

# Les poissons antigel de

*Les notothenioïdes de l'Antarctique sont des poissons capables de vivre dans des eaux très froides. Les biologistes ont retracé leur évolution et daté l'apparition de certaines de leurs particularités, telles un sang contenant des protéines antigel ou dépourvu d'hémoglobine.*

Guillaume Lecointre • Catherine Ozouf-Costaz

**A**u voisinage des cinquantièmes hurlants, les mers du Sud présentent une frontière invisible qui sépare, en surface, les eaux tropicales de celles de l'océan Austral: c'est le front polaire, où la température chute brutalement de trois ou quatre degrés. Au-delà de cette limite, les eaux sont aussi moins salées, plus denses (car plus froides) et plus oxygénées. À proximité du talus continental de l'Antarctique, l'océan se couvre de glace durant l'hiver. Ses eaux, salées, ne gèlent qu'à  $-1,86\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; aussi, sous la couche de glace, la température de la mer peut-elle être inférieure à  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Malgré le froid, des organismes vivants y prospèrent. C'est le cas des notothenioïdes, un groupe de poissons remarquables par plusieurs aspects. Ainsi, ces poissons de l'océan Antarctique sécrètent des protéines antigel grâce auxquelles leur organisme résiste aux températures glaciales des eaux. Les biologistes ont découvert, chez ces poissons, d'autres propriétés étonnantes, par exemple une activité enzymatique plus efficace que celle d'autres poissons, l'absence d'hémoglobine dans le sang ou des mécanismes inhabituels de différenciation sexuelle.

En quoi consistent, plus précisément, ces particularités? En quoi constituent-elles des adaptations à la vie dans les eaux de l'Antarctique? Quand et à quels stades de l'histoire des notothenioïdes ces traits sont-ils apparus? Les biologistes ont aujourd'hui répondu à ces questions et ont reconstitué l'histoire évolutive des notothenioïdes au cours des 50 derniers millions d'années.

En fait, le terme de poisson est impropre: ce sont des téléostéens, ou poissons osseux modernes (quasiment tous les poissons sauf notamment les requins et les raies). Les téléostéens sont présents dans toutes les mers et eaux douces du globe et comptent près de 25 000 espèces, soit la moitié des espèces connues de vertébrés.

En Antarctique vivent 295 espèces de téléostéens, soit à peine deux pour cent des espèces téléostéennes, alors que

l'océan Austral représente dix pour cent de la superficie de toutes les mers. La plupart des 295 espèces de téléostéens antarctiques appartiennent à quatre groupes taxonomiques dont le plus riche, le plus divers et le plus intéressant est celui des notothenioïdes. Ce sous-ordre compte 96 espèces strictement antarctiques (contre 123 espèces au total), qui représentent 45,7 pour cent des espèces de poissons du talus continental antarctique, mais 90 pour cent de sa biomasse. Ainsi, la part des notothenioïdes dans la faune de cette région des mers du Sud est prépondérante.

Contrairement aux autres téléostéens de ce milieu, ils présentent une grande diversité morphologique ou écologique, ainsi que des caractères adaptatifs variés. Les notothenioïdes, qui ont perdu leur vessie natatoire (la poche d'air servant de flotteur aux autres téléostéens), sont généralement benthiques – vivant près du fond – à l'état adulte. Or leur habitat – le talus continental antarctique – est isolé depuis longtemps des autres talus continentaux, de sorte que les notothenioïdes forment un groupe de téléostéens qui s'est diversifié dans un milieu isolé et qui a, de ce fait, acquis des caractères originaux.

Aussi font-ils l'objet de nombreuses recherches sur les plans anatomique, physiologique, écologique ou phylogénétique. En particulier, d'importants progrès ont été réalisés sur la phylogénie des notothenioïdes, grâce à des travaux d'anatomie comparée et à des analyses comparatives de chromosomes ou de séquences d'ADN. Les biologistes ont ainsi confirmé que ce groupe est monophylétique, c'est-à-dire constitué de tous les descendants actuels d'un même ancêtre commun. La classification de ce sous-ordre en familles a été affinée et les relations de parenté ont été précisées, au point que l'on dispose aujourd'hui d'un arbre phylogénétique complet pour décrire les liens entre les différents genres de notothenioïdes (voir l'encadré pages 50 et 51).

