 的微型气泵连接到气溶胶发生器出气口,为微流控芯片收集稻曲病孢子提供进样动力。为防止外界光进入检测系统造成实验误差,整个检测过程始终在暗室环境下进行。

2 微流控芯片仿真与优化

使用 SolidWorks 对微流控芯片的通道结构进行设计,并将设计图导入 COMSOL Mutiphysics 5.1

软件中,利用层流模块和粒子追踪模块对粒子的运动轨迹进行仿真。由于系统检测光斑直径为 10 μm ,粒子聚焦宽度需优化到 10 μm 以内才能满足系统检测需求。研究粒子到达聚焦区域的坐标,记录粒子经过的最高点和最低点,计算两者的差值,将其作为聚焦宽度。经仿真发现粒子聚焦宽度受鞘流入口流速和芯片检测区宽度影响较大。分别对鞘流入口流速和芯片检测区通道宽度进行优化,保持样品入口流速恒为 2.5 mL/min,鞘流入口流速分别调整为 6、9、12、15 mL/min,保持鞘流入口速度为恒定值,芯片检测区宽度分别设置为 250、300、350、400 μm 。粒子聚焦宽度仿真优化结果如图 4 所示。

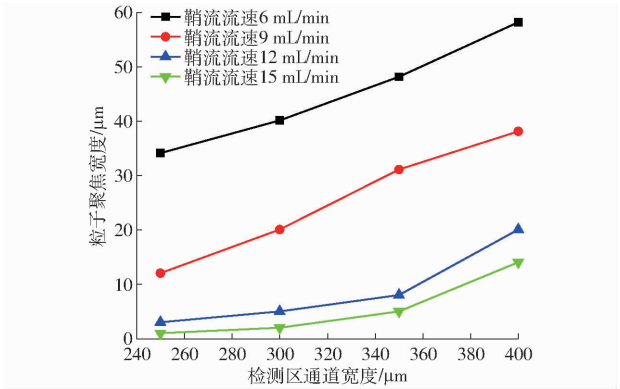


图 4 粒子聚焦宽度仿真优化结果

Fig. 4 Particle focus width simulation optimization results

当鞘流流速分别为 12、15 mL/min 时,所对应芯片检测区通道宽度为 250、300、350 μm 的粒子聚焦程度较好。考虑到芯片为 PDMS 软膜制作,流速大易造成芯片通道变形,因此选择 12 mL/min 作为最佳鞘流流速。由于芯片加工尺寸越小制作工艺就越复杂,综合考虑成本及聚焦效果,将芯片检测区宽度设计为 350 μm ,此时粒子聚焦宽度为 8 μm ,满足系统检测需求。

为更好地筛选出芯片富集区最佳直径,将富集区直径设置为 1 000、1 500、2 000、2 500、3 000 μm 进行优化。通过仿真计算芯片富集效率,富集效率计算公式为

$$\eta = \frac{n}{m} \times 100\% \tag{7}$$

式中 n ——富集区收集到的粒子数

m ——一次释放粒子数

从图 5 可知,当富集区直径为 2 500 μm 时,富集芯片富集率可达 96.7% (释放 300 个粒子,芯片富集 290 个粒子),最终将富集区直径优化为 2 500 μm 。

