

云南原始地方种四路糯基因组中的 MITE 类转座子“124”

武晓阳^{1,2}, 杨亚洲³, 隆文杰², 陈丹², 周国雁², 杜娟², 伍少云², 蔡青^{2*}, 黄兴奇^{1,2}

(1. 云南大学生命科学学院, 云南昆明 650091; 2. 云南省农业科学院生物技术与种质资源研究所, 云南昆明 650223; 3. 中国种子集团有限公司生命科学技术中心, 湖北武汉 430206)

摘要 [目的]研究四路糯与普通玉米之间的亲缘关系。[方法]比较四路糯与 B73 基因组中“124”转座子的构成差异。[结果]在 B73 基因组中鉴定出 13 个“124”转座子序列和其插入位点信息;通过重测序得到约 120 Gb 的四路糯基因组序列,并从中鉴定出 17 个“124”转座子序列和其插入位点信息;在二者基因组中存在 3 个共同的“124”插入位点,这些位点展示出“124”转座子在序列和插入位点一致;B73 基因组和四路糯基因组中均存在与 *waxy* 基因中“124”一致的转座子序列;建立的系统进化树可将“124”转座子归为 4 种类型,其中并没有单一基因组来源的类型。[结论]四路糯与 B73 基因组的差异是玉米种内的差异。

关键词 糯玉米地方品种;四路糯;重测序;“124”转座子;起源演化

中图分类号 S513 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)13-0093-05

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.13.025

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

**The MITE Transposon “124” in the Genome of Yunnan Original Landrace Four-Row Wax**WU Xiao-yang^{1,2}, YANG Ya-zhou³, LONG Wen-jie² et al (1. School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091; 2. Biotechnology and Germplasm Resources Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650223; 3. Life Science and Technology Center, China Seed Group Co., Ltd., Wuhan, Hubei 430206)

Abstract [Objective] To study the genetic relationship between Four-Row Wax and common maize. [Method] The differences in the composition of “124” transposon in the genomes of Four-Row Wax and B73 was compared. [Result] The results showed that 13 “124” transposon sequences and their insertion sites were obtained in B73 genome; about 120 GB Four-Row Wax genome sequence was obtained by resequencing, from which 17 “124” transposon sequences and their insertion sites were identified; there were three common sites in the two genomes, which showed the sequence and insertion sites consistency; there are “124” transposons in B73 and Four-Row Wax genomes, which are consistent with “124” in *waxy* gene; the phylogenetic tree established can classify “124” transposons into four types, among which there is no type from a single genome. [Conclusion] The results showed that the genomic differences between Four-Row Wax and B73 are intraspecific.

Key words Waxy Maize Landraces; Four-Row Wax; Resequencing; “124” transposon; Origin and evolution

糯玉米 (*Zea mays* L. var. *certaina* Kulesh) 是一类主要的鲜食玉米。糯玉米籽粒胚乳中的淀粉全部为支链淀粉,使得籽粒具有糯性口感。糯性受隐性的 *waxy* 单基因控制。普通玉米 *waxy* 基因能正常表达 GBSSI (Granule-Bound Starch Synthase I) 蛋白,用于直链淀粉的合成。*waxy* 的突变造成 GBSS I 蛋白失去活性,直链淀粉的合成受阻,使玉米籽粒中的淀粉几乎全为支链淀粉,产生出籽粒的糯性^[1-2]。玉米 *waxy* 基因位于第 9 号染色体上,全长约 4.5 kb,包含有 14 个外显子^[3]。

糯玉米起源于我国,我国拥有丰富的糯玉米地方品种,大量的 *waxy* 等位变异也存在其中,主要 *waxy* 等位基因类型包括 *wx-D7*、*wx-D10*、*wx-Cin4*、*wx-124*、*wx-Reina*、*wx-xuanwei*、*wx-PIF/Harbinger*、*wx-hAT* 和 *wx-Elote2* 等类型。*wx-D7*、*wx-D10* 是序列缺失造成的突变^[4-6];*wx-Cin4*、*wx-124*、*wx-Reina*、*wx-xuanwei*、*wx-PIF/Harbinger*、*wx-hAT* 和 *wx-Elote2* 是玉米基因组中转座子活动造成的突变^[7-10]。其中 *wx-124* 是由 MITE 类转座子“124”插入 *waxy* 基因的第六外显子造成的突变^[7]。

