



LARISSA LANGSDORFF PIMENTA

CELL DIFFERENTIATION IN CYANOBACTERIA
***Desmonostoc* sp. UNDER DIFFERENT PHOSPHORUS**
CONCENTRATIONS AND ITS POTENTIAL AS A GROWTH
PROMOTER FOR THE AQUATIC MACROPHYTE

Salvinia auriculata.

LAVRAS-MG
2025

LARISSA LANGSDORFF PIMENTA

**CELL DIFFERENTIATION IN CYANOBACTERIA *Desmonostoc* sp. UNDER
DIFFERENT PHOSPHORUS CONCENTRATIONS AND ITS POTENTIAL AS A
GROWTH PROMOTER FOR THE AQUATIC MACROPHYTE
Salvinia auriculata.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para obtenção do título de Doutora.

Prof^a. Dr^a. Flávia de Freitas Coelho
Orientadora

**LAVRAS-MG
2025**

LARISSA LANGSDORFF PIMENTA

**DIFERENCIAÇÃO CELULAR NA CIANOBACTÉRIA *Desmonostoc* sp. SOB
DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE FÓSFORO E SEU POTENCIAL COMO
PROMOTORA DE CRESCIMENTO DA MACRÓFITA AQUÁTICA *Salvinia*
auriculata.**

**CELL DIFFERENTIATION IN CYANOBACTERIA *Desmonostoc* sp. UNDER
DIFFERENT PHOSPHORUS CONCENTRATIONS AND ITS POTENTIAL AS A
GROWTH PROMOTER FOR THE AQUATIC MACROPHYTE *Salvinia auriculata*.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para obtenção do título de Doutor

Aprovada em 27/08/2025

Dr. Guilherme Ramos Demetrio Ferreira, UFAL

Dr. Michel Biondi, UFLA

Dr^a Kelly Cristina dos Reis

Dr^a Grécia de Andrade Souza

Prof. Dr^a. Flávia de Freitas Coelho
Orientadora

**LAVRAS – MG
2025**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pimenta, Larissa Langsdorff.

Cell differentiation in cyanobacteria *Desmonostoc* sp. under different phosphorus concentrations and its potential as a growth promoter for the aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. / Larissa Langsdorff Pimenta. - 2025.

73 p. : il.

Orientadora: Flávia de Freitas Coelho

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Cianobactérias. 2. Macrófita aquática. 3. Diferenciação celular. 4. Crescimento clonal. 5. Fósforo. I. Freitas Coelho, Flávia de. II. Universidade Federal de Lavras. III. Título.

*A minha filha Laura, que me
motiva a crescer todos os dias
Aos meus pais, Eltsa e Adilson
(In memoriam), pelos ensinamentos e dedicação.
Às minhas irmãs, Melissa e Nayara, pelo
apoio em trilhar esta jornada.
Ao meu amor, Marco Túlio pelo
companheirismo em todos os momentos.
Aos amigos e demais familiares,
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me dar forças, quando achei que não iria conseguir!

À minha querida filha Laura, que me motiva a crescer e ser uma pessoa melhor todos os dias!

Aos meus pais, Eltsa e Adilson, que sempre fizeram tudo por mim, e não mediram esforços para que eu conquistasse tudo até aqui!

À minha irmã Melissa, pelo companheirismo de uma vida inteira, por se fazer presente mesmo à distância.

À minha irmã Nayara que mesmo de longe, torce por mim.

Ao meu companheiro de vida Marco Túlio, por sempre estar ao meu lado, nos momentos bons e ruins.

À Flávia, por todos os aprendizados, sejam eles científicos ou de vida! Agradeço por cada ensinamento que me fez crescer, por ensinar com tanta alegria, seu entusiasmo é contagiante. Obrigada pelas experiências compartilhadas, pelas diversas conversas sobre ciência ou sobre qualquer outro assunto, tudo acompanhado por um cafezinho, um bolo de cenoura com calda de chocolate e nas ocasiões mais especiais pelo bolo do Gu.

Ao Marcelo, pelos ensinamentos, colaboração e contribuições com o trabalho.

Aos amigos, Gustavo, Luís, Grécia, Ana, Michel, nós aprendemos muitas coisas juntos, trabalhamos e nos divertimos muito também, obrigada por todos esses momentos.

Aos colegas de trabalho, novos e antigos do LEMAC, vocês foram e são essenciais!

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, pela oportunidade de formação acadêmica. Agradeço pela estrutura e suporte necessário.

Às instituições de fomento à pesquisa, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio através da aprovação do projeto de pesquisa ao qual meu trabalho está vinculado (Processo FAPEMIG – APQ01347-22) e pela bolsa de pesquisa. Também agradeço o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos nos últimos 6 meses de Doutorado.

Aos membros da banca por aceitarem colaborar e contribuir com o presente trabalho.

A todos aqueles que estiveram presentes de alguma forma, em todos esses anos de trabalho, agradeço de coração, sem vocês eu não teria conseguido.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG)

"A ciência não avança com certezas, mas com perguntas bem-feitas, guiadas pela curiosidade e sustentadas pela persistência; pois o conhecimento se constrói passo a passo, ainda que transforme o mundo de forma exponencial."

Autor

desconhecido

RESUMO GERAL

Cianobactérias e macrófitas aquáticas são organismos que realizam importantes serviços ecossistêmicos e influenciam a dinâmica dos ecossistemas que fazem parte. Ambos organismos podem afetar positivamente ou negativamente os ambientes onde são encontradas, a depender das condições locais. As cianobactérias realizam a fotossíntese oxigênica e algumas são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico tornando-o biodisponível para outros organismos. Dentre as cianobactérias fixadoras, as heterocitadas são capazes de diferenciar células especializadas, os heterócitos e os acinetos. Os heterócitos são especializados em fixar nitrogênio (N) e acinetos acumulam reservas e entram em dormência sob condições adversas, o que confere sucesso adaptativo ao permitir a sobrevivência em condições estressantes. A diferenciação celular é regulada geneticamente e influenciada por fatores ambientais, como a condição nutricional. A falta de (N) é um conhecido gatilho para a diferenciação celular, mas o fósforo (P) também pode ser crucial nessa diferenciação, pois é um macronutriente presente em diversos processos metabólicos. Variações em sua concentração no meio podem ser um gatilho para diferenciação de heterócitos e acinetos. As cianobactérias podem afetar diferentes grupos de organismos por sua capacidade de formar associações, tanto endofíticas quanto epifíticas, com os mesmos, e fornecer o N fixado ao hospedeiro, podendo promover o crescimento de plantas. Macrófitas aquáticas, como *Salvinia auriculata*, podem abrigar uma diversidade de cianobactérias que podem contribuir com seu crescimento. Tendo em vista esse contexto, avaliamos a diferenciação celular na cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA12 sob diferentes concentrações de P. Posteriormente, inoculamos esta cepa em meio com *S. auriculata*, com o intuito de verificar se esta cepa seria capaz de aumentar o crescimento da macrófita. Vimos que a disponibilidade de P no meio é importante na produção de heterócitos e na diferenciação de acinetos de *Desmonostoc* sp. UFLA12. Além disso, *Desmonostoc* sp. UFLA12 favoreceu o crescimento clonal de *S. auriculata*. Concluimos que a disponibilidade de P afeta a diferenciação celular de *Desmonostoc* sp. UFLA12, e que a inoculação desta cepa em *S. auriculata* contribui para seu rápido e vigoroso espalhamento mesmo em ambientes oligotróficos.

Palavras-chave: Acinetos; Cianobactérias; Crescimento clonal; Fósforo; Heterócitos; Macrófita aquática.

GENERAL ABSTRACT

Cyanobacteria and aquatic macrophytes are organisms that perform important ecosystem services and influence the dynamics of the ecosystems in which they occur. Both can positively or negatively affect their environments, depending on local conditions. Cyanobacteria carry out oxygenic photosynthesis, and some are capable of fixing atmospheric nitrogen, making it bioavailable to other organisms. Among nitrogen-fixing cyanobacteria, heterocytous strains are able to differentiate specialized cells heterocytes and akinetes. Heterocytes are specialized in nitrogen (N) fixation, while akinetes store reserves and enter dormancy under adverse conditions, providing adaptive advantages by enabling survival in stressful environments. Cell differentiation is genetically regulated and influenced by environmental factors, such as nutrient availability. Nitrogen limitation is a known trigger for differentiation, but phosphorus (P), a macronutrient involved in various metabolic processes may also play a crucial role. Variations in P availability can trigger the differentiation of both heterocytes and akinetes. Cyanobacteria can influence other organisms by forming endophytic or epiphytic associations, providing fixed nitrogen to their hosts and potentially promoting plant growth. Aquatic macrophytes, such as *Salvinia auriculata*, can harbor a diversity of cyanobacteria that may contribute to their growth. Given this context, we evaluated cell differentiation in the cyanobacterium *Desmonostoc* sp. UFLA12 under different phosphorus concentrations. We then inoculated this strain into a medium with *S. auriculata* to assess its potential to promote macrophyte growth. We found that phosphorus availability influenced heterocyte production and akinete differentiation in *Desmonostoc* sp. UFLA12. Moreover, this strain enhanced the clonal growth of *S. auriculata*. We conclude that phosphorus availability affects cellular differentiation in *Desmonostoc* sp. UFLA12, and that its inoculation contributes to the rapid and vigorous spread of *S. auriculata*, even in oligotrophic environments.

Keywords: Akinetes; Aquatic macrophyte; Clonal Growth; Cyanobacteria; Phosphorus; Heterocytes.

INDICADORES DE IMPACTOS

Este estudo teve como objetivos principais avaliar a diferenciação celular de uma cepa de cianobactéria de água doce do gênero *Desmonostoc* sob diferentes concentrações de fósforo (P), bem como investigar seus efeitos sobre o crescimento da macrófita aquática *Salvinia auriculata*. Ambas as espécies desempenham papéis ecológicos relevantes nos ecossistemas aquáticos, especialmente como produtoras primárias. Além da fotossíntese, cianobactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico podem contribuir com a fertilidade do ambiente aquático, favorecendo o crescimento de macrófitas por meio da biodisponibilização de nitrogênio assimilável. Os resultados demonstraram que a disponibilidade de P influencia a produção de heterócitos e acinetos de *Desmonostoc* sp. UFLA12. Assim, o *status* nutricional da água pode modular a sobrevivência, manutenção e desenvolvimento dessa cepa. Conhecer aspectos da história de vida dessa cepa é importante para prever possíveis impactos ecológicos ou até mesmo possíveis potencialidades benéficas, a depender de seu uso. Quanto ao seu potencial de promoção de crescimento, a cepa *Desmonostoc* sp. UFLA12 promoveu maior crescimento clonal de *S. auriculata* contribuindo para seu rápido e vigoroso espalhamento, principalmente em ambientes oligotróficos. Os dados obtidos fornecem subsídios para futuras pesquisas alinhadas aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 6 e 14, da Organização das Nações Unidas, relacionados à gestão sustentável da água e conservação da vida aquática.

IMPACT INDICATORS

This study aimed to evaluate the cellular differentiation of a freshwater cyanobacterial strain of the genus *Desmonostoc* under different phosphorus (P) concentrations, as well as to investigate its effects on the growth of the aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. Both organisms play key ecological roles in aquatic ecosystems, particularly as primary producers. In addition to photosynthesis, nitrogen-fixing cyanobacteria can enhance aquatic fertility by making atmospheric nitrogen bioavailable, thereby promoting macrophyte growth. The results showed that phosphorus availability influences the production of heterocytes and akinetes in *Desmonostoc* sp. UFLA12. Thus, the nutrient status of the water can regulate the survival, maintenance, and development of this strain. Understanding its life history traits is crucial to predicting potential ecological impacts or beneficial applications, depending on its use. Regarding its growth-promoting potential, *Desmonostoc* sp. UFLA12 stimulated clonal growth of *S. auriculata*, contributing to its rapid and vigorous spread, particularly in oligotrophic environments. The findings provide a foundation for future studies aligned with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs) 6 and 14, which focus on sustainable water management and the conservation of aquatic life.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	14
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	15
SEGUNDA PARTE.....	18
ARTIGO 1 – EFEITO DO FÓSFORO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR DE <i>Desmonostoc</i> sp. (NOSTOCACEAE).....	19
ARTIGO 2 – INOCULATION OF <i>Desmonostoc</i> sp. PROMOTES ENHANCED CLONAL GROWTH PERFORMANCE OF THE AQUATIC FERN <i>Salvinia</i> <i>auriculata</i>	41
TERCEIRA PARTE.....	68
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
REFERÊNCIAS.....	70

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO GERAL

As cianobactérias são um grupo de microrganismos procarióticos fotossintéticos que desempenham papéis fundamentais nos ecossistemas aquáticos e terrestres (Stanier and Cohen-Bazire, 1977). Apesar de serem um dos grupos de organismos mais antigos da Terra, com mais de 3 bilhões de anos de história (Summons et al., 1999), as cianobactérias mantêm a sua relevância ecológica e econômica, especialmente em um contexto de alterações climáticas e degradação ambiental (Paerl and Otten, 2013). Elas apresentam uma ampla diversidade de morfologia, fisiologia e habitat, variando de organismos unicelulares a multicelulares coloniais ou filamentosos (Martens, 2017), e são encontrados tanto em ambientes aquáticos como terrestres, até mesmo em ambientes extremos, como águas salgadas, ácidas, de alta temperatura ou com baixo teor de oxigênio (Seckbach, 2007).

Além de sua fotossíntese produtora de oxigênio (Vermaas, 2001), e de seu papel vital na manutenção da vida no planeta, as cianobactérias desempenham funções ecológicas essenciais (Whitton and Potts, 2007) como a fixação de nitrogênio (Esteves-Ferreira et al., 2018), que contribui para a fertilização do solo e da água enriquecendo ambientes pobres em nitrogênio (Gonçalves, 2021). Uma das características que promovem seu sucesso adaptativo é a capacidade de diferenciação celular que algumas linhagens apresentam formando heterócitos e acinetos, os quais permitem a otimização de processos fisiológicos e sobrevivência em condições adversas (Adams and Duggan, 1999).

Os heterócitos possuem uma estrutura única que distingue essas células das outras e sua principal função é a fixação de nitrogênio atmosférico (N_2) em uma forma utilizável para o organismo, convertendo-o em amônia (NH_3) através da ação da enzima nitrogenase (Zhang et al., 2006). Eles são geralmente maiores do que as células vegetativas, possuem paredes celulares espessas, com uma composição química alterada, que atua como uma barreira que protege a nitrogenase do oxigênio (Wildon and Mercer, 1963). Além disso, eles possuem uma cor mais clara devido a perda do fotossistema II e possuem dois nódulos polares que funcionam como canais de transporte seletivos (Thomas, 1970).

