

## XXVI SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HIDRÍCOS

### **AQUECIMENTO GLOBAL OU EUTROFIZAÇÃO: O QUE IMPULSIONA AS FLORAÇÕES TÓXICAS DE *Raphidiopsis raciborskii*?**

*Ranielle Daiana dos Santos Silva<sup>1</sup>; Mathias Ahii Chia<sup>2</sup>; Juliana dos Santos Severiano<sup>1</sup>; José Etham de Lucena Barbosa<sup>1</sup>*

**Abstract:** *Raphidiopsis raciborskii* blooms have been expanding due to water warming and eutrophication; however, the effects of these stressors on bloom patterns and toxicity are still poorly understood. Moreover, understanding how different toxic strains respond physiologically to these factors helps reveal the mechanisms underlying the expansion of this cyanobacterium. In this study, we evaluated the effects of nutrients and temperature on the biomass of saxitoxin-producing (ITEP-A1) and cylindrospermopsin-producing (CIAR-01) strains, focusing on biomass and toxin production, aiming to provide insights for bloom control. Strains were exposed to five nutrient conditions (high and low concentrations of N and P, along with the ASM-1 control) and three temperatures (15, 25, and 35 °C), representing the minimum tolerable, optimal for growth, and exacerbated conditions (above the increase projected by the IPCC for tropical semiarid regions). Significant intraspecific variations were observed. The CIAR-01 strain showed greater growth in monoculture, suggesting a competitive advantage over ITEP-A1. Temperature was a key factor for population abundance, and even under high nutrient conditions, growth was inhibited at 15 °C. The divergent physiological responses to N and P limitation revealed high phenotypic plasticity, challenging generalizations based on a few strains. Furthermore, higher chlorophyll-a concentrations under N and P enrichment at 25 and 35 °C reinforce the synergistic role of temperature and nutrients, indicating that the simultaneous control of both N and P is essential to mitigate toxic blooms, especially under global warming scenarios.

**Resumo:** As florações de *Raphidiopsis raciborskii* têm se expandido devido ao aquecimento das águas e à eutrofização, porém os efeitos desses estressores sobre seus padrões de floração e toxicidade ainda são pouco compreendidos. Além disso, entender como diferentes cepas tóxicas respondem fisiologicamente a esses fatores permite revelar os mecanismos por trás da expansão dessa cianobactéria. Neste estudo, avaliamos os efeitos de nutrientes e temperatura sobre a biomassa de cepas produtoras de saxitoxinas (ITEP-A1) e cilindrospermopsina (CIAR-01), com foco na biomassa e produção de toxinas, visando fornecer subsídios para o controle de florações. As cepas foram expostas a cinco condições nutricionais (altas e baixas concentrações de N e P, além do controle ASM-1) e a três temperaturas (15, 25 e 35 °C), representando a mínima tolerável, ótima de crescimento e exacerbada (acima do aumento previsto pelo IPCC para regiões semiáridas tropicais). Observamos variações intraespecíficas significativas. A cepa CIAR-01 apresentou maior crescimento em monocultura, sugerindo vantagem competitiva frente à ITEP-A1. A temperatura foi determinante para a abundância populacional, e mesmo sob altos nutrientes, o crescimento foi inibido a 15 °C. As respostas fisiológicas divergentes frente à limitação de N e P revelam alta plasticidade fenotípica, desafiando generalizações baseadas em poucas cepas. Além disso, as maiores concentrações de clorofila-a sob enriquecimento de N e P nas temperaturas de 25 e 35 °C reforçam o papel sinérgico

entre temperatura e nutrientes, indicando que o controle simultâneo de N e P é essencial para mitigar florações tóxicas, especialmente sob cenários de aquecimento global.

**Palavras-Chave** – Algas nocivas, saxitoxinas, cilindrospermopsinas.

## INTRODUÇÃO

A cianobactéria *Raphidiopsis raciborskii* é uma espécie invasora e oportunista de origem tropical, com expansão global crescente devido à eutrofização e ao aquecimento climático [Sinha *et al.* (2014); Burford *et al.* (2018)]. Sua ampla distribuição (mais de 18% dos ecossistemas de água doce) está ligada à sua elevada plasticidade fenotípica, com tolerância a diferentes condições de luz, temperatura e nutrientes [Antunes *et al.* (2015); Burford *et al.* (2016)]. Além de apresentar capacidade de fixar nitrogênio e estocar nutrientes como N e P [Xião *et al.* (2019); Lei *et al.* (2021)], a espécie forma acinetos e possui vesículas de gás [Antunes *et al.* (2015); Burford *et al.* (2018)], favorecendo sua sobrevivência em condições adversas.

