

蓝藻的伪空泡及其对蓝藻在水体中垂直分布的调节

成慧敏 邱保胜*

华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079

Cyanobacterial Gas Vesicles and Their Regulation on the Vertical Distribution of Cyanobacteria in Water Body

CHENG Hui-Min, QIU Bao-Sheng*

College of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China

摘要 伪空泡广泛存在于浮游蓝藻中, 其主要功能是为细胞提供浮力。具有伪空泡的蓝藻可通过浮力调节改变其在水柱中的位置, 以适应水体中呈垂直方向分布的光照与营养的分离, 从而有利于其从水体中获取有限的资源并最终成为优势种群。文章介绍了蓝藻伪空泡的物理化学特性和编码基因、蓝藻浮力调节机制及其研究方法。

关键词 蓝藻; 伪空泡; 浮力调节

德国微生物学家Klebahn (1895)最早在光学显微镜下发现水华蓝藻细胞内存在气囊, 此种气囊含有气体, 可以为细胞提供浮力。70年后, Bowen和Jensen (1965)指出气囊由众多圆柱形的气泡垛叠而成, 他们将这些气泡命名为伪空泡(gas vesicle)。Lauterborn (1915)在古细菌(嗜盐菌和产甲烷菌)和革兰氏阴性菌中也发现有类似结构。蓝藻伪空泡是由蛋白质构成的两端为锥形中间为圆柱体的中空、充有气体的细胞内结构, 壁厚仅2 nm, 宽45~110 nm, 长100~800 nm或更长不等(Walsby 1994, 1998)。伪空泡的宽度与单位伪空泡蛋白提供浮力的效率成正比, 而与伪空泡的强度成反比。Hayes和Walsby (1986)指出, 在自然选择作用下不同种蓝藻形成相应宽度的伪空泡, 以适应其所处生态位中应承受的特定压强。

伪空泡的主要功能是为细胞提供浮力, 通过它的破裂与重新合成, 蓝藻细胞可以调节自身在水体中的垂直分布。具有伪空泡的蓝藻在水生生态系统中占优势, 这在一定程度上是由于它们具有浮力以及随着环境条件的改变而对浮力进行调节的能力(Reynolds和Walsby 1975; Ganf和Oliver 1982; Reynolds等1987; Walsby 1994; Oliver和Ganf 2000; Bonnet和Poulin 2002)。在自然界中, 浮力调节可减少沉降作用引起的水柱中藻细胞数量下降(Reynolds 1984), 也可使细胞进入水体表层从而提高光照和CO₂的供给(Humphries和Lyne 1988; Walsby等1997)。通过这种垂直迁移, 藻细胞还

可吸收水体较深处的营养物质, 克服水体因热分层导致的垂直方向上的光与营养获取的分离, 平衡限制性资源的供给能力(Ganf和Oliver 1982)。蓝藻水华的形成是湖泊富营养化的重要标志, 其危害越来越受到关注。主要的水华蓝藻种类都具有伪空泡, 它们能调节自身在水柱中的位置, 以适应外界环境条件(如: 光照、营养盐等)的变化。因此, 研究蓝藻的伪空泡及其在浮力调节中的作用对于更好地了解蓝藻水华的形成机制及其治理具有重要意义。目前, 国内基本上还未开展这方面的研究。本文介绍伪空泡的形态结构、物理化学特性和编码基因、蓝藻浮力调节机制及其研究方法, 以期促进我国这方面研究工作的开展。

1 伪空泡的结构和性质

蓝藻伪空泡是两端为锥形帽的圆柱体中空结构(Walsby 1994)。用电镜可以直接观察到伪空泡的形态和测定游离伪空泡的长和宽, 进而计算其壁厚、体积和密度。伪空泡壁具有2个显著特征: (1)具有疏水性内表面, 从而可阻止水分子进入伪空泡, 而气体分子则可以自由扩散进出(Walsby 1969); (2)具有刚性(Walsby 1982)。微囊藻(*Microcystis* sp.)的伪空泡所承受的压强每增加

收稿 2006-06-20 修定 2006-08-14

资助 国家自然科学基金(30200021)和武汉市晨光计划(20045006071-24)。

*通讯作者(E-mail: bsqiu@public.wh.hb.cn, Tel: 027-67861514)。

0.1 MPa 其体积仅缩小千分之一, 这样即便在深水中, 只要伪空泡不破裂就可以有效地提供浮力(Walsby 1998)。细胞内的伪空泡主要承受2种来源的压强, 即细胞液与周围环境渗透势差引起的胞内膨压以及上方水柱重力引起的流体静压(图1)。悬浮在水柱中的游离伪空泡所承受的净压强(P_n)以及细胞内的伪空泡所承受的净压强(P_n')的计算公式如下:

$$P_n = P_h + P_f - P_g \quad (1)$$

$$P_n' = P_h + P_t + P_f - P_g \quad (2)$$

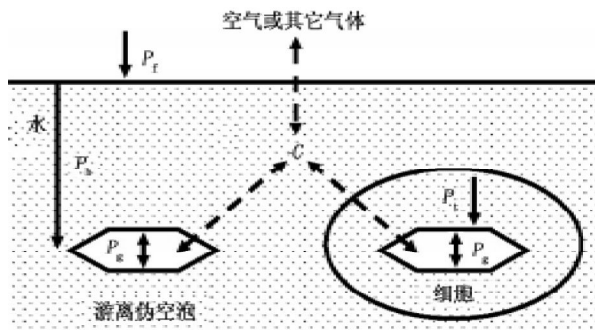


图1 悬浮在水柱中的游离伪空泡与细胞内伪空泡所受压强示意图(Walsby 1994)

P_h 为流体静压; P_f 为水柱上方气相压强; P_g 为伪空泡内气体压强; P_t 指细胞膨压; C 表示水中溶解气体的浓度。

临界压强(critical pressure, P_c)是指导致伪空泡破裂的最小内外压强差。当伪空泡所受净压强低于临界压强时, 随着压强升高伪空泡体积变化很小, 因此伪空泡所提供的浮力也基本上不变, 但当其所受压强高于临界压强时, 则会引起伪空泡的破裂(Walsby 1982), 伪空泡一旦破裂只能由新合成或再循环的蛋白质重建(Hayes 和 Walsby 1984)。伪空泡圆柱体直径(d , 单位为 nm)与临界压强(P_c , 单位为 MPa)之间的关系式为 $P_c = 461 (d/\text{nm})^{-1.53}$, 由此可见伪空泡的直径与临界压强呈负相关(Beard 等 1999; Bright 和 Walsby 1999)。也就是说, 伪空泡的直径越大临界压强就越低, 伪空泡也越容易破裂。因此, 深海藻类的伪空泡都比较窄, 如铁氏束毛藻(*Trichodesmium thiebautii*)的伪空泡直径约为 45 nm (Gantt 等 1984)。

2 研究方法

细胞中伪空泡的体积、临界压强和相对含量

(relative gas vesicle content, RGV)等参数可用压缩管(compression tube)或压力浊度计(pressure-nephelometry)测量(Walsby 1973, 1982; Walsby 等 1992)。压缩管主要由耐压玻璃管、毛细压缩管、恒温水浴套和气体供应装置四部分组成(图2)。毛细压缩管位于耐压玻璃管内, 其一端为膨起的样品腔用塞子封闭, 另一端连有内径为 0.2 mm 的开口毛细管。毛细压缩管和耐压玻璃管用联结装置连接后再与气体供应装置相连, 外侧用恒温水浴套包被。测量时将含有伪空泡的细胞液或游离伪空泡悬液装入样品腔中, 液面基本上到达毛细管的开口端时塞紧塞子。待仪器稳定后通气加压, 这样样品液收缩, 然后在显微镜下测量毛细管中液面的移动距离得出样品体积变化量。当所加压力解除时, 如果液面回到原来的位置则说明伪空泡未破裂, 反之则显示伪空泡已破裂。加压前后的液面间体积与伪空泡中的气体体积相等。这一方法还可以用于测定细胞达到浮力平衡状态时所需的伪空泡比率以及漂浮细胞的浮力密度等。

压力浊度计主要由气体供应装置、耐压玻璃样品管和浊度计三部分组成, 其主要原理为: 完整伪空泡不吸收但可以强烈地散射可见光, 当伪

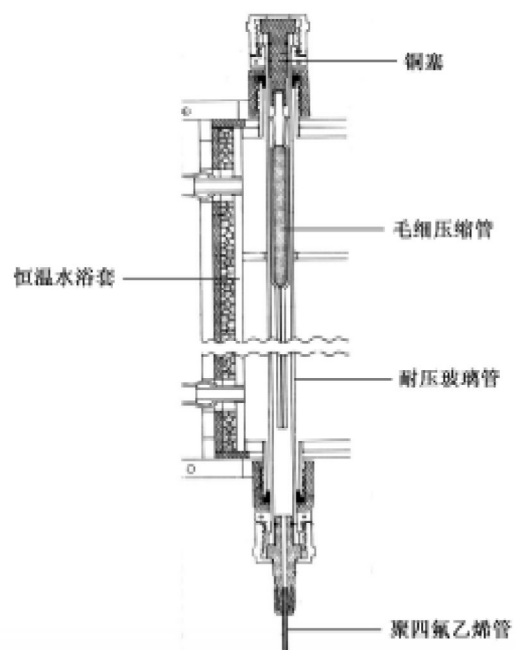


图2 压缩管的结构示意图(Walsby等1992)