对结构参数优化后的微流控芯片进行仿真,结果如图 6 所示。聚焦检测通道的速度为 1 500 mm/s。

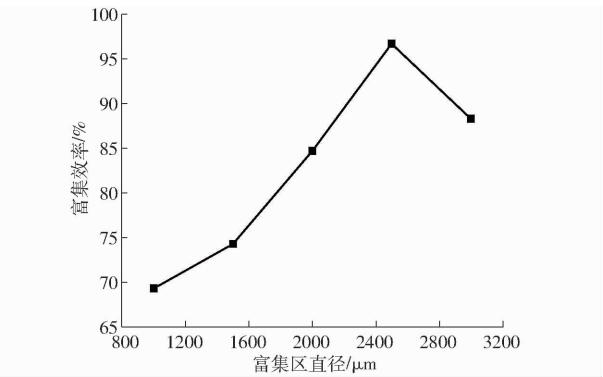


图 5 不同直径下富集效率

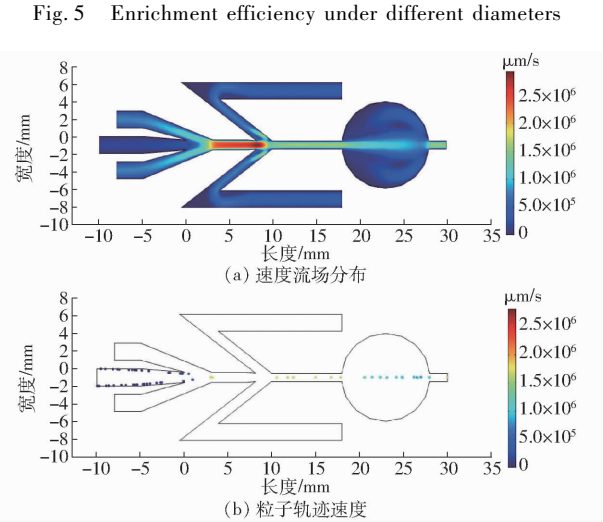


图 6 粒子在芯片内运动仿真分析

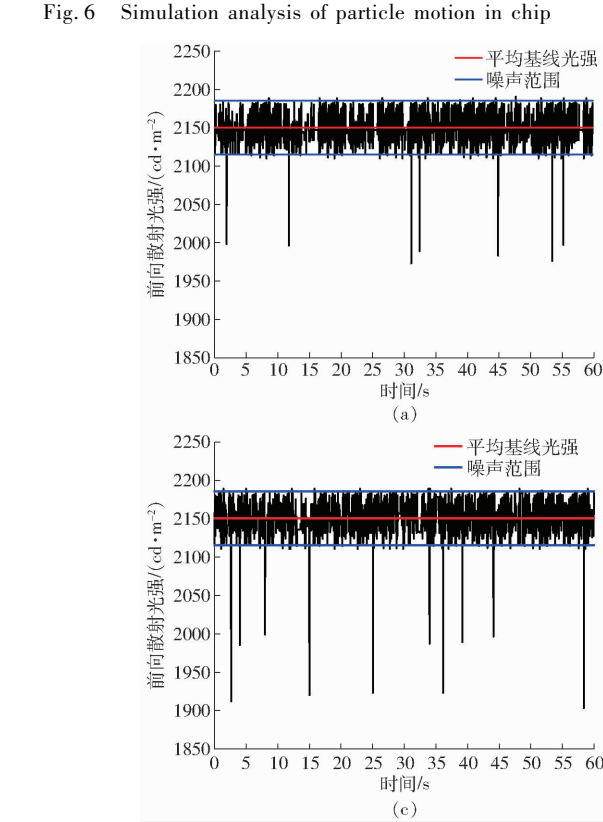


图 7 粒径与光强关系分析

Fig. 7 Relative analysis of particle size and light intensity

由图 6 可知,富集区两侧的速度较大,当空气中的粒子运动到富集区时,粒子速度变慢便停留在此区域, M 型通道设计的作用主要实现降压,以满足粒子更好的聚焦。

3 前向散射信号分析

根据 Mie 散射理论可知,当粒子流经芯片检测区时因受到聚焦光斑的照射而产生散射光,散射光主要分为前向散射和侧向 90° 散射光,前向散射光强表征粒径。实验分别配置 20 mL 的聚苯乙烯微球 ($4\text{ }\mu\text{m}$)、稻曲孢子 ($7\sim 9\text{ }\mu\text{m}$) 和两种粒子混合溶液。分 3 次将 3 种溶液放入气溶胶发生器中,接着往气溶胶发生器中通入气压为 $2.02\times 10^5\text{ Pa}$ 的气流,对溶液中的粒子进行雾化操作,并在生物气溶胶后接干燥管以除去气溶胶流中的水分。最后,利用气泵将雾化好的气溶胶粒子以 2.5 mL/min 吸入微流控芯片进样口进行光电检测,在暗室条件下运行 60 s。结果如图 7 所示,图 7a 为 $4\text{ }\mu\text{m}$ 聚苯乙烯微球溶液脉冲图,图 7b 为孢子溶液脉冲图,图 7c 为两种粒径混合溶液脉冲图,图 7d 为粒径和光强降低量关系图。由图 7d 可知,前向散射光强降低量与粒径成正比,下降幅度越大被检测到的粒子直径也就越大,决定系数可达 0.966 6。因此,根据前向散射光强降低量即可计算出被检测的粒子粒径。

