

张 婷, 储俊东, 王 丹, 等. 急性低氧胁迫下中华绒螯蟹表皮基因表达谱分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(4): 724-732.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.04.011

急性低氧胁迫下中华绒螯蟹表皮基因表达谱分析

张 婷^{1,2}, 储俊东^{1,2}, 王 丹^{1,2}, 周 军², 邓燕飞², 张慧敏², 许建和¹, 李旭光²
(1. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 江苏 连云港 222005; 2. 江苏省淡水水产研究所/农业农村部淡水虾蟹遗传育种与养殖重点实验室, 江苏 南京 210017)

摘要: 为探究急性低氧胁迫下蜕壳后期中华绒螯蟹表皮基因表达响应特征, 本研究通过使用 Illumina 第二代测序技术, 检测了对照与急性低氧胁迫处理[(1.0±0.1 mg/L处理 1 h)]处于蜕壳后期的中华绒螯蟹表皮基因表达谱差异。结果表明, 急性低氧胁迫处理中华绒螯蟹蜕壳后期表皮基因与对照相比有 691 个差异表达, 主要富集在角质层结构成分、几丁质结合等生理活动和氮代谢、甘油酯代谢、糖酵解途径等代谢通路, 从中筛选出 9 个显著差异表达基因, 并进行了实时荧光定量 PCR 验证。本研究结果初步阐明了处于蜕壳后期的中华绒螯蟹表皮应对急性低氧胁迫的分子机制, 为后续深入开展低氧胁迫对中华绒螯蟹蜕壳生长的影响奠定了基础。

关键词: 中华绒螯蟹; 急性低氧胁迫; 蜕壳后期; 表皮基因; 转录组分析

中图分类号: TP391; S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)04-0724-09

Gene expression profile analysis of *Eriocheir sinensis* cuticle under acute hypoxia stress

ZHANG Ting^{1,2}, CHU Jundong^{1,2}, WANG Dan^{1,2}, ZHOU Jun², DENG Yanfei², ZHANG Huimin², XU Jianhe¹, LI Xuguang²

(1. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China; 2. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province/Key Laboratory of Genetic Breeding and Cultivation for Freshwater Crustacean, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210017, China)

Abstract: To investigate the gene expression response in the cuticle of *Eriocheir sinensis* during the post-molt stage under acute hypoxia stress, this study utilized Illumina second-generation sequencing technology to detect the gene expression profiles between the control and the acute hypoxia stress treatment, namely (1.0±0.1) mg/L for 1 h. The results showed that compared with the control, a total of 691 differentially expressed genes were identified in the acute hypoxia stress treatment. These differentially expressed genes were mainly enriched in physiological activities such as cuticle structural components,

chitin binding, and metabolic pathways such as nitrogen metabolism, glyceride metabolism, and glycolysis pathway. Nine significantly differentially expressed genes were screened and verified by real-time fluorescence quantitative PCR. The results of this study preliminarily clarify the molecular response mechanism of cuticle in *E. sinensis* at the post-molt stage to acute hypoxia stress, laying the foundation for further investigation into the effects of hypoxia stress on the molting and growth of *E. sinensis*.

收稿日期: 2024-08-30

基金项目: 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目[JBCS(2021)031、JBCS(2021)125]; “十四五”国家重点研发计划项目(2022YFD2400700); 江苏省碳达峰碳中和科技创新专项资金项目(SBE2022350035); 江苏海洋大学研究生科研与实践创新计划项目(KYCX2023-103)

作者简介: 张 婷(1999-), 女, 山西大同人, 硕士研究生, 主要从事甲壳动物养殖研究。(E-mail) braveting04@163.com

通讯作者: 李旭光, (E-mail) xuguangli1981@163.com

Key words: *Eriocheir sinensis*; acute hypoxia stress; post-molt stage; cuticle genes; transcriptome analysis

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 又称河蟹, 隶属于节肢动物门、甲壳纲、十足目, 广泛分布于中国东南部沿海的咸淡水与淡水水域, 是中国重要的经济养殖蟹类^[1]。2023 年全国中华绒螯蟹养殖面积约 $5.33 \times 10^5 \text{ hm}^2$, 产量达 $8.886 \times 10^5 \text{ t}$ ^[2]。蜕壳贯穿中华绒螯蟹生活史, 与其生长、发育密切相关^[3]。蜕壳周期包括蜕壳前期、蜕壳期、蜕壳后期(包括 I、II 两个阶段) 和蜕壳间期, 其中蜕壳后期第 I 阶段中华绒螯蟹的新表皮柔软, 吸水后能够迅速延展扩张, 从而实现跨越式增长, 但与此同时, 此期中华绒螯蟹易受到低氧等不良环境的胁迫, 导致其蜕壳生长率下降, 蜕壳死亡率升高, 因此蜕壳后期第 I 阶段是决定中华绒螯蟹“生死存亡”的关键时期。