空泡破裂后其散射光的能力将下降98%或更多。通过测定加压前后的伪空泡散射光值变化,便可以估算出细胞中伪空泡的相对含量(RGV)和一定压强下破裂伪空泡所占有的比率(C%):

$$RGV = \Delta T_a / T_c \quad (3)$$

$$\Delta T_a = T - T_c \quad (4)$$

$$C\% = 100 (T - T_0) / (T - T_c) \quad (5)$$

其中, ΔT_a 为所有伪空泡破裂前后比浊度的变化值; T_0 是加压后部分伪空泡破裂时细胞悬液的比浊度; T_c 为所有伪空泡破裂后细胞内其它物质的比浊度; T 为初始细胞悬液的比浊度。

蓝藻细胞的上浮率可以用细胞计数的方法测定。计数时将样品放于Sedgwick-Rafter沉积腔中一段时间后再放在倒置显微镜下统计浮到盖玻片下的细胞数、沉到底层的细胞数和细胞总数,据此计算出上浮和下沉细胞所占比率(Walsby和Booker 1980)。此法直观、易于操作,且可以很好地反映单个细胞或群落的形态学特征对下沉速率的影响。当浮游生物群体半径不超过300 μm 时,其上浮或下沉的速率可以用Stokes方程来描述,此方程是将球体的上浮或下沉速率与群体的大小和密度联系起来考虑的(Oliver 1994)。当考虑到非球形的浮游生物细胞或群体的形状时,方程可调整为:

$$V = 2gr^2 (\rho' - \rho) / 9\eta\Phi \quad (6)$$

其中, V 为等体积球体的上浮或下沉速率; g 是重力加速度; r 为与群体等体积球体的半径; ρ' 为生物体的密度; ρ 指水的密度; η 指水的粘度; Φ 为形状阻力系数。

3 伪空泡参与浮力调节的机制

伪空泡的主要功能是为细胞提供浮力并参与浮力调节,蓝藻在不同水层中的定位以及昼夜垂直迁移可能都与此相关。蓝藻细胞在垂直空间的运动,如上浮、下沉或达到平衡状态均与细胞密度有关。细胞的主要组成成分糖类(约为1550 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)、蛋白质(约为1330 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)、糖脂(约为1050 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)、核酸(>1660 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)的密度均大于水(998 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$, 20 $^{\circ}\text{C}$),它们的积累将使细胞下沉。相反,伪空泡的密度小于水,当其体积达细胞体积的3%~10%时就能有效地为细胞提供浮力(Walsby 1994)。浮力变化的定量分析证实,蓝藻细胞浮

力的调节涉及到影响细胞沉浮物(ballast)尤其是糖类的含量改变、细胞膨压升高引起伪空泡的破裂和伪空泡合成的调节3种机制(Oliver 1994; Walsby 1994)。

3.1 影响细胞沉浮物尤其是糖类的积累 糖类物质的积累可以作为影响细胞沉浮物来抵消由伪空泡提供的浮力,这是普遍存在于浮游蓝藻中的一种浮力调节方式。高光强下,多余的光合产物会以淀粉的形式积累,这时糖类占细胞干重的比例可由30%升至60% (Walsby 1998)。在糖类的积累过程中,如果没有新的伪空泡合成,或新合成的伪空泡所提供的浮力不足以抵消糖类积累所引起的细胞密度增加,那么细胞将会下沉。而当光强降低、积累的糖类逐渐被呼吸消耗或转化为密度较低的蛋白质时,细胞密度会降低,从而引起细胞上浮。在昼夜交替过程中,白天蓝藻的糖类增加而夜间下降,从而导致含有伪空泡的蓝藻下沉或上浮。一种束丝藻(*Aphanizomenon ovalisporum*)从中午到傍晚有76%~84%的丝状体浮在水面,而夜间则有94%~98%的丝状体浮在水面(Porat等2001)。铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)在湖泊中的垂直分布取决于浮力调节和群落大小(Wallace等2000)。夜间,铜绿微囊藻群体在湖面聚集,而上午水层表面0.2~0.3 m处的群体密度下降约50%。一种浮游蓝丝藻(*Planktothrix rebeszens*)在光暗各12 h的光周期条件下培养,若光强为2 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,多数丝状体在光下是漂浮的;而当培养光强超过25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 即达到光饱和状态时,多数丝状体在光下则下沉(Bright和Walsby 2000)。进一步的研究表明,当培养光强为3.9~8.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,丝状体在光下达到浮力平衡状态,即50%的丝状体呈漂浮状态(Walsby等2004)。这种与光相关的浮力调节机制可以反映自然状态下*P. rebeszens*在夏季分层的湖泊中的垂直迁移和定位。具体表现为:白天光合作用合成的糖类以淀粉的形式积累而使丝状体密度增加,晚上呼吸作用消耗淀粉使细胞密度下降。蓝藻的这种昼夜垂直迁移有利于藻细胞获取更多的光能(在水体表层)以及营养物质(在水体底层),避免中午强光引起的光抑制和光氧化的破坏作用,从而有利于自身的生长发育并最终成为优势种群。

