

Doi :10.11840/j.issn.1001-6392.2017.06.001

压力及温度对海洋动物生理影响的研究进展

陈家炜^{1,2}, 张海滨¹

(1. 中国科学院深海科学与工程研究所, 海南 三亚 572000; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 随着海洋深度的增加, 压力逐渐升高而温度逐渐降低。因此, 应对压力和温度变化的能力直接影响着海洋动物的垂直分布模式。本文综述了近年来国际上关于压力及温度对海洋动物生理影响的研究进展, 概述了 3 种常用的研究方法, 包括直接比较不同深度近缘海洋动物的差异、使用加压装置培养海洋动物、在常压及原位温度下培养深海动物; 然后归纳了压力及温度对海洋动物生理的影响, 包括有机渗透调节物质浓度及蛋白质序列、胚胎及幼体发育速率和畸变率、行为模式及代谢速率、基因表达水平; 最后讨论了海洋动物适应高压环境的生理机制, 压力对海洋动物垂直分布的限制能力, 以及浅海动物和深海动物的起源关系。

关键词: 压力; 温度; 深海; 海洋动物; 生理影响; 耐受能力; 起源关系

中图分类号: P735 文献标识码: A 文章编号: 1001-6932(2017)06-0601-10

A research progress of physiological effects of marine animals by hydrostatic pressure and temperature

CHEN Jia-wei^{1,2}, ZHANG Hai-bin¹

(1. Institute of Deep-sea Science and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Increased hydrostatic pressure and decreased temperature occurred with the increase of sea depth. Therefore, the tolerances of thermal and pressure changes significantly influenced the vertical distribution of marine animals. This paper reviewed three main international research methods of investigating hydrostatic pressure and thermal tolerances of marine animals, including direct comparing the differences between congeneric species from different depth, pressuring marine animals by pressurisation system, trapping deep-sea animals and maintaining them at atmospheric pressure and ambient temperature. Then, this paper summarized a number of physiological effects resulting from hydrostatic pressure and temperature, including organic osmolytes concentration and protein structure, embryonic and larval development, behavior and metabolic rate, gene expression level. At last, this paper discussed the mechanisms of high pressure adaptation, the limitation of vertical distribution of marine animals by hydrostatic pressure, and the origin relationship between shallow and deep-sea animals.

Keywords: hydrostatic pressure; temperature; deep-sea; marine animals; physiological effects; tolerance; origin relation

深海动物生存需要应对的环境胁迫因子包括低温、高压、无光和营养缺乏(方银霞等, 2000)。这些生态因子在影响深海动物分布范围的同时, 也影响其基因表达、代谢、发育速率和行为模式等。

诸多生态因子中, 温度和压力对海洋动物的影响是最为直接和广泛的(Young et al, 1997; Pradillon et al, 2007)。对于浅海环境而言, 水温随着纬度改变相应发生变化。对于深海环境, 温度和压力都

收稿日期: 2017-03-16; 修订日期: 2017-05-04

基金项目: 中国科学院百人计划项目(SIDSSE-BR-2014); 国家自然科学基金面上项目(41576127); 中科院深海所知识创新工程领域前沿项目(SIDSSE-2014)。

作者简介: 陈家炜(1993-), 硕士研究生, 主要从事海洋动物压力适应机制研究。电子邮箱: chenjw@idsse.ac.cn。

通讯作者: 张海滨, 研究员。电子邮箱: hzhang@idsse.ac.cn。

<http://hytb.nmdis.org.cn>

和深度直接相关：海洋深度每增加 1 000 m，压力增加约 10 MPa (100 atm) (方金瑞等, 1995)；水深大于 400 m 的深海水温在 2 °C~4 °C (Brown et al, 2011; Nunoura et al, 2015)。压力和温度对生物膜的流动性、蛋白质结构稳定性和酶活性有直接影响 (Somero, 1992; Pradillon et al, 2007; Mestre et al, 2014)，一般而言，高压和低温对生物造成的影响是相似的 (Thatje et al, 2010; Calligari et al, 2015)，两者都会降低酶活性和生物膜流动性 (Behan et al, 1992; Pradillon et al, 2007)，并且随着压力的上升，蛋白质的降解温度也会上升 (Balny et al, 1997)。因此，要研究海洋动物在不同海洋环境中的生理适应机制及演化过程，必须同时考虑温度和压力对其的影响。

许多浅海动物和深海动物有着紧密的系统发育关系 (Distel et al, 2000; Tokuda et al, 2006)，也有化石证据表明深海动物和浅海动物具有同源性 (Zinsmeister et al, 1984)。在古生物学领域中，“生物成体分布区域的温度范围几乎与其温度耐受域一致”是一条被广泛接受的定律 (Menzies et al, 1975)。因此在深海动物和浅海动物的起源关系假说中，水团温度的一致性被认为是必须满足的条件，现在被广泛接受的假说有两个：其中之一认为，深海动物起源于寒冷且几乎等温的高纬度浅海冷水团 (Kussakin, 1973)；第二种认为，深海动物起源于中生代末期或新生代初期的低纬度浅海，因为当时的水温较暖且垂直混合均匀 (Menzies et al, 1975; Berger et al, 2013)。在第一个假说中，高纬度地区的浅海动物不再需要继续适应新的温度，并且该假说描述的演化过程可能依旧存在于在高纬度地区的海洋动物群体中 (Tyler et al, 1998; Smith et al, 2012)；在第二个假说中，随着地质时期的推移，深海温度会逐渐降低，这要求迁移至深海的动物逐渐适应新的低温环境 (2 °C~4 °C)。然而，温度并非是浅海动物迁移至深海的唯一屏障，压力在深海动物演化过程同样有着决定性的作用 (Somero, 1992)。因此研究某一温度下，浅海动物随压力增加而发生的生理变化，能够为深海动物演化途径提供线索。