溶解氧是甲壳类动物蜕壳生长的关键限制因子^[4]。低氧胁迫会激活非特异性免疫, 引起氧化应激损伤, 改变能量代谢分配, 抑制蜕壳生长, 甚至导致死亡。低氧胁迫可导致凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*)^[5]、斑节对虾 (*Penaeus monodon*)、小长臂虾 (*Palaemonetes vulgaris*)^[6] 生长速率显著降低, 蜕壳次数减少, 造成太平洋蓝蟹 (*Callinectes sapidus*)^[7]、佛罗里达石蟹 (*Menippe mercenaria*)^[8] 和中华绒螯蟹等甲壳类动物死亡率升高。近年来, 随着高通量测序技术的迅速发展, 多组学分析已被广泛应用于甲壳类动物应对低氧胁迫的分子生物学机制研究。曹梅等^[9]报道了低氧胁迫诱导脊尾白虾产生低氧诱导因子调控下游基因表达, 促进厌氧代谢, 缓解虾体对缺氧的不适, 而低氧诱导因子可通过抑制线粒体生物合成和活化线粒体自噬系统来降低线粒体耗氧; Jiang 等^[10]发现低氧胁迫损害中华绒螯蟹肠组织结构, 减少了肠道上皮杯状细胞的数量, 降低了肠道微生物区系的多样性和相对丰度。此外, 低氧胁迫诱导中华绒螯蟹胸神经节神经组织中游离谷氨酸和 γ -氨基丁酸 (GABA) 含量升高^[11], 破坏血淋巴细胞的酚氧化酶免疫系统, 引起血淋巴细胞坏死, 加速病原菌的感染, 导致中华绒螯蟹死亡速度加快^[12]。然而, 关于急性低氧对中华绒螯蟹蜕壳胁迫, 尤其是蜕壳后期表皮组织的分子响应机制的研究还很少。

本试验基于 Illumina 第二代测序技术, 对处于蜕壳后期的中华绒螯蟹低氧胁迫下的表皮组织转录

组进行测序, 筛选低氧胁迫下中华绒螯蟹蜕壳后期表皮组织的相关差异表达基因, 鉴定抵抗低氧胁迫的相关候选基因, 讨论中华绒螯蟹蜕壳期间响应低氧胁迫的机制, 为后续深入开展低氧胁迫对中华绒螯蟹蜕壳生长的影响奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验对象

中华绒螯蟹样本采集于江苏省淡水水产研究所扬中基地, 450 只中华绒螯蟹规格均为 $(30.5 \pm 2.5) \text{ g}$, 分别置于 12 个容量为 200 L 的水族箱中曝气暂养 7 d。水温维持在 $26 \text{ }^\circ\text{C}$ 左右, 水中溶解氧含量为 $(6.8 \pm 0.1) \text{ mg/L}$, pH 为 7.5 ± 0.4 , 采用自然光源。期间用标准颗粒饲料定时投喂, 每天进行换水吸污。

1.2 低氧胁迫处理

根据中华绒螯蟹壳色与硬度形态学特征, 结合甲壳类动物分期方法^[13], 判别和收集处于蜕壳前期的中华绒螯蟹, 在此基础上通过换水诱导其蜕壳, 选取 10 只处于蜕壳后期第 I 阶段的中华绒螯蟹, 将试验样品随机分成 2 组: 低氧处理 ($n=5$) 覆盖保鲜膜、通入氮气使中华绒螯蟹处于水体溶解氧含量为 $(1.0 \pm 0.1) \text{ mg/L}$ 的低氧环境 1 h; 对照 ($n=5$) 通过电动增氧机增氧, 保持水体溶解氧的含量为 $(6.8 \pm 0.1) \text{ mg/L}$ 。处理期间使用 HQ40D 型便携多参数水质分析仪 (美国哈希公司产品) 检测水体溶解氧含量, 配备电动增氧机, 从而有效保证水体中溶解氧含量, 避免由于中华绒螯蟹本身的呼吸而造成水体溶解氧不足。处理 1 h 后随机收集每组 3 只中华绒螯蟹头胸甲表皮组织用于项目测定, 液氮速冻 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 储存备用。

1.3 总 RNA 的提取

应用 Trizol 法提取中华绒螯蟹表皮总 RNA, 凝胶电泳后用安捷伦 2100 生物分析仪 (美国安捷伦科技公司产品) 测量总 RNA 的纯度、质量浓度和完整性, 以总量 $\geq 1 \text{ } \mu\text{g}$ 、质量浓度 $\geq 35 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 、 $OD_{260}/OD_{280} \geq 1.8$ 、 $OD_{260}/OD_{230} \geq 1.0$ 为标准鉴定总 RNA 质量, 合格后用于建库。

1.4 转录组数据预处理与拼接

从中华绒螯蟹总 RNA 中分离并通过 Oligo dT 富集获得 mRNA, 用于分析转录组信息。然后通过

Fragmentation buffer 和磁珠得到 300 bp 左右的小片段。接着,使用逆转录酶及六碱基随机引物进行处理,得到稳定双链结构后用 End Repair Mix 补成平末端,碱基 A 被添加到 3'末端成为接头。最后 Illumina 平台对中华绒螯蟹低氧组织 cDNA 文库完成上机测序,使用 Trinity (<http://trinityrnaseq.sourceforge.net>) 对所有样本清洁数据 (Clean data) 进行从头组装,并对组装结果进行优化评估。

