

研究报告

Research Report

线粒体基因组在红血南极鱼和白血南极鱼中的适应性进化

胡田伟¹ 王世航² 张东升^{1*}

1 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海, 201306; 2 上海海洋大学海洋动物系统分类与进化上海高校重点实验室, 上海, 201306

* 通信作者, dszhang@shou.edu.cn

摘要 线粒体有着自身独有的线粒体基因组并且编码氧化磷酸化相关的13个蛋白。通过氧化磷酸化反应,线粒体可以产生大量的三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)和活性氧以满足生物日常活动中对能量的需求。血红蛋白的丢失使得白血南极鱼运输氧气的的能力大幅下降,其线粒体基因组中的蛋白编码基因会在选择压力的作用下产生适应性的进化以补偿氧气供给的不足。为了分析血红蛋白对南极鱼线粒体基因组进化的影响,本文选取了三类鱼进行分析:6种白血南极鱼,5种红血南极鱼,以及与他们亲缘关系最近的9种热带地区鱼类作为实验对象,来探究这三类鱼线粒体蛋白编码基因在进化上的差异,包括进化速率分析、放松性选择分析、多态性氨基酸位点检测以及3D结构预测分析。研究结果表明,红血南极鱼线粒体基因组的进化速率远高于白血南极鱼和热带鱼,并且只有红血南极鱼的线粒体蛋白编码基因受到了放松性的选择压力作用。此外,多态性氨基酸位点检测表明红血南极鱼线粒体基因组编码的氨基酸序列中,多态性位点数量远远高于白血南极鱼和热带鱼;进一步证明红血南极鱼受到了放松性的选择作用。与此相对的是,白血南极鱼的线粒体蛋白编码基因进化速率较低,大部分基因受到强化性选择作用,蛋白质序列中的多态性位点也较少。本研究表明,血红蛋白在南极鱼中的存在与否可能影响线粒体基因组的适应性进化。

关键词 南极鱼; 线粒体; 系统发育; 血红蛋白; 适应性进化

Adaptive Evolution of Mitochondrial Genome in Red-blooded Antarctic Fish and White-blooded Antarctic Fish

Hu Tianwei¹ Wang Shihang² Zhang Dongsheng^{1*}

1 National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306; 2 Shanghai Universities Key Laboratory of Marine Animal Taxonomy and Evolution, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306

* Corresponding author, dszhang@shou.edu.cn

DOI: 10.13417/j.gab.040.003448

Abstract Mitochondrion has its own unique mitochondrial genome which encodes 13 proteins related to oxidative phosphorylation. Through the oxidative phosphorylation, the mitochondrion can produce a large amount of adenosine triphosphate (ATP) and reactive oxygen species to meet the energy requirements of biological daily activities. The loss of hemoglobin in white-blooded Antarctic fish results in drastically decreased oxygen carrying capacity. Therefore, these mitochondrial protein-coding genes may be under adaptive evolution to cope with the oxygen supply challenge. To investigate the impact of hemoglobin on the evolution of the Antarctic fish mitochondrial protein-coding genes, we analyzed three kinds of fishes, including 6 white-blooded Antarctic fishes, 5 red-blooded Antarctic fishes, and 9 tropical fishes. we estimated evolutionary rates, relaxed selections, the polymor-

基金项目:本研究由上海海洋大学一流本科建设引领计划(A1-3201-20-100301)资助

引用格式: Hu T.W., Wang S.H., and Zhang D.S., 2021, Adaptive evolution of mitochondrial genome in red-blooded Antarctic Fish and white-blooded Antarctic Fish, *Jiyinzuxue yu Yingyong Shengwux(Genomics and Applied Biology)*, 40(11-12 combined issue): 3448-3457(胡田伟, 王世航, 张东升, 2021, 线粒体基因组在红血南极鱼和白血南极鱼中的适应性进化, 40(第11-12期合刊): 3448-3457)

phisms of homologous sites and 3D structure prediction of 13 protein encoding genes. We found that evolutionary rates of mitochondrial genome were relatively increased in red-blooded Antarctic fishes than that of white-blood Antarctic fishes and tropical fishes. Furthermore, these genes were only under relaxed selection in red-blooded Antarctic fish. More amino acid polymorphic sites were presented in red-blooded Antarctic fish than the other two groups. On the contrary, the evolutionary rates of these genes in the white-blooded Antarctic fishes were relatively decreased and some genes were under intensified selection; the polymorphic sites of amino acid sequences were relatively less than that of red-blooded Antarctic fishes. This study indicates that existence of hemoglobin could affect the evolutionary behavior of the mitochondrial genes in Antarctic fishes.