许多生态因子对海洋生物的生理影响都得到了较全面的研究，但是压力对海洋生物的影响还比较欠缺 (Bartlett et al, 1995)。本文就国际上在该领

域的研究方法及成果做一整理和讨论，希望能为我国深海动物领域的研究提供一些借鉴。

1 压力和温度对海洋动物生理影响的研究方法

1.1 直接比较不同深度近缘海洋动物的差异

为了研究压力对海洋动物造成的影响，直接比较深海种及其浅海近缘种的差异是常见的方法之一。研究对象包括有机渗透调节物质 (organic osmolyte)，比如 Trimethylamine N-oxide (TMAO) 在不同深度近缘生物肌肉细胞内的浓度差异 (Yancey et al, 2002; Zerbst-Boroffka et al, 2005)；结构蛋白，比如深海和浅海近缘生物的肌动蛋白氨基酸序列和三维结构差异 (Morita, 2003)。然而在自然海水环境中，压力并非随深度变化的唯一变量，其它生态因子包括溶解氧、盐度、温度都会产生相应的变化。为了消除这些干扰，有研究人员在深度较大 (1 600 m) 的淡水湖泊 Baikal 湖进行采样 (Zerbst-Boroffka et al, 2005)，由于 Baikal 湖具有特殊的理化性质，包括表层底层水温差异不超过 4 °C、各水层溶氧充足、无机离子含量低，使得压力 (深度) 几乎是其唯一变量。

使用这种方法进行定量研究时，确保研究对象不会随着采样方法以及采样时间发生改变是重要的。以有机渗透调节物质为例，在拖网采样和样品降解的过程中，细胞膜的通透性及完整性会受到破坏，但是由于有机渗透调节物质的运输需要能量参与，所以细胞膜功能一定程度的损坏不会对细胞内有机渗透调节物质的含量有太大的影响 (Zerbst-Boroffka et al, 2005)。然而对于一些易降解的生物大分子的定量研究，比如基因表达水平的研究，这种方法显然具有局限性。

1.2 使用加压装置培养海洋动物

在实验室内通过加压装置培养海洋动物，严格控制温度和压力作为有限的变量，并观察该海洋动物发生的相应生理变化，是非常有效的研究手段 (Tyler et al, 2000; Thatje et al, 2010; Morris et al, 2015)。通过加压装置，研究人员可以设置不同的温度和压力条件，定量研究其对海洋动物的影响。不同研究中的实验对象包括海洋无脊椎动物的生殖细胞 (精细胞和卵细胞)、胚胎、幼体和成体；观察变

量包括胚胎及幼体发育速率、胚胎及幼体畸变率、代谢速率、行为模式和基因表达水平(表1)。

加压实验的一般步骤可以概括为6步:

(1) 从自然环境中获取实验样品

常见的采样方法包括拖网(Tyler et al, 1998;

Smith et al, 2013)、潜水员捕捉(Tyler et al, 2000)和手持网具捕捉(Oliphant et al, 2011; Cottin et al, 2012)。在采集到样品后使用采样地点的海水暂存,然后移至长期培养地点。

表1 不同研究中的实验对象及观察变量信息

种名	发育阶段	观察变量	文献来源
<i>Mytilus edulis</i>	生殖细胞	胚胎发育速率、畸变率	(Mestre et al, 2009)
<i>Palaemonetes varians</i>	成熟个体	基因表达水平	(Morris et al, 2015)
<i>Palaemonetes varians</i>	成熟个体	行为模式、代谢速率	(Oliphant et al, 2011)
<i>Palaemonetes varians</i>	成熟个体	行为模式、基因表达水平	(Cottin et al, 2012)
<i>Pagurus cuanensis</i>	成熟个体	行为模式、代谢速率	(Thatje et al, 2010)
<i>Buccinum undatum</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、代谢速率	(Smith and Thatje, 2012; Smith et al, 2013)
<i>Sterechinus neumayen</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Tyler et al, 2000)
<i>Echinus esculentus</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Tyler et al, 1998)
<i>Echinus acutus</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Tyler et al, 1998)
<i>Echinus affinis</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Tyler et al, 1998)
<i>Paracentrotus lividus</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Young et al, 1997)
<i>Arbacia lixula</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Young et al, 1997)
<i>Sphaerechinus granularis</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Young et al, 1997)
<i>Psammechinus miliaris</i>	胚胎及幼体	胚胎及幼体发育速率、畸变率	(Aquino-Souza et al, 2008)

(2) 实验样品的长期培养

需要控制的条件包括:温度、盐度、pH值、溶解氧、光照周期、营养。培养温度一般保持和样本生活环境温度一致;盐度和pH值的控制通过更新过滤海水控制;溶解氧一般通过气泵来维持;光照周期根据采样季节调整,控制其和自然环境相同;不同生物的饵料投喂频率有差异,一般投饵后的第2天会更新海水。

(3) 实验前的样品预处理

实验设置的温度和培养温度有差异,为了排除剧烈温度变化对实验对象的影响,需要通过缓慢调整温度,使实验对象适应新的温度条件。温度的变化速率一般为2℃/天,并在达到预设温度后维持该温度继续培养2~7天,然后再进行实验。为了防止细菌及其它有机物对实验造成的影响,在实验前2~3天就会停止投喂饵料。但是值得注意的是,是否喂食对生物的代谢速率有着很大的影响,即使是食物的气味也会导致差异(Smith et al, 1982)。