4 粒子分类与计数结果分析

用聚苯乙烯微球和稻曲病孢子进行混合测试，系统每次工作 60 s。图 8a 为一组采集到的前向和侧向散射光强信息，由图 8a 可知，系统前向散射光强噪声主要集中在 2 120 ~ 2 180 cd/m² 之间，聚苯乙烯微球光强下降至 1 980 ~ 2 010 cd/m²，稻曲病孢子光强下降至 1 915 ~ 1 950 cd/m²。系统侧向散射光强噪声主要集中在 33 ~ 50 cd/m² 之间，聚苯乙烯微球的侧向光强信息集中在 70 ~ 80 cd/m² 之间，稻曲病孢子侧向光强信息集中在 90 ~ 105 cd/m²。图 8b 为一组前向和侧向散射光强信息散点图，通过融合前向与侧向散射光强信息，实现了稻曲病孢子和聚苯乙烯微球的分类。

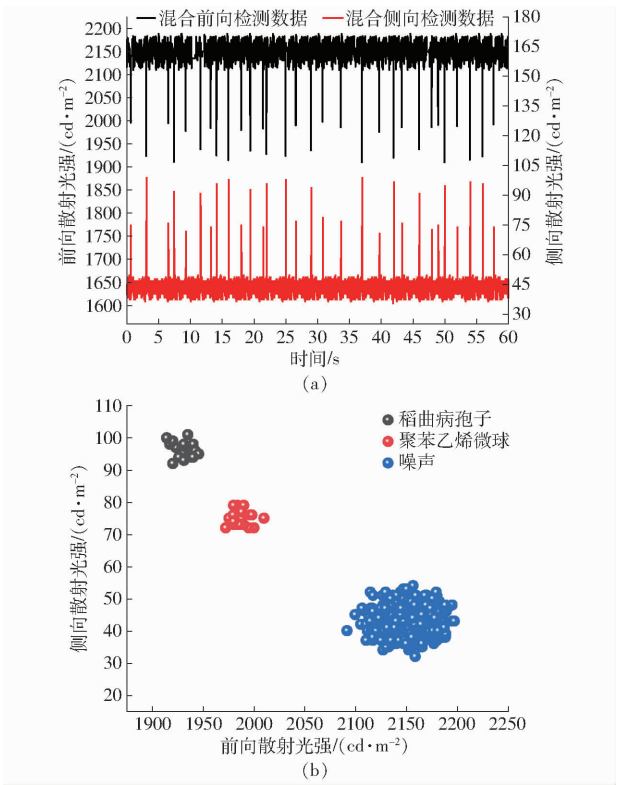


图 8 混合测试结果
Fig. 8 Mixed test results

另外，为验证系统的准确性，本研究探测器的计数结果与富集区粒子计数结果进行对比，共进行 7 组实验，并统计系统的检测误差，误差公式定义为

$$E = \frac{|N - M|}{N} \times 100\% \tag{8}$$

式中 M ——系统利用光强信息计算流经芯片检测区的孢子和聚苯乙烯微球的数量
 N ——芯片富集区显微镜观察孢子和聚苯乙烯微球数量

光散射计数与芯片富集区粒子计数对比结果如表 1 所示，最大误差不超过 12%，平均误差为 7.04%，而文献 [31] 孢子检测方案平均误差为 16.64%，精度提高了 9.6 个百分点，且光散射计数与富集区计数高度线性相关（决定系数 R^2 为 0.94）。测试结果表明，基于气载微流控芯片的作物病害孢子流式动态检测系统可用于检测和识别稻曲病孢子。