转座子插入是造成 *waxy* 基因突变的主要原因之一^[11]。转座子是基因组中一段可移动的 DNA 序列,可以通过切割、重新整合等一系列过程从基因组的一个位置“跳跃”到另一个位置。根据转座子在基因组内跳跃媒介的不同,可以将转座子分为 DNA 转座子和 RNA 转座子, RNA 转座子又叫反转录转座子^[12]。RNA 转座子通过“复制—粘贴”的方式转座, DNA 转座子通过“剪切—粘贴”的方式转座。微型反向重复转座元件 (miniature inverted-repeat transposable element, MITE) 是一类主要的 DNA 转座子^[13], MITE 转座子通常具有靶位点重复 (target site duplications, TSDs) 和末端反向重复 (Terminal Inverted Repeats, TIRs) 的序列结构,根据这些特征其进一步可以划分成 *Tc1/Mariner*、*Mutator*、*hAT*、*CACTA*、*PIF/Harbinger*、*P* 和 *Novosib* 等家族类型^[14]。“124”是在 *waxy* 基因突变研究中,鉴定出的一个新的 MITE 类转座子家族^[7]。

云南及其周边地区是我国少数民族的聚集地,自古以来就有食用糯性食物的习惯。很多特殊类型的糯性玉米就是在这—地区发现^[15]。“四路糯”就是其中之一,最早在云南勐海的傣族居民区发现,其果穗具有四路籽粒,形态具有许多玉米原始特征,即分蘖多、果穗多、穗行数少等,并具有独特的口感^[16-17]。“勐海四路”玉米已经用于许多科学研究中。通过对 *waxy* 基因的鉴定,发现勐海四路是 *wx-D10* 类型的突变^[4-5];通过“四路糯”玉米穗行数 QTL 的定位,鉴定出多个控制穗行数的主效 QTL 位点^[18-20];“勐海四路”基因组重测序的完成,为“四路糯”的研究提供了基础数据^[21]。由

基金项目 国家自然科学基金项目 (32060459); 云南省博士后定向培养资助 (云人社通 [2018] 168 号); 科技部财政部国家科技资源共享服务平台项目国家作物种质资源库课题“云南作物资源收集保存与共享利用” (NCGRC-2020-030); 生物资源数字化开发应用 (202002AA100007)。

作者简介 武晓阳 (1982—), 男, 河北邢台人, 助理研究员, 博士, 从事作物种质资源保护和利用研究。* 通信作者, 研究员, 博士, 从事作物种质资源研究。

收稿日期 2021-09-30; **修回日期** 2021-10-26

由此可见,“四路糯”已成为玉米遗传育种及相关基础学科的特异研究材料,收集保护好这一珍贵的我国古老地方品种具有重要意义。云南省农业科学院作物种质资源库经过多年的考察收集,保存了云南不同地区的四路糯玉米资源^[22]。笔者对来自中缅边境地区的四路糯进行了基因组的重测序,通过与普通玉米 B73 基因组中“124”转座子进行比较,探讨了四路糯与普通玉米之间的亲缘关系。

1 材料与方 法

1.1 植物材料 以糯玉米地方品种四路糯为研究材料,用于其基因组的重测序。试验材料由云南省农业科学院种质资源库收集保存。

1.2 基因组重测序 对四路糯中随机选取的 3 个单株分别进行了基因组的重测序。样品 DNA 提取参考文献[23],检验合格的 DNA 样品通过 Covaris 破碎机随机打断成长度为 350 bp 的片段。采用 TruSeq Library Construction Kit 试剂盒进行建库。文库构建完成后,先使用 Qubit 2.0 进行初步定量,稀释文库至 1 ng/ μ L,随后使用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测,insert size 符合预期后,使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量,使文库有效浓度大于 2 nmol/L,以保证文库质量。库检合格,根据文库的有效浓度及数据产出需求进行 illumina HiSeq 双向测序。获得原始测序序列(sequenced reads)后,进行接头序列及 polyN,polyA 等序列的过滤,将过滤后的 valid reads 测序数据用于进一步分析。

