

# 南极鱼类多样性和适应性进化研究进展

许强华<sup>1, 3, 4</sup> 吴智超<sup>1, 2</sup> 陈良标<sup>1, 2\*</sup>

1 (上海海洋大学海洋科学学院, 水产与生命学院, 上海 201306)

2 (水产种质资源发掘与利用省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

3 (大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

4 (国家远洋渔业工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:** 南极地区是地球上唯一未被人类活动大量影响的地区, 其极端寒冷的环境为南极生物的进化提供了“温床”。过去三千万年间, 南极鱼亚目鱼类在南极海洋逐渐变冷的过程中快速进化, 从一个温暖海域的底栖祖先分化成南极海域最为多样化的鱼类类群。由于其在南极圈内和南极圈外的各种温度区间都有分布, 因而成为研究鱼类适应性进化和耐寒机制的良好生物模型。本文综述了有关南极海域鱼类区系组成与物种多样性现状, 南极鱼亚目鱼类适应低温的一系列特化的生物学性状及其关键的遗传进化机制。现有研究表明: 南极鱼类在几千万年零度以下低温环境的进化中发生了大量基因的大规模扩增和基因表达的改变, 如铁调素、卵壳蛋白和逆转座子等118个基因发生了显著的扩增。另外, 有些从南极鱼中获得的抗寒基因已经用于提高动植物低温抗性的研究并取得了良好的效果。在今后的几年中, 将会有多个南极鱼物种的全基因组得到破译, 在低温适应相关基因的功能和进化方面的研究也会更加深入, 这些研究将深入揭示低温压力下基因组的进化规律以及鱼类低温适应的分子机制。

**关键词:** 南极海域, 南极鱼亚目鱼类, 多样性, 适应性进化

## Biodiversity and adaptive evolution of Antarctic notothenioid fishes

Qianghua Xu<sup>1, 3, 4</sup>, Zhichao Wu<sup>1, 2</sup>, Liangbiao Chen<sup>1, 2\*</sup>

1 College of Marine Sciences, College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306

2 Key Laboratory of Aquaculture Resources and Utilization, Ministry of Education, Shanghai 201306

3 Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306

4 National Distant-water Fisheries Engineering Research Center, Shanghai 201306

**Abstract:** The sea surrounding the Antarctic continent is one of the coldest regions in the world. It provides an environmentally unique and isolated “hotbed” for evolution to take place. In the past 30 million years, species of Perciform suborder Notothenioidei evolved and diversified from a benthic and temperate-water ancestor, and now dominate the fish fauna of the coldest ocean. Because of their distribution across temperature zones both inside and outside the Antarctic Polar Front, notothenioid fishes are regarded as excellent model organisms for exploring mechanisms of adaptive evolution, particularly cold adaptation. We first summarize research progress on the biodiversity of Antarctic fish and then review current findings on the peculiar biological characteristics of Antarctic notothenioids that evolved in response to a freezing environment. Research has revealed that extensive gene duplication and transcriptomic changes occurred during the adaptive radiation of notothenioid fish. Examples of highly duplicated genes in the Antarctic lineages include genes encoding hepcidin, and zona pellucida proteins, in addition to various retrotransposable elements. A few genes from Antarctic notothenioid fishes have been used as transgenes and demonstrated to be effective in making transgenic plants cold-hardy. In the coming years, the genomes of some Antarctic notothenioid species will be fully sequenced and the adaptive functions of duplicated genes will be further elucidated. Such studies will deepen our understanding of how genomes evolve in freezing environments, and provide an improved knowledge of molecular mechanisms of cold adaptation.

**Key words:** the Southern Ocean, Antarctic notothenioid fishes, diversity, adaptive evolution

收稿日期: 2013-11-07; 接受日期: 2014-01-17

基金项目: 国家自然科学基金国际合作项目(30910103906)、国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91131006)、上海市教委水产学一流学科项目。

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: lbchen@shou.edu.cn

在前寒武纪后期的大约5亿9千万年前, 南极洲与非洲、南美洲、澳大利亚、印度、阿拉伯半岛还没有分离, 都属于超级大陆冈瓦纳的一部分。从中生代晚期开始, 剧烈的板块活动使得冈瓦纳大陆逐渐解体, 新生代期间南极大陆缓慢漂移到现在的地理位置(Scher & Martin, 2006)。在此过程中, 南极大陆的气候逐渐变冷并开始被厚厚的冰雪覆盖(Clarke & Crame, 1989; Francis & Poole, 2002)。伴随着德雷克海峡的打开, 环绕南极的洋流开始形成。作为世界上最强的海洋环流, 南极绕极流(the Antarctic Circumpolar Current, ACC)在一定程度上阻碍了南极海域与其他海域的交流, 南极圈内的海水温度比南极圈北面的海水温度低3℃, 是一面极佳的热量交流屏障(Eastman, 1993)。南大洋(the Southern Ocean)是指从南极大陆海岸线一直到60°S之间的海域, 其海水温度常年维持在0℃以下。随着南大洋水温的不断降低, 原本生活于其内的大多数生物都逐渐走向灭绝, 只有极少数能够适应极端环境的独特生命形态存留下来(Shevenell *et al.*, 2004)。这些特有的生物在形态、生理、生化方面都发生了其他温带海域海洋生物所不曾经历的适应性进化, 使它们得以在低温条件下生存并繁衍至今。

