

海洋浮游生物发光研究的回顾与展望

——海洋浮游生物学新动向之十三

郑 重 李少菁 (厦门大学)

温暖季节的夜晚,在海上采集,常可看到发光现象。我国渔民称它为“海火”。这个现象主要是生物发光所引起的。远在18世纪,早已引起海洋科学家的注意。据作者所知,埃伦伯格(Ehrenberg)^[1]在1834年就已记载了这个海洋发光现象。过去,有关海洋生物发光的论文数以千计,大多涉及分类、形态(发光器官构造)和生态(发光生物的生活习性、分布、发光特点等),其中仅哈维(Harvey)一人就写了167篇论著,其中,以1952年撰写的《生物发光》一书^[2]较为重要。这是一本经典著作,并以这本专著为界线,赫林(Herring)^[3]把生物发光研究划分为两个时代——1952年前简称为哈维时代,1952年后简称为希摩穆拉(Shimomura)时代。前者以研究生物发光种类的形态和生态作为主要课题,后者以研究生物发光种类的生理、生化作为主要课题。换言之,前者以观察为主,后者以实验为主。在这两个时代中,其他学者也发表了一些重要论著,其中以约翰逊(Johnson)等^[4,5]、尼尔逊(Nealson)^[6]等较为突出。本文将这两个时代的主要研究成果作一回顾,并提出几点展望。作者认为,海洋浮游生物由于发光种类多、分布广,在海洋生物发光中占着很重要位置。博登(Boden)和坎帕(Kampa)^[7]也有同样看法。从研究动态看来,发光生理、生化机制及发光物质的化学研究是当前海洋浮游生物学另一值得注意的新动向,而这方面研

究(包括生态研究)具有一定的理论和实践意义^①,在我国尚基本空白,故特写此文,以供参考。

回 顾

一、分类研究

经长期调查、采集,迄今已知海洋发光种类^②共有462个属,分隶于10个门、25个纲、62个目,其中除浮游生物(已发现97个属有发光种类)外,底栖和游泳生物(包括头足类和鱼类)也占了相当大的比例,尤以深海发光种类为多。在发光浮游生物中(图1),有细菌类[如发光菌(*Beneckeia*)等],甲藻类[如旋沟藻(*Gonyaulax*)、海火藻(*Pyrodinium*)、夜光藻(*Noctiluca*)等],水母类[如多管水母(*Aequorea*)、筐水母(*Aequorea victoria*)、游水母(*Pelagia*)等],栉水母类[如侧腕水母(*Placurobrachia*)、瓣水母(*Mnemiopsis*)、瓜水母(*Beroe*)等],甲壳动物的介形类[如海萤(*Cypridina*)、火萤(*Pyrocystis*)、浮萤(*Conchoecia*)等],桡足类[如胸点水蚤(*Pleuromamma*)、长腹水蚤(*Metridia*)等]和磷虾类[如挪威磷虾(*Meganyctiphanes*)、磷虾(*Euphausia*)等],以及被囊类[如火体虫(*Pyrosoma*)、圆纽鳃樽(*Cyclosalpa*)、住囊虫(*Oikopleura*)等],其中以甲藻类、水母类、栉水母类、介形类、磷虾类等较为重要。有些发光动物(如磷虾类和栉水母类)的幼虫期也有发光能力。值得提出的是,发光生物不是每个门类都有;就是在同一个属中,有的种发光,而有的种不发光。由此可见,发光生物是零星散布在某些类群中,与生物进化显然无关。

^①可参考拙著《浮游生物学概论》第17章。

^②发光生物在海洋最多,而在淡水和陆地极少。前者以贻贝(*Latia*),后者以萤火虫(*Photinus*)为代表。随着海洋调查的不断深入,发光种类(特别是深海种类)的数目还会继续增加。

二、形态研究

过去,对发光细胞和发光器官的构造,作了不少形态研究.例如,在旋沟藻的细胞质内发现微小颗粒,称为闪烁体(scintillon),受到刺激后,就会发出光来.这是属于“细胞内发