Do ponto de vista toxicológico, *R. raciborskii* pode produzir diferentes cianotoxinas, como cilindrospermopsinas (CYNs) e saxitoxinas (STXs), com distribuição geográfica diferenciada, em que cepas da América do Sul foram relatadas como potenciais produtoras de saxitoxinas, enquanto cepas da Oceania, Ásia e Europa mostraram produzir cilindrospermopsina [Antunes *et al.* (2015); Burford *et al.* (2016)]. Até o presente momento, a ocorrência simultânea de CYNs e SXTs não foi relatada em uma única cepa de *R. raciborskii*. No entanto, a presença de genes *cyrJ* em cepa produtora de SXTs no Brasil, sugere que mudanças na produção de toxinas possam ocorrer ao longo do tempo, direcionando a evolução das cianotoxinas [Hoff-Rissetti *et al.* (2013)], apesar de não estar claro os fatores que conduziram essa evolução.

A temperatura é um fator chave na proliferação da espécie, com ações sinérgicas com a eutrofização favorecendo florações [Galvanese *et al.* (2019)]. Entretanto, registros de florações de *R. raciborskii* em temperaturas de 10-15 °C sugerem que baixas temperaturas não é uma barreira definitiva, tornando os nutrientes determinantes para a biomassa em condições frias [Bonilla *et al.* (2012); Jia *et al.* (2021)].

Estudos indicam que respostas a variações de temperatura e nutrientes sobre a biomassa e produção de toxinas podem ocorrer de forma distinta entre cepas [Castro *et al.* (2004); Silva *et al.* (2022)]. A temperatura altera o perfil de toxinas intra e extracelular [Castro *et al.* (2004)], além disso, uma maior toxicidade pode ocorrer mesmo com baixa biomassa em temperaturas abaixo do ideal [Castro *et al.* (2004)]. Assim, os fatores determinantes para produção e liberação de cianotoxinas produzidas por *R. raciborskii* permanecem incertos.

Outro fator importante é a variabilidade genética e fenotípica da cepa, que pode influenciar as respostas ecofisiológicas [Guedes *et al.* (2019)]. Assim, avaliar respostas fisiológicas de diferentes cepas é essencial para prever o sucesso de cepas tóxicas em cenários futuros [Willis *et al.* (2015)]. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos combinados de temperatura e nutrientes sobre o crescimento e síntese de toxinas em cepas de *R. raciborskii*, testando as hipóteses de que: (i) baixas temperaturas não sustentam alta biomassa mesmo com nutrientes elevados; (ii) níveis elevados de temperaturas e nutrientes aumentam a biomassa e toxinas; e (iii) as respostas são dependentes da cepa, favorecendo linhagens com maior fitness em cenários futuros.

## METODOLOGIA

### Cepas das cianobactérias

Foram utilizadas duas linhagens toxigênicas de *Raphidiopsis raciborskii*: ITEP-A1 (produtora de saxitoxinas - STXS), proveniente da Universidade Federal do Agreste de Pernambuco, e CIAR-01 (produtora de cilindrospermopsina - CYNs), isolada de um reservatório do Ceará e mantida na coleção da Universidade Federal do Ceará. Ambas as cepas foram cultivadas em meio asm-1 (pH 8,0), sob temperatura de  $24 \pm 1$  °C, irradiância de  $100 \mu\text{mol fótons. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 12 horas [Briand *et al.* (2004)].