南极鱼类(Antarctic notothenioids)通常指的是生活在南大洋的鲈形目南极鱼亚目鱼类。作为为数不多的能够生活在南大洋的类群, 南极鱼类在长期的进化过程中发生了一系列细胞、分子和基因组水平上的改变, 以适应南大洋冰冷的环境。这些适应性变化包括现有基因的改造和新基因的获得, 如酶的改造和抗冻糖蛋白的进化(Chen *et al.*, 1997), 以及一些必需基因功能的衰退甚至丢失, 如热休克反应的丧失(Hofmann *et al.*, 2000)、鳕冰鱼科鱼类血红蛋白及肌红蛋白基因的丢失等(Sidell & O'Brien, 2006)。那么, 造就这些特殊性状和生态优势的遗传和进化机制是什么? 对此, 科学家们对一些分类地位相近却生活在不同海域的南极鱼亚目鱼类进行了比较研究, 以揭示环境与基因组和蛋白质组的进化关系。下面我们针对近年来有关南大洋鱼类区系物种多样性与适应性进化的研究进展做一归纳总结, 以期为进一步开展鱼类在极端环境下的适应与进化研究提供借鉴。

## 1 南大洋鱼类区系组成与物种多样性

根据南极科学研究委员会生物多样性信息网络

(the Marine Biodiversity Information Network of the Scientific Committee on Antarctic Research, SCAR-MarBIN, <http://www.scarmarbin.be/index.php>)最新的统计资料(De Broyer *et al.*, 2013), 截止到2013年, 南大洋共发现鱼类357种。南大洋面积虽占全球海洋面积的10%, 但其中的鱼类种数却仅占全球鱼类总种数的1.3%(Eastman, 2005)。与其他冷水性海域(如北大西洋)相比, 南大洋的鱼类显得极其稀少, 特别是近表层鱼类更为缺乏。生活在中层种类主要为灯笼鱼科种类, 共包括33种, 其中数量最为丰富的是南极电灯鱼(*Electrona antarctica*) (Van de Putte *et al.*, 2012)。Skora和Neyelov(1992)发现随着水深的增加, 鱼的种类增多, 甚至在水深2,000 m处都有鱼类生存(Iwami & Kock, 1990)。底栖物种主要包括南极鱼亚目、鳕形目鳕科、鳕目鳕科、鲉形目狮子鱼科和绵鲷亚目绵鲷科鱼类, 种类最多的是南极鱼亚目、绵鲷科以及狮子鱼科, 占有鱼类种数的87.8%(Eastman, 2005)。其中, 南极鱼亚目由共同的营底栖生活的温带祖先进化而来, 为南极海域的原始种(Andriashev, 1965); 而狮子鱼科起源于北太平洋, 推测可能是在中新世由南美洲西海岸扩散至南极地区(Andriashev, 1991); 绵鲷科也起源于北太平洋, 是在中新世进入南半球, 之后扩散至南极地区(Anderson, 1994)。

南极鱼亚目的祖先在南极逐渐变冷的过程中快速进化, 并且由于生存的小环境缺乏明显的竞争压力, 其种群得以壮大而成为南大洋明显的优势种, 占有南大洋鱼类总数的46%, 而在高纬度更加寒冷的南极海域, 这种优势更加显著——种类数不仅为其他南大洋鱼类种数的3倍左右, 其丰度和生物量也占到了南大洋鱼类丰度和总生物量的90%以上(Eastman, 2005)。

迄今的统计表明: 南极鱼亚目鱼类共有8科129种, 其中全部的龙躄科、阿氏龙躄科和裸南极鱼科鱼类、大多数鳕冰鱼科的种类、半数的南极鱼科鱼类以及1种牛鱼科鱼类均分布在极端低温的南大洋, 而牛鱼科多数种类、拟牛鱼科和油南极鱼科鱼类生活在温度为5–15℃的南美和新西兰等非南极海域(Eastman, 2005; Coppe *et al.*, 2013)。基于线粒体16S rRNA序列构建的MP(Maximum-parsimony)系统发育树显示: 裸南极鱼科、阿氏龙躄科、龙躄科和鳕冰鱼科的成员聚为一支后再与南极鱼科的成员聚在一起, 这5个科共同构成了南极鱼亚目鱼类在南

大洋的主要进化分支(Near *et al.*, 2004)。各科鱼类在形态和生态习性上经历了不同程度的变化。受环境因素和食物的季节变化影响, 南极鱼类的体型普遍较小, 多数种类生长缓慢。各科鱼类具体特征如下: (1)裸南极鱼科: 肉食性, 多数为浅海底栖种类, 个体较小, 体色与周围环境相似, 种间形态和生态习性上差异甚小; (2)阿氏龙鰐科: 种间个体大小不一, 均具有一个功能尚不清楚的触须, 常年营固着生活, 其中的须蟾属(*Pogonophryne*)为南极鱼亚目中种类最多的属, 是研究南极鱼亚目鱼类适应性进化的良好材料; (3)龙鰐科: 鱼体较长, 且种间个体差异较大, 有些种类肌肉发达, 而有些种类相对比较瘦小。该科同时为南极鱼亚目中生活的水深跨度最大的科, 既有能在浅水区域生活的鱼类, 也有如断线渊龙鰐(*Bathyraco scotiae*)这样到目前为止记录到的生活在最深水层的种类, 达到2,950 m (Gon & Heemstra, 1990); (4)鳄冰鱼科: 鱼体呈梭形, 头部较大, 成鱼体长约25–75 cm(Iwami & Kock, 1990), 是南极鱼亚目中体型最大的鱼类。由于下颌骨的缺失, 使得作为取食器官的口不能有效地开合, 只能靠吮吸甚至仅靠水的自然流动将食物送进嘴里, 因此几乎无营底栖生活的种类, 大多数个体生活在水深800 m以上(Voronina & Neelov, 2001); (5)南极鱼科: 大约有一半为底栖种, 此外还包括半浮游种、浮游种类等, 不同活动范围的鱼类所受浮力不同。该科种类缺乏鱼鳔, 必须通过降低骨骼的矿化和脂质沉淀来调节鱼体密度, 反映到形态上也表现出了多样化的特点(Eastman, 1993)。