1.5 转录组注释

通过 BLAST 软件对转录本在 NCBI 中的 NR 数据库、Swissprot 数据库、GO 数据库、EggNOG 数据库和 KEGG 数据库中进行全面注释。测序获得的 Unigenes 的开放阅读框 (ORF) 采用 Trinity 方法进行预测。

1.6 转录组中差异表达基因的筛选

为了筛选低氧胁迫下中华绒螯蟹蜕壳后期表皮中差异表达的基因,将两组间发生差异表达的基因应用 DESeq 2 软件 (阈值为: $|\log_2 FC| \geq 1$ 、 $P_{adjust} < 0.05$) 进行筛选 (FC : 差异倍数, P_{adjust} : 校正后的 P 值)。

1.7 qRT-PCR 验证

从表 1 可知,对富集通路中 9 个显著差异表达的基因 (DEG) 进行定量分析以进一步验证测序的准确性,其中包括前 3 通路中 6 个上调表达的基因: 钙相关表皮蛋白 (CAP47、CAP8、CAP19、CAP21) 基因和弹性蛋白多肽 (RLP1、RLP2) 基因; 3 个下调表达的基因: 碳酸酐酶 (CA2、CA13) 基因和淀粉酶 (*amyA*) 基因。以 β -Actin 为内参基因所筛选的引物序列用于鉴定相关基因的相对表达量,每组进行 3 个重复 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 转录组的测序和组装

使用 Illumina 平台对对照、低氧胁迫处理中华绒螯蟹蜕壳后期的表皮组织进行高通量测序。筛选获得 96.78 Gb Clean data, Q30 碱基百分比在 91.92% 以上, G+C 含量为 50.74%~55.80%。测序组装后得到平均长度为 1 828 bp 的中华绒螯蟹相关基因 95 015 个。基于统计数据,对基因进行 EggNOG 功能分类统计,结果如图 1 所示。对这些经过拼接的基因序列进行 GO、KEGG、EggNOG、NR、Swiss-Prot 以及 Pfam 注释,对应得到 15 387 个 (25.06%)、

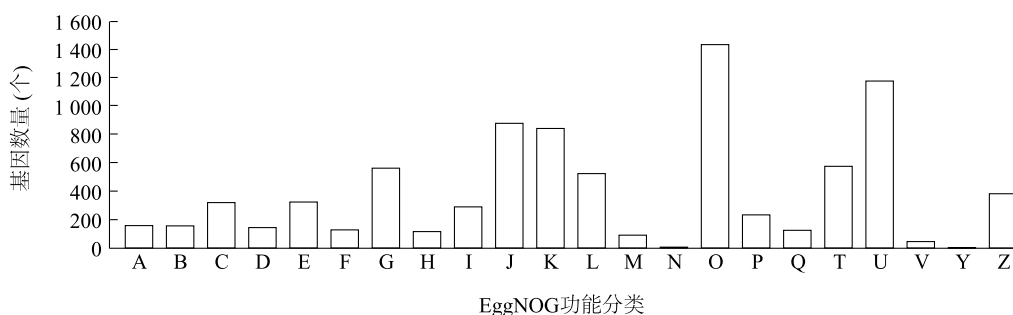
11 883 个 (19.35%)、16 833 个 (27.41%)、19 973 (32.53%)、14 903 个 (24.27%) 和 16 361 个 (26.64%) 注释结果 (图 2A)。根据 NR 数据库的匹配结果可知,有 58.37% 的基因表现出与凡纳滨对虾基因类似,而中华绒螯蟹的基因表现出了 1.84% 的类似基因 (图 2B)。

表 1 荧光定量 PCR 所用引物

Table 1 Primers for fluorescence quantitative PCR

引物	引物序列 (5'→3')
CAP47-F	TCCGACACAGTGTTCAGCTACGA
CAP47-R	TGTAGGAGCCCTCCACCTTCTTG
CAP8-F	AGGAGAACAGCGACGGCAACA
CAP8-R	GTCAGCCTCGTAGTTCACGGTCT
CAP19-F	TCTCAAGTCTGCTCTGTGTCC
CAP19-R	CTCCTGGGCACCGAAGTCGTTA
CAP21-F	ACGCCGTGAAGGACGACTATTTC
CAP21-R	AGTAGGTGCCCTGGGTGTGTGA
RLP1-F	CGTGTCCGACTGGTGGTTCAA
RLP1-R	CCGTTGCCGTTCTACCGTTAC
RLP2-F	TCGTCTCAGGCTAGGCCATCT
RLP2-R	TCCGTCCGTCGCTGTCTCTAC
CA2-F	GAGCACACCGTGAATGGCAACA
CA2-R	TCCTCCGAAGACAGTCCAGCAT
CA13-F	ACGGCACCTACTGGACATACGG
CA13-R	GCCGGTAGTTCTCCACGAGTTCT
<i>amyA</i> -F	CCAACTCAAGTGGCTGGTCAACT
<i>amyA</i> -R	TGTCTCGCTGTTATCGTGGTT
β -Actin-F	GCATCCACGAGACCACTTACA
β -Actin-R	CTCCTGCTTGCTGATCCACATC

