

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2017.05.006

基于质谱的差异蛋白质组学技术在植物 逆境胁迫研究中的应用

唐颖^{1,2},高步红¹,杨世龙^{1,2}

(1.南京林业大学现代分析测试中心,江苏南京 210037;

2.南京林业大学南方现代林业协同创新中心,江苏南京 210037)

摘要:随着质谱技术的发展,蛋白质组学在林业学科中得到了极大的发展,差异蛋白质组学已经成为目前林业学科的研究热点之一。通过对国内外植物蛋白质组学在林业学科逆境胁迫中的相关应用文献的整理总结,对蛋白质组学在干旱胁迫、盐胁迫和生物胁迫等方面研究的系统综述,总结植物蛋白质组学在林业学科逆境胁迫中应用的研究现状和研究进展,并对蛋白质组学在林业学科中的应用作出展望。

关键词:蛋白质组学;液质联用;逆境胁迫

中图分类号:Q946.1

文献标识码:A

文章编号:1003-5508(2017)05-0028-05

Application of Differential Proteomics Based on Mass Spectrometry in the Study of Plant Stress

TANG Ying^{1,2} GAO Bu-hong¹ YANG Shi-long^{1,2}

(1. Advanced Analysis and Testing Center, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;

2. Co-Innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University,
Nanjing 210037, China)

Abstract: With the development of mass spectrometry, plant proteomics had become one of the highlights techniques in agro-scientific research in the forestry science at present. This paper reviewed current progress of plant adversity stress proteomics, and summarized the commonly used proteomic methods in drought stress, salt stress and biotic stress. The research progress of proteomics in forestry discipline development trends and application prospects were discussed, and the developing orientation for further research was presented.

Key words: Proteomics, LC/MS, Adversity stress

蛋白质是基因功能的执行者,是生命现象的直接体现者,因此要深入了解生命的复杂活动,就需要从蛋白质的整体水平上进行研究。蛋白质组学主要研究某一类型细胞、组织、体液中的所有蛋白质组成、功能,以及蛋白质之间的相互作用,是对蛋白质翻译和修饰水平等研究的一种补充,可以深入地揭示生命现象的本质,从蛋白质的相互作用关系与功

能上回答生命过程的规律^[1],解释遗传和环境是如何通过相互作用控制细胞的功能^[2]。

蛋白质组学研究的具体过程包括蛋白质样品的制备、二维凝胶电泳分离、染色、成像分析,蛋白质鉴定和定量,其研究的核心是蛋白质的分离、鉴定和定量^[3]。蛋白质组学的科学研究取得蓬勃的发展,主要依赖于高通量分离、分析技术和定量技术的进步。

收稿日期:2017-07-11

作者简介:唐颖(1983-),女,博士生,主要从事植物资源化学成分和生物活性研究工作。E-mail:tying07@sina.com

随着生物质谱、飞行时间质谱、电喷雾质谱等技术的发展,蛋白质组学在林业学科中也得到了极大的发展。目前,草本模式植物,如拟南芥、烟草、水稻等的生长发育、组织器官分化,以及激素和逆境调节机制的研究较为深入,而木本植物的蛋白质组学研究则主要集中于杨树、松树、云杉^[4]等树种,植物蛋白质组学研究已成为后基因组时代的热点之一。

1 基于质谱的差异蛋白质组学技术

作为细胞功能的执行者,多数蛋白质都参与细胞功能的行使以及对环境刺激的反应,当细胞功能或所处的环境发生改变时,细胞中相应蛋白的表达会发生变化,以能应对各种环境^[5],即生物体的蛋白质组会随着细胞类型的差别或所处环境的变化而变化。因此,当生物体受到胁迫时,研究蛋白表达谱能实时反映植物细胞和组织在特定的时间和环境下所处的实际状态^[6],因此探讨植物基因和蛋白表达谱的变化也就成为植物响应逆境胁迫机制研究中的重要内容。由于蛋白质较为复杂的识别、鉴定的原则,导致很难在短时间内完成植物蛋白质组学“完备的”数据库,所以从不同应激因子诱导对生物体内蛋白质造成的表达差异研究着手,鉴定特定因素下的蛋白质组表达,即差异蛋白质组学。