Os acinetos são células especializadas, geralmente esféricas ou ovaladas, que desempenham um papel crucial na sobrevivência das cianobactérias em condições ambientais desfavoráveis, como secas prolongadas, baixas temperaturas e escassez de nutrientes (Agrawal, 2009). Essas estruturas têm função de resistência e preservação permitindo que as

cianobactérias sobrevivam a longos períodos de adversidade e estabeleçam suas populações (Tsujimura, 2004). Eles possuem uma parede celular espessa e uma estrutura compacta, que os torna altamente resistentes à desidratação, escassez de nutrientes e a condições ambientais extremas (Olli, 2004). Além disso, os acinetos são protegidos por uma camada de polissacarídeos e proteínas, o que lhes confere uma resistência a fatores como UV, temperaturas elevadas ou congelamento, além de resistência à pressão osmótica e a níveis baixos de oxigênio (Park et al., 2018). Essa forma de dormência é uma estratégia eficaz para a cianobactéria enfrentar a escassez de água ou nutrientes, pois os acinetos podem permanecer viáveis até que as condições ambientais voltem a ser favoráveis à germinação e crescimento (Baker and Bellifemine, 2000; Hori et al., 2003; Li et al., 2016).

Existem alguns gatilhos ambientais que influenciam a diferenciação celular, como a temperatura, quantidade e qualidade de luz e nutrientes disponíveis (Adams and Duggan, 1999; Moore et al., 2003). Já é conhecido que fontes de nitrogênio inibem a diferenciação de heterócitos, no entanto, o efeito do fósforo (P) na diferenciação celular ainda é pouco estudado e pode ter efeitos distintos dependendo da cepa e quantidade deste nutriente (Myers et al., 2011). Vários gêneros de cianobactérias já foram estudados em relação a diferenciação celular, sendo que o mais comumente investigado é *Anabaena* (Van Dok and Hart, 1996; Li et al., 1997; Sarma et al., 2004; Olli et al., 2005; Thompson et al., 2009), mas outros gêneros/espécies incluindo *Nostoc* (Innok et al., 2009), *Cylindrospermopsis* (Moore et al., 2003, 2005), *Scytonema fritschii* (Sarma & Ghai, 1998) e *Aphanizomenon* sp. (Wildman et al., 1975) também foram estudados, porém este é o primeiro trabalho investigando a diferenciação celular no gênero *Desmonostoc*. O gênero *Desmonostoc* foi segregado do gênero *Nostoc*, com base em uma abordagem polifásica, combinando evidências filogenéticas, morfológicas e ecológicas que indicaram que *Desmonostoc* constitui um grupo monofilético distinto, diferente do *Nostoc sensu stricto* (Hrouzek et al., 2013).

Além da capacidade de diferenciação celular, a depender das condições ambientais, as cianobactérias possuem uma notável habilidade de formar associações com diferentes grupos de plantas (Burriss and Roberts, 1993; Deepthi and Ray, 2020). As associações podem ser endofíticas (dentro dos tecidos de plantas), como no caso das *Cycas* (Lindblad and Bergman, 1989), ou epifíticas (nas superfícies das plantas) como relatado na pteridófita aquática *Salvinia auriculata* (Pimenta et al., 2022), e em *Pistia stratiotes* por Biondi e colaboradores (2025). Nas associações, o cianobionte fornece o nitrogênio fixado, enquanto o hospedeiro oferece alojamento estável e protegido (Ram e Shamina, 2014). Em alguns casos, quando o cianobionte perde a função fotossintética, o hospedeiro também pode fornecer o carbono

fixado (Bhola et al., 2014). Essas associações são extremamente importantes, tanto nos ambientes aquáticos quanto terrestres, pois contribuem com a produtividade primária, por meio de sua capacidade fotossintética e pela fixação do N atmosférico (Elbert et al., 2012; Kluge et al., 2002; Meeks, 2005).

A associação mais bem conhecida e estudada é a cianobactéria *Trichormus azollae* associada à macrófita aquática *Azolla* (Eily et al., 2019). As cianobactérias fixam nitrogênio atmosférico que é disponibilizado para *Azolla*, enquanto a planta fornece um ambiente estável e protegido para o crescimento das cianobactérias (Ray et al., 1978). Esse ciclo de fixação de nitrogênio é extremamente eficiente, sendo capaz de fornecer grandes quantidades de nitrogênio, o que aumenta significativamente a fertilidade do solo, contribuindo para a fertilização natural dos campos de arroz (Venkataraman, 1981). Em muitas regiões do mundo, essa simbiose e a utilização de outras cepas de cianobactérias vêm sendo utilizadas como uma alternativa ao uso de fertilizantes químicos, promovendo a agricultura sustentável (Chittapun et al., 2018). Assim, a interação entre *Azolla* e cianobactérias exemplifica como as associações podem ser aplicadas de maneira prática (Eily et al., 2019).

O papel das cianobactérias como promotora de crescimento de plantas vem sendo muito estudado devido ao seu potencial biofertilizante (Múnera-Porras et al., 2020), e entender como isso afeta o crescimento de macrófitas aquáticas é importante para definir estratégias de controle de crescimento das macrófitas, que em crescimento excessivo pode se tornar um problema ambiental (Seastedt, 2009; Biondi et al., 2025). Tendo em vista esse contexto, os objetivos gerais deste estudo são estudar a diferenciação celular na cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA12, sob diferentes concentrações de P e seu potencial como promotora de crescimento da macrófita aquática *Salvinia auriculata*.

SEGUNDA PARTE

Artigo 1 - Redigido conforme norma do periódico científico - Versão preliminar	
Título do artigo:	EFEITO DO FÓSFORO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR DE <i>Desmonostoc</i> sp. (NOSTOCACEAE)
Autores:	Larissa Langsdorff Pimenta Grécia de Andrade Souza Luis Carlos Pereira Junior Marcelo Gomes Marçal Vieira Vaz Guilherme Ramos Demetrio Flávia Freitas Coelho
Periódico:	Aquatic Ecology
ISSN	1573-5125

ARTIGO 1 – EFEITO DO FÓSFORO NA DIFERENCIAÇÃO CELULAR DE
***Desmonostoc* sp. (NOSTOCACEAE)**

RESUMO

Cianobactérias filamentosas heterocitadas, como as pertencentes ao gênero *Desmonostoc* são capazes de diferenciar células com funções específicas. Os heterócitos realizam a fixação biológica de nitrogênio e os acinetos atuam como esporos de resistência acumulando reservas. A cepa de *Desmonostoc* sp. UFLA 12 foi isolada do epifítion da macrófita *Salvinia auriculata*, e está sendo mantida em coleção de cultura. Ela possui longos filamentos, com presença de heterócitos e acinetos, envoltos por uma bainha de mucilagem fluida. A diferenciação celular depende de mecanismos genéticos e de gatilhos ambientais, como a concentração de nutrientes no meio. O fósforo (P) é um macronutriente de extrema importância para que a diferenciação ocorra, tendo em vista que este é um processo com elevado gasto energético. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da variação na concentração de P na diferenciação de heterócitos e acinetos na cepa de *Desmonostoc* sp. UFLA12. Realizamos um experimento em câmara de germinação (B.O.D.) com duração de 10 dias, onde a cepa *Desmonostoc* sp. UFLA12 foi submetida a quatro variações de concentração de P (0; 1,5; 3; e 40 mg/L, chamados T1, T2, T3 e T4, respectivamente). A presença de heterócitos nos filamentos (funcionais) foi maior na presença de P (T2; T3 e T4) quando comparado a sua ausência (T1). Em relação aos heterócitos soltos no meio (não funcionais) não houve diferença entre tratamentos. A produção de acinetos foi maior na concentração mais baixa testada (T2) em comparação com T1 e T4. Heterócitos são custosos energeticamente e a concentração de P parece ser determinante na sua diferenciação. Os acinetos em *Desmonostoc* sp. UFLA12, necessitam da restrição de P para serem diferenciados (fator estressante), porém sua total ausência torna incapaz a realização do processo de diferenciação celular, uma vez que esta requer o armazenamento de material de reserva e acúmulo de ácidos nucleicos. Concluimos, portanto, que o P desempenha um papel fundamental na sobrevivência e na permanência de *Desmonostoc* sp. UFLA12 em ecossistemas aquáticos. Esses achados representam um avanço no conhecimento das condições que promovem ou controlam o crescimento dessa cianobactéria, sendo essenciais para estratégias de manejo e cultivo da cepa com finalidades como a fertilização de ambientes ou o controle populacional em casos de florações (blooms) em sistemas eutrofizados.

Palavras-chave: Acinetos; Cianobactérias; Fósforo; Heterócitos

ABSTRACT

Heterocytous filamentous cyanobacteria, such as those of the genus *Desmonostoc*, are capable of differentiating specialized cells. Heterocytes perform biological nitrogen fixation, while akinetes function as resistant spores that store reserve compounds. Cellular differentiation is regulated by genetic mechanisms and triggered by environmental factors, such as nutrient availability. Phosphorus (P), a key macronutrient, plays a crucial role in this process due to the high energy demand involved. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of varying P concentrations on the differentiation of heterocytes and akinetes in the strain *Desmonostoc* sp. UFLA12. A 10-day experiment was conducted in a growth chamber (B.O.D.) using four P concentrations (0, 1.5, 3, and 40 mg/L, designated T1, T2, T3, and T4, respectively). The presence of functional heterocytes (attached to filaments) was higher under P-supplemented conditions (T2, T3, and T4) compared to the P-deficient treatment (T1). No significant differences were observed among treatments regarding the number of free (non-functional) heterocytes. Akinete production was greatest at the lowest tested concentration (T2) compared to T1 and T4. Given their high energetic cost, heterocyte differentiation appears to be strongly dependent on P availability. In contrast, akinete formation in *Desmonostoc* sp. UFLA12 requires moderate P limitation as a stress factor, while complete deprivation hinders their development due to the need for reserve material accumulation and nucleic acid synthesis. We conclude that phosphorus plays a key role in the survival and persistence of *Desmonostoc* sp. UFLA12 in aquatic ecosystems. These findings contribute to a better understanding of the conditions that regulate the growth of this cyanobacterium and are essential for developing management and cultivation strategies aimed at applications such as ecosystem fertilization or bloom control in eutrophic systems.

Keywords: Akinetes; Cyanobacteria; Phosphorus; Heterocytes

1 Introdução

Cianobactérias pertencentes à ordem Nostocales possuem a capacidade de diferenciar células vegetativas em células especializadas, os heterócitos e acinetos, dependendo das condições ambientais (Adams and Duggan, 1999; Moore et al., 2003; Maldener et al., 2014) e dos fatores genéticos envolvidos na produção dos mesmos (Meeks et al., 2002; Lang and Haselkorn, 1991). O gênero *Desmonostoc* é constituído de organismos filamentosos heterocitados, capazes de produzir heterócitos e/ou acinetos (Hrouzek et al., 2013). A diferenciação celular é altamente regulada por fatores genéticos, porém há fortes gatilhos ambientais capazes de sinalizar para as células vegetativas a necessidade de diferenciação (Maldaner et al., 2014). Diversos fatores ambientais foram identificados como gatilhos para a diferenciação celular, incluindo intensidade de luz, qualidade da luz, flutuações térmicas e o estado nutricional, como a disponibilidade de fósforo (P), ou a razão carbono (C)/nitrogênio (N) dentro da célula (Maldener et al., 2014; Sukenik et al., 2019). Essa diferenciação celular confere a essas cianobactérias sucesso adaptativo, pois conseguem sobreviver a condições desfavoráveis e ocupar diferentes nichos ecológicos (Baker and Bellifemine, 2000; Karlsson-Elfgrén and Brunberg, 2004; Myers et al., 2011).

Para o heterócito, o principal e mais conhecido gatilho é a falta de N, porém o P é um macronutriente de grande importância, tendo em vista que ele é essencial em diversos processos metabólicos, além de fazer parte da composição de moléculas essenciais como o ATP e ácidos nucleicos (Rowan, 1966). O processo de diferenciação celular e a fixação de nitrogênio são processos com elevado gasto energético, sendo necessárias 16 moléculas de ATP para cada molécula de N fixado (Raymond et al., 2004; Reed et al., 2011; Thompson and Zehr, 2013). Já os acinetos, como são uma estrutura de resistência, além de reservar diversos nutrientes, há grande necessidade de P devido ao acúmulo de ácidos nucleicos, que serão

necessários para o restabelecimento da cianobactéria quando as condições voltarem a ser favoráveis (Baker and Bellifemine, 2000; Hori et al., 2003; Li et al., 2016).

Sabe-se que o P pode ser um importante gatilho ambiental para a diferenciação celular, porém os níveis críticos podem ser diferentes para cada espécie (Myers et al., 2011), e ainda não foram estudados para *Desmonostoc*. O gênero *Desmonostoc* é monofilético e foi separado de *Nostoc*, um gênero polifilético, com base em uma abordagem polifásica, combinando dados moleculares (como 16S rRNA e ITS), características morfológicas e ecológicas. As cianobactérias pertencentes a esse gênero possuem tricomas mais alongados e frouxos, mucilagem mais difusa e não organizada em colônias densas, como em *Nostoc*. Além disso, algumas espécies de *Desmonostoc* foram encontradas em ambientes específicos (como solos úmidos, sistemas simbióticos com *Cycas* e lagos salinos), com tolerância fisiológica e adaptações distintas das espécies clássicas de *Nostoc* (Hrouzek et al., 2013). Devido a essas características peculiares de *Desmonostoc*, seu epifitismo com uma macrófita ecologicamente importante em ambientes aquáticos, a *S. auriculata*, e seu rápido crescimento em condições de cultivo, selecionamos a cepa *Desmonostoc* sp. UFLA12 com o objetivo de avaliar a influência de diferentes concentrações de P sobre a diferenciação de heterócitos e acinetos na mesma. Baseados na premissa de que a diferenciação dos heterócitos e a produção de acinetos demandam alto gasto energético, nossas hipóteses são: 1) o número de heterócitos ligados e desprendidos dos filamentos serão menores no tratamento sem P e com baixas concentrações do mesmo, 2) haverá maior número de acinetos nas concentrações intermediárias, pois a falta de P leva a um estresse celular, e 3) a completa ausência de P impede a diferenciação celular.

2 Materiais e métodos

2.1 Cepa de estudo

A cepa de cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA12 é fixadora de N, pois forma heterócitos (células especializadas em FBN) (Meeks et al., 2002) que podem ser tanto terminais quanto intercalares (Hrouzek et al., 2013). Morfologicamente, cepas de *Desmonostoc* formam longos filamentos envolvidos por uma bainha mucilaginosa difluente. Os filamentos de *Desmonostoc* não são densamente enrolados com tricomas compactos como os encontrados em *Nostoc*. Além disso, acinetos podem ser diferenciados em longas cadeias como forma de resistência (Hrouzek et al. 2013).

Desmonostoc sp. UFLA12 foi previamente isolada das raízes da macrófita aquática *Salvinia auriculata*, e a cepa encontra-se depositada na Coleção de Culturas de Cianobactérias Filamentosas da UFLA (CCF/UFLA). A cepa foi identificada através de critérios ecológicos e morfológicos, utilizando a chave de identificação específica (Komárek and Johansen, 2015).