Keywords Antarctic fish; Mitochondrion; Phylogeny; Hemoglobin; Adaptive evolution

通常情况下,氧气是鱼类在水中生存的重要限制因素,低氧环境被认为是目前鱼类面临的主要威胁之一(Diaz et al., 2008)。氧气的缺乏会对鱼类的生长、生理调节和免疫功能造成不利的影响,严重时甚至会导致死亡(Ackerly et al., 2018; Abdel-Tawwab et al., 2019)。鱼类的低氧适应主要通过两个途径实现:一方面,增加血红蛋白浓度(Saint-Paul, 1984)和红细胞数量(Nikinmaa et al., 2005)以提高氧气摄入和有氧呼吸的效率;另一方面,降低活动强度以减少能量消耗(Chapman et al., 2009),并提高无氧代谢生产三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的能力,增强对无氧代谢副产物的耐受能力(Richards, 2011)。然而,生存在南极地区的鳄冰鱼科(Channichthyidae)鱼类,由于低温环境下水体的含氧量较高,表现出了很多适应低温高氧环境下的独特表型(许强华等, 2021)。比如,这些白血南极鱼是唯一没有血红蛋白的脊椎动物(Ruud, 1954),在缺少血红蛋白运氧的情况下,其耗氧量却与南极鱼亚目(Notothenioidei)的近亲维持了相同的水准(Ruud, 1954; Holeyton, 1970)。白血南极鱼类的心脏比其他具有血红蛋白的南极鱼类大2~3倍,毛细血管更加发达,血管通透性也有所增加。这些生理学和解剖学特征可能帮助这些缺少血红蛋白的鱼类更好地运输氧气,缓解由缺乏血红蛋白带来的氧气匮乏。

由于线粒体是真核生物中涉及氧气消耗和能量代谢的重要细胞器,生物体内大约95%的氧气都经由线粒体的氧化磷酸化途径被消耗,并产生ATP供生物体活动所需(夏循礼, 2017)。因此血红蛋白的丢失会迫使白血南极鱼的线粒体产生适应性的进化以补偿供氧的不足(Petersen et al., 2010)。例如,涉及线粒体生物合成及功能表达的基因在白血南极鱼中有着更多的拷贝数(Coppe et al., 2013),以此来增加线粒体的数量。而O'Brien Kristin等(2010)的研究进一步证实了这种猜测,白血南极鱼体内线粒体的密度(单位体积内线粒体数量)明显高于红血南极鱼;其

线粒体外膜中磷脂的比例也得到了相应的扩大,增加了氧气扩散效率。然而,这些表型适应与分子进化之间的关联仍然未知。

线粒体基因组编码的13个蛋白,分别是细胞色素b脱辅基酶(CYTB)、细胞色素氧化酶的3个亚基(COX1、COX2、COX3)、NADH脱氢酶的7个亚基(ND1、ND2、ND3、ND4、ND4L、ND5、ND6)和ATP合酶的2个亚基(ATP6、ATP8)。由于线粒体基因组编码的13个蛋白与氧化磷酸化过程密切相关,这些亚基长期处于正向或负向的选择压力作用下(Ballard et al., 2004; Rand, 2001)。在高耗氧的物种中,这些亚基会受到更加严格的选择压力作用;而在低耗氧的物种中,这些亚基更倾向于受到放松性的选择压力作用(Shen et al., 2009)。与此同时,一些对线粒体活性酶的研究表明,热带鱼线粒体内涉及到能量代谢的关键酶活性显著低于红血南极鱼(Crockett et al., 1990; Kawall et al., 2002),且白血南极鱼线粒体中关键代谢酶的活性同样低于红血南极鱼(K. M. O'Brien et al., 2003)。因此,为了探究血红蛋白对南极鱼线粒体基因组进化的影响,本研究选择了白血南极鱼、红血南极鱼以及一些生活在热带地区的鱼类,通过分析和比较其线粒体基因组(贺玉姣等, 2019; 葛倩芸等, 2020),探究其线粒体基因组蛋白编码基因在进化模式上的差异性。

1 结果与分析

1.1 选择压力分析

为了评估白血南极鱼、红血南极鱼以及热带鱼之间的线粒体蛋白编码基因受到选择压力的差异性,本研究先从NCBI数据库中收集了20种鲈形目鱼类的线粒体蛋白编码序列,随后以Mega 7(Kumar et al., 2016)程序对其序列进行比对,并构建系统发育树(图1)。以此系统发育树为引导树,本研究使用

CODEML 程序的自由比率模型(free-ratio model)对这三类鱼的选择压力进行评估。通过将线粒体 13 个编码基因连接成全长基因,本研究对三类鱼的非同义替换率(d_N),同义替换率(d_S)以及进化速率(d_N/d_S)进行分析,并以 t 检验来判断其差异性是否显著。 d_N 、 d_S 、 d_N/d_S 都在红血南极鱼中表现出较高的数值(图

2A)。此外,对三组数据(d_N 、 d_S 、 d_N/d_S)中的三类鱼做两两的 t 检验时, P 值大多小于 0.05,说明相对于另两类鱼,红血南极鱼的线粒体基因正在加速进化,且表现出了显著差异。而对 13 个基因分别进行检测的结果也表现出了同样的趋势,有 12 个基因在红血南极鱼中表现出更高的非同义替换率(d_N),且有 10 个基因