质谱技术是目前蛋白质组研究中发展最快,也最具活力和潜力的技术。质谱通过测量带电离子质荷比,从而得到所分析离子的分子量信息,具有迅速、灵敏、准确的优点,并能进行蛋白序列分析和翻译后修饰分析^[7]。目前蛋白质组学所使用的质谱电离技术主要还是采用 ESI 和 MALDI,两种电离技术都是软电离,ESI 检测的特点是生物大分子带多个电荷,质荷比范围基本在 2000Da 以下区间,从而能检测几万乃至更大的生物分子;而 MALDI 常得到单电荷峰,与飞行间(TOF)分析器搭配,检测范围可以到几十万道尔顿。

差异蛋白质组学研究在植物逆境差异蛋白组学中的研究过程,通常是从正常植物和对照植物中分别提取蛋白质,然后进行蛋白的分离和鉴定。目前常用的研究方法主要可分为分别基于凝胶和非凝胶的两条蛋白质组学研究线路。基于凝胶的研究路线是指通过双向凝胶电泳将蛋白质分离,然后利用质谱对分离后的蛋白质逐一进行鉴定。双向电泳是根据蛋白质等电点和分子量的差异,进行两次电泳,第

1 次是等电聚焦,第 2 次是 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,这样在二维平面上会出现许多大小不等的点,而每一个点一般代表一种或一种以上蛋白质。具有高分辨率的特点,通常能分辨出 1 000 个~3 000 个蛋白点,还可以对翻译后修饰(如糖基化、磷酸化等)进行分析。

基于非凝胶的研究线路是指借助液相色谱质谱联用技术鉴定蛋白的新技术,大致可又分为标记(Label-based)和非标记(Label-free)定量技术^[8]。其中,同位素亲和标签(ICAT)技术是利用同位素亲和和标签试剂来预先选择性地标记某一类蛋白质,经分离纯化后再用质谱鉴定的技术,它能够直接定性和定量低丰度蛋白。同位素标记相对和绝对定量(iTRAQ)技术则是利用 4 种~8 种活性试剂对酶解肽段进行标记,然后结合色谱-质谱进行蛋白鉴定的技术。无标记定量(Label-free)则是直接利用样品酶切后经质谱产生的数据,根据鉴定蛋白的肽段数或质谱峰强度进行蛋白定量的方法。

2 逆境胁迫应答机制的差异蛋白质组学研究

植物适应胁迫的各个阶段所发生的生理代谢水平改变,均能体现在其蛋白质组构成中^[9],高通量的植物逆境蛋白质组学研究不但能揭示逆境胁迫相关代谢应答机制,而且还能反映不同胁迫因子作用的特异性,因此,蛋白质组学的研究备受人们关注。近年来,蛋白质组学在植物响应逆境胁迫方面的研究取得许多成果,为深入研究植物对非生物胁迫的响应机制提供了重要信息。

植物在生长发育过程中会遭遇干旱、水涝和高盐等非生物胁迫,以及病原菌侵染和虫害等生物胁迫,植物感受逆境信号后,可以通过信号转导调节细胞内抗逆相关蛋白的表达,从而调整自身的生理状态或形态来提高对逆境的耐受能力^[10]。在蛋白水平对发生变化的蛋白质进行定性和定量测定,探讨植物在逆境胁迫条件下的调控机制,是研究植物抗逆性的重要手段之一。

2.1 干旱胁迫

我国干旱半干旱地区占国土面积的 45%,林木抗旱性的强弱往往成为限制林木正常生长成林的重要因素^[11]。严重的土壤水分亏缺会对林木产生伤害,使叶片细胞失去膨压,并产生萎蔫现象。研究表

明,干旱胁迫下林木会在形态特征,生理生化,细胞代谢等方面发生变化以适应不利环境,目前研究较多的是渗透调节,光合作用,氧化应激反应以及诱导抗旱相关蛋白质的合成^[12]。如干旱胁迫信号可以通过激活位于细胞质膜上的钙离子通道,产生胞质内特异性的钙信号,传递至钙信号感受蛋白,如钙调素、钙依赖蛋白激酶和类钙调磷酸酶 B 蛋白等,进而引起胞内一系列生理生化变化,最终对胁迫做出响应^[13]。

