

马铃薯疮痂病链霉新变种的分离与生物学特性分析

马建荣, 余永红*, 黎敬鸿, 陈力畅, 何海林 (广东食品药品职业学院, 广东广州 510520)

摘要 [目的] 研究土壤中分离到 C9 菌株的种类归属和生物学特性。[方法] 扩增 C9 菌株的 16S rDNA 序列, 并进行系统发育建树。检测 C9 菌株对不同碳源、氮源的利用能力, 以及对不同抗生素、渗透压的敏感性。利用 GC-MS 法测定 C9 菌株的脂肪酸组分, 并扩增其脂肪酸合成关键酶——3-酮脂酰 ACP 合成酶 III (FabH) 编码基因, 并进行序列同源性分析。[结果] 基于 C9 菌株的 16S rDNA 序列分析, 结合分析其菌落形态特征, 初步判断 C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌 (*Streptomyces scabies*)。但 C9 菌株的生理生化特征与已报道的 *S. scabies* 菌株有明显差异, 进一步盆栽试验结果显示 C9 菌株不能引起马铃薯疮痂病, 其染色体上也没有扩增获得致病岛 (PAI) 区域中致病性相关的基因, 说明该菌株不具有马铃薯疮痂病致病性, 为 *Streptomyces scabies* 的一个新变种。C9 菌株的脂肪酸组成测定结果显示其主要合成棕榈油酸 ($C_{16:1}$) 和棕榈酸 ($C_{16:0}$), 其不饱和和脂肪酸总含量达 36.2%, 也符合马铃薯疮痂病非致病株的特征。C9 菌株基因组中 *fabH* 基因序列和编码的氨基酸序列与 *Streptomyces scabies* 都具有极高的一致性。[结论] C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌新变种。C9 菌株为进一步深入研究马铃薯疮痂病链霉菌的基础代谢机制或探索其致病机理提供了良好的材料。

关键词 马铃薯疮痂病链霉菌; 16S rDNA; 脂肪酸组成

中图分类号 S182; Q93 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2019)18-0139-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.18.037



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Isolation and Biological Characteristics Analysis of a New Variety of *Streptomyces* Potato Scab

MA Jian-rong, YU Yong-hong, LI Jing-hong et al (Guangdong Food and Vocational College, Guangzhou, Guangdong 510520)

Abstract [Objective] To study the biological characteristics and classify the C9 strain isolated from soil. [Method] The 16S rDNA sequence of the C9 strain was amplified and phylogenetical tree was established. The ability of C9 strain to utilize different carbon sources and nitrogen sources, as well as sensitivity to osmotic pressure and different antibiotics, was examined. The fatty acid composition of C9 strain was determined by GC-MS, and the gene encoding the key enzyme for fatty acid synthesis, 3-ketoacyl-ACP synthase III (FabH), was amplified and sequence homology analysis was performed. [Results] The C9 strain was classified as *Streptomyces scabies* based on the 16S rDNA sequence coupled with the colony morphology. However, the physiological and biochemical characteristics of the C9 strain were significantly different from those of the reported *S. scabies* strains. Moreover, the C9 strain showed no pathogenicity to cause potato scab by the pot tests, and the genes related to pathogenicity in PAI region were not amplified on its chromosome. All the results indicated that C9 strain was a new strain of *Streptomyces scabies*. The fatty acids composition of the C9 strain was analyzed further. The results showed that the strain mainly synthesized palmitoleic acid ($C_{16:1}$) and palmitic acid ($C_{16:0}$). The total content of unsaturated fatty acid reached 36.2%, which also accorded with the characteristics of non-pathogenic strain of potato scab. Then the key gene of fatty acid synthesis, coding 3-ketoacyl ACP synthase III (FabH), was amplified and analyzed from the C9 strain genome. The results showed that the *fabH* gene sequence and the coded amino acid sequence were highly consistent with those of *Streptomyces scabies*. [Conclusion] The C9 strain was a new strain of *Streptomyces scabies*. The C9 strain provided a good material for further study on the basic metabolic mechanism of *Streptomyces scab* and its pathogenic mechanism.