2007–2008国际极地年期间, 南极海洋生物普查计划(the Census of Antarctic Marine Life, CAML)对南极洲和南大洋组织开展了多次大规模的研究, 目的在于了解南极生物资源的多样性和分布范围以及它们如何响应外界环境的变化。通过科学工作者的共同努力, 目前对南大洋鱼类的系统分类研究已形成体系, 大部分鱼类的分类工作也已完成。可以预见的是, 随着分子标记手段在鱼类鉴定中越来越多的使用, 将会有更多的在形态上相似但却存在遗传差异的种类被发现。

## 2 南极鱼类的适应性进化

### 2.1 抗冻糖蛋白(antifreeze glycoprotein, AFGP)的进化

抗冻是生活在极地海洋的鱼类抵抗极端寒冷

环境的基本条件。多数极地鱼和冷水鱼都能产生抗冻蛋白(antifreeze protein, AFP), 这些蛋白普遍存在于鱼体血液和细胞中, 它们可以与微小冰晶结合, 并降低血液和体液的结冰点, 使其能够在海水冰点以下保持体液正常流动, 保证机体不受冷冻损伤(Raymond & DeVries, 1977)。鱼类抗冻蛋白在结构和氨基酸组成上存在巨大差异。迄今为止, 已发现有至少1种抗冻糖蛋白(AFGP)和4种抗冻蛋白。I型抗冻蛋白(AFP-I)从生活于北极和北大西洋的美洲拟鲈(*Pseudopleuronectes americanus*)和一些杜父鱼科鱼类中分离, 富含丙氨酸, 是一个标准的 $\alpha$ 螺旋结构(Duman & DeVries, 1976); II型抗冻蛋白(AFP-II)发现于美洲绒杜父鱼(*Hemitripterus americanus americanus*)体内, 是一种富含半胱氨酸的多肽(Ewart & Fletcher, 1993); III型抗冻蛋白(AFP-III)主要存在于绵鲷科鱼类, 是一种小球型蛋白(Deng *et al.*, 2010); IV型抗冻糖蛋白(AFP-IV)从一种床杜父鱼属(*Myoxocephalus*)鱼类的血清中分离, 是富含谷氨酸和谷氨酰胺的 $\alpha$ 螺旋结构(Deng *et al.*, 1997)。AFGP的基本结构单元是Thr-Ala-Ala形成的糖三肽, 普遍存在于南极鱼和一些北极鱼体内, 其含量的高低与鱼体所处环境直接相关, 温度越低, AFGP的浓度越高。Jin和DeVries(2006)对南大洋不同水域的南极鱼进行比较后发现, 取自高纬度的南极鱼血液中的AFGP浓度普遍高于低纬度海域, 其中麦克默多湾(McMurdo Sound)的南极鱼血液中AFGP浓度最高。

AFGP基因的进化在南极鱼类的进化过程中具有划时代的意义。对比AFGP基因在南极鱼亚目鱼类基因组中的分布情况发现, 生活在南大洋以外的3个科(牛鱼科, 拟牛鱼科, 油南极鱼科)的鱼类基因组中没有检测到AFGP基因, 而生活在南大洋的5个科(裸南极鱼科, 阿氏龙鰐科, 龙鰐科, 鳄冰鱼科和南极鱼科)的鱼类基因组都含有AFGP基因并且AFGP基因发生了大量扩增。另外, 他们在生活于新西兰温带海域的南极鱼科窄体南极鱼(*Notothenia angustata*)和小鳞南极鱼(*N. microlepidota*)体内, 也分别发现了2–3种编码AFGP的基因, 并且在血液中也检测到了低浓度的AFGP, 推测它们是在中新世晚期随着向北流动的洋流进入到低纬度海域(Cheng *et al.*, 2003)。与南极鱼类相比, 这两种生活在新西兰温带海域的南极鱼科鱼类AFGP基因拷贝数较少, 表达

量较低。在窄体南极鱼中存在的10种AFGP中,有6种发生了氨基酸替换,小鳞南极鱼中存在的11种AFGP中有4种发生了氨基酸替换,这些氨基酸序列的改变可能导致了抗冻功能的降低甚至丢失(Coppes & Somero, 2007)。因此,我们推测AFGP的起源发生在裸南极鱼科、阿氏龙螬科、龙螬科、鳄冰鱼科和南极鱼科5个科分化之前,而且在寒冷环境的选择压力下AFGP基因发生了大量的扩增。