(4) 实验前的仪器预处理

不同研究人员使用的加压装置型号有差异,但是基本设计和原理是相似的,其中,IPOCAMP是使用最广泛的加压装置之一(Shillito et al, 2014)。

在进行加压实验前,加压装置要提前调整到实验温度,并维持2h以上,确保实验温度的稳定。为了防止气体对实验的影响,在实验开始前要将气体全部排出。

(5) 进行加压实验

根据观察变量的不同,实验时间有很大差异。以代谢速率为观察变量的实验中,溶解氧一方面是衡量代谢速率的自变量,另一方面缺氧也会对代谢速率造成影响。为了确保水体溶解氧充足,这类实验的维持时间不长,一般不会超过2h,并且要求在30s内加压至预设压力(Thatje et al, 2010; Oliphant et al, 2011);以胚胎发育速率和畸变率为观察变量的实验中,因为胚胎不依赖外界营养物质,胚胎本身耗氧速率较低,并且胚胎发育需要足够的时间,所以这类实验的培养时间较长,可以达到50h(Tyler et al, 1998; Tyler et al, 2000; Mestre et al, 2009; Smith et al, 2012);以基因表达水平和行为模式为观察变量的实验中,一般实验时间在2h以内(Thatje et al, 2010; Oliphant et al, 2011; Morris et al, 2015),但是最长的培养时间达到了7天(Cottin et al, 2012)。实验对象的发育阶段影响压力的设置,一般以胚胎和幼体为实验

对象的实验中,最大压力可以达到 50 MPa (Mestre et al, 2009),以成熟个体为实验对象的实验中,最大压力一般不会超过 30 MPa (Oliphant et al, 2011)。

(6) 实验后样品的保存及处理

代谢速率一般通过耗氧速率来衡量,行为模式在结束实验前的 30 s 通过内窥镜观察并记录,胚胎的发育阶段及畸变率通过显微镜观察并计算,基因表达水平一般通过 Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction (qPCR) 来分析。

1.3 在常压及原位温度下培养深海动物

使用原位保温诱捕工具通过搭载深海着陆器 (Witte et al, 2000) 或者自由下沉诱捕系统 (Janßen et al, 2000) 到达距离海底 64~124 cm 处,放置 29~50 h 后 (Treude et al, 2002),在维持原位温度的条件下,诱捕深海动物,并带回实验室在常压下进行实验。在这个过程中,深海动物需要耐受剧烈的压力变化,获取的样品存在部分死亡的可能 (Treude et al, 2002)。另外,一些海洋动物,尤其是深海动物,对温度变化非常敏感 (Paul, 1973; George, 2005; Smith et al, 2013),因此从采样到实验,都要求其温度维持在原位温度,且捕获后的样品需要保存在避光条件下。

由于样本量往往很小,所以没有条件挑选生长条件一致的个体进行实验,实验个体往往存在体长和重量上的差异。因此,观察变量需要进行标准化,往往使用单位重量的耗氧速率或者氨释放速率衡量代谢速率 (Treude et al, 2002)。

2 压力及温度对海洋动物生理的影响

2.1 有机渗透调节物质及蛋白质

海洋生物适应高压需要保持蛋白质结构和功能域的稳定,已经发现的途径有两类。一类是通过增加功能蛋白微环境中的有机渗透调节物质浓度来提高蛋白质的稳定性 (Yancey et al, 2002);另一类是通过改变功能蛋白自身氨基酸序列从而改变构象,提高其稳定性 (Swezey et al, 1985; Morita, 2003)。由于甘氨酸侧链构成了最小的空间结构,所以任意氨基酸被甘氨酸基替换都可以在一定程度上提高蛋白质的稳定性 (Somero, 2003)。

有机渗透调节物质是海洋无脊椎动物和板鳃纲

鱼类用于调节体内渗透压的一类有机分子,且不同的生物体内有机渗透调节物质种类存在差异。随着压力的上升,海洋动物体内的有机渗透调节物质浓度也会升高,如 *Rajahollandi* 体内的 TMAO,在酵母的培养基中加入 TMAO 可以提高酵母在高压环境下的存活率 (Yancey et al, 2002)。肌动蛋白序列非常保守,深海鱼类 *Coryphaenoides spp.* 的肌动蛋白相比浅海生物和陆地生物,虽然在序列上只有 3 个氨基酸的替换,但是在高压环境下明显具有更好的稳定性 (Swezey et al, 1985; Morita, 2003)。

根据 Le Chatelier 原理,在一个平衡的化学反应体系中,如果某种因素发生了变化,那么反应平衡会向着减轻这种改变的方向移动。深海的高压低温条件增加了生化反应发生的难度,因此对于深海生物体内的蛋白质而言,相比浅海生物体内同源蛋白,其稳定性更低,键能更低;但是在各自的自然生理条件下,深海浅海同源酶类的催化效率几乎一样 (Somero, 2003)。

2.2 胚胎及幼体发育速率和畸变率

使用加压装置培养生殖细胞、胚胎及幼体的实验中,除了温度和压力,加压培养的时间是需要控制的另一个变量。这是由于在进行实验的数小时内,胚胎细胞维持着分裂与生长,而不同发育时期的胚胎或者幼体对压力及温度的耐受能力存在差异,因此选择几个合适的时间段进行实验是有必要的。

压力和温度对早期胚胎及幼体影响的一般规律是,在生物的耐受范围内,随着培养温度的升高,胚胎发育速率升高,胚胎畸变率升高;随着压力的上升,胚胎发育速率下降,且畸变率升高。