2.2 Experimento em B.O.D

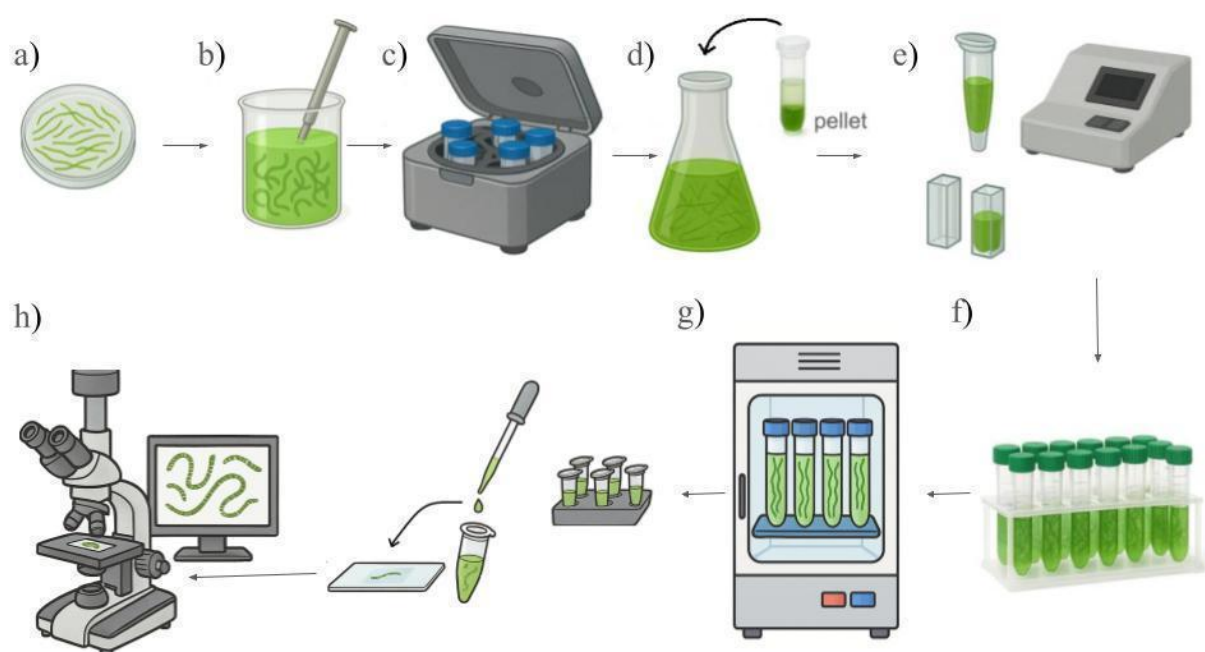
Para obtenção de biomassa de cianobactérias, a cepa foi inoculada, através de estrias simples, em 50 placas de petri contendo meio de cultivo BG-11₀ sólido (Allen, 1868), e colocadas para crescer em bancada com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro (Fig. 1a). Após 60 dias, a biomassa foi raspada das placas e transferida para 2,5 litros de BG-11₀ líquido, e homogeneizadas utilizando seringas de 20 mL (Fig. 1b). A fim de obter um inóculo livre de partículas de ágar e células mortas, o pré-inóculo foi centrifugado a 5000 rpm por 5 minutos (Thermo Scientific MULTIFUGE X1R Centrifuge) (Fig. 1c). Após a centrifugação foi

retirado o sobrenadante e o pellet foi ressuspenso em 2,5 litros de meio para que a população de cianobactérias alcançasse a fase de crescimento logarítmica (3 a 5 dias) (Fig. 1d). Após a fase de crescimento, foram separados 600 mL do pré-inóculo, e foi feita nova centrifugação para retirada do meio BG-11₀ e transferimos o pellet para 600 mL de meio BG-11₀ livre de P. A retirada do P foi feita no intuito de esgotar as reservas celulares do mesmo. Após 3 dias que o pré-inóculo estava no meio livre de P, a densidade de cianobactérias do inóculo foi estimada utilizando um espectrofotômetro (SHIMADZU UV-1800), para o qual obteve-se uma densidade óptica de 0,451 (Fig. 1e).

Foram utilizados no total, 12 tubos de ensaio de 50 mL contendo 20 mL de meio com as devidas concentrações de P e 10% de volume do inóculo (Fig. 1f). O experimento foi realizado em uma B.O.D vertical com controle de luminosidade e temperatura (Fig. 1g). A luminosidade utilizada foi de 140 $\mu\text{mol}/\text{m}/\text{s}$ com fotoperíodo de 12h claro/12h escuro e temperatura de 26 °C e teve duração de 10 dias. Foram feitos 4 tratamentos: T1- 0 mg de P/L; T2- 1,5 mg de P/L; T3- 3,0 mg de P/L; T4- 40 mg de P/L, com 3 réplicas por tratamento.

As coletas das alíquotas (0,75 mL) para análise foram feitas com 10 dias de experimento e as mesmas foram fixadas em solução Transeau (0,75 mL), e mantidas em Eppendorf. Para cada Eppendorf foram feitas 3 lâminas contendo 1 gota, e foram tiradas 3 fotos por lâmina (campos), totalizando 108 campos analisados em microscópio óptico de luz (Zeiss AXIO) com câmera acoplada, utilizando a objetiva de 40x (Fig. 1h). Através do programa computacional ImageJ foram contabilizados o número de heterócitos no filamento (Fig. 2a), o número de heterócitos desprendidos (Fig. 2b), e o número de acinetos maduros (Fig. 2c).

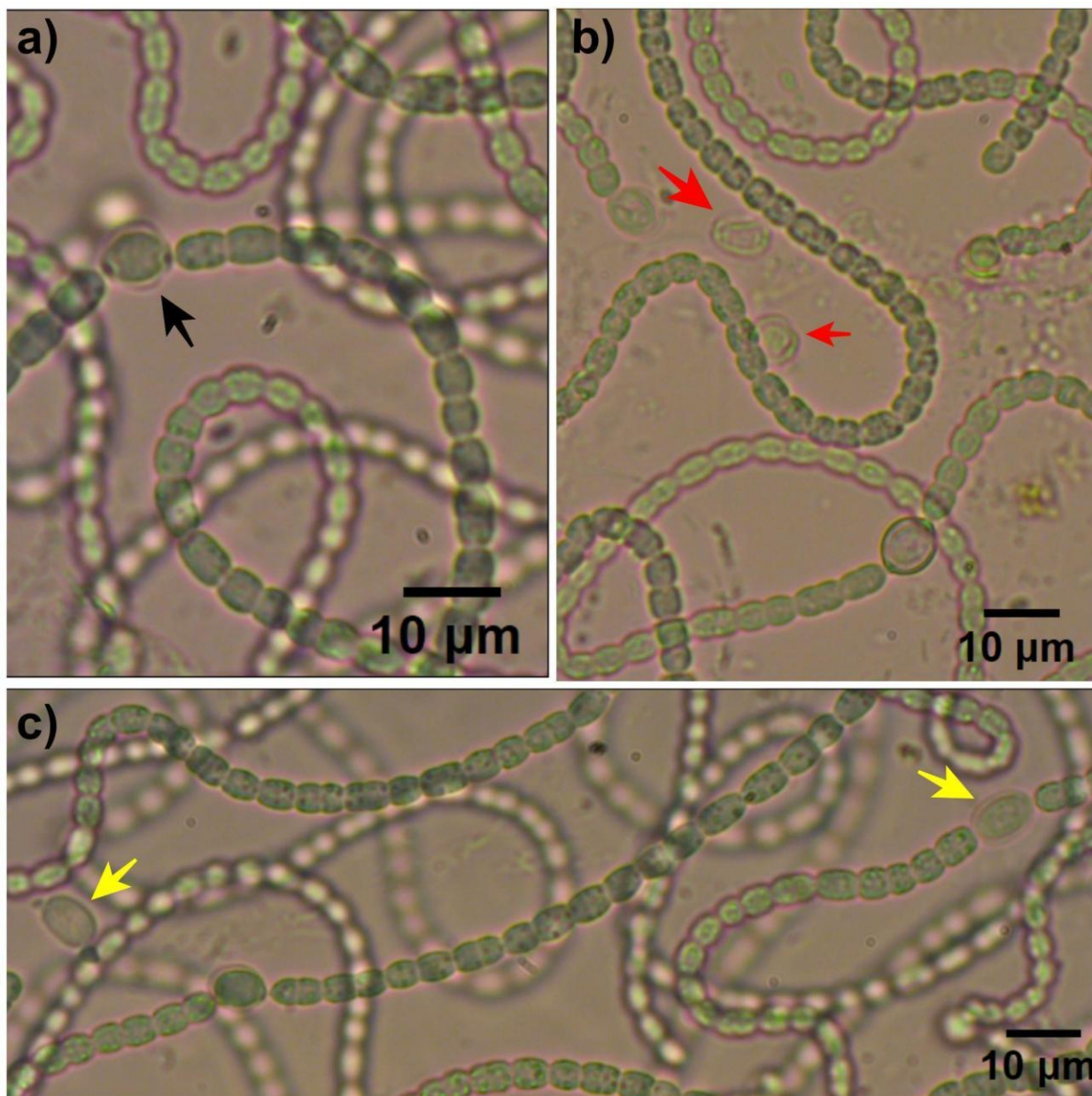
Figura 1- Esquema ilustrando as etapas da metodologia



Legenda: (a) Inoculação e crescimento da biomassa de cianobactérias em placas de Petri; (b) Raspagem, transferência e homogeneização da biomassa em 2,5 L de meio BG-11₀ líquido; (c) Transferência da biomassa para tubos Falcon e centrifugação; (d) Remoção do sobrenadante e ressuspensão do pellet em 2,5 L de meio BG-11₀ líquido; (e) Amostragem do inóculo e medição da densidade óptica usando um espectrofotômetro; (f) Divisão do meio e do inóculo em tubos de ensaio; (g) Incubação dos tratamentos em B.O.D vertical (h) Coleta e fixação de amostras para preparo e análises das lâminas em microscópio óptico.

Fonte: A autora (2025).

Figura 2- Fotomicrografias de *Desmonostoc* sp. UFLA12



Legenda: a) a seta preta aponta para heterócito no filamento de *Desmonostoc* sp. UFLA12; b) as setas vermelhas apontam para heterócitos desprendidos dos filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA12 e dispersos no meio; c) as setas amarelas apontam para acinetos maduros de *Desmonostoc* sp. UFLA12. Fotos feitas em microscópio óptico, usando objetiva de 40x.

Fonte: A Autora (2025).

2.3 Análise de dados

Foi realizado teste de kolmogorov smirnov para verificar a normalidade dos dados. Para verificar se existe efeito dos tratamentos (variável preditora) nas variáveis respostas (número de heterócitos desprendidos, número de heterócitos nos filamentos e número de acinetos maduros) foi realizado ANOVA para os dados com distribuição normal (número de heterócitos desprendidos e número de heterócitos nos filamentos), e Kruskal-Wallis para os dados com distribuição não normal (número de acinetos maduros). Além disso, para avaliar diferenças par a par foi realizado o teste de Tukey para os dados normais, e análise de comparações múltiplas por *parwise* para os dados não normais. As análises foram realizadas utilizando o software IBM SPSS Statistics versão 26.

3 Resultados

A concentração de P influenciou a diferenciação de heterócitos nos filamentos (Fig. 3a) e de acinetos maduros (Fig. 4), mas não influenciou o número de heterócitos desprendidos produzidos por *Desmonostoc* sp. UFLA12 (Fig. 3b). Ao todo, foram contabilizados 3901 heterócitos, dos quais 3099 estavam ligados ao filamento e 802 soltos no meio. Em relação aos acinetos, foram contabilizados 297 acinetos maduros (Tabela 1).

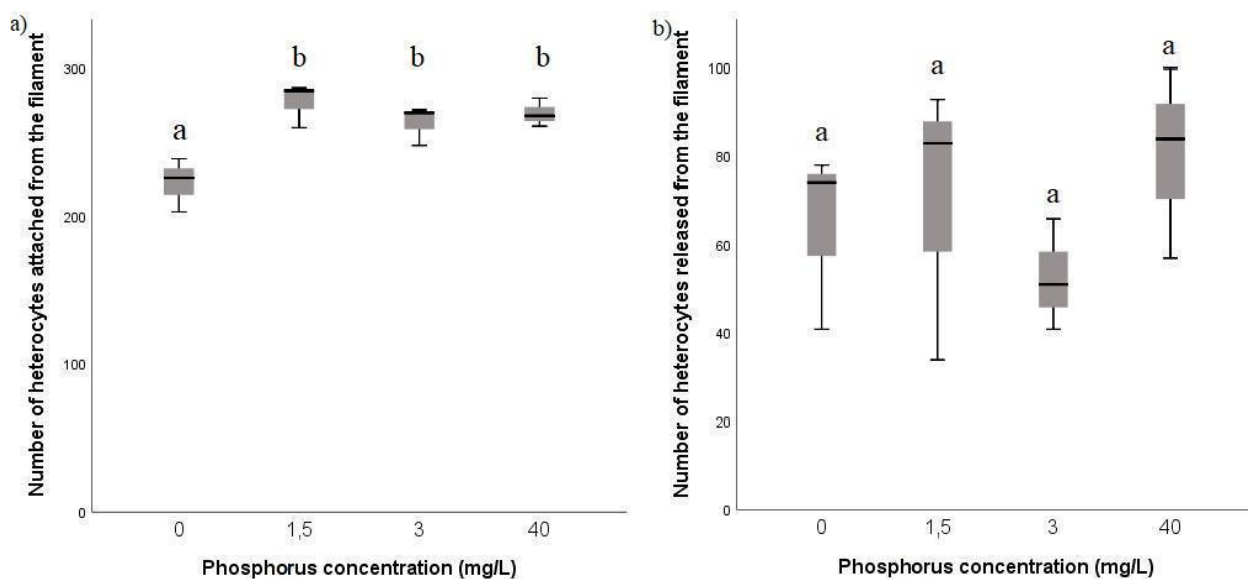
Tabela 1- Valores estatísticos e total de estruturas produzidas

Variáveis	Número total	Mínimo	Máximo	Mediana	Erro padrão
Número de heterócitos produzidos	3901	74	674	325,08	31,882
Heterócitos desprendidos	802	34	100	66,83	21,904
Heterócitos no filamento	3099	203	287	258,25	25,256
Acinetos maduros	297	0	151	24,75	43,695

Fonte: A Autora (2025)

O número de heterócitos ligados aos filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA12 diferiu entre os tratamentos ($F = 8,627$; $p = 0,007$), sendo que a diferenciação foi maior nos tratamentos T2, T3 e T4 (1,5, 3,0 e 40 mg P/L, respectivamente) em relação ao T1(0 mg P/L) (Fig 3a). Já em relação ao número de heterócitos desprendidos dos filamentos, não houve diferença entre os tratamentos ($F = 0,783$; $p = 0,536$) (Fig 3b).