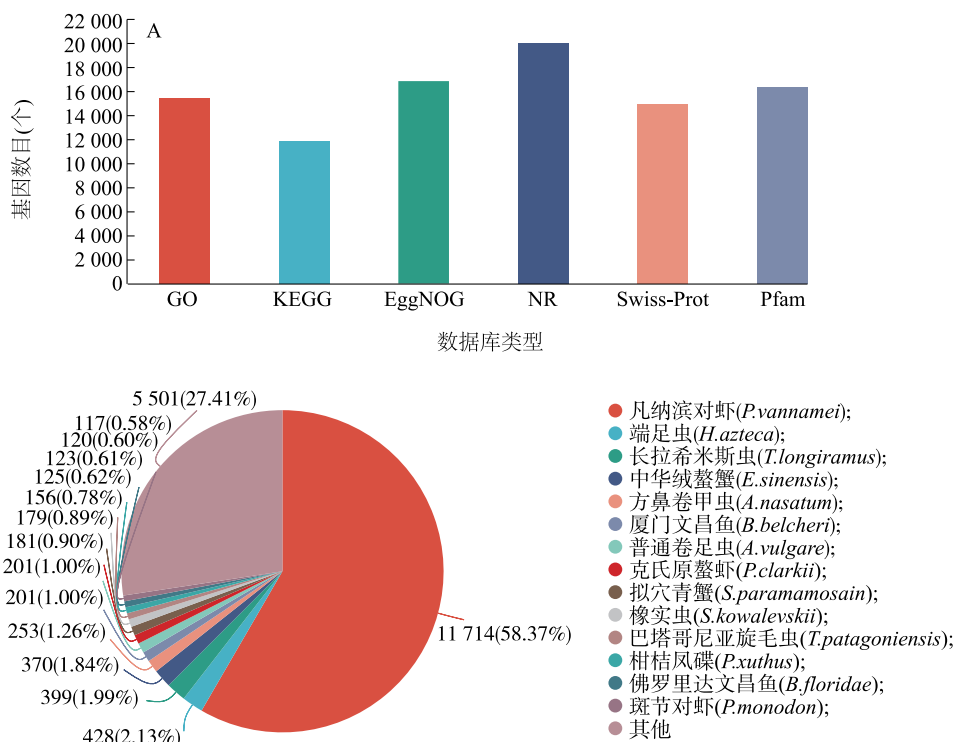
在本试验中,按照 GO 分类,共有 57 338 个 Unigenes 归类到 3 个功能类别,共计 49 个功能集合 (图 3A)。其中,细胞成分类别有 15 个、生物过程类别有 21 个、分子功能类别有 13 个。此外,共有 18 994 个 Unigenes 与 KEGG 注释相匹配,并且富集到新陈代谢、组织系统、细胞过程、人类疾病、遗传信息处理和环境信息处理这 6 大类生物学功能中,其中富集基因最多的通路分别是碳水化合物代谢 (580 个)、内分泌系统 (856 个)、运输和代谢 (938 个)、癌症概述 (1 008 个)、翻译 (1 210 个) 以及信号转导 (1 480 个) (图 3B)。



A: RNA 加工和修饰; B: 染色体结构和动力; C: 能量产生与转换; D: 细胞周期控制、细胞分裂和染色体分裂; E: 氨基酸转运和代谢; F: 核酸转运和代谢; G: 碳水化合物转运和代谢; H: 辅酶转运和代谢; I: 脂质转运和代谢; J: 翻译, 核糖体结构与合成; K: 转录; L: 复制、合成、修复; M: 细胞壁与细胞膜合成; N: 细胞运动; O: 翻译后修饰, 蛋白质转运; P: 无机离子转运和代谢; Q: 次要代谢物合成、代谢以及转运; T: 信号转导; U: 胞内转运, 分泌及小泡运输; V: 防御机制; Y: 核酸结构; Z: 细胞骨架。

图1 EggNOG 功能分类统计柱状图

Fig.1 EggNOG functional classification statistical histogram



A: 注释到各数据库的功能基因数目柱状图; B: 与 NR 数据库的物种类别的基因注释匹配饼状图。数字与比例分别代表在 NR 数据库中 Unigenes 与不同物种之间相似基因的数量与占比。

