

L'EVOLUCIÓ DELS PEIXOS POLARS

TOT UN DESAFIAMENT PER A LA BIOLOGIA

Els peixos polars ens ofereixen una excel·lent oportunitat per dur a terme estudis comparatius sobre l'adaptació. Les dues regions polars es diferencien per la seva edat i per l'aïllament al qual han estat sotmeses; això vol dir que els seus habitants marins han seguit històries evolutives diferents. Com a conseqüència de l'estabilitat de l'Antàrtida, els *Notothenioidei* antàrtics han evolucionat reduint la concentració/multiplicitat d'hemoglobina. Fins i tot, en una de les seves famílies, aquest pigment és absent. Els peixos de l'Àrtida, en canvi, han mantingut un alt nivell de multiplicitat i diversitat de globines en resposta a la variabilitat o a les variacions en les demandes metabòliques. A continuació resumim l'estat actual dels estudis sobre l'estructura, la funció i la filogènia de les hemoglobines. El canvi climàtic dels nostres dies pot pertorbar l'adaptació i, per tant, és imprescindible la recerca d'estratègies amb l'objectiu de neutralitzar les amenaces de la pèrdua de biodiversitat.

Escrit per

Guido di Prisco

Institut de bioquímica de les proteïnes
CNR (Consell Nacional de Recerca), Itàlia

Traduït de l'anglès per Francesc Massana

«En biologia, res no té sentit si no és amb la perspectiva de l'evolució»
(Dobzhansky, 1973)



El medi polar

Durant 400 milions d'anys, el clima del supercontinent Gondwana (Antàrtida, Amèrica del Sud, Àfrica, Índia, Austràlia i Nova Zelanda) era temperat o subtropical. Gondwana havia estat part de Pangea però se'n començà a desprendre ara fa uns 135 milions d'anys. Llavors els corrents desplaçaren l'Antàrtida fins que la van deixar en la seva posició actual, aproximadament 65 milions d'anys enrere. Començà aleshores el refredament progressiu que seguí el seu curs fins arribar a les temperatures actuals; així, a l'hivern, l'oceà es glaçava. L'aïllament de l'Antàrtida es completà ara fa entre 25 i 22 milions d'anys, quan el pas de Drake separà la Terra del Foc de la península Antàrtica, produint el corrent circumantàrtic i el front polar, un sistema més o menys circular entre 50 °S i 60 °S. Al llarg del front, les capes d'aigua de la superfície, que es mouen cap al nord, s'enfonsen per sota de les aigües subantàrtiques menys fredes i menys denses. Al nord del front, la temperatura de l'aigua experimenta un brusc augment de 3 °C, fet que té enormes implicacions biològiques.

Ara bé, per més que l'Antàrtic i l'Àrtic siguin tots dos freds, presenten, de fet, grans diferències. L'Antàrtic ha estat un oceà fred durant més temps, amb un desenvolupament de capes de gel que es produí 10 milions d'anys abans que el de l'Àrtic. Les característiques climàtiques són més extremes i constants que les de l'Àrtic, on l'aïllament no és tan estricte, les variacions de temperatura són més àmplies, les porcions de terreny que en surten estan connectades amb regions temperades i, finalment, l'impacte antròpic en el medi ambient és superior.

Els esdeveniments tectònics i oceanogràfics han tingut un paper determinant en la delimitació dels dos ecosistemes i en la influència sobre la composició, diversitat i evolució de la fauna. Les faunes polars d'avui dia es diferencien en edat, endemisme, taxonomia i gamma de tolerància fisiològica als paràmetres mediambientals.

Les diferències en els dos entorns es reflecteixen de manera ben diversa en els canvis climàtics a escala planetària que actualment s'han convertit en una de les principals preocupacions de l'opinió pública mundial. Així doncs, si tenim present el paper fonamental dels pols

en el desenvolupament del clima de la Terra, els estudis comparatius sobre l'impacte dels canvis en els seus ecosistemes tenen, sens dubte, una especial importància.

