

东北地区大豆核盘菌检测方法发展现状

李倬林, 衣志刚, 刘佳, 刘念析, 厉志, 董志敏, 李玉秋*

(吉林省农业科学院(中国农业科技东北创新中心), 吉林长春 130033)

摘要: 大豆菌核病分布广泛, 是世界范围内的大豆病害类型。中国东北地区大豆菌核病的发病率高达 60% 以上, 严重影响大豆产量和经济效益。故此, 研究大豆菌核病致病菌——核盘菌的致病原理以及有效检测、鉴定方法现已成为中国大豆产业中亟待解决的问题。该文着重从分子层面阐述了核盘菌的致病原理, 综述了现有的核盘菌检测方法: 传统检测方法、血清学检测方法、分子生物学检测方法等研究进展。详述了现有检测方法的敏感性、特异性、适用性等特性, 比较评价了各种方法的优势与局限, 同时对大豆核盘菌的检测模型进行了初探。此研究旨在为大豆菌核病的鉴定、检测工作提供参考, 为菌核病的早期发现提供技术支持, 为大豆产业的良性发展提供一些理论依据。

关键词: 大豆; 核盘菌; 菌核病; 检测; 安全性

文章编号: 1673-9078(2026)6-407-415

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0568

Research Progress on Detection Methods for *Sclerotinia sclerotiorum* in Soybeans in Northeast China

LI Zhuolin, YI Zhigang, LIU Jia, LIU Nianxi, LI Zhi, DONG Zhimin, LI Yuqiu*

(Jilin Academy of Agricultural Sciences Northeast Agricultural Research Center of China, Changchun 130033, China)

Abstract: Sclerotinia stem rot is a widespread soybean disease commonly found worldwide. In Northeast China, the incidence rate of soybean Sclerotinia stem rot exceeds 60%, severely affecting soybean yield and economic benefits. Therefore, it is imperative to investigate the pathogenetic mechanisms of *Sclerotinia sclerotiorum*, the fungus that causes Sclerotinia stem rot, and to develop effective detection and identification methods. This article introduces the molecular-level pathogenic mechanisms of *S. sclerotiorum* and provides a comprehensive review of the existing detection methods for the fungus, including traditional, serological, and molecular biological detection methods. With a detailed account of the sensitivity, specificity, and applicability of existing detection methods, this review compares and evaluates the advantages and limitations of various methods and preliminarily explores the detection model for *S. sclerotiorum*. The aim of this study was to provide a reference for the identification and detection of Sclerotinia stem rot in soybeans, offering technical support for early disease detection and a theoretical basis for sustainable development of the soybean industry.

Key words: soybean; *Sclerotinia sclerotiorum*; sclerotinia stem rot; detection; safety

引文格式:

李倬林, 衣志刚, 刘佳, 等. 东北地区大豆核盘菌检测方法发展现状[J]. 现代食品科技, 2026, 42(6): 407-415.

LI Zhuolin, YI Zhigang, LIU Jia, et al. Research progress on detection methods for *Sclerotinia sclerotiorum* in soybeans in Northeast China [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 407-415.

收稿日期: 2025-04-23; 修回日期: 2025-06-16; 接受日期: 2025-06-21

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (31901566)

作者简介: 李倬林 (1985-), 女, 助理研究员, 研究方向: 食品质量与安全、食品科学, E-mail: 460518185@qq.com

通讯作者: 李玉秋 (1979-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 大豆功能基因挖掘、抗病原理研究、分子设计育种及优质、高产大豆新品种选育, E-mail: lyqhb1@126.com

大豆菌核病作为世界性的重大病害, 在巴西、加拿大、美国以及其他大豆主要种植区域频繁出现造成巨大经济损失^[1-3]。此病害在中国东北、华北、华东和西南等大豆主要产区亦尤为突出。大豆菌核病自上世纪 80 年代伊始在中国东北地区的发病率显著上升, 从最初的 3%~5% 飙升至 1987 年的 20%~30%, 甚至在一些地区高于 50%, 导致大豆严重减产甚至绝产。近

年来,大豆菌核病的蔓延和危害程度愈发严重已成为导致大豆产量锐减的第二大原因,严重威胁到大豆产业的安全与发展。大豆菌核病对中国的农业经济的稳定发展不仅是当前面临的严峻挑战,更是需要共同努力克服的重大难题。

大豆菌核病是核盘菌 [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] 引发的真菌病害,其菌群具有显著的异质性和多样性。此菌分布广泛,可侵染 600 多种植物,包括大豆、油菜等双子叶植物和百合等单子叶植物^[4]。核盘菌菌核结构坚固致死温度为 70 °C^[5],对外界低温、干旱等不良环境有较强的抗逆性。核盘菌菌核易脱落,可残留在土壤和病残体中,还可混在种子表面使种子带病。病原菌可度过环境条件极度恶劣的冬天,最长可在环境中存活 8 年,这一特点使得菌核病一旦流行便难以彻底清除^[6]。核盘菌展现出强大的生存能力导致大豆等农作物经济产生严重损失。在美国,核盘菌引起的大豆减产在所有病害中位列第四^[7]导致豆科作物年损失高达三亿美元^[8]。在中国,大豆、油菜、向日葵等作物的年损失亦多于六千万。核盘菌以其强大的破坏力、强大的适应性和广泛的传播力成为最具毁灭性的病原菌之一。故此,科研人员持续对其进行深入研究。核盘菌的多样性和适应能力使其成为农业领域的重要研究对象。

1 核盘菌致病原理

核盘菌对大豆的致病原理涉及多层面多角度的复杂性,这些层面角度共同影响着病原菌的传播和感染过程。在不同的过程中,核盘菌、大豆的遗传物质和代谢产物不同,这为检测方法的选择提供了依据。如在菌丝生长阶段可以通过测定特定的基因标记来识别核盘菌;在孢子形成阶段可以通过检测病原菌的代谢产物和表面蛋白来识别;还可通过分子生物学检测方法——实时定量 PCR (Real-Time PCR, RT-PCR)、基因指纹分析和序列分析等方法检测出关于核盘菌遗传多样性和致病性的详细信息。核盘菌的致病原理研究为检测方法的优化提供了方向。如根据病原菌的生物学特性和致病过程可以设计更为特异性的分子标记,开发新的检测技术,从而为核盘菌病害的研究提供科学依据。