### Delineamento experimental

O experimento seguiu um delineamento fatorial cruzado, com três réplicas por tratamento, combinando cinco condições nutricionais (controle, N+, P+, N-, P-) e três temperaturas (15, 25 e 35 °C). As condições nutricionais foram definidas para simular ambientes eutróficos (N+: 7  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ ; P+: 350  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{PO}_4$ ) e oligotróficos (N-: 7,8  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ ; P-: 0,05  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  de  $\text{PO}_4^{3-}$ ), baseando-se em [Chia *et al.* (2018); Marinho *et al.* (2013); Passarge (2006)]. A temperatura de 25 °C foi usada como controle, por representar a média dos reservatórios tropicais e a faixa usual de cultivo da espécie. As temperaturas de 15 °C e 35 °C representaram, respectivamente, a mínima tolerável e a exacerbada, segundo [Briand *et al.* (2004)], considerando as projeções do IPCC (2019).

As culturas foram aclimatadas por uma semana antes dos experimentos e inoculadas com biovolume inicial de 4  $\text{mg.L}^{-1}$ . Para limitação de fosfato, as culturas foram previamente aclimatadas por cinco dias em meio sem P. Todo o material foi rigorosamente limpo com HCl 10% para evitar contaminações. Os experimentos foram conduzidos por dez dias em uma câmara germinadora (modelo SSGF-342I), com controle rigoroso de temperatura e luz. As culturas foram mantidas em frascos de 200 ml, com agitação manual a cada 8 horas. A posição dos frascos foi rotacionada diariamente para uniformidade da iluminação. As amostragens ocorreram nos dias 0, 2, 4, 6, 8 e 10 para análise de clorofila-a.

### Coleta de dados

As concentração de clorofila-a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) foram mensuradas utilizando um fluorômetro phytopam com o software phyto-win (HEINZ WALZ GMBH, Alemanha). As taxas de crescimento específico ( $\mu$ ; dia $^{-1}$ ) foram determinadas por regressão exponencial [Wood *et al.* (2005)], considerando a biomassa no tempo inicial e final.

Para quantificação de toxinas intra e extracelulares (STXS e CYNS), amostras foram coletadas nos tempos inicial e final, filtradas (GF/C, 0,45  $\mu\text{m}$ ) e congeladas até análise. As frações intracelulares foram extraídas dos filtros e as extracelulares da água filtrada. As toxinas foram

quantificadas via ELISA [Casero *et al.* (2014)], utilizando três ciclos de congelamento/descongelamento, com leitura em leitor de microplacas ASYS a-5301 (Áustria).

## Análises estatísticas

Foi aplicado um modelo linear geral de medidas repetidas (RM-GLM), com tempo de incubação como fator fixo, para avaliar diferenças significativas nas concentrações de clorofila-a, taxa de crescimento entre as cepas. Os efeitos isolados e interativos entre nutrientes e temperatura sobre essas variáveis e sobre as concentrações de toxinas intra e extracelular também foram avaliados por ANOVA de medidas repetidas. Quando identificadas diferenças significativas, foi aplicado o teste de Bonferroni para comparação múltipla das médias. Os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias foram testados pelos métodos de Shapiro-Wilk e Bartlett.

## RESULTADOS

Diferenças intraespecíficas significativas foram observadas entre as cepas CIAR-01 (produtora de CYNs) e ITEP-A1 (produtora de STXs), com forte influência das temperaturas, nutrientes, tempo de incubação e tipo de cultura ( $p<0,001$ ). A ciar-01 apresentou maiores concentrações de clorofila-a em 15 e 35 °C, enquanto em 25 °C as diferenças entre cepas foram atribuídas principalmente aos nutrientes (Figura 1).

Para a ITEP-A1, as maiores concentrações de clorofila-a ocorreram a 25 °C no 10º dia de incubação, especialmente sob N+ (284,73 µg/L) e P+ (243,66 µg/L). Em 35 °C, as concentrações foram menores, com máximos de ~32 µg/L em P+ e N+. Em 15 °C, a clorofila-a foi inibida, sem diferenças relevantes entre os tratamentos. Curiosamente, a limitação de P teve menor impacto na biomassa do que a de N, ao contrário do esperado (Figura 1).

Para CIAR-01, a clorofila-a foi altamente inibida a 15 °C, com máximos de apenas 12,15 µg/L. Já em 35 °C, atingiu 399,1 µg/L na condição controle. A limitação de P afetou fortemente a biomassa em todas as temperaturas, enquanto a de N foi mais restritiva em 25 °C.