L'un des traits physiologiques les plus remarquables des notothenioïdes est leur résistance au froid. Au cours de leur

# L'océan Austral

évolution, ces téléostéens ont acquis des protéines qui jouent, dans leur sang, le rôle d'antigel et leur permettent de résister à des températures parfois négatives. Elles ont été mises en évidence en 1960 par l'équipe d'Arthur de Vries et Chi-Hing Cheng, de l'Université de l'Illinois, à Urbana. On a calculé que l'abaissement du point de congélation est dû pour 40 pour cent au sel (NaCl), et pour 55 pour cent à des glycoprotéines (protéines portant des sucres), dont on dénombre huit catégories. Ainsi, bien que le sang des espèces antarctiques soit plus riche en sel dissous que celui des espèces tempérées, la température de congélation du sang du poisson antarctique nototheniidé ne serait que de  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  sans les protéines antigel. Avec elles, l'animal vit jusqu'à  $-2,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

## Des antigels vieux de 38 millions d'années

Les trois premières familles de notothenioides, les bovichtidés, les pseudaphritidés et les éléginopsidés n'ont pas de protéines antigel, et constituent l'écrasante majorité des notothenioides non strictement antarctiques.

Quand ces protéines sont-elles apparues ? Pour dater l'apparition d'un caractère, telle la résistance au froid des notothenioides, les biologistes comparent des séquences génétiques qui ont accumulé, au fil des millions d'années, des mutations à un rythme supposé constant. De cette comparaison, on déduit l'époque à laquelle deux espèces ont divergé, c'est-à-dire l'époque où vivait leur dernier ancêtre commun. Si, dans l'arbre phylogénétique, cet ancêtre est associé à une innovation (par exemple l'apparition des protéines antigel), on obtient une indication sur la date d'apparition de cette innovation. C'est ainsi qu'en 2002, Thomas Near, de l'Université de Californie à Davis, a déterminé que les protéines antigel sont apparues chez les notothenioides il y a au moins 38 millions d'années (résultat que nous avons confirmé). On sait indépendamment qu'à l'époque, la température de l'océan Austral diminuait brutalement et la calotte glaciaire commençait à recouvrir le continent. En d'autres termes, peu après que l'Antarctique a amorcé sa glaciation, des notothenioides qui avaient acquis des protéines antigel ont été sélectionnés.

En plus de leurs antigels, les notothenioides de l'océan Austral ont un rythme physiologique ralenti. Ainsi, à  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  – leur température optimale – la puissance de leurs muscles locomoteurs est le tiers de celle d'un téléostéen tropical vivant dans des eaux à  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Cet état de fait est trompeur car, si on augmente la température de l'eau, la consommation d'oxygène (dont on a besoin les muscles) d'une espèce antarctique augmente. En extrapolant, on constate qu'à température donnée, la consommation d'oxygène d'un notothenioidé est supérieure à celle d'une espèce



1. *Chionodraco hamatus* et les autres membres de la famille des channichthyidés ne possèdent pas d'hémoglobine : leur sang est translucide. C'est l'une des nombreuses particularités apparues chez certains notothenioides, au cours de millions d'années d'évolution dans les eaux glaciales et isolées de l'océan Austral.

# Les huit familles de

Jadis classés en six familles, les notothénioides sont depuis peu répartis en huit familles (représentées dans les huit cadres ci-dessous). Cette classification élaborée dès 1985 a été fondée sur des données morphologiques, puis génétiques. Elle est le fruit du travail de plusieurs équipes, dont celle de Tetsuo Iwami à Tokyo, celle d'Andreï Baluskin à Saint-Petersbourg, celle de Tomaso Patarnello et Luca Bargelloni à Padoue, celle de Tom Near à Davis, et la nôtre.