当前,研究者将感染过程分为两个阶段:感染的第一阶段,菌丝形成感染垫和感染钉,随即在角质层下构筑广泛的菌丝网络;感染的第二阶段,菌丝分泌毒素和细胞壁降解酶等物质破坏寄主细胞壁致使细胞死亡、植物组织坏死,直至植物死亡^[9]。具体核盘菌感染模式如图 1 所示^[10]。

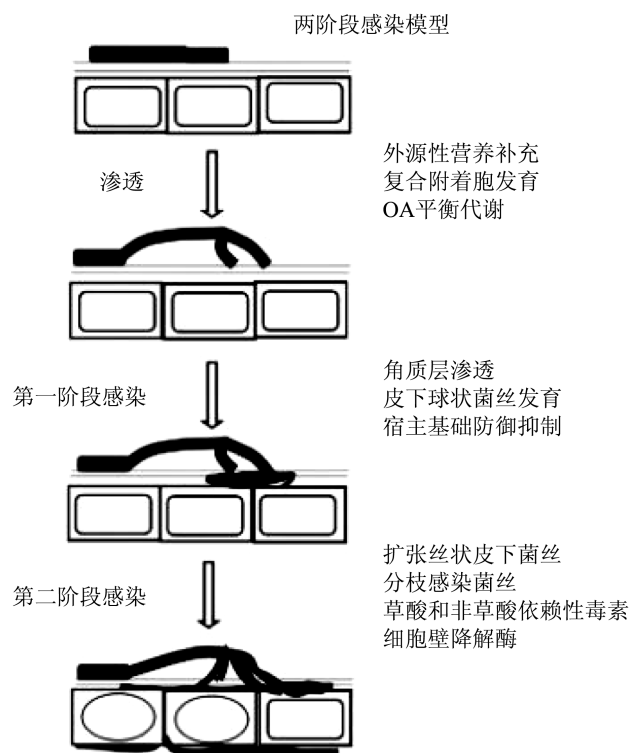


图 1 核盘菌感染模式

Fig.1 *Sclerotinia sclerotiorum* infection model

研究核盘菌中导致其致病的生物化学成分对于深入理解此菌致病原理具有核心意义。这些特定的成分不仅助长了感染过程,还帮助突破宿主的免疫防线。例如,在大豆核盘菌中,一些病原基因编码了一系列有助于侵袭大豆的分泌物质。这些物质包括能够降解大豆细胞壁和表皮的多种酶类,如糖苷酶、果胶酶、木聚糖酶以及多聚半乳糖醛酸酶 (Ploygalacturonase, PG)^[11]。这些酶通过破坏细胞壁结构为核盘菌的侵袭开辟路径。进一步而言,核盘菌的吸附器官同样能破坏大豆的细胞结构,从而促进其在大豆上的感染。此外,核盘菌产生的草酸能破坏大豆的细胞膜结构,干扰其代谢过程^[12]。核盘菌还释放包括草酸在内的细胞壁降解酶 (Cell Wall Degrading Enzymes, CWDEs) 来破坏宿主的细胞壁。在这些酶中,PG 能够分解未酯化的果胶酸盐,被认为是病菌侵袭中的关键毒性因子。另外,核盘菌可分泌磷酸酯酶、蛋白水解酶、 β -胡萝卜素等,可能与致病性有关^[13]。综合来看,核盘菌依靠自身多样化的致病物质成功地感染宿主引发病害。核盘菌致病模型如图 2 所示^[14]。