Figura 3- Efeito da variação nas concentrações de P na diferenciação de heterócitos de *Desmonostoc* sp. UFLA12

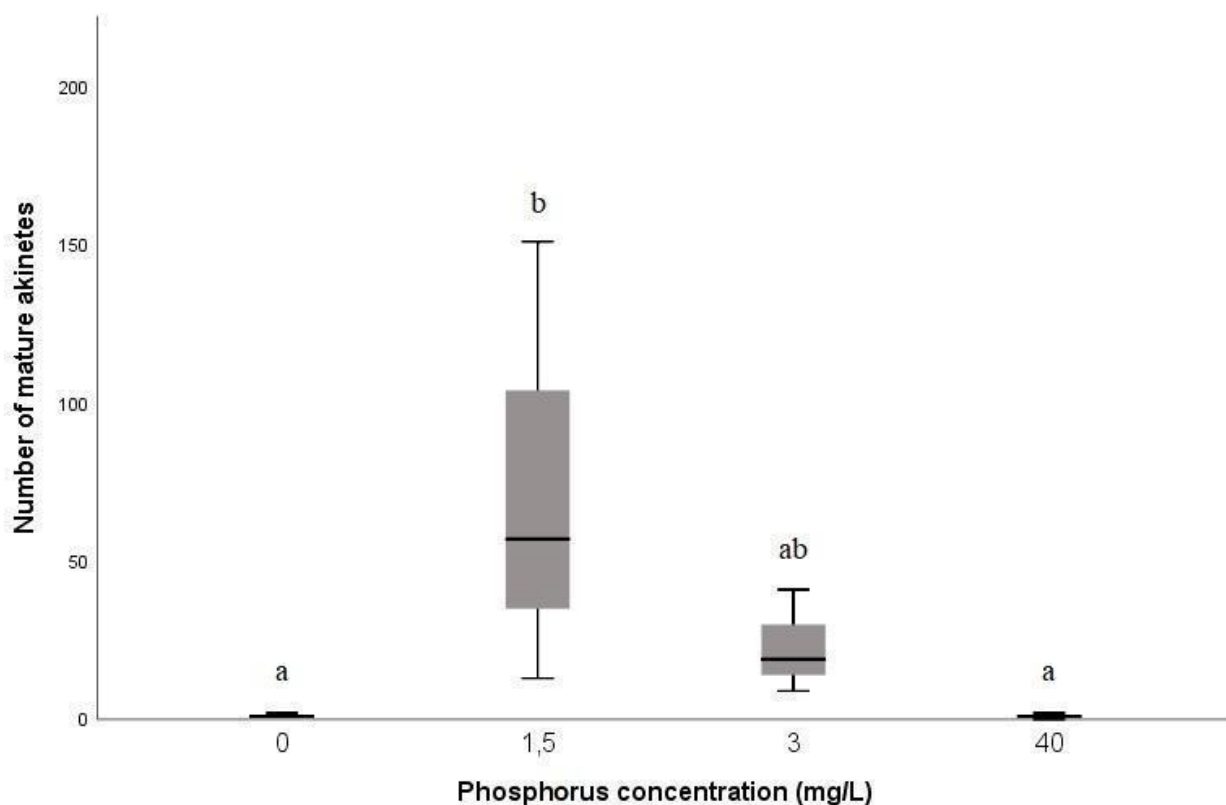


Legenda: a) número de heterócitos nos filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA12; b) número de heterócitos desprendidos dos filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA12. As letras referem-se ao teste de Tukey, as quais letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos. Nível de significância $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2025)

Com relação aos acinetos, as concentrações de P influenciaram em sua diferenciação ($H = 8,834$; $p = 0,032$). O T2 (1,5 mg P/L) apresentou maior número do que o T1 (0 mg P/L) e o T4 (40 mg P/L), não havendo diferença entre demais tratamentos (Fig.4).

Figura 4- Efeito da variação nas concentrações de P na diferenciação de acinetos de *Desmonostoc* sp. UFLA12.



Legenda: Número de acinetos maduros de *Desmonostoc* sp. UFLA12. As letras referem-se ao teste de comparações múltiplas por *parwise*, as quais letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos. Nível de significância $p < 0,05$.

Fonte: A Autora (2025)

4 Discussão

A diferenciação celular em *Desmonostoc* UFLA12 é influenciada pela concentração de P no meio. O P exerce um papel crucial na formação de heterócitos e acinetos, considerando o alto custo energético desses processos de diferenciação. Os heterócitos dependem fortemente de ATP e NADPH, produzidos via pentose-fosfato oxidativa e glicólise, para sustentar a atividade da nitrogenase e manter um ambiente sem oxigênio. Esses processos requerem P em vários compostos essenciais como nucleotídeos e fosfolipídeos (Meeks and Elhai, 2002), e isso justifica o fato de observarmos o maior número de heterócitos nos filamentos de *Desmonostoc* sp. UFLA12 nos tratamentos com disponibilidade deste nutriente (T2, T3 e T4) em relação a ausência do mesmo (T1). Já em relação às concentrações intermediárias de P (T2 e T3), notamos que as variações na concentração de P (T2, T3 e T4) são percebidas de maneira similar pela cianobactéria *Desmonostoc* sp. UFLA12, em que sua produção de heterócitos está estabilizada. Assim, temos que nossa primeira hipótese, de que o número de heterócitos nos filamentos seriam menores no tratamento sem P e com baixas concentrações do mesmo, foi parcialmente corroborada. De forma similar, a diferenciação de heterócitos em *Nodularia spumigena*, também foi menor quando P estava limitado (Silveira and Odebrecht 2021). Mendes e colaboradores (2022) observaram que a redução do volume de água no reservatório, concomitante com a elevação de nutrientes, incluindo o P, aumentou a biomassa de cianobactérias heterocitadas e o número de heterócitos. Esses resultados confirmam que mais heterócitos são formados quando há disponibilidade de P para manter suas atividades metabólicas, como a produção de ATP e funcionamento da nitrogenase (Flores and Herrero, 2005; Kollmen and Strieth, 2022).

Já o número de heterócitos desprendidos dos filamentos, aqueles que foram produzidos, mas que não são mais funcionais, responderam de forma similar a todas as concentrações de P testadas. Rejeitamos nossa hipótese de que haveria mais heterócitos

desprendidos nos tratamentos com deficiência de P, devido ao estresse que é causado pela deficiência deste elemento ocasionando maior ruptura de filamentos, facilitando a liberação de heterócitos, como observado em *Nostoc paladosum* (Dextro et al., 2018). Sugerimos que *Desmonostoc* sp. UFLA12 seja mais tolerante a essas variações nas concentrações de P, podendo ter maior capacidade de retê-lo e/ou metabolizá-lo de forma mais eficiente. Cianobactérias epífitas geralmente vivem em biofilmes sobre plantas aquáticas ou musgos e a disponibilidade de P pode ser um fator limitante por causa da competição, dependendo da captação pelos organismos hospedeiros ou até por outros microrganismos. Para contornar isso, epífitas ativam estratégias como a produção de fosfatases alcalinas e sistemas de alta afinidade ao P, especialmente sob limitação de P, similares ao observado em *Anabaena* e *Nostoc* em ambientes planctônicos (Lu et al., 2019). Em ambientes epífitos, essas adaptações são críticas, pois a competição por P pode ser intensa, e a captação de P orgânico ou inorgânicos é crucial para manutenção e sobrevivência (Lu et al., 2019). Além disso, Dyhrman e colaboradores (2006) investigaram a capacidade da cianobactéria marinha *Trichodesmium erythraeum* de utilizar fosfatos como fonte de P em ambientes com baixa disponibilidade de fosfato inorgânico. Outra alternativa seria a remobilização de outras vias para a manutenção de heterócitos como no caso de *Nodularia spumigena* em que Braun e colaboradores (2018) constataram que os heterócitos não acumulam polifosfato, mas remobilizam P interno (ATP/NADPH) para manter seu funcionamento especializado na fixação de nitrogênio.

Com relação aos acinetos, células de resistência e dormência, a concentração baixa de P mostrou ser um estímulo importante para a sua produção, uma vez que estes foram encontrados em maior número no tratamento com a menor concentração de P, mas ainda com a presença do mesmo (T2), o que corrobora com nossa hipótese. Níveis intermediários de P estimularam a formação de acinetos em *N. paladosum*, *N. spumigena* e *Cylindrospermopsis*

raciborskii sob condições de estresse moderado (Dextro et al., 2018; Moore et al., 2005; Myers et al., 2011; Silveira and Odebrecht, 2021). O tratamento sem P e o tratamento com a maior concentração do mesmo (T1 e T4, respectivamente) apresentaram menor número de acinetos quando comparado ao tratamento com concentração intermediária (T2). Na completa ausência de P, o metabolismo celular pode torna-se comprometido para a formação de acinetos que requer o armazenamento de material de reserva e acúmulo de ácidos nucleicos (Sukenik et al., 2019). Segundo Silveira e Odebrecht (2021), em *N. spumigena* não foi observado a diferenciação de acinetos com a restrição total de P. Porém, Van Dok e Hart (1996), observaram a formação de acinetos em *Anabaena circinalis* sob restrição total de P e nas concentrações de 0,2 e 0,6 mg P/L, concentrações menores que as testadas em nosso trabalho, o que pode indicar que *A. circinalis* possui uma menor necessidade de P do que *Desmonostoc* sp. UFLA12 para a produção de acinetos. Aparentemente, o metabolismo de P, em relação a diferenciação de acinetos de *Desmonostoc* sp. UFLA12 é mais parecido com a de *N. spumigena* que teve maior diferenciação de acinetos em níveis mais altos de P (0,5 a 2,5 mg P/L) (Myers et al., 2011), e sob condições de estresse moderado como o observado com *N. paladosum* e *C. raciborskii* (Dextro et al., 2018; Moore et al., 2005; Myers et al., 2011; Silveira and Odebrecht, 2021). Cianobactérias do gênero *Desmonostoc* e *Nostoc* são filogeneticamente mais próximas, e geralmente ocupam habitats úmidos, além de compartilharem certas características morfológicas, como tipo de heterócitos e bainha de mucilagem (Bornet and Flahault, 1886; Hrouzek et al., 2013). Já *Cylindrospermopsis*, *Nodularia*, e *Anabaena* são mais distantes filogeneticamente de *Desmonostoc* (Whitton and Potts, 2000). Mas, mesmo que estas espécies não ocupem nichos similares, ou não sejam aparentadas, resultados semelhantes podem indicar que certos mecanismos adaptativos podem ter evoluído de forma independente em resposta a pressões ambientais similares, como a privação de P.

5 Conclusão

Este estudo fornece subsídios relevantes sobre as condições que favorecem tanto a diferenciação de heterócitos quanto de acinetos na cepa *Desmonostoc* sp. UFLA12. A concentração de P afeta, positivamente, a produção de heterócitos funcionais (ou seja, aqueles que permanecem ligados aos filamentos), embora a sua ruptura, o desprendimento dos heterócitos dos filamentos, não tenha sido influenciada pelas concentrações testadas. Para a diferenciação de acinetos, a concentração mais baixa de P, 1,5 mg P/L, para *Desmonostoc* sp. UFLA12, atuou como um importante gatilho. Finalmente, esse estudo fornece os primeiros dados, bem como as primeiras especulações sobre o papel do P na sobrevivência e na permanência de *Desmonostoc* UFLA12 em ecossistemas aquáticos, uma vez que a diferenciação de heterócitos e acinetos favorecem tanto a sobrevivência quanto a persistência das populações de cianobactérias heterocitadas. Além disso, os nossos achados fornecem dados que podem subsidiar estratégias de manejo e cultivo de *Desmonostoc* UFLA12, tanto para fins de fertilização de ambientes quanto para seu controle populacional em casos de florações (blooms) em sistemas eutrofizados.

REFERÊNCIAS

- Adams, D. G., & Duggan, P. S. (1999). Tansley Review No. 107. Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. *The New Phytologist*, *144*(1), 3-33.
- Allen, M. M. (1968). Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates 1, 2. *Journal of phycology*, *4*(1), 1-4.
- Baker, P. D., & Bellifemine, D. (2000). Environmental influences on akinete germination of *Anabaena circinalis* and implications for management of cyanobacterial blooms. *Hydrobiologia*, *427*, 65-73.
- Bornet, E., & Flahault, C. (1886). *Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France* (Vol. 1). {sn}.
- Braun, P. D., Schulz-Vogt, H. N., Vogts, A., & Nausch, M. (2018). Differences in the accumulation of phosphorus between vegetative cells and heterocysts in the cyanobacterium *Nodularia spumigena*. *Scientific reports*, *8*(1), 5651.
- Dextro, R. B., Moutinho, F. H. M., & Nordi, C. S. F. (2018). Growth and special structures production of *Nostoc paludosum* (Nostocaceae, Cyanobacteria) under nutrient starvation and different light intensities. *Revista Ambiente & Água*, *13*, e2191.
- Dyhrman, S. T., Chappell, P. D., Haley, S. T., Moffett, J. W., Orchard, E. D., Waterbury, J. B., & Webb, E. A. (2006). Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium*. *Nature*, *439*(7072), 68-71.
- Flores, E., & Herrero, A. (2005). Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria.
- Hori, K., Okamoto, J. I., Tanji, Y., & Unno, H. (2003). Formation, sedimentation and germination properties of *Anabaena* akinetes. *Biochemical Engineering Journal*, *14*(1), 67-73.

- Hrouzek, P., Lukešová, A., Mareš, J., & Ventura, S. (2013). Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. *Fottea*, *13*(2), 201-213.
- Karlsson-Elfgren, I., & Brunberg, A. K. (2004). The Importance of Shallow Sediments in the Recruitment of *Anabaena* and *Aphanizomenon* (Cyanophyceae) 1. *Journal of Phycology*, *40*(5), 831-836.
- Komárek, J., & Johansen, J. R. (2015). Filamentous cyanobacteria. In *Freshwater Algae of North America* (pp. 135-235). *Academic Press*.
- Lang, J. D., & Haselkorn, R. O. B. E. R. T. (1991). A vector for analysis of promoters in the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Journal of bacteriology*, *173*(8), 2729-2731.
- Li, X., Dreher, T. W., & Li, R. (2016). An overview of diversity, occurrence, genetics and toxin production of bloom-forming *Dolichospermum* (*Anabaena*) species. *Harmful algae*, *54*, 54-68.
- Lu, J., Zhu, B., Struewing, I., Xu, N., & Duan, S. (2019). Nitrogen–phosphorus-associated metabolic activities during the development of a cyanobacterial bloom revealed by metatranscriptomics. *Scientific reports*, *9*(1), 2480.
- Maldener, I., Summers, M. L., & Sukenik, A. (2014). Cellular differentiation in filamentous cyanobacteria. *The cell biology of cyanobacteria*, *15*, 263-291.
- Meeks, J. C., Campbell, E. L., Summers, M. L., & Wong, F. C. (2002). Cellular differentiation in the cyanobacterium *Nostoc punctiforme*. *Archives of microbiology*, *178*(6), 395-403.
- Mendes, C. F., dos Santos Severiano, J., de Moura, G. C., dos Santos Silva, R. D., Monteiro, F. M., & de Lucena Barbosa, J. E. (2022). The reduction in water volume favors filamentous cyanobacteria and heterocyst production in semiarid tropical reservoirs without the influence of the N: P ratio. *Science of the Total Environment*, *816*, 151584.