事实上,关于AFGP的起源问题一直是科学研究的热点。Chen等(1997)以多种南极鱼类的抗冻蛋白和基因为研究对象,揭示了南极鱼犬牙齿鱼(*Dissostichus mawsoni*)的AFGP基因是从祖先胰蛋白酶原基因(Trypsinogen)从头进化而来的。首先在Trypsinogen第一个内含子与第二个外显子相连处编码Thr-Ala-Ala的9个核苷酸发生扩增,形成Trypsinogen-AFGP过渡分子,随后大部分的Trypsinogen编码序列被丢失并且形成了一个独立的阅读框,此外Trypsinogen第六个外显子移码产生了一个终止密码子,这样使得Trypsinogen这部分外显子序列成为了新基因的3'UTR,独立且完整的AFGP基因由此产生。南极鱼类的AFGP基因和胰蛋白酶原基因间的序列分歧仅为4~7%,这揭示由蛋白酶基因到AFGP基因的转变时间较晚。结合古气候研究和基于时间校正的南极鱼分子系统学研究,可以推断出AFGP的起源大约发生在距今4,200万年到2,200万年前。另外,Chen等(1997)通过比较北极鳕鱼(*Boreogadus saida*)与南极鱼的AFGP发现,两者虽然在分子组成和结构上很相似,但其编码基因的起源却完全不同,北极鳕鱼的AFGP源自于Trypsinogen以外的基因位点。AFGP基因起源的发现揭示了一种新基因起源的进化机制,同时也把分子进化、环境适应和物种分化紧密地联系在一起。

## 2.2 南极鱼类血红蛋白对极端低温的适应

血红蛋白(hemoglobin, Hb)广泛存在于脊椎动物的红细胞中,对温度高度敏感,它们的结构和功能特征可以部分地反映进化过程中遇到的环境变化。因此,比较冰冷和温暖水体中鱼类的Hb对解决许多生物学问题具有启发意义(Near *et al.*, 2006)。Verde等(2006)研究发现,与其他鱼类相比,所有南极鱼血液中红细胞数量大量减少,血液中血红蛋白浓度大大降低,大部分的南极鱼只表达一种血红蛋白,而在鳄冰鱼科鱼类(以下简称冰鱼)中血红蛋白

甚至完全缺失(Sidell & O'Brien, 2006)。血红蛋白和红细胞减少的原因,一方面可能是由于低温情况下鱼类新陈代谢速率减慢,需要消耗的氧气量减少;另一方面则是寒冷的海水中较高的氧浓度可能在一定程度上减轻了对细胞氧结合蛋白的选择压力。

作为已知脊椎动物中唯一不含血红蛋白的类群,冰鱼的血液循环系统发生了巨大的补偿性生理变化。与同等体重的常见含血红蛋白的南极鱼类相比,冰鱼心脏约为其他南极鱼的3倍大,血管的血液容量为其他硬骨鱼类的2~4倍,血管明显变粗(Acierno *et al.*, 1995),高容量的血液在鱼体内的快速循环也保证了机体组织的氧气供应。此外,冰鱼还通过抑制代谢速率,利用较大的鳃和无鳞的皮肤来加强气体交换,从而减少组织对氧气的需要(di Prisco *et al.*, 2007)。Near等(2006)和di Prisco等(2007)对15种冰鱼的研究发现,成体冰鱼基因组内仅含有小片段的没有活性的 $\alpha$ -球蛋白假基因,而另一部分 $\alpha$ -球蛋白假基因以及 $\beta$ -球蛋白基因已经丢失。目前有假说认为,冰鱼Hb表达的丢失起源于一次单个的、大规模的基因删除事件。这次事件移除了除部分 $\alpha$ -球蛋白假基因外的其他球蛋白基因(Cocca *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 1998)。近来的研究表明,与其他冰鱼种类不同的是,新拟水螅属(*Neopagetopsis*)的新拟水螅(*Neopagetopsis ionah*)具有基因结构完整的球蛋白基因,但只能形成功能丧失的 $\alpha$ 、 $\beta$ 球蛋白复合物(Cheng & Detrich, 2007)。新拟水螅不能表达的 $\alpha$ 、 $\beta$ 球蛋白假基因复合体可以被看作是Hb进化中的“基因化石”,它也许可以用来揭示所有冰鱼物种中Hb基因表达丧失的关键机制。

另外,帮助心肌细胞和骨骼肌纤维储存和运送氧气的肌红蛋白(myoglobin, Mb)只在南极冰鱼的心室中有所表达,并且还有6种南极冰鱼完全不表达(Grove *et al.*, 2004)。遗传学分析表明,冰鱼体内由基因突变引起的肌红蛋白的缺失有两种截然不同的机制,在头带冰鱼(*Chaenocephalus halusaceratus*)和大鳍拟冰螅(*Pagetopsis macropterus*)中不存在能够编码肌红蛋白的mRNA,而在裘氏鳄头冰鱼(*Champscephalus gunnari*)中虽然存在编码肌红蛋白的mRNA,但却不翻译成蛋白质(Montgomery & Clements, 2000)。研究发现,Hb和Mb的丢失以及与之关联的一氧化氮氧合酶活性的丧失可能已经加速了心血管的发展进化(Minning *et al.*, 1999),这种

适应性变化具体体现为促使组织内新生血管生成(Kimura *et al.*, 2000)、血管内径的增加(Suri *et al.*, 1998)及线粒体密度的增大等(Nisoli *et al.*, 2004)。