1.1 核盘菌两阶段感染假说

到目前为止的研究认为核盘菌为死体营养型真菌,但最新研究显现此菌在早期感染活体植物时需营养物质。核盘菌营养模式转变的新模型如图 3 所示^[15]。

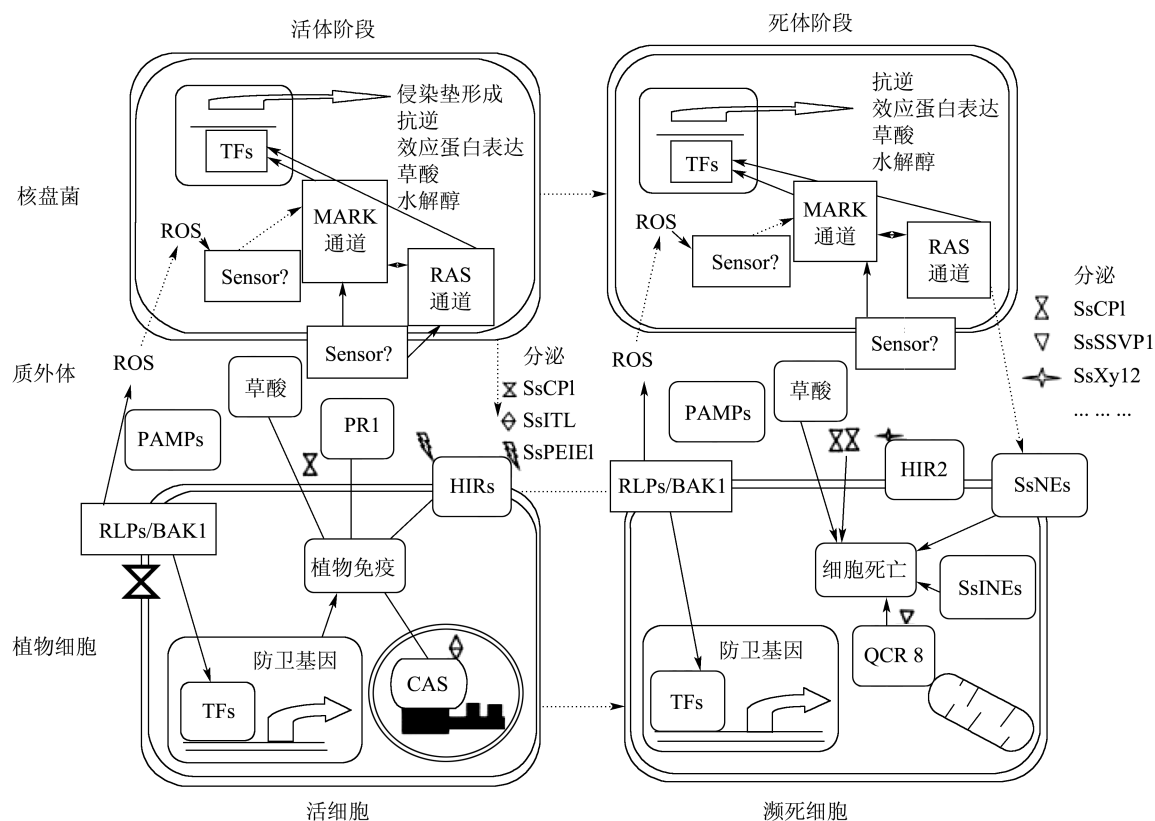


图 2 核盘菌致病模型

Fig.2 Pathogenic model of *Sclerotinia sclerotiorum*

侵染早期，核盘菌面临植物活性氧（Reactive Oxygen Species, ROS）的爆发，植物呼吸爆发氧化酶同源物 D（Respiratory Burst Oxidase Homolog D, RBOHD）触发 ROS 抑制真菌生长和入侵^[16]。核盘菌在感染后期破坏植物细胞壁、诱导细胞死亡，主动地诱导寄主细胞产生 ROS 对抗植物防御。研究发现，核盘菌含有多个 ROS 解毒关键酶如超氧化物歧化酶（Superoxide Dismutase, SOD）、过氧化氢酶（Catalase, CAT）和硫氧还蛋白还原酶（Thioredoxin Reductase, TrxR），及解毒相关基因 *SsCTR1*、*SsCCS* 和 *SsATX1*。此外，此菌通过应激蛋白 SsSvf1 和 SsBi1 应对氧化胁迫，影响致病力。近期学术研究提出了有关核盘菌生活史中从活体营养向死体营养过渡的新理论模型^[17]。在此模型所述的转变过程中，核盘菌有可能产生特定的效应子，这些效应子有助于抑制或规避宿主的免疫防御原理。

众多研究表明，在初级侵染期，核盘菌采取活体营养策略，其起始时刻及持续时间因宿主种类而异^[18,19]。在这一时期，此病菌不导致侵染点周围寄主细胞的死亡，而是抑制宿主的免疫反应，以保证菌丝的生长以及后续侵染的顺利进行^[20-22]。

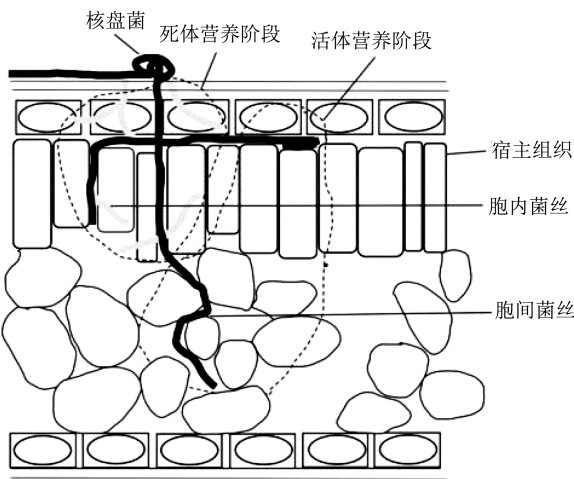


图 3 核盘菌营养模式转变的新模型

Fig.3 A new model depicting the lifestyle transition of *Sclerotinia sclerotiorum*

1.2 核盘菌侵染垫形成及抗逆对其致病性的决定作用

在核盘菌的致病过程中，侵染垫的形成与发育扮演着至关重要的角色，这一过程是其在宿主体内定殖与感染的核心环节。

表 1 影响核盘菌致病性相关基因
Table 1 Genes related to pathogenicity of sclerotinia

基因 ID	复合附着胞形成	气生生长与菌核形成	基因功能
<i>SsSMK3</i>	废除的	增加气生菌丝形成; 闭塞性菌核发育	Slit2
<i>SsCAF1</i>	废除的	黑色素变小, 减少菌核	推测的具有 Ca2+ 结合基序的分泌蛋白
<i>SsRHS1</i>	还原的	生长速率略有下降, 菌核较大	一种含有 Rhs/YD 重复序列的分泌蛋白
<i>SsGGT1</i>	废除的	异常菌核发育	g-Glutamy1 转肽酶
<i>SsNSD1</i>	废除的	废除囊膜发育	GATA 型 IVb 锌指转录因子
<i>SsODC2</i>	还原的	影响附着胞的形成	草酸脱羧酶
<i>SsOAH1</i>	增加的	pH 值较高时径向生长减少	草酰乙酸 乙酰水解酶
<i>SsSAC1</i>	废除的	放射状生长减少和异常硬化	腺苷酸环化酶
<i>SsPAC1</i>	未评估	高 pH 条件下径向生长减少和异常菌核发育	锌指转录因子
<i>SsNOX1</i>	未评估	不能产生菌核	NADPH 氧化酶
<i>SsSOP1</i>	未评估	放射状生长减少和异常菌核形成	微生物视蛋白
<i>SsMADS</i>	未评估	空中生长减少	Mcm1
<i>SsSOD1</i>	未评估	消除菌核发育	Cu/Zn 超氧化物歧化酶
<i>SsCAT1</i>	未评估	放射状生长减少, 硬化变小	过氧化氢酶
<i>SsCAT2</i>	未评估	生长速率降低, 对渗透胁迫的敏感性增加	过氧化氢酶
<i>SsITL</i>	未评估	减少径向增长和更小菌核	整合素样蛋白
<i>SsSSVPI</i>	未评估	菌落生长减少	富含小半胱氨酸, 分泌型蛋白质
<i>SsCVNH</i>	未评估	放射状生长和菌核减少形成	富含半胱氨酸, 小分泌蛋白质
<i>SsCPI</i>	未评估	正常菌落生长和菌核形成	小分泌蛋白
<i>SsFKH1</i>	未评估	减少菌落生长, 消除菌核形成	叉头转录因子
<i>SsAXP</i>	未评估	未评估	阿拉伯呋喃糖苷酶 / 木糖苷酶前体
<i>SsXYL1</i>	未评估	菌落形态异常, 生长速度减慢, 菌核较少, 不能产生囊膜	一种推测的内切 b-1,4-木聚糖酶
<i>SsPKA2</i>	还原的	菌落生长减少	cAMP 信号的催化作用
<i>SsPKAR</i>	还原的	菌落生长减少, 无法生产菌核	cAMP 依赖性蛋白激酶 A 的亚单位
<i>SsSTE12</i>	还原的	生长速度降低, 菌核减少	MAPK 通路的下游转录因子
<i>SsSVF1</i>	低效率	细胞壁完整性受损, 参与真菌-宿主相互作用中 ROS 的应对	生存因子 1
<i>SsTRX1</i>	未评估	降低菌丝生长速率, 影响菌丝形态和菌核发育, 与氧化胁迫耐受性相关	硫氧还蛋白 1
<i>SsAGM1</i>	废除的	降低菌丝生长速率, 丧失产生菌核的能力	(N-乙酰氨基葡萄糖磷酸变位酶)
<i>SsATG8</i>	废除的	增长率降低; 闭塞性菌核形成	泛素样蛋白与 PE 偶联
<i>SsNBR1</i>	还原的	生长速度降低, 菌核减少	选择性自噬受体 NBR1 (<i>BRCAL</i> 基因 1 的邻位)

