

引用格式:

雷梓妍, 吕波, 王智. 拟水狼蛛对镉和 *Bt* 蛋白联合作用的响应[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2022, 48(3): 305–311.

LEI Z Y, LYU B, WANG Z. Response of *Pirata subpiraticus* to combined effect of cadmium and *Bacillus thuringiensis* protein [J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2022, 48(3): 305–311.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



拟水狼蛛对镉和 *Bt* 蛋白联合作用的响应

雷梓妍¹, 吕波², 王智^{1,2*}

(1.湖南农业大学资源与环境学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081)

摘 要: 用经镉(1.0 mg/L)、*Bt*(*Bacillus thuringiensis*)蛋白(0.1 mg/L)和 Cd+*Bt* 处理的果蝇饲喂拟水狼蛛(*Pirata subpiraticus*), 测定拟水狼蛛体内 Cd 与 *Bt* 蛋白的富集状况和抗氧化酶表达水平; 利用 RNA-seq 技术分析 Cd+*Bt* 处理拟水狼蛛的差异表达基因(DEGs), 运用生物信息学方法构建 DEGs 的富集及调控通路。结果发现: 与 Cd 和 *Bt* 处理的拟水狼蛛(Cd 质量分数为 (6.965 ± 0.21) mg/kg、*Bt* 质量分数为 (3.82 ± 0.28) μg/kg) 相比, Cd+*Bt* 处理的拟水狼蛛具有更高的 Cd 质量分数((12.23 ± 0.86) mg/kg)和 *Bt* 质量分数((7.98 ± 0.49) μg/kg)($P < 0.05$); 与对照组、单一 Cd 和单一 *Bt* 处理的拟水狼蛛的相比, Cd+*Bt* 处理还能提高拟水狼蛛体内的谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽 S-转移酶和超氧化物歧化酶的活性($P < 0.05$); 通过对 Cd+*Bt* 处理和对照组进行转录组测序, 得到 6914 条差异表达基因, 并且与肽链内切酶活性、激素生物合成以及信息素代谢过程相关的基因(519 条)都显著下调, 共有 14 条参与卵母细胞减数分裂的基因在 Cd+*Bt* 处理下显著下调。转录因子和蛋白质互作分析表明, ZBTB 等转录因子参与胁迫相关的调控网络, 主要影响遗传信息的转录和翻译过程。

关 键 词: 拟水狼蛛; 镉; 苏云金芽孢杆菌蛋白; 抗氧化酶; 转录组; 基因调控

中图分类号: Q959.226

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2022)03-0305-07

Response of *Pirata subpiraticus* to combined effect of cadmium and *Bacillus thuringiensis* protein

LEI Ziyang¹, LYU Bo², WANG Zhi^{1,2*}

(1.College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.College of Life Science, Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410081, China)

Abstract: Cadmium-treated(1.0 mg/L), *Bt*-treated(*Bacillus thuringiensis* protein, 0.1 mg/L), and Cd+*Bt*- treated flies were used as food for *Pirata subpiraticus*(*P. subpiraticus*), and the enrichment of Cd and *Bt* protein and expression of antioxidant enzymes in the spiders were investigated. In addition, RNA-seq was employed to analyze the differentially expressed genes(DEGs) of spiders under Cd+*Bt* treatment, and the enrichment and regulation pathways of DEGs was constructed using bioinformatics methods. It is found that compared with Cd(Cd content in the spiders was (6.965 ± 0.21) mg/kg) and *Bt*(*Bt* content in the spiders was (3.82 ± 0.28) μg/kg groups, the spiders in the Cd+*Bt* group showed higher Cd((12.23 ± 0.86) mg/kg and *Bt*((7.98 ± 0.49) μg/kg contents($P < 0.05$). In addition, compared with control, Cd and *Bt* groups, the Cd+*Bt* treatment increased the activities of glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, and superoxide dismutase in spiders($P < 0.05$). RNA-seq was conducted on spiders in Cd+*Bt* treatment and in the control, a total of 6914 DEGs were obtained, and it is found that genes(519) involved in endopeptidase activity, hormone biosynthesis, and pheromone metabolism were all down-regulated obviously. Fourteen genes involved in oocyte

收稿日期: 2021-10-27

修回日期: 2022-01-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31472017、31272339); 湖南省科学技术厅项目(2014FJ2003); 湖南省教育厅重点项目(18A024)

作者简介: 雷梓妍(1995—), 女, 湖南衡阳人, 硕士研究生, 主要从事农业生态学研究, 1061992792@qq.com; *通信作者, 王智, 博士, 教授, 主要从事动物生态学研究, wangzhispider@hotmail.com

meiosis were significantly down-regulated under Cd+Bt treatment. Through the analysis of transcription factors and protein interactions, we also found that transcription factors such as ZBTB participate in stress-related regulatory networks, which mainly affect the transcription and translation process of genetic information.