- Moore, D., O'donohue, M., Garnett, C., Critchley, C., & Shaw, G. (2005). Factors affecting akinete differentiation in *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria). *Freshwater Biology*, 50(2), 345-352.
- Moore, D., O'donohue, M., Shaw, G., & Critchley, C. (2003). Potential triggers for akinete differentiation in an Australian strain of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (AWT 205/1). *Hydrobiologia*, 506, 175-180.
- Myers, J. H., Beardall, J., Allinson, G., Salzman, S., Robertson, S., & Gunthorpe, L. (2011). Potential triggers of akinete differentiation in *Nodularia spumigena* (Cyanobacteriaceae) isolated from Australia. *Hydrobiologia*, 671, 165-180.
- Ray, T. B., Peters, G. A., Toia Jr, R. E., & Mayne, B. C. (1978). *Azolla-anabaena* relationships: VII. distribution of ammonia-assimilating enzymes, protein, and chlorophyll between host and symbiont. *Plant physiology*, 62(3), 463-467.
- Rowan, K. S. (1966). Phosphorus metabolism in plants. *International review of cytology*, 19, 301-390.
- Silveira, S. B., & Odebrecht, C. (2021). Effects of light intensity and nutrients (N and P) on growth, toxin concentration, heterocyte formation and akinete germination of *Nodularia spumigena* (Cyanobacteria). *Hydrobiologia*, 848(18), 4387-4400.
- Sukenik, A., Rücker, J., & Maldener, I. (2019). Dormant cells (akinetes) of filamentous cyanobacteria demonstrate a great variability in morphology, physiology, and ecological function. In *Cyanobacteria* (pp. 65-77). *Academic Press*.
- Thompson, A. W., & Zehr, J. P. (2013). Cellular interactions: lessons from the nitrogen-fixing cyanobacteria. *Journal of Phycology*, 49(6), 1024-1035.
- Van Dok, W., & Hart, B. T. (1996). Akinete Differentiation in *Anabaena Circinalis* (Cyanophyta) 1. *Journal of Phycology*, 32(4), 557-565.

Whitton, B. A., & Potts, M. (Eds.). (2007). The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. *Springer Science & Business Media*.

Artigo 2 - Redigido conforme norma do periódico científico - Versão preliminar	
Título do artigo:	INOCULATION OF <i>Desmonostoc</i> sp. PROMOTES ENHANCED CLONAL GROWTH PERFORMANCE OF THE AQUATIC FERN <i>Salvinia auriculata</i>
Autores:	Larissa Langsdorff Pimenta Grécia de Andrade Souza Luis Carlos Pereira Junior Marcelo Gomes Marçal Vieira Vaz Guilherme Ramos Demetrio Flávia Freitas Coelho
Periódico:	Environmental and Experimental Botany
ISSN	1873-7307

ARTIGO 2 – INOCULATION OF *Desmonostoc* sp. PROMOTES ENHANCED CLONAL GROWTH PERFORMANCE OF THE AQUATIC FERN *Salvinia auriculata*

ABSTRACT

Clonal plants, such as *Salvinia auriculata*, are widely distributed and provide important ecological functions and services, shaping the structure and composition of the ecosystems where they are found. In some cases, these plants can spread rapidly and require management. Several factors contribute to the formation of dense mats of aquatic macrophytes, including associations with cyanobacteria. Some members of this group fix nitrogen (N), enriching oligotrophic environments where N is a limiting factor. Therefore, the effect of inoculating the cyanobacterial strain *Desmonostoc* sp. UFLA12 was investigated over the individual ramet growth as well as sexual reproduction and/or clonal growth of *S. auriculata*. The ramets were grown under control conditions (Co), in which the cyanobacteria were absent, and with *Desmonostoc* sp. UFLA12 (treatment D) inoculum. The presence of *Desmonostoc* sp. UFLA12 had a positive effect on the clonal growth, increasing the number and size of shoots, and the fresh biomass. We conclude that the inoculation of *Desmonostoc* sp. UFLA12 contributes to a more vigorous propagation of *S. auriculata*, as it increased its spread via clonal growth. Finally, we propose that the association of *S. auriculata* with the strain *Desmonostoc* sp. UFLA12 is advantageous for the spread of this macrophyte, especially in oligotrophic environments with low N levels.

Key Words: Aquatic Plant; Clonal Growth; Heterocytous Cyanobacteria; Reproductive Strategies.

1 Introduction

Aquatic macrophytes are widespread plants that inhabit water bodies in several ecosystems (Alahuhta et al. 2021). Their distribution is linked to many factors that range from the landscape level, as altitude and water body area (Rolon & Maltchik 2006), to local factors as nutrient availability (Dar et al. 2014). Nutrient limitation appears to play an important role in the growth and development of most aquatic macrophyte species, with carbon, phosphorus and nitrogen being the most important. (Bornette & Puijalon 2011). Nitrogen (N) is one of the most important nutrients for plant growth and is required for the synthesis of essential cellular components such as nucleic acids (Kuypers et al. 2018). However, although it is widely available in the atmosphere in the form of dinitrogen (N₂), most living organisms cannot incorporate it into their metabolism since they are not able to perform biological nitrogen fixation (BNF) (Hoffman et al. 2014). Briefly, BNF is the conversion of N₂ into molecules that can be used by other organisms, such as ammonium ions and ammonia, and it is only carried out by some prokaryotic microorganisms, including some groups of cyanobacteria (Mazhar et al. 2019) and by a marine eukaryotic microalga (Coale et al. 2024).

Cyanobacteria have the ability to form endophytic associations with various organisms, including plants (mosses, cycads, ferns), fungi (forming lichens), and algae (Adams 2000; Aguiar et al. 2008; Rai et al. 2002). In addition, several strains form epiphytic associations with floating aquatic plants, such as *Salvinia auriculata* (Pimenta et al. 2022) and *Pistia stratiotes* (Biondi et al. 2025). Endophytic symbiotic associations of cyanobacteria are well studied as they contribute significantly to global BNF (Elbert et al. 2012; Kluge et al. 2002; Meeks 2005). *Trichormus azollae* (*Anabaena azollae*) is a heterocytous cyanobacterium that can reside in the leaf cavities of the aquatic fern *Azolla*, providing nitrogen for use as a biofertilizer in rice crops (Sergeeva et al. 2002; Ahmed et al. 2010; Kollah et al. 2016). In

addition to nitrogen fixation, cyanobacteria secrete a variety of secondary metabolites, such as growth-promoting hormones, including auxins, gibberellic acid, and cytokinins (Haroun & Hussein 2003; Shariatmadari et al. 2013), benefiting the cultivation of various crops such as wheat (Kholssi et al. 2021), tomato (Prasanna et al. 2013), corn (Prasanna et al. 2016a), chickpea (Prasanna et al. 2017), and cotton (Prasanna et al. 2016b).

The relationship between water nutrient content and aquatic macrophytes is also mediated by the plant's life form, and the physiological performance of floating macrophytes depends on nutrient levels in the water column (Lacoul & Freedman 2006). In addition to different life forms, aquatic macrophytes can also present different reproductive systems. In fact, the ability of clonal reproduction displayed by most of aquatic macrophytes is cited as one of the factors that allow the ecological success of this group (Santamaria 2002). In this sense, aquatic clonal plants are widely distributed and play essential ecosystemic roles as they are key species in nutrient cycling and present high primary productivity, influencing the structure and composition of aquatic ecosystems (De Kroon & Hutchings 1995; Zuo et al. 2023). They reproduce vegetatively, producing genetically identical individuals named ramets (Zuo et al. 2023), which are physiologically independent of the mother plant (Franklin et al. 2021; Demetrio & Coelho 2023), or by sexual reproduction (Harper 1977; Demetrio & Coelho 2023). In environments with high nutrient availability, clonal plants may produce ramets as an adaptive strategy to use all available resources and become dominant over other species (Zheng et al. 2019; Zhang et al. 2020). Therefore, changes in environmental conditions, such as fertilization (Gonzalez et al. 2016) and nutrient limitation (Dong et al. 1997), can affect plant clonal growth (Geng & He 2021). In this sense, *S. auriculata* is a good model to understand the relationship between plants and nitrogen-fixing cyanobacteria, as it is a common freshwater fern that spreads vigorously in nutrient-rich environments (Jampeetong & Brix 2009), but tolerates oligotrophic conditions well (Medeiros et al. 2016). Furthermore,

its submerged leaflets hold a periphyton encompassing different species of cyanobacteria, which can influence their growth by providing nitrogen fixed in their heterocytes (Pimenta et al. 2022), especially in N-deficient environments (Biondi et al. 2025). Additionally, the small size and easy cultivation of *Salvinia* spp. make them ideal model plants for various studies (Goulart et al. 2024).

In this context, our work seeks to address the question of whether the relationship between *S. auriculata* and *Desmonostoc* sp. UFLA12 (Cyanobacteria, Nostocales, Nostocaceae) contributes to the spread of this plant, considering that the ecological interactions between macrophytes and cyanobacteria are still poorly understood and may represent one of several factors influencing their rapid spread (Biondi et al. 2025). Based on the premise that nitrogen-fixing cyanobacteria can influence plant growth (Ahmed et al. 2010; Diez and Ininbergs 2014; Rai et al. 2019), including aquatic macrophytes (Biondi et al. 2025), we hypothesized that inoculation with *Desmonostoc* sp. UFLA12 in N-free medium would improve individual ramet performance and clonal growth of *S. auriculata*, promoting an increase in the size and number of new ramets due to the N fixed in the heterocytes of the cyanobacterium, and released to the surrounding medium.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Aquatic plant and their epiphytic cyanobacteria

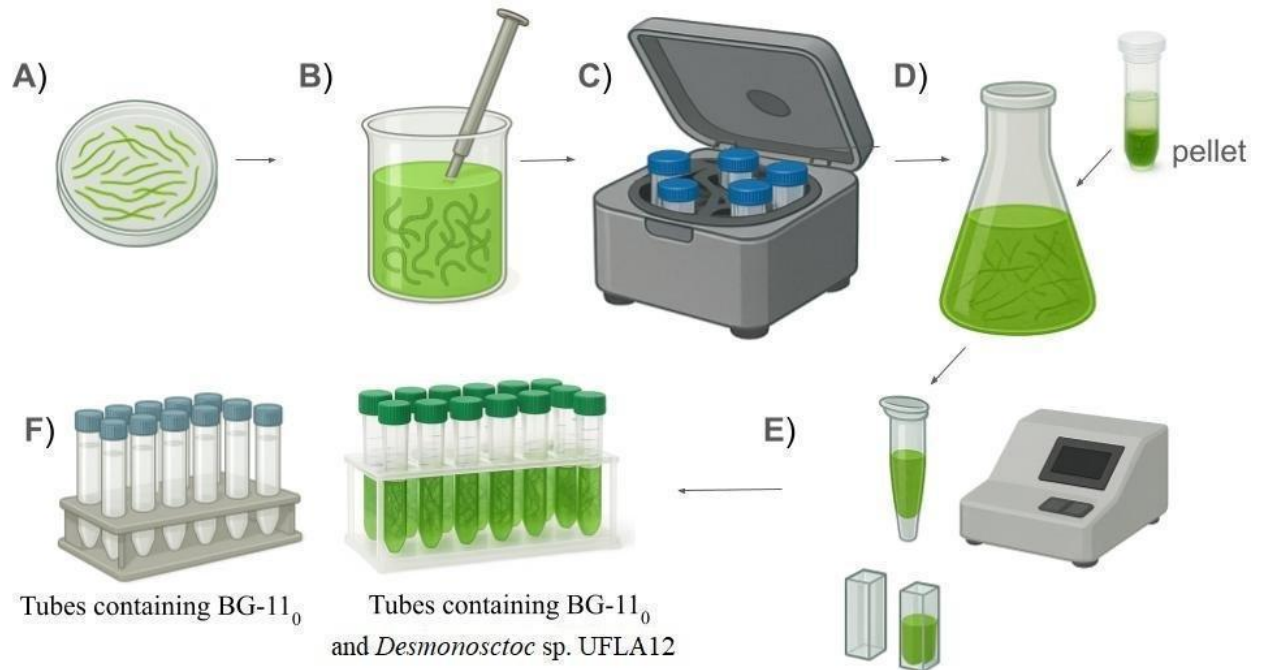
Salvinia auriculata Aubl. (Salviniaceae) is a free-floating aquatic fern that presents clonal reproduction by sprouting, in which each ramet can produce genetically identical ramets. It also presents sexual reproduction, in which spore-producing structures called sori are enclosed by a globular indusium, forming fertile fronds (De La Sota 1962; Miranda and Schwartsburd 2019). The ramets are connected by rhizomes that form colonies and consist of nodes, two aerial folioles responsible for photosynthesis, and submerged, finely divided folioles with a root function responsible for water and nutrient absorption (Room 1983; Sculthorpe 1967). We previously observed and isolated the strain *Desmonostoc* sp. UFLA12 from the submerged folioles of *S. auriculata*, (Pimenta et al. 2022). *Desmonostoc* sp. UFLA12 has terminal and intercalary heterocytes, and, therefore, performs BNF, and form long filaments surrounded by a diffusible mucilaginous sheath. *Desmonostoc* sp. UFLA12 filaments are not densely coiled with compact trichomes as in *Nostoc*. In addition, akinetes can be differentiated in long chains as a form of resistance (Hrouzek et al. 2013).

2.2 Cyanobacterial inoculum

The cyanobacterial strain used in this study, *Desmonostoc* sp. UFLA12 was previously isolated from the epiphyton of *S. auriculata* roots (Pimenta et al. 2022). The culture is deposited in the Collection of Cyanobacteria Cultures (CFC - UFLA), available at the Federal University of Lavras (UFLA). For cyanobacterial biomass production, the strain was inoculated by streaking on 50 Petri dishes containing solid BG-11₀ culture medium (Allen, 1968) and placed on a bench to grow under a 12 h light/12 h dark photoperiod (Fig 1A). After 60 days, the biomass was scraped from the plates and transferred to 1 liter of liquid BG-11₀

and homogenized using 20 mL syringes (Fig 1B). To obtain an inoculum free of agar particles and dead cells, the pre-inoculum was centrifuged at 5,000 rpm for 5 minutes (Thermo Scientific MULTIFUGE X1R centrifuge) (Fig 1C). After centrifugation, the supernatant was removed, and the pellet was resuspended in 2,5 L of liquid medium to obtain the desired optical density, measured by light spectrophotometry at a wavelength of 680 nm (Fig 1D). The cyanobacterial density of the inoculum was estimated using a spectrophotometer (SHIMADZU UV-1800), obtaining an optical density of 0.283 (Fig 1E). This inoculum was divided into 50 mL Falcon tubes containing 15 mL of inoculum (1% of the total volume of the trays) for each replicate of the greenhouse experiment. In total, there were 10 tubes containing 15 mL of BG-11₀ medium with *Desmonostoc* sp. UFLA12 and 10 tubes containing only 15 mL of BG-11₀ medium for the control (Fig 1F). Ten Falcon tubes containing 15 mL of BG-11₀ medium were placed in 10 trays, each containing 1.5 L of filtered water, for the control (Fig 2A). Similarly, another 10 Falcon tubes containing 15 mL of BG-11₀ medium with the cyanobacterium *Desmonostoc* sp. UFLA 12 were placed in 10 separate trays, each also containing 1.5 L of filtered water, for the treatment (Fig 2B).