除特定情况下的伤口侵染外, 侵染垫的形成和发育对于此病害病原性具有根本性影响。遗传学研究揭示了多个调控因子在这一过程中的作用如表 1 所示^[23], 它们通过影响侵染垫的生成与成熟, 决定了核盘菌的致病潜能^[17,24,25]。

在对核盘菌侵染原理的深入探究中, 核盘菌病原体面临植物免疫应答或细胞破裂时, 所生成的 ROS 及具有抗菌活性的植物防御化合物对其构成了明显的胁迫压力。

为应对此种压力, 核盘菌激活了一组精确调控的抗氧化与解毒系统, 此系统包括多种抗氧化解毒基因。

核盘菌对大豆等宿主的侵染原理, 主要依赖于草酸 (Oxalic Acid, OA)、细胞壁降解酶 (CellWall-Degrading Enzymes, CWDE) 如果胶酶、纤维素酶、蛋白分解酶等多种生化成分的相互作用。其中草酸通过影响环境 PH 值影响酶活性、干扰植物防御原理影

响基因表达等多种方式参与大豆核盘菌的致病过程。OA、CWDE 这些成分的协同作用,不仅加速了感染过程,还能够抑制宿主的防御原理,从而实现大豆等植物的成功侵染。

1.3 核盘菌和大豆互作原理

在探讨植物与病原菌之间的相互作用过程中,从病原菌初次接触或接近寄主植物起,至植物展现出显著的感病或抗病症状期间,双方展开相互制约相互作用。此类互动在很大程度上塑造了植物病程的进展及其最终结果,进而决定了病原体感染植物并引发疾病的能力。在这一框架下,植物的防御原理主要可划分为三个连续阶段:病原菌的识别、信号传递以及防御响应。这些阶段相互关联,共同组成了植物对病原菌入侵的应对策略。通过对这一复杂互动过程的深入分析可以更全面地理解病原体与寄主植物间的互作原理。

在植物抵抗病原体侵害中,细胞表面的模式识别受体(Pattern Recognition Receptors, PRRs)识别病原相关分子模型(Pathogen-associated Molecular Patterns, PAMPs)/损伤相关分子模式(Damage-associated Molecular Patterns, DAMPs)或 DAMPs 至关重要。关键受体如 SOBIR1/BAK1 等发挥作用。另外,寄主细胞质中 NBS-LRRs 的 R 蛋白可识别核盘菌分泌的一些潜在效应因子。信号传递通过 MAPK 或非 MAPK 途径, Ca^{2+} 激活控制 ROS 积累。信号分子水杨酸(Salicylic Acid, SA)、茉莉酸(Jasmonic Acid, JA)等参与调控,激活转录因子和蛋白激酶,触发植物防御反应,包括病程蛋白表达、ROS 产生、胼胝质沉积等,构成植物免疫系统^[26]。

在植物与核盘菌的相互作用中,植物激素起到至关重要的作用,它们在复杂的信号网络中承担了核心功能,负责接收和传递信号,激活植物的防御反应。研究进展表明,植物激素在抵抗核盘菌攻击中发挥着具体的作用。

研究显示,在核盘菌侵染植物叶片时,JA、SA 和脱落酸(Absciscic acid, ABA)的含量显著增加。实验表明,外部施用 SA 或茉莉酸甲酯(Methyl Jasmonate, MeJA)能增强植物对核盘菌的防御能力。在核盘菌侵染过程中,SA 和 JA 的信号传递途径依次被激活,SA 在侵染初期上升,12 h 后达到峰值,然后逐渐下降;JA 的激活在 12 h 后发生,24 h 后达到高峰。相关基因的表达激活表明,JA 和 SA 可能在核盘菌侵染的不同阶段参与免疫信号的传递^[27]。

新型模型解释了核盘菌从活体营养到死体营养转变中的独特生存策略。在这一过程中,SA 主要与

对抗活体营养病原体的免疫反应相关,而 JA/乙烯(Ethylene, ET)信号则激活针对死体营养病原体的防御机制。此外,NO 和 ROS 这两种信号分子在植物抵抗核盘菌的免疫反应中也发挥着关键作用。与感病品种相比,抗性品种在遭受侵染时能产生更多的 NO 和 ROS,并促进相关基因的表达。NO 和 ROS 合成缺陷的突变体对核盘菌的敏感性增加,进一步证明了它们在植物抗性中的关键作用^[28]。

Neuenschwande 等^[29]学者发现,大豆在病原体侵害后,SA 含量上升,通过抑制过氧化氢酶活性,增加过氧化氢和自由基,激活抗病基因表达,揭示了 SA 在大豆抗病原理中的关键作用。