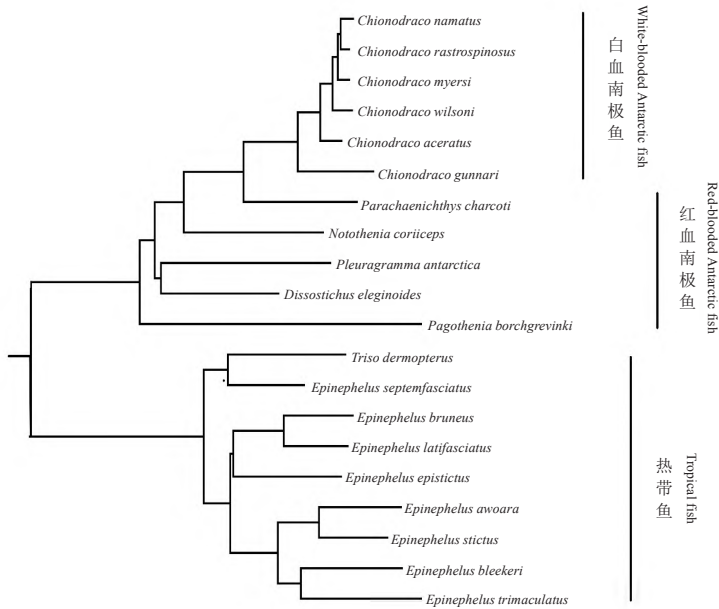


图1 本实验中涉及到的鱼类及其系统发育关系
Figure 1 Phylogenetic relationships among the species investigated in this study

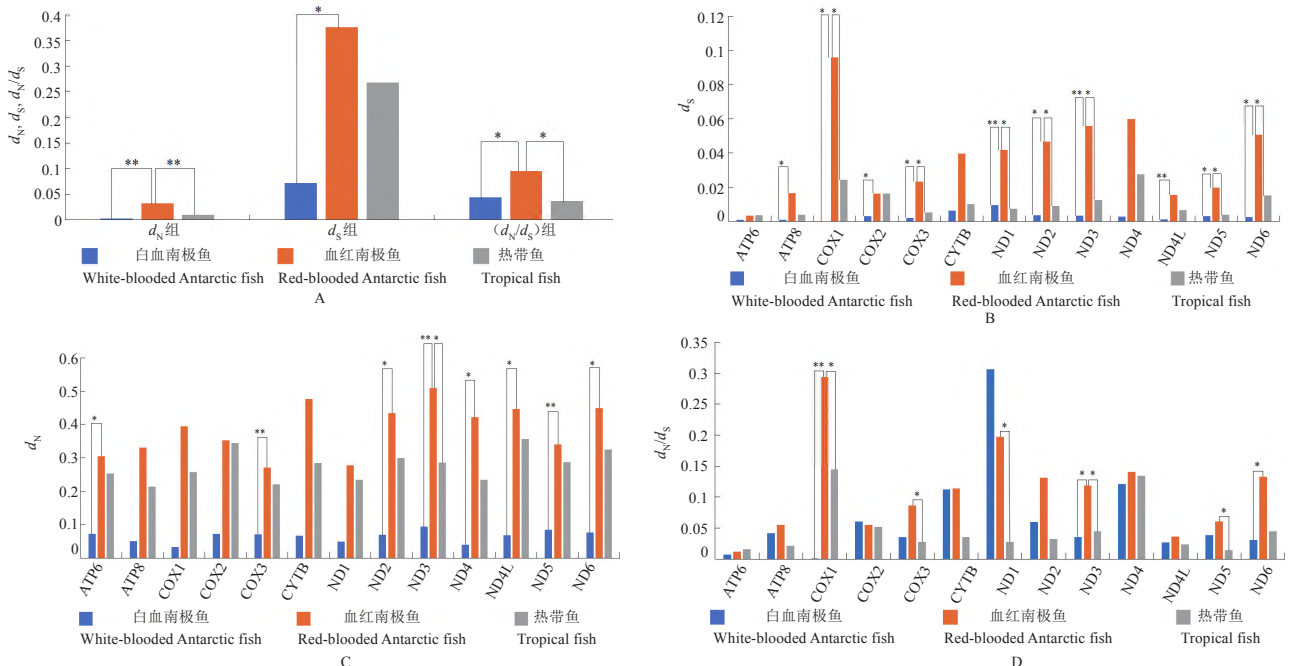


图2 白血南极鱼、红血南极鱼以及热带鱼进化速率比较
Figure 2 Comparisons of d_N , d_S and d_N/d_S values in white-blooded Antarctic fish, red-blooded Antarctic fish and tropical fish

表现出了显著性的差异。而在同义替换率(d_s)中,13个基因均在红血南极鱼中表现出了更高的数值,但表现出显著差异的基因仅8个(图2B; 2C)。最后,有10个基因在红血南极鱼中表现出更高的进化速率(d_N/d_s),且有6个基因中表现出显著性(图2D)。

为了探究哪些基因受到了正选择,本研究采取

了支一位点(branch site)模型,将三类鱼分别标记为前景支,检测其正选择位点的数量。红血南极鱼正选择位点的数量明显高于另两类鱼:红血南极鱼在13个基因中都发现了正选择位点,热带鱼在9个基因中发现了正选择位点,而白血南极鱼仅在5个基因中发现了正选择位点(图3)。