3.2 细胞膨压升高引起伪空泡破裂 淡水蓝藻的细胞膨压为0.1~0.6 MPa, 通常在0.2~0.4 MPa之间(Walsby 1998)。光限制条件下细胞膨压随着光强增大而升高。其原因可能是:(1)随着光强的增大细胞光合速率升高, 因而可溶性有机产物(如: 蔗糖、有机酸等)增加;(2)随着光强的增大对光依赖的 K^+ 吸收增强。细胞膨压升高会导致一些脆弱的伪空泡破裂, 从而使细胞浮力下降。水华鱼腥藻(*Anabaena flos-aquae*)的细胞膨压可在1 h之内上升0.1 MPa, 膨压升高后50%以上的伪空泡破裂, 并最终导致细胞浮力丧失(Oliver和Walsby 1984; Kinsman等1991)。对于生活在深水中的蓝藻来说, 其伪空泡较为坚固, 因此很难通过这种方式进行浮力调节。

3.3 伪空泡合成的调节 伪空泡合成的调节主要在分子和生理2个水平上进行, 前者主要是通过控制基因表达进行调节, 后者主要是通过控制伪空泡合成所需要的能量和结构物质进行调节。光不仅为伪空泡合成提供能量, 而且可作为环境信号对伪空泡合成进行调节。有关假鱼腥藻(*Pseudanabaena* sp.)的研究结果表明, 它只在低光强下合成伪空泡, 数量少且集中在细胞两端。当光强从 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 升高到 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, 假鱼腥藻的*gvpA*(编码伪空泡结构蛋白GvpA)停止表达, 当回到低光强下时又重新表达(Damerval等1991)。另外, 在培养过程中此种蓝藻还会发生基因突变而失去伪空泡。浮游蓝藻的自发突变引起一些*gvpC*拷贝(*gvpC*编码伪空泡结构蛋白GvpC)的丢失, 而且*gvpC*出现异常的3'末端 ψC , 从而导致伪空泡数和临界压强下降(Beard等2002a)。在铜绿微囊藻中还发现4个插入序列ISMae 1-4, 它们可使伪空泡基因发生重组从而导致细胞无法合成伪空泡而丧失浮力(Mlouka等2004a, b)。

在生理水平上, 主要通过调节光能和营养物(如: 碳、氮和磷等)的供给而对伪空泡合成进行调节。光照可以影响细胞光合作用捕获能量的多少和所固定碳的去向, 从而影响浮力调节。通常, 当主要营养物氮和磷受到限制时, 细胞捕获的能量超过用于生长的量从而引起糖积累和膨压升高, 并最终导致细胞浮力下降。持续的氮限制还

会阻碍蛋白质合成, 进而抑制伪空泡的合成, 使细胞浮力下降(Oliver 1994)。当细胞已有足量的伪空泡提供浮力或有足够的能量储备用于合成新的伪空泡时, 短期的间歇性碳限制会使糖类含量降低, 从而导致细胞密度降低和细胞浮力升高, 但是持续的碳限制则抑制伪空泡的合成, 从而导致细胞浮力下降(Oliver 1994)。碳源和氮源的相对比值对伪空泡合成有影响, 高C/N下伪空泡的合成滞后于细胞生长, 因而细胞伪空泡含量下降, 低C/N下伪空泡则相对增加(Oliver 1994)。

3种浮力调节方式的相对重要性在不同蓝藻种类间存在差异, 并与蓝藻的生理条件密切相关。适应于较短光期的细胞, 提高光强能使之更有效地积累和储存糖类, 从而增加影响细胞沉浮物, 进而导致细胞下沉(Foy和Smith 1980)。在连续光照条件下培养的细胞储存糖的能力较低, 提高光强后可溶性的光合中间产物即显著增加, 从而引起膨压升高和伪空泡破裂(Kromkamp等1986)。从某种程度上来说, 3种浮力调节机制的作用有重叠。影响细胞沉浮物的调节和细胞膨压升高引起伪空泡的破裂机制之间谁占优势取决于碳分配、膨压变化以及伪空泡的强度。不同浮力调节机制的响应时间存在差异, 虽然膨压升高会引起伪空泡破裂从而导致浮力迅速丧失(20~180 min), 但浮力恢复所需的伪空泡合成过程较慢(>24 h)(Hayes和Walsby 1984)。细胞增殖对伪空泡的稀释作用需以细胞的世代时间来度量, 相反, 影响细胞沉浮物的调节机制反应迅速, 可以响应短时间内的环境变化。在静水中, 细胞的上浮或下沉取决于细胞密度与伪空泡的相对含量, 在这种情况下蓝藻的垂直分布受浮力调节控制。但是, 水体运动、风和群落大小等因素也会影响浮游蓝藻的分布, 所以分析浮力调节作用时应该综合考虑各种因素的作用。