尽管植物与核盘菌相互作用的研究取得了显著进展,但对植物抗性机制的深入理解仍需进一步研究,以完善现有的理论体系。

2 大豆核盘菌检测方法

确保粮食安全的检测策略对于推动农业的可持续发展具有不可小觑的影响。核盘菌的早期发现对于保障粮食安全至关重要。传统的检测手段主要通过观察病原体的物理特征,如菌落颜色和菌丝形态等。然而,这些传统方法易受主观判断偏差的影响,检测周期长、效率低,精确度不高,不适合快速检测,不适用于大规模的病害监测。此外,传统方式涉及到样本的收集、处理和观察都需要人工操作,人工成本较高,无疑增加了检测成本。现有的血清学检测虽然提高了检测的准确性,但在实际应用中仍存在交叉反应和假阳性等问题。

随着分子生物学领域的飞速发展,采用分子技术检测植物病原菌的效率如较显微镜观察法得到显著提升。其中酶联免疫吸附试验(Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA)、免疫荧光试验(Immunofluorescence Technique, IFT)等免疫学方法以及核酸检测技术被广泛应用于植物病原菌的检测。ELISA 能有效量化植物提取液中病毒蛋白,但在检测细菌和真菌病害方面存在局限^[30]。与此同时,聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)和实时荧光定量 PCR(Realtime Fluorescence Quantitative PCR, RTFQ PCR)等技术,因在病原体侵入期和潜育期进行检测的特性和高效、高精度的特点受到广泛关注^[31]。这些技术虽然精确快速,但需采用昂贵的设备以及专业的知识和技能,故此在大规模农田快速监测中的应用受到很大程度的限制。对于大豆核盘菌的检测,开发一种既准确又快速、实时且客观的检测方法将产生极大的经济效益和资源优势。当前,PCR、基因芯片

等分子生物学检测技术正逐步应用到核盘菌的检测, 这些方法极大地提高了检测的准确性和灵敏度, 为大豆生产的保障提供了强有力的技术支撑。

2.1 传统检测方法

当前, 显微镜观察法和病原体分离培养法等传统核盘菌检测方法依然被广泛应用。一些研究者在此基础上进行技术革新, 并取得显著进展。如李华^[32]成功创建了一种新颖的菌核病早期鉴定方法, 此方法通过观察核盘菌在不同宿主植物上引发的病害特征, 以及菌核和菌丝形态学特性进行鉴定。另外, 国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)对核盘菌的检测制定了国际标准——ISO18460-1:2018《植物病原真菌-核盘菌检测-第一部分:形态学方法》。这一国际标准为核盘菌检测提供了统一的技术指导。新型显微镜技术的出现如高分辨率成像系统能更好的观察到大豆核盘菌的微细结构, 提高了检测的准确性。荧光显微镜检测通过使用特定荧光染料, 常用的染料有钙荧光白(Calcofluor White, CFW)、刚果红(Congo Red, CR), 可以增强菌丝和分生孢子的可见性, 从而提高检测效率; 微分干涉显微镜采用光的偏振特性, 能够提供更清晰的菌丝三维图像, 有助于识别菌丝的微结构; 共聚焦激光扫描显微镜能够对活体样本进行无损伤的三维成像, 对于研究大豆核盘菌的侵染过程和菌丝生长动态具有重要意义; 自动化显微镜检测系统能够实现高通量的样本检测, 通过专业软件自动识别菌丝和孢子, 大大提高了检测效率。通过这些技术能够提供更为详尽的细胞结构和病原体形态信息。尽管显微镜检测法在实验室中得到了广泛应用, 但在产业化应用中仍面临检测速度慢、自动化程度低等问题。为了克服这些问题研究人员探索将显微镜检测法与其它检测技术相结合的方式以实现快速、准确的病害诊断。

在植物病原菌研究领域分离培养是一项重要的技术。此技术通过采用受感染的组织样本接种到特定的选择性培养基上。分离培养的优势在于操作简单、成本较低, 能够提供病原菌的直观特征。但此方法检测周期较长需要专业的实验室设备和操作技术, 且无法进行大规模的快速检测。另外, 平板培养虽然具有选择性, 但有时其它微生物也可能在同一培养基上生长, 从而降低检测的特异性。为提高检测效率和准确性, 可采用结合分子标记技术、PCR和基因芯片技术的策略。通过运用这些技术可以在接种后迅速识别病原体, 从而有效缩短检测周期。

血清学检测是病原体识别的一种常规方法, 其原

理在于核盘菌抗原与特异性抗体之间的免疫学反应。此技术通过精准识别病原体, 为诊断提供了重要依据。常用的血清学检测方法包括ELISA和IFT。尽管这些方法具有较高的应用价值, 但仍存在交叉反应的风险, 特别是在样本中存在与核盘菌抗原相似的微生物时。随着技术的进步, 尤其是纳米技术和生物芯片技术的飞速发展, 研究者们正在积极开发新型的血清学检测方法。如, 纳米ELISA和微流控芯片技术, 意在提高检测的灵敏度和特异性。此外, 化学分析法也被应用于分析植物体内的特定成分, 如氨基酸、糖类及有机酸等有助于评估核盘菌的侵害程度。

传统的核盘菌检测方法虽然操作相对简单, 但检测流程较为复杂, 灵敏度和特异性均有待提高, 并且对操作者技术水平要求较高。传统方法的检测限范围通常在 $10^3\sim 10^4$ CFU/mL之间。同时, 显微镜的观察结果受到操作者技术水平和样本处理质量的影响, 存在一定的不稳定性。而采用平板培养法检测核盘菌时, 由于需要等待菌落生长, 对于生长速度较慢的核盘菌, 检测灵敏度的降低尤为明显, 尤其是在核盘菌密度较低的情况下。但传统检测方法在基层检测和教学实践中仍具有一定的应用。