Keywords: *Pirata subpiraticus*; cadmium; *Bacillus thuringiensis* protein; antioxidant enzyme; transcriptome; gene regulation

镉(Cd)可通过食物链在动物和植物体内积累并引发生理毒性效应^[1-4]。苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)(Bt)是一种革兰阳性细菌,广泛分布于土壤、水体、昆虫和植物中^[5-6]。由于转基因技术的使用,转 Bt 玉米、转 Bt 棉花等成为提高经济作物产量的关键手段之一。狼蛛科具有种群基数大、繁殖力强和生态位宽等特点,是评估生态毒理胁迫的重要标志物种^[7]。Cd 暴露可改变蜘蛛的生长指标,包括体长变小、体重下降、发育历期延长和死亡率增加等^[8]。此外,短时间的 Cd 胁迫能够诱导狼蛛产生保护机制,包括提高谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、谷胱甘肽 S 转移酶(GST)、超氧化物歧化酶(SOD)、乙酰胆碱酯酶(AChE)活性等^[9-10]。Bt 蛋白可以从水稻转移到褐飞虱(*Nilaparvata lugens*),然后转移到其捕食者 *Cyrtorhinus lividipennis*,但 Bt 蛋白的积累不会影响蜘蛛的适应性^[11]。此外,Bt 蛋白对狼蛛(*Pardosa pseudoannulata*)的整体和亚细胞酶浓度也没有显著影响,但会抑制与角质层结构相关的编码基因^[12]。

据报道,Bt 菌株可富集、降解或矿化有毒重金属,如 Cd、铅、铜、锌、汞和铀,但 Bt 蛋白是否在动物体内积累或降解重金属尚不清楚^[13]。笔者以单一 Cd 处理、单一 Bt 蛋白处理和 Cd+Bt 联合处理的拟水狼蛛为研究对象,研究 Cd 和 Bt 蛋白在拟水狼蛛体内的富集规律、拟水狼蛛的抗氧化酶活性变化和 Cd+Bt 联合处理下拟水狼蛛的基因表达变化。

1 材料与方法

1.1 材料

自湖南省农业科学院试验田周边(113°4' E、28°11' N)采集体形、大小相近的 360 头拟水狼蛛雌性成蛛,平分成 4 组,每头用带有小团湿润棉花的试管饲养。分别每天喂食 10~15 只经 Cd(1.0 mg/L)、Bt(0.1 mg/L)、Cd+Bt 处理(Cd 1.0 mg/L、Bt 0.1 mg/L)的果蝇,对照组(CK)饲喂未经处理的果蝇。每 5 d 更换 1 次试管底部的湿棉花。所有拟水

狼蛛置于 25 °C、相对湿度 60%~80%、光照 12 h 的人工气候箱中培养。

1.2 方法

1.2.1 拟水狼蛛 Cd 含量与 Bt 蛋白含量和抗氧化酶活力的测定

收集拟水狼蛛(用果蝇饲喂 5 周),检测其体内的 Cd 和 Bt 蛋白含量以及抗氧化酶活性。使用 ICP 电感耦合等离子光谱仪测定 Cd 含量^[9];采用 ELISA 平板试剂盒(南京建成工程研究所)测定 Bt 蛋白含量、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)以及谷胱甘肽 S 转移酶(GST)活性。

1.2.2 拟水狼蛛转录组测序和生物信息学分析

对 CK 和 Cd+Bt 处理组的拟水狼蛛进行转录组测序。提取拟水狼蛛 RNA 后,在 Illumina HiSeq 平台进行测序。使用 BLAST 软件将样本测序结果中的 unigene 序列进行数据库的基因功能注释,比对的数据库主要包括基因本体数据库(GO)和京都基因与基因组百科全书数据库(KEGG)。采用 DESeq2 对拟水狼蛛基因进行分析,拟水狼蛛差异表达基因(DEGs)的筛选阈值为 $p_{adj} < 0.05$,且 $|\log_2 FC| > 1$ 。将得到的 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析,并利用 Cytoscape 软件(<http://www.cytoscape.org/>)中的 Clue GO 插件(<https://apps.cytoscape.org/apps/cluego>)得到 DEGs 与相关生物学功能的相互关系。运用动物转录因子数据库(animalTFDB 2.0)鉴定转录因子。运用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)和 Cytoscape 软件进行蛋白互作网络分析。