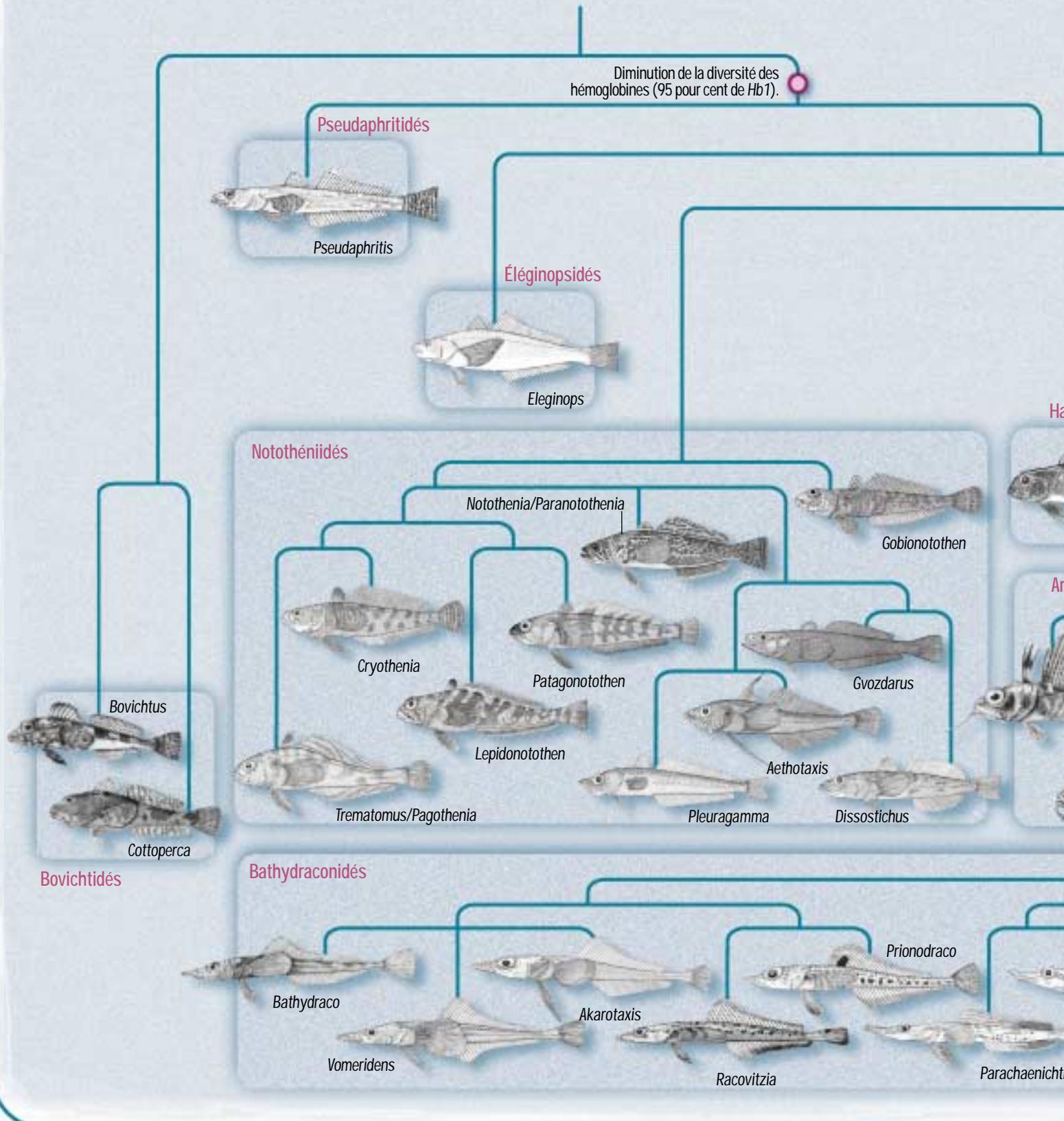
**LES BOVICHTIDÉS** (2 genres, 11 espèces) forment la famille la plus externe de notothénioides. Ce sont des espèces subantarctiques.