尽管冰鱼缺乏血红蛋白,有些种类也缺乏肌红蛋白,但目前发现的16种冰鱼中至少有13种含有神经珠蛋白(neuroglobin, Ngb)(Cheng *et al.*, 2009)。Ngb是一种血红素蛋白,可与氧气可逆结合。Cheng等(2009)对13种冰鱼进行了研究,发现它们的Ngb基因序列高度保守。通过比较南极犬牙齿鱼和头带冰鱼Ngb的氨基酸序列发现,80号位置的天冬氨酸替换成了组氨酸(Boron *et al.*, 2011),由于其位于EF手型结构区域,因此单个氨基酸的替换也引起了蛋白构象的变化。神经珠蛋白分子柔性的增大可能为鱼体的一种补偿性改变(Giordano *et al.*, 2012),这种改变是否是为了应对血红蛋白和肌红蛋白的缺失还有待进一步研究。

### 2.3 南极鱼类热休克反应的缺失

热休克反应是生物机体在热应激(或其他应激)状态下所表现的以基因表达变化为特征的防御适应反应,具体表现为一种或多种热休克蛋白(HSPs, Heat-Shock Proteins)表达的增强。南极鱼类长期生活在稳定、寒冷的南大洋,对温度的上升非常敏感,麦克默多湾水域的南极鱼类的致死温度为5–6℃(Somero & DeVries, 1967)。那么,南极鱼类是如何出现这种狭温习性的呢?研究发现,南极鱼类热激效应发生了缺失。Hofmann等(2000)发现当给予非南极鱼类热刺激后,鱼体内的HSP70表达水平有了显著升高,而南极鱼科伯式肩孔南极鱼(*Trematomus bernacchii*)在受到同等情况的热刺激后,HSP70无论在mRNA水平还是蛋白质水平上的表达都没有增加。这提示南极鱼体内的热休克蛋白可能不再与热应激反应相关。但Place和Hofmann(2001)同时指出,在南极鱼受到热刺激后,虽然HSP表达量没有变化,其体内却存在着HSP70的组成性表达。在低温环境中,蛋白质的折叠比较缓慢,发生错误折叠的可能性会加大,而南极鱼体内HSP70的组成性表达能够帮助新生多肽正确折叠,从而适应寒冷的环境。

热休克反应的缺失是南极鱼类适应性进化的一个重要特性。Buckley等(2004)认为热休克因子(Heat-Shock Factor 1, HSF1)可能是影响HSP表达的一个关键因子。虽然HSF1正常存在于南极鱼细胞中,但在热激处理后,HSF1并不会像其他非南极鱼

类那样与相应的基因调控区结合,从而启动HSP的表达。关于HSP缺失的机制目前尚无确切定论。

### 2.4 蛋白质和基因组层面的适应性进化

南极鱼类是南极海域极端低温环境下进化出来的适应性物种,低温导致其所有生理过程变慢、蛋白质之间的相互作用关系改变、膜的流动性降低以及体液粘性的增加。其对低温环境的适应表现在上述各个方面。如:蛋白质分子在低温下通过增大分子柔性来补偿较低的热动能(Rizzello *et al.*, 2013)。低温环境下酶分子功能的实现必须要在柔韧性和稳定性间保持平衡,柔韧性与催化效率有关,稳定性与酶和底物的识别有关。因此,与同样存在于非南极鱼类的酶相比,南极鱼类酶的催化活性要高于非南极鱼类,而与底物的结合能力却低于非南极鱼类(Fields & Somero, 1998; Lucassen *et al.*, 2003);低温能够导致微管蛋白的降解,因而不能聚合为微管,但南极鱼体内微管却能在–2℃低温下进行有效的聚合(Detrich *et al.*, 2000);南极鱼肌肉纤维显著大于非南极鱼类,但其纤维数量却有所减少(Johnston, 2003)等。

南极鱼类是地球上已知最耐寒的鱼类之一,其个体的整个生活史都在南极海域的极端低温条件下完成。南极鱼对寒冷的适应涉及到其生理生化、组织结构、基因表达、基因调控等各个方面。事实上,这些适应性变化中的大部分都是受到相应的基因调控的。基于基因芯片的比较基因组杂交技术,Chen等(2008)认为南极鱼类与寒冷相关的适应性进化主要来自于整个基因组的协同作用。具体表现为:南极鱼转录组水平上177个特有的蛋白基因表达量发生了上调,基因组水平上118个蛋白质编码基因拷贝数发生了不同程度的扩增。在此基础上,他们进一步挖掘出鱼类或细胞适应极端低温的分子机制。主要包括以下四个方面:

(1)铁调素(hepcidin)可以与铁转运蛋白结合,以调节生物体内铁离子的平衡。在南极鱼体内,至少有4种铁调素变体,具有两种结构类型;其中3种变体属于I型铁调素,是广泛存在的8-半胱氨酸铁调素;II型铁调素只有4个半胱氨酸,只能生成2个分子内二硫键,具有更高的分子柔性。扩增后的铁调素基因产生的II型铁调素只存在于生活在南极圈内的南极鱼中,南极圈外的南极鱼只有I型铁调素。II型铁调素受到了正选择,与低温适应相关(Xu *et al.*,

2008)。

(2)透明带蛋白(zone pellucida proteins, ZP蛋白)作为动物卵壳蛋白的主要成分,几乎存在于所有脊椎动物和非脊椎动物的卵细胞表面,鱼的卵壳蛋白作为重要的生物屏障可以保护卵细胞、受精卵以及发育早期的胚胎不会受到水温、渗透压等外界环境因素的破坏。南极鱼的鱼卵中没有任何抗冻蛋白,必定发生了某些特殊的变化以适应南大洋极端寒冷的环境。曹立雪(2009)发现南极鱼ZP基因发生了特异性的大规模扩增,它使得南极鱼类的卵壳蛋白足够致密,可有效地抵抗冰晶的穿透而正常孵化。