然而这种规律并不是绝对的, *Mytilus edulis* 的早期胚胎在 4 h 和 24 h 培养的过程中 (温度变化范围为 5 °C~25 °C、压力变化范围为 0.1~30 MPa),温度及压力和畸变率都没有显著关系;只在培养 50 h 后,温度及压力才和畸变率显著相关 (Mestre et al, 2009)。随着胚胎分裂生长,细胞分化将会提高胚胎的复杂程度,这可能导致早期胚胎向幼体发育的过程中,存在压力和温度耐受能力下降的阶段,在度过这个阶段后其耐压能力才可以得到恢复。因此,压力及温度和畸变率的关系只在胚胎发育一段时间后 (50 h) 才会变得显著。

在温度和压力如何影响胚胎及幼体发育速率和

畸变率的研究领域中，有大量的实验以海胆纲生物为实验对象，并且获得了有价值的信息（表 2）（Young et al, 1997; Tyler et al, 1998; Tyler et al, 2000; Aquino-Souza et al, 2008）。

表 2 海胆纲生物胚胎及幼体生物学信息

物种	样品发育阶段	采样地温度或培养温度/°C	采样地深度/m	最大耐受压力	低温下最大耐受压力
<i>Paracentrotus lividus</i> (Young et al, 1997)	受精卵	12~15	0~50	25 MPa (10°C)	5 MPa (5°C)
	囊胚	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
	早期棱柱幼虫	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
	四腕幼虫	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
<i>Arbacia lixula</i> (Young et al, 1997)	受精卵	12~15	0~50	25 MPa (15°C)	15 MPa (5°C)
	囊胚	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
	原肠胚	10		25 MPa (5°C)	25 MPa (5°C)
	早期棱柱幼虫	10		25 MPa (5°C)	25 MPa (5°C)
	早期四腕幼虫	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
<i>Sphaerechinus granularis</i> (Young et al, 1997)	受精卵	12~15	0~50	25 MPa (15°C)	5 MPa (5°C)
	囊胚	10		25 MPa (10°C)	15 MPa (5°C)
	原肠胚	10		25 MPa (10°C)	5 MPa (5°C)
	早期四腕幼虫	10		25 MPa (15°C)	15 MPa (5°C)
<i>Echinus esculentus</i> (Tyler et al, 1998)	受精卵	10	10~15	20 MPa (7°C)	10 MPa (4°C)
	囊胚	10		20 MPa (7°C)	10 MPa (5°C)
	原肠胚	10		25 MPa (11°C)	10 MPa (4°C)
	四腕幼虫	10		25 MPa (11°C)	10 MPa (4°C)
<i>Echinus acutus</i> (Tyler et al, 1998)	受精卵	10	10~15	20 MPa (7.5°C)	15 MPa (4°C)
	受精卵	4	900	20 MPa (4°C)	20 MPa (4°C)
	囊胚	10		20 MPa (5°C)	20 MPa (5°C)
	原肠胚	10		25 MPa (4°C)	25 MPa (4°C)
	四腕幼虫	10		25 MPa (7°C)	20 MPa (4°C)
<i>Echinus affinis</i> (Tyler et al, 1998)	受精卵	2~4	1 200~2 400	20 MPa (4°C)	20 MPa (4°C)
<i>Sterechinus neumayen</i> (Tyler et al, 2000)	受精卵	0.9	0~50	20 MPa (0.9°C)	10 MPa (-1.2°C)
	囊胚	10		25 MPa (0.9°C)	20 MPa (-1.2°C)
	棱柱幼虫	10		25 MPa (0.9°C)	20 MPa (-1.2°C)
	四腕幼虫	10		20 MPa (-1.2°C)	20 MPa (-1.2°C)
<i>Psammechinus miliaris</i> (Aquino-Souza et al, 2008)	受精卵	12	0~50	20 MPa (10°C)	20 MPa (10°C)
	原肠胚	10		20 MPa (5°C)	20 MPa (5°C)
	棱柱幼虫	10		20 MPa (5°C)	20 MPa (5°C)

所有种类的海胆胚胎及幼体都可以在大于其成体自然分布深度压力的条件下生长发育。随着温度的上升，胚胎及幼体可以耐受更大的压力，而低温会使其对压力的耐受能力下降，这反映了温度及压力的交互作用对胚胎及幼体有重要影响。并且温度、压力以及温度和压力的交互作用，在所有的培养时间下，都和胚胎和幼体畸变率显著相关。

一般而言，发育阶段靠后的海胆幼体能够耐受更高的压力和更低的温度，唯一的例外是

Sterechinus neumayen，其四腕幼虫相比棱柱幼虫对高压的耐受能力更低 (Tyler et al, 2000)。在不同深度采集的同种海胆 *Echinus acutus*，深海 (900 m) 样品对高压低温的耐受能力要明显强于浅海 (10~15 m) 样品 (Tyler et al, 1998)，Tyler 等 (1998) 认为这个物种可能正在进行着从浅海向深海的演化。深海海胆 *Echinus affinis* 的胚胎已经具有嗜压性，在低压条件下 (<10 MPa) 胚胎不进行生长发育，只有达到 10 MPa 后细胞才开始分裂 (Tyler et

al, 1998)。

对于海洋无脊椎动物, 高温会提高其代谢速率, 高的代谢速率拥有更高的能量需求 (Mestre et al, 2009); 另外, 高压会导致细胞原生质体强度降低和细胞膜蛋白硬化 (Lau et al, 1954; Kitching, 1957), 这或许是高温高压导致畸变率上升的原因。常见的畸变形态包括: 卵裂异常、细胞膜缺失和细胞质外泄 (Mestre et al, 2009)。