1.3 数据处理

采用 GraphPad Prism 软件进行数据分析。根据 R 语言中的 R 包(heatmap、GOplot 和 ggplot2 等)绘图。

2 结果与分析

2.1 拟水狼蛛体内 Cd 和 Bt 蛋白的富集水平

测定结果表明，与对照组拟水狼蛛体内的 Cd 质量分数(0.06±0.01) mg/kg 相比，Cd 处理组和 Cd+Bt 组的 Cd 质量分数都提高了,Cd+Bt 组((12.23±0.86) mg/kg))的显著大于 Cd 处理组(6.965±0.21) mg/kg)的。与对照组拟水狼蛛的 Bt 蛋白质量分数相比，Bt 组和 Cd+Bt 组的 Bt 蛋白质量分数提高，其中 Cd+Bt 组的((7.98±0.49) μg/kg)显著大于 Bt 处理组((3.82±0.28) μg/kg)的。

2.2 拟水狼蛛体内抗氧化酶的活性水平

拟水狼蛛体内抗氧化酶活性的测定结果列于表 1。与对照组相比，Cd、Bt 和 Cd+Bt 处理显著提高了拟水狼蛛体内的超氧化物歧化酶活性，且 Cd+Bt 处理的显著高于 Cd 和 Bt 的；与 CK 和 Bt 相比，Cd 和 Cd+Bt 处理显著提高了拟水狼蛛体内的谷胱甘肽过氧化物酶活性，且 Cd+Bt 处理显著高于 Cd 组的；与 CK 和 Bt 相比，Cd 和 Cd+Bt 处理显著提高了拟水狼蛛体内的谷胱甘肽 S 转移酶活性，且 Cd 处理显著高于 Cd+Bt 的。

| 表 1 拟水狼蛛体内的抗氧化酶活性 | | | |
|---|--------------|---------------|---------------|
| Table 1 The antioxidant activity in <i>P. subpiraticus</i> U/mg | | | |
| 处理 | 超氧化物歧化酶活性 | 谷胱甘肽过氧化物酶活性 | 谷胱甘肽 S 转移酶活性 |
| Cd | (1.68±0.03)b | (59.85±1.18)b | (83.67±1.26)a |
| Bt | (1.68±0.03)b | (45.49±0.90)c | (58.35±5.77)c |
| Cd+Bt | (2.33±0.01)a | (65.07±2.66)a | (67.82±1.95)b |
| CK | (1.52±0.07)c | (47.02±0.84)c | (57.67±0.73)c |

同列不同字母表示处理间差异显著(P<0.05)。

2.3 转录组序列、比对和差异基因筛选

转录组测序总共得到 251 373 个转录本，长度从 301 bp 到 28 945 bp 不等，平均长度为 1223 bp。由于拟水狼蛛没有参考基因组，因此将测序数据进行物种相似性比对，结果发现，比对物种相似性最高的是来自非洲的游猎型绒蛛(*Stegodyphus mimosarum*)，其次是球蛛科的常见物种温室拟肥腹蛛(*Parasteatoda tepidariorum*)。为了筛选 DEGs，首

先根据 CK 和 Cd+Bt 组基因的相对表达量(FPKM 值)大小，再通过筛选阈值 $p_{adj} < 0.05$ ，且 $|\log_2FC| > 1$ ，得到共 6914 条 DEGs，包括 2304 条上调基因和 4610 条下调基因(图 1)。