光型”,如夜光藻、旋沟藻等.磷虾类的发光器(共10个,散布在眼柄、胸肢和腹节上)有排列成行的发光细胞(图2).在桡足类的体表层内,有发光腺,受到刺激后,就会分泌出发光粘液.这是属于“细胞外发光型”.除桡足类外,

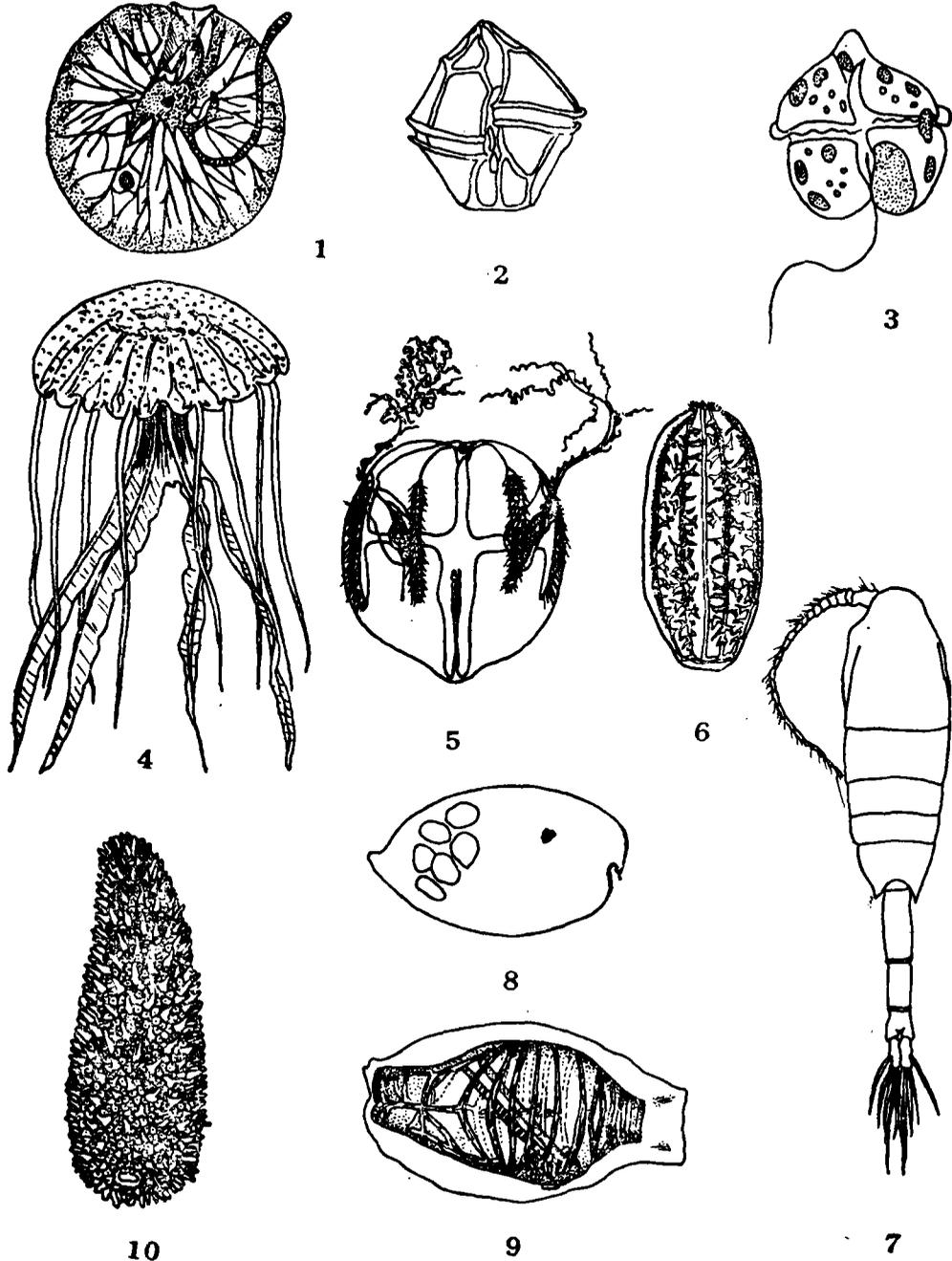


图1 发光浮游生物代表: 1. 夜光藻, 2. 旋沟藻, 3. 裸沟藻, 4. 游水母, 5. 侧腕水母, 6. 瓜水母, 7. 长腹水蚤, 8. 海萤, 9. 环组蛄, 10. 火体虫.

介形类的发光也属于这个型。现已查明,有些动物[如波叶海牛(*Phyllirohoe*)、磷虾等]的发光器还有神经连着(图2c),通过神经冲动来刺激发光细胞发出光来。值得注意的是,磷虾类的发光器和高等动物的眼睛在构造上十分类似。它们的主要差别是,前者的体壁由发光细胞构成,而後者的体壁则由视觉细胞构成。这二者在生物进化上的关系,是值得探讨的。

此外,有些深海动物(如鱼类、头足类等)的发光器充满着共生发光细菌。所以它们的光是由细菌发出来的。过去,常把火体虫的发光器也看作是由发光细菌构成的。后经尼科尔(Nicol)^[8]研究结果,认为这是错误的——它的发光器是由发光细胞组成的。值得提出的是,关于住囊虫的发光器,过去也不了解。因此,对它的发光能力发生怀疑。最近,高尔特(Galt)等^[9]发现至少有6种住囊虫确具发光能力,而它的光(蓝绿色闪光)是从“住屋原基”(house rudiment)中的微小荧光内含物(约1~2 μ)受到机械刺激后发出来的。

三、生态研究

(一)时空分布