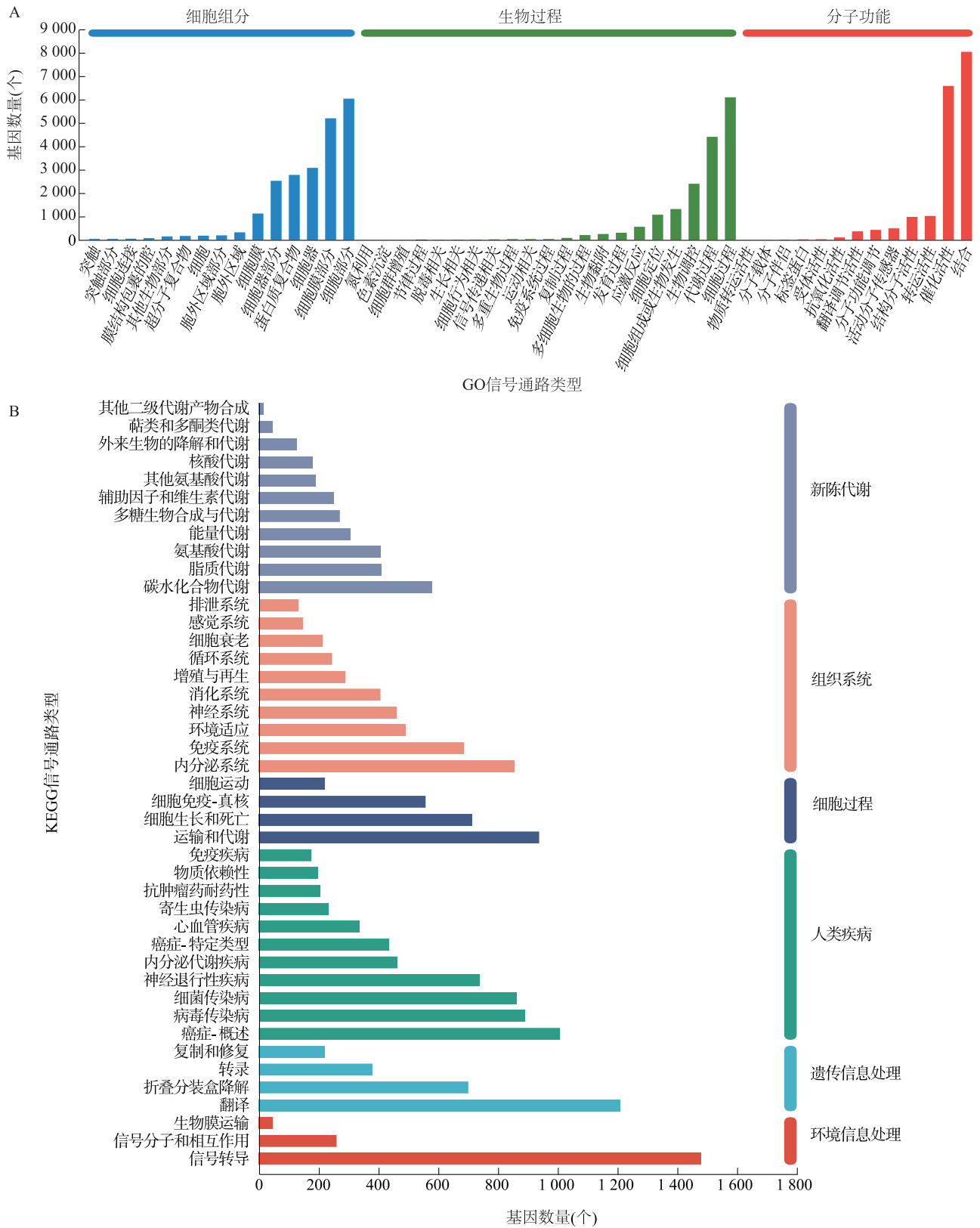
图2 Unigenes 功能注释统计分析

Fig.2 Functional annotation analysis of Unigenes

2.2 差异基因的富集分析

通过以 2.0 倍 ($P < 0.05$) 为阈值筛选低氧胁迫处理中华绒螯蟹蜕壳后期表皮中差异表达的基因, 结果显示, 有 691 个差异表达基因, 其中 381 个基因表达上调, 310 个基因表达下调 (图 4)。在 GO 富集

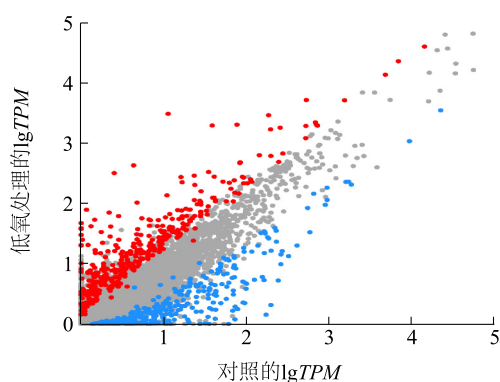
分析中可以发现, 差异表达的基因主要集中于角质层结构成分、细胞外区域、几丁质结合等生理活动 (图 5A)。在 KEGG 数据库中富集主要体现在氮代谢、甘油酯代谢等代谢相关通路, 以及胰腺分泌等组织系统通路 (图 5B)。



A: GO 分类统计图;B:KEGG 分类统计柱状图。

图3 Unigenes 的 GO 和 KEGG 分析

Fig.3 GO and KEGG analysis of Unigenes



红蓝点分别代表上调及下调表达基因,灰色点代表表达没有变化的基因;横坐标代表对照差异表达基因的可视化程度,纵坐标代表低氧处理差异表达基因的可视化程度(以lgTPM表示)。TPM:每百万转录本。

图4 低氧胁迫处理与对照间差异表达基因分布趋势

Fig.4 The distribution trend of differentially expressed genes between acute hypoxia stress treatment and control

2.3 qRT-PCR 验证分析

经过 qRT-PCR 分析,转录组数据中的 9 个基因表达存在显著差异,并且这些基因的表达水平(包括上调和下调的趋势)与 RNA-Seq 分析结果相吻合,如图 6 所示。