Adaptació i evolució

Durant el progressiu aïllament, els peixos polars van desenvolupar una adaptació fisiològica al fred per sobreviure. A l'oceà Antàrtic, si la temperatura de l'aigua augmenta tan sols uns pocs graus centígrads, els peixos moriran. Les aigües costaneres antàrtiques, on els peixos d'aigües temperades es congelarien i moririen, estan a -1,87 °C, la temperatura d'equilibri entre l'aigua de mar i el gel. El front polar s'ha convertit en una barrera natural per a les migracions en tots dos sentits, de manera que ha estat d'una significació essencial per a l'evolució en l'aïllament. A l'Àrtic, les adaptacions desenvolupades pels peixos s'han produït en una gamma de temperatures molt més àmplia.

Components anticongelants

La biosíntesi de les (glico)proteïnes/pèptids anticongelants [AF(G)P], que permeten els peixos polars sobreviure a temperatures sota zero, és sens dubte una destacada adaptació evolutiva. Les AF(G)P tenen una seqüència d'aminoàcids poc freqüent del glicotripèptid (-alanil-alanil-trionil-)_n que es repeteix; la Thr està unida a un disacàrid, que fixa les molècules d'aigua evitant que formin gel. Els diferents historials filogenètics dels peixos polars reflecteixen els seus hàbitats. A l'Àrtic, on l'aïllament no és total i les variacions de temperatures són més àmplies que a l'Antàrtic, la biosíntesi es produeix només en els mesos d'hivern, mentre que els peixos de l'Antàrtida han de confiar en les AF(G)P durant tot l'any. La major part de coneixements que en tenim procedeixen dels 30 anys d'estudis de l'equip d'Arthur DeVries (vegeu Cheng i DeVries, 1991).

En els *Notothenioidei* (el subordre predominant a l'oceà Antàrtic) el gen de les AF(G)P és el resultat de l'evolució d'un gen de proteasa semblant al tripsinogen i sense relació funcional,



A. Salmó (*Salmo salar*).

© Commons.wikimedia.org

B i D. Bacallà (*Gadus morhua*).

© N. I. Gavrilov, Russian Federal Research Institute of Fishery and Oceanography (VNIRO)

© Commons.wikimedia.org

C. Carpa (*Cyprinus carpio*).

© Commons.wikimedia.org

E i F. Bacallà polar (*Boreogadus saida*).

© NOAA's Historic Fisheries Collection

© A.H. Baldwin

G. Truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*).

© U.S. Fish and Wildlife Service





Figura 1. Un peix de gel: *Champsocephalus esox*.

el qual proporcionà els extrems anterior i posterior del gen emergent de les AF(G)P (Cheng, 1998). Els gens del bacallà polar de l'Àrtic, filogenèticament sense relació amb els *Notothenioidei*, codifiquen AF(G)P gairebé idèntiques, la qual cosa fa pensar en un ancestre comú. I al contrari, els gens del dos grups de peixos no són homòlegs, d'aquí ve que no hagin seguit el mateix itinerari evolutiu. A través d'una evolució convergent, els gens AF(G)P del bacallà han evolucionat a partir d'un altre locus genòmic, sens dubte diferent del tripsinogen.

Hemoglobina i pèrdua de la seva expressió en alguns peixos antàrtics

Els *Notothenioidei* antàrtics mostren reduccions adaptatives en el contingut/multiplicitat d'hemoglobina (Hb) i eritròcits a la sang. Les baixes temperatures redueixen la demanda metabòlica d'oxigen i augmenten la seva solubilitat en el plasma, de manera que es pot dur més oxigen en solució física i no se'n necessita tant per unir-lo a l'hemoglobina.

Ruud (1954) va descobrir una adaptació única de vertebrats adults: la sang incolora d'un «peix de gel» (Fig. 1) no disposava d'Hb ni eritròcits, una característica compartida per 16 espècies *Channichthyidae*. Això és un avantatge perquè disminueix la viscositat de la sang (que seria molt alta a temperatures sota zero), i d'aquí ve el cost energètic associat a la circulació. Els peixos de gel mantenen una funció metabòlica normal lliurant oxigen físicament dissolt en la sang als teixits.

La funció fisiològica de l'Hb en peixos d'aigües temperades i tropicals és incontestable. Ara bé, l'Hb és absolutament vital per al transport de l'oxigen en les famílies de *Notothenioidei* de sang vermella? La dependència de l'Hb en els peixos de sang vermella va ser com-

provada (di Prisco 2000) contaminant Hb amb monòxid de carboni, que normalment provoca la mort perquè s'uneix amb l'Hb i bloqueja el transport d'oxigen. Els peixos no van mostrar cap signe de destret. En ambient fred, el lliurament d'oxigen és també possible sense Hb funcional, i també els peixos antàrtics de sang vermella poden dur oxigen dissolt en la sang, de manera semblant als *Channichthyidae*, la família de *Notothenioidei* més moderna.