**LES PSEUDAPHRITIDÉS** (2 genres, 2 espèces) sont une nouvelle

famille. Elle a été créée en 1997 à la suite de nos travaux de phylogénie moléculaire, qui ont montré que le genre *Pseudaphritis*, auparavant classé parmi les bovichtidés, était plus éloigné de ces derniers que des autres notothénioides. Cette famille inclut un autre genre très proche, *Halaphritis*, découvert en 2000 en Tasmanie par Peter Last.

**LES ÉLÉGINOPSIDÉS** (1 genre, 1 espèce) constituent également une famille nouvellement créée. Le genre *Eleginops* figurait auparavant parmi les Notothéniidés, mais il s'en distingue par le fait que ses individus ne fabriquent pas de protéines antigél.

**LES NOTOTHÉNIIDÉS** (12 genres, 48 espèces) constituent une famille hétérogène, la plus variée en termes de tailles, de formes, d'habitats



Les illustrations du schéma ci-contre sont tirées de: J. T. Exelman, Antarctic Fish Biology, Academic Press, 1993. O. Con and P. C. Heemstra (eds), Fishes of the Southern Ocean, J. L. B. Smith, Institute of Ichthyology, Grahamstown, South Africa, 1990.

# les notothénioides et leurs parentés

et d'aires de répartition. La plupart des genres sont antarctiques, mais certaines espèces vivent ailleurs : par exemple, la légine, *Dissostichus eleginoides*, remonte vers le Nord de l'Atlantique, jusqu'à la latitude de l'Uruguay, en empruntant les courants froids de profondeur. Récemment, des pêcheurs danois en ont même capturé un individu au large du Groenland ! Les notothénioides adultes sont surtout benthiques mais, au cours de l'évolution, certains notothéniidés sont devenus pélagiques. Ces espèces compensent la perte de la vessie natatoire par divers dispositifs originaux qui améliorent la flottabilité : retard de l'ossification du squelette, masse osseuse peu minéralisée, stockage de graisses dans des sacs sous-cutanés ou intermusculaires. Certains membres de cette famille occupent des niches écologiques étonnantes : on connaît par exemple trois espèces de notothéniidés capables de se nourrir à la surface inférieure de la banquise, là où des organismes photosynthétiques se développent à la faveur de la faible luminosité.