生态研究是当前生物发光研究的主流,但

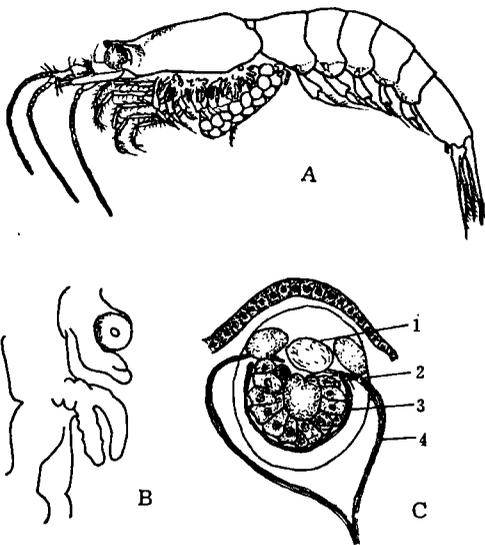


图2 磷虾的发光器: A. 假磷虾的侧面观, B. 第二胸肢及其基节上的发光器, C. 发光器纵切面。1. 晶体, 2. 发光体, 3. 反射器, 4. 神经。

已从自然生态向实验生态方向发展。这和实验技术的高度发展分不开。在自然生态方面,时空分布仍然是研究的中心课题。现分别简述如下: 1. 平面分布: 这是自然生态研究的主要课题,经过长期的各大海洋的综合调查,现已查明大多发光生物的平面分布是十分广泛的,遍及世界各海的暖温带、亚热带和热带海区,尤以近岸海域为多,但迄今尚未看到在两极海(南极海和北冰洋)分布的报道(除了个别某些发光甲藻可分布到78°S)。总的看来,发光生物的种类以热带较多,而数量则以温带较多。换言之,种类随着水温的增高而增多,而数量则反之。这是海洋生物分布的一般规律。 2. 垂直分布: 发光生物的垂直分布研究较少,这和采集有较大困难有关——需要同时用几个有自动闭锁器的垂直拖网作分层采集。据采集结果,甲藻类大多分布在表层,尤以不同水团或海流的交汇锋面数量较大,同时也常是发光最强的海域。其他小型浮游生物(如原生动物的放射虫类,被囊动物的住囊虫等)也在上层较多。但其他较大浮游动物(如磷虾类、水母类、栉水母类等)则分布较广,有随着深度而减少的趋势。值得提出的是,发光游泳动物却正相反——深度愈大,发光种类愈多;可是超过了1300米,则又复减少。此外,发光高峰常出现在温跃层附近(这层深度随海区和季节而异),这和甲藻类、桡足类、磷虾类等垂直分布有关。