(3)逆转座在一定范围内能够提高细胞对外界环境的耐受能力,有益于细胞的存活。Chen等(2008)首次发现在寒冷环境下LINE基因家族在多种南极鱼中都发生了大规模扩增,寒冷诱使南极鱼逆转座子活化,增强了它的表达。

(4)冰鱼中与线粒体生物合成和有氧呼吸相关的基因重复显著增多,这种选择性优势通过提高氧气的扩散程度及能量供应体现出来(Coppe *et al.*, 2013)。基因组水平上发生扩增的南极鱼类特有的基因主要参与了蛋白合成、蛋白折叠和降解、脂质代谢、抗氧化、抗凋亡等诸多与南极鱼类适应寒冷环境相关的生物途径。这也说明,特定基因拷贝数的增加是南极鱼类适应极端寒冷环境的一种适应机制。

### 3 结语

弄清南极海域鱼类组成是对其进行保护生物学、生态学、进化生物学、生物地理学等一系列研究的前提。随着这种认识的逐步加深,越来越多的国际间合作调查(如南极海洋生物普查<http://www.camlaq/>)得以开展。据统计,南极海域每年都有新的鱼类物种被发现。南极鱼类生物资源的研究不仅为生物技术创新带来机遇,也将会促进人类社会进步和发展,这已成为国际社会的共识。尽管目前国际社会对南极鱼类资源的权属与管理、利益分配、环境与生态保护等问题尚未达成一致意见,但这些问题不会从根本上阻碍南极鱼类资源研究。

南极鱼类在过去3千万年南大洋逐渐变冷直至冰冻的过程中快速进化,成为南大洋最为多样化的鱼类类群,其基因组编码了低温下鱼类生存所需的所有功能分子,是一个优秀的耐寒基因库。研究极端寒冷环境下的生物在了解生物适应低温进化机

制的同时,也给我们提供了可用于改善其他动植物抗寒性能的基因。目前,鱼类的抗冻蛋白基因已被转移到多种动植物中,并表现出良好的应用前景。例如,来源于大西洋鳕的III型抗冻蛋白在转到小鼠后,使冷冻保存的转基因小鼠的卵巢在移植到受体小鼠后产生成熟的卵子并成功受孕,产下健康的后代(Bagis *et al.*, 2008)。III型抗冻蛋白的基因也被转移到小麦(Khanna & Daggard, 2006)和马铃薯中(Wallis *et al.*, 1997),成功增加了植物的低温耐受性。除了抗冻蛋白基因外,南极鱼中的一些其他的基因如钙调蛋白(Calmodulin)基因在转到烟草中后,也表现出提高烟草耐寒性的功能(Yang *et al.*, 2013)。现有数据表明,南极鱼的某些耐寒基因在转入小麦、香蕉和斑马鱼后均显示出耐寒功能,这为农作物的基因改良和鱼类抗寒育种赋予了新的应用前景。

生物体是一个非常复杂的整体,单一的因素很难决定物种的命运。但目前看来,除了Chen等(2008)对南极犬牙齿鱼大量基因家族扩增的发现外,其他南极鱼适应性研究还主要停留在单一的表型和基因型方面。随着二代测序技术的发展及测序成本的不断降低,多个南极鱼物种的全基因组测序会相继完成,更多南极鱼同源物种的基因组或者转录组序列信息会被揭示,这将有利于我们从整体水平来研究南极鱼的适应性进化。南极鱼类适应了南大洋极端低温环境,但现在全球变暖现象日益加速,是否会对南极鱼的生存造成影响? 南极鱼的未来走向又会如何? 这个问题也值得我们深入探索。

### 参考文献

- Acierno R, MacDonald JA, Agnisola C, Tota B (1995) Blood volume in the hemoglobinless Antarctic teleost *Chionodraco hamatus* (Lönnberg). *Journal of Experimental Zoology*, **272**, 407–409.
- Anderson ME (1994) Systematics and osteology of the Zoarcidae (Teleostei: Perciformes), pp. 1–60. Smith Institute of Ichthyology, Grahamstown JLB.
- Andriashev AP (1965) A general review of the Antarctic fish fauna. *Monograph Biology*, **15**, 491–550.
- Andriashev AP (1991) Possible pathways of Paraliparis (Pisces: Liparididae) and some other North Pacific secondarily deep-sea fishes into North Atlantic and Arctic depths. *Polar Biology*, **11**, 213–218.
- Bagis H, Akkoç T, Taş A, Aktoprakligil D (2008) Cryogenic effect of antifreeze protein on transgenic mouse ovaries and the production of live offspring by orthotopic transplantation

