

基于原球茎培养的白芨育苗技术研究

江本利, 於春, 王红娟, 朱加保, 路献勇, 胡积送, 闫晓明* (安徽省农业科学院棉花研究所, 安徽合肥 230031)

摘要 [目的]研究白芨原球茎增殖液体培养及原球茎直播育苗技术。[方法]通过正交试验筛选 MS 培养基浓度、马铃薯汁浓度及 KT 浓度,对原球茎增殖液体培养进行研究;通过单因素试验筛选原球茎直播育苗的播种基质。[结果]白芨原球茎增殖液体培养各因素的优势组合为 MS + KT 1.0 mg/L + 马铃薯汁 120 g/L;白芨原球茎直播有比较优势的基质为腐殖土 50% + 碎木屑 50% + NAA 0.5 mg/L + 香蕉汁 100 g/L。[结论]白芨原球茎增殖液体培养及原球茎播种育苗的技术路线在生产上具有可行性,该方法简化了培养程序。

关键词 原球茎;增殖;育苗

中图分类号 S567.23 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)06-0039-04

Study on Seeding Technique of *Bletilla striata* Based on Protocorm Cultivation

JIAN Ben-li, YU Chun, WANG Hong-juan et al (Cotton Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031)

Abstract [Objective] To study the *Bletilla striata* protocorm liquid cultivation and protocorm direct seeding technique. [Method] Orthogonal test was used to screen the concentrations of MS medium, potato juice and KT, so as to study the protocorm liquid proliferation cultivation. Single factor test was used to screen the seeding medium of protocorm. [Result] The most suitable factor combination for *Bletilla striata* protocorm liquid culture was MS + KT 1.0 mg/L + potato juice 120 g/L, and the most suitable matrix for *Bletilla striata* seeding was humus soil 50% + scraps of wood 50% + NAA 0.5 mg/L + banana juice 100.0 g/L. [Conclusion] The technology route of *Bletilla striata* protocorm liquid cultivation and protocorm seedling-raising was feasible in production, which simplified the cultivation procedure.

Key words Protocorm; Proliferation; Seedling cultivation

白芨 (*Bletilla striata*) 是兰科白芨属植物, 多年生草本, 其干燥假鳞茎为我国民间传统中药材^[1], 具有极高的药用价值, 其味苦、甘、涩, 性凉, 归肺、胃、肝经, 具有收敛止血、消肿生肌的功能, 主治肺胃出血、外伤出血、痈肿疮疡、皮肤皲裂、水火烫伤等^[2-4]。近年来, 随着医药、化工技术水平及生活质量的提高, 白芨在医药工业、化妆品工业、观赏园艺等领域的应用迅速扩大^[5], 导致需求激增, 而大量的白芨原料供给只能通过人工栽培获得。

成熟的育苗技术是白芨人工栽培必不可少的支撑条件。然而白芨分株移栽, 繁殖系数太小; 白芨种子非常细小且无胚乳, 在自然条件下萌发困难, 繁殖效率低。白芨的繁育特性抬高了批量育苗的技术门槛。近年来, 各种组织培养技术被应用于白芨快速繁育研究, 在促使白芨种子萌发、细胞诱导、芽根分化等方面取得了较大进展^[6-9], 形成了无菌萌发→瓶苗培育(壮苗增殖、芽诱导、根诱导)→炼苗移栽为主要路线的育苗模式, 初步实现了批量育苗。但因为瓶苗转接较多、操作繁琐、无菌保持及褐化控制等技术要求高, 所以育苗成本很高。为了最大限度地降低人工及环境控制成本, 笔者在前人研究的基础上, 提出以原球茎诱导和增殖培养为重点, 探索原球茎直播方法, 从而简化白芨繁育流程, 完善育苗技术。

1 材料与方

1.1 试验材料 供试白芨蒴果采自安徽省农业科学院棉花研究所安庆基地种质资源圃, 胚龄(从开花开始计算)达 20 周, 未开裂, 果荚饱满, 外表无霉变, 颜色为黄绿色与褐色相