Els peixos de gel han conservat petites seqüències genòmiques inactives d'ADN estretament relacionades al gen o gens α -globina adults dels *Notothenioidei* de sang vermella, mentre que els gens β -globina s'han esborrat (di Prisco *et al.*, 2002), mitjançant un únic esdeveniment en els *Channichthyidae* ancestrals, que es van desfer de gairebé tot el complex genètic de la globina dels *Notothenioidei*.

El sistema d'hemoglobina dels *Notothenioidei* i dels peixos àrtics

L'Hb, en ser un enllaç directe entre l'exterior i les necessitats corporals, ha experimentat una notable pressió evolutiva en el seu funcionament, mentre que ha seguit mantenint en gran part la seva estructura molecular. Ubicada en els eritròcits, està construïda amb dos parells de cadenes de globina α i β idèntiques, $\alpha_2\beta_2$ (Fig. 2). Cadascuna d'aquestes cadenes conté l'hemo, que amb els seus ions Fe^{++} uneix l'oxigen durant la respiració. L'oxigen es trasllada a través de capil·lars i s'allibera als teixits segons les necessitats metabòliques.

La capacitat de colonització del peix està estrictament relacionada amb les adaptacions desenvolupades pels seus sistemes d'hemoglobina. Una característica comuna dels habitants de les aigües més profundes és la reduïda multiplicitat d'Hb. La multiplicitat està connectada amb l'estil de vida i, en entorns variables, els peixos actius necessiten una multiplicitat més gran d'Hb. Set de cada vuit famílies de *Notothenioidei* són de sang vermella, tenen una Hb 1 principal i, sovint, una segona, funcionalment similar, Hb 2 secundària (5%), que normalment tenen la cadena β en comú. D'aquestes Hb (di Prisco, 1998, 2000) se n'han definit les característiques estructuralment i funcional.

Disposem de molta informació i coneixements sobre el sistema de transport de l'oxigen dels peixos antàrtics, però, en canvi, sabem ben poca cosa dels peixos d'altres regions polars, els

quals presenten característiques físico-químiques ben diferents. Per tant, la importància de l'Àrtic fa necessari que es comencin estudis sobre les adaptacions en la respiració i altres processos.

A diferència dels *Notothenioidei*, els peixos de l'Àrtic mostren multiplicitat d'Hb (Verde *et al.*, 2008). La sang de l'*Anarhichas minor*, un peix bentònic sedentari (subordre *Zoarcoidei*), conté tres Hb principals funcionalment diferents. També s'ha observat una gran multiplicitat i diferències funcionals en tres espècies de la família *Gadidae*: *Arctogadus glacialis* (bacallà àrtic), *Boreogadus saida* (bacallà polar) i *Gadus morhua* (bacallà), que també tenen tres Hb principals. La possessió de múltiples Hb proporciona una estratègia per graduar el transport de l'oxigen en resposta a la variabilitat o a les variacions en les demandes metabòliques. Els bacallans àrtic i polar criopelàgics viuen en una zona coberta pel gel; l'altre gènere del bacallà, el *Gadus morhua*, té una distribució més àmplia. Els sistemes d'Hb dels peixos de l'Àrtida (que no s'assemblen als dels antàrtics) estan adaptats de manera òptima a les aigües de l'Àrtic, on les temperatures mostren diferències i fluctuacions més àmplies.

L'evolució d'Hb dels peixos polars

La biologia molecular explora el funcionament dels gens individuals i és una extraordinària ajuda a la biologia evolutiva i a l'ecologia. La filogenètica molecular és essencial per a l'estudi de l'evolució, mitjançant les seqüències de proteïnes i àcid nucleic. Les seqüències d'aminoàcids de les cadenes α i β d'Hb dels peixos polars i d'alguns d'aigües temperades s'han analitzat per a construir arbres filogenètics amb el mètode *neighbour joining* (Fig. 3A i B, aquesta última a la pàgina següent). Les globines dels peixos antàrtics es van separar aproximadament 250 milions d'anys enrere: a diferència de les AF(G)P, que aparegueren coincidint amb el refredament, la diversificació de l'Hb és més antiga i menys estrictament correlacionada amb els canvis en el medi ambient. Les cadenes d'Hb secundàries es van separar de les principals abans de l'adaptació al fred, de manera que van ocasionar clústers separats.