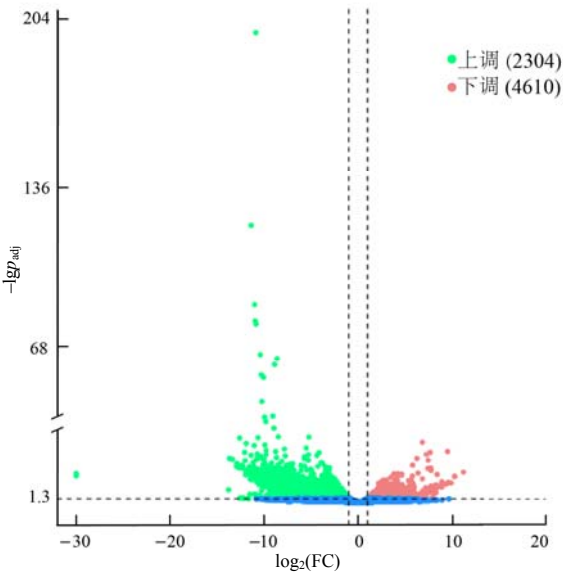
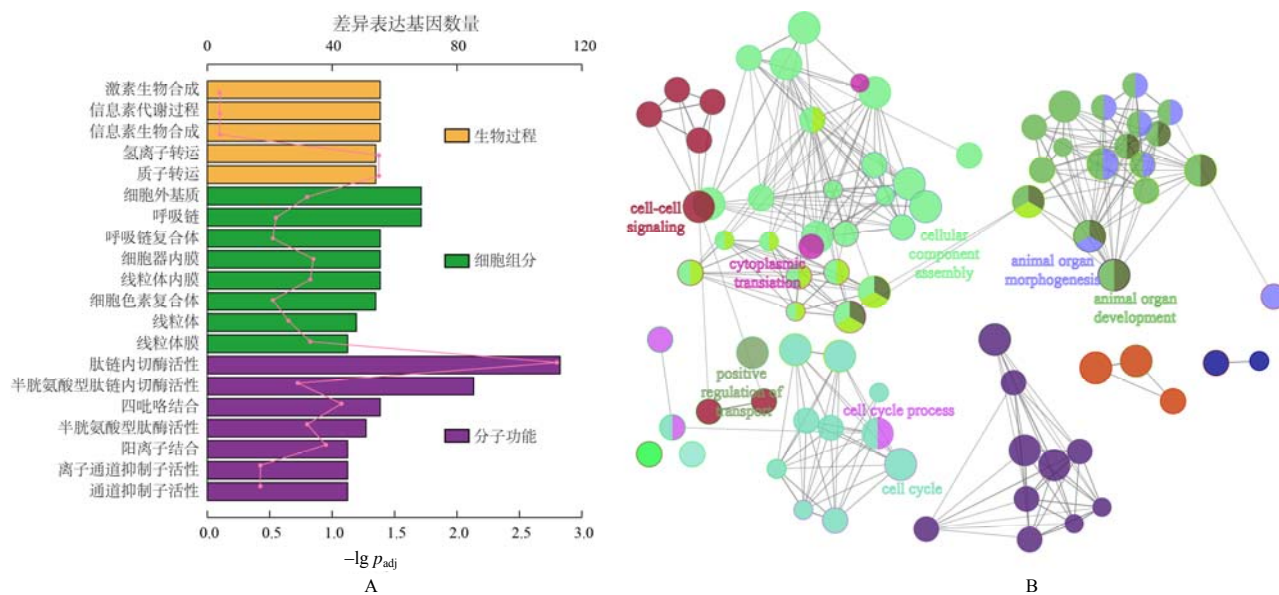


图 1 Cd+Bt 处理的拟水狼蛛 DEGs 火山图

Fig. 1 Volcano plot of DEGs of *P. subpiraticus* under Cd+Bt treatment

2.4 差异表达基因的 GO 富集分析

将转录组测序得到的 DEGs 注释到 GO 数据库的三大分类，得到的注释结果有“线粒体”“细胞对化学刺激的反应”“信号转导”“内肽酶活性”“单一生物信号”等。分别对上、下调基因进行功能注释分析，发现具有生物学显著性的 GO 条目由下调基因构成。上调基因主要注释“个体组织器官”“真菌型细胞壁组织”“真菌型细胞壁组织或生物发生”“模式结合”等 GO 条目， p 值(FDR 校正)都大于 0.05。发现共有 14 条下调基因 GO 条目显著富集 DEGs，其中 DEGs 主要参与的功能包括“肽链内切酶活性”“半胱氨酸型肽链内切酶活性”“细胞外基质”“呼吸链”“细胞器内膜”“四吡咯结合”“激素生物合成”“信息素代谢过程”等(图 2-A)。进一步利用 Clue GO 对下调基因(519 条)的共表达模式进行分析，发现在基因共表达网络中，“细胞间信号转导”“细胞质翻译”“细胞组分组装”“解剖结构形态发生”“辐射响应”等条目起主要连接作用(图 2-B)。