- of cryopreserved mouse ovaries. *Molecular Reproduction and Development*, **75**, 608–613.
- Boron I, Russo R, Boechi L, Cheng CHC, di Prisco G, Estrin DA, Verde C, Nadra AD (2011) Structure and dynamics of Antarctic fish neuroglobin assessed by computer simulations. *IUBMB Life*, **63**, 206–213.
- Buckley BA, Place SP, Hofmann GE (2004) Regulation of heat shock genes in isolated hepatocytes from an Antarctic fish, *Trematomus bernacchii*. *Journal of Experimental Biology*, **207**, 3649–3656.
- Cao LX (曹立雪) (2009) *Adaptive Evolution of the Zona Pellucida Gene Family in Antarctic Notothenioid Fishes* (南极Notothenioids鱼类Zona pellucida基因家族的适应性进化). PhD dissertation, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing. (in Chinese with English abstract)
- Cheng CHC, Chen LB, Near TJ, Jin Y (2003) Functional antifreeze glycoprotein genes in temperate-water New Zealand nototheniid fish infer an Antarctic evolutionary origin. *Molecular Biology and Evolution*, **20**, 1897–1908.
- Cheng CHC, Detrich HW (2007) Molecular ecophysiology of Antarctic notothenioid fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **362**, 2215–2232.
- Cheng CHC, di Prisco G, Verde C (2009) Cold-adapted Antarctic fish: the discovery of neuroglobin in the dominant suborder Notothenioidei. *Gene*, **433**, 100–101.
- Chen LB, DeVries AL, Cheng CHC (1997) Evolution of antifreeze glycoprotein gene from a trypsinogen gene in Antarctic notothenioid fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **94**, 3811–3816.
- Chen ZZ, Cheng CHC, Zhang JF, Cao LX, Chen L, Zhou LH, Jin YD, Ye H, Deng C, Dai ZH, Xu QH, Hu P, Sun SH, Shen Y, Chen LB (2008) Transcriptomic and genomic evolution under constant cold in Antarctic notothenioid fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **105**, 12944–12949.
- Clarke A, Crame JA (1989) The origin of the Southern Ocean marine fauna. *Geological Society, London, Special Publications*, **47**, 253–268.
- Cocca E, Ratnayake-Lecamwasam M, Parker SK, Camardella L, Ciaramella M, di Prisco G, Detrich HW (1995) Genomic remnants of alpha-globin genes in the hemoglobinless antarctic icefishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **92**, 1817–1821.
- Coppe A, Agostini C, Marino IAM, Zane L, Bargelloni L, Bortoluzzi S, Patamello T (2013) Genome evolution in the cold: Antarctic icefish muscle transcriptome reveals selective duplications increasing mitochondrial function. *Genome Biology and Evolution*, **5**, 45–60.
- Coppes PZL, Somero GN (2007) Biochemical adaptations of notothenioid fishes: comparisons between cold temperate South American and New Zealand species and Antarctic species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **147**, 799–807.
- De Broyer C, Clarke A, Koubbi P, Pakhomov E, Scott F, VandenBerghe E, Danis B (2013) Register of Antarctic Marine Species. <http://www.marinespecies.org/rams>. (2013. 08. 15).
- Deng C, Cheng CHC, Ye H, He XM, Chen LB (2010) Evolution of an antifreeze protein by neofunctionalization under escape from adaptive conflict. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **107**, 21593–21598.
- Deng G, Andrews DW, Laursen RA (1997) Amino acid sequence of a new type of antifreeze protein, from the longhorn sculpin *Myoxocephalus octodecimspinosis*. *FEBS Letters*, **402**, 17–20.
- Detrich HW, Parker SK, Williams RC, Nogales JE, Downing KH (2000) Cold adaptation of microtubule assembly and dynamics structural interpretation of primary sequence changes present in the  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulins of antarctic fishes. *Journal of Biological Chemistry*, **275**, 37038–37047.
- di Prisco G, Eastman JT, Giordano D, Parisi E, Verde C (2007) Biogeography and adaptation of notothenioid fish: hemoglobin function and globin gene evolution. *Gene*, **398**, 143–155.
- Duman JG, DeVries AL (1976) Isolation, characterization, and physical properties of protein antifreezes from the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Comparative Biochemistry*, **54**, 375–380.
- Eastman JT (1993) *Antarctic Fish Biology: Evolution in a Unique Environment*. Academic Press, San Diego.
- Eastman JT (2005) The nature of the diversity of Antarctic fish. *Polar Biology*, **28**, 93–107.
- Ewart KV, Fletcher GL (1993) Herring antifreeze protein: primary structure and evidence for a C-type lectin evolutionary origin. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, **2**, 20–27.
- Fields PA, Somero GN (1998) Hot spots in cold adaptation: localized increases in conformational flexibility in lactate dehydrogenase A4 orthologs of Antarctic notothenioid fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **95**, 11476–11481.
- Francis JE, Poole I (2002) Cretaceous and early Tertiary climates of Antarctica: evidence from fossil wood. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, **182**, 47–64.
- Giordano D, Russo R, di Prisco G, Verde C (2012) Molecular adaptations in Antarctic fish and marine microorganisms. *Marine Genomics*, **6**, 1–6.
- Gon O, Heemstra PC (1990) *Fishes of the Southern Ocean*. Smith Institute of Ichthyology, Grahamstown JLB.
- Grove TJ, Hendrickson JW, Sidell BD (2004) Two species of Antarctic icefishes (genus *Champsocephalus*) share a common genetic lesion leading to the loss of myoglobin expression. *Polar Biology*, **27**, 579–585.
- Hofmann GE, Buckley BA, Airaksinen S, Keen JE, Somero GN (2000) Heat-shock protein expression is absent in the Antarctic fish *Trematomus bernacchii* (family Nototheniidae). *Journal of Experimental Biology*, **203**, 2331–2339.
- Iwami T, Kock KH (1990) Channichthyidae. In: *Fishes of the Southern Ocean* (eds Gon O, Hemstra PC), pp. 381–399. Smith Institute of Ichthyology, Grahamstown JLB.