3 讨论

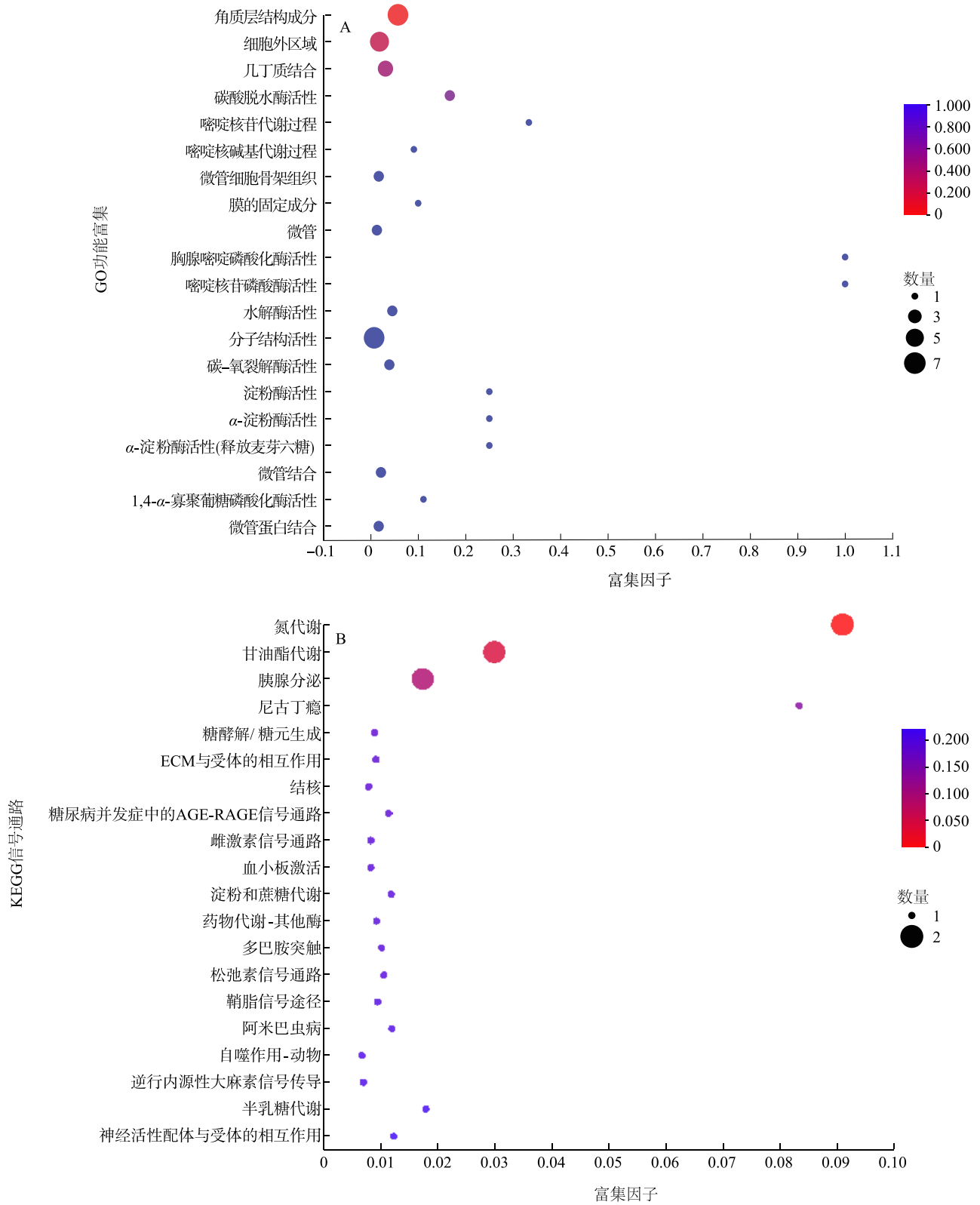
甲壳类动物具有坚硬的外骨骼,能够防御病原物侵袭和不利环境的危害,为机体提供保护和支撑,但硬化的外骨骼也限制了其生长,所以甲壳类动物在生长发育期间普遍需要进行周期性蜕壳并合成新表皮。蜕壳后期的新表皮吸水后能够迅速延展扩张,从而实现跨越式增长,但与此同时,失去外骨骼防护的机体也最容易受到环境胁迫。在中华绒螯蟹养殖过程中,水体溶解氧昼夜波动大,空间分布不均,直接影响着中华绒螯蟹的规格与产量,但目前缺乏蜕壳后期中华绒螯蟹表皮组织应对低氧胁迫分子机制的研究。本研究通过转录组测序分析中华绒螯蟹蜕壳后期表皮基因应对低氧胁迫的表达响应,共筛选出 691 个差异表达基因,涉及角质层结构成分、几丁质结合、氮代谢、甘油酯代谢、糖酵解途径等。

蜕壳伴随着新表皮的合成与硬化。表皮蛋白作为甲壳动物表皮中重要的结构性蛋白质,与几丁质螺旋堆叠相互作用,形成稳定表皮的复杂结构^[14]。在本研究中,低氧胁迫下中华绒螯蟹表皮蛋白弹性