间, 4℃冷藏放置。

取白芨成熟未开裂蒴果, 用自来水洗净, 经洗衣粉水浸泡 20 min, 自来水反复冲洗, 用卫生纸吸干水分, 置超净工作台上, 用 75% 酒精浸泡的棉球擦表皮 2 次, 然后用 0.1% 的升汞浸泡 10 min, 依次用无菌水反复冲洗 5 次, 然后用已灭菌的滤纸吸干表面的水分。在无菌条件下, 用解剖刀切开蒴果, 将种子用 0.09% 的无菌琼脂水混悬, 形成均匀一致的种子悬液, 种子浓度定量按蒴果 4 个/L 配制。借鉴鲁光耀等^[10]、张宇思等^[11]研究结果, 采用液体培养法, 用移液枪吸取种子悬液, 播于 1/2MS + 100g/L 马铃薯汁 + 20 g/L 蔗糖, pH 5.8 的液体培养基中, 22℃, 100 r/min, 光照 12 h/d 培养。7~10 d 可见种子吸水膨胀, 经 30 d 培养种子由原来的黄褐色变成淡绿色, 继而成为小球体状(即原球茎)。此时的原球茎即为试验研究的无菌材料。

1.2 试验方法 试验过程分为 2 个阶段, 第一阶段原球茎增殖培养、壮苗培养, 第二阶段原球茎播种。具体步骤如下:

1.2.1 原球茎增殖液体培养。以培养基浓度类别、有机物添加剂马铃薯汁浓度、细胞分裂素 KT 浓度为因素, 每因素 3 水平, 设计 $L_9(3)^3$ 正交试验(表 1)。将预先培养的原球茎(黏连在一起的原球茎切开)按 100 粒/处理准备 9 个处理, 在超净台上用无菌吸水纸吸至恒重, 称量并记录鲜重 G_1 , 接种于液体培养基。其他培养条件如下: NAA 0.1 mg/L, AC 0.5 g/L, 蔗糖 30 g/L, pH 5.8~6.0, 121℃灭菌 20 min, 光照度为 2 500 lx, 光照时间为 12 h/d, 100 r/min 进行培养, 每处理 3 次重复。30 d 后统计原球茎生长数据, 统计增殖后原球茎数量、称量各处理原球茎总鲜重 G_2 , 计算增殖率 $(G_2 - G_1)/G_1 \times 100\%$; 每处理随机选取 50 粒原球茎, 利用游标卡尺测量原球茎的粒径, 并对原球茎的其他直观生长状况进行描述。

基金项目 安徽省农业科学院学科建设项目[16A0722]。

作者简介 江本利(1978—), 男, 安徽东至人, 助理研究员, 从事中草药栽培育种研究。* 通讯作者, 研究员, 硕士, 从事农业生态环境、农产品质量安全研究。

收稿日期 2017-12-07

1.2.2 原球茎固体壮苗培养。将各配方培养所得的原球茎转移到 MS + 蔗糖 30 g/L 固体培养基培养, pH 5.8, 温度 22 ℃, 相对湿度 55% ~ 75%, 光照度 2 500 lx, 光照周期为 10 h/d, 进行壮苗培养。

表 1 原球茎增殖培养因素及水平设计

Table 1 The factors and levels of protocorm proliferation cultivation

水平 Level	因素 Factor		
	培养基浓度 Medium concentration	马铃薯汁浓度 Concentration of potato juice//g/L	KT 浓度 KT conc- entration//mg/L
1	1/4MS	80	0.5
2	1/2MS	100	1.0
3	MS	120	1.5

1.2.3 原球茎播种。采用 3 种播种基质, 分别为: A: 腐殖土 + NAA 0.5 mg/L 浇灌; B: 腐殖土 50% + 碎木屑 50% + NAA 0.5 mg/L 浇灌; C: 腐殖土 50% + 碎木屑 50% + NAA 0.5 mg/L 浇灌 + 10% 浓度香蕉汁浇灌。将基质湿热灭菌, 装