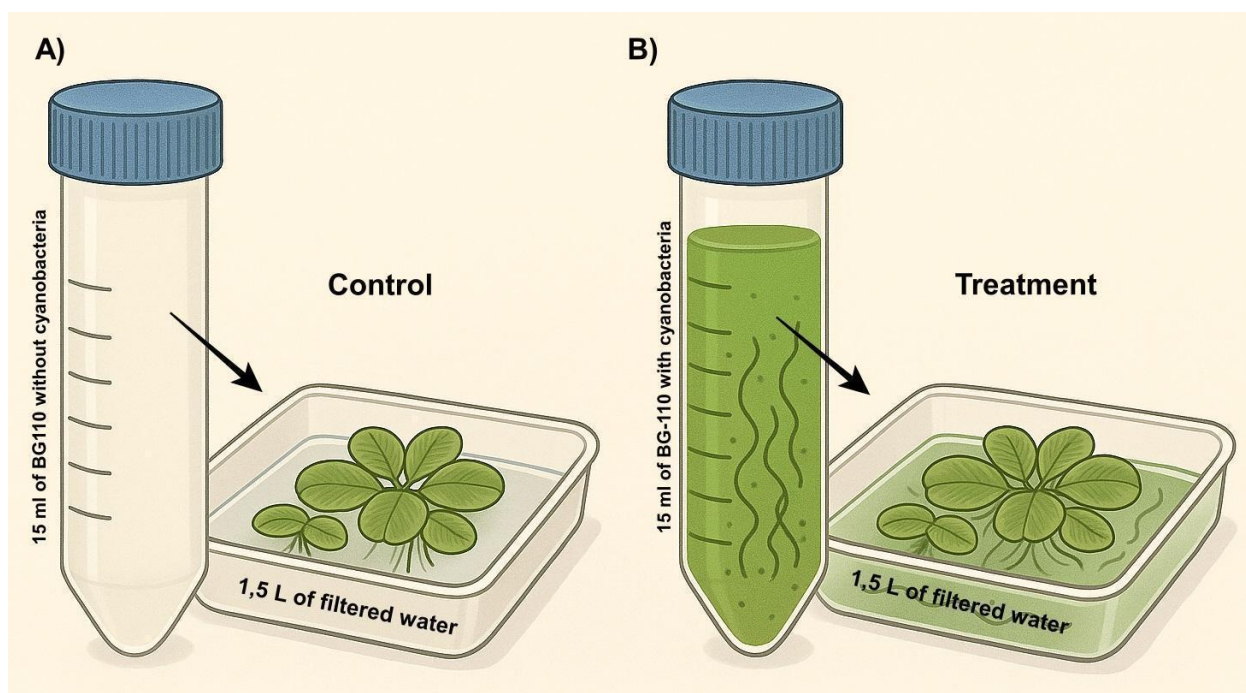
Figure 1 - Preparation of cyanobacterial inoculum



Legend: (A) Inoculation and growth of cyanobacterial biomass in Petri dishes; (B) Scraping, transferring, and homogenizing the biomass in 1 L of liquid BG-11₀ medium; (C) Transferring the biomass to Falcon tubes and centrifugation; (D) Removal of the supernatant and resuspension of the pellet in 2,5 L of liquid BG-11₀ medium; (E) Sampling of the inoculum and measurement of optical density using a spectrophotometer; (F) Division of the inoculum and the liquid BG-11₀ medium into Falcon tubes.

Source: The author (2025).

Figure 2 - Experiment setup



Legend: (A) 15 mL of BG-11₀ medium were placed in each tray, each containing 1,5 L of filtered water and the ramets of *S. auriculata*; (B) 15 mL of BG-11₀ medium with the cyanobacterium *Desmonostoc* sp. UFLA12 were placed in the trays, each also containing 1.5 L of filtered water and the ramets of *S. auriculata*

Source: The author (2025).

2.3 Greenhouse experiment

S. auriculata ramets were collected in summer from a permanent lagoon in the southeastern region of Brazil (21°08'56"S, 44°52'53"W). After collection, the plants were carefully washed with distilled water to remove solid particles, dead parts and any cyanobacteria and eukaryotic algae attached to the roots. Morphologically similar ramets were selected and weighed to ensure that each tray contained a colony of three ramets weighing between 3 and 4 g. After this process, colonies were transferred to a greenhouse with a 30% shade condition, and were acclimatized during seven days, prior to the start of the experiment.

After the acclimatization phase, colonies containing three initial ramets, called mother plants, were placed in plastic trays containing 1.5 L of filtered tap water and subjected to treatment: (D) - 15 mL of *Desmonostoc* sp. UFLA12 inoculum, and (Co) - No cyanobacterial inoculum, only 15 mL of BG-11₀. The treatment and control had ten replicates each, totaling 20 trays (N = 20). Water was added to the trays every seven days to maintain the 1.5 L level at the end of the 28-day experiment. The number of new ramets (shoots) and *sori* were counted every 7 days. In addition, the length and width of the aerial and submerged leaflets of both the mother plant and the shoots were measured with calipers. After the measurements, the plants were dried in an oven at 60°C for 48 hours and weighed. Individual growth (dry biomass and size of mother plant), clonal growth (number of shoots, dry biomass and size of shoots) and investment in sexual reproduction (number of *sori*) were evaluated. Clonal growth (mother plant + shoots) was calculated by subtracting the initial fresh weight from the final fresh weight and dividing by the total duration of the experiment (28 days), as shown in the equation below, in which Tx (growth rate); FFW (final fresh weight); IFW (initial fresh weight); t (time) (Gufu et al. 2019).

$$Tx = \frac{FFW - IFW}{t}$$

2.4 Data analysis

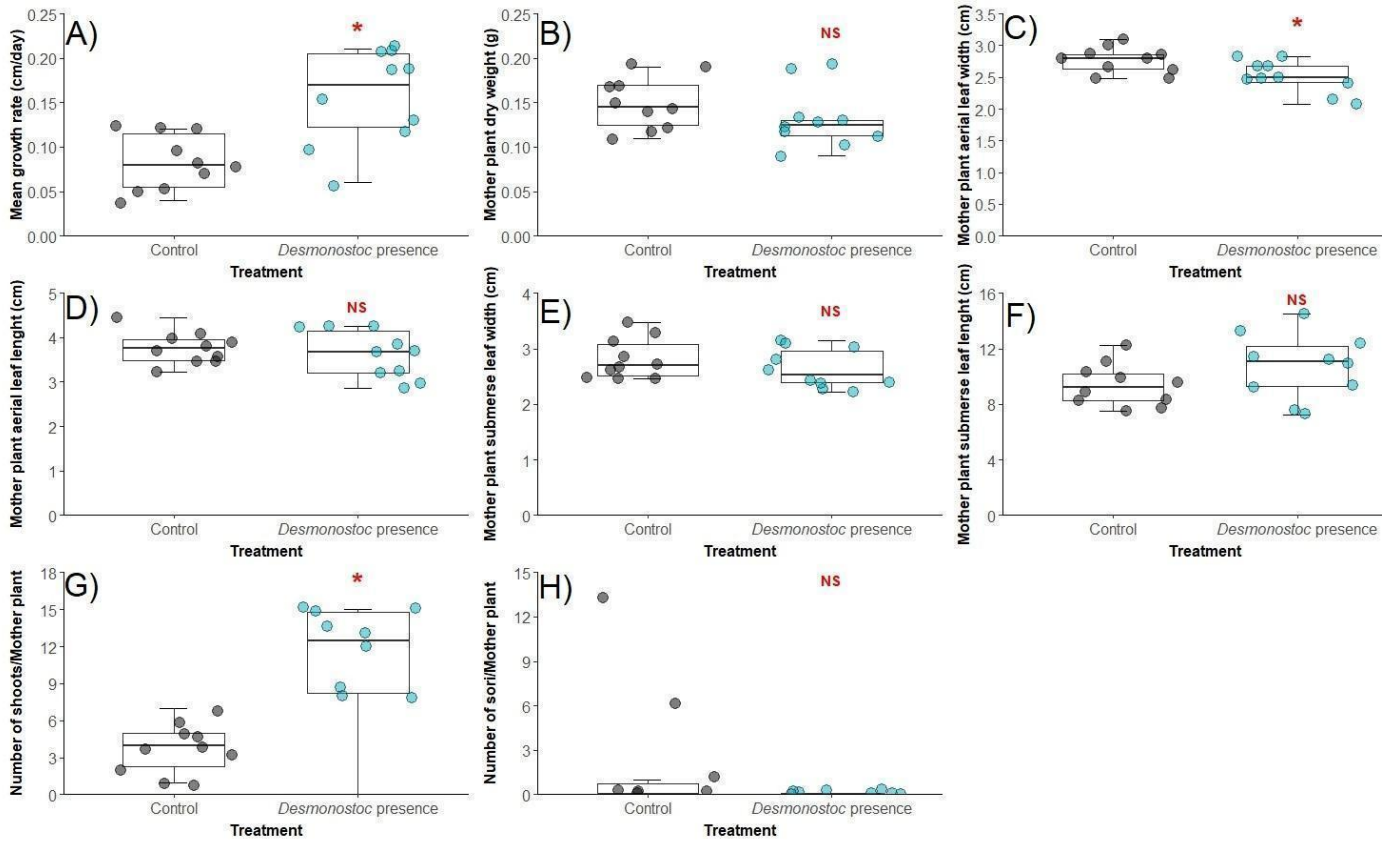
All response variables: mother plant dry weight, mother plant aerial folioles length and width, mother plant submerged folioles length and width, number of shoots, shoots dry weight, shoots aerial folioles length and width, shoots submerged folioles length and width, *sori* number per colony (= total number of ramets in the tray), and growth rate were checked for normality with Shapiro-Wilk tests. We built generalized linear models (GLM's) to test the effect of treatments (predictor variables) on *S. auriculata* mother plants and shoot traits. We built an individual model for each response variable that was performed with a gaussian

distribution when data were normal and with quasipoisson distribution when data was not normal, to account for overdispersion (Crawley, 2012). All GLM's were performed in the R environment, using the *glm* function of the base package (R Core Team, 2023). After this, we used the function *rsquared* of the "piecewiseSEM" package (Lefcheck, 2016) to obtain the R^2 for the predictor variables (Treatment) in each model.

3 Results

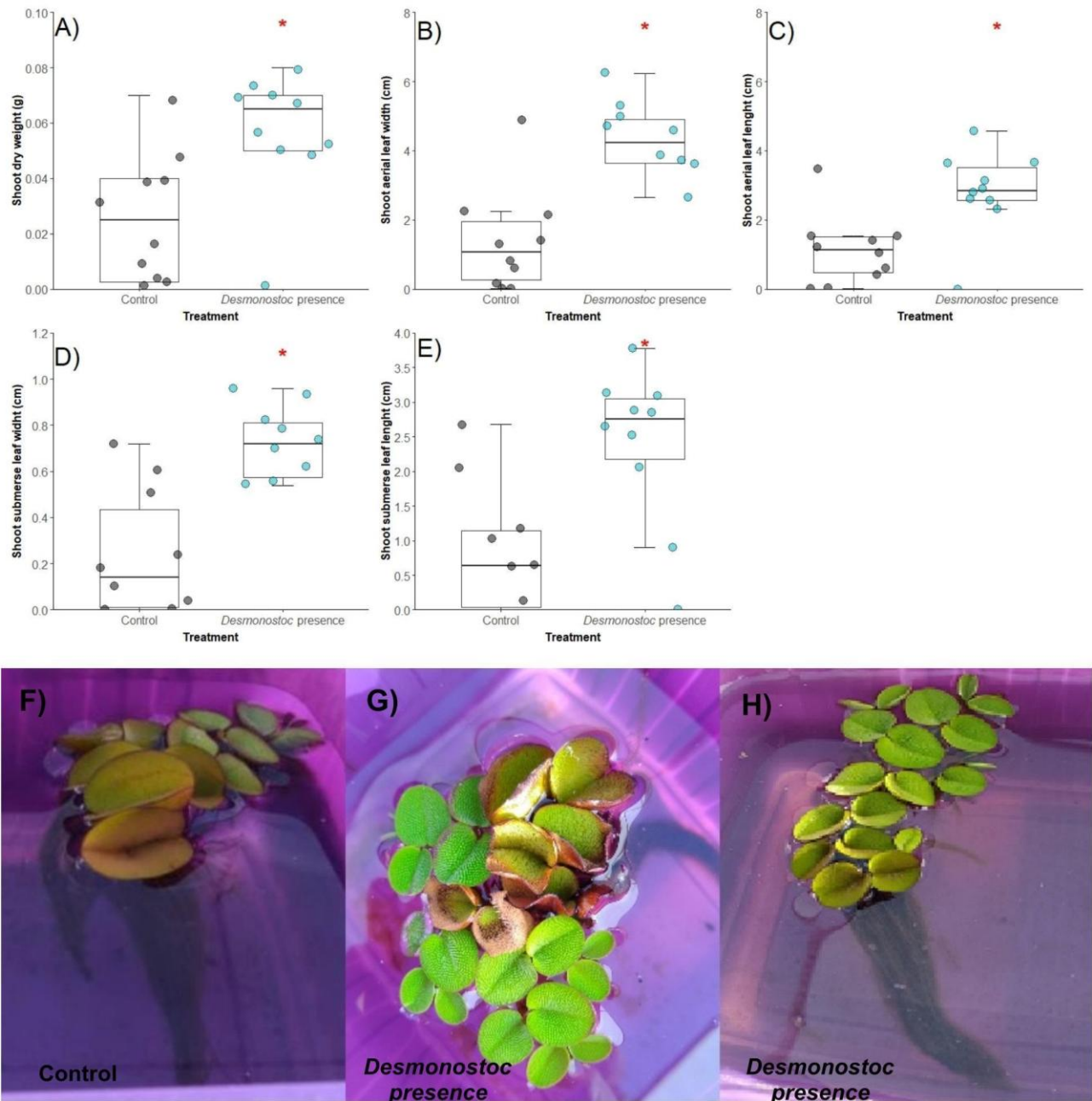
Cyanobacteria did not promote overall individual growth of the initial ramets (mother plants) of *S. auriculata* (Fig. 3B; 3D-F), but increased growth rate (Table I) (Fig. 3). The treatment did not affect mother plant dry biomass ($F = 1.791$, $p = 0.1975$, Fig. 3B), aerial leaf length ($F = 0.5066$, $p = 0.4857$; Fig. 3D), submerged leaf width ($F = 1.2639$, $p = 0.2757$, Fig. 3E), and submerged leaf length ($F = 2.3186$, $p = 0.1452$, Fig. 3F). In contrast to the individual growth of the mother plant of *S. auriculata*, there were differences in the clonal growth of *S. auriculata* (Fig. 3G). The number of shoots varied among treatments (Table I), with the highest number of shoots observed in the presence of *Desmonostoc* (D treatment) compared to control treatment (Co treatment). Sexual reproduction, however, was not affected by the presence of *Desmonostoc* ($F = 2.1687$, $p = 0.1581$, Fig 3H). On the other hand, the presence of *Desmonostoc* was highly important for the growth of *S. auriculata* clonal offspring (Fig 4F-H). The shoots that grew in the presence of *Desmonostoc* presented larger aerial and submerged leaves length and width (Table I, Fig 4A-E).

Figure 3 - Individual growth of the mother plant of *S. auriculata* in each treatment



Legend: (A) Mean growth rate (cm/day); (B) Mother plant dry weight (g); (C) Mother plant aerial leaf width (cm); (D) Mother plant aerial leaf length (cm); (E) Mother plant submerge leaf width (cm); (F) Mother plant submerge leaf length (cm); (G) Number of shoots/Mother plant; (H) Number of sori/Mother plant. The red asterisk (*) marks significant differences between treatments and the acronym NS in red means that there is no significant difference between treatments.

Source: The author (2025).