4 伪空泡蛋白亚基与编码基因

伪空泡主要由分子量为7~8 kDa的疏水蛋白GvpA组成(Hayes等1986; Surek等1988; Englert等1990), 另一种分子量约为21 kDa的亲水性蛋白GvpC含量较低, 结合在由GvpA组成的伪空泡壁骨架外部起稳定作用(Walsby和Hayes 1988; Hayes等1992; Dunton等2006)。蓝藻GvpA氨基酸序列

高度保守(Griffiths等1992), Walsby (1994)推测 GvpA 序列中少数氨基酸残基的不同可能会影响伪空泡的形态, Beard等(2002b)以古细菌 *Haloferax volcanii* 为材料的转化实验证实了这一推测。蓝藻 GvpC 最显著的特征是具有由 33 个氨基酸残基组成的重复单元(33-residue repeats, 33RRs), 此种结构可能与 GvpA 组成的骨架结构的重复性连接有关(Kinsman等1995; Dunton等2006)。若去除 GvpC, 伪空泡的临界压强将降低, GvpC 重新加入后则临界压强基本上恢复到初始值(Hayes等1992; Dunton等2006)。浮游蓝丝藻有 3 个不同大小的 *gvpC* 基因: *gvpC²⁰*、*gvpC¹⁶* 和 *gvpC²⁸* (Beard等1999, 2000), 此外, 有一些种类的 *gvpC* 的 3' 末端还存在 72 bp 的不翻译片段 ΩC 。基于不同长度的 *gvpC* 以及 ΩC 出现与否, 浮游蓝丝藻分属于 6 种不同的基因型(Beard等1999, 2000; Bright和Walsby 1999): (1) GV1 只含有 *gvpC²⁰*, 平均临界压强为 0.96~1.0 MPa; (2) GV2 含有 *gvpC²⁰* 和 ΩC , 平均临界压强为 0.86~0.99 MPa; (3) GV3 含有 *gvpC¹⁶*、*gvpC²⁰* 和 ΩC , 平均临界压强为 1.0~1.17 MPa; (4) GV4 含有 *gvpC²⁰*、*gvpC²⁸* 和 ΩC , 平均临界压强与 GV2 型相似, 为 0.76~0.88 MPa; (5) GV5 含有 *gvpC²⁸* 和 ΩC , 平均临界压强为 0.61~0.75 MPa; (6) GV6 只含有 *gvpC²⁸*, 平均临界压强为 0.63~0.72 MPa。最近的研究表明, 不同的 *gvpC* 可在同一浮游蓝丝藻细胞中表达, 这说明同一细胞中可合成不同强度的伪空泡(Becker等2005)。除 GvpA 和 GvpC 两种结构蛋白外, 在古细菌 *Haloferax mediterranei* 和 *Halobacterium halobium* 中还分离到 GvpD、GvpF、GvpG、GvpJ、GvpL 和 GvpM 几种与伪空泡相关的蛋白(Englert等1992; Pfeifer等2001; Shukla和DasSarma 2004)。其中, GvpD 可以通过阻止 GvpE 介导的 *gvpA* 启动子的活化而调节伪空泡合成; GvpJ 和 GvpM 与 GvpA 的氨基酸序列相似, 可能与伪空泡壁的结构直接相关; GvpF、GvpG 和 GvpL 可能与伪空泡早期合成中蛋白质的成核现象有关。

伪空泡相关基因的研究在嗜盐古生菌、革兰氏阴性菌和蓝藻中均有开展。在嗜盐古生菌的 14 个 *gvp* 基因(*gvpMLKJIHGFEDACNO*)中, 至少有 8~10 个是合成伪空泡所必需的(DasSarma等1994;

Offner等2000)。巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)合成伪空泡至少需要 11 个 *gvp* 基因(Li和Cannon 1998)。迄今, 蓝藻中已有 12 个 *gvp* 基因得到鉴定, 组成 *gvpA_IA_{II}A_{III}CNJX* 和 *gvpKFG* 2 个操纵子, 另外 *gvpV* 和 *gvpW* 单独分布, 但其中哪些是伪空泡合成所必需的基因仍有待研究(Damerval等1987; Kinsman和Hayes 1997; Beard等1999; Albouy等2001; Mlouka等2004a)。有趣的是 *gvpA*、*gvpF*、*gvpG*、*gvpJ*、*gvpL* 和 *gvpM* 几乎在所有产伪空泡的微生物中出现(Kinsman和Hayes 1997; Li和Cannon 1998; Offner等2000; Bentley等2002; Shukla和DasSarma 2004), 因此推测它们是合成伪空泡所必需的。