于 105 孔穴盘; 经壮苗培养 15 d 的原球茎开盖炼苗 3 d 后, 取出原球茎, 洗净黏附基质, 随机播于穴盘中, 100 颗/穴盘, 每处理 3 次重复; 置于温度 25 ℃, 相对湿度 55% ~ 75%, 光照度 2 500 ~ 3 000 lx, 光照周期 10 h/d 的温室培养。30 d 后统计生长情况。

1.3 数据统计与分析 用 Excel 软件进行数据处理, 采用 SPSS 19.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 因素对原球茎增殖的影响 从图 1 可以看出, 接种后经增殖培养 30 d, 原球茎实现了增殖, 新增原球茎不同程度丛生黏连, 颜色从白色到浅绿、深绿不一。根据表 2 正交试验方案结果可知, 2 号、3 号及 9 号处理原球茎数量增加较多, 7 号、1 号处理原球茎数量增加较少; 9 号、8 号处理原球茎增重较多, 1 号、4 号及 7 号处理增重较少; 9 号、3 号处理原球茎粒径较大, 1 号、8 号、7 号处理粒径较小。综合来看, 9 号处理在增殖及生长方面都有优势。

表 2 原球茎增殖液体培养的正交试验结果

Table 2 The orthogonal test results of the proliferation liquid cultivation of protocorm

处理编号 Treatment number	培养基浓度 Medium concentration	马铃薯汁浓度 Concentration of potato juice g/L	KT 浓度 KT concen- tration//mg/L	增殖后原球茎数 Protocorm number after proliferation	原球茎增重率 Weight gain rate of the protocorm//%	原球茎粒径 Protocorm diameter//mm
1	1/4MS	80	0.5	261.7 ± 7.5	0.891 5 ± 0.039 4	1.43 ± 0.03
2	1/4MS	100	1.0	390.7 ± 12.1	0.997 0 ± 0.059 3	1.98 ± 0.02
3	1/4MS	120	1.5	384.0 ± 4.6	1.005 0 ± 0.044 8	2.10 ± 0.04
4	1/2MS	80	1.0	299.3 ± 6.5	0.901 4 ± 0.071 6	1.74 ± 0.04
5	1/2MS	100	1.5	340.3 ± 8.1	1.015 0 ± 0.081 6	1.99 ± 0.03
6	1/2MS	120	0.5	356.0 ± 14.1	1.005 2 ± 0.039 4	1.80 ± 0.05
7	MS	80	1.5	253.4 ± 8.5	0.903 9 ± 0.026 6	1.55 ± 0.05
8	MS	100	0.5	284.3 ± 9.7	1.036 7 ± 0.035 9	1.54 ± 0.03
9	MS	120	1.0	382.3 ± 14.0	1.045 3 ± 0.069 5	2.14 ± 0.05

极差分析结果(表 3)显示, 各因素对原球茎数量增加的影响程度由高到低依次为马铃薯汁浓度、KT 浓度、培养基浓度; 各因素对原球茎增重率的影响程度由高到低依次为马铃薯汁浓度、培养基浓度、KT 浓度; 各因素对增殖培养中原球茎粒径的影响程度由高到低依次为马铃薯汁浓度、KT 浓度、培养基浓度。

对 3 个统计指标作进一步方差分析可知, 马铃薯汁浓度对原球茎数量增加、增重及粒径大小的影响均达到显著水平

($P < 0.05$), KT 浓度对原球茎数量增加、粒径大小的影响均达到显著水平($P < 0.05$), 与极差分析结果一致。

综上所述, 该试验中马铃薯汁浓度对原球茎增殖影响最大, KT 浓度主要影响数量增加, MS 对原球茎增殖培养影响较小。白芨原球茎增殖液体培养可在处理 9 的因素组合下进行, 即 MS + NAA 0.1 mg/L + KT 1.0 mg/L + 马铃薯汁 120 g/L + AC 0.5 g/L + 蔗糖 30 g/L, pH 5.8 ~ 6.0, 121 ℃ 下灭菌 20 min, 光照度为 2 500 lx, 光照时间 12 h/d, 100 r/min。