Key words *Streptomyces scabies*; 16S rDNA; Fatty acids composition

马铃薯是世界上除水稻、小麦和玉米外的第四大粮食作物, 在蔬菜、饲料及工业原料领域均具有重要的经济价值^[1]。但随着种植面积扩大, 马铃薯相关的微生物病害逐渐凸显, 其中马铃薯疮痂病 (potato common scab) 是一类重要的土传病害, 严重影响马铃薯块茎的外观品质, 造成严重的损失^[2]。

马铃薯疮痂病病原菌为链霉菌属 (*Streptomyces* spp.), 国内外报道的主要有 *S. scabies*、*S. acidiscabies* 和 *S. turgidiscabies*, 3 种菌株生理生化特征差异明显^[2-5]。随着研究深入, 越来越多的链霉菌病原菌被发现, 表明马铃薯疮痂病菌种类多, 分布和组成复杂。对我国不同地区的疮痂病原菌分析表明, 在分离到的病原菌中除常见的致病菌株外, 还发现 *S. bobili*、*S. galilaeus*、*S. enissocaesilis* 等新的马铃薯疮痂病菌^[6]。黑龙

江省不同地区马铃薯疮痂病原菌有 3 种, 其中 *S. scabies* 为主要病原菌, 而且不同病原菌的致病力有明显差异^[7]。因此我国疮痂病原菌种类及组成具有明显的多样性, 不同地区或同一地区不同季节流行不同的病原链霉菌, 明确特定地区的病原菌组成对了解及防治马铃薯疮痂病十分必要, 但目前未见对广东地区该病原链霉菌的研究^[5]。笔者通过对土壤中分离到的链霉菌进行分析, 鉴定其中的 C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌新变种, 并分析了该菌株的生理生化特性。

1 材料与方法

1.1 病原菌的分离 从广东省广州周边马铃薯种植地块采集土壤, 取 10 g 样品于 90 mL 无菌生理盐水中, 充分振荡。静置后去上清液进行 10 倍系列稀释, 选 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 3 个稀释度, 分别取 0.1 mL 涂布于改良高氏 1 号平板, 30 °C 倒置培养 5 d, 挑选菌落形态不同的菌株划线纯化, 重复 3 次。

1.2 致病性测定 选择健康马铃薯种薯经 75% 乙醇溶液浸泡 10 min 进行表面消毒, 无菌操作切取含有芽眼的薯块, 播入装有灭菌土的花盆中, 每盆 3 块。栽种 60 d 后, 用待测菌株孢子悬液接种至花盆土壤, 置于室温中继续培养 30 d 后检测新生薯块的发病情况^[8]。

基金项目 广东省大学生“攀登计划”专项资金 (pdjh2019b0765); 广东省医学科学技术研究基金项目 (A2018409); 广东食品药品职业学院校级课题 (2017ZR006)。

作者简介 马建荣 (1981—), 女, 河北唐山人, 实验师, 硕士, 从事微生物相关的教学与科研工作。* 通信作者, 讲师, 博士, 从事微生物基础代谢相关研究。

鸣谢 C9 菌株的盆栽致病性检测由河北农业大学赵伟全教授课题组完成, 在此表示感谢!

收稿日期 2019-05-01

1.3 生理生化特性测定 参照《伯杰细菌鉴定手册》^[9] 和《链霉菌鉴定手册》^[10] 中测定方法,对该菌株进行碳源利用、氮源利用、纤维素利用、淀粉利用和蛋白酶产生能力等分析,并进一步利用 Biolog 微孔板对多种生理生化特性及敏感性等进行测定。

1.4 16S rDNA 序列分析与致病相关基因分析 病原菌总 DNA 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京鼎国昌盛生物技术有限公司)的方法提取。PCR 扩增用引物见表 1,扩增条件:① 98 °C 预变性 2 min;② 98 °C 变性 20 s;③ 56 °C 退火 20 s;④ 72 °C 延伸 20 s;⑤ 重复②~④35 个循环。将 PCR 产物用 1% 琼脂糖电泳检测,16S rDNA 扩增片段送上海生工公司测序,将得到的序列进行 Blast 比对,并构建系统发育树。