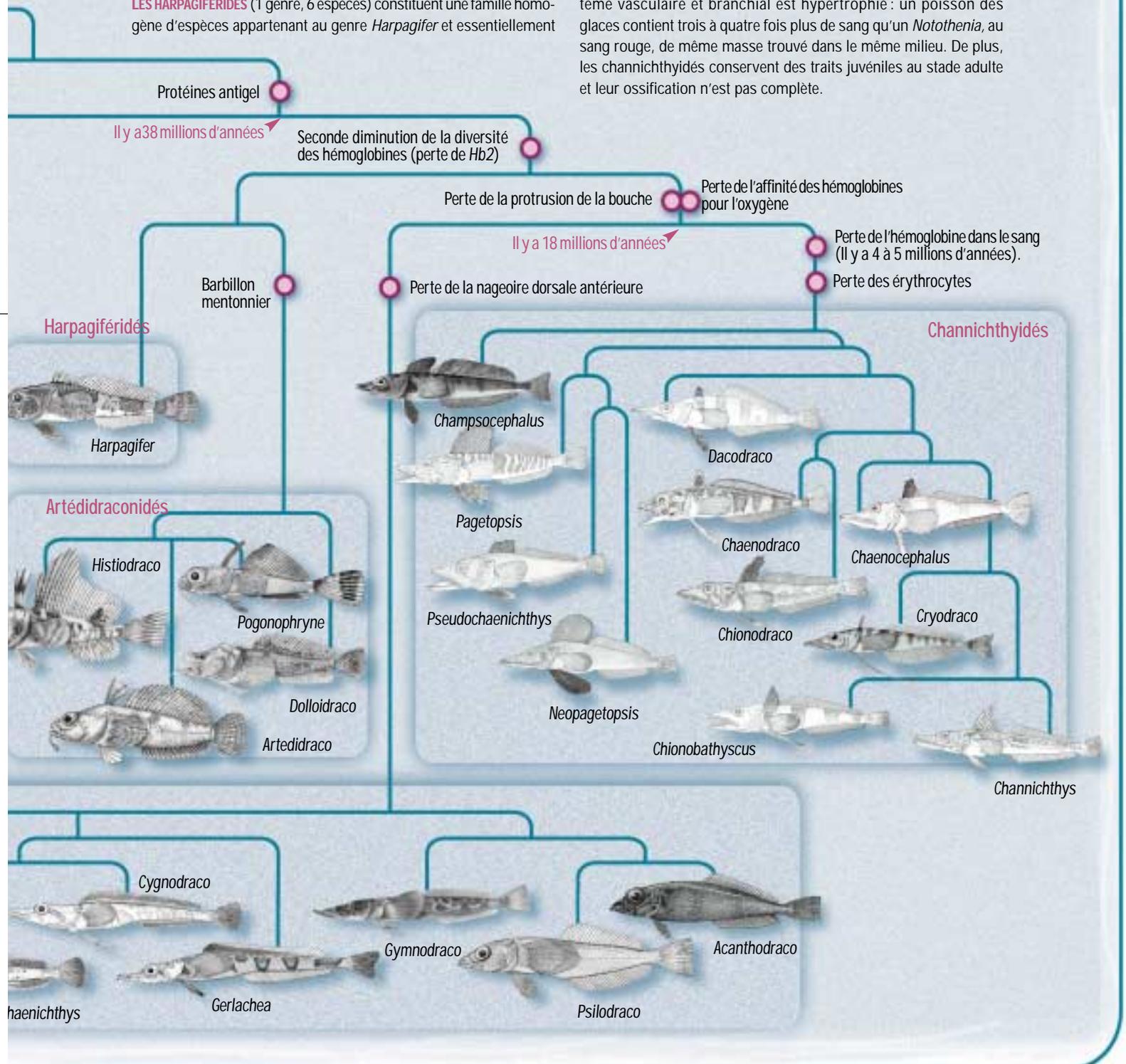
**LES HARPAGIFÉRIDÉS** (1 genre, 6 espèces) constituent une famille homogène d'espèces appartenant au genre *Harpagifer* et essentiellement

distribuées autour des îles subantarctiques ou de la zone plus périphérique de l'océan Austral. Ce sont de petites espèces côtières à l'aspect de chabot (téléostéen à grosse tête et large bouche, qui vit notamment dans nos rivières).

**LES ARTÉDIDRACONIDÉS** (4 genres, 24 espèces) constituent une famille monophylétique. Ces poissons du talus continental sont reconnaissables à leur barbillon mentonnier et à leurs crochets operculaires.

**LES BATHYDRACONIDÉS** (11 genres, 16 espèces), appartiennent à une famille récemment validée par l'analyse de séquences d'ADN ; on les reconnaît aisément à la perte de la nageoire dorsale antérieure. Chez ces animaux, on observe également une perte d'affinité des hémoglobines pour l'oxygène.

**LES CHANNICHTHYIDÉS** (11 genres, 15 espèces) sont aussi nommés « poissons des glaces ». Ce sont les seuls vertébrés à ne présenter aucune hémoglobine : leur sang est incolore. Par ailleurs, leur système vasculaire et branchial est hypertrophié : un poisson des glaces contient trois à quatre fois plus de sang qu'un *Notothenia*, au sang rouge, de même masse trouvé dans le même milieu. De plus, les channichthyidés conservent des traits juvéniles au stade adulte et leur ossification n'est pas complète.



tempérée. En fait, chez les téléostéens antarctiques, des enzymes plus efficaces compensent l'inévitable ralentissement des réactions biochimiques dû au froid : ils consomment plus d'énergie, donc plus d'oxygène.