2.3 行为模式及代谢速率

压力和温度对行为模式及代谢速率影响的一般规律是: 温度在各压力条件下对代谢速率影响显著, 且在一定范围内, 代谢速率随着温度上升而上升 (Thatje et al, 2010; Oliphant et al, 2011; Smith et al, 2012), 另外, 随着压力的上升, 温度和代谢速率关系的显著性也会发生下降 (Thatje et al, 2010) 或上升 (Childress, 1976); 而压力对代谢速率的影响受到温度控制, 一般低温会增加压力对生物的影响 (Oliphant et al, 2011), 其它温度下, 压力对代谢速率没有显著影响。对于同一物种的不同发育阶段, 成体比幼体对压力的响应更敏感 (Smith et al, 2012)。

随着压力的升高, 生物的活动一开始会更加频繁, 且有逃逸和保护自己的趋势 (Thatje et al, 2010), 但是随着压力的继续升高, 生物将逐渐失去活力 (失去平衡或者不再活动)。在这个过程中, 温度耐受幅以内的升温可以使生物耐受更高的压力 (Oliphant et al, 2011)。

一方面, 浅海动物有着长时间耐受高压的能力, *Palaeomonetes varians* 成体在 10 MPa 压力、5 °C 和 10 °C 水温、不补充饲料的条件下, 在高压釜内培养了 7 天, 并 100 % 存活 (Cottin et al, 2012)。另一方面, 深海动物同样拥有耐受低压的能力, 端足目 *Stephonyx biscayensis* 成体通过诱捕装置由 1 528 m 和 1 765 m 捕获后存活率达到 100 %, 在实验室内常压培养时间长达 2 个月后可以继续作为实验样品 (Brown et al, 2011)。

深海端足类生物的体长、体重具有一定差异, 为了在一定程度上消除体长体重差异带来的代谢速率差异, 在研究中使用单位重量耗氧速率和单位重量氨释放速率来衡量其代谢速率 (Treude et al, 2002)。这也为比较浅海端足类生物和深海端足类生物的代谢速率提供了途径 (表 3)。

表 3 深海端足类和浅海端足类代谢速率比较

种名	单位质量耗氧速率/ ugO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹	单位质量氨释放速率/ ugN g ⁻¹ h ⁻¹	温度/°C	深度/m	文献来源
深海端足类					
<i>Paralicella caperesca</i>	169~191	68~76	0~2	1 920	(Treude et al, 2002)
<i>Eurythenes gryllus</i>	51~118	17~31	0~2	3 950~4 050	
<i>Abyssorhomene distincta</i>	52~74	40	0~2	4 420	
<i>Paralicella caperesca</i>	20~660		3	3 650	(Smith et al, 1982)
<i>Eurythenes gryllus</i>	60~64		2	1 850	(George, 2005)
浅海端足类					
<i>Bachtyporcia pelagica</i>	100~520		5	0	(Fish et al, 1970)
<i>Gammarus oceanicus</i>	40~120		5	0	(Halcrow et al, 1967)
<i>Boeckosimus affinis</i>	580		0	6	(Busdosh et al, 2011)
<i>Paramoera walkeri</i>	60~140		2	50	(Treude et al, 2002)
<i>Waldeckia obesa</i>	0.2~6	0.02~0.64	0	60~100	(Chapelle et al, 1994)

通过比较发现, 深海端足类和浅海端足类生物的单位质量耗氧速率并没有明显差异, 这符合大多数浅海动物代谢速率和压力没有显著关系的规律。但是深海端足类的氨释放速率要明显高于浅海端足类, 这反映深海种的消化速率更快, 使其拥有更快的食物寻找频率 (Treude et al, 2002)。

值得注意的是, 除了压力和温度, 影响海洋动

物代谢速率的可能因素还包括: 饥饿程度、食物气味、是否驯化等。 *Eurythenes gryllus* 在饥饿条件下代谢速率更低 (Treude et al, 2002), 而 *Stephonyx biscayensis* 的代谢速率则和是否喂食没有显著关系 (Brown et al, 2011)。Chapelle (1994) 的研究表明, 经过饥饿处理一段时间后, 端足类生物在初次喂食时, 其耗氧速率是正常状态的 4 倍 (Chapelle

et al, 1994)。另外, 食物的气味也会提高食腐端足类的呼吸速率 (Smith et al, 1982)。在浅海对虾 *Palaemonetes varians* 的驯化实验中, 发现常压 5 °C 驯化 80 天和低温 10 MPa 驯化 7 天后, 可以显著提高其对压力的耐受能力 (New et al, 2014)。但是深海 (1 528~1 765 m) 端足生物 *Stephonyx biscayensis* 在经过常压驯化 2 个月后, 其代谢速率和未经驯化的同一物种没有显著差异。

2.4 基因表达水平

压力和温度对基因表达水平影响的一般规律是: 对于压力相关基因, 在特定温度下, 随着压力上升其表达量上升 (Cottin et al, 2012; Morris et al, 2015)。值得注意的是, 这种趋势并非在所有温度条件下都可以观察到, 在非特定温度下, 压力对这些基因的表达水平没有显著影响。