Les seqüències de globina dels *Zoarcoidei* de l'Àrtic sedentaris *A. minor* segueixen la traça de l'història de l'espècie, ja que *A. minor* és proper als clades dels *Notothenioidei*, i mostra semblan-

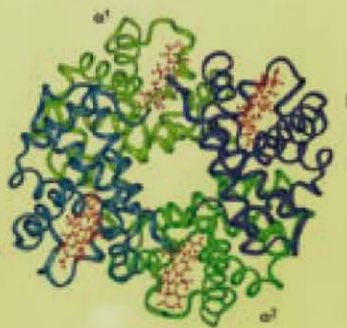


Figura 2. L'estructura $\alpha_2\beta_2$ de l'Hb. Les cadenes β estan en blau, les α en verd. Cada subunitat conté l'hemo (en vermell).

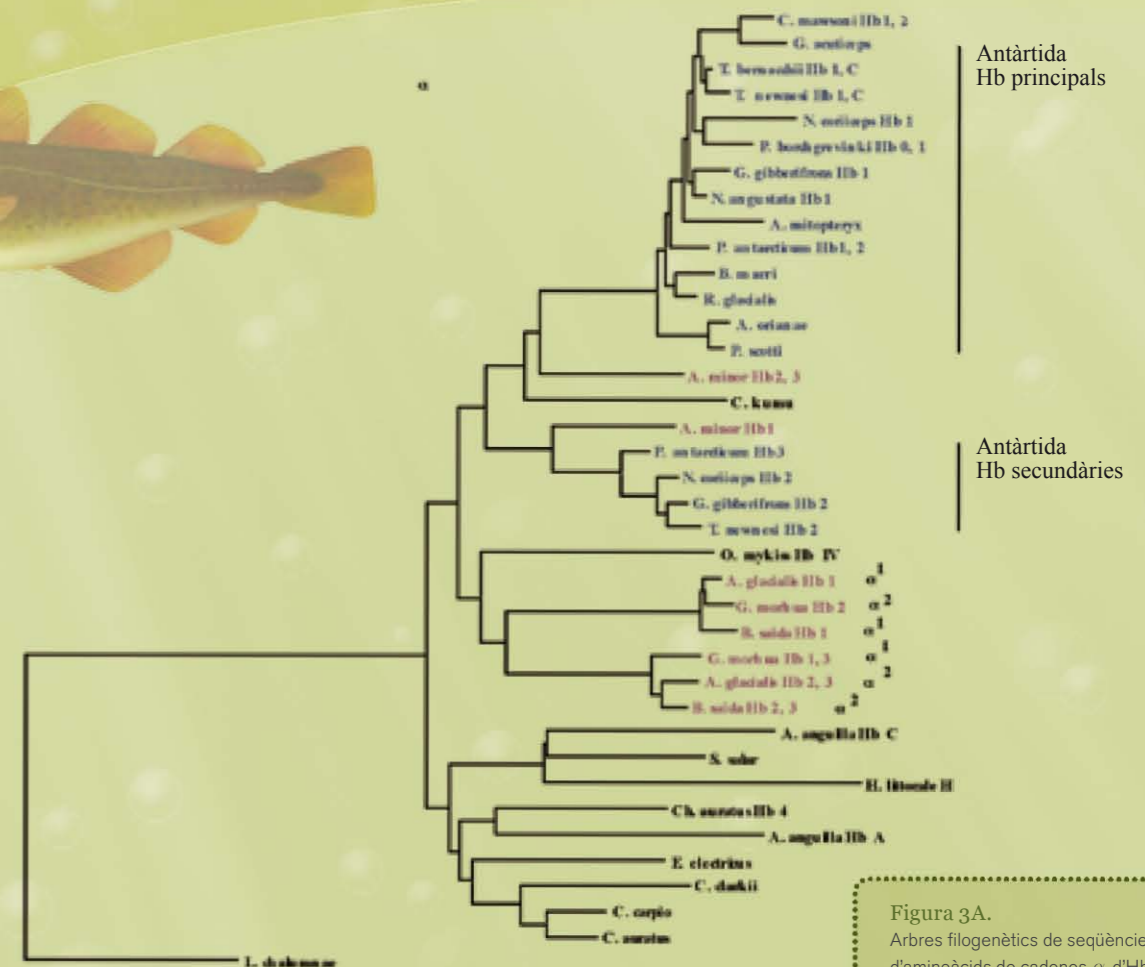


Figura 3A. Arbres filogenètics de seqüències d'aminoàcids de cadenes α d'Hb de peixos de l'Àrtic (rosa), l'Antàrtic (blau) i d'aigües temperades (negre), utilitzant el celacant com a grup extern.