5 芯片复用率分析

将本研究提出的平行双鞘流聚焦的微流控芯片与文献 [27] 中的富集式微流控芯片以及孢子捕捉仪普通载玻片的复用率进行对比。针对文献 [27] 设计的富集式微流控芯片，实验后均用气泵将芯片内杂质抽空，但因芯片结构复杂仍有杂质存于微流控芯片中，在孢子浓度为 4.2×10^5 个/mL 下工作 2 min，芯片复用次数超 3 次就难以继续使用。孢子捕捉仪富集孢子是采用涂抹凡士林的载玻片，不易清洗，玻片正常使用 1 次就需更换^[32]。本文提出的聚焦式微流控芯片是一种流式动态检测，经实验测试得出，当连续使用超过 31 次，由于芯片材料是 PDMS 软膜，芯片通道不断有气流流过，导致芯片通道发生变形，使实验数据不准确，因此芯片使用次数在 31 次以内结果较为准确。3 种芯片复用率如表 2 所示，由表 2 可知，本研究提出的芯片复用次数相比于文献 [27] 提高约 9 倍。因此本文方法可有效解决微流控芯片复用率低的问题。

表 1 光散射计数和富集区粒子计数结果

Tab.1 Results of light scattering count and particle count in enriched region														
参数	第 1 组		第 2 组		第 3 组		第 4 组		第 5 组		第 6 组		第 7 组	
	孢子	微球	孢子	微球	孢子	微球	孢子	微球	孢子	微球	孢子	微球	孢子	微球
M	17	16	15	20	19	22	27	24	16	20	18	24	17	23
N	16	15	16	22	18	20	26	23	17	18	19	23	19	21
$E/\%$	6.3	6.7	6.25	9.1	5.6	10	3.8	4.3	5.8	11.1	5.3	4.3	10.5	9.5

表 2 不同检测方法复用率

Tab. 2 Comparison of different detection methods			
项目	孢子捕捉仪	文献 [27]	本文方法
芯片材料	玻璃	PDMS	PDMS
芯片复用次数	1	3	31

6 结论

(1) 提出一种基于气载微流控芯片的作物病害孢子流式动态检测方法，设计平行双鞘流聚焦的微

流控芯片,实现孢子动态检测。

(2)对芯片通道尺寸及进气速度进行优化,样品入口流速为 2.5 mL/min、鞘流速度为 12 mL/min 时粒子聚焦宽度可达 8 μm 、富集效率达 96.7%。

(3)根据前向散射光强信息建立粒径与光强的检测模型,决定系数为 0.966 6,具有较好的线性度。

(4)融合前向与侧向散射光强信息,实现稻曲病孢子和聚苯乙烯微球的分类,平均检测误差为 7.04%。

(5)芯片复用次数最多为 31 次,复用率提高约 9 倍。基于一种微流控芯片的气体流式稻曲病孢子光电检测方法有效解决了微流控芯片复用问题并为病害预警装置研发提供了理论基础。