As análises estatísticas (GLM) confirmaram os efeitos significativos das interações entre temperatura, nutrientes, tempo e cepas sobre a clorofila-a e crescimento ( $p<0,001$ ). Todos os fatores testados apresentaram interações significativas.

As taxas de crescimento específico mostraram diferenças claras entre cepas, nutrientes e temperaturas. Para ITEP-A1, o crescimento máximo ( $0,30 \text{ dia}^{-1}$ ) ocorreu no quarto dia a 25 °C na condição controle. Em 15 °C, houve forte inibição do crescimento, com pouca variação entre tratamentos. A CIAR-01 apresentou crescimento mais elevado, com máximo de 1,14 µg/l a 35 °C em P+. As limitações de nutrientes (especialmente de P) reduziram significativamente o crescimento da CIAR-01, principalmente nos dias 2 e 10.

A produção de STXs pela ITEP-A1 foi fortemente dependente da temperatura, nutrientes e tempo ( $p<0,001$ ). A maior concentração intracelular (1106,08 µg/L) ocorreu a 25 °C na condição controle. Em 35 °C, os picos de STXs intracelular ocorreram sob limitação de P (103,09 µg/L), enquanto em 15 °C, o máximo foi sob N- (14,75 µg/L), indicando resposta ao estresse nutricional. A liberação extracelular de STXs foi mais expressiva a 25 °C, com maior valor no meio P- (146,88

$\mu\text{g/L}$ ), seguido de 35 °C sob N- e P-. Em 15 °C, os níveis extracelulares foram baixos e similares entre os tratamentos (Figura 2).

Quanto à CIAR-01, a produção de CYNS foi significativamente influenciada por nutrientes, temperaturas e tempo ( $p<0,001$ ). O maior valor intracelular (27,67  $\mu\text{g/L}$ ) foi observado a 25 °C em P+ no 10º dia. A limitação de P em 15 °C e o controle nesta mesma temperatura também mostraram altos níveis (74,72 e 70,45  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente), sugerindo que o estresse por baixas temperaturas e limitação de nutrientes estimula a produção de CYNs. A concentração de CYNs extracelular seguiu o padrão intracelular, com maiores valores a 25 °C. Isso indica que o aumento da síntese de toxinas resulta também em maior liberação para o meio (Figura 2).

## DISCUSSÃO

Nossos resultados confirmaram que, sob baixa temperatura, o enriquecimento nutricional não reverteu a inibição da biomassa de *R. raciborskii*, validando a primeira hipótese. A combinação entre temperatura e nutrientes alterou significativamente a fisiologia das cepas, favorecendo as concentrações de clorofila-a e toxinas sob condições ideais, apoiando a segunda hipótese. As respostas contrastantes entre as cepas reforçam a plasticidade da espécie e sugerem, como previsto na terceira hipótese, que cenários futuros selecionarão linhagens com maior fitness ecológico [Willis *et al.* (2015)].

A CIAR-01 apresentou maior adaptação a temperaturas extremas (15 e 35 °C), e em cenários de aquecimento com eutrofização, seu investimento em crescimento pode favorecer sua expansão. O crescimento e produção de toxinas foram mais afetados por efeitos sinérgicos de temperatura e nutrientes [Silva *et al.* (2022)]. Altas concentrações de N e P ampliaram biomassa e toxinas, elevando os riscos de intoxicação [Jia *et al.* (2021)].

A elevada biomassa e produção de toxinas sob excesso de P estão relacionadas à alta afinidade da espécie por esse nutriente [Burford *et al.* (2018)]. A ITEP-A1 manteve crescimento mesmo sob limitação de P, enquanto CIAR-01 foi inibida, especialmente a 15 e 35 °C, sugerindo estoque interno de P e redução metabólica como estratégias da ITEP-A1 [Bonilla *et al.* (2012)]. Quanto ao nitrogênio, altas concentrações estimularam o crescimento, principalmente a 25 e 35 °C, como já observado anteriormente [Willis *et al.* (2015)]. A ITEP-A1 foi mais sensível à limitação de N, provavelmente devido à baixa eficiência na fixação de N atmosférico [Burford *et al.* (2014)]. Já a CIAR-01 apresentou crescimento ativo, sugerindo mobilização de reservas internas [Lu *et al.* (2022)].