通过对 *Palaemonetes varians* 进行加压实验, 发现的压力相关基因有 NMDAR-regulated protein、ADP ribosylation factor、heat shock protein 70kDa-isoforms (HSP70)、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)、 β -actin (Cottin et al, 2012; Morris et al, 2015)。其中, N-methyl-aspartate receptors (NMDARs) 对后生动物的中枢神经系统有重要作用 (Gallus et al, 2010; Hepp et al, 2013), NMDAR 的高活性会导致细胞的钙离子泵功能紊乱, 大量聚集钙离子, 从而导致细胞损伤 (Szydlowska et al, 2010)。ADP ribosylation factors 与细胞损伤和 DNA 修复有关, 其高表达或许是对 NMDARs 的响应 (Gilliams-Francis et al, 2003)。HSP70s 是一种广泛的应激蛋白, 对压力和温度都能做出响应, 并且在高温和低温条件下, 对压力的响应更明显 (Cottin et al, 2012)。GADPH 是非常保守的酶, 在细胞代谢中有着重要作用。 β -actin 是细胞内微管的组成部分, 同样非常保守, 在深海鱼类的肌动蛋白中, 已经发生了氨基酸替换并发生结构改变, 使其可以更好适应深海高压环境 (Swezey et al, 1985; Morita, 2003)。值得注意的是, GAPDH 和 β -actin 基因在一般的 qPCR 实验中常常被选为看家基因进行相对定量。由于这两个基因的表达受到压力影响, 在以压力作为变量的 qPCR 实验中, 应该避免选择这两个基因作为看家基因。在正常大气压下, 改变温度不会对以上蛋白 (除了 HSP70) 造成显著影响, 说明压力的诱导的

作用是不能被替代的 (Morris et al, 2015)。在 *Palaemonetes varians* 的行为实验中, 生物不能耐受高压的表现是失去平衡, 在失去平衡的过程中, 还伴随有痉挛抽搐的症状 (Oliphant et al, 2011), 这些与神经和肌肉功能有关的压力诱导基因或许能够在分子层面对行为模式做出解释。

加压培养实验在微生物领域也有广泛的应用, 在 50 MPa 条件下 *Escherichia coli* 表达的压力相关蛋白有 55 种 (Welch et al, 1993)。在加压开始后的数小时内, 压力诱导的蛋白逐渐开始表达, 这些蛋白在 60~90 min 后达到较高的水平 (Bartlett et al, 1995)。通过对微生物, 包括 *Photobacterium profundum* SS9, *Shewanella piezotolerans* WP3 和 *Pyrococcus yayanosii* CH1 的研究发现: 高压作用于氢键, 导致双链核酸更加稳定, 影响 DNA 的复制和转录 (Simonato et al, 2006); 高压条件导致细胞膜的流动性变差, 影响跨膜运输、鞭毛运动等与膜相关的功能 (Winter, 2013); 高压引起蛋白质的亚基解聚, 导致其构象变化。甚至影响核糖体的正确组装, 干扰正常的生物学功能 (Balny et al, 2002; Northrop, 2002)。

3 结语

随着海洋深度增加, 压力是唯一发生线性改变的生态因子。其它的生态因子, 包括温度、光照、营养等, 在 1 000 m 以内发生的变化往往是剧烈的。或许这些随深度发生剧烈变化的生态因子是限制海洋动物垂直分布的主要因素。所有的压力相关动物实验中, 都指出实验生物可以耐受比其成体生长环境更高的 (对于浅海动物) 和更低的 (对于深海动物) 压力, 这说明压力并非限制其垂直分布的唯一因素。另外, 根据浅海动物实验室内的研究结果, 生物的压力耐受能力可以通过低温和高压驯化得到显著提升 (New et al, 2014); 同时在自然环境中, 生活在更深处同一物种对压力的耐受能力也要显著高于浅海的同种生物 (Tyler et al, 1998)。考虑到海洋的压力是随深度增加逐渐上升的, 且寒带海域维持全年低温, 这意味着海洋动物为了填补更深海域空缺的生态位, 在自然条件下可以自发进行高压适应, 但是对于其它变化幅度很大的生态因子, 海洋动物的适应能力或许难以得到提高。

浅海动物能否在高压条件下进行一个完整的生命周期(受精、发育、交配、产卵)是一个尚未解决的问题。虽然已经有研究表明浅海动物精卵细胞可以在 50 MPa 的条件下受精并发育(Mestre et al., 2009),本文也提到了许多浅海动物的胚胎及幼体在高压条件下成功发育的研究,而且浅海动物成体的行为及功能在高压下被认为是正常的(Oliphant et al., 2011),但是没有任何一个浅海物种的生命周期在高压下被连续观察。考虑到同一物种不同生长发育阶段对压力的耐受能力不同,一般规律是幼体大于胚胎大于成体,在胚胎及幼体发育过程中,可能存在某些关键阶段决定其能否在当前压力下继续发育(Mestre et al., 2009),如果要进行覆盖整个生命周期的压力实验,压力的设置或许要更有弹性,在不同发育阶段可以进行小范围调整。

浅海动物向深海演化的两个假说中都强调了等温水团的重要性,除了寒带不同水层温度几乎达到一致,地中海由于其特殊的地理条件,在冬季可以维持较温暖的等温水层。因此,演化事件或许依旧发生在寒带海域(Tyler et al., 1998; Smith et al., 2012)和地中海海域(Young et al., 1997)。为了阐述清楚深海海洋动物的起源,还要求我们在该领域做出更多的研究。