表 3 原球茎增殖液体培养的极差分析结果

Table 3 The result of the extreme difference analysis of the proliferation liquid cultivation of the protocorm

因素 Factor	增殖后原球茎数 Protocorm number after proliferation			原球茎增重率 Weight gain rate of the protocorm//%			原球茎粒径 Protocorm diameter//mm		
	培养基浓度 Medium concentration	马铃薯汁浓度 Concentration of potato juice g/L	KT 浓度 KT concen- tration mg/L	培养基浓度 Medium concentration	马铃薯汁浓度 Concentration of potato juice g/L	KT 浓度 KT concen- tration mg/L	培养基浓度 Medium concentration	马铃薯汁浓度 Concentration of potato juice g/L	KT 浓度 KT concen- tration mg/L
k_1	345.4	271.5	300.7	0.964 5	0.898 9	0.977 8	1.839	1.575	1.593
k_2	331.9	338.4	357.4	0.973 9	1.016 2	0.981 2	1.845	1.838	1.954
k_3	306.7	374.1	325.9	0.995 3	1.018 5	0.974 7	1.744	2.014	1.880
R	38.8	102.6	56.8	0.030 8	0.119 6	0.006 6	0.101	0.439	0.361

2.2 播种基质对出苗的影响 由表 4 可知,原球茎播种 1 个月后可以实现育苗,3 种基质上播种出苗情况差异达极显著水平,基质 C 出苗率极显著优于基质 A,基质 C、B 生根率