Figure 4 - Clonal growth of *S. auriculata* in each treatment

Legend: (A) Shoot dry weight (g); (B) Shoot aerial leaf width (cm); (C) Shoot aerial leaf length (cm); (D) Shoot submerge leaf width (cm); (E) Shoot submerge leaf length (cm); (F) Mother ramets and new ramets of *S. auriculata* resulting from clonal growth in the control. (G) Aerial leaf of *S. auriculata* ramets resulting from clonal growth in the presence of *Desmonostoc* sp. UFLA12. (H) Aerial and submerged leaf of *S. auriculata* ramets resulting from clonal growth in the presence of *Desmonostoc* sp. UFLA12. The red asterisk (*) marks significant differences

between treatments and the acronym NS in red means that there is no significant difference between treatments.

Source: The author (2025).

Table I- Values of the statistical tests, for the mother plant and shoots

Ramet type	Model	Variation Source	Estimate	Std Error	t-value	p-value
Mother plant	Growth rate ~Treatment	Intercept	0.083	0.013	6.037	<0.01
		<i>Desmonostoc</i> presence	0.074	0.019	3.806	<0.01
	Mother plant aerial leaf width ~Treatment	Intercept	2.766	0.072	37.966	<0.01
		<i>Desmonostoc</i> presence	-0.258	0.103	-2.504	<0.05
Shoot	Shoot dry weight ~Treatment	Intercept	-3.649	0.245	-14.857	<0.01
		<i>Desmonostoc</i> presence	0.785	0.296	2.648	<0.01
	Shoot aerial leaf width ~Treatment	Intercept	0.306	0.294	1.039	0.312
		<i>Desmonostoc</i> presence	1.072	0.341	3.145	<0.01
	Shoot aerial leaf length ~Treatment	Intercept	0.124	0.248	0.498	0.624
		<i>Desmonostoc</i> presence	0.911	0.294	3.09	<0.01
	Shoot submerge leaf width ~Treatment	Intercept	-1.435	0.298	-4.816	<0.01
		<i>Desmonostoc</i> presence	1.029	0.347	2.963	<0.01
	Shoot submerge leaf length ~Treatment	Intercept	-0.1803	0.306	-0.589	0.562
		<i>Desmonostoc</i> presence	1.050	0.355	2.955	<0.01

Source: The author (2025).

4 Discussion

The presence of *Desmonostoc* presented different effects on *S. auriculata* that depended upon the level of plant organization that was sampled. *S. auriculata* mother ramets were not affected by the presence of *Desmonostoc*, while the shoots generated by these ramets were greatly affected in a positive way by the cyanobacteria presence. The inoculation of *Desmonostoc* sp. UFLA12 contributed to the clonal growth of *S. auriculata* in all aspects, including numerical increase, biomass increase, and shoot size, as well as growth rate. As has been widely reported, *S. auriculata* and other macrophytes exhibit very vigorous clonal growth under favorable conditions (Biondi et al. 2025; Julien et al. 2002, 2009; Lubembe et al. 2023; Iqbal et al. 2025; Pott et al. 2011; Room 1990) and these could favorable conditions for the growth of aquatic plants depend on the availability of nutrients, especially nitrogen (N), which is a limiting factor. Therefore, we suggest that *S. auriculata* can benefit from the N provided by BNF carried out by the heterocytous strain *Desmonostoc* sp. UFLA12, with an increase in the number of ramets, their biomass and size. The growth of aquatic plants has already been reported to be increased by BNF performed by bacteria associated with the roots of these plants (Srivastava et al. 2017; Goulart et al. 2024).

The effects of microorganisms on plants are largely due to the specificity of the interaction (Srivastava, 2017). Therefore, we inoculated the strain *Desmonostoc* sp. UFLA12 into *S. auriculata*, since this strain was originally isolated from the roots of this plant. Thus, we suggest that the increase in clonal growth of *S. auriculata* was greater in the *Desmonostoc* sp. UFLA12 inoculation treatment due to the specificity of the plant–cyanobacteria relationship (Kollmen & Strieth 2022; Stewart et al. 1983). Specificity is developed through an evolutionary process that enables adaptation from one species to another and allows each organism to benefit from the association. The strain *Desmonostoc* sp; UFLA12 produces an

exopolysaccharide sheath that enables cyanobacteria to attach to surfaces, including plant roots. This sheath also stores photo-assimilates and inorganic nutrients that can be utilized by both cyanobacteria and plants as required. (Kollmen & Strieth 2022; Schooling & Beveridge 2006).

In addition to other compounds provided by cyanobacteria, it is highly likely that N from BNF is responsible for the increase in the number of ramets and the increase in the biomass and size of these new ramets. Several authors have reported plant growth in the presence of cyanobacteria, and the most cited mechanism is BFN (Adak et al. 2016; El Sheek et al. 2018; Nisha et al. 2018; Prasanna et al. 2013, 2015, 2016, 2017; Osman et al. 2010; Shariatmadari et al. 2013; Singha 2009; Sumaira Mazhar et al. 2011; Tahir et al. 2015; Verma et al. 2016; Zayadan et al. 2014). The main genera used are *Nostoc*, *Anabaena*, *Cylindrospermum*, *Phormidium* and *Oscillatoria* (Múnera-Porras et al. 2020), however there are no studies with the genus *Desmonostoc*. Finally, we suggest that the association of *S. auriculata* with *Desmonostoc* sp. UFLA12 offers a significant advantage for the spread of this macrophyte, particularly in nitrogen-poor, oligotrophic environments. Associations between plants and cyanobacteria, although little studied, occur in water bodies and must have a relevant ecological role in maintaining the ecosystem.

REFERENCES

- ADAK A, PRASANNA R, BABU S, BIDYARANI N, VERMA S, PAL M & NAIN L. 2016. Micronutrient enrichment mediated by plant-microbe interactions and rice cultivation practices. *Journal of Plant Nutrition*, 39(9), 1216-1232.
- ADAMS DG. 2000. Symbiotic interactions. In: Whitton BA, Potts M (Eds.) *The Ecology of Cyanobacteria, Their Diversity in Time and Space*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands, pp. 523–61.
- AGUIAR R, FIORE MF, FRANCO MW, VENTRELLA MC, LORENZI AS, VANETTI CA & ALFENAS AC. 2008. A Novel epiphytic cyanobacterial species from the genus *Brasilonema* causing damage to *Eucalyptus* leaves 1. *Journal of Phycology*, 44(5), 1322-1334. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00584.x>
- AHMED M, STAL LJ & HASNAIN S. 2010. Association of non-heterocystous cyanobacteria with crop plants. *Plant and Soil*, 336, 363-375. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0488-x>
- ALAHUHTA J, LINDHOLM M, BAASTRUP-SPOHR L, GARCÍA-GIRÓN J, TOIVANEN M, HEINO J & MURPHY K. 2021. Macroecology of macrophytes in the freshwater realm: Patterns, mechanisms and implications. *Aquatic Botany*, 168, 103325.
- ALLEN MM. 1968. Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates 1, 2. *Journal of phycology*, 4(1), 1-4.
- BIONDI M, PIMENTA LL, RODRIGUES GC, LIMA GP, VAZ MGMV & COELHO FF. 2025. Vegetative and Reproductive Allocation in an Aquatic Macrophyte: The Effects of Light, Nutrients, and Epiphytic Heterocytous Cyanobacteria. *Limnological Review*, 25(2), 22.
- BORNETTE G & PUIJALON S .2011. Response of aquatic plants to abiotic factors: a review. *Aquatic sciences*, 73, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00027-010-0162-7>

COALE TH, LOCONTE V, TURK-KUBO KA, VANSLEMBROUCK B, MAK WKE, CHEUNG S & ZEHR JP. 2024. Nitrogen-fixing organelle in a marine alga. *Science*, 384(6692), 217-222.

CRAWLEY MJ. 2012. The R book. John Wiley & Sons.

DAR NA, PANDIT AK & GANAI BA. 2014. Factors Affecting the Distribution Patterns of Aquatic Macrophytes. *Limnological Review*, 14(2):75-81. <https://doi.org/10.2478/limre-2014-0008>

DEMETRIO GR & COELHO FF. 2023. What are the consequences of clonal integration for floral traits and reproductive investment of a broadly distributed aquatic plant? *Flora*, 303, 152292. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2023.152292>

DE KROON H & HUTCHINGS MJ. 1995. Morphological plasticity in clonal plants: the foraging concept reconsidered, *Journal of Ecology*, 143-152. <https://doi.org/10.2307/2261158>

DE LA SOTA ER. 1962. Contribución al conocimiento de Las Salviniaceae neotropicales, I *Salvinia oblongifolia* Martius. *Darwiniana*, 465-498.

DIEZ B & ININBERGS K. 2014. Ecological importance of cyanobacteria. In: SHARMA NK, RAI AK, STAL LJ (eds) *Cyanobacteria: an economic perspective*. Wiley, Chichester. <https://doi.org/10.1002/9781118402238.ch3>

DONG M, DURING HJ & WERGER MJ. 1997. Clonal plasticity in response to nutrient availability in the pseudoannual herb, *Trientalis europaea* L, *Plant Ecology*, 131, 233-239. <https://doi.org/10.1023/A:1009783921753>

EL SHEEK MM, ZAYED MA & ELMOSSEL FK. 2018. Effect of cyanobacteria isolates on rice seeds germination in saline soil. *Baghdad Science Journal*, 15(1), 0016-0016.

ELBERT W, WEBER B, BURROWS S, STEINKAMP J, BÜDEL B, ANDREAE MO & PÖSCHL U. 2012. Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen, *Nature Geoscience*, 5(7), 459-462. <https://doi.org/10.1038/ngeo1486>

FRANKLIN S, ALPERT P, SALGUERO-GÓMEZ R, JANOVSÝ Z, HERBEN T, KLIMEŠOVÁ J & DOUHOVNIKOFF V .2021. Next-gen plant clonal ecology, *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, 49, 125601. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2021.125601>

GENG XM & HE WM .2021. Success of native and invasive plant congeners depends on inorganic nitrogen compositions and levels, *Journal of Plant Ecology*, 14(2), 202-212. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtaa088>

GONZÁLEZ APR, CHRTEK J, DOBREV, PI, DUMALASOVÁ V, FEHRER J, MRÁZ P & LATZEL V. 2016. Stress-induced memory alters growth of clonal offspring of white clover (*Trifolium repens*), *American Journal of Botany*, 103(9), 1567-1574. <https://doi.org/10.3732/ajb.1500526>

GOULART JTDSS, QUINTANILHA-PEIXOTO G, ESTEVES BDS, DE SOUZA SA, LOPES PS, DA SILVA ND & INTORNE AC. 2024. Isolation and Characterization of Plant-Growth-Promoting Bacteria Associated with *Salvinia auriculata* Aublet. *Microorganisms*, 12(9), 1842.

GUFU GD, MANEA A & LEISHMAN MR. 2019. Growth, reproduction and functional trait responses of three freshwater plant species to elevated carbon dioxide, *Aquatic Botany*, 154, 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2018.12.006>

HAROUN SA & HUSSEIN MH. 2003. The promotive effect of algal biofertilizers on growth, protein pattern and some metabolic activities of *Lupinus termis* plants grown in siliceous soil, Asian journal of Plant sciences. <https://doi.org/10.3923/ajps.2003.944.951>

HARPER JL. 1977. Population biology of plants, Population biology of plants.

HOFFMAN BM, LUKOYANOV D, YANG ZY, DEAN DR & SEEFELDT LC. 2014. Mechanism of nitrogen fixation by nitrogenase: the next stage. Chemical reviews, 114(8), 4041-4062. <https://doi.org/10.1021/cr400641x>

HROUZEK P, LUKEŠOVÁ A, MAREŠ J & VENTURA S. 2013. Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*, Fottea, 13(2), 201-213. <https://doi.org/10.5507/fot.2013.016>

IQBAL U, WAHAB A, RAFIQ S, NOREEN S, ABID S, SHARIF M & YOUSUF M. 2025. Structural Traits Driving Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Aggressive Spread and Ecosystem Disruption. *Water, Air, & Soil Pollution*, 236(7), 1-26.

JAMPEETONG A & BRIX H. 2009. Nitrogen nutrition of *Salvinia natans*: Effects of inorganic nitrogen form on growth, morphology, nitrate reductase activity and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *Aquatic botany*, 90(1), 67-73.

JULIEN MH, CENTER TD & TIPPING PW. 2002. Floating fern (salvinia), Biological control of invasive plants in the Eastern United States, 17-32.

JULIEN MH, HILL, MP & TIPPING PW. 2009. *Salvinia molesta* DS Mitchell (Salviniaceae). *Weed biological control with arthropods in the tropics*. Cambridge University Press, Cambridge, 378-407.

- KHOLSSI R, MARKS EA, MIÑÓN J, MATÉ AP, SACRISTÁN G, MONTERO O & RAD C. 2021. A consortium of cyanobacteria and plant growth promoting rhizobacteria for wheat growth improvement in a hydroponic system, *South African Journal of Botany*, 142, 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.035>
- KLUGE M, MOLLENHAUER D, WOLF E & SCHÜSSLER A. 2002 The *Nostoc-Geosiphon* endocytobiosis, IN: *Cyanobacteria in symbiosis*, 19-30.
- KOLLAH B, PATRA AK & MOHANTY SR. 2016. Aquatic microphylla *Azolla*: a perspective paradigm for sustainable agriculture, environment and global climate change, *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 4358-4369. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5857-9>
- KOLLMEN J & STRIETH D. 2022. The beneficial effects of cyanobacterial co-culture on plant growth, *Life*, 12(2), 223. <https://doi.org/10.3390/life12020223>
- KUYPERS MM, MARCHANT HK & KARTAL B. 2018. The microbial nitrogen-cycling network, *Nature Reviews Microbiology*, 16(5), 263-276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- LACOUL P & FREEDMAN B. 2006. Relationships between aquatic plants and environmental factors along a steep Himalayan altitudinal gradient. *Aquat Bot* 84:3–16
- LEFCHECK JS. 2016. “piecewiseSEM: Piecewise structural equation modeling in R for ecology, evolution, and systematics.” *Methods in Ecology and Evolution*, 7(5), 573-579. doi:10.1111/2041-210X.12512 <<https://doi.org/10.1111/2041-210X.12512>>.
- LUBEMBE SI, OKOTH S, TURYASINGURA B, OYUGI T, IBARASA H, MOENGA K & CHAVULA P. 2023. Water Hyacinth, an invasive species in Africa: A literature review.

MAZHAR S, COHEN JD & HASNAIN S. 2019. Novel Approach for the Determination of Nitrogen Fixation in Cyanobacteria, *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 41(1), 105-105.

MEDEIROS JCC, COELHO FF & TEIXEIRA E. 2016. Biomass allocation and nutrients balance related to the concentration of Nitrogen and Phosphorus in *Salvinia auriculata* (Salviniaceae). *Brazilian Journal of Biology*, 76, 461-468. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.21114>

MEEKS JC. 2005. Molecular mechanisms in the nitrogen-fixing *Nostoc*-bryophyte symbiosis, *Molecular basis of symbiosis*, 165-196.