Comment les enzymes des poissons antarctiques peuvent-elles être plus efficaces que chez leurs cousins tropicaux ? Les basses températures limitent la capacité des enzymes à changer de conformation, changements qui commandent l'accès au site actif et la liaison au substrat. En 1998, l'équipe de George Somero, de la station marine Hopkins en Californie, a montré que la catalyse des enzymes « froides » est accélérée grâce à la plus grande flexibilité de ces protéines. La comparaison des enzymes de diverses espèces a révélé que les meilleures performances des enzymes « froides » sont dues à des mutations qui touchent non pas les sites actifs de ces molécules, mais d'autres zones assurant la flexibilité de la structure de l'enzyme. Autrement dit, ce n'est pas le site de la réaction qui change, mais les accès à ce site qui sont facilités.

L'apparition de cette activité enzymatique particulière des notothenioides n'a pas encore été datée avec précision, mais on peut affirmer qu'elle est au moins aussi ancienne que leurs protéines antigel.

## Vivre sans hémoglobine

Malgré leurs enzymes « rapides » et flexibles, qui autorisent un niveau de métabolisme compatible avec la survie, les notothenioides ont, globalement, une physiologie moins performante que les téléostéens tropicaux. En particulier, leur tolérance thermique est faible : ils ne supportent que des températures comprises entre  $-2^{\circ}\text{C}$  et  $6^{\circ}\text{C}$  environ, parfois moins (l'amplitude thermique peut aller jusqu'à  $16^{\circ}\text{C}$  pour un poisson tempéré). L'une des raisons est qu'ils ont perdu les gènes capables de produire les protéines de choc thermique – des protéines qui protègent les autres protéines de l'organisme contre les changements de conformation dus aux variations brutales de température. La perte de ces gènes indique que ces animaux vivent à des températures relativement stables depuis plusieurs millions d'années.

La façon dont les notothenioides se sont adaptés à un environnement riche en oxygène est également remarquable. Dans le sang, l'oxygène est transporté par les hémoglobines et, dans les muscles, par la myoglobine, laquelle sert également de réservoir. Chez les téléostéens, jusqu'à quatre formes d'hémoglobine, dont l'efficacité dépend de la température et de l'acidité du sang, peuvent coexister. On trouve chez les notothenioides deux formes d'hémoglobine, notées *Hb1* et *Hb2*. En dehors des bovicthidés, la forme *Hb1* est largement dominante (à 95 pour cent). De façon générale, on constate que la diversité et le rôle des transporteurs de l'oxygène se réduisent chez les notothenioides au fil de leur évolution dans des eaux riches en oxygène, à mesure que se dessine leur arbre phylogénétique. Ainsi, la dernière famille de notothenioides à posséder l'hémoglobine *Hb2* est celle des nototheniidés. Plus tard dans l'arbre, chez l'ancêtre commun aux quatre familles les plus récentes (artédidraconidés, harpagiféridés, bathydraconidés et channichthyidés), la composante *Hb2* disparaît.



G. Lecoindre

2. Les branchies d'un *Chionodraco hamatus* (à gauche), de la famille des channichthyidés, sont blanches car le sang ne contient pas d'hémoglobine. Les poissons dépourvus de cette molécule, qui transporte l'oxygène, ont un débit sanguin et un volume vasculaire accrus. Grâce à ces propriétés, la pénétration de l'oxygène dans le

Ainsi, les harpagiféridés et les artédidraconidés n'ont plus dans leur sang que la composante *Hb1*. Chez les bathydraconidés, *Hb1* est présente, mais cette molécule ne présente quasiment plus d'affinité pour l'oxygène. Quant aux Channichthyidés, ils n'ont plus d'hémoglobine du tout !