1.3 “124”在 B73 基因组中的鉴定 使用玉米自交系 B73 的基因组序列(<http://ftp.maizesequence.org/current/assembly/>),建立本地 Blast 数据库^[24]。使用 *wx-124* 中的“124”序列比对 B73 基因组,采用 Blastn^[25]程度确定“124”的插入位点,提取插入位点上下游 150 bp 的序列,用于分析“124”的结构。

1.4 “124”在四路糯基因组中的鉴定 根据“124”的结构特征编写 Perl 代码(图 1),提取测序结果中具有“124”结构的 Read 序列;使用获得的 Read 序列建立本地 Blast 数据库;利用 Blastn^[25]程序进一步确定含有“124”转座子的 Read 序列;利用这些 Read 序列分析其中的“124”结构;根据“124”序列插入位点信息和剔除其中的重复。

1.5 序列分析 使用 RNAstructure 6.2 软件预测转座子“124”的二级结构^[26];使用软件 CLUSTAL W 和 Genedoc 进行序列比对^[27-28];使用 MEGA 5^[29]软件构建最大似然树(Maximum Likelihood Tree)。植物 MITE 数据库(Plant MITE Database,<http://pmite.hzau.edu.cn/>)用于“124”转座子家族的划分^[14]。

2 结果与分析

2.1 B73 基因组中“124” “124”家族的转座子最早在 *waxy* 基因中鉴定出。通过与数据库中已知的 MITE 比对,未发现相似转座子,由此可知“124”为新鉴定出的转座子家族。该研究使用这一序列与 B73 基因组进行比对,进一步鉴定出 13 个“124”家族转座子的插入位点,利用转座子上下游 150 bp 的序列进一步分析出每个转座子的结构,将这些序列命名为 B73-124-1~ B73-124-13(表 1)。“124”在玉米基因组中是一类低拷贝数的转座子家族。典型的“124”转座子全长 116 bp;具有 9 bp 靶位点的重复序列(TSDs),但这一结构的序列并不保守;具有保守的 3 bp 末端反向互补重复序列(TIRs)5'-GGA-3'和 5'-TCC-3';转座子序列内部存在多处 5'-GGA-3'和 5'-TCC-3'序列,存在进一步截短的趋势,最短的“124”序列仅 73 bp;“124”转座子可形成明显的二级结构(图 2)，“124”家族成员的序列存在一定的相似性,但相似程度不高。值得注意的是,*wx-124* 中的“124”序列与 B73-124-1 的序列完全一致,但二者的靶位点 TSDs 结构并不相同。

表 1 B73 基因组中的“124”转座子

Table 1 The “124” transposon in B73 genome

名称 Name	基因组位点 Locus	5'-TSD 序列 5'-TSDs	TUR 序列 TIRs	3'-TSD 序列 3'-TSDs	片段大小 Size/bp	GGA 和 TCC 的数目 Number of GGA and TCC
<i>waxy-124</i>	<i>waxy gene</i>	CTCGTGCTA	GGA—TCC	CTCGTGCTA	116	8
B73-124-1	Chr5 174121929-174122062	GAAATCGTT	GGA—TCC	GAAATCGTT	116	8
B73-124-2	Chr4 202719053-202719186	CAGCAGCAG	GGA—TCC	CAGCAGCAG	116	8
B73-124-3	Chr3 180299728-180299861	CTCATGCAT	GGA—TCC	CTCATGCAT	116	7
B73-124-4	Chr6 31893618-31893751	GTCCGTTAC	AGA—TCC	GTCCGTTAC	116	8
B73-124-5	Chr7 46003723-46003856	GTTTGTAAC	GGA—TCC	GTTTGTAAC	116	8
B73-124-6	Chr9 120620117-120619984	AGGCATGAG	GGA—TCC	AGGCATGAG	116	7
B73-124-7	Chr9 110652413-110652281	CTATATTT	GGA—TCC	CTATATTT	117	10
B73-124-8	Chr9 134802757-134802631	ATATT	GGA—TCC	ATATT	117	7
B73-124-9	Chr4 13932059-13932192	TCTCAGGTG	GGA—TCC	TCTCAGGTA	116	9
B73-124-10	Chr10 123555847-123555712	GGGCCCCTC	GGA—TCC	GGGCCCCTC	116	8
B73-124-11	Chr3 115390046-115389913	CATACCGTC	GGA—TCC	CATACCGTC	116	7
B73-124-12	Chr8 157192227-157192317	GTCCGTGAC	GGA—TCC	GTCCGTGAC	73	9
B73-124-13	Chr3 194279785-194279660	GATTTTGCG	GGA—TCC	GATTTTGCG	108	8