ces amb els *Notothenioidei* antàrtics. En canvi, les seqüències dels *Gadidae* ocupen posicions diferents en comparació amb les seqüències temperades i antàrtiques. Les cadenes *Gadidae* α apareixen relacionades amb el grup dels *Notothenioidei-Zoarcoidei*, però les cadenes β^1 estan excloses de les cadenes β^2 dels mateixos peixos i de les globines antàrtiques principals i secundàries. La gran variació en les seqüències de les globines *Gadidae* β sembla un efecte de la pertorbació de l'espai mutacional disponible, possiblement a causa de la variabilitat experimentada pels *Gadidae* en comparació amb l'estabilitat termal dels *Zoarcoidei* i els *Notothenioidei*, dos grups que mostren un senyal filogenètic impertorbable en les seqüències β . Les diferències entre les dues regions i l'estil de vida migratori i actiu dels *Gadidae* ofereixen una explicació a les posicions disperses ocupades per les globines àrtiques. La cadena β^1 del *B. saida* i el *G. morhua*

es pot incloure en el clade de les altres espècies no antàrtiques, però la seva posició és remota de totes les altres globines, mentre que β^2 (compartit per Hb 2 i Hb 3) i una altra cadena β (possiblement larval) del *G. morhua* formen part del mateix grup. Totes les cadenes α són properes a la cadena α d'Hb IV del peix d'aigües temperades *Oncorhynchus mykiss* (truita irisada).

Les condicions constants de l'Antàrtic coincideixen amb l'agrupació de seqüències de globines, mentre que la variabilitat de l'Àrtic correspon a una alta variació de seqüència. Aquestes diferències indiquen que s'han seguit diferents itineraris evolutius associats a la necessitat d'adaptació a diferents coaccions. No ens ha de sorprendre que la ictiofauna àrtica, molt més diversa que l'antàrtica (dominada per un únic grup taxonòmicament uniforme), es caracteritzi per una alta diversitat de filogènia d'un tret determinat.

Perspectives de futur

Històricament, els estudis sobre els mecanismes moleculars en l'àmbit de la biodiversitat i de les adaptacions termals en entorns freds extrems han tingut com a espai natural l'Antàrtida, l'hàbitat del planeta més extrem. Però en els últims anys, aquests estudis s'han ampliat a l'Àrtida, que ofereix una oportunitat remarcable per desenvolupar estudis comparatius sobre les diferències evolutives entre les espècies adaptades al fred i sobre com afecta el canvi climàtic a les espècies polars (i com responen a aquest fet). La recerca bipolar s'està estenent progressivament amb l'adveniment de l'escalfament global que es produeix a les regions polars.

Al llarg dels últims trenta anys, s'han produït importants avenços en la comprensió de l'adaptació a la temperatura, paral·lelament al plantejament de noves aproximacions moleculars per part dels científics i al fet que cada cop s'interessen més pel canvi climàtic. Construir el trencaclosques de l'adaptació al fred és cosa de temps; ara bé, mentre que per a algunes proteïnes ja s'està descobrint un esquema coherent dels canvis moleculars implicats en l'adaptació a la temperatura, la major part d'aquests mecanismes està encara per descobrir. Alguns enzims adaptats al fred ja han estat examinats i molts processos cel·lulars ben just s'han començat a estudiar.

Ara mateix, un primer repte és incorporar el punt de vista fisiològic/bioquímic en la biologia evolutiva. Aquest enfocament pot donar respostes a la pregunta de com els peixos antàrtics i àrtics respondran als canvis per l'escalfament global i si seran capaços d'adaptar-s'hi. Més endavant, el repte serà l'anàlisi de l'habilitat de les espècies i ecosistemes per desenvolupar mecanismes reparadors dels canvis induïts pels processos naturals i antròpics. El sistema de transport de l'oxigen és una font d'ineestimables comparacions en entorns amb extensos canvis climàtics. L'estudi dels peixos polars proporciona una gran oportunitat per aconseguir més coneixement sobre la funció i estructura de l'Hb i integrar la filogènia amb dades moleculars, funcionals i ecològiques.