A produção de STXs pela ITEP-A1 foi maior em 25 °C, seguindo a biomassa, enquanto em 15 °C a síntese de STXs sob estresse sugere estratégia adaptativa [Casali *et al.* (2017)]. Para CIAR-01, as concentrações de CYNs não acompanharam a biomassa, reforçando que a produção de CYN pode ser regulada por fatores ambientais [Jia *et al.* (2021)]. A liberação extracelular de toxinas acompanhou os níveis intracelulares, com maiores proporções sob estresse [Soto e Lieb (2012)]. Isso tem implicações diretas para a qualidade da água, uma vez que não há regulamentações para toxinas

extracelulares em água doce [Casero *et al.* (2014)]. Futuras pesquisas devem focar nos mecanismos genéticos subjacentes às respostas observadas.

Figura 1- Clorofila-a das cepas de *R. raciborskii* expostos a diferentes condições nutricionais e temperaturas. ITEP-A1 em 15 °C (A), ITEP-A1 em 25 °C (B); ITEP-A1 em 35 °C (C); CIAR-01 em 15 °C (D), CIAR-01 em 25 °C (E); CIAR-01 em 35 °C (F).

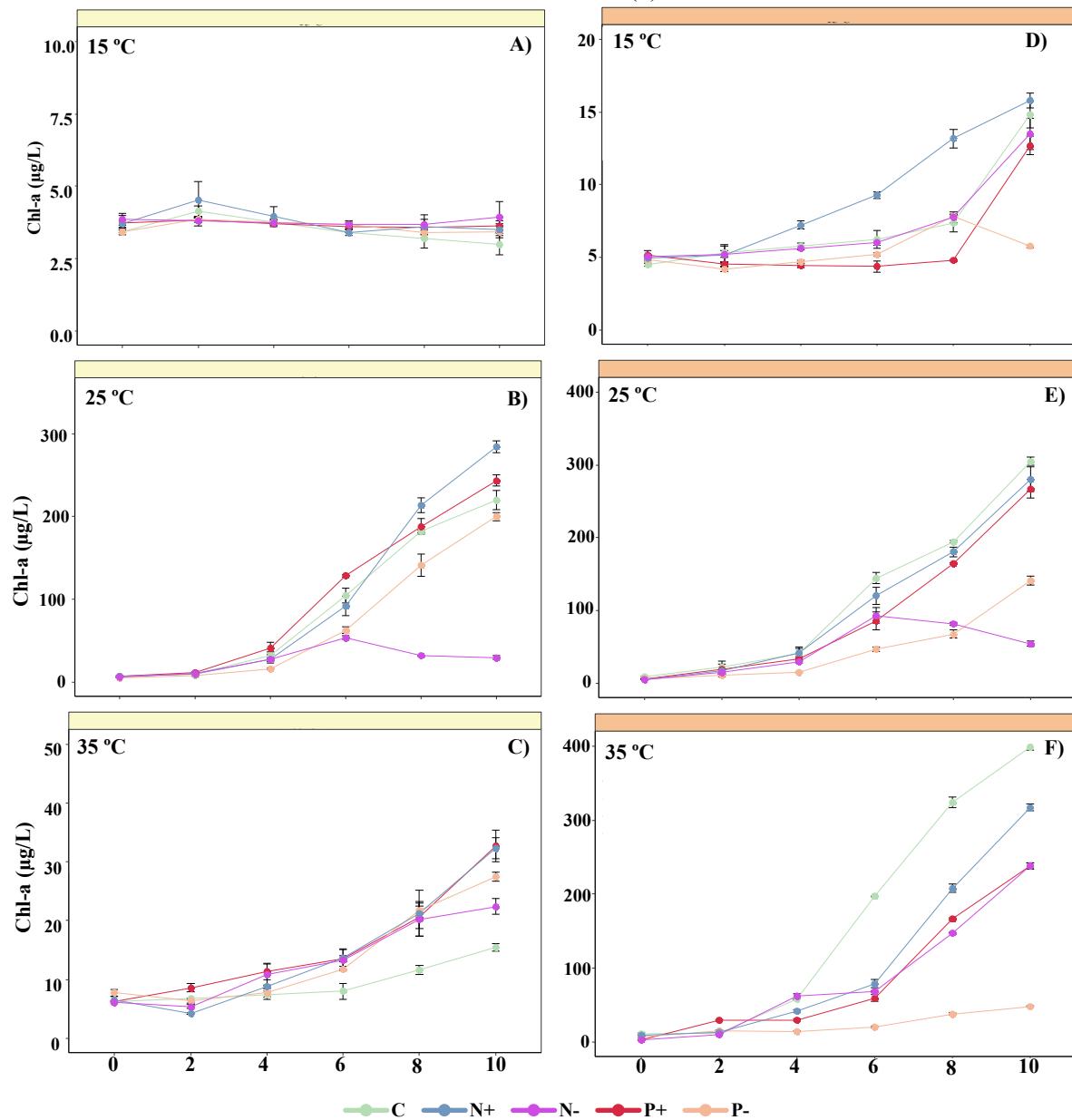
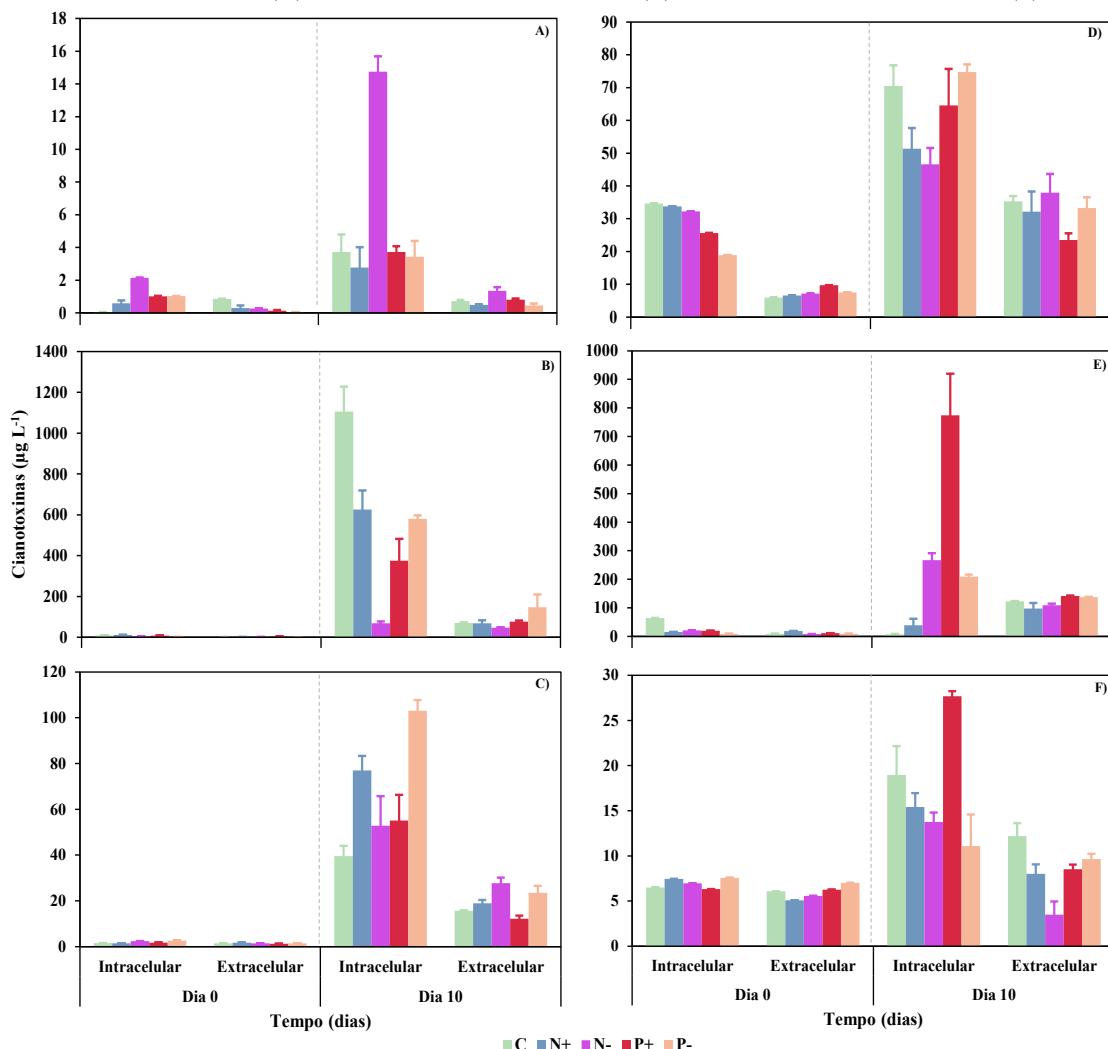