3. 季节分布: 发光生物的季节分布十分明显,主要分布在温暖季节,但数量高峰(发光高峰)随海区而异。例如,黑海的发光甲藻(如夜光藻、旋沟藻等)在春(5~6月)、秋(10~11月)数量最大。因此,海上发光也以这两个季节较强。

(二)发光现象

除了时空分布以外,对下列发光现象也作了不同程度的观察和研究: 1. 发光颜色: 一般海洋浮游动物的发光呈蓝色或绿色,但有些种类的颜色可以在不同环境条件下改变。例如,火体虫发出的光原是蓝色,但如果增高温度,

可改变为红色。细菌的发光颜色也可以随着培养基成分的改变而改变。2. 发光强度：一般浮游生物的发光较弱，但有些种类发光较强，如磷虾类^③、火体虫、瓜水母等。光的强度也受环境因子的影响。例如，光照可抑制栉水母类、火体虫等浮游动物发光；增高温度，可增加光的强度，但温度太高，则又抑制发光。夜光藻在高温下(>48℃)停止发光，就是一例。看来，发光强度有随着外界因子刺激的增强而加强的趋势。3. 发光持续时间：各种浮游生物发光的持续时间，长短不一。最短的是甲藻(夜光藻仅0.1秒)，火体虫较长(约7秒)，最长的是磷虾，如太平洋磷虾(*Euphausia pacifica*)可达22秒(可能还有更长的)。据试验结果，发光持续时间的长短与刺激强度有关——刺激愈强，发光持续时间愈长。4. 发光周期性：这是生物发光的另一个生态特点。有的发光甲藻类如旋沟藻仅在夜晚发光，而在白天不发光；又如夜光藻要到日落后2小时才发光。挪威磷虾在傍晚和黎明发光最为频繁，而在中午很少发光。上述种类都是属于“发光昼夜周期性”(diurnal periodicity)型。另有一些种类仅在某个季节发光。例如，磷虾类大多在秋季发光较强(这与上升至海面产卵有关)，而在冬季停止发光。这是属于“发光季节周期性”(seasonal periodicity)型。但是，细菌的发光却是连续的，没有周期性现象，它们的发光是一种呼吸现象。表1列举了一些常见浮游生物的发光现象及其生态特点，供读者参考。

四、生理、生化研究

到了哈维时代的后期，发光生理、生化研究已开始发展起来了。生理研究结果表明，很多动物的发光是因受到刺激——包括机械刺激(如波浪冲击等)，物理刺激(如电等)和化学刺激(如在海水中加入淡水、氨水等)后发出来的。因此，这种发光是限于具有神经系统的后生动物(Metazoa)。这类发光动物常具有发光器(如磷虾类等)或发光腺(如桡足类、介形类等)。当受到刺激后，前者会直接发光，后者会