La ciència busca connexions entre els processos evolutius i les adaptacions moleculars, fisiològiques i de conducta, mitjançant les quals els organismes s'adapten a la supervivència, creixen i es reproduïxen. La vida als pols ha experimentat canvis globals aconduïts per les glaciacions i, més recentment, per l'escalfament antropogènic. A escala regional i a curt terme, les variacions

climàtiques són freqüents i intenses i hi ha proves evidents de canvis estesos en els ecosistemes polars, perquè cadascun dels aspectes de la biologia d'un organisme, des de la psicologia i la bioquímica fins a la xarxa tròfica i l'hàbitat, és vulnerable. Si volem analitzar la biodiversitat de la fauna i la flora modernes de manera efectiva, és important tenir presents els següents elements d'estudi: els processos evolutius com a resposta als canvis en les pressions de selecció associades amb el canvi (amb la comunitat científica de l'àmbit de les ciències físiques); la resposta evolutiva en tota la gamma, des de molècules fins a ecosistemes (integrant tècniques moleculars i bioquímiques amb la taxonomia, la fisiologia, l'ecologia, l'etologia i la morfologia); els canvis que han aconduït l'evolució al llarg de les eres geològiques (amb la comunitat científica de les paleociències); i, finalment, els enfocaments genètics, estadístics i moleculars.

Arreu del món, aquestes tasques constitueixen un dels principals objectius de l'Any Polar Internacional (International Polar Year, IPY), tenint sempre present la funció que els hàbitats polars tenen en els canvis climàtics globals i la creixent amenaça de pèrdua de la biodiversitat i d'esgotament dels recursos pesquers. De ben segur que ens trobarem amb grans dificultats, però també és cert que aquest repte engrescador ens mantindrà ocupats durant moltes dècades. |

Referències

Cheng, C-HC. (1998). «Origin and mechanism of evolution of antifreeze glycoproteins in polar fishes». A: di Prisco, G. [et al.] [eds], *Fishes of Antarctica. A Biological Overview*. Springer, p. 311-328.
 Cheng, C-HC. i DeVries, A.L. (1991). «The role of antifreeze glycopeptides and peptides in the freezing avoidance of cold-water fish». A: di Prisco, G. [ed], *Life under Extreme Conditions: Biochemical Adaptation*. Springer-Verlag, p. 1-14.
 di Prisco, G. (1998). «Molecular adaptations in Antarctic fish hemoglobins». A: di Prisco, G., Pisano, E. i Clarke, A. [eds], *Fishes of Antarctica. A Biological Overview*. Springer, p. 339-353.
 di Prisco, G. (2000). «Life style and biochemical adaptation in Antarctic fishes». *J. Mar. Syst.*, 27: 253-265.
 di Prisco, G. [et al.] (2002). «Tracking the evolutionary loss of hemoglobin expression by the white-blooded Antarctic icefishes». *Gene*, 295: 185-191.
 Dobzhansky, C.T. (1973). «Nothing in biology makes sense except in the light of evolution». *American Biology Teacher*, 35: 125-129.
 Ruud, J.T. (1954). «Vertebrates without erythrocytes and blood pigment». *Nature*, 173: 848-850.
 Verde, C. [et al.] (2008). «The adaptation of polar fishes to climatic changes: structure, function and phylogeny of haemoglobin». *IUBMB Life*, 60: 29-40.



Un exemplar de *Chionodraco hamatus* pertanyent a la família *channichthyidae*.

Larva de peix de gel antàrtic, pertanyent al subordre *notothenioidei*.