5 结语

从最早在光学显微镜下发现伪空泡聚集体气囊至今, 与伪空泡有关的研究已有一百多年的历史, 人们对伪空泡的形态、结构、功能、特征及编码基因等已有较深入的了解, 但在国内这方面的研究还很少。蓝藻水华的形成是湖泊富营养化的重要标志, 其危害备受关注, 而引起水华藻类群体迁移和聚集的机制是这方面研究的重要内容。本文目的旨在为国内开展这项研究提供一些参考资料并唤起人们的关注。迄今为止, 至少有 18 株蓝藻的全基因组已得到测序, 这为进一步从分子水平上研究伪空泡的蛋白构成和种间差异建立了基础。关于蓝藻伪空泡及与其相关的研究有以下几个切入点值得考虑: (1) 蓝藻虽已有 12 个 *gvp* 基因得到鉴定, 但长期以来伪空泡编码基因和结构蛋白的研究主要集中在 *gvpA*、*gvpC* 和 GvpA 和 GvpC 上, 而其它基因和蛋白的结构、功能也值得探讨; (2) 具伪空泡的蓝藻在水生生态系统中之所以占优势, 在一定程度上是由于它们有浮力调节的能力, 而 CO₂ 浓缩机制则是蓝藻能够适应多种环境并广泛分布的原因之一, 蓝藻在水体中上下移动面临着不同的营养条件, 在此过程中其体内的无机碳转运子的诱导是否有差异, 似可探讨; (3) 大气中 CO₂ 浓度的增加、全球变暖、水体污染以及紫外辐射(主要是 UV-B) 的增强等外界环境的改变对蓝藻伪空泡的影响如何还不清楚, 如 UV-B 的增强可能会导致糖代谢的改变, 而浮力调节与糖代谢是有关系的, 再者平流层臭氧的破

坏所导致地球表面UV-B的增强是否会影响蓝藻的浮力调节或蓝藻水华的形成都应探讨; (4) 蓝藻伪空泡的研究大多是在室内进行的, 野外试验很少, 对此也应考虑; (5) 已有的研究证明, 在对剪切力敏感的动物细胞培养中, 伪空泡可以有效地提高O₂的供应和CO₂的排除(Sundararajan和Ju 2000), 而伪空泡或许可以作为载体用于这一领域中与医疗有关的研究, 对此不妨可以进行尝试。