2.2 分子生物学检测方法

随着分子生物学技术的迅猛发展, 众多前沿的分子水平检测方法得以开发。这些技术较传统方法灵敏度高、特异性强、操作简便, 尤其PCR技术, 在分子检测方法中占据着核心地位。核盘菌检测策略通常涉及rDNA或特定基因序列的PCR扩增, 此方法显著提高了核盘菌检测的速度和准确性。徐丽慧等^[33]开发了一种基于PCR技术的高效准确检测方法。此方法能够对核盘菌的特异性条带进行扩增, 检测灵敏度高达 3.11×10^{-2} ng· μ L⁻¹可快速而精确的检测核盘菌。PCR技术可以在明显症状出现之前及早识别菌核病感染。这种早期检测对于及时最大限度地减少大豆损害和产量损失至关重要。随着实时荧光定量聚合酶链式反应(Quantitative Real-time PCR, qPCR)技术的出现, 不仅能检测到病原体的存在, 还能通过荧光信号对核盘菌DNA含量进行精确量化。低水平的核盘菌病原体DNA以确保识别出早期或轻度感染, 大大提高了检测的精确度^[34]。Dong等^[35]研究者已经成功地运用qPCR技术对核盘菌DNA进行了精确的定量分析。朱志贤等^[36]建立了一种qPCR检测体系在核盘菌潜育期或者极其轻微感染期准确检测出病害, 检测灵敏度达到 10^{-4} ng· μ L⁻¹。此体系可用于菌核病菌的快速检测, 能为菌核病早期预防和流行检测提供有效的技

术支撑,在大豆生产上具有重要的实际应用价值。然而,尽管 qPCR 技术具有诸多优势,但其较高的成本限制了它在农业生产中的广泛应用。核盘菌基因组的特异性引物的开发可促进定制检测分析的创建。这些检测的特异性可以通过其它病原体进行验证^[37]。与传统形态学方法相比,使用专为核盘菌设计的特异性引物可增强检测过程的灵敏度和特异性^[38]。Lee 等^[39]通过对核盘菌特定基因区域进行 PCR 扩增,如内转录间隔区 (Internal Transcribed Spacers, ITS) 区域,在基因水平上对其进行鉴定。他们还采用 qPCR 来量化土壤和植物组织中核盘菌的存在。通过使用物种特异性探针和引物检测复杂样品中低水平核盘菌病原体。从 qPCR 获得的定量周期 (Cycle Quantity, CQ) 值可以深入了解病原体在土壤、植物组织等现场的种群动态,此方法对了解大豆菌核病和实施及时的大豆菌核病检测策略至关重要。

3 大豆核盘菌检测模型初探

在当前农业生产背景下,构建高效的大豆核盘菌检测模型具有重大的实践意义。大豆核盘菌检测模型的构建通常涉及生物技术、信息技术、农业科学等多个学科,融合光谱特征、图像特征、生理生化指标等多种生物特征,以提高模型的泛化能力和检测精度。随着物联网、大数据和人工智能技术的发展,农业数字化转型成为趋势。大豆核盘菌检测模型的数字化、智能化的推动为农业数字化转型提供技术支撑。

大豆核盘菌检测模型的构建过程中数据收集是构建检测模型的第一步。首先,收集大豆核盘菌的相关数据,包括病害样本、健康样本以及环境因素等。数据来源可以包括实验室培养、田间调查、历史数据等。在收集数据时,需确保数据的多样性和代表性。特征选择与提取是模型构建的关键步骤。从原始数据中筛选与大豆核盘菌生长和侵染的相关的特征,如光谱特征、形态学特征、生理生化特征等。通过生物信息学方法、机器学习算法等技术、从原始数据中提取高维特征,如主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA)、线性判别分析 (Linear Discriminant Analysis, LDA) 等。在模型选择与训练阶段首先选择合适的机器学习算法,如 SVM、决策树 (Decision Tree, DT)、随机森林 (Random Forest, RF)、神经网络 (Neural Network, NN) 等,用于构建大豆核盘菌检测模型。通过采用数据集对机器学习算法进行训练,进而确定模型参数,这一过程是模型构建的关键环节。验证数据集的应用旨在对已训练模型进行性能评估。梁万杰等^[40]团队运用深度学习与植物叶片高光谱图像分析相

结合的方法,开发了一种识别植物菌核病早期症状的模型。此模型综合了高光谱图像的光谱与视觉特征,为解决早期菌核病识别难题提供了方案,并对农作物病害早期识别技术的研究与发展具有重要意义。周泳欣^[41]则在此基础上,融合了机器学习策略,在高光谱成像与深度学习技术的辅助下,构建了植物叶片菌核病的早期诊断模型。此外,这项研究还采用了一种新型高光谱成像技术,结合滤波与特征图,实现了植物菌核病的可视化诊断,为在线实时检测提供了技术保障,同时也为精细化农业管理探索了新的路径。

模型性能的优化与评估对于提高模型效率至关重要。采用 k 折交叉验证等多种交叉验证方法来衡量模型的泛化能力。通过混淆矩阵,计算模型的准确率、召回率和 F1 分数等指标,实现对模型性能的综合评估。同时,绘制 (Receiver Operating Characteristic Curve, ROC) 曲线,分析模型在不同阈值下的表现,从而确定最佳阈值。根据评估结果,对模型参数进行调整,以优化整体性能。在模型训练和优化完成后,将其应用于实际场景,开发一套大豆核盘菌实时检测的软件系统。该系统通过物联网技术实时采集大豆核盘菌数据,为模型提供数据支持。同时,开发移动应用程序,使用户可以方便地进行大豆核盘菌检测。此外,采用高通量测序技术对大豆核盘菌的基因组数据进行分析,为模型提供了新的遗传标记。结合生物信息学方法,揭示大豆核盘菌的生物学特性,为模型构建提供科学依据。同时,应用深度学习技术,如卷积神经网络 (Convolutional Neural Networks, CNN) 和循环神经网络 (Recurrent Neural Network, RNN),以提升模型的性能。

大豆核盘菌检测模型在实际应用中具有较大潜力。随着物联网和边缘计算技术的发展,将模型部署在边缘设备上,实现实时检测和诊断成为可能。这种方式有助于降低数据处理和传输的延迟,提高检测效率。将大豆核盘菌检测模型与农业机器人相结合可以实现自动化、智能化的病害检测,有助于降低人工成本,提高农业生产的效率和质量。结合遥感技术可以实现对大规模农田的实时监测,及时发现大豆核盘菌疫情有助于提前预警减少病害对农业生产的影响。然而进一步提高模型的性能和实用性仍需在数据集扩充、模型优化、行业知识结合等方面进行深入研究,有助于推动农业病害检测技术的发展,为我国农业生产提供有力支撑。