2.2 四路糯基因组中“124” 该研究对四路糯进行了基因组的重测序,序列信息见表 2。数据总量 121.98 Gb。每个“124”的插入位点包括转座子序列长度为 116 bp,TSDs 长度为 18 bp,小于重测序的 Read 序列长度为 150 bp,因此可以

根据“124”的结构从测序结果中直接提取包含“124”的 Read。该研究利用 Perl 代码中的正则表达式描述“124”的结构,5~10 bp 的 TSD,加 5'-GGA-3'序列,加 70~120 bp 的序列,加 5'-TCC-3',加 TSD 重复(图 1),共计得到了 1 101 959

个含有类似“124”结构的 Read 序列,进一步将所得到的 Read 建立本地 Blast 数据库,通过鉴定得到 60 个含有“124”转座子的 Read, -evalue 值设置为 1e-010;剔除重复后共计

得到 17 个“124”序列,并分析出其 TSDs 结构。这 17 个“124”序列分别命名为 *FRW-124-1*~*FRW-124-17*(图 3)。

```

1 $/ = "@";
2 $i=1;
3 while(<>){
4
5     chomp;
6
7     my ($titleline, $sequence, $quality) = split(/\n/, $_, 3);
8
9     $sequence =~ s/\s//g;
10
11    next unless ($sequence && $titleline && $quality);
12
13    while($sequence =~ m/([ATCG]{5,10})GGA[ATCG]{70,120}TCC\1/){
14
15        print(">",$titleline,"\n",$sequence,"\n");
16
17        $i=$i+1;
18
19        last;
20    }
21
22 }
23

```

图 1 从测序结果中提取“124”结构 Read 的 Perl 代码

Fig. 1 The Perl code of extracting “124” structure Read from the sequencing results