节点表示不同的富集注释, 颜色表示节点的富集分类, 圆的大小表示节点的显著性。

图 2 Cd+Bt 处理的拟水狼蛛 DEGs 的 GO 注释分析

Fig. 2 GO annotation analysis of DEGs of *P. subpiraticus* under Cd+Bt treatment

2.5 Cd+Bt 处理抑制雌蛛的卵母细胞分裂通路

为了进一步探究 Bt 蛋白和 Cd 联合作用对拟水狼蛛的影响, 对 DEGs 进行了 KEGG PATHWAY 富集分析, 将各组得到的差异表达基因比对到 KEGG 数据库, 进行代谢通路途径注释。上调基因并未显著富集到 KEGG 条目, 而下调基因主要富集 5 条 KEGG 通路, 除 3 条与人类疾病相关的通路(酗酒、系统性红斑狼疮和阿尔茨海默病)外, 另 2 条为卵母细胞减数分裂和氧化磷酸化。在卵母细胞减数分裂通路中, 共鉴定到 14 条 DEGs, 主要参与减数分裂前期、减数第 1 次分裂、减数分裂间期和减数第

2 次分裂(图 3)。在减数分裂前期, 共有 6 条基因分别编码 AURKA、CPEB、MOS、SCF、APC/C 和 CDC20 酶或蛋白, 表达水平相对于对照组下调; 在减数第 1 次分裂, 共有 7 条基因分别编码 PLK1、CDC2、SCF、APC/C 和 CDC20 等酶或蛋白, 表达水平相对于对照组下调; 在减数分裂间期, 共有 4 条基因分别编码 PLK1、AURKA、CPEB 和 CDC2 等酶或蛋白, 表达水平相对于对照组下调; 在减数第 2 次分裂, 共有 10 条基因分别编码 CALM、CAMK2、SCF、PLK1、APC/C、MAD2 和 CDC22 等酶或蛋白, 表达水平相对于对照组下调。