表 1 供试引物

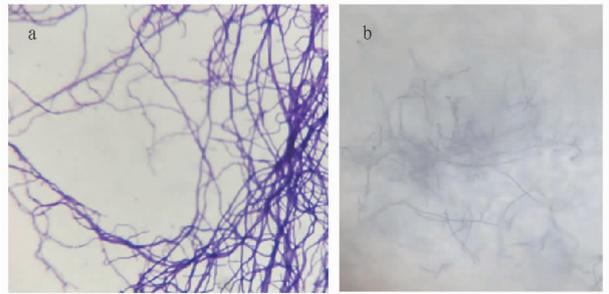
Table 1 Primers used in the study

序号 No	引物 Primers	序列 Sequence
1	16S up	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
2	16S down	AAGGAGGTGATCCAGCCGCA
3	TomF	GAGGCGTTGGTGGAGTTCTA
4	TomR	TTGGGGTTGTACTCTCGTC
5	TxtAB1	CCACCAGGACCTGCTCTTC
6	TxtAB2	TCGACTGGACCTCACAGATG
7	nec1 up	ATGAGCCGGAACGGAAGCCCCGGA
8	nec1 down	GCAGGTCGTACGAAGGATCG
9	fabH up	AATTATGCATATGTCGAAGATCAGGCCGAG
10	fabH down	AATTAAGCTTCCTTCGTTGGTTCCAGAGG

1.5 细胞脂肪酸组成分析 在合成 V 号培养基中,培养马铃薯疮痂病链霉菌,离心收集菌体,按照文献^[11-12]的方法,提取细菌的脂肪酸,并转化为脂肪酸甲酯(样品 3 个重复)。样品送华南农业大学测试中心进行脂肪酸组成 GC-MS 分析。

2 结果与分析

2.1 C9 菌株形态与 16S rDNA 序列分析 从马铃薯栽种土壤中采样,稀释后涂布于高氏 1 号培养基,培养后获得多种单菌落。其中 C9 菌株菌丝为丝状,革兰氏染色阳性(图 1 a),培养后期生成灰色孢子,孢子链成螺旋状(图 1 b)。



注:a.菌丝的革兰氏染色;b.400×光学显微镜下的孢子丝形态

Note:a.Gram staining of mycelia;b.Spore filament morphology under 400× optical microscope

图 1 C9 菌株的形态

Fig.1 Morphology of C9 strain

为确定 C9 菌株种属归类,利用细菌 16S rDNA 通用引物,以 C9 菌株的总 DNA 为模板,扩增获得约 1.5 kb 的 16S rDNA 序列(图 2 a),连接 T-载体后获得质粒 pYYH-1,并送样测序获得 16S rDNA 全序列。进一步将测序结果在 NCBI 中 GenBank 数据库 Blast 分析,结果显示该序列与马铃薯疮痂病链霉菌同源性最高。选取与比对序列相似性大于 95% 的菌株和已经报道的马铃薯疮痂病链霉菌菌株 16S rDNA 序列,利用 MEGA 7.0 软件进行系统进化分析(NJ 法)(图 2 b)。结果显示 C9 菌株与马铃薯疮痂病链霉菌(*Streptomyces scabiei*)标准菌株 ATCC49173 的亲缘关系最近,相似性为 99.7%。这表明 C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌(*Streptomyces scabiei*)菌株。