极显著优于基质 A。苗情生长如图 1 所示,基质 C 上的幼苗叶片颜色、厚度均优于基质 B,而基质 B 优于基质 A。

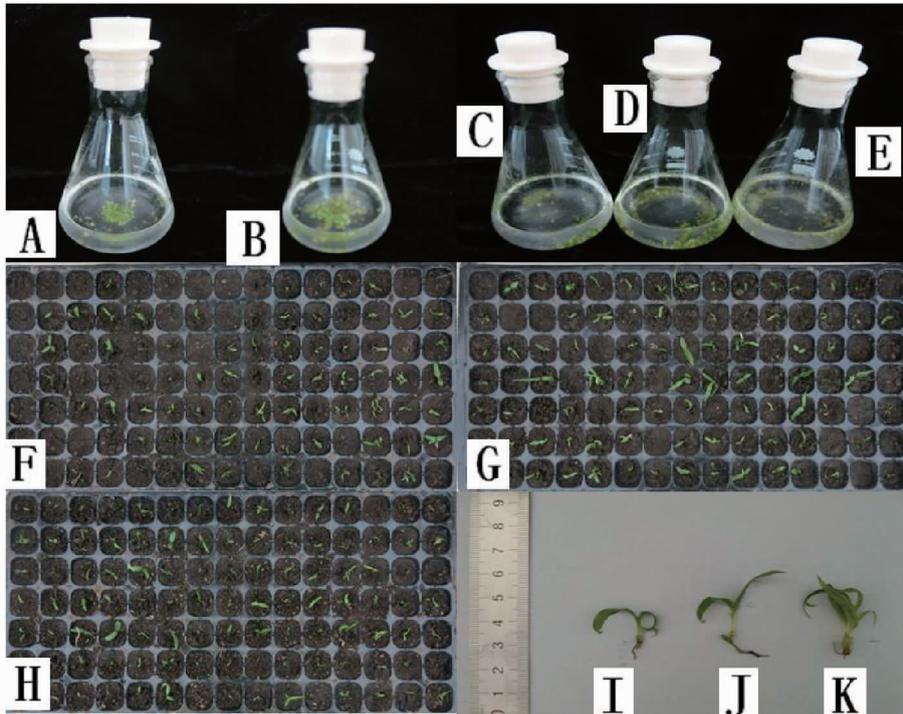
表 4 不同播种基质对原球茎出苗的影响

Table 4 Effects of different seeding matrix on emergence of protocorm

基质编号 Number of matrix	播种数 Sowing number	出苗率 Emergence rate//%	生根率 Rooting rate//%	出苗苗情 Seedling emergence situation
A	100	72.0 ± 5.3 bB	46.7 ± 3.8 bB	叶色浅绿,苗较小
B	100	85.0 ± 5.6 aAB	62.0 ± 5.3 aA	叶色浅绿,零星有大苗
C	100	90.0 ± 3.5 aA	66.7 ± 4.0 aA	叶色浓绿,叶片宽厚,出苗整齐

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$),同列数据后不同大写字母表示处理间差异极显著($P < 0.01$)

Note: Different lowercase letters after the data in the same column indicated significant differences between treatments ($P < 0.05$), and different capital letters indicated extremely significant differences between treatments ($P < 0.01$)



注:A. 白芨原球茎增殖培养 0 d; B. 白芨原球茎增殖培养 30 d; C. 白芨原球茎增殖培养 30 d (7 号处理数量最少); D. 白芨原球茎增殖培养 30 d (9 号处理长势最旺); E. 白芨原球茎增殖培养 30 d (2 号处理数量最多); F. 基质 A 原球茎播种 30 d 苗情; G. 基质 B 原球茎播种 30 d 苗情; H. 基质 C 原球茎播种 30 d 苗情; I. 基质 A 原球茎播种 30 d 的最大苗; J. 基质 B 原球茎播种 30 d 的最大苗; K. 基质 C 原球茎播种 30 d 的最大苗

Note: A. Proliferation of *Bletilla striata* protocorm on 0 d; B. Proliferation of *Bletilla striata* protocorm on 30 d; C. Proliferation of *Bletilla striata* protocorm on 30 d (Treatment 7 was the smallest); D. Proliferation of *Bletilla striata* protocorm on 30 d (Treatment 9 had the most vigorous growth); E. Proliferation of *Bletilla striata* protocorm on 30 d (Treatment 2 had the maximum number); F. Seedlings situation on matrix A for 30 d; G. Seedlings situation on matrix B for 30 d; H. Seedlings situation on matrix C for 30 d; I. The biggest seedling on matrix A for 30 d; J. The biggest seedling on matrix B for 30 d; K. The biggest seedling on matrix C for 30 d

图 1 白芨原球茎育苗培养情况

Fig. 1 *Bletilla striata* protocorm cultivation and seedling situation

3 讨论

白芨种子萌发成苗期间,原球茎是形态发育的典型阶段,此阶段白芨可向根芽分化方向生长、也可向原球茎自身增殖方向生长^[12-13]。据此特点,在种子萌发诱导原球茎的成熟技术基础上,笔者研究了原球茎增殖与播种技术,探讨原球茎作为白芨“种子”播种育苗的可行性。

研究结果显示,各浓度的液体 MS 培养基都能支持白芨

原球茎的增殖生长,但相互之间差异并不显著,与张宇思等^[11]研究结果不同。这可能是因为马铃薯汁有机营养充足,致使培养基的作用弱化,需要进一步验证试验。研究结果还显示,适宜浓度的有机添加物马铃薯汁与 KT 在原球茎增殖生长中具有重要作用。马铃薯汁浓度高,则增殖生长较旺盛,这可能与复合营养供给充足、有利于增殖生长的各因素比例适当、符合生长需求、协同效应好有关;1.5 mg/L KT