郭伟志^[14]利用双向电泳技术,对干旱胁迫下不同杉木无性系差异蛋白组分析,并运用 MALDI-TOF 质谱鉴定及 Mascot 蛋白数据库检索后,获得 5 个已知功能的蛋白:与光合作用的光反应和碳反应相关的捕光叶绿素 a/b 结合蛋白、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶;与渗透保护物质合成有关的肌醇-1-磷酸合成酶;与物质代谢有关颗粒结合型淀粉合成酶 I;与抗氧化作用密切相关过氧化物酶。在干旱胁迫下,这些差异表达的蛋白之间可能形成了信号传递系统和互作体系,调节杉木细胞的光合作用、细胞膜透性、物质代谢、抗氧化代谢等过程。

韩莎^[15]通过对桑树在干旱胁迫下的差异表达蛋白质的研究,鉴定出 35 个差异蛋白质点,分别参与逆境防御过程,碳水化合物代谢,蛋白质代谢和光合作用 4 个过程。如磷酸甘油激酶参与糖酵解过程,催化 1,3-二磷酸甘油酸转化为 3-磷酸甘油酸。结果中磷酸甘油激酶的表达上升,说明桑树通过分解利用碳水化合物来抵制干旱胁迫。

蛋白组学研究也被应用于耐旱品种机制研究,祁建民等^[16]以鉴定出的耐旱性红麻品种为材料,在 5 叶期设置正常供水与控水比较试验,运用双向电泳分析红麻在干旱胁迫和正常供水条件下叶片蛋白质组的动态变化。在干旱胁迫下出现 65 个差异表达蛋白质点,选择表达量明显上调的 9 个蛋白质点,通过质谱分析和数据库检索,鉴定出 6 个差异表达蛋白。红麻 GA42 表现出较强的耐旱性,与上述 6 个差异表达蛋白质点明显上调有关。

2.2 盐胁迫

土壤盐分过多是影响植物生长发育、导致农业减产的主要因素之一。土壤中过多的盐分和因此产生的高离子浓度农业用水均会影响植物正常的代谢和生长发育^[17],植物对盐胁迫的生理反应表现为组织和器官的分化生长均受到抑制,发育缓慢等。目前,对植物盐胁迫诱导信号转导途径的研究主要有

盐过敏感信号转导途径、钙依赖型蛋白激酶级联反应途径、脱落酸信号通路、磷脂信号通路和丝裂原活化蛋白激酶级联反应途径等^{[18],[19],[20]}。各种胁迫诱导信号彼此交叉,构成复杂的网络共同调控植物的耐盐生理响应。已经鉴定出的与盐胁迫相关的差异蛋白的功能,主要与光合作用、呼吸作用、蛋白合成、离子转运等相关,最常见的有核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶、热休克蛋白、铁蛋白、真核翻译起始因子、ATP 结合蛋白、超氧化物歧化酶等^[21]。

王秀丽^[22]通过对照组和盐胁迫处理的银叶树幼苗叶片的蛋白斑点比较,鉴定出 3 个表达差异蛋白:同源异黄酮还原酶、光系统 II 捕光叶绿素 a/b 结合蛋白和 Cu,Zn-SOD。绿色植物可通过捕光叶绿素结合蛋白接受太阳能并同化 CO₂,说明银叶树幼苗通过提高光合作用能力来提高其对盐胁迫的适应性。银叶树幼苗体内增加合成 Cu,Zn-SOD,来清除植物体内由于盐胁迫而积累的过多的氧自由基,以提高其对盐胁迫的适应能力。

青杨是评估对盐胁迫的响应的常用树种,ZHU J K 等^[23]确定了 38 个蛋白响应轻度和重度(NaCl)盐胁迫。16 个蛋白受盐胁迫诱导,在重度盐胁迫下有 3 个受诱导。信号转导,信使 RNA 加工和细胞周期调控的蛋白质也包括其中。

丁鹏^[24]对盐胁迫处理后的绿竹,运用质谱鉴定技术对挑选的高表达盐胁迫响应蛋白进行鉴定,分析得出 15 种蛋白,其中 11 种为已知功能蛋白,其中含有热休克蛋白、DNA 修复酶、DNA 引发酶、tRNA 转运酶、糖酵解酶、ATP 合成酶、电化学信号转导蛋白、翻译修饰蛋白、转录后修饰蛋白、基因调控有关蛋白和一些假定蛋白,主要具有参与 DNA 合成与修复、信号转导途径、无机态碳的固定、mRNA 和蛋白翻译加工以及调控生物膜内能量物质合成与水解等生物学功能。