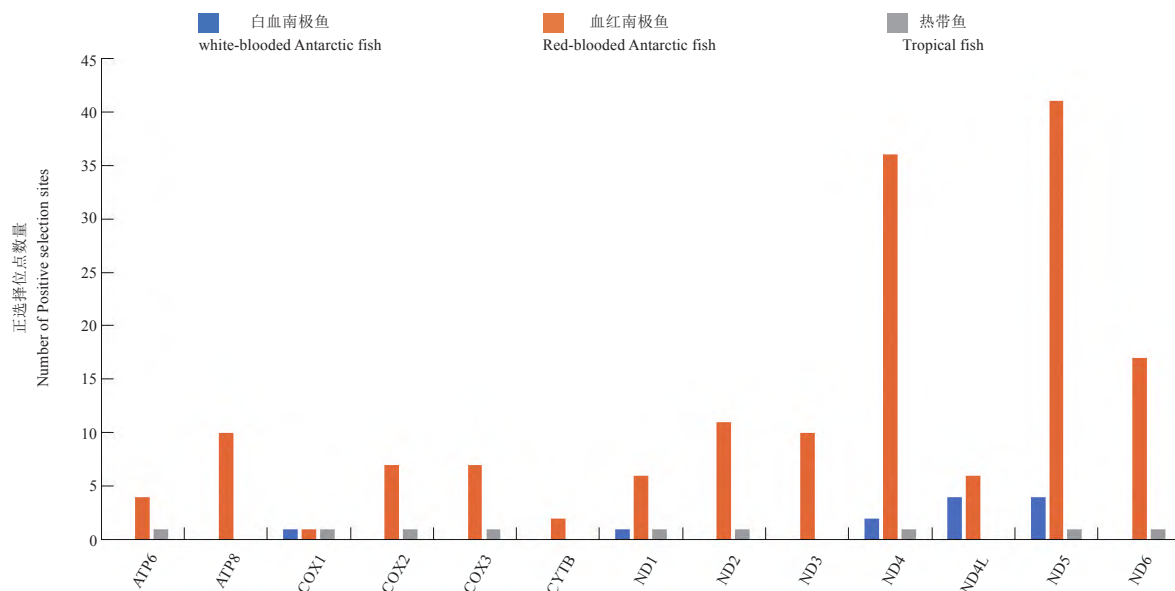


图3 三类鱼中检测到正选择位点的数量
Figure 3 Number of positive selection sites in different groups

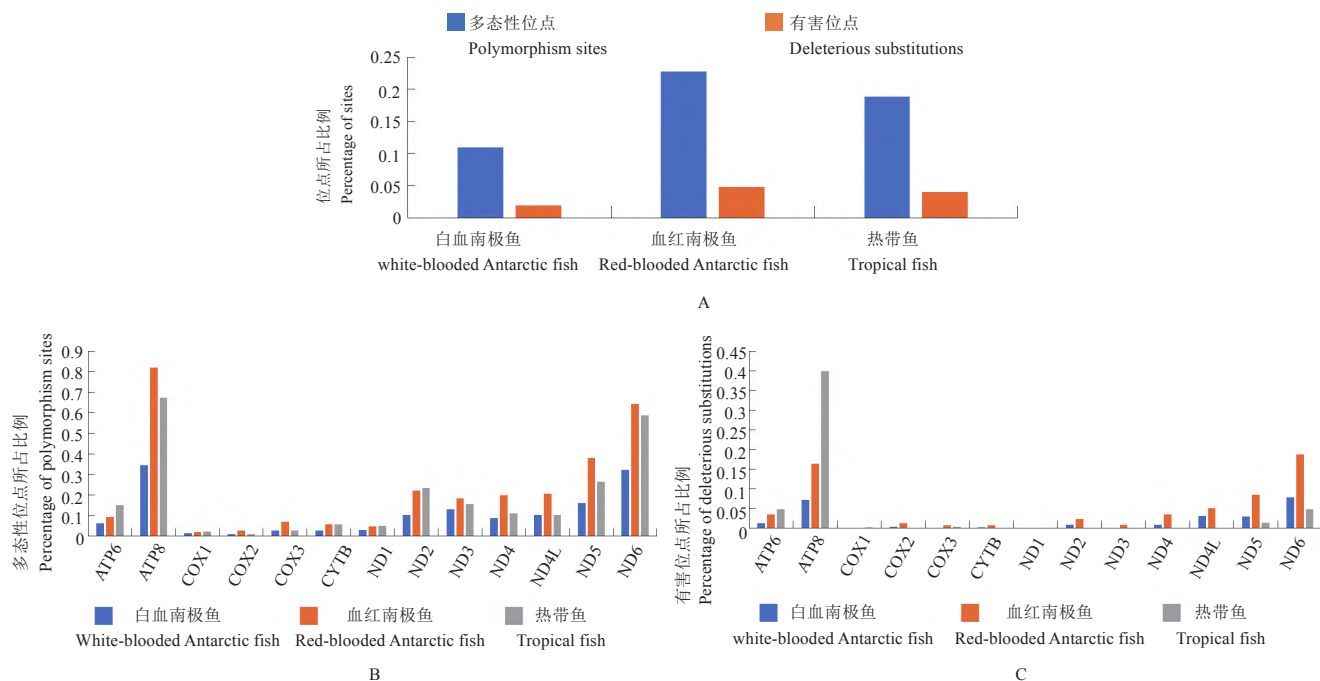


图4 三类鱼中检测到的氨基酸多态性位点出现的频率和有害突变位点出现的频率
Figure 4 Frequencies of polymorphism sites and deleterious substitutions of amino acid in different groups