Wikimedia.org

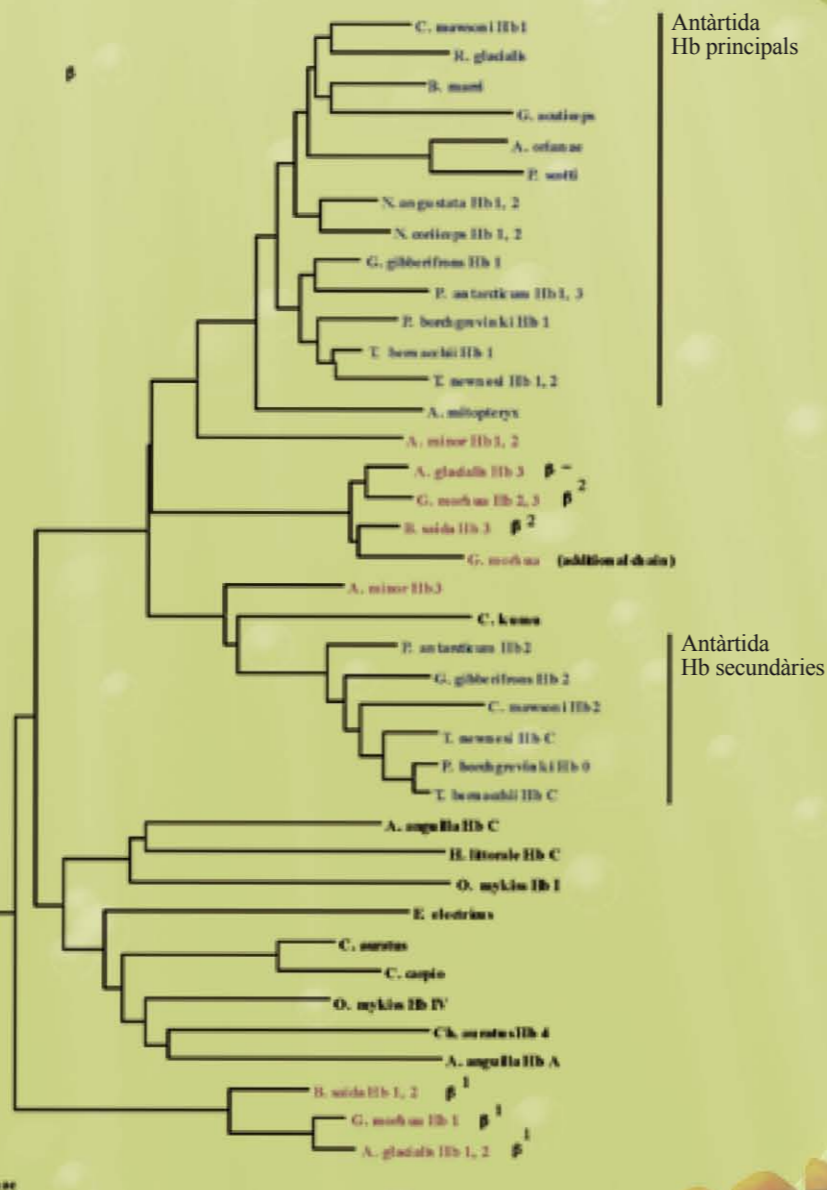


Figura 3B. Arbres filogenètics de seqüències d'aminoàcids de cadenes β d'Hb de peixos de l'Àrtic (rosa), l'Antàrtic (blau) i d'aigües temperades (negre), utilitzant el celacant com a grup extern.



Guido di Prisco
(Venècia, 1937)

És llicenciat en química orgànica i biològica i professor de bioquímica des de 1968. Actualment és l'encarregat d'investigacions del CNR

(Consell Nacional de Recerca, Itàlia), on havia estat primer investigador (1962-77) i després director de recerca (1977-2004). Les seves investigacions es centren en l'estructura, funció i evolució de les proteïnes. Va ser copresident d'ESF Network Fishes of the Antarctic Ocean i des del Scientific Committee on Antarctic Research (SCAR, comitè científic de recerca antàrtica) ha treballat en diversos programes. Dins de l'Any Polar Internacional, és cap del projecte EBA - Evolution and Biodiversity in the Antarctic. També va ser president del Ny-Ålesund Science Managers Committee (comitè de direcció científica de Ny-Ålesund, Svalbard, (2000-2004). Ha estat en vint-i-dues expedicions antàrtiques (trà de la ubicació de l'estació, establiment de dos laboratoris bioquímics i aqüari) i en tres d'àrtiques. Ha organitzat vuit conferències internacionals, compta amb 235 publicacions a revistes internacionals i ha estat editor i coeditor de 5 volums d'Springer-Verlag i 6 revistes especialitzades.