表1 海洋浮游生物发光的特点

种类名称	发光型	发光系统	颜色	发光持续时间
夜光藻 (<i>Noctiluca miliaris</i>)	荧光素-荧光酶	细胞内	淡蓝	145 ms
多角旋沟藻 (<i>Gonyaulax polyedra</i>)	荧光素-荧光酶	细胞内	蓝绿	—
多管水母 (<i>Aequorea forskalsae</i>)	发光蛋白	细胞内	蓝或绿	0.3~1.5s
八手筐水母 (<i>Aegina grimaldii</i>)	发光蛋白	细胞内	蓝或绿	1~4s
夜光游水母 (<i>Pelagia noctiluca</i>)	发光蛋白	细胞外	蓝	0.8~4s
瓣水母 (<i>Mnemiopsis leidyi</i>)	发白蛋白	细胞内	蓝或绿	290 ms
瓜水母 (<i>Beroe sp.</i>)	发光蛋白	细胞内	蓝绿色	—
赫氏海萤 (<i>Cypridina hilgendorffii</i>)	荧光素-荧光酶	细胞外	蓝	1~2s
罗氏长腹水蚤 (<i>Metridia lucens</i>)	荧光素-荧光酶	细胞外	浅绿	0.1~6.3s
粗壮乳点水蚤 (<i>Pleuromamma robusta</i>)	荧光素-荧光酶	细胞外	浅绿	0.2~2.5s
挪威磷虾 (<i>Meganyctiphanes norvegica</i>)	发光蛋白	细胞内	蓝	4~22s
太平洋磷虾 (<i>Euphausia pacifica</i>)	发光蛋白	细胞内	蓝	—
异体住囊虫 (<i>Oikopleura dioica</i>)	—	细胞内	绿	278 ms
大西洋火体虫 (<i>Pyrosoma atlanticum</i>)	—	细胞内	蓝	7.2s

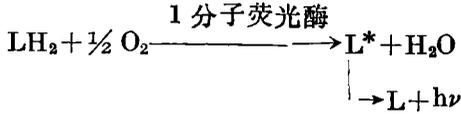
分泌发光粘液。一般来讲，刺激愈大，发光的强度愈大，发光的持续时间也愈长。但经过多次连续刺激后，就会发生疲劳(fatigue)现象，而停止发光。这样，须经一段休息时间(时间长短随种类而异)后，才能恢复发光。这个发光过程和“神经-肌肉收缩”或“神经-腺体分泌”的生理机制完全一致。这个发现，表明神经在发光过程中起着控制作用。事实上，早在形态研究时期，已看到发光细胞或器官是有神经联系的(图2)。

在这时代的后期，哈维等^[2]还发现荧光素(luciferin)和荧光酶(luciferase)在发光中的重要作用^④。这可说是发光生化研究的开端。

③据塔拉索夫(Тарасов)^[10]的报道，把6个挪威磷虾(平均体长27毫米)放在2升海水的玻璃瓶中，可以利用它们发出来的光读报。

④事实上，杜布瓦(Dubois)^[11]远在1887年早已发现荧光素和荧光酶在发光过程中的重要作用。

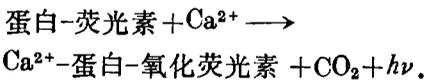
哈维的生化试验是用海萤作为研究材料^⑤。他从这种海洋介形类的发光腺(也称“颞下腺”,位于口部的上唇)中提取了上述两种发光物质,并发现发光是荧光素在荧光酶的参与下的氧化产物。这个发光过程可表示如下:



式中L为荧光素, L*为激活荧光素(或氧化荧光素)。

上述“荧光素-荧光酶发光系统”简称“素-酶系统”,在旋沟藻、海萤、火萤等发光生物中都已发现。事实上,这个发光系统在底栖发光动物的海笋(*Pholas*)中也存在着。哈维^[2]提出这两种发光质有“种别性”(specificity)特点——即必须从同一种或近缘种(如海萤和火萤)提取的荧光素或荧光酶混合在一起,并加入氧后才能发光。反之,如果用两个不同门类的发光质(如用介形类海萤的荧光素和瓣鳃类海笋的荧光酶)放在一起,加以氧化却不能发光。但据哈尼达(Haneda)等^[12]的研究结果,发现发光鳉(*Apogon marginatus*)的荧光素和海萤的荧光酶混合在一起,并加以氧化,可以发出光来。随着萃取技术的改善,发光质纯度的提高,不同门类的荧光素和荧光酶的交叉反应证据陆续增多,从而否定了“种别性”的普遍性^[3]。