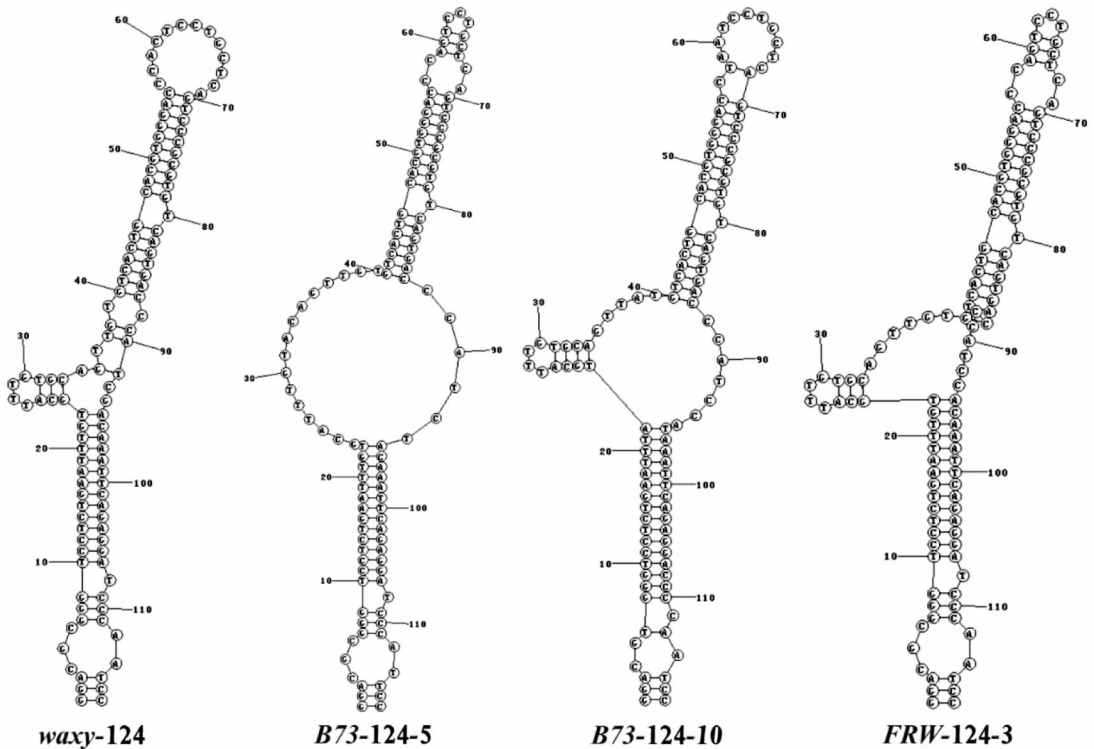


图 2 部分“124”转座子展现出的二级结构

Fig. 2 The secondary structure of some “124” transposons

2.3 四路糯与 B73 基因组间“124”插入的比较 四路糯基因组中的“124”较 B73 基因组中的分布数目稍多;通过序列比对发现,“124”转座子成员间序列具有相似性,但序列间并不具有一致性(图 3);通过构建“124”的系统进化树,可以将

“124”转座子大体分为 4 类不存在独立基因组来源的类型;*waxy* 基因中的“124”可在二者基因组中找到完全一致的序列,归为第一类“124”转座子,但插入位点存在差异;二者基因组中存在 3 个完全一致的插入位点,图 4 中箭头所示分布

在II、III、IV类型转座子中,展现出一致的“124”序列和一致的 TSDs 序列。

表 2 四路糯基因组重测序的序列信息

Table 2 Information of myanmar four-row wax genome resequencing

材料编号 Sample_ID	原始 Read 数 Raw_Reads//条	原始数据量 Raw_Bases//Gb	过滤后 Read 数 Valid_Reads//条	过滤后数据量 Valid_Bases//Gb	过滤比例 Valid//%	Q20 比例 Q20//%	Q30 比例 Q30//%	GC 含量 GC//%
1	338 062 086	50.71	294 313 158	42.74	84.29	93.49	87.95	47.26
2	333 396 036	50.01	291 856 960	42.23	84.44	93.71	88.26	47.59
3	302 471 692	45.37	256 250 068	37.01	81.58	92.65	86.76	46.85