参考文献

- Albouy D, Castets AM, Tandeau de Marsac N (2001). The gas vesicle gene (*gvp*) cluster of the cyanobacterium *Pseudanabaena* sp. strain PCC 6901. *DNA Seq*, 12: 337-344
- Beard SJ, Davis PA, Iglesias-Rodríguez D, Skulberg OM, Walsby AE (2000). Gas vesicle genes in *Planktothrix* spp. from Nordic lakes: strains with weak gas vesicles possess a longer variant of *gvpC*. *Microbiology*, 146: 2009-2018
- Beard SJ, Handley BA, Hayes PK, Walsby AE (1999). The diversity of gas vesicle genes in *Planktothrix rubescens* from Lake Zürich. *Microbiology*, 145: 2757-2768
- Beard SJ, Handley BA, Walsby AE (2002a). Spontaneous mutations in gas vesicle genes of *Planktothrix* spp. affect gas vesicle production and critical pressure. *FEMS Microbiol Lett*, 215: 189-195
- Beard SJ, Hayes PK, Pfeifer F, Walsby AE (2002b). The sequence of the major gas vesicle protein, GvpA, influences the width and strength of halobacterial gas vesicles. *FEMS Microbiol Lett*, 213: 149-157
- Becker S, Hayes PK, Walsby AE (2005). Different *gvpC* length variants are transcribed within single filaments of the cyanobacterium *Planktothrix rubescens*. *Microbiology*, 151: 59-67
- Bentley SD, Chater KF, Cerdeno-Tarraga AM, Challis GL, Thomson NR, James KD, Harris DE, Quail MA, Kieser H, Harper D et al (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*, 417: 141-147
- Bonnet MP, Poulin M (2002). Numerical modeling of the planktonic succession in a nutrient-rich reservoir: environmental and physiological factors leading to *Microcystis aeruginosa* dominance. *Ecol Model*, 156: 93-112
- Bowen CC, Jensen TE (1965). Blue-green algae: fine structure of the gas vacuoles. *Science*, 147: 1460-1462
- Bright DI, Walsby AE (1999). The relationship between critical pressure and width of gas vesicles in isolates of *Planktothrix rubescens* from Lake Zürich. *Microbiology*, 145: 2769-2775
- Bright DI, Walsby AE (2000). The daily integral of growth by *Planktothrix rubescens* calculated from growth rate in culture and irradiance in Lake Zürich. *New Phytol*, 146: 301-316
- Damerval T, Castets AM, Houmard J, Tandeau de Marsac N (1991). Gas vesicle synthesis in the cyanobacterium *Pseudanabaena* sp.: occurrence of a single photoregulated gene. *Mol Microbiol*, 5: 657-664
- Damerval T, Houmard J, Guglielmi G, Csiszár K, Tandeau de Marsac N (1987). A developmentally regulated *gvpABC* operon is involved in the formation of gas vesicles in the cyanobacterium *Calothrix* 7601. *Gene*, 54: 83-92
- DasSarma S, Arora P, Lin F, Molinari E, Yin LR (1994). Wild-type gas vesicle formation requires at least ten genes in the *gvp* gene cluster of *Halobacterium halobium* plasmid pNRC100. *J Bacteriol*, 176: 7646-7652
- Dunton PG, Mawby WJ, Shaw VA, Walsby AE (2006). Analysis of tryptic digests indicates regions of GvpC that bind to gas vesicles of *Anabaena flos-aquae*. *Microbiology*, 152: 1661-1669
- Englert C, Horne M, Pfeifer F (1990). Expression of the major gas vesicle protein gene in the halophilic archaeobacterium *Haloferax mediterranei* is modulated by salt. *Mol Gen Genet*, 222: 225-232
- Englert C, Wanner G, Pfeifer F (1992). Functional analysis of the gas vesicle gene cluster of the halophilic archaeon *Haloferax mediterranei* defines the vac-region boundary and suggests a regulatory role for the *gvpD* gene or its product. *Mol Microbiol*, 6: 3543-3550
- Foy RH, Smith RV (1980). The role of carbohydrate accumulation in the growth of planktonic *Oscillatoria* species. *Br Phycol J*, 15: 139-150
- Ganf GG, Oliver RL (1982). Vertical separation of light and available nutrients as a factor causing replacement of green algae by blue-green algae in the plankton of a stratified lake. *J Ecol*, 70: 829-844
- Gantt E, Ohki K, Fujita Y (1984). *Trichodesmium thiebautii*: structure of a nitrogen-fixing marine blue-green alga (*Cyanophyta*). *Protoplasma*, 119: 188-196
- Griffiths AE, Walsby AE, Hayes PK (1992). The homologies of gas vesicle proteins. *J Gen Microbiol*, 138: 1243-1250
- Hayes PK, Buchholz B, Walsby AE (1992). Gas vesicles are strengthened by the outer-surface protein, GvpC. *Arch Microbiol*, 157: 229-234
- Hayes PK, Walsby AE (1984). An investigation into the recycling of gas vesicle protein derived from collapsed gas vesicles. *J Gen Microbiol*, 130: 1591-1596
- Hayes PK, Walsby AE (1986). The inverse correlation between width and strength of gas vesicles in cyanobacteria. *Br Phycol J*, 21: 191-197
- Hayes PK, Walsby AE, Walker JE (1986). Complete amino acid sequence of cyanobacterial gas-vesicle protein indicates a 70-residue molecule that corresponds in size to the crystallographic unit cell. *Biochem J*, 236: 31-36
- Humphries SE, Lyne VD (1988). Cyanophyte blooms: the role of cell buoyancy. *Limnol Oceanogr*, 33: 79-91
- Kinsman R, Hayes PK (1997). Genes encoding proteins homologous to halobacterial Gvps N, J, K, F & L are located downstream of *gvpC* in the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*. *DNA Seq*, 7: 97-106