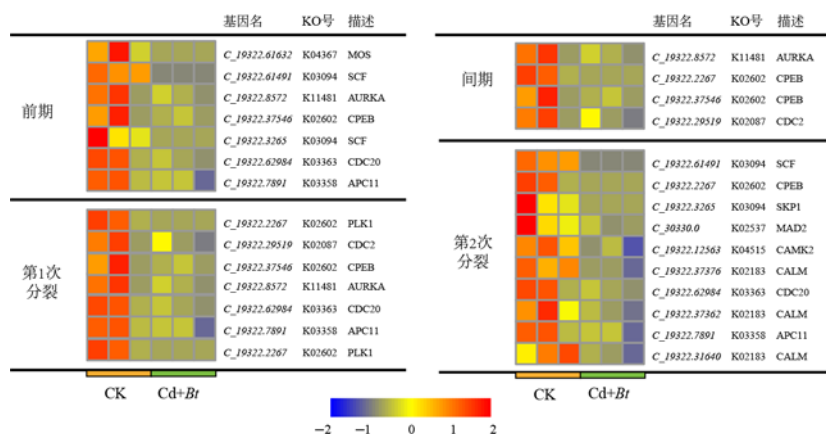


图 3 拟水狼蛛的基于卵细胞成熟通路的基因表达热图

Fig. 3 Heatmap of gene expression in oocyte meiosis pathway of *P. subpiraticus*

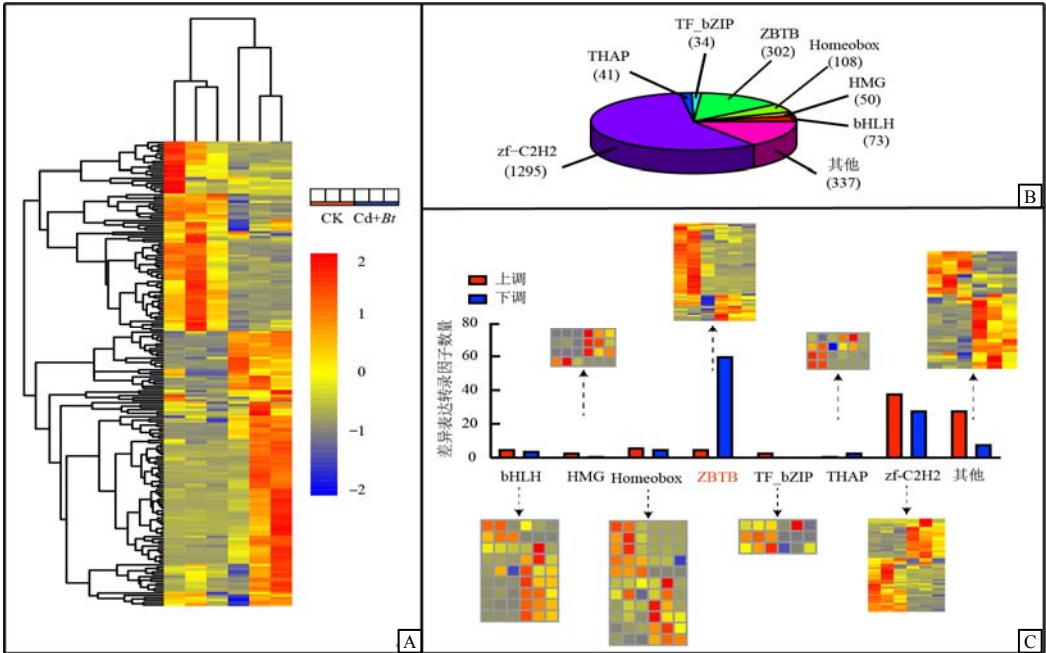
2.6 关键 TF 的筛选与鉴定

通过对 RNA 测序后进行基因注释和 TF 数据库

分析, 鉴定到 61 类共 2240 条 TF 编码基因(图 4-A)。其中, zf-C2H2 注释数量(1295 条)最多(图

4-B)。将得到的 DEGs 与 TF 注释结果进行比对，寻找具有重叠的差异表达转录因子(DETs)。结果共有 198 条 TF 的注释基因在 Cd+*Bt* 处理下显著差异表达(109 条下调表达、89 条上调表达)，其中主要

DETs 包括 ZBTB(65 条)和 zf-C2H2(66 条)转录因子(图 4-C)，且 ZBTB 转录因子绝大多数的编码基因都下调表达(60 条)。



A 鉴定的转录因子表达热图；B 不同转录因子家族的分布饼图；C 差异表达转录因子的筛选和表征。

图 4 Cd+*Bt* 处理的拟水狼蛛转录因子的鉴定和表达及表征

Fig. 4 Identification, expression and characterization of transcription factors in *P. subpiraticus* under Cd+*Bt* treatment

2.7 蛋白质互作调控网络

为了判断 Cd 和 *Bt* 蛋白联合作用对拟水狼蛛在分子水平上的影响，对差异表达基因所对应的置信

度 > 700 的蛋白构建互作网络，如图 5-A 所示。整个网络由 165 个节点以及 745 条边组成，其中有 10 个节点对应的蛋白质为 TF，包括 ZBTB、

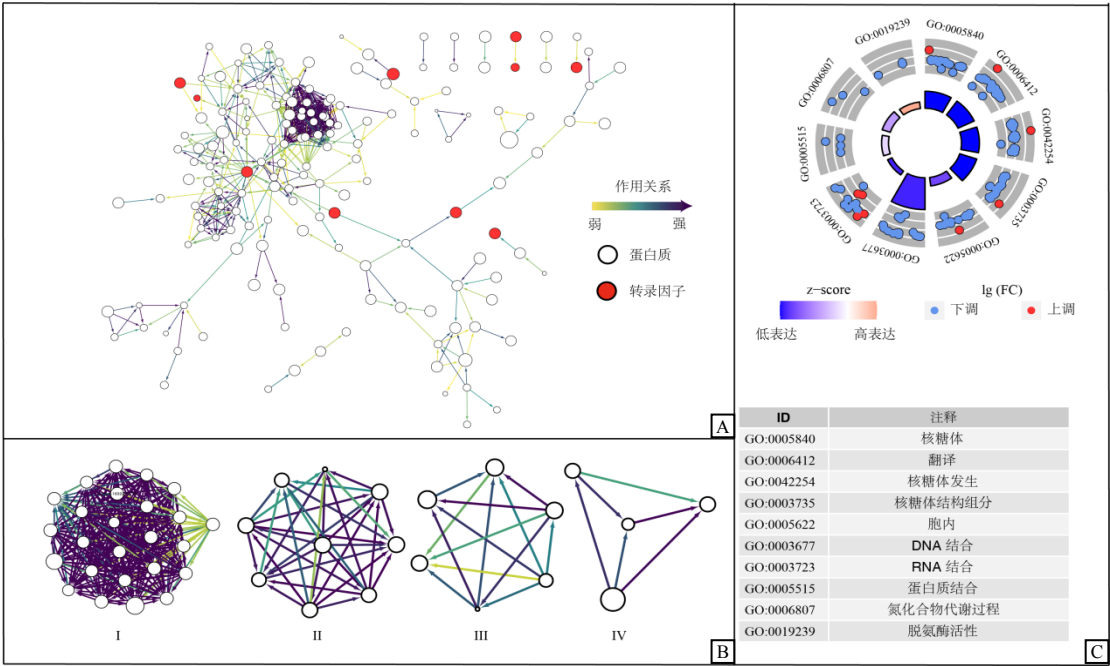


图 5 Cd+*Bt* 处理的拟水狼蛛蛋白相互作用调控网络

Fig. 5 Regulatory network of protein interaction in *P. subpiraticus* under Cd+*Bt* treatment