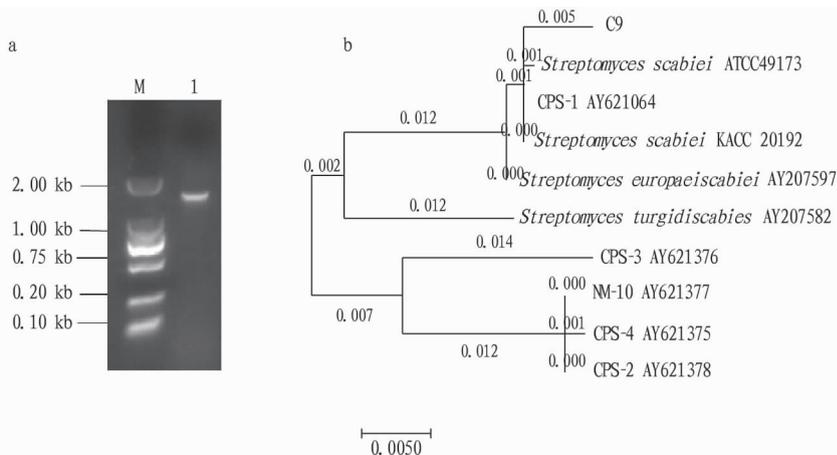


图 2 16S rDNA 扩增(a)和基于序列构建的系统发育树(b)

Fig.2 16S rDNA amplification (a) and sequence-based phylogenetic tree (b)

2.2 C9 菌株生理生化特性分析 进一步分析 C9 菌株的生理生化特征,结果显示,C9 菌株能以葡萄糖、鼠李糖、半乳糖、甘露糖、棉子糖、肌酐、肌醇等作为唯一碳源生长,但不能利用果糖、阿拉伯糖、蔗糖、甘油等为单一碳源生长。C9 菌

株能以脯氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸等为唯一氮源生长,但不能以组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸等为唯一氮源。C9 菌株对青霉素、四环素、林肯霉素、万古霉素等抗生素以及结晶紫、四唑紫、盐酸胍等化合物敏感,同时该菌株在含有 10%NaCl 培养

基中不能生长, $\text{pH} < 5.5$ 不能生长。C9 菌株产生黑色素和 H_2S 气体, 不产生可溶性色素, 产生淀粉酶和纤维素酶, 但不产生蛋白酶。综合分析以上生理生化特性, 显示 C9 菌株与已报道的典型马铃薯疮痂病链霉菌有明显差异, 说明该菌株为新的菌株^[2,13-14]。

2.3 C9 菌株的致病性分析 为分析 C9 菌株是否对马铃薯具有致病性, 采用致病性盆栽试验, 在马铃薯种植 30 d 后观察新生薯块发病情况。结果显示, C9 菌株不能对盆栽马铃薯致病, 未出现疮痂症状(图 3)。

马铃薯疮痂病病原菌多种多样, 寄主范围也较广, 但致病因子均存在于染色体上的致病岛 (PAI) 区域。当前报道的 PAI 区域基因主要包括 *txtA* 基因、*txtB* 基因、*txtC* 基因、坏死诱导蛋白 *nec1* 基因和致病因子 *tomA* 基因等^[15-17]。为研究 C9 菌株不能使盆栽马铃薯出现疮痂症状的原因, 分别扩增了该菌株基因组上这几个致病相关的基因, 但结果均未扩增到目的基因, 说明 C9 菌株可能没有相关的致病因子或致病岛 PAI, 这极可能是该菌株不能引物马铃薯致病的重要原因。



图 3 马铃薯疮痂病致病性盆栽试验

Fig.3 Pathogenic potted test of potato scab

2.4 C9 菌株的脂肪酸组成分析 细菌采用 II 型脂肪酸合成机制合成脂肪酸, 每步反应都由特定的酶催化完成。而脂肪酸是细菌细胞膜的重要组成物质, 具有灵敏度高、成分高度保守和含量稳定等特点^[18]。目前在细菌中已发现 300 多种脂肪酸, 其碳链长度、双键位置和功能团组合的不同使其成为有效的分类标记, 而脂肪酸组成和含量与微生物的遗传变异、耐药性、致病性等有极为密切的关系^[19]。研究表明, 链霉菌的脂肪酸组成可以作为马铃薯疮痂病链霉菌是否为致病菌的重要评价指标^[20]。