蛋白多肽(RLP)和钙化相关肽(CAP)基因的表达显著上调,这与 Graham 等^[15]和 Tang 等^[16]在虎斑猛水蚤(*Tigriopus californicus*)及松墨天牛(*Monochamus alternatus*)上的研究结果相一致。弹性蛋白多肽通过氨基酸双酪氨酸和三酪氨酸的间隔共价交联在一起,与几丁质形成具有高度灵活性和流动性的复合物。在水生甲壳类动物中,RLP 主要分布于表皮软组织和关节部位,通过与几丁质结合影响表皮形态,进而影响渗透压及溶解氧^[17];在陆生昆虫中,RLP 主要分布于气管顶端细胞外基质层,低氧胁迫引起弹性蛋白多肽表达显著上调,气管导管顶端细胞外基质增厚,维持气管形态结构与氧气供应,敲除弹性蛋白肽基因,降低弹性蛋白多肽含量导致顶端细胞外基质变薄,气管弹性下降,造成供氧不足。CAP 通过 R&R 结构域与几丁质相结合,多肽 N 端和 C 端区域延伸至纤维间隙,形成水填充的非共价键网络,对保持表皮的柔韧性不可或缺^[18]。高茜^[19]研究发现,中华锯齿米虾 CAP 主要在蜕壳前期和蜕壳后期表达,敲除钙相关表皮蛋白基因 *Nd-CAP-1* 后,会导致中华锯齿米虾蜕壳前期步足刚毛伸展不流畅,出现卷曲;敲除钙相关表皮蛋白基因 *NdCAP-2* 后,蜕壳后期中华锯齿米虾步足表面凹凸不平,出现大面积的褶皱。本研究中急性低氧胁迫下中华绒螯蟹表皮蛋白 RLP 和 CAP 显著上调,暗示低氧胁迫通过干预表皮蛋白 RLP 和 CAP 的合成进而影响外骨骼的形态结构。

碳酸酐酶(CA)催化二氧化碳(CO₂)水合为碳酸氢盐(HCO₃⁻)和质子(H⁺)的反应,在机体内的生物矿化过程中起着关键作用。在缺氧环境下,细胞通过调节转录因子 HIF-1 α 增加碳酸酐酶产生,形成细胞微环境的酸性缺氧特征。Calhoun 等^[20]报道了蜕壳周期中蓝蟹(*Callinectes sapidus*)碳酸酐酶活性与表皮组织中的钙、镁含量呈显著正相关,表明碳酸酐酶参与甲壳类动物外骨骼的矿化。Ostrowski 等^[21]进一步研究发现,注射外源蜕壳激素能提高碳酸酐酶基因的表达,进而影响青蟹外骨骼矿化速度。本研究中低氧胁迫下中华绒螯蟹表皮碳酸酐酶 *CA2* 和 *CA13* 表达显著下调,可能会抑制外骨骼矿化,导致蜕壳周期时间延长,这与戴恬美^[22]的研究结果一致。

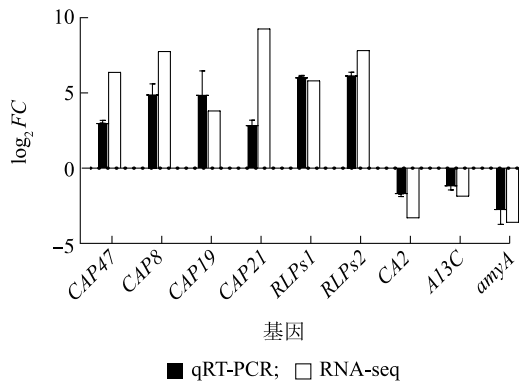
低氧胁迫不仅会影响甲壳类动物表皮角质层形成与矿化,还会改变能量代谢途径。在低氧胁迫下



A: 差异表达基因的 GO 富集分析; B: 差异表达基因的 KEGG 通路富集图。

图 5 差异表达基因的富集分析

Fig.5 Enrichment analysis of differentially expressed genes



FC:基因表达差异倍数。

图6 qRT-PCR 验证差异表达基因的表达结果

Fig.6 Validation of expression results of differentially expressed genes by qRT-PCR

甲壳类动物的消化分解类活性受到抑制,有氧糖代谢趋于减弱,糖酵解和无氧糖代谢的相关通路代谢增强。无氧代谢能迅速提供能量,减少氧气消耗,是对低氧胁迫下能量代谢的适应。淀粉酶是水生动物生长发育中不可缺少的水解酶^[23]。石华洪等^[24]研究发现,淀粉酶等消化酶类活性随着溶解氧浓度降低而降低;Patkaew 等^[25]研究发现,过饱和溶解氧会增强凡纳滨对虾 α -淀粉酶的活性。本研究中的淀粉酶(*amyA*)基因表达下调,说明中华绒螯蟹从有氧糖代谢转向糖酵解厌氧途径以产生能量来临时补充蜕壳所需的能量,表明中华绒螯蟹在低氧应激反应中调整了能量代谢。

4 结论

本研究报道了急性低氧胁迫下蜕壳后期中华绒螯蟹表皮基因表达谱,并对基因富集重点通路和差异表达基因的功能进行了分析,初步阐明在急性低氧胁迫下,中华绒螯蟹处于蜕壳后期的表皮应对低氧胁迫的分子水平响应机制。但由于缺乏长周期低氧胁迫与中华绒螯蟹蜕壳关系的认识,后续将进一步验证长期低氧胁迫对中华绒螯蟹蜕壳的影响,为中华绒螯蟹大规模养殖提供参考依据。

参考文献:

[1] 姜晓东,成永旭,潘建林,等. 中国长江与荷兰野生中华绒螯蟹的头胸甲形态特征比较[J]. 淡水渔业,2020,50(1):38-43.
[2] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2024 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社,2024.