Figura 2- Concentrações das cianotoxinas (STXs e CYNs) nas diferentes temperaturas e condições nutricionais. Conteúdo de SXTs em 15 °C (A), Conteúdo de SXTs em 25 °C (B); Conteúdo de SXTs em 35 °C (C); Conteúdo de CYNs em 15 °C (D), Conteúdo de CYNs em 25 °C (E); Conteúdo de CYNs em 35 °C (F).



## CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a temperatura foi o fator mais importante para a biomassa, fotossíntese e produção de toxinas, com forte modulação pelas condições nutricionais e diferenças entre as cepas. A CIAR-01 apresentou maior tolerância a temperaturas extremas e maiores taxas de crescimento, enquanto a ITEP-A1 foi mais sensível às variações de nutrientes, especialmente nitrogênio. A limitação de fósforo afetou mais fortemente a CIAR-01, enquanto a ITEP-A1 mostrou maior sensibilidade à limitação de nitrogênio. A produção de toxinas também respondeu de maneira específica entre as cepas: STXs foram mais dependentes da biomassa e de condições de crescimento ótimas, enquanto CYNs apresentaram picos sob estresse, especialmente em baixas temperaturas e limitações nutricionais. As interações entre temperatura, nutrientes e tempo de exposição explicam

boa parte da variabilidade nas respostas fisiológicas e toxicológicas, reforçando a necessidade de considerar esses múltiplos fatores em modelos preditivos de florações tóxicas.

## REFERÊNCIAS

- ANTUNES, J.T.; LEÃO, P.N.; VASCONCELOS, V.M (2015). “*Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species”. *Front Microbiol* 6, 473.
- BONILLA, S.; AUBRIOT, L.; SOARES, M.C.S.; GONZALEZ-PIANA, M.; FABRE, A.; HUSZAR, V.L.; KRUK, C (2012). *What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria Planktothrix agardhii and Cylindrospermopsis raciborskii?* *Microbiol Ecol* 79 (3), 594-607.
- BRIAND, J.F.; LEBOULANGER, C.; HUMBERT, J.F.; BERNARD, C.; DUFOUR, P. (2004). *Cylindrospermopsis raciborskii* (cyanobacteria) invasion at mid- latitudes: selection, wide physiological tolerance, or global warming? *J. of Phycol* 40 (2), 231-238.
- BURFORD, M.A.; DAVIS, T.W.; ORR, P.T.; SINHA, R.; WILLIS, A.; NEILAN, B.A (2014). *Nutrient-related changes in the toxicity of feld blooms of the cyanobacterium, Cylindrospermopsis raciborskii*. *FEMS Microb Ecol* 89, 135–148.
- BURFORD, M.A.J.; BEARDALL, A.; WILLIS, P.T.; OORR, V.F.; MAGALHÃES, L.M.; RANGEL, NEILAN, B.A (2016). *Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii*. *Harmful Algae* 54, 44-53.
- BURFORD, M.A.; WILLIS, A.; CHUANG, A.; MAN, X.; ORR, P.T (2018). *Recent insights into physiological responses to Nutrients by the cylindrospermopsin producing cyanobacterium, Cylindrospermopsis raciborskii*. *J. Oceanol. Limnol.* 36, 1032–1039.
- CASTRO, D.; VERA, D.; LAGOS, N.; GARCIA, C.; VÁSQUEZ, M (2004). *The efect of temperature on growth and production of paralytic shellfish poisoning toxins by the cyanobacterium Cylindrospermopsis raciborskii C10*. *Toxicon* 44, 483–489.
- CASERO, M.C.; BALLOT, A.; AGHA, R.; QUESADA, A.; CIRES, S (2014). Characterization of saxitoxin production and release and phylogeny of sxt genes in paralytic shellfish poisoning toxin-producing *Aphanizomenon gracile*. *Harmful algae* 37, 28-37.
- CASALI, S.P.; SANTOS, A.C.A.D.; FALCO, P.B.D.; CALIJURI, M.D.C (2017). Influence of environmental variables on saxitoxin yields by *Cylindrospermopsis raciborskii* in a mesotrophic subtropical reservoir. *J. Water Health*. 15(4), 509-518.
- CHIA, M.A.; JANKOWIAK, J.G.; KRAMER, B.J.; GOLESKI, J.A.; HUANG, I.S.; ZIMBA, P.V.; GOBLER, C.J (2018). *Succession and toxicity of *Microcystis* and *Anabaena* (*Dolichospermum*) blooms are controlled by nutrient-dependent allelopathic interactions*. *Harmful algae* 74, 67-77.