为此, 测定了 C9 菌株的脂肪酸组成。结果显示, C9 菌株的脂肪酸组成较为复杂, 检测到约 20 种不同结构的脂肪酸, 包括直链饱和脂肪酸、支链饱和脂肪酸、直链不饱和脂肪酸和环丙烷脂肪酸等, 检测到的脂肪酸链长包括 12 碳到 18 碳。不同脂肪酸组分含量不同, 其中含量最高的棕榈油酸 ($\text{C}_{16:1}$) 占总脂肪酸组分的 28.4%, 其次是棕榈酸 ($\text{C}_{16:0}$) 占 18.0%。细菌的支链脂肪酸和不饱和脂肪酸在调节膜的流动性方面发挥重要作用, C9 菌株产生支链脂肪酸包括 12-甲基

十三烷酸 ($\text{isoC}_{14:0}$)、13-甲基十四烷酸 ($\text{isoC}_{15:0}$) 和 12-甲基十四烷酸 ($\text{anteisoC}_{15:0}$) 等, 支链脂肪酸总含量占比 33.6%。不饱和脂肪酸包括棕榈油酸、顺-11-异油酸等, 总含量占比 36.2% (图 4)。

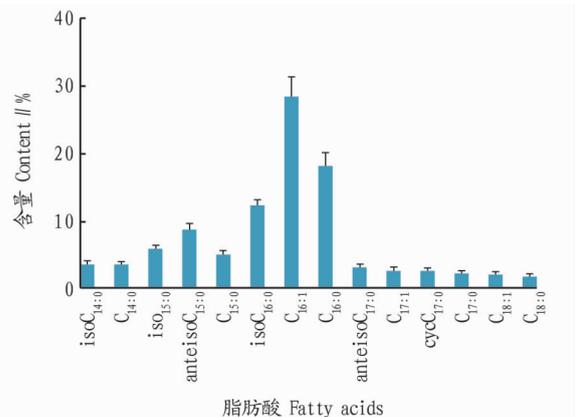


图 4 C9 菌株的脂肪酸组成含量

Fig.4 Fatty acid composition of C9 strain

2.5 C9 菌株的 3-酮脂酰 ACP 合成酶 III 的同源性分析 脂肪酸合成是细菌的基础代谢, 脂肪酸合成相关的基因簇往往具有一定的保守性。3-酮脂酰 ACP 合成酶 III (FabH) 催化脂肪酸合成的起始反应, 其编码基因是细菌生长的必需基因^[21]。为进一步研究 C9 菌株的种属归类, 以表 1 中的 *fabH up* 和 *fabH down* 引物, 以 C9 菌株的总 DNA 为模板, 扩增获得该菌株的 *fabH* 基因。测序结果显示, C9 菌株的 *fabH* 基因与马铃薯疮痂病链霉菌 (*Streptomyces scabiei*) 的 *fabH* 基因序列一致性为 98.8%, 其编码蛋白的氨基酸序列一致性达 99.7%。这再次证明该研究分离获得的 C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌。

3 结论与讨论

该研究对从土壤中分离到的一株链霉菌 C9 菌株进行了分析。首先分析了该菌株的 16S rDNA 序列, 结果显示 C9 菌株与马铃薯疮痂病链霉菌 (*Streptomyces scabiei*) 的 16S rDNA 序列高度同源, 结合菌落形态特征, 初步确定该菌株为马铃薯疮痂病链霉菌。但进一步生理生化分析显示 C9 菌株与文献报道的马铃薯疮痂病链霉菌多种菌株都不完全一致^[13-14], 提示该菌株可能是一个新菌株。采用盆栽法检测 C9 菌株对马铃薯的致病性, 结果显示该菌株没有致病性, 致病性相关的 PAI 基因检测结果也显示阴性, 进一步说明该菌株不同于文献报道的马铃薯疮痂病的致病菌株。