浓度的原球茎数量与质量增长弱于 1.0 mg/L KT, 可能出现了类似于固体培养时发生的玻璃体现象, 抑制了原球茎生长。原球茎播种试验显示, 增强通透性(添加木屑)和浇灌有机质有利于播种成苗, 这可能是因为较好的通透性与香蕉汁均有利于生根, 这与袁宁^[14]的研究结果一致。

4 结论

该研究通过液体培养方式对白芨原球茎增殖培养的 3 个影响因素进行了研究, 结果表明 MS + NAA 0.1 mg/L + KT 1.0 mg/L + 马铃薯汁 120 g/L + AC 0.5/L + 蔗糖 30 g/L, pH 5.8 ~ 6.0, 121 °C 下灭菌 20 min, 光照度为 2 500 lx, 光照时间 12 h/d, 100 r/min 条件下进行原球茎液体培养可较好的实现增殖。单因素原球茎直播育苗试验结果显示, 基质 C, 即腐殖土 50% + 碎木屑 50% + NAA 0.5 mg/L 浇灌 + 10% 浓度香蕉汁浇灌育苗效果较好。

白芨原球茎增殖液体培养及原球茎播种育苗的技术路线生产上具有可行性, 培养程序及操作较传统组培育苗相对简化, 降低了育苗成本。但影响白芨原球茎诱导、增殖及进一步分化成苗的因素较多^[15], 如培养基配方、激素配比、碳氮比例调节、pH 调节、污染控制、玻璃化、褐化控制以及培养温度、光照、培养方式(固体或液体)等都会影响育苗, 仅几次简单试验无法探讨清楚, 因此原球茎播种育苗技术仍需进一步研究。

(上接第 25 页)

- [69] 汪斌, 庄严, 谭建新, 等. 低浓度富里酸对底泥中重金属铅的生物有效性影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1182 - 1187.
- [70] 刘艳平, 李炼, 李忠魁, 等. 底泥重金属铅对鲤鱼红细胞遗传物质的损伤[J]. 实用预防医学, 2003, 10(3): 333 - 335.
- [71] 陈亮, 郭红岩, 沈红, 等. 低浓度铅暴露对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响[J]. 环境化学, 2002, 21(5): 485 - 489.
- [72] 李培军, 熊先哲, 杨桂芬, 等. 动物生物标志物在土壤污染生态学中的应用[J]. 应用生态学报, 2003, 14(12): 2347 - 2350.
- [73] 陈志伟, 李兴华. 铜镉单一及复合污染对蚯蚓血细胞微核的诱导[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5): 1193 - 1197.
- [74] 陈晨. 农药残留混合污染联合毒性效应研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [75] 谢嘉. 典型重金属(Cd²⁺、Pb²⁺)和有机污染物(BaP、BDE-47)对长牡蛎的复合毒性效应研究[D]. 烟台: 中国科学院烟台海岸带研究所, 2017.
- [76] 王晶. 沙蚕暴露于镉、铜和石油烃单一与复合污染的生态毒理学研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007.
- [77] YANG G L, CHEN C, WANG Y H, et al. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia fetida*[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2017, 142: 29 - 39.
- [78] XU Y G, LI J, QIN J H, et al. Joint toxicity of glyphosate and As(III) to *daphnia magna* in aquatic environment[J]. Journal of aro-environment science, 2015, 34(11): 2076 - 2082.
- [79] HUANG B Y, LI D L, YANG Y. Joint toxicity of two phthalates with waterborne copper to *Daphnia magna* and *Photobacterium phosphoreum*