2.3 生物胁迫

以往关于模式植物抗病分子机制研究表明,植物寄主应答病原菌胁迫时,寄主细胞自身免疫受体(抗病蛋白)能够识别病原菌效应因子,进而诱发寄主细胞自身抗病反应,植株体内的蛋白质在种类和表达量上发生巨大的变化,从而实现对病原菌胁迫信号的响应、传递以及生物学防御^{[25],[26]}。在真菌、细菌、病毒和线虫等不同生物逆境胁迫下,多种不同植物体内出现了几类应答频率极高的共性诱导蛋白^[27]。PR 蛋白家族目前研究较多的一类蛋白,其

是植物受病原物侵染或非生物因子刺激后产生的一类水溶性蛋白,可能是通过攻击病原物,降解细胞壁大分子和病原物毒素,从而达到抑制病毒外壳蛋白与植物受体分子结合的目的。热激蛋白最初是细胞在高温刺激下发现的一类蛋白质,逆境胁迫会改变生物的膜结构^[28],影响膜的通透性和流动性;而热激蛋白作为一种分子伴侣,在逆境胁迫发生时,不但能保护蛋白结构,而且能稳定膜的稳定性。过氧化物酶在植物对病原菌防卫反应中的详细作用机制目前还不是非常清楚,目前研究认为过氧化物酶可能是通过提高了植物细胞壁的韧性,从而提高了抵御病菌的强度,达到了抗击病害的目的。

由欧文氏细菌侵染而引发的火疫病,是苹果及其他蔷薇科植物的毁灭性病害。关于苹果属植物寄主与火疫病致病菌互作方面的研究,主要集中于病原菌致病机理,尤其是互作过程中效应蛋白的分泌及其转运途径研究^[29]。张彩霞^[30]等以苹果叶片与斑点落叶病菌为研究对象,提取总蛋白后双向电泳分离,质谱测定搜库鉴定出 5 个下调蛋白和 15 个上调蛋白,经功能分析将其参与的相关功能分为 5 类,分别为过敏原蛋白、防御反应、光合作用、能量代谢相关蛋白,以及参与蛋白合成的蛋白。SAMS 是植物细胞应答逆境胁迫的关键蛋白,SAMS3 和 SAMS1 均明显下调表达,植物清除 ROS 的关键酶 APX 和 GPX 均属病程相关蛋白,发生明显上调。而蛋白 Mal d1 下调表达至消失,表明该蛋白也参与苹果叶片应答病原菌侵染的防御反应,通过下调表达,降低病原菌对寄主的伤害程度。

Maserti 等^[31]以柑橘属的果树为材料,对二斑叶螨侵染后和茉莉酸甲酯处理后的叶片进行了蛋白表达差异分析,分别检测出了 110 个和 67 个蛋白质点。应用液相色谱—串联质谱技术鉴定出 50 个蛋白,大部分都属于光合和代谢相关蛋白。其中有 5 个与氧胁迫相关的酶,包括磷脂谷胱甘肽过氧化物酶、1 个盐胁迫相关蛋白、抗坏血酸过氧化物酶和锰超氧化物歧化酶。有 7 个防御相关蛋白,包括与发病相关的酸性几丁质酶、蛋白酶抑制剂类奇蛋白和低密度脂蛋白等。

桉树是联合国粮农组织推荐的速生丰产多用途树种。陈全助^[32]在转录组学研究的基础上,运用 iTRAQ 技术对经焦枯病菌诱导尾细桉 M1 叶片差异蛋白组进行研究,焦枯病菌接种后 12 h,尾细桉叶片的差异基因及差异蛋白均显著富集于苯丙烷类代

谢,类黄酮生物合成,亚麻酸代谢及代谢途径,而 24h 的差异基因和蛋白则显著富集在亚麻酸代谢,次生代谢物质合成,萜类化合物生物合成,半乳糖代谢,外芪类化合物、二芳基庚醇及姜辣素生物合成,类黄酮生物合成以及代谢途径,这些代谢途径均直接或间接地参与了植物的抗病反应。