4 讨论

核盘菌对农产品品质和安全的破坏深远。随着食

品安全检测技术的持续发展,如何在现有技术基础上提升检测效率,优化检测策略已成为科研和业界关注的核心议题。传统检测方法中对核盘菌的形态学特征识别,常采用显微镜观察法和病原体培养法,但这些方法在速度和精确度上有所不足。当前,随着计算机视觉技术的图像处理技术在核盘菌识别上展现出潜力,有希望以其快速和准确的识别能力取代传统方法。

在生理生化特性分析领域,核盘菌在生长期间会释放特定代谢物,这些代谢物的检测可作为判定核盘菌的间接证据。灵敏度是评估技术性能的重要指标之一。气质联用和液质联用技术因其高灵敏度和分辨率而被广泛应用于此类检测。另外,分子生物学技术因其高灵敏度在核盘菌检测上展现出独有优势,以PCR技术为例,其检测灵敏度在常规条件下能够识别 10^2 至 10^3 拷贝数的靶标。通过优化实验设置和选用高效的扩增引物,此技术的灵敏度可得到进一步提升。qPCR技术通过引入荧光标记,使得扩增过程能够得到实时监控,其灵敏度通常在 10^2 至 10^3 拷贝数之间。得益于这种高灵敏度,qPCR已成为核盘菌检测的常规方法。环介导等温扩增技术(Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP)则以其极高的灵敏度备受瞩目。LAMP检测范围介于1至10拷贝数之间,且此方法无需特殊设备,非常适合进行现场的快速检测。随着分子生物学检测方法的发展和检测成本的降低,核盘菌检测技术的灵敏度将实现显著提高。这为加强食品安全领域的技术支持提供更为坚实的保障。免疫学检测中,ELISA虽然应用广泛,但此方法存在交叉反应现象。为克服这一问题,研究人员致力于开发具有更高特异性的抗体。同时,已开发出基于生物识别元件的传感器。虽然此种传感器在稳定性、重复性和抗干扰能力方面仍需改进但在核盘菌检测中已展现出优势。另外,随着纳米技术和材料科学的发展,预期生物传感器技术将在核盘菌检测领域取得新的进展。

当前核盘菌检测技术存在诸多问题,如在大豆等食品检测行业,创新和推进核盘菌检测技术的发展至关重要。推动多学科融合,聚焦生物技术,以智能化检测方法为主多种技术结合,标准化检测策略,多层面升级现有检测方法,增强检测的灵敏度、准确性与可靠性,并降低检测成本。推广使用便于现场操作的便携式检测设备,提升检测效率。进一步完善食品安全管理系统,加大对核盘菌检测技术的推广力度,更好的服务于食品安全。随着技术的持续创新和管理体系的优化,食品安全检测将趋向更精准的精确度和更高的效率,为人类健康和社会进步奠定坚实基础。

5 结论

大豆核盘菌的致病过程涉及多个复杂的遗传和代谢层面。对其的检测方法包括基因标记、代谢产物、表面蛋白分析及RT-PCR等分子生物学方式。核盘菌的侵染过程大致可分为两个阶段:初期形成菌丝网络以及随后分泌毒素和酶破坏细胞壁导致植物死亡。病原基因编码的酶如糖苷酶、果胶酶等有助于侵袭,OA和CWDEs破坏细胞结构,PG是关键毒性因子。核盘菌与大豆的互作主要有病原菌识别、信号传递和植物防御响应三个阶段。植物通过模式识别受体识别病原相关分子模式或损伤相关分子模式,激活防御反应,如病程相关蛋白表达、ROS产生、胼胝质沉积等。植物激素如SA、JA和ABA在信号网络中扮演关键角色,激活转录因子和蛋白激酶,触发防御反应。在核盘菌侵染过程中,这些激素的含量会显著增加,并在不同阶段发挥免疫信号传递的作用。NO和ROS等信号分子在植物抗性中也起到关键作用。大豆核盘菌检测方法对粮食安全至关重要。传统方法如显微镜观察和病原体分离培养存在主观判断、效率低等问题。随着分子生物学技术的发展,ELISA、IFT和PCR等技术提高了检测准确性和效率。特别是qPCR技术,能早期检测并量化病原体DNA,但成本较高限制了其应用。构建大豆核盘菌检测模型对农业生产具有重要意义。该模型结合多学科知识,通过生物技术和人工智能提高检测精度。构建过程包括数据收集、特征提取、模型选择与训练、性能评估和优化。通过物联网和深度学习技术,模型可实时检测大豆核盘菌,有助于精准农业管理。在未来的研究中模型的性能需进一步优化,结合行业知识,推动农业病害检测技术的发展。

参考文献

- [1] 杨丹.湖北省油菜菌核病菌多样性研究[D].武汉:华中农业大学,2010.
- [2] 陈蓉.四川不同地区的油菜菌核病的致病力及遗传分化影响研究[D].成都:四川农业大学,2013.
- [3] 董利东,王金生,李文滨,等.黑龙江省大豆菌核病菌核盘菌遗传多样性分析[J].菌物学报,2015,34(6):1046-1057.
- [4] BOLAND G J, HALL R. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1994, 16(2): 93-108.
- [5] 唐仕娟,刘佳,郭子坤,等.向日葵核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)菌核菌丝型萌发特性[J].西北农业学报,2021,30(5):775-781.
- [6] 杨森冷,张伟,韦秋合,等.大豆菌核病研究进展[J].中国农学通报,2021,37(27):90-99.
- [7] 陈景源.核盘菌*bZIP*转录因子Ss-Adal的功能研究[D].长春:吉林大学,2014.