- Kinsman R, Ibelings BW, Walsby AE (1991). Gas vesicle collapse by turgor pressure and its role in buoyancy regulation by *Anabaena flos-aquae*. J Gen Microbiol, 137: 1171~1178
- Kinsman R, Walsby AE, Hayes PK (1995). GvpCs with reduced numbers of repeating sequence elements bind to and strengthen cyanobacterial gas vesicles. Mol Microbiol, 17: 147~154
- Klebahn H (1895). Gasvakuolen, ein bestandteil der zellen der wasserblütebildende phycochromaceen. Flora (Jena), 80: 241~282
- Kromkamp J, Konopka A, Mur LR (1986). Buoyancy regulation in a strain of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanophyceae): the importance of carbohydrate accumulation and gas vesicle collapse. J Gen Microbiol, 132: 2113~2121
- Lauterborn R (1915). Die sapropelische Lebewelt. Verh Naturhist Med Ver Heidelberg, 13: 395~481
- Li N, Cannon MC (1998). Gas vesicle genes identified in *Bacillus megaterium* and functional expression in *Escherichia coli*. J Bacteriol, 180: 2450~2458
- Mlouka A, Comte K, Castets AM, Bouchier C, Tandeau de Marsac N (2004a). The gas vesicle gene cluster from *Microcystis aeruginosa* and DNA rearrangements that lead to loss of cell buoyancy. J Bacteriol, 186: 2355~2365
- Mlouka A, Comte K, Tandeau de Marsac N (2004b). Mobile DNA elements in the gas vesicle gene cluster of the planktonic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. FEMS Microbiol Lett, 237: 27~34
- Offner S, Hofacker A, Wanner G, Pfeifer F (2000). Eight of fourteen *gvp* genes are sufficient for formation of gas vesicles in halophilic archaea. J Bacteriol, 182: 4328~4336
- Oliver RL (1994). Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria. J Phycol, 30: 161~173
- Oliver RL, Ganf GG (2000). Freshwater blooms. In: Whitton BA, Potts M (eds). The Ecology of Cyanobacteria. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 149~194
- Oliver RL, Walsby AE (1984). Direct evidence for the role of light-mediated gas vesicle collapse in the buoyancy regulation of *Anabaena flos-aquae* (cyanobacteria). Limnol Oceanogr, 29: 879~886
- Pfeifer F, Zotzel J, Kurenbach B, Röder R, Zimmermann P (2001). A p-loop motif and two basic regions in the regulatory protein GvpD are important for the repression of gas vesicle formation in the archaeon *Haloflex mediterranei*. Microbiology, 147: 63~73
- Porat K, Teltsch B, Perrlman A, Dubinsky Z (2001). Diel buoyancy changes by the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from a shallow reservoir. J Plankton Res, 23: 1191~1215
- Reynolds CS (1984). Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environment variability. Freshwater Biol, 14: 111~142
- Reynolds CS, Oliver RL, Walsby AE (1987). Cyanobacterial dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments. N Z J Mar Freshwater Res, 21: 379~390
- Reynolds CS, Walsby AE (1975). Water-blooms. Biol Rev, 50: 437~481
- Shukla HD, DasSarma S (2004). Complexity of gas vesicle biogenesis in *Halobacterium* sp. strain NRC-1: identification of five new proteins. J Bacteriol, 186: 3182~3186
- Sundararajan A, Ju LK (2000). Evaluation of oxygen permeability of gas vesicles from cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*. J Bacteriol, 182: 151~156
- Surek B, Pillay B, Rdest U, Bayreuther K, Goebel W (1988). Evidence for two different gas vesicle proteins and genes in *Halobacterium halobium*. J Bacteriol, 170: 1746~1751
- Wallace BB, Bailey MC, Hamilton DP (2000). Simulation of vertical position of buoyancy regulating *Microcystis aeruginosa* in a shallow eutrophic lake. Aquat Sci, 62: 320~333
- Walsby AE (1969). The permeability of blue-green algal gas-vacuole membranes to gas. Proc Roy Soc London B, 173: 235~255
- Walsby AE (1973). A portable apparatus for measuring relative gas vacuolation, the strength of gas vacuoles, and turgor pressure in planktonic blue-green algae and bacteria. Limnol Oceanogr, 18: 653~658
- Walsby AE (1982). The elastic compressibility of gas vesicles. Proc Roy Soc London B, 216: 355~368
- Walsby AE (1994). Gas vesicles. Microbiol Mol Biol Rev, 58: 94~144
- Walsby AE (1998). Gas vesicles and buoyancy in cyanobacteria: interrelations with light. In: Caddick MX, Baumberg S, Hodgson DA, Phillips-Jones MK (eds). Microbial Responses to Light and Time. Cambridge: Cambridge University Press, 69~93
- Walsby AE, Booker MJ (1980). Changes in buoyancy of a planktonic blue-green alga in response to light intensity. Br Phycol J, 15: 311~319
- Walsby AE, Hayes PK (1988). The minor cyanobacterial gas vesicle protein, GVPc, is attached to the outer surface of the gas vesicle. J Gen Microbiol, 134: 2647~2657
- Walsby AE, Hayes PK, Roje R, Stal LJ (1997). The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. New Phytol, 136: 407~417
- Walsby AE, Kinsman R, George KI (1992). The measurement of gas vesicle volume and buoyant density in planktonic bacteria. J Microbiol Meth, 15: 293~309
- Walsby AE, Ng G, Dunn C, Davis PA (2004). Comparison of the depth where *Planktothrix rubescens* stratifies and the depth where the daily insolation supports its neutral buoyancy. New Phytol, 162: 133~145