1.2 线粒体蛋白氨基酸多态性

基于氨基酸序列的比对结果,本研究进一步调查了三类鱼的13个线粒体蛋白氨基酸多态性,并用PROVEAN程序探究了这些位点突变造成的潜在影响。红血南极鱼的线粒体蛋白氨基酸序列中,多态性位点出现的频率和有害突变位点出现的频率均高于另两类鱼,而对13个线粒体蛋白分别检测的结果同样表现出了这种趋势(图4A)。有9个线粒体蛋白在红血南极鱼中检测出比另两类鱼更高的氨基酸多态性(图4B);同样有9个线粒体蛋白在红血南极鱼中检测出更高的有害突变频率(图4C)。随后,本研究使用Swiss-Model预测了12种蛋白质的三级结构(除了ATP8无法预测)。随后,检测到的多态性位点被标记在了蛋白质三维结构上,并以黄色和红色分别表示在PROVEAN中预测到的中性突变和有害突变。以ND6为例,ND6的多态性位点在 α 螺旋、 β 折叠以及无规则卷曲部分都有出现,且有害突变的位点也并未集中在某一功能域中(图5)。

1.3 RELAX 放松性选择分析

为了探究13个线粒体蛋白编码基因在三类鱼中受到放松性选择的情况,本研究通过RELAX程序,分别以三类鱼作为测试支,寻找其受到放松性选择的证据。在所有具有显著性的结果($P < 0.05$)中,红血南极鱼有10个基因受到了放松性的选择,且没有任何基因受到强化选择(表1)。另一方面,白血南极鱼和热带鱼分别有4个和11个基因受到了强化选择,且没有任何基因受到放松性选择。随后,本研究

将红血南极鱼作为测试支,分别以白血南极鱼和热带鱼作为背景支进行检测时,红血南极鱼仍然表现出了放松性的选择;而以白血南极鱼为测试支,以热带鱼为背景支的测试结果仅在NDI处表现出放松性选择,且没有表现出显著性。RELAX放松性选择分析结果表明,红血南极鱼比白血南极鱼和热带鱼受到更多的放松性选择;而白血南极鱼和热带鱼之间受到的选择压力更为类似,未表现出显著性差异。

2 讨论

与其他基因组相比,线粒体通常处于更强烈的选择压力之下(Ballard et al., 2004; Rand, 2001),进化速率的加快往往与放松性的纯化选择联系在一起,而强化性的纯化选择则更多与进化速率的减缓相关联(Ometto et al., 2012; Strohm et al., 2015; Lu et al., 2019)。本研究同样证实了这一观点。无论是单独检测13个线粒体编码基因还是将这些基因连接成长基因再进行进化压力分析,研究结果都表明红血南极鱼在非同义替换率(d_n)和同义替换率(d_s)两方面,均显著高于另两类鱼,表现出了更高的进化速率(d_n/d_s),且正选择位点的数量更多(图3)。与此同时,从放松性检验的结果(表1)来看:红血南极鱼有10个基因表现出了放松性的选择,且没有基因表现出强化选择的影响;与之对应的,白血南极鱼和热带鱼分别有4和11个基因受到了强化选择的影响,且没有基因受到放松性的选择的作用。因此,红血南极鱼被认为受到了更宽松的纯化选择压力,而白血南极鱼和热带鱼的下,表明丢失血红蛋白使得其线