由于脂肪酸组成可以作为微生物分类鉴定的重要指标, 测定了 C9 菌株的脂肪酸组成。结果显示, 与报道的链霉菌相比, 该菌株的支链脂肪酸相对较低, 不饱和脂肪酸含量相对较高, 其特点符合 Kinkel 等^[20]报道的马铃薯疮痂病非致病菌。该结果与盆栽致病性检测结果相吻合, 也表明 C9 菌株为一个非致病性菌株。基于细菌脂肪酸合成途径的保守性, 进一步扩展了 C9 菌株的脂肪酸合成关键基因——3-酮脂酰 ACP 合成酶 III (FabH), 结果显示该基因序列与马铃薯疮痂病链霉菌 (*Streptomyces scabiei*) 的 *fabH* 序列具有高度一

致性,而两者编码的氨基酸序列也几乎一致,再次证明 C9 菌株为马铃薯疮痂病链霉菌,但该菌株没有致病性,为非致病性变种。该研究发现的 C9 菌株可作为研究材料,用于马铃薯疮痂病链霉菌的基础代谢研究,同时还可通过比较致病株和非致病株的基因组信息研究,探索马铃薯疮痂病链霉菌致病的分子机制。

参考文献

- [1] 黄凤玲,张琳,李先德,等.中国马铃薯产业发展现状与对策[J].农业展望,2017,13(1):25-31.
- [2] 赵伟全,杨文香,李亚宁,等.中国马铃薯疮痂病菌的鉴定[J].中国农业科学,2006,39(2):313-318.
- [3] 张萌,刘伯,于秀梅,等.中国马铃薯疮痂病菌生物学特性分析[J].中国农业科学,2010,43(12):2603-2610.
- [4] 信净净,于秀梅,赵伟全,等.马铃薯疮痂病新致病种 *Streptomyces galilaeus* 致病毒素组分分析[J].中国农业科学,2010,43(18):3742-3749.
- [5] 张萌,赵伟全,于秀梅,等.中国马铃薯疮痂病原菌 16S rDNA 的遗传多样性分析[J].中国农业科学,2009,42(2):499-504.
- [6] 杨梦平,王瑞仙,杜魏甫,等.云南省马铃薯疮痂病致病链霉菌种类组成研究[J].植物病理学报,2018,48(4):445-454.
- [7] 邢莹莹,吕典秋,魏琪,等.黑龙江省部分地区马铃薯疮痂病菌种类及致病性鉴定[J].植物保护,2016,42(1):26-32,50.
- [8] 张海颖,郭凤柳,许华民,等.河北省张北地区马铃薯疮痂病的病菌鉴定[J].江苏农业科学,2014,42(10):131-134.
- [9] 中国科学院微生物所放线菌分类组.链霉菌鉴定手册[M].北京:科学出版社,1978.

- [10] 阮继生,黄英.中国科学院微生物所放线菌分类组编.放线菌快速鉴定与系统分类[M].北京:科学出版社,2011.
- [11] YU Y H, HU Z, DONG H J, et al. *Xanthomonas campestris* FabH is required for branched-chain fatty acid and DSF-family quorum sensing signal biosynthesis[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:1-15.
- [12] ZHU L, BI H K, MA J C, et al. The two functional enoyl-acyl carrier protein reductases of *Enterococcus faecalis* do not mediate triclosan resistance[J]. *mBio*, 2013, 4(5):1-10.
- [13] 张建平,刘佳,哈斯,等.马铃薯疮痂病菌(*Streptomyces* spp.)的鉴定[J].中国马铃薯,2018,32(5):308-314.
- [14] 王丹,姚晓东,李新风,等.山西晋城马铃薯疮痂病原菌鉴定[J].山西农业大学学报(自然科学版),2015,35(5):495-498.
- [15] 聂峰杰,陈虞超,巩楠,等.马铃薯疮痂病致病链霉菌分类及其致病机理研究进展[J].分子植物育种,2018,16(4):1313-1319.
- [16] 李爽,杨美军,张云,等.马铃薯疮痂病研究进展[J].中国马铃薯,2018,32(4):240-248.
- [17] 赵伟全,刘大群,杨文香,等.马铃薯疮痂病菌致病相关基因的克隆及表达[J].植物病理学报,2007,37(4):442-445.
- [18] 余永红,马建荣,王海洪.细菌脂肪酸合成多样性的研究进展[J].微生物学杂志,2016,36(4):76-83.
- [19] 刘国红,刘波,唐建阳,等.脂肪酸提取方法对芽孢杆菌种类脂肪酸测定结果的影响[J].福建农业学报,2015,30(1):60-64.
- [20] KINKEL L L, BOWERS J H, SHIMIZU K, et al. Quantitative relationships among thaxtomin A production, potato scab severity, and fatty acid composition in *Streptomyces*[J]. *Canadian journal of microbiology*, 1998, 44(8):768-776.
- [21] 余永红,马建荣,苗馨予,等.不同细菌来源的 3-酮脂酰 ACP 合成酶 III 生物学特性分析[J].生物化学与生物物理进展,2016(10):1004-1012.