综上所述,作为后基因时代的一个重要研究手段,蛋白质组学已经在植物研究中广泛开展,并获得了丰硕的成果,是对传统植物生理学及功能基因组学研究的补充。然而,植物的生理过程是一个非常复杂的过程,人们对植物复杂的生物学反应都还知之甚少,在这方面的研究还处于初步阶段。随着越来越多植物全基因组测序的完成、EST 数据库的日益丰富,以及研究手段的不断改进,相信将会有更多相关的基因和蛋白被挖掘,更全面地揭示植物生长、发育、抗逆的本质,为植物品种的选择和培育奠定基础。

参考文献:

- [1] Rossignol M, Peltier J B, Mock H P, et al. Plant proteome analysis: a 2004 – 2006 update [J]. *Proteomics*, 2006, 6 (20) : 5529 ~ 5548.
- [2] 冯宪超,徐幸莲,周光宏. 蛋白质组学在肉品学中的应用 [J]. *食品科学*, 2009, 30 (5) : 277 ~ 281.
- [3] 尹稳,伏旭等. 蛋白质组学的应用研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2014, (1) : 32 ~ 38.
- [4] Jorján J V, Maldonado A M, Castillejo M A. Plant proteome analysis: a 2006 update [J]. *Proteomics*, 2007, 7 (16) : 2947.
- [5] Unwin R D, Gaskell S J, Evans C A, et al. The potential for proteomic definition of stem cell populations [J]. *Experimental Hematology*, 2003, 31 (12) : 1147.
- [6] Barkla B J, Veraestrella R, Pantoja O. Progress and challenges for abiotic stress proteomics of crop plants [J]. *Proteomics*, 2013, 13 (12 ~ 13) : 1801 ~ 1815.
- [7] 杨倩,王丹,常丽丽等. 生物质谱技术研究进展及其在蛋白质组学中的应用. *中国农学通报*, 2015, 31 (1) : 239 ~ 246.
- [8] 谢秀枝,王欣,刘丽华,等. iTRAQ 技术及其在蛋白质组学中的应用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2011, 27 (7) : 616 ~ 621.
- [9] 刘海臣,杨文军,张春兰,等. 水分胁迫下植物根系的蛋白质组学研究进展. *北方园艺*, 2015 (21) : 194 ~ 196.
- [10] 李蓓,宁露云,张俊卫等. 蛋白质组学技术及其在植物逆境生物学中的应用 [J]. *湖北农业科学*, 2013, 52 (22) : 5403 ~ 5408.
- [11] 李吉跃. 植物耐旱性及其机理 [J]. *北京林业大学学报*, 1991, 13 (3) : 92 ~ 100.
- [12] 安玉艳 梁宗锁. 植物应对干旱胁迫的阶段性策略 [J]. *应用生态学报*, 2012, 23 (10) : 2907 ~ 2915.

- [13] 刘小龙,李霞,钱宝云,等. 植物体内钙信号及其在调节干旱胁迫中的作用[J]. 西北植物学报,2014,34(9):1927~1936.
- [14] 郭伟志. 干旱胁迫下不同杉木无性系的若干生理响应和差异蛋白质组分析[D]. 福建农林大学,2012.
- [15] 韩莎. 干旱胁迫下桑树蛋白质的差异表达分析[D]. 西北农林科技大学,2013.
- [16] 祁建民,姜海青,陈美霞,等. 干旱胁迫下红麻叶片的差异蛋白表达分析[J]. 中国农业科学,2012,45(17):3632~3638.
- [17] Oraby H, Ahmad R. Physiological and biochemical changes of CBF3 transgenic oat in response to salinity stress [J]. Plant Science, 2012,185~186(4):331.
- [18] Colcombet J, Hirt H. Arabidopsis MAPKs: a complex signalling network involved in multiple biological processes[J]. Biochemical Journal,2008,413(2):217~226.
- [19] Xiong L M, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress[J]. Plant Cell,2001,14 Suppl:S165.
- [20] Zhu J K. Salt and drought stress signal transduction in plants[J]. Annual Review of Plant Biology,2003,53(53):247.
- [21] 陈涛. 盐胁迫红麻叶片差异蛋白质组学及其抗氧化酶活性的分析[D]. 福建农林大学,2011.
- [22] 广东银叶树种源幼苗生长差异及耐盐机理研究,湛江市:广东海洋大学,2014.
- [23] Zhu J K. Regulation of ion homeostasis under salt stress[J]. Current Opinion in Plant Biology,2003,6(5):441.
- [24] 丁鹏. 不同盐度胁迫下绿竹差异蛋白质组学研究[D]. 福建农林大学,2015.
- [25] Bednarek P, Osbourn A, Hines P J, et al. Plant-microbe interactions; chemical diversity in plant defense[J]. Science, 2009, 324(5928):746~748.
- [26] Mayer M, Oberhuber C, Loncaric I, et al. Fireblight affects Mal d 1-related allergenicity in apple[J]. European Journal of Plant Pathology, 2011, 131(1):1~7.
- [27] 方海平,王淑珍,赵芸等. 植物应答生物逆境的蛋白质组学研究进展[J]. 分子植物育种,2014,12(3):584~602.
- [28] Li Z Y, Long R C, Zhang T J, et al. Research Progress on Plant Heat Shock Protein[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2):7~13.
- [29] Oh C S, Beer S V. Molecular genetics of *Erwinia amylovora* involved in the development of fire blight[J]. Fems Microbiology Letters, 2005, 253(2):185.
- [30] 张海霞,张利义,田义等. 苹果叶片应答斑点落叶病菌胁迫的蛋白质组学分析[J]. 植物病理学报,2014,44(4):438~442.
- [31] Maserti B E, Carratore R D, Croce C M, et al. Comparative analysis of proteome changes induced by the two spotted spider mite *Tetranychus urticae* and methyl jasmonate in citrus leaves[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(4):392~402.
- [32] 陈全助. 福建桉树焦枯病菌鉴定及其诱导下桉树转录组蛋白组学研究[D]. 福建农林大学,2013.