社,2024;24.
[3] 李旭光,周刚,谷孝鸿. 水生甲壳类蜕皮发生过程及其影响因素的研究与进展[J]. 动物学杂志,2014,49(2):294-302.
[4] ABDEL-TAWWAB M, MONIER M N, HOSEINIFAR S H, et al. Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2019, 45(3):997-1013.
[5] SEIDMAN E R, LAWRENCE A L. Growth, feed digestibility, and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels[J]. Journal of the World Mariculture Society, 1985, 16(1/2/3/4):333-346.
[6] COIRO L L, POUCHER S L, MILLER D C. Hypoxic effects on growth of *Palaemonetes vulgaris* larvae and other species; using constant exposure data to estimate cyclic exposure response[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 247(2):243-255.
[7] TOMASETTI S J, MORRELL B K, MERLO L R, et al. Individual and combined effects of low dissolved oxygen and low pH on survival of early stage larval blue crabs, *Callinectes sapidus*[J]. PLoS One, 2018, 13(12):e0208629.
[8] GRAVINESE P M, MUNLEY M K, KAHMANN G, et al. The effects of prolonged exposure to hypoxia and *Florida* red tide (*Karenia brevis*) on the survival and activity of stone crabs[J]. Harmful Algae, 2020, 98:101897.
[9] 曹梅,王兴强,秦传新,等. 脊尾白虾对低氧响应的转录组学分析[J]. 渔业科学进展,2021,42(2):112-123.
[10] JIANG S, ZHANG W J, QIAN X B, et al. Effects of hypoxia and reoxygenation on apoptosis, oxidative stress, immune response and gut microbiota of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Aquatic Toxicology, 2023, 260:106556.
[11] ZHANG C, WANG X D, HE J Q, et al. Neural excitotoxicity and the toxic mechanism induced by acute hypoxia in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Aquatic Toxicology, 2022, 245:106131.
[12] 候利波,陆银月,任秋霖,等. 低氧胁迫下中华绒螯蟹血淋巴细胞的转录组学[J]. 水产学报,2023,47(4):25-39.
[13] 田志环,成永旭,吴旭干,等. 中华绒螯蟹蜕壳过程中肌肉的组织学、超微结构及主要蛋白质含量的变化[J]. 水生生物学报,2017,41(5):1036-1041.
[14] 张建珍,朱坤炎. 昆虫表皮发育与害虫防治[M]. 北京:科学出版社,2024.
[15] GRAHAM A M, BARRETO F S. Loss of the HIF pathway in a widely distributed intertidal crustacean, the copepod *Tigriopus californicus*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(26):12913-12918.
[16] TANG X, ZHOU J, KOSKI T M, et al. Hypoxia-induced tracheal elasticity in vector beetle facilitates the loading of pinewood nematode[J]. ELife, 2023, 12:e84621.
[17] MICHELS J, APPEL E, GORB S N. Functional diversity of resilin

- in Arthropoda[J]. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 2016, 7: 1241-1259.
- [18] 储俊东,刁澎云,李旭光,等. 中华绒螯蟹表皮蛋白基因 *EsCAP* 的克隆与表达分析[J]. *江苏农业科学*, 2021, 49(8): 74-80.
- [19] 高茜. 中华锯齿米虾钙相关表皮蛋白基因的功能研究[D]. 保定:河北大学, 2023.
- [20] CALHOUN S, ZOU E M. Epidermal carbonic anhydrase activity and exoskeletal metal content during the molting cycle of the blue crab, *Callinectes sapidus* [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 2016, 325(3): 200-208.
- [21] OSTROWSKI A, ZOU E M. Exogenous 20-hydroxyecdysone induces epidermal carbonic anhydrase but inhibits exoskeletal calcification in the post-ecdysial blue crab, *Callinectes sapidus* [J]. *Gen-eral and Comparative Endocrinology*, 2018, 268: 57-63.
- [22] 戴恬美. 温度诱导烟粉虱 DNA 甲基化的特征和 *Dnmt1* 基因温度耐受性功能的鉴定[D]. 北京:中国农业科学院, 2015.
- [23] GUPTA R, GIGRAS P, MOHAPATRA H, et al. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective [J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38(11): 1599-1616.
- [24] 石华洪,苗亮,李明云,等. 水体低氧对香鱼幼鱼生长和消化酶活性的影响[J]. *生命科学研究*, 2019, 23(6): 469-475.
- [25] PATKAEW S, DIREKBUSARAKOM S, HIRONO I, et al. Effect of supersaturated dissolved oxygen on growth-, survival-, and immune-related gene expression of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Veterinary World*, 2024, 17(1): 50-58.

(责任编辑:黄克玲)