参考文献

- [1] 王晓敏, 吴明开, 罗晓青. 珍稀药用兰科植物白芨的研究现状与展望[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(3): 42 - 45.
- [2] 李青凤, 桂阳, 陈娅妮, 等. 不同碳源对白芨种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2014(16): 150 - 154.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 1 部[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [4] 石云平, 赵志国, 唐凤鸾, 等. 白芨愈伤组织诱导、增殖与分化研究[J]. 中草药, 2013, 44(3): 349 - 353.
- [5] 宋晓丹, 陈晓玲, 尚丽, 等. 白芨种子试管高频萌发的应用研究[J]. 中国现代中药, 2014, 16(9): 751 - 754.
- [6] 席刚俊, 李警保, 韩正敏, 等. 白芨种子萌发形态学观察及组培快繁体系的建立[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(8): 1383 - 1387.
- [7] 李雨晴, 杨嘉伟, 王康才, 等. 白芨种子无菌萌发特性[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 253 - 255.
- [8] 王楷, 李玥, 张云峰, 等. 白芨种子的高效萌发及其无性繁殖体系的构建[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2014, 34(4): 71 - 78.
- [9] 张燕, 黎斌, 李汝娟, 等. 白芨种子的无菌萌发过程观察和组培快繁研究[J]. 北方园艺, 2013(3): 158 - 160.
- [10] 鲁光耀, 杨仙, 蒋瑞彬, 等. 白芨组培快速繁殖体系研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2015, 39(5): 383 - 390.
- [11] 张宇思, 姚正颖, 刘金香, 等. 基于原球茎液体培养的白芨快速繁殖研究[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(10): 59 - 62, 331.
- [12] 吴华芬, 姚宏, 刘南洋, 等. 离体培养丽水野生白芨快速繁殖[J]. 北方园艺, 2008(6): 180 - 182.
- [13] 邹娜, 李意, 连芳青. 优良观赏药用地被植物——白芨组织培养及快速繁殖研究[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(5): 950 - 955.
- [14] 袁宁. 白芨组织培养技术体系研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2008.
- [15] 黄颖融, 黄玲, 徐永贞, 等. 白芨组织培养及增殖技术研究[C]//张启翔. 中国观赏园艺研究进展 2017. 北京: 中国林业出版社, 2017: 7.

[J]. Bulletin of environmental contamination & toxicology, 2016, 97(3): 380 - 386.

- [80] PÉREZ E, HOANG T C. Chronic toxicity of binary-metal mixtures of cadmium and zinc to *Daphnia magna*[J]. Environmental toxicology & chemistry, 2017, 36(10): 2739 - 2749.
- [81] 张融, 范文宏, 唐戈, 等. 水体中重金属镉和锌对大型蚤联合毒性效应的初步研究[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(3): 286 - 290.
- [82] ZHANG R, FAN W H, TANG G, et al. A preliminary study on joint toxicity of Cd and Zn on fresh water Zooplankton *Daphnia magna*[J]. Journal of Inner Mongolia University, 2008, 39(6): 704 - 709.
- [83] HE H Z, CHEN G K, YU J, et al. Individual and joint toxicity of three chloroacetanilide herbicides to freshwater cladoceran *Daphnia carinata*[J]. Bulletin of environmental contamination & toxicology, 2013, 90(3): 344 - 350.
- [84] 梁霞, 张秀云, 何池全, 等. 摇蚊幼虫对城市污染河流中金属铅的生物富集与响应作用[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2013, 19(4): 345 - 353.
- [85] 姜东生. 典型污染物对淡水生物急性毒性及我国林丹水质基准研究[D]. 南京: 南京大学, 2014.
- [86] CHEN X, LI H Z, YOU J. Joint toxicity of sediment-associated permethrin and cadmium to *Chironomus dilutus*: The role of bioavailability and enzymatic activities[J]. Environmental pollution, 2015, 207: 138 - 144.
- [87] LEBLANC H M K, CULP J M, BAIRD D J, et al. Single versus combined lethal effects of three agricultural insecticides on larvae of the freshwater insect *chironomus dilutus*[J]. Archives of environmental contamination & toxicology, 2012, 63(3): 378 - 390.

科技论文写作规范——引言

扼要地概述研究工作的目的、范围、相关领域的前人工作和知识空白、理论基础和分析、研究设想、研究方法和实验设计、预期结果和意义等。一般文字不宜太长, 不需做详尽的文献综述。在最后引出文章的目的及试验设计等。“引言”两字省略。