Des études réalisées par T. Near, et fondées sur le rythme des horloges moléculaires, ont montré que la perte de l'affinité de la composante *Hb1* pour l'oxygène s'est produite il y a 18 millions d'années, soit peu de temps après l'ouverture du passage de Drake, il y a 25 millions d'années. Jusqu'alors, l'Antarctique était encore relié à l'Amérique du Sud. C'est avec l'ouverture de ce passage que s'est installé un courant circum-antarctique, responsable de l'isolement des eaux de surface de l'océan Austral de celles du reste du globe et de la mise en place du front polaire, accompagnée d'un nouveau refroidissement des eaux australes ainsi que d'une augmentation de leur teneur en oxygène. Par ailleurs, également en se fondant sur le rythme des horloges moléculaires, on a déterminé que l'hémoglobine a complètement disparu du sang de l'ancêtre des channichthyidés il y a quatre ou cinq millions d'années.

Des investigations plus poussées sur les gènes des globines des channichthyidés ont révélé un scénario plus complexe. Au sein de cette famille de 15 espèces, les hémoglobines ont disparu indépendamment au moins quatre fois par quatre mutations distinctes touchant l'une des globines (la bêta-globine) : une fois chez *Champscephalus gunnari*, une fois dans la lignée de *Dacodraco hunteri*, une fois chez l'ancêtre commun aux trois genres *Pagetopsis*, *Neopagetopsis* et *Pseudochaenichthys*, et une autre fois chez l'ancêtre commun aux autres espèces. Ces résultats ont été obtenus en 1995 par les équipes de Guido di Prisco et Ennio Cocca, du Conseil national de la Recherche à Naples, et celle de William Detrich, de la *Northeastern University* à Boston. S'il n'y avait eu qu'une seule perte de la bêta-globine fonctionnelle chez l'ancêtre commun à tous les channichthyidés, on aurait pu y voir un événement fortuit, compatible avec un milieu riche en oxygène et avec un métabolisme réduit. La découverte de quatre pertes distinctes signifie que les populations ancestrales qui les ont subies ne se servaient probablement plus de leurs hémoglobines : elles



G. Lecoindre

sang, par diffusion passive, est suffisante pour assurer la respiration de l'organisme. Les branchies d'un *Notothenia coriiceps* (à droite), de la famille des nototheniidés, sont rouges : l'hémoglobine est encore présente chez les poissons de cette famille plus ancienne que les channichthyidés.

disposaient déjà d'autres solutions pour approvisionner leurs organes en oxygène.

Quelles sont alors ces « solutions » ? Les channichthyidés se caractérisent par une augmentation du diamètre des vaisseaux et de la taille du cœur. Le débit cardiaque est quatre à cinq fois plus grand chez ces poissons dépourvus d'hémoglobine que chez les autres. Le volume sanguin d'un channichthyidé est deux à quatre fois supérieur à celui d'un téléostéen au sang rouge de même taille et du même milieu, et les capillaires sont plus larges. Il y a là une solution au transport de l'oxygène : celui-ci passe, par simple diffusion, des branchies au sang, puis du sang aux organes, et cela à un rythme suffisant grâce à un débit sanguin accru. On ne peut comprendre les pertes répétées de globines que si ce dispositif, capable d'assurer un approvisionnement suffisant des organes en oxygène, était présent avant ces pertes.

## Des mitochondries pour compenser les myoglobines

Le cas des myoglobines des channichthyidés est tout aussi intéressant. Certaines espèces de cette famille ont perdu la myoglobine cardiaque. En s'appuyant sur l'arbre phylogénétique de la famille, que nous avons établi indépendamment, ainsi que sur des analyses moléculaires sur les myoglobines, il a été montré que ces pertes correspondaient à quatre événements mutationnels différents – chez *Chaenocephalus aceratus*, *Dacodraco hunteri*, *Pagetopsis* sp. et *Champscephalus gunnari* respectivement. On pourrait donc penser qu'avant de disparaître, les myoglobines n'étaient déjà plus utiles.