- Jin Y, DeVries AL (2006) Antifreeze glycoprotein levels in Antarctic notothenioid fishes inhabiting different thermal environments and the effect of warm acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **144**, 290–300.
- Johnston IA (2003) Muscle metabolism and growth in Antarctic fishes (suborder Notothenioidei): evolution in a cold environment. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **136**, 701–713.
- Khanna HK, Daggard GE (2006) Targeted expression of re-designed and codon optimised synthetic gene leads to recrystallisation inhibition and reduced electrolyte leakage in spring wheat at sub-zero temperatures. *Plant Cell Report*, **25**, 1336–1346.
- Kimura H, Weisz A, Kurashima Y, Hashimoto K, Ogura T, D'Acquisto F, Addeo R, Makuuchi M, Esumi H (2000) Hypoxia response element of the human vascular endothelial growth factor gene mediates transcriptional regulation by nitric oxide: control of hypoxia-inducible factor-1 activity by nitric oxide. *Blood*, **95**, 189–197.
- Lucassen M, Schmidt A, Eckerle LG, Pörtner HO (2003) Mitochondrial proliferation in the permanent vs. temporary cold: enzyme activities and mRNA levels in Antarctic and temperate zoarcid fish. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **285**, 1410–1420.
- Minning DM, Gow AJ, Bonaventura J, Braun R, Dewhirst M, Goldberg DE, Stamler JS (1999) Ascaris haemoglobin is a nitric oxide-activated 'deoxygenase'. *Nature*, **401**, 497–502.
- Montgomery J, Clements K (2000) Disaptation and recovery in the evolution of Antarctic fishes. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 267–271.
- Near TJ, Parker SK, Detrich HW (2006) A genomic fossil reveals key steps in hemoglobin loss by the antarctic icefishes. *Molecular Biology and Evolution*, **23**, 2008–2016.
- Near TJ, Pesavento JJ, Cheng CHC (2004) Phylogenetic investigations of Antarctic notothenioid fishes (Perciformes: Notothenioidei) using complete gene sequences of the mitochondrial encoded 16S rRNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **32**, 881–891.
- Nisoli E, Falcone S, Tonello C, Cozzi V, Palomba L, Fiorani M, Pisconti A, Brunelli S, Cardile A, Francolini M, Cantoni O, Carruba MO, Moncada S, Clementi E (2004) Mitochondrial biogenesis by NO yields functionally active mitochondria in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **101**, 16507–16512.
- Place SP, Hofmann GE (2001) Temperature interactions of the molecular chaperone Hsc70 from the eurythermal marine goby *Gillichthys mirabilis*. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 2675–2682.
- Raymond JA, DeVries AL (1977) Adsorption inhibition as a mechanism of freezing resistance in polar fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **74**, 2589–2593.
- Rizzello A, Romano A, Kottra G, Acierno R, Storelli C, Verri T, Daniel H, Maffia M (2013) Protein cold adaptation strategy via a unique seven-amino acid domain in the icefish (*Chionodraco hamatus*) PEPT1 transporter. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **110**, 7068–7073.
- Scher HD, Martin EE (2006) Timing and climatic consequences of the opening of the Drake Passage. *Science*, **312**, 428–430.
- Shevenell AE, Kennett JP, Lea DW (2004) Middle Miocene southern ocean cooling and Antarctic cryosphere expansion. *Science*, **305**, 1766–1770.
- Sidell BD, O'Brien KM (2006) When bad things happen to good fish: the loss of hemoglobin and myoglobin expression in Antarctic icefishes. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 1791–1802.
- Skora KE, Neyelov AV (1992) Fish of Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands, Antarctica). *Polar Biology*, **12**, 469–476.
- Somero GN, DeVries AL (1967) Temperature tolerance of some Antarctic fishes. *Science*, **156**, 257–258.
- Suri C, McClain J, Thurston G, McDonald DM, Zhou H, Oldmixon EH, Sato TN, Yancopoulos GD (1998) Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1. *Science*, **282**, 468–471.
- Van de Putte AP, Van Houdt KJ, Maes GE, Hellemaans B, Collins MA, Volckaert FAM (2012) High genetic diversity and connectivity in a common mesopelagic fish of the Southern Ocean: the myctophid *Electrona antarctica*. *Deep Sea Research, Part II, Topical Studies in Oceanography*, **59**, 199–207.
- Verde C, Parisi E, di Prisco G (2006) The evolution of thermal adaptation in polar fish. *Gene*, **385**, 137–145.
- Voronina EP, Neelov AV (2001) Structural traits of alimentary tract of fishes of the family Channichthyidae (Notothenioidei). *Journal of Ichthyology c/c of Voprosy Ikhtiologii*, **41**, 778–788.
- Wallis JG, Wang H, Guerra DJ (1997) Expression of a synthetic antifreeze protein in potato reduces electrolyte release at freezing temperatures. *Plant Molecular Biology*, **35**, 323–330.
- Xu QH, Cheng CHC, Hu P, Ye H, Chen ZZ, Cao LX, Chen L, Shen Y, Chen LB (2008) Adaptive evolution of hepcidin genes in antarctic notothenioid fishes. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1099–1112.
- Yang N, Peng C, Cheng D, Huang Q, Xu G, Gao F, Chen L (2013) The over-expression of calmodulin from Antarctic notothenioid fish increases cold tolerance in tobacco. *Gene*, **521**, 32–37.
- Zhao Y, Ratnayake-Lecamwasam M, Parker SK, Cocca E, Camardella L, di Prisco G, Detrich HW (1998) The major adult  $\alpha$ -globin gene of Antarctic teleosts and its remnants in the hemoglobinless icefishes calibration of the mutational clock for nuclear genes. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 14745–14752.