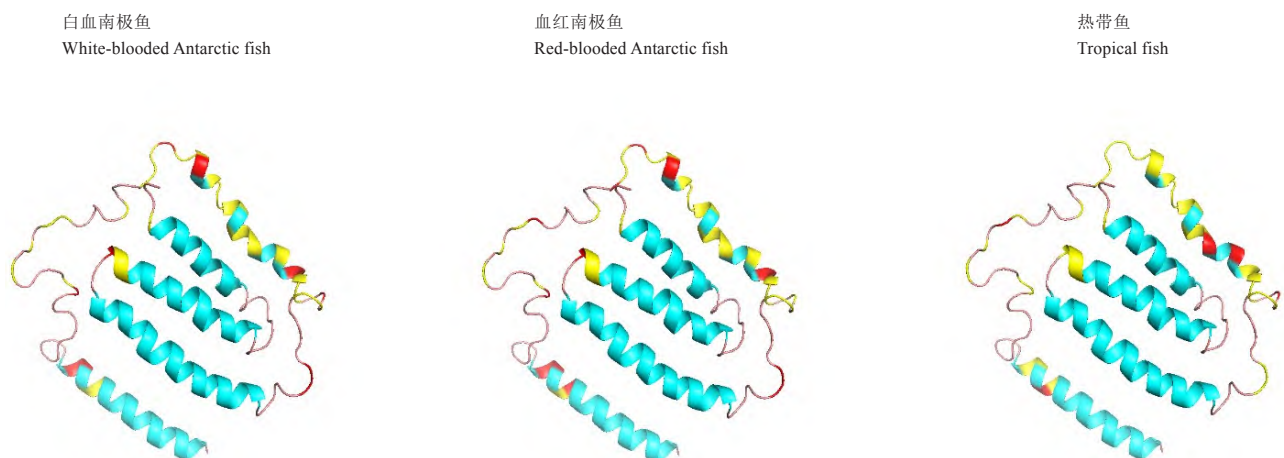


图5 三类鱼中ND6的3D结构预测

Figure 5 3D Structure prediction of ND6 in three kinds of fishes

表 1 RELAX 分析结果中具有显著性部分

Table 1 The significant results of the RELAX analysis

选择 Selection	测试支 Test Branches	基因 Gene	P值 P-value	
放松性选择 Relaxation	红血南极鱼 Red-blooded Antarctic fish	<i>ATP8</i>	0.011	
		<i>COX2</i>	0	
		<i>CYTB</i>	0	
		<i>ND1</i>	0	
		<i>ND2</i>	0	
		<i>ND3</i>	0	
		<i>ND4</i>	0	
		<i>ND4L</i>	0	
		<i>ND5</i>	0	
	<i>ND6</i>	0.001		
强化性选择 Intensification	白血南极鱼 White-blooded Antarctic fish	<i>ATP8</i>	0.023	
		<i>ND2</i>	0.002	
		<i>ND5</i>	0.002	
		<i>ND6</i>	0.042	
	热带鱼 Tropical fish		<i>ATP8</i>	0.004
			<i>COX1</i>	0.049
			<i>COX2</i>	0
			<i>COX3</i>	0
			<i>CYTB</i>	0.003
<i>ND1</i>			0	
	<i>ND2</i>	0		
	<i>ND3</i>	0		
	<i>ND4</i>	0		
	<i>ND4L</i>	0		
	<i>ND5</i>	0		

注: 分别以三种鱼类作为测试支, 另两种鱼类作为背景支进行放松性检测, 结果中具有显著性($P < 0.05$)的部分

Note: Three species of fish were used as test branches, and the other two species of fish were used as background branches for RELAX detection, with significant ($P < 0.05$) results

粒体蛋白编码基因受到的纯化选择压力增强。

适应性进化会增加蛋白质受到环境胁迫时的功能性(Fields et al., 2015),越多有害突变位点的保留表明其受到的选择压力越是宽松。在这基础上,本研究对氨基酸多态性的检测结果同样与之前的结论保持了一致。红血南极鱼的氨基酸多态性位点出现的频率和有害突变位点出现的频率均高于白血南极鱼和热带鱼,且对13个线粒体编码基因单独分析的结果同样符合这种趋势(图4)。与此同时,对其3D结构的预测表明多态性位点和有害突变位点呈现随机分布的状态,并未集中在某一功能域中。这些结果进一步表明了红血南极鱼受到了放松性的选择压力作用。

总的来说,研究结果表明生活在高氧环境下的红血南极鱼,其线粒体基因组受到了放松性选择的作用;而丢失了血红蛋白的白血南极鱼,其线粒体基因组受到的选择压力为强化性的纯化选择,大量的有害突变被淘汰,氨基酸多态性下降,整体受到的选择压力与处于低溶氧环境中的热带鱼更为相似。基于三类鱼的系统发育树(图1),白血南极鱼血红蛋白丢失事件被认为可能导致了氧气运输效率的降低,并由此引发了线粒体基因组的强化性适应性进化。

3 材料与方法

3.1 数据收集与序列比对

20种鲈形目鱼类(Perciformes fishes)被划分为3类:白血南极鱼、红血南极鱼以及热带鱼类。白血南极鱼有6种:*Champocephalus gunnari*(NC_0183-40.1), *Chaenocephalus aceratus*(NC_015654.1), *Chaenodraco wilsoni*(NC_039158.1), *Chionodraco hamatus*(NC_029737.1), *Chionodraco myersi*(NC_010689.1), *Chionodraco rastrospinosus*(NC_039543.1);红血南极鱼有5种:*Pagothenia borchgrevinkii*(NC_030320.1), *Parachaenichthys charcoti*(NC_026578.1), *Pleurogramma antarctica*(NC_015652.1), *Notothenia coriiceps*(NC_015653.1), *Dissostichus eleginoides*(NC_018135.1);热带鱼类9种:*Triso dermatopterus*(NC_022140.1), *Epinephelus septemfasciatus*(NC_013829), *Epinephelus epistictus*(NC_021462.1), *Epinephelus awoara*(NC_018773.1), *Epinephelus stictus*(NC_021133.1), *Epinephelus bleekeri*(NC_022848.1), *Epi-*

nephelus bruneus(NC_013820.1), *Epinephelus latifasciatus*(NC_020784.1), *Epinephelus trimaculatus*(NC_021612.1)。其中,白血南极鱼为丢失血红蛋白的南极鱼,与红血南极鱼同属Notothenioidei亚目。这些物种的分类信息来源于FISHBASE (<https://www.fishbase.in/search.php>),线粒体基因组的序列信息均来源于NCBI数据库。随后,本研究使用Mega 7(Kumar et al., 2016)程序的MUSCLE(Edgar, 2004)比对方法,对其线粒体基因序列进行比对并辅以人工修正。

3.2 分子进化分析

为了评估三类鱼线粒体13个编码基因受到的选择压力差异,本研究使用了PAML4.8(Yang, 2007)中的CODEML程序,并且以自由比率模型(free-ratio model)对13个编码基因连接成的全长基因每一个编码基因都进行了适应性进化分析。为此,本研究还使用了Mega 7(Kumar et al., 2016)程序,以13个编码基因连接成的全长基因为基础,构建了这些物种线粒体基因的系统发育树(图1)。通过CODEML程序的分支模型(branch model)探究白血南极鱼、红血南极鱼以及热带鱼这三类鱼之间进化速率的差异性,并在每一个分支的末端获得对应物种的非同义替换率(d_N)、同义替换率(d_S)以及进化速率(d_N/d_S)的数值。