参 考 文 献

- [1] 冯占山,高世杰. 农业可持续发展与农作物病害的持续控制[J]. 现代化农业,2013,2(3):5-6.
FENG Zhanshan, GAO Shijie. Sustainable development of agriculture and sustainable control of agricultural diseases[J]. Modern Agriculture, 2013,2(3):5-6. (in Chinese)
- [2] 王文斌,张荣胜,罗楚平,等. 中国主要稻曲病菌的生物学特性及群体遗传多样性[J]. 中国农业科学,2014,47(14):2762-2773.
WANG Wenbin, ZHANG Rongsheng, LUO Chuping, et al. Biological characteristics and genetic diversity of *Ustilaginoidea virens* from rice regions in China[J]. Scientia Agricultural Sinica, 2014,47(14):2762-2773. (in Chinese)
- [3] 俞咪娜,陈志谊,于俊杰. 来源于同一穗不同稻曲球的稻曲病的致病性及遗传多样性[J]. 植物病理学报,2013,43(6):561-573.
YU Mina, CHEN Zhiyi, YU Junjie. Genetic diversity and pathogenicity of *Ustilaginoidea virens* isolated from different rice false smut balls of a diseased spikae[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2013,43(6):561-573. (in Chinese)
- [4] WAHID F A, WICKLIFFE J, WILSON M, et al. Presence of pesticide residues on produce cultivated in Suriname[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2017,189(6):303.
- [5] AGNIESZKA G G, TALIP C, NUR M P, et al. Airborne fungal spore load and season timing in the Central and Eastern Black Sea region of Turkey explained by climate conditions and land use[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2020,295:108191.
- [6] MATIC T, VIDOVIC I, SILDADI E, et al. Semi-automatic prototype system for bacterial colony counting[C]// International Conference on Smart Systems and Technologies, 2016:205-210.
- [7] CHEONG J S. Aerobic bacterial, Coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* of randomly selected street foods in Kampar, Perak[D]. Sungai Long:UTAR, 2016.
- [8] ALICIA M S, LAURA J R, JUDITH A N, et al. Development of a rapid-viability PCR method for detection of *Clostridioides difficile* spores from environmental samples[J]. Anaerobe, 2020,61(1):102077.
- [9] NUGAEVA N, GFELLER K Y, BACKMANN N, et al. Micromechanical cantilever array sensors for selective fungal immobilization and fast growth detection[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2005,21(6):849-856.
- [10] 李小龙,马占鸿,孙振宇,等. 基于图像处理的小麦条锈病菌夏孢子模拟捕捉的自动计数[J]. 农业工程学报,2013,29(2):199-206.
LI Xiaolong, MA Zhanhong, SUN Zhenyu, et al. Image processing-based automatic counting of uremic spores of wheat stripe rust fungus[J]. Transactions of the CSAE, 2013,29(2):199-206. (in Chinese)
- [11] 齐龙,蒋郁,李泽华,等. 基于显微图像处理的水稻瘟病菌孢子自动检测与计数方法[J]. 农业工程学报,2015,31(12):186-193.
QI Long, JIANG Yu, LI Zehua, et al. Automatic detection and counting method for spores of rice blast based on microimage processing[J]. Transactions of the CSAE, 2015,31(12):186-193. (in Chinese)
- [12] 姜玉英,罗金燕,罗德平,等. 远程控制病菌孢子捕捉仪对小麦气传病害的监测效果[J]. 植物保护,2015,41(6):163-168.
JIANG Yuying, LUO Jinyan, LUO Deping, et al. Monitoring effect of remote-controlled spore trap on wheat aero-borne diseases[J]. Plant Protection, 2015,41(6):163-168. (in Chinese)
- [13] 雷雨,周晋兵,何东健,等. 基于改进 CenterNet 的小麦条锈病菌夏孢子自动检测方法[J]. 农业机械学报,2021,52(12):233-241.
LEI Yu, ZHOU Jinbing, HE Dongjian, et al. Automatic detection method of wheat stripe rust urea spores based on improved CenterNet[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2021,52(12):233-241. (in Chinese)
- [14] YOON S C, LAWRENCE K C, PARK B. Automatic counting and classification of bacterial colonies using hyperspectral imaging[J]. Food and Bioprocess Technology, 2015,8(10):2047-2065.
- [15] YANG F, WANG G P, XU W X, et al. A rapid silica spin column-based method of RNA extraction from fruit trees for RT-PCR detection of viruses[J]. Journal of Virological Methods, 2017,247:61-67.
- [16] 李鹏,李昕欣,王跃林. 用于化学气体检测的压阻检测式二氧化硅微悬臂梁传感器[J]. 传感技术学报,2007,20(10):2174-2177.
LI Peng, LI Xinxin, WANG Yuelin. Piezoresistive silicon dioxide microcantilever sensor for chemical gas detection[J]. Journal of Transduction Technology, 2007,20(10):2174-2177. (in Chinese)