(上接第 127 页)

次丰富,变化与识别性较高。校园中常绿植物相对较少,常绿与落叶植物比例近 1:5,在北方漫长的冬季没有形成更为丰富的绿化效果与防护作用,建议适当增补常绿植物,使其数量尽量达到 30%^[10]。同时,校园内起伏的地形与建筑落差形成多处挡墙与坡地,为垂直绿化提供了丰富的舞台,现状中虽已覆盖藤本植物,但多为五叶地锦和三叶地锦,突出种类构成单一、空间类似的问题,建议进一步增补藤本与变叶植物,营造时移景异的天时空间。除此之外,校园内庭荫赏植物较多,夏可蔽日,冬不遮阳,又可近赏,满足了校园内不同使用人群的多种行为需求,形成了校园中以半开敞与覆盖空间为主的植物景观格局。

校园植物景观满意度方面总体认知情况较好。校园植物观赏性、植物景观文化性、植物景观体验与情感效应、植物景观生态性、植物景观更新与养护 5 个维度中,植物景观体验与情感效应(3.83)和校园植物观赏性(3.79)满意程度较高,同时也是权重较高的维度,是当下大众对于校园植物景观关注的焦点,是进一步提高和完善校园植物景观的观赏特性、充分调动人的参与性,促进人与校园环境互动当是提高校园植物景观满意度的重要举措。同时,植物景观文化性、植物景观生态性、植物景观更新与养护满意程度均较低,已

成为制约校园公众感受的关键因素,需要完善和调整。特别是植物景观文化性,权重高但满意度低,是校园品质打造和提升的迫切需求,急需优化提升。此外,结合校园毗邻机场与采石场噪音严重,寻求多途径的植物减噪措施也是校园植物改造方向。

参考文献

- [1] DOBER R P. Campus landscape[M]. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2000.
- [2] GAINES T A. The campus as a work of art[M]. New York: Praeger Publishers, 1991.
- [3] MATSUOKA R H. Student performance and high school landscapes: Examining the links[J]. *Landscape and urban planning*, 2010, 97:273-282.
- [4] 熊瑶,金梦玲.南京林业大学校园不同类型绿地冬季微气候效应分析[J].西北林学院学报,2018,33(1):281-288.
- [5] 朱云辰,毛一平.基于层次分析法的浙江大学紫金港东区植物景观评价[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2013,39(4):452-459.
- [6] 张明庆,杨小静.大学校园植物的季相特征与植物景观:以首都师范大学校本部教学区为例[J].首都师范大学学报(自然科学版),2013,34(4):49-53.
- [7] 吕佳丽,黄滢.高校图书馆家具的人性化设计:以南京林业大学新图书馆为例[J].家具与室内装饰,2018(10):100-101.
- [8] 于冰沁,谢长坤,杨硕冰,等.上海城市社区公园居民游憩感知满意度与重要性的对应分析[J].中国园林,2014,30(9):75-78.
- [9] 武松,潘发明.SPSS 统计分析大全[M].北京:清华大学出版社,2014.
- [10] 孙庆立,苏元勋.城市园林树木的生态规划[J].河南林业,2000(4):27-28.