MIRANDA CV & SCHWARTSBURD PB. 2019 *Salvinia* (Salviniaceae) in southern and southeastern Brazil—including new taxa, new distribution records, and new morphological characters, *Brazilian Journal of Botany*, 42, 171-188. <https://doi.org/10.1007/s40415-019-00522-5>

OSMAN MEH, EL-SHEEKH MM, EL-NAGGAR AH & GHEDA SF. 2010. Effect of two species of cyanobacteria as biofertilizers on some metabolic activities, growth, and yield of pea plant, *Biology and fertility of soils*, 46, 861-875. <https://doi.org/10.1007/s00374-010-0491-7>

PRASANNA R, BABU S, RANA A, KABI SR, CHAUDHARY V, GUPTA V, PAL RK (2013). Evaluating the establishment and agronomic proficiency of cyanobacterial consortia as organic options in wheat–rice cropping sequence, *Experimental agriculture*, 49(3), 416-434. <https://doi.org/10.1017/S001447971200107X>

PRASANNA R, HOSSAIN F, BABU S, BIDYARANI N, ADAK A, VERMA S & NAIN L. 2015. Prospecting cyanobacterial formulations as plant-growth-promoting agents for maize hybrids. *South African Journal of Plant and Soil*, 32(4), 199-207

PRASANNA R, KANCHAN A, RAMAKRISHNAN B, RANJAN K, VENKATACHALAM S, HOSSAIN F & NAIN L. 2016a. Cyanobacteria-based bioinoculants influence growth and yields by modulating the microbial communities favourably in the rhizospheres of maize hybrids, *European Journal of Soil Biology*, 75, 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.04.001>

PRASANNA R, RAMAKRISHNAN B, RANJAN K, VENKATACHALAM S, KANCHAN A, SOLANKI P, & KRANTHI S. 2016b. Microbial inoculants with multifaceted traits suppress *Rhizoctonia* populations and promote plant growth in cotton, *Journal of Phytopathology*, 164(11-12), 1030-1042. <https://doi.org/10.1111/jph.12524>

PRASANNA R, RAMAKRISHNAN B, SIMRANJIT K, RANJAN K, KANCHAN A, HOSSAIN F & NAIN L. 2017. Cyanobacterial and rhizobial inoculation modulates the plant physiological attributes and nodule microbial communities of chickpea, *Archives of Microbiology*, 199, 1311-1323. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1405-y>

PIMENTA LL, LIMA GP, BIONDI M, VAZ MGMV & COELHO FF. 2022. Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrients on the production of heterocyst, akinete and hormogonia, *Aquatic Ecology*, 56(3), 543-553. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09922-w>

POTT VJ, POTT A, LIMA LCP, MOREIRA SN & OLIVEIRA AK. 2011. Aquatic macrophyte diversity of the Pantanal wetland and upper basin. *Brazilian Journal of Biology*, 71, 255-263.

RAI AN, BERGMAN B & RASMUSSEN U. 2002. Cyanobacteria in symbiosis, Kluwer Academic Pub.

RAI AN, SINGH AK & SYIEM MB. 2019. Plant growth-promoting abilities in cyanobacteria, In: *Cyanobacteria*, Academic Press, 459-476

R CORE TEAM. 2023. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

ROLON AS & MALTCHIK L. 2006. Environmental factors as predictors of aquatic macrophyte richness and composition in wetlands of southern Brazil. *Hydrobiologia*, 556, 221-231.

ROOM PM. 1990. Ecology of a simple plant-herbivore system. Biological control of *Salvinia*. *Trends in Ecology & Evolution*, 5(3), 74-79.

ROOM PM. 1983. Falling apart'as a lifestyle: the rhizome architecture and population growth of *Salvinia molesta*, *The Journal of Ecology*, 349-365. <https://doi.org/10.2307/2259719>

SANTAMARÍA L. 2002. Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta oecologica*, 23(3), 137-154.

SCHOOLING SR, BEVERIDGE TJ (2006) Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms, *Journal of bacteriology*, 188(16), 5945-5957. <https://doi.org/10.1128/jb.00257-06>

SCULTHORPE CD. 1967 *The biology of aquatic vascular plants*.

SERGEEVA E, LIAIMER A & BERGMAN B. 2002. Evidence for production of the phytohormone indole-3-acetic acid by cyanobacteria, *Planta*, 215, 229-238. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0749-x>

SHARIATMADARI Z, RIAHI H, SEYED HASHTROUDI M, GHASSEMPOUR A & AGHASHARIATMADARY Z. 2013. Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran, *Soil Science and Plant Nutrition*, 59(4), 535-547. <https://doi.org/10.1080/00380768.2013.782253>

SINGHA A. 2009. Diversity of Cyanobacteria in Organic Farming Field Under Rice-wheat Cropping System (Doctoral dissertation, IARI, Division of Microbiology, New Delhi).

SRIVASTAVA JK, CHANDRA H, KALRA SJ, MISHRA P, KHAN H & YADAV P. 2017. Plant-microbe interaction in aquatic system and their role in the management of water quality: a review, *Applied Water Science*, 7, 1079-1090. <https://doi.org/10.1007/s13201-016-0415-2>

STEWART WDP, ROWELL P & RAI AN. 1983. Cyanobacteria-eukaryotic plant symbioses, In: *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*, Elsevier Masson 134 (1) 205-228. [https://doi.org/10.1016/S0769-2609\(83\)80106-9](https://doi.org/10.1016/S0769-2609(83)80106-9)

SUMAIRA MAZHAR SM & SHAHIDA HASNAIN SH. 2011. Screening of native plant growth promoting cyanobacteria and their impact on *Triticum aestivum* var. Uqab 2000 growth.

TAHIR M, MIRZA MS, HAMEED S, DIMITROV MR & SMIDT H. 2015. Cultivation-based and molecular assessment of bacterial diversity in the rhizosphere of wheat under different crop rotations. *PloS one*, 10(6), e0130030.

VERMA S, ADAK A, PRASANNA R, DHAR S, CHOUDHARY H, NAIN L & SHIVAY YS. 2016. Microbial priming elicits improved plant growth promotion and nutrient uptake in pea, *Israel Journal of Plant Sciences*, 63(3), 191-207.

ZAYADAN BK, MATORIN DN, BAIMAKHANOVA GB, BOLATHAN K, ORAZ GD & SADANOV AK. 2014. Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields. *Microbiology*, 83, 391-397.

ZHANG LM, JIN Y, YAO SM, LEI NF, CHEN JS, ZHANG Q & YU FH. 2020. Growth and morphological responses of duckweed to clonal fragmentation, nutrient availability, and population density, *Frontiers in Plant Science*, 11, 618.

ZHENG Z, BAI W & ZHANG WH. 2019. Clonality-dependent dynamic change of plant community in temperate grasslands under nitrogen enrichment, *Oecologia*, 189, 255-266.
<https://doi.org/10.1007/s00442-018-4317-x>

ZUO S, LIU L, ZHOU C, WANG X & HUANG D. 2023. Effects of nitrogen limitation on *Leymus chinensis* clonal growth form and bud bank, *Flora*, (298) 152186.
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2022.152186>

TERCEIRA PARTE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados fornecem subsídios relevantes para compreender as condições que favorecem a diferenciação de heterócitos e acinetos na cepa *Desmonostoc* sp. UFLA12, bem como o papel ecológico dessa cianobactéria em ecossistemas aquáticos. Verificou-se que a concentração de fósforo exerce influência positiva sobre a produção de heterócitos funcionais, embora não tenha afetado o desprendimento dessas células dos filamentos. Para a diferenciação de acinetos, a menor concentração testada (1,5 mg P/L) atuou como um importante gatilho para a cepa estudada. Esses achados constituem os primeiros registros e interpretações acerca da participação do fósforo na sobrevivência e persistência de *Desmonostoc* sp. UFLA12, considerando que a formação de heterócitos e acinetos contribui para a manutenção de populações de cianobactérias heterocitadas. Ademais, os dados obtidos podem subsidiar estratégias de manejo e cultivo da espécie, tanto para fins de fertilização de ambientes quanto para o controle populacional em episódios de florações em sistemas eutrofizados. Por fim, destaca-se que a associação de *Salvinia auriculata* com *Desmonostoc* sp. UFLA12 representa uma vantagem ecológica significativa para a dispersão dessa macrófita, sobretudo em ambientes oligotróficos com baixa disponibilidade de nitrogênio. Essas interações, embora ainda pouco estudadas, ocorrem em corpos d'água naturais e provavelmente desempenham um papel relevante na manutenção e estabilidade dos ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, David G; DUGGAN, Paula S. Tansley Review No. 107. Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria. **The New Phytologist**, v. 144, n. 1, p. 3-33, 1999.
- AGRAWAL, Satish Chandra. Factors affecting spore germination in algae. **Folia microbiologica**, v. 54, n. 4, p. 273-302, 2009.
- BAKER, Peter D; BELLIFEMINE, Daniel. Environmental influences on akinete germination of *Anabaena circinalis* and implications for management of cyanobacterial blooms. **Hydrobiologia**, v. 427, n. 1, p. 65-73, 2000.
- BHOLA, Virthie et al. Overview of the potential of microalgae for CO₂ sequestration. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 11, n. 7, p. 2103-2118, 2014.
- BIONDI, Michel et al. Vegetative and Reproductive Allocation in an Aquatic Macrophyte: The Effects of Light, Nutrients, and Epiphytic Heterocytous Cyanobacteria. **Limnological Review**, v. 25, n. 2, p. 22, 2025.
- CHITTAPUN, Supenya et al. Effects of using cyanobacteria and fertilizer on growth and yield of rice, Pathum Thani I: a pot experiment. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 1, p. 79-85, 2018.
- DEEPTHI, Azhanthamilkunnathil Sankunny; RAY, Joseph George. Algal associates and the evidence of cyanobacterial nitrogen fixation in the velamen roots of epiphytic orchids. **Global Ecology and Conservation**, v. 22, p. e00946, 2020.
- EILY, Ariana N; PRYER, Kathleen M; LI, Fay-Wei. A first glimpse at genes important to the *Azolla*-*Nostoc* symbiosis. **Symbiosis**, v. 78, n. 2, p. 149-162, 2019.
- ELBERT, Wolfgang et al. Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen. **Nature Geoscience**, v. 5, n. 7, p. 459-462, 2012.
- ESTEVEZ-FERREIRA, Alberto A. et al. Nitrogen metabolism in cyanobacteria: metabolic and molecular control, growth consequences and biotechnological applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 541-560, 2018.
- GONÇALVES, Ana L. The use of microalgae and cyanobacteria in the improvement of agricultural practices: a review on their biofertilising, biostimulating and biopesticide roles. **Applied Sciences**, v. 11, n. 2, p. 871, 2021.
- HORI, Katsutoshi et al. Formation, sedimentation and germination properties of *Anabaena* akinetes. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, n. 1, p. 67-73, 2003.
- INNOK, Sasidhorn et al. Cyanobacterial akinete induction and its application as biofertilizer for rice cultivation. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 6, p. 737-744, 2009.

HROUZEK, Pavel et al. Description of the cyanobacterial genus *Desmonostoc* gen. nov. including *D. muscorum* comb. nov. as a distinct, phylogenetically coherent taxon related to the genus *Nostoc*. **Fottea**, v. 13, n. 2, p. 201-213, 2013.

KLUGE, M. et al. The *Nostoc*-*Geosiphon* endocytobiosis. **Cyanobacteria in symbiosis**, p. 19-30, 2002.

LI, Renhui; WATANABE, Masayuki; WATANABE, Makoto M. AKINETE FORMATION IN PLANKTONIC ANABAENA SPP.(CYANOBACTEFUA) BY TREATMENT WITH LOW TEMPERATURE 1. **Journal of Phycology**, v. 33, n. 4, p. 576-584, 1997.

MARTENS, Stefan. Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis. **Advances in Oceanography and Limnology**, v. 8, n. 2, 2017.

MEEKS, John C. Molecular mechanisms in the nitrogen-fixing *Nostoc*-bryophyte symbiosis. **Molecular basis of symbiosis**, p. 165-196, 2005.

MÚNERA-PORRAS, Luisa María; GARCÍA-LONDOÑO, Santiago; RÍOS-OSORIO, Leonardo Alberto. Action mechanisms of plant growth promoting cyanobacteria in crops in situ: A systematic review of literature. **International Journal of Agronomy**, v. 2020, n. 1, p. 2690410, 2020.

LINDBLAD, Peter; BERGMAN, Birgitta. Occurrence and localization of phycoerythrin in symbiotic *Nostoc* of *Cycas revoluta* and in the free-living isolated *Nostoc* 7422. **Plant physiology**, v. 89, n. 3, p. 783-785, 1989.

MOORE, David et al. Potential triggers for akinete differentiation in an Australian strain of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (AWT 205/1). **Hydrobiologia**, v. 506, n. 1, p. 175-180, 2003.

MYERS, Jackie H. et al. Potential triggers of akinete differentiation in *Nodularia spumigena* (Cyanobacteriaceae) isolated from Australia. **Hydrobiologia**, v. 671, n. 1, p. 165-180, 2011.
OLLI, K. Temporary cyst formation of *Heterocapsa triquetra* (Dinophyceae) in natural populations. **Marine Biology**, v. 145, n. 1, p. 1-8, 2004.

OLLI, Kalle; KANGRO, Kersti; KABEL, Mari. AKINETE PRODUCTION OF ANABAENA LEMMERMANNII AND A. CYLINDRICA (CYANOPHYCEAE) IN NATURAL POPULATIONS OF N-AND P-LIMITED COASTAL MESOCOSMS 1. **Journal of Phycology**, v. 41, n. 6, p. 1094-1098, 2005.

PAERL, Hans W; OTTEN, Timothy G. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. **Microbial ecology**, v. 65, n. 4, p. 995-1010, 2013.

PARK, Chae-Hong et al. Akinete germination chamber: an experimental device for cyanobacterial akinete germination and plankton emergence. **Harmful algae**, v. 72, p. 74-81, 2018.

PIMENTA, Larissa Langsdorff et al. Epiphytic cyanobacterial strains in the roots of *Salvinia auriculata* and the effect of light and nutrients on the production of heterocyst, akinete and hormogonia. **Aquatic Ecology**, v. 56, n. 3, p. 543-553, 2022.

RAM, Arun T; SHAMINA, M. RESEARCH ARTICLE Cyanobacterial association on the roots of epiphytic orchids. 2014.

RAY, Thomas B. et al. Azolla-anabaena relationships: VII. distribution of ammonia-assimilating enzymes, protein, and chlorophyll between host and symbiont. **Plant physiology**, v. 62, n. 3, p. 463-467, 1978.

SARMA, T. A; AHUJA, Gurpreet; KHATTAR, J. I. S. Nutrient stress causes akinete differentiation in cyanobacterium *Anabaena torulosa* with concomitant increase in nitrogen reserve substances. **Folia microbiologica**, v. 49, n. 5, p. 557-561, 2004.

SARMA, T. A; GHAI, R. Pattern of akinete differentiation in the cyanobacterium *Scytonema fritschii*. **Folia microbiologica**, v. 43, n. 6, p. 649-656, 1998.

SEASTEDT, Tim. Traits of plant invaders. **Nature**, v. 459, n. 7248, p. 783-784, 2009.

SECKBACH, Joseph et al. Algae and cyanobacteria under environmental extremes: final comments. In: **Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2007. p. 781-786.

STANIER, R. Y; COHEN-BAZIRE, Germaine. Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria. **Annual review of microbiology**, v. 31, n. 1, p. 225-274, 1977.