- [17] MAO C, YANG Z, SUN X, et al. Fungus bacteria bag density detection system based on image processing Technology[M]. Data Processing Techniques and Applications for Cyber-Physical Systems (DPTA 2019): Advances in Intelligent Systems and Computing, Springer, 2020;1163 – 1170.
- [18] 尤海洋, 李旭业, 郭文凯, 等. 智能孢子捕捉系统对苜蓿病害监测效果的初步研究[J]. 现代畜牧科技, 2020, 70(10): 23 – 24. YOU Haiyang, LI Xuye, GUO Wenkai, et al. Preliminary study on the effect of intelligent spore capture system on alfalfa disease monitoring[J]. Modern Animal Husbandry Technology, 2020, 70(10): 23 – 24. (in Chinese)
- [19] WANG S Q, SOHRABI S, XU J, et al. Geometry design of herringbone structures for cancer cell capture in a microfluidic device[J]. Microfluidics and Nanofluidics and Nanofluidics, 2016, 20(11): 148.
- [20] LOPEZ M, GERARDO A, ESTEVEZ M, et al. A label-free nanostructured plasmonic biosensor based on Blu-ray discs with integrated microfluidics for sensitive biodetection[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2017, 96: 260 – 267.
- [21] 杨宁, 张荣标, 徐佩锋, 等. 基于微流控芯片的乳胶免疫凝集光电检测方法[J]. 仪器仪表学报, 2013, 34(6): 1395 – 1400. YANG Ning, ZHANG Rongbiao, XU Peifeng, et al. Photoelectric detection method of latex immune agglutination based on microfluidic chip[J]. Chinese Journal of Scientific Instrument, 2013, 34(6): 1395 – 1400. (in Chinese)
- [22] YU W J, CHEN Y J, WANG Z Y, et al. Multiple authentications of high-value milk by centrifugal microfluidic chip-based real-time fluorescent LAMP[J]. Food Chemistry, 2021, 315: 129348.
- [23] JIN L L, HAO Z X, ZHENG Q Q, et al. A facile microfluidic paper-based analytical device for acetylcholinesterase inhibition assay utilizing organic solvent extraction in rapid detection of pesticide residues in food[J]. Analytica Chimica Acta, 2020, 1100: 215 – 224.
- [24] 王晓东, 乔奇伟, 宋志谦, 等. 全集成离心式微流控农残检测芯片研制[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(15): 276 – 279. WANG Xiaodong, QIAO Qiwei, SONG Zhiqian, et al. Development of fully integrated centrifugal microfluidic pesticide residue detection chip[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(15): 276 – 279. (in Chinese)
- [25] 郭建江, 张荣标, 杨宁, 等. 基于磁控分离的水产致病菌微流控检测方法[J]. 农业机械学报, 2015, 46(4): 277 – 281. GUO Jianjiang, ZHANG Rongbiao, YANG Ning, et al. Aquaculture pathogens detection based on microfluidic system with magnetic isolation[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(4): 277 – 281. (in Chinese)
- [26] XU P F, ZHANG R B, YANG N, et al. High-precision extraction and concentration detection of airborne disease microorganisms based on microfluidic chip[J]. Biomicrofluidics, 2019, 13(2): 024110.
- [27] WANG P, YUAN S Q, YANG N, et al. The collection method for crop fungal spores based on an efficient microfluidic device[J]. Aerosol and Air Quality Research, 2020, 20: 72 – 79.
- [28] 叶晓兰, 杜文斌, 古淑青, 等. 小型微流控芯片流式细胞仪的研制[J]. 分析化学, 2008(10): 1443 – 1446. YE Xiaolan, DU Wenbin, GU Shuqing, et al. Development of a small microfluidic chip flow cytometer[J]. Analytical Chemistry, 2008(10): 1443 – 1446. (in Chinese)
- [29] FAN Y J, HSIAO Y C, WENG Y L, et al. Development of a parallel three-dimensional microfluidic device for high-throughput cytometry[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2020, 320: 128255.
- [30] 李娜, 文斌, 熊荣. 基于激光散射和显微放大的颗粒浓度检测装置[J]. 成都信息工程大学学报, 2020, 35(3): 289 – 292. LI Na, WEN Bin, XIONG Rong. Particle concentration detection device based on laser scattering and micro-amplification[J]. Journal of Chengdu University of Information Technology, 2020, 35(3): 289 – 292. (in Chinese)
- [31] 杨宁, 王盼, 张荣标, 等. 基于富集微流控芯片的稻曲病孢子光电检测方法[J]. 农业工程学报, 2017, 33(20): 161 – 168. YANG Ning, WANG Pan, ZHANG Rongbiao, et al. Photoelectric detection of rice smut spores based on enriched microfluidic chip[J]. Transactions of the CSAE, 2017, 33(20): 161 – 168. (in Chinese)
- [32] 潘维军, 倪伟蓉, 黄健, 等. 小麦应用病菌孢子捕捉技术引导病害绿色防控[J]. 上海农业科技, 2016, 2(2): 119 – 120. PAN Weijun, NI Weirong, HUANG Jian, et al. Wheat application of pathogen spore capture technology to guide the green prevention and control of diseases[J]. Shanghai Agricultural Science and Technology, 2016, 2(2): 119 – 120. (in Chinese)