此外,本研究还分别将每一类鱼作为前景支,进行支——位点模型(branch-site model)检验,通过A模型(前景支上位点均处于正选择)与空假设(背景支上的位点都处于纯化选择,前景支上位点均处于中性选择)进行比较,通过模型A与空假设之间的似然比检验(likelihood ratio test, LRT)来推测某些位点是否受到正选择作用。

3.3 放松性选择分析

RELAX程序(Wertheim et al., 2015)往往被用于检测密码子系统发育框架中组间的放松性选择,借助RELAX的在线服务器(<https://www.datamonkey.org/RELAX>)检测了线粒体13个基因受到放松性选择的情况。本研究分别将白血南极鱼、红血南极鱼以及热带鱼三类鱼作为前景支,以此来探究这些分支是否经历了放松或强化选择压力。如果预测的K值大于1,则表示该前景支受到了选择压力的强化;如果预测的K值小于1,则表示该前景支受到了放松

性选择。

3.4 氨基酸多态性及有害突变检测

基于线粒体 13 个编码基因的序列比对结果,本研究检测了每一个位点上出现的氨基酸种类,并记录具有氨基酸多态性的位点。随后 PROVEAN 程序 (Choi et al., 2012) 被用于对这些多态性位点进行检测,以评估氨基酸替换对蛋白质功能的影响。如果预测的分值大于-2.5,则认为氨基酸替换对蛋白没有产生影响,属于中性突变;如果分值小于-2.5,则认为这种氨基酸替换属于有害突变。

3.5 三级结构预测

基于蛋白质序列, Swiss-Model (Biasini et al., 2014) 可以对蛋白质结构进行同源建模,并预测出蛋白质的三维结构。随后,以 PyMOL 对预测的三维结构进行修饰,分别用黄色和红色标记存在氨基酸多态性和有害突变的位点,并观察这些位点在蛋白质中的分布情况。

作者贡献

胡田伟是本研究的实验设计和实验研究的执行人;胡田伟及王世航完成数据分析,论文初稿的写作并参与实验设计、实验结果分析;张东升是项目的构思者及负责人,指导实验设计、数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由上海海洋大学一流本科建设引领计划 (A1-3201-20-100301) 资助。

参考文献

Abdel-Tawwab M., Monier M.N., Hoseinifar S.H., and Faggio C., 2019, Fish response to hypoxia stress: growth, physiological, and immunological biomarkers, *Fish Physiol. Biochem.*, 45(3): 997-1013.

Ackerly K.L., Krahe R., Sanford C.P., and Chapman L.J., 2018, Effects of hypoxia on swimming and sensing in a weakly electric fish, *J. Exp. Biol.*, 221 (Pt14): jeb172130.

Ballard J.W.O., and Whitlock M.C., 2004, The incom-

plete natural history of mitochondria, *Mol. Ecol.*, 13(4): 729-744.

Biasini M., Bienert S., Waterhouse A., Arnold K., Studer G., Schmidt T., Kiefer F., Cassarino T. G., Bertoni M., Bordoli L., and Schwede T., 2014, SWISS-MODEL: Modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information, *Nucleic Acids Res.*, 42(web Server issue): W252-W258.

Chapman L.J., and McKenzie D.J., 2009, Chapter 2 behavioral responses and ecological consequences, *Fish Physiol.*, 27: 25-77.

Choi Y., Sims G.E., Murphy S., Miller J.R., and Chan A.P., 2012, Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels, *PLoS ONE*, 7 (10): e46688.

Coppe A., Agostini C., Marino I.A.M., Zane L., Bargelloni L., Bortoluzzi S., and Patarnello T., 2013, Genome evolution in the cold: antarctic icefish muscle transcriptome reveals selective duplications increasing mitochondrial function, *Genome Biol. Evol.*, 5(1): 45-60.

Crockett E.L., and Sidell B.D., 1990, Some pathways of energy metabolism are cold adapted in antarctic fishes, *Physiol. Zool.*, 63(3): 472-488.

Diaz R.J., and Rosenberg R., 2008, Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems, *Science*, 321(5891): 926-929.

Edgar R.C., 2004, MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity, *BMC Bioinformatics*, 5: 113.

Egginton S., 1994, Stress response in two Antarctic teleosts (*Notothenia coriiceps richardson* and *Chae-nocephalus aceratus* Lönnberg) following capture and surgery, *J. Comp. Physiol. B*, 164(6): 482-491.

Fields P.A., Dong Y., Meng X., and Somero G.N., 2015, Adaptations of protein structure and function to temperature: There is more than one way to 'skin a cat', *J. Exp. Biol.*, 218(Pt12): 1801-1811.