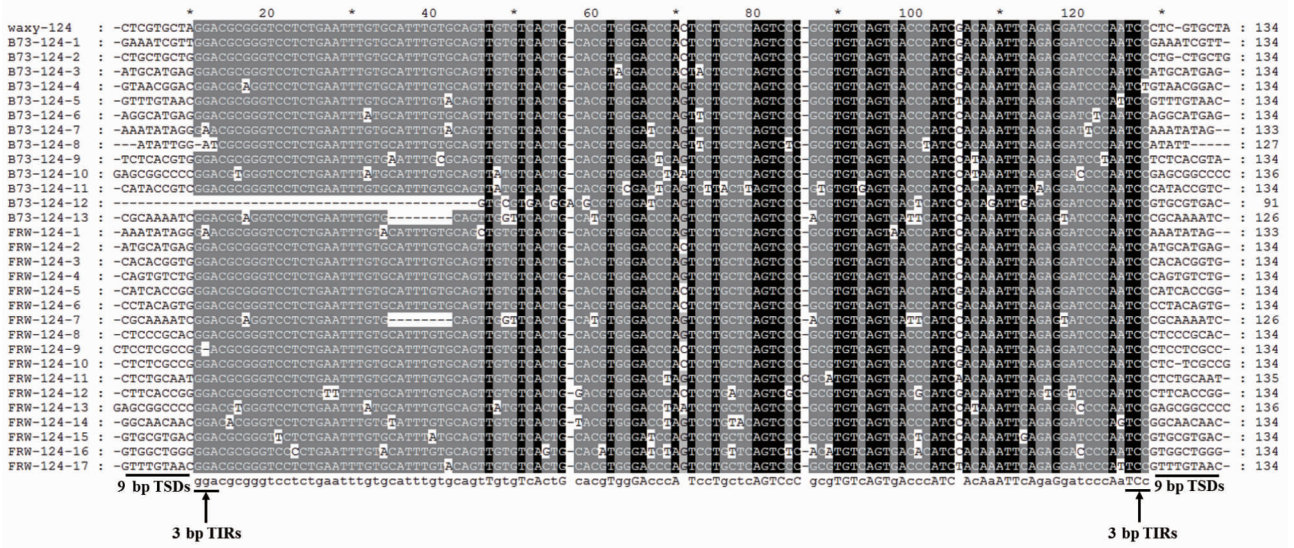


图 3 “124”转座子间的序列比对

Fig. 3 Sequence alignment of “124” transposons

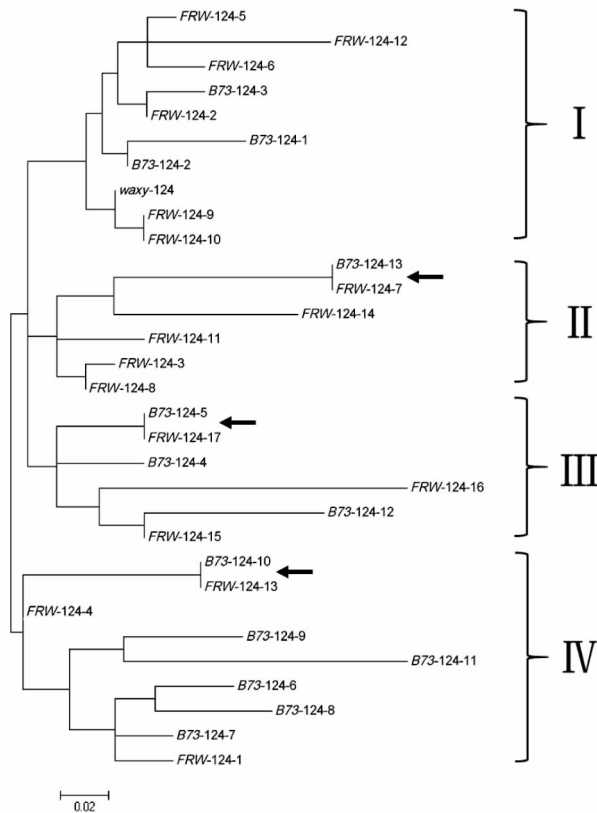


图 4 利用“124”转座子序列构建的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed by transposon “124”

3 讨论

糯玉米的中国起源目前已经受到了比较广泛的认可。然而,对于 *waxy* 的起源存在不同的观点,一种观点认为玉米起源于美洲^[30],引入我国后经过单基因突变而产生不同类型的 *waxy* 基因;另一种观点认为 *waxy* 基因是由本土玉米近缘物种形成,在玉米中国本土化过程中传播到引进的玉米中,形成了不同类型的糯玉米地方品种。第二种观点的依据是四路糯可能是我国本土物种,可能是 *waxy* 基因的主要来源^[16]。究其原因在于四路糯本身存在大量玉米的原始特征,并且在云南以外地区并未发现其分布,目前已知“四路糯”的 *waxy* 基因类型是 *wx-D10*^[4-5],也是我国糯玉米地方品种中广泛分布的等位基因类型。然而,目前尚缺乏明显的证据说明四路糯的起源。因此,四路糯基因组与普通玉米间的比较,对四路糯的起源与演化的研究具有重要意义。*wx-124* 是在我国糯玉米地方品种中鉴定出的一类 *waxy* 等位基因^[7]。该研究探索使用“124”转座子的分布差异,研究四路糯基因组与普通玉米基因组间的分化,从“124”转座子的构成来看,更倾向与四路糯与 B73 的基因组差异是玉米种内的差异。*waxy* 基因中插入的“124”序列在普通玉米 B73 和四路糯中均发现了与其一致的序列,由此推断 *wx-124* 的形成于四路糯无必然的关系。这一结果倾向于玉米在引入我国后 *waxy* 基因的突变产生了糯质性 *waxy* 基因的观点。