(上接第7页)

度之内,促进红豆杉增量高产,从而减轻保护压力,实现资源合理开发利用。

参考文献:

- [1] 环境保护部和中国科学院. 中国生物多样性红色名录高等植物卷[M]. 内部资料,2013.
- [2] 李丽琴,付春华,赵春芳,等. 红豆杉脱分化过程中的遗传和表观遗传变异[J]. 植物生理学通讯,2009,(6):544~548.
- [3] 郑超,别庆铃,夏冰,等. 4种红豆杉属植物遗传多样性和遗传关系的 RAPD 分析[J]. 植物资源与环境学报,2013,(3):58~62.
- [4] 王俊丽,刘海英,王林,等. 红豆杉组织培养及其产物紫杉醇研究进展[J]. 生物技术,2007,17(3):89~92.
- [5] 李丽,张滢帆,何康,等. 两种红豆杉植物的愈伤组织培养及褐化抑制[J]. 复旦学报(自然科学版),2006,(06):702~707.
- [6] 方应权,谢仲德,陈鸿源. 川东地区南方红豆杉药用部位紫杉醇含量变化研究[J]. 时珍国医国药,2012,(09):2237~2238.
- [7] 张静. 植物红豆杉的抗癌药用价值研究[J]. 中国药业,2014,(01):1~3.
- [8] 蔡小虎,孙启武,罗建勋,等. 四川省红豆杉种群结构和动态的初步研究[J]. 四川林业科技,2004,25(2):21~24.
- [9] 恭维,夏青,陈红峰,等. 珍稀濒危植物伯乐树的潜在适生区预测[J]. 华南农业大学学报,2015,36(4):98~104.
- [10] 徐军,曹博,白成科,等. 基于 MaxEnt 濒危植物独叶草的中国潜在适生分布区预测[J]. 生态学杂志,2015,34(12):3354~3359.
- [11] 万基中,王春晶,韩士杰,等. 应用 GIS 和 Maxent 预测南方红豆杉潜在地理分布及其保护建议[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):349~352.
- [12] ROBERTO M, ZAMORA R, RAMON J, et al. Predictive modeling of microhabitats for endemic birds in South Chilean temperate forests using maximum entropy (Maxent) [J]. Ecological Informatics, 2011, 6:364~370.
- [13] HANLEY JA, MCNEIL BJ. The meaning and use of the area under a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve [J]. Radiology, 1982, 143:29~36.
- [14] 郭杰,刘小平,张琴,等. 基于 Maxent 模型的党参全球潜在分布区预测[J]. 应用生态学报,2017,(03):1~12.
- [15] 于海彬,张懿铨,高俊刚,等. 基于 GIS 和生态位模型的西藏红豆杉遗传景观和物种分布格局[J]. Journal of Resources and Ecology, 2014, (03):193~202.