致谢:美国南加州大学分子微生物及免疫实验室徐思敏及中国科学院深海科学与工程研究所李亚男为文章修改提供帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- Aquino-Souza R, Hawkins S J, Tyler P A. 2008. Early development and larval survival of *Psammecchinus miliaris* under deep-sea temperature and pressure conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 88 (03) : 453-461.
- Balny C, Masson P, Heremans K. 2002. High pressure effects on biological macromolecules: from structural changes to alteration of cellular processes. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1595 (1-2) : 3.
- Balny C, Mozhaev V V, Lange R. 1997. Hydrostatic Pressure and Proteins: Basic Concepts and New Data. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A Physiology*, 116 (4) : 299-304.
- Bartlett D H, Kato C, Horikoshi K. 1995. High pressure influences on gene and protein expression. *Research in Microbiology*, 146 (8) : 697-706.
- Behan M K, Macdonald A G, Jones G R, et al. 1992. Homeoviscous adaptation under pressure: the pressure dependence of membrane order in brain myelin membranes of deep-sea fish. *1103 (2) : 317-323.*
- Berger, W. H. 2013. *Impact of Deep Sea Drilling on Paleoceanography [M]*. City: American Geophysical Union.
- Brown A, Thatje S. 2011. Respiratory Response of the Deep-Sea Amphipod *Stephonyx biscayensis* Indicates Bathymetric Range Limitation by Temperature and Hydrostatic Pressure. *PLoS One*, 6 (12) .
- Busdosh M, Atlas R M. 2011. Response of Two Arctic Amphipods, *Gammarus zaddachi* and *Boeckosimus*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 32 (12) : 2564-2568.
- Calligari P A, Calandrini V, Ollivier J, et al. 2015. Adaptation of Extremophilic Proteins with Temperature and Pressure: Evidence from Initiation Factor 6. *Journal of Physical Chemistry B*, 119 (25) : 7860-7873.
- Chapelle G, Peck L S, Clarke A. 1994. Effects of feeding and starvation on the metabolic rate of the necrophagous Antarctic amphipod *Waldeckia obesa* (Chevreux, 1905). *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 183 (1) : 63-76.
- Childress J J. 1976. Effects of pressure, temperature and oxygen on the oxygen consumption rate of the Midwater copepod *Gaussia princeps*. *Marine Biology*, 39 (1) : 19-24.
- Cottin D, Brown A, Oliphant A, et al. 2012. Sustained hydrostatic pressure tolerance of the shallow water shrimp *Palaemonetes varians* at different temperatures: insights into the colonisation of the deep sea. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 162 (4) : 357-363.
- Distel D L, Baco A R, Chuang E, et al. 2000. Marine ecology: Do mussels take wooden steps to deep-sea vents. *Nature*, 403 (6771) : 725-726.
- Fish J D, Preece G S. 1970. The ecophysiological complex of *Bathyporeia pilosa* and *B. pelagica* (Crustacea: Amphipoda). I. Respiration rates. *Marine Biology*, 5 (1) : 22-28.
- Gallus L, Ferrando S, Gambardella C, et al. 2010. NMDA R1 receptor distribution in the cyprid of *Balanus amphitrite* (=Amphibalanus amphitrite) (Cirripedia, Crustacea). *Neuroscience Letters*, 485 (3) : 183.
- George R Y. 2005. *What adaptive strategies promote immigration and speciation in deep-sea environment*. City.
- Gilliams-Francis K L, Quaye A A, Naegele J R. 2003. PARP cleavage, DNA fragmentation, and pyknosis during excitotoxin-induced neuronal death. *Experimental Neurology*, 184 (1) : 359-372.
- Halcrow K, Boyd C M. 1967. The oxygen consumption and swimming activity of the amphipod *Gammarus oceanicus* at different temperatures. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 23 (1) : 233-242.
- Hepp Y, Tano M C, Pedreira M E, et al. 2013. NMDA-like receptors in the nervous system of the crab *Neohelice granulata*: a neuroanatomical description. *Journal of Comparative Neurology*, 521 (10) : 2279-2297.
- Janßen F, Treude T, Witte U. 2000. Scavenger assemblages under differing trophic conditions: A case study in the deep Arabian Sea. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography*, 47 (14) : 2999-3026.