参考文献

- [1] DEMEREC M. A case of pollen dimorphism in maize[J]. American journal of botany, 1924, 11(7): 461-464.
- [2] WEATHERWAX P. A rare carbohydrate in waxy maize [J]. Genetics, 1922, 7(6): 568-572.
- [3] KLÖSGEN R B, GIERL A, SCHWARZ-SOMMER Z, et al. Molecular analysis of the waxy locus of *Zea mays* [J]. Molecular and general genetics, 1986, 203(2): 237-244.
- [4] FAN L J, BAO J D, WANG Y, et al. Post-domestication selection in the maize starch pathway[J]. PLoS One, 2009, 4(10): 1-9.
- [5] FAN L J, QUAN L Y, LENG X D, et al. Molecular evidence for post-domestication selection in the Waxy gene of Chinese waxy maize[J]. Molecular breeding, 2008, 22(3): 329-338.
- [6] 田孟良, 黄玉碧, 谭功燮, 等. 西南糯玉米地方品种 waxy 基因序列多态性分析[J]. 作物学报, 2008, 34(5): 729-736.
- [7] WU X Y, CHEN D, LU Y Q, et al. Molecular characteristics of two new waxy mutations in China waxy maize[J]. Molecular breeding, 2017, 37(3): 1-7.
- [8] WU X Y, WU S Y, LONG W J, et al. New Waxy allele wx-Reina found in Chinese waxy maize [J]. Genetic resources and crop evolution, 2019, 66(4): 885-895.
- [9] 武晓阳, 隆文杰, 陈丹, 等. 云南糯玉米地方品种糯性位点基因 wx-xuanwei 的分子特征[J]. 江西农业学报, 2020, 32(3): 35-41.
- [10] WU X Y, LONG W J, CHEN D, et al. Waxy allele diversity in waxy maize landraces of Yunnan Province, China [J]. Journal of integrative agriculture, 2022, 21(2): 578-585.
- [11] HUANG B Q, TIAN M L, ZHANG J J, et al. waxy locus and its mutant types in maize *Zea mays* L [J]. Agricultural sciences in China, 2010, 9(1): 1-10.
- [12] WICKER T, SABOT F, HUA-VAN A, et al. A unified classification system for eukaryotic transposable elements [J]. Nature reviews genetics, 2007, 8(12): 973-982.
- [13] FESCHOTTE C, JIANG N, WESSLER S R. Plant transposable elements: Where genetics meets genomics [J]. Nature reviews genetics, 2002, 3(5): 329-341.
- [14] CHEN J J, HU Q, ZHANG Y, et al. P-MITE: A database for plant miniature inverted-repeat transposable elements [J]. Nucleic acids research, 2013, 42: D1176-D1181.
- [15] 雷涌涛, 隆文杰, 周国雁, 等. 云南糯玉米种质资源的研究与利用 [J]. 河南农业科学, 2016, 45(1): 1-7.
- [16] 曾孟潜, 杨太兴, 王璞. 黔海四路糯玉米品种的亲缘分析 [J]. 遗传学报, 1981, 8(1): 91-96.
- [17] 李智海, 祖文龙, 魏明, 等. 西双版纳特色鲜食小糯玉米育种策略 [J]. 农业科技通讯, 2019(5): 13-15.
- [18] YANG C, TANG D G, ZHANG L, et al. Identification of QTL for ear row number and two-ranked versus many-ranked ear in maize across four environments [J]. Euphytica, 2015, 206(1): 33-47.
- [19] 焦付超, 李永祥, 陈林, 等. 特异玉米种质四路糯的穗行数遗传解析 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(7): 1256-1264.
- [20] 白娜, 李永祥, 焦付超, 等. 玉米穗行数主效位点 *qKRN5.04* 精细定位与遗传效应解析 [J]. 作物学报, 2017, 43(1): 63-71.
- [21] LIU H M, WANG X W, WEI B, et al. Characterization of genome-wide variation in Four-row Waxy, a waxy maize landrace with a reduced kernel row phenotype [J]. Frontiers in plant science, 2016, 7: 1-12.
- [22] 武晓阳, 隆文杰, 陈丹, 等. 云南不同来源四路糯玉米 waxy 和 *tb1* 基因分析 [J]. 安徽农业科学, 2020, 48(6): 25-29.
- [23] DOYLE J J, DOYLE J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 1990, 12(1): 13-15.
- [24] SCHNABLE P S, WARE D, FULTON R S, et al. The B73 maize genome: Complexity, diversity, and dynamics [J]. Science, 2009, 326(5956): 1112-1115.
- [25] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHÄFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. Nucleic acids research, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [26] REUTER J S, MATHEWS D K. RNAstructure: Software for RNA secondary structure prediction and analysis [J]. BMC bioinformatics 2010, 11: 1-9.
- [27] THOMPSON J D, HIGGINS D G, GIBSON T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice [J]. Nucleic acids research, 1994, 22: 4673-4680.
- [28] NICHOLAS K B. GeneDoc: Analysis and visualization of genetic variation [R]. Embnew News, 1997-04-14.
- [29] TAMURA K, PETERSON D, PETERSON N, et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular biology and evolution, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [30] 曹玲. 明清美洲粮食作物传入中国研究综述 [J]. 古今农业, 2004(2): 95-103.