zf-C2H2、Fork head、ETS、MH1、bHLH、MYB 和 Homeobox 等。进一步筛选具有紧密连接的高置信度蛋白质互作模块。在模块分析结果的前 4 个功能模块中,模块 I 包括 25 个节点和 292 条边;模块 II 包括 9 个节点和 35 条边;模块 III 包括 6 个节点和 14 条边;模块 IV 包括 4 个节点和 6 条边(图 5-B)。对 4 个模块进行功能富集分析,发现模块注释的基因包括 57 条 DEGs(51 条下调基因和 6 条上调基因),注释的功能分别为“核糖体”“翻译”“核糖体生物起源”“核糖体的结构成分”等(图 5-C),说明 Cd+Bt 处理可能通过抑制关键转录因子的表达来抑制拟水狼蛛的基因调控过程(转录和翻译)。

3 讨论

目前,有关农田重金属污染或者转基因作物单一胁迫对生物体内酶活性影响的研究较多^[14-19],不同生物在应对重金属或 Bt 蛋白胁迫时,其体内抗氧化酶的变化具有物种差异性。例如,AUGUSTYNIAK 等^[20]研究锌胁迫对蚱蜢体内抗氧化酶活性的影响,发现蚱蜢体内过氧化氢酶活性显著增加,GSH-Px 浓度显著降低,GST 活性没有显著变化。本研究结果表明,3 种处理的抗氧化酶(SOD, GSH-Px 和 GST)也存在差异表达,而 Cd+Bt 处理比单一处理的表达水平更高,说明 Cd+Bt 处理对拟水狼蛛的毒性更大。

此前的研究表明,Cd 胁迫会降低拟水狼蛛的存活率,并且对其越冬能力产生不利影响,主要表现在参与能量物质、抗冻剂和抗氧化剂代谢的基因的差异表达^[21]。在 Bt 蛋白对蜘蛛基因表达的研究方面,有学者发现 Cry1Ab 不会影响蜘蛛卵囊中的卵黄蛋白量,但是包括“胚胎发育”“躯体肌肉发育”“晶状体的结构成分”“骨骼肌肉运动”“周围神经系统神经元轴突发生”等信号通路都存在一定数量的差异基因富集^[22]。本研究中,相比于正常处理的拟水狼蛛,Cd+Bt 联合处理下的拟水狼蛛更多的 DEGs 富集的功能为卵母细胞减数分裂和氧化磷酸化,基本都为下调基因。Cd 和 Bt 蛋白对拟水狼蛛能量代谢产生不利影响,主要影响氧化磷酸化过程。Cd 和 Bt 蛋白影响拟水狼蛛减数分裂功能可能是 Cd+Bt 处理下对拟水狼蛛生长发育影响的潜在机制之一。

构建的 TF 调控基因的互作网络,在所有 DETs 家族中主要为 ZBTB(66 条 DEGs)以及 zf-C2H2(67 条 DEGs)2 种转录因子,这两类转录因子对于调节转录过程从而影响细胞增殖和迁移具有重要的作用^[23]。此外,越来越多的证据表明,TF 是 Cd 应激转录途径的关键下游效应子,能够触发 Cd 排毒基因的表达^[24]。类似的研究也发现,在 Cd 胁迫下,低温处理后拟水狼蛛体内与 ZBTB 转录因子家族相关的基因存在显著的差异表达,这被认为是调控蜘蛛适应性的一种机制^[21];因此,在 Cd+Bt 处理下,转录因子水平发生变化,从而通过调控转录等过程影响到转录和翻译相关通路,进而抑制蜘蛛的生长发育和激活抗氧化系统。

参考文献:

- [1] WANG P, CHEN H P, KOPITKE P M, et al. Cadmium contamination in agricultural soils of China and the impact on food safety[J]. Environmental Pollution, 2019, 249: 1038-1048.
- [2] ZOU M M, ZHOU S L, ZHOU Y J, et al. Cadmium pollution of soil-rice ecosystems in rice cultivation dominated regions in China: a review[J]. Environmental Pollution, 2021, 280: 116965.
- [3] GENCHI G, SINICROPI M S, LAURIA G, et al. The effects of cadmium toxicity[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(11): 3782.
- [4] RANI A, KUMAR A, LAL A, et al. Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review[J]. International Journal of Environmental Health Research, 2014, 24(4): 378-399.
- [5] DE ALMEIDA MELO A L, SOCCOL V T, SOCCOL C R. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2016, 36(2): 317-326.
- [6] LIN J H, YU X Q, WANG Q, et al. Immune responses to *Bacillus thuringiensis* in the midgut of the diamondback moth, *Plutella xylostella*[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2020, 107: 103661.
- [7] YANG H L, PENG Y D, TIAN J X, et al. Review: biosafety assessment of Bt rice and other Bt crops using spiders as example for non-target arthropods in China[J]. Plant Cell Reports, 2017, 36(4): 505-517.
- [8] ERALY D, HENDRICKX F, BACKELJAU T, et al. Direct and indirect effects of metal stress on physiology and life history variation in field populations of a lycosid spider[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,

- 2011, 74(6): 1489–1497.
- [9] LV B, YANG H L, PENG Y D, et al. Cadmium exposure alters expression of protective enzymes and protein processing genes in venom glands of the wolf spider *Pardosa pseudoannulata*[J]. Environmental Pollution, 2021, 268: 115847.
- [10] WANG J, PENG X J, YANG H L, et al. Multi-omics analysis of cadmium stress on the ovarian function of the wolf spider *Pardosa pseudoannulata*[J]. Chemosphere, 2020, 248: 125904.
- [11] BERNAL C C, AGUDA R M, COHEN M B. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2002, 102(1): 21–28.
- [12] LV B, ZHOU Y, PENG Y D, et al. Integrative analysis identifies the safety of transgenic Cry1Ab rice to non-target spider *Pardosa pseudoannulata*[J]. Biological Control, 2022, 168: 104873.
- [13] JOUZANI G S, VALIJANIAN E, SHARAFI R. *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, 101(7): 2691–2711.
- [14] WANG J, PENG Y D, YANG H L, et al. Biototoxicity of Cry1Ab protein on wolf spider *Pardosa pseudoannulata*[J]. Ecotoxicology, 2017, 26(10): 1336–1343.
- [15] BARAŃSKI M, SREDNICKA-TOBER D, VOLAKAKIS N, et al. Higher antioxidant and lower cadmium concentrations and lower incidence of pesticide residues in organically grown crops: a systematic literature review and meta-analyses[J]. The British Journal of Nutrition, 2014, 112(5): 794–811.
- [16] VENARDOS K M, PERKINS A, HEADRICK J, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review[J]. Current Medicinal Chemistry, 2007, 14(14): 1539–1549.
- [17] VALKO M, RHODES C J, MONCOL J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer[J]. Chemico-Biological Interactions, 2006, 160(1): 1–40.
- [18] BATTIN E E, BRUMAGHIM J L. Antioxidant activity of sulfur and selenium: a review of reactive oxygen species scavenging, glutathione peroxidase, and metal-binding antioxidant mechanisms[J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2009, 55(1): 1–23.
- [19] PROZIALECK W C, EDWARDS J R. Early biomarkers of cadmium exposure and nephrotoxicity[J]. BioMetals, 2010, 23(5): 793–809.
- [20] AUGUSTYNIAK M, BABCZYŃSKA A, AUGUSTYNIAK M. Oxidative stress in newly-hatched *Chorthippus brunneus*: the effects of zinc treatment during diapause, depending on the female's age and its origins[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2011, 154(3): 172–179.
- [21] LV B, WANG J, ZHUO J Z, et al. Transcriptome sequencing reveals the effects of cadmium toxicity on the cold tolerance of the wolf spider *Pirata subpiraticus*[J]. Chemosphere, 2020, 254: 126802.
- [22] WANG J, PENG Y D, HE C, et al. Cry1Ab-expressing rice did not influence expression of fecundity-related genes in the wolf spider *Pardosa pseudoannulata*[J]. Gene, 2016, 592(1): 1–7.
- [23] SPITZ F, FURLONG E E M. Transcription factors: from enhancer binding to developmental control[J]. Nature Reviews Genetics, 2012, 13(9): 613–626.
- [24] LIN T T, YANG W N, LU W, et al. Transcription factors PvERF15 and PvMTF-1 form a cadmium stress transcriptional pathway[J]. Plant Physiology, 2017, 173(3): 1565–1573.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗 维