- Kitching J A. 1957. Effects of high hydrostatic pressures on the activity of Flagellates and Ciliates. *Journal of Experimental Biology*, 34: 494–510.
- Kussakin O G. 1973. Peculiarities of the geographical and vertical distribution of marine isopods and the problem of deep-sea fauna origin. *Marine Biology*, 23 (1) : 19–34.
- Lau J V, Zimmerman A M, Marsl D A. 1954. Temperature–pressure experiments on amoeba proteus; plasmagel structure in relation to form and movement. *Journal of Cellular Physiology*, 44 (2) : 211–232.
- Menzies R J, George R Y, Rowe G T. 1975. Abyssal Environment and Ecology of the World Oceans. *Journal of Animal Ecology*, 44 (1) : 660–664.
- Mestre N C, Calado R, Soares A. 2014. Exploitation of deep-sea resources: The urgent need to understand the role of high pressure in the toxicity of chemical pollutants to deep-sea organisms. *Environmental Pollution*, 185: 369–371.
- Mestre N C, Thatje S, Tyler P A. 2009. The ocean is not deep enough: pressure tolerances during early ontogeny of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Proceedings of the Royal Society B–Biological Sciences*, 276 (1657) : 717–726.
- Morita T. 2003. Structure–based analysis of high pressure adaptation of alpha–actin. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (30) : 28060–28066.
- Morris J P, Thatje S, Ravaux J, et al. 2015. Acute combined pressure and temperature exposures on a shallow–water crustacean: novel insights into the stress response and high pressure neurological syndrome. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 181: 9–17.
- New P, Brown A, Oliphant A, et al. 2014. The effects of temperature and pressure acclimation on the temperature and pressure tolerance of the shallow–water shrimp *Palaemonetes varians*. *Marine Biology*, 161 (3) : 697–709.
- Northrop D B. 2002. Effects of high pressure on enzymatic activity. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1595 (1–2) : 71–79.
- Nunoura T, Takaki Y, Hirai M, et al. 2015. Hadal biosphere: Insight into the microbial ecosystem in the deepest ocean on Earth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112 (11) : 1230–1236.
- Oliphant A, Thatje S, Brown A, et al. 2011. Pressure tolerance of the shallow–water caridean shrimp *Palaemonetes varians* across its thermal tolerance window. *The Journal of Experimental Biology*, 214 (Pt 7) : 1109–1117.
- Paul A Z. 1973. Trapping and recovery of living deep–sea amphipods from the Arctic Ocean floor. *Deep Sea Research & Oceanographic Abstracts*, 20 (3) : 289–290.
- Pradillon F, Gaill F. 2007. Pressure and life: some biological strategies. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 6 (1) : 341–355.
- Shillito B, Gaill F, Ravaux J. 2014. The Ipcamp Pressure Incubator for Deep–Sea Fauna. *Journal of Marine Science and Technology–Taiwan*, 22 (1) : 97–102.
- Simonato F, Campanaro S, Lauro F M, et al. 2006. Piezophilic adaptation: a genomic point of view. *Journal of Biotechnology*, 126 (1) : 11.
- Smith K E, Thatje S. 2012. The Secret to Successful Deep–Sea Invasion: Does Low Temperature Hold the Key. *PLoS One*, 7 (12) .
- Smith K E, Thatje S, Hauton C. 2013. Thermal tolerance during early ontogeny in the common whelk *Buccinum undatum* (Linnaeus 1785) : Bioenergetics, nurse egg partitioning and developmental success. *Journal of Sea Research*, 79: 32–39.
- Smith K L, Baldwin R J. 1982. Scavenging deep–sea amphipods: Effects of food odor on oxygen consumption and a proposed metabolic strategy. *Marine Biology*, 68 (3) : 287–298.
- Somero G N. 1992. Adaptations to high hydrostatic pressure. *Annu Rev Physiol*, 54: 557–577.
- Somero G N. 2003. Protein adaptations to temperature and pressure: complementary roles of adaptive changes in amino acid sequence and internal milieu. *Comparative Biochemistry and Physiology B–Biochemistry & Molecular Biology*, 136 (4) : 577–591.
- Swezey R R, Somero G N. 1985. Pressure effects on actin self–assembly: interspecific differences in the equilibrium and kinetics of the G to F transformation. *Biochemistry*, 24 (4) : 852–860.
- Sztydlowska K, Tymianski M. 2010. Calcium, ischemia and excitotoxicity. *Cell Calcium*, 47 (2) : 122.
- Thatje S, Casburn L, Calcagno J A. 2010. Behavioural and respiratory response of the shallow–water hermit crab *Pagurus cuanensis* to hydrostatic pressure and temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 390 (1) : 22–30.
- Tokuda G, Yamada A, Nakano K, et al. 2006. Occurrence and recent long–distance dispersal of deep–sea hydrothermal vent shrimps. *Biol Lett*, 2 (2) : 257–260.
- Treude T, Janssen F, Queisser W, et al. 2002. Metabolism and decompression tolerance of scavenging lysianassoid deep–sea amphipods. *Deep–Sea Research Part I–Oceanographic Research Papers*, 49 (7) : 1281–1289.
- Tyler P A, Young C M. 1998. Temperature and pressure tolerances in dispersal stages of the genus *Echinus* (Echinodermata: Echinoidea) : prerequisites for deep–sea invasion and speciation. *Deep–Sea Research Part II–Topical Studies in Oceanography*, 45 (1–3) : 253–277.
- Tyler P A, Young C M, Clarke A. 2000. Temperature and pressure tolerances of embryos and larvae of the Antarctic sea urchin *Sterechinus neumayeri* (Echinodermata:Echinoidea) : potential for deep–sea invasion from high latitudes. *Marine Ecology Progress Series*, 192: 173–180.
- Welch T J, Farewell A, Neidhardt F C, et al. 1993. Stress response of *Escherichia coli* to elevated hydrostatic pressure. *Journal of Bacteriology*, 175 (22) : 7170–7177.
- Winter R. 2013. *Pressure Effects on Lipid Membranes*. City: Springer Berlin Heidelberg.
- Witte U, Pfannkuche O. 2000. High rates of benthic carbon remineralisation in the abyssal Arabian Sea. *Deep Sea Research Part II Topical*

- Studies in Oceanography, 47 (14) : 2785–2804.
- Yancey P H, Blake W R, Conley J. 2002. Unusual organic osmolytes in deep-sea animals: adaptations to hydrostatic pressure and other perturbants. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular and Integrative Physiology*, 133 (3) : 667–676.
- Young C M, Tyler P A, Fenaux L. 1997. Potential for deep sea invasion by Mediterranean shallow water echinoids: pressure and temperature as stage-specific dispersal barriers. *Marine Ecology Progress Series*, 154: 197–209.
- Zerbst-Boroffka I, Karnalynow R M, Harjes S, et al. 2005. TMAO and other organic osmolytes in the muscles of amphipods (Crustacea) from shallow and deep water of Lake Baikal. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology*, 142 (1) : 58–64.
- Zinsmeister W J, Feldmann R M. 1984. Cenozoic high latitude heterochrony of southern hemisphere marine faunas. *Science*, 224 (4646) : 281–283.
- 方金瑞, 黄维真. 1995. 深海微生物的研究进展. *海洋通报*, (2) : 65–69.
- 方银霞, 包更生, 金翔龙. 2000. 21 世纪深海资源开发利用的展望. *海洋通报*, 19 (5) : 73–77.

(本文编辑 袁泽轶)