近30年来,通过希摩穆拉等^[13,14]研究,另一新的发光系统在多管水母中发现了。这个系统的主要特点是,在不需要酶和氧的参与下,也能发光。据研究结果,从多管水母中提取的一种发光蛋白[photo-protein,也称多管水母素(aequorin),分子量约35000],受到Ca²⁺触发而发光。即:



值得提出的是,这个新的发光系统(或简称光-蛋白系统)已在其他水母类的游水母及栉水母类的瓣水母和瓜水母中发现了。这两种栉水母的发光蛋白,分别称为瓣水母素(mnemi-

opsin)和瓜水母素(berovin),而这种荧光素统称为“腔肠动物型荧光素”。

关于荧光素和荧光酶的化学结构和性质,通过哈维^[2]、约翰逊^[15,16]、希摩穆拉^[13,17]等研究,已有较深了解。兹分别简述如下:

1. 荧光素 1961年希摩穆拉等^[17]首先从海萤的干制标本中提取了荧光素,加以纯化,并获得结晶。通过生化测定,发现荧光素是一种对热稳定,较易扩散的黄色(氧化后变为橘黄色或无色)非蛋白质化合物,有较低的分子量(约470),能在水、乙醇、丙酮中溶解,不被胰蛋白酶破坏。它的分子式为C₂₁H₂₈O₂N₆·2HCl(海萤的荧光素)。由于耐热,可把标本放在热水中提取荧光素。据测定结果,荧光素含有氨基酸——是一种环状多肽。值得提出的是,从不同动物提取的荧光素的化学性质并不相同。

2. 荧光酶 这也是希摩穆拉^[17]在1961年从海萤干制标本中分离出来的。这是一种不透析、不耐热(<60℃),且有大的分子量(11500)的蛋白质,能溶解于水,而不能溶解于乙醇,但能被胰蛋白酶破坏。由于不耐热,它须用冷水来提取。荧光酶能使荧光素氧化而发光。据报道,它在低温(-10℃)存放1年多,不会变质。

上述两种发光物质的化学结构和性质的阐明,是近30年来发光生化研究取得的显著成绩,为发光化学的发展奠定了基础。在这方面,希摩穆拉^[13,17]、约翰逊^[15,16]和麦克尔罗伊(McElroy)^[18]等的贡献是比较突出的——对生物发光的化学机制有了进一步的了解。

展 望

生物发光研究已有一百多年历史了。瞻望将来,作者认为,应在过去研究的基础上,深入探讨以下几个问题:

(一)发光生物的采集和鉴定:过去,发光生物的采集主要是在温带和亚热带近海进行。今后,应把采集重点放在热带海,特别是外海和深

^⑤海萤是研究生物发光的很好材料,因它的粉末干制品加上水后,即可发光,并可保存20年而不坏。

海. 这样,可发现更多的发光种类,也可进一步了解发光生物的时空分布,为绘制各种发光生物,尤其是常见发光种类在世界的分布图,打下可靠基础. 此外,过去由于观察和研究仪器的落后,有些发光种类可能鉴定错了. 例如,现经查明,有些种类的发光是由于发光细菌附着在动物身体表面而引起的,而不是它本身发出来的光. 最近拉波塔(Lapota)和洛西(Losee)^[19]设计制造的观察仪器,为正确鉴定发光种类前进了一大步.

(二)发光细胞和器官的详细结构可通过电子显微镜的应用,作进一步观察、研究. 例如,火体虫的发光体(lumisomes)的化学结构和性质尚待进一步查明.