Cependant, des expériences réalisées en 1997 par Bruce Sidell, de l'Université du Maine, aux États-Unis, ont montré que si l'on empoisonne sélectivement les myoglobines du cœur des poissons des glaces, les performances cardiaques diminuent. Il en ressort que ces protéines ont réellement une fonction chez les channichthyidés où elles sont présentes. Il y a donc perte d'un trait qui semble utile. On parle de désadaptation, c'est-à-dire de l'émergence, au cours de l'évolution,

d'un trait dont l'efficacité pour l'organisme est inférieure à celle du trait ancestral correspondant, dans le même milieu.

Une eau froide et riche en oxygène laisse supposer un relâchement de la pression de sélection sur les globines et une tolérance vis-à-vis des mutations accidentelles touchant ces protéines. Pour que ces mutations se soient fixées durablement, et surtout s'il s'agit de désadaptations, elles ont dû intervenir dans des populations où la compétition était faible, tant au sein de l'espèce (ce sont des isolats à effectifs réduits), qu'entre espèces différentes.

Comment les notothenioïdes dépourvus de myoglobine maintiennent-ils un bon rendement cardiaque ? B. Sidell et ses collègues ont montré en 1997 que la perte de la myoglobine est compensée, chez les espèces concernées, par une augmentation de la concentration en mitochondries (les centrales énergétiques des cellules). Ainsi, le muscle cardiaque et les muscles pectoraux des channichthyidés dépourvus de myoglobine sont riches en mitochondries, beaucoup plus que ceux des channichthyidés pourvus en myoglobine. C'est au cœur des mitochondries qu'ont lieu les réactions biochimiques de la respiration cellulaire, qui consomment de l'oxygène pour produire de l'énergie chimique emmagasinée sous forme de molécules d'ATP. Les mitochondries sont riches en lipides, et l'oxygène moléculaire libre diffuse mieux dans un milieu lipidique que dans le cytoplasme cellulaire, plus aqueux. En l'absence de myoglobine, l'abondance de mitochondries réduit la distance que doit franchir l'oxygène pour rencontrer les molécules du cycle de production de l'ATP. Ce trajet facilité compense l'absence des myoglobines.

Dans le muscle cardiaque d'une espèce de notothenioïde dotée de la fois d'hémoglobine et de myoglobine comme *Gobionotothen gibberifrons*, les mitochondries sont en quantité normale. Chez un channichthyidé sans hémoglobine mais avec myoglobine comme *Chionodraco rastrospinosus*, le nombre de mitochondries cardiaques est supérieur. Chez un channichthyidé sans hémoglobines ni myoglobines, tel *Chaenocephalus aceratus*, le nombre de mitochondries est maximal. Pour toutes ces variantes apparues au gré de l'évolution, les capacités oxydatives cardiaques sont toutefois comparables. Chez les espèces dépourvues à la fois de myoglobine et d'hémoglobine, l'augmentation des lipides mitochondriaux ne s'accompagne pas d'une augmentation des protéines de la chaîne oxydative, et ne rend pas supérieures les capacités respiratoires : elle ne fait que favoriser la diffusion de l'oxygène.

Terminons ce tour d'horizon des téléostéens antarctiques en évoquant une autre caractéristique singulière : la présence de chromosomes sexuels. Les téléostéens n'ont généralement pas de chromosomes sexuels différenciés, car le déterminisme du sexe dépend chez la plupart d'entre eux de facteurs externes tels que les variations de température et de salinité. Chez les notothenioïdes, au contraire, on constate souvent la présence de chromosomes sexuels, différents selon les espèces. Ce phénomène est vraisemblablement lié à la grande stabilité thermique des eaux antarctiques.

Comment des chromosomes sexuels différenciés ont-ils été acquis ? Chez le channichthyidé *Chionodraco hamatus* de terre Adélie, par exemple, nous avons montré que le chromosome mâle Y provient de la fusion de deux autres chromosomes. Au sein d'une même famille, le mécanisme de formation du chromosome Y est particulier à chaque