(上接第 51 页)

识别、采摘比赛, 不定期推出野生蔬菜烹饪、品尝活动, 逐步形成凉都野生蔬菜特色游。

4 结论

六盘水拥有丰富的野生蔬菜资源, 为人们提供了饮食类别选择的多样性。但在开发利用、资源研究、食用安全、产业发展等方面还需要进一步研究。加强野生蔬菜的基础性研究与技术设备的升级, 才能为六盘水野生蔬菜的产业化发展提供更加有利的保障。

参考文献

- [1] 杨爱民, 宋荣晶, 肖渊. 六枝野生蔬菜资源利用调查与分析 [J]. 农家参谋, 2018(13): 43.
- [2] 吴康云, 陶莲, 崔德祥, 等. 贵州野生蔬菜可持续开发与利用的思考 [J]. 贵州农业科学, 2005, 33(S1): 101-102.
- [3] 杨静, 邓英, 吴康云, 等. 贵州特色野生蔬菜开发利用价值 [J]. 农技师

(上接第 76 页)

- [4] 尹海伟, 徐建刚, 陈昌勇, 等. 基于 GIS 的吴江东部地区生态敏感性分析 [J]. 地理科学, 2006, 26(1): 64-69.
- [5] 曹建军, 刘永娟. GIS 支持下上海城市生态敏感性分析 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(7): 1805-1812.
- [6] 付娟, 薛龙义. 翼城县生态功能区划研究 [J]. 山西师范大学学报(自然科学版), 2013, 27(1): 120-125.

务, 2016, 33(16): 133, 127.

- [4] 周江菊. 凯里地区野菜资源的开发利用 [J]. 黔东南民族师范高等专科学校学报, 2002, 20(6): 42-43.
- [5] 李元亭, 赵京岚. 栽培蔬菜与野菜营养物质含量的比较研究 [J]. 北方园艺, 2011(2): 30-32.
- [6] 姚玉霞, 李泽鸿. 几种山野菜营养成分分析 [J]. 中国食品学报, 2003, 3(4): 86-88.
- [7] 孙晓慧, 廖莉玲. 黔产 8 种野菜主要营养成分比较分析 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(2): 751-752, 755.
- [8] 蹇黎. 野菜与栽培蔬菜维生素 C 和蛋白质含量的比较分析 [J]. 种子, 2007, 26(3): 61-63.
- [9] 蹇黎, 朱利泉. 贵州几种常见野菜营养成分分析 [J]. 北方园艺, 2008(9): 45-47.
- [10] 崔彩娟, 梁斌, 岳洁莹, 等. 1 例重症灰菜日光性皮炎伴疼痛性晕厥患者的护理干预 [J]. 空军医学杂志, 2018, 34(6): 442-443.
- [11] 郑宝智, 李红梅, 车寒梅, 等. 我国野生蔬菜产业发展前景展望 [J]. 现代农村科技, 2018(10): 93-94.
- [12] 奚燕. 吃野菜应“浅尝辄止” [J]. 中医健康养生, 2021, 7(4): 20-22.
- [13] 雷蕾, 张谊模, 杨琦凤, 等. 重庆、四川、贵州野生蔬菜资源考察收集 [J]. 西南农业学报, 2008, 21(4): 1054-1058.

- [7] 萧满红, 黄曼, 刘兴诏. 基于生态敏感性的乡村景观分析: 以福州市连江县文新村为例 [J]. 南方园艺, 2020, 31(3): 71-77.
- [8] 李进, 万军伟, 黄琨, 等. 福建省长汀县地质灾害的形成条件与防治对策 [J]. 水土保持研究, 2012, 19(1): 192-196, 201.
- [9] 赵萌萌. 基于 GIS 的区域生态敏感性综合评价实例分析 [D]. 开封: 河南大学, 2017.
- [10] 王婷雅. 马克思主义自然观视域下我国生态文明建设研究 [D]. 南充: 西华师范大学, 2020.