GALVANESE, E.; PADIAL, A.A.; AUBRIOT, L (2019). *Acclimatization to high temperatures increases the ability of Raphidiopsis raciborskii (Cyanobacteria) to cope with phosphate deficiency and reveals distinct responses to stress*. Eur. J. Phycol. 1-10.

GUEDES, I.A.; PACHECO, A.B.F.; VILAR, M.C.; MELLO, M.M.; MARINHO, M.M.; LURLING, M.; AZEVEDO, S.M (2019). *Intraspecific variability in response to phosphorus depleted conditions in the cyanobacteria Microcystis aeruginosa and Raphidiopsis raciborskii*. Harmful Algae 86, 96-105.

HOFF-RISSETI, C.; DOERR, F.A.; SCHAKER, P.D.C.; PINTO, E.; WERNER, V.R.; FIORE, M.F (2013). *Cylindrospermopsin and saxitoxin synthetase genes in Cylindrospermopsis raciborskii strains from Brazilian freshwater*. PLoS One 8(8), 74238.

JIA, N.; WANG, Y.; GUAN, Y.; CHEN, Y.; LI, R.; YU, G (2021). *Occurrence of Raphidiopsis raciborskii blooms in cool waters: Synergistic effects of nitrogen availability and ecotypes with adaptation to low temperature*. Environ. Pollut. 270, 116070.

LEI, L.; LEI, M.; CHENG, N.; CHEN, Z.; XIAO, L.; HAN, B. P.; LIN, Q (2021). *Nutrient regulation of relative dominance of cylindrospermopsin-producing and non-cylindrospermopsin-producing Raphidiopsis raciborskii*. Front. Microbiol. 12, 793544.

LU, Z.; YE, J.; CHEN, Z.; XIAO, L.; LEI, L.; HAN, B.P.; PAERL, H.W (2022). *Cyanophycin accumulated under nitrogen-fluctuating and high-nitrogen conditions facilitates the persistent dominance and blooms of Raphidiopsis raciborskii in tropical waters*. Water Res. 214, 118215.

PASSARGE, J.; HOL, S.; ESCHER, M.; HUISMAN, J (2006). *Competition for nutrients and light: stable coexistence, alternative stable states, or competitive exclusion?* Ecol. Monog. 76 (1), 57-72.

SINHA, R.; PEARSON, L.A.; DAVIS, T.W (2014). *Comparative genomics of Cylindrospermopsis raciborskii strains with differential toxicities*. BMC Genomics, 15, 83.

XIAO, X.; AGUSTÍ, S.; PAN, Y.; YU, Y.; LI, K.; WU, J.; DUARTE, C.M (2019). *Warming amplifies the frequency of harmful algal blooms with eutrophication in Chinese coastal waters*. Environ. Sci. Technol. 53(22), 13031-13041.

WOOD, A.M.; EVERROAD, R.C.; WINGARD, L.M (2005). *Measuring growth rates in microalgal cultures*. In. R.A. ANDERSEN, ed. *Algal culturing techniques*. Singapore: Academic Press/Phycological Society of America 5, 269-285.

WILLIS, A.; ADAMS, M.P.; CHUANG, A.W.; ORR, P.T.; O'BRIEN, K.R.; BURFORD, M.A (2015). *Constitutive toxin production under various nitrogen and phosphorus regimes of three ecotypes of Cylindrospermopsis raciborskii (Wołoszyńska) Seenayya et Subba Raju*. Harmful algae 47, 27-34.