Fu S.J., Fu C., Yan G.J., Cao Z.D., Zhang A.J., and Pang X., 2014, Interspecific variation in hypoxia tolerance, swimming performance and plasticity in

- cyprinids that prefer different habitats, *J. Exp. Biol.*, 217(Pt4): 590-597.
- Holeton G.F., 1970, Oxygen uptake and circulation by a hemoglobinless Antarctic fish (*Chaenocephalus aceratus* Lonnberg) compared with three red-blooded Antarctic fish, *Comp. Biochem. Physiol.*, 34(2): 457-471.
- He Y.J., Ma Y.G., Xie H.C., Du Y.R., Zhang T.Z., and Su J.P., 2019, Discussion on the mechanism of high-altitude adaptation in Pika based on mitochondrial genome, *Jiyinzuxue yu Yingyong Shengwu Xue (Genomics and Applied Biology)*, 38(08): 3413-3419. (贺玉姣, 马永贵, 谢惠春, 都玉蓉, 张同作, 苏建平, 2019, 基于线粒体基因组的鼠兔高海拔适应机制探讨. *基因组学与应用生物学*, 38(8): 3413-3419.)
- Kawall H.G., Torres J.J., Sidell B.D., and Somero G.N., 2002, Metabolic cold adaptation in antarctic fishes: evidence from enzymatic activities of brain, *Mar. Biol.*, 140(2): 279-286.
- Kumar S., Stecher G., and Tamura K., 2016, MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets, *Mol. Biol. Evol.*, 33(7): 1870-1874.
- Lahti D.C., Johnson N.A., Ajie B.C., Otto S.P., Hendry A.P., Blumstein D.T., Coss R.G., Donohue K., and Foster S.A., 2009, Relaxed selection in the wild, *Trends Ecol. Evol.*, 24(9): 487-496.
- Ge Q.Y., Cai Y., Wang J.F., and Zhao S.G., 2020, Complete Genome Analysis of mtDNA in Carp and Crucian, *Jiyinzuxue yu Yingyong Shengwu Xue (Genomics and Applied Biology)*, 39(1): 37-43. (葛倩芸, 蔡原, 王建福, 赵生国, 2020, 鲤和鲫线粒体(mtDNA)全基因组分析, *基因组学与应用生物学*, 39(1):37-43.)
- Lu Y., Xing H., and Zhang D., 2019, Evidence for relaxed selection of mitogenome in rapid-flow cyprinids, *Genes Genomics*, 41(7): 863-869.
- Nikinmaa M., and Rees B. B., 2005, Oxygen-dependent gene expression in fishes, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288(5): R1079-R1090.
- O'Brien K. M., Skilbeck C., Sidell B. D., and Egginton S., 2003, Muscle fine structure may maintain the function of oxidative fibres in haemoglobinless Antarctic fishes, *J. Exp. Biol.*, 206(2): 411-421.
- O'Brien Kristin M., and Mueller I. A., 2010, The unique mitochondrial form and function of antarctic channichthyid icefishes, *Integr. Comp. Biol.*, 50(6): 993-1008.
- Ometto L., Li M., Bresadola L., and Varotto C., 2012, Rates of evolution in stress-related genes are associated with habitat preference in two *Cardamine* lineages, *BMC Evol. Biol.*, 12(1) : 7.
- Petersen L.H., and Gamperl A.K., 2010, Effect of acute and chronic hypoxia on the swimming performance, metabolic capacity and cardiac function of Atlantic cod (*Gadus morhua*), *J. Exp. Biol.*, 213(5): 808-819.
- Rand D.M., 2001, The units of selection on mitochondrial DNA, *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 32: 415-448.
- Richards J.G., 2011, Physiological, behavioral and biochemical adaptations of intertidal fishes to hypoxia, *J. Exp. Biol.*, 214(2): 191-199.
- Ruud, and Johan T., 1954, Vertebrates without erythrocytes and blood pigment, *Nature*, 173(4410): 848.
- Saint-Paul U., 1984, Physiological adaptation to hypoxia of a neotropical characoid fish *Colossoma macropomum*, *Serrasalminae*, *Environ. Biol. Fishes.*, 11(1): 53-62.
- Shen Y.Y., Shi P., Sun Y.B., and Zhang Y.P., 2009, Relaxation of selective constraints on avian mitochondrial DNA following the degeneration of flight ability, *Genome Res.*, 19(10): 1760-1765.
- Strohm J.H.T., Gwiazdowski R.A., and Hanner R., 2015, Fast fish face fewer mitochondrial mutations: Patterns of *dN/dS* across fish mitogenomes, *Gene*, 572(1): 27-34.
- Sun Y.B., Shen Y.Y., Irwin D.M., and Zhang Y.P., 2011, Evaluating the roles of energetic functional constraints on teleost mitochondrial-encoded protein evolution, *Molecular Biology and Evolution*, 28(1): 39-44.
- Wertheim J.O., Murrell B., Smith M.D., Pond S.L.K., and Scheffler K., 2015, RELAX: Detecting re-

- laxed selection in a phylogenetic framework, *Mol. Biol. Evol.*, 32(3): 820-832.
- Xia X.L., 2017, Summary on respiratory chain pathway models of oxidative phosphorylation, *Shengming De Huaxue (Chemistry of Life)*, 37(4): 635-637. (夏循礼, 2017, 氧化磷酸化的呼吸链途径模式概论, *生命的化学*, 37(4):635-637.)
- Xu Q.H., and Chen L.B., 2021, Current progress on understanding of molecular evolution enabling cold adaptation in Antarctic fishes: a review, *Dalian Haiyang Daxue Xuebao (Journal of Dalian Ocean University)*, 36(2): 177-186. (许强华, 陈良标, 2021, 南极鱼类适应低温的分子进化研究进展, *大连海洋大学学报*, 36(2):177-186.)
- Yang Z. H., 2007, PAML 4: Phylogenetic analysis by maximum likelihood, *Mol. Biol. Evol.*, 24(8): 1586-1591.

(责任编辑 蹇慧)