- [8] 廖文辉. 转录因子Ss-Nsd1和Ss-Fox1调控核盘菌有性及无性发育的功能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [9] 付浩. 油菜防御反应基因诱导表达和候选抗菌核病基因的转化研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [10] LIANG X, ROLLINS J A. Mechanisms of broad host range necrotrophic pathogenesis in *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Phytopathology*, 2018, 108(10): 1128-1140.
- [11] COTTON P, RASCLE C, FEVRE M. Characterization of PG2, an early endoPG produced by *Sclerotinia sclerotiorum*, expressed in yeast [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, 213(2): 239-244.
- [12] GODOY G, STEADMAN J R, DICKMAN M B, et al. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris* [J]. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 1990, 37(3): 179-191.
- [13] 马田田. 甘蓝型油菜抗菌核病QTL定位及相关基因表达分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [14] 潘洪玉, 李亚岚, 孙洪宇, 等. 核盘菌致病机制研究进展[J]. 吉林大学学报(理学版), 2025, 63(1): 253-261.
- [15] KABBAGE M, YARDEN O, DICKMAN M B. Pathogenic attributes of *Sclerotinia sclerotiorum*: switching from a biotrophic to necrotrophic lifestyle [J]. *Plant Sci*, 2015, 233: 53-60.
- [16] LI L, LI M, YU L, et al. The FLS2-associated kinase *BIK1* directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity [J]. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15(3): 329-338.
- [17] KABBAGE M, YARDEN O, DICKMAN M B. Pathogenic attributes of *Sclerotinia sclerotiorum*: switching from a biotrophic to necrotrophic lifestyle [J]. *Plant Science*, 2015, 233: 53-60.
- [18] LIANG X F, ROLLINS J A. Mechanisms of broad host range necrotrophic pathogenesis in *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Phytopathology*, 2018, 108(10): 1128-1140.
- [19] DAVIDSON A L, BLAHUT-BEATTY L, ITAYA A, et al. Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection and oxalic acid function in susceptible and resistant soybean [J]. *Plant Pathology*, 2016, 65: 878-887.
- [20] PEYRAUD R, MBENGUE M, BARBACCI A, et al. Intercellular cooperation in a fungal plant pathogen facilitates host colonization [J]. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 2019, 116(8): 3193-3201.
- [21] KABBAGE M, WILLIAMS B, DICKMAN M B. Cell death control: the interplay of apoptosis and autophagy in the pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *PLoS Pathogens*, 2013, 9(4): e1003287-1-e1003287-12.
- [22] WILLIAMS B, KABBAGE M, KIM H J, et al. Tipping the balance: *Sclerotinia sclerotiorum* secreted oxalic acid suppresses host defenses by manipulating the host redox environment [J]. *PLoS Pathogens*, 2011, 7(6): e1002107-1-e1002107-10.
- [23] 焦文莉. 核盘菌细胞自噬蛋白激酶SsAtg1介导菌核发育及致病的机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- [24] XIA S T, XU Y, HOY R, et al. The notorious soilborne pathogenic fungus *Sclerotinia sclerotiorum*: an update on genes studied with mutant analysis [J]. *Pathogens*, 2019, 9(1): 27.
- [25] XU L S, LI G Q, JIANG D H, et al. *Sclerotinia sclerotiorum*: an evaluation of virulence theories [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2018, 56: 311-338.
- [26] WANG Z, MA L, CAO J, et al. Recent advances in mechanisms of plant defense to *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 144-153.
- [27] WANG Z, TAN X, ZHANG Z, et al. Defense to *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape is associated with the sequential activation of salicylic acid signaling and jasmonic acid signaling [J]. *Plant Science*, 2012, 184: 75-82.
- [28] CAO J Y, XU Y P, CAI X Z. Integrated miRNAome and transcriptome analysis reveals argonaute z-mediated defense responses against the devastating phytopathogen *Sclerotinia sclerotiorum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 500.
- [29] NEUENSCHWANDE U, STEEL R G, TORRIE J H, et al. Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance? [J]. *Plant*, 1995, 8: 227-233.
- [30] SANKARAN S, MISHRA A, EHSANI R, et al. A review of advanced techniques for detecting plant diseases [J]. *Computers & Electronics in Agriculture*, 2010, 72(1): 1-13.
- [31] MARTINELLI F, SCALENGHE R, DAVINO S, et al. Advanced methods of plant disease detection: a review [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(1): 1-25.
- [32] 李华. 核盘菌受真菌病毒抑制的基因的鉴定和分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [33] 徐丽慧, 商庆华, 曾蓉, 等. 蔬菜菌核病两种病原菌双重PCR检测方法的建立[J]. 植物病理学报, 2023, 53(6): 1200-1207.
- [34] ZHANG S R, LI B, CHEN Y, et al. Molecular-assisted distinctness and uniformity testing using SLAF-sequencing approach in soybean [J]. *Genes*, 2020, 11(2): 175-192.
- [35] DONG J L, JIN A L, DAE H C H, et al. Multiplex taqMan qPCR assay for detection, identification, and quantification of three; *Sclerotinia*; Species [J]. *Mycobiology*, 2022, 50(5): 382-388.
- [36] 朱志贤, 董朝霞, 莫荣利, 等. 桑椹菌核病菌实时荧光定量PCR检测体系的建立和应用[J]. 植物保护学报, 2022, 49(3): 909-916.
- [37] DAI T T, YANG X, HU T, et al. Comparative evaluation of a novel recombinase polymerase amplification-lateral flow dipstick (RPA-LFD) assay, LAMP, conventional PCR, and leaf-disc baiting methods for detection of *Phytophthora sojae* [J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 1884-1893.
- [38] NATHANIEL M W⁺, ASHISH R⁺, SACHIN J, et al. Gene regulation of *Sclerotinia sclerotiorum* during infection of glycine max: on the road to pathogenesis [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20: 157-178.
- [39] LEE D J, LEE J A, CHAE D H, et al. Multiplex taqman qPCR assay for detection, identification, and quantification of three *Sclerotinia* species [J]. *Taylor & Francis*, 2022, 50(5): 382-388.
- [40] 梁万杰, 冯辉, 江东, 等. 高光谱图像结合深度学习的油菜菌核病早期识别[J]. 光谱学与光谱分析, 2023, 43(7): 2220-2225.
- [41] 周泳欣. 基于高光谱成像技术番茄叶片菌核病可视化快速预警及诊断[D]. 广州: 暨南大学, 2023.