(三)通过发光生理研究,现已查明大多数后动物的发光是由神经控制的,但是否还有激素控制,尚待进一步研究. 过去,在这方面已有初步探索,如用肾上腺素注入发光鱼类,就会发出光来. 此外,在神经控制问题上,神经冲动如何激发发光器的发光,也需作进一步阐明.

(四)现已发现在浮游生物发光中存在着两种不同发光系统——一种需要在酶和氧的参与下,才能发出光来,这是属于“荧光素-荧光酶系统”;另一种不需酶的参与,受 Ca^{2+} 的触发而发光,这是属于“发光蛋白系统”. 但目前仍有一些生物的发光是属于哪一个系统还不清楚,同时是否还有另一种新的发光系统,是值得探索的. 此外,有些发光生物的发光的化学结构和性质尚欠明了. 发光质的生物合成和“种别性”问题,以及在发光过程中的光谱能传递问题都有待继续研究.

(五)生物发出来的光都是“可见光”,且都是“冷光”(几无热能). 这种生物发光的效率很高,大约95%以上的化学能都变成了光. 相比之下,白炽电灯有95%以上的能量都变成了热,只有很少一部分电能变成了光. 为此,利用生物发光作为新的人工光源,是一个值得研究的课题. 没有疑问,模仿生物发光原理制成的新

型光源,将在国防上和生产上得到广泛应用,为四化建设作出较大贡献. 这是今后生物发光研究的一个重要方向.

总的看来,近30年来由于新技术的发展和运用,生物发光研究已经取得了很大进展——已从形态、生态研究时代,进入到生理、生化研究时代. 今后,将继续向化学方向发展,并将配合物理、数学工作者共同研究生物发光的生理、生化机制问题,向分子生物学进军. 迄今,我国生物发光研究仍基本空白,仅在发光细菌的分布^[20]方面,作了一些初步调查工作. 今后,应在基础理论研究的同时,大力开展与生产(如渔业、运输业、环境保护等)密切联系的应用研究,为四化建设作出较大贡献.

- [1] Ehrenberg C. G., *Abh. Preuss. Akad. Wiss.* (1834) 441
- [2] Harvey E. N., *Bioluminescence*, Acad. Press (1952) 649
- [3] Herring P. J. ed., *Bioluminescence in Action*, Acad. Press (1978) 570
- [4] Johnson F. H. ed., *The Bioluminescence of Biological Systems*, Amer. Adv. Sci., Wash. D. C. (1955)
- [5] Johnson F. H., Haneda Y. ed., *Bioluminescence in Progress*, Princeton Univ. Press (1966)
- [6] Nealon K. H. ed., *Bioluminescence: current perspectives*, Burgess Pub. Co., Minneapolis (1981)
- [7] Boden B. P., Kampa E. M., *Oceanogr. Mar. Biol.*, 2(1964)341
- [8] Nicol J. A. G., *Adv. Comp. Physiol. Biochem.*, 1 (1962) 217
- [9] Galt C. P. et al., *Biol. Bull.*, 168 (1985) 125
- [10] Тарасов Н. И., *Жуеой Свет Моря, Изд. АН СССР* (1956) 126
- [11] Dubois R., *C. R. Séanc. Soc. Biol. Fr.*, 39 (1887) 564
- [12] Haneda Y. et al., *Biol. Bull.*, 115 (1958) 336
- [13] Shimomura O. et al., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 59 (1962) 223
- [14] Shimomura O., Johnson F. H., *Nature*, 256 (1975) 236
- [15] Johnson F. H., in *Comparative Biochemistry*, Vol. 17 (1957) 79
- [16] Johnson F. H., Shimomura O., in *Chemical Zoology*, Vol. 2 (1968) 233
- [17] Shimomura O. et al., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 58 (1961) 113
- [18] McElroy W.D., Seliger H. H., *Sci. Amer.*, 207, 6 (1962) 76
- [19] Lapota D., Losee J. R., *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 77 (1984) 209
- [20] 曹蕴慧, 胡锡钢, 《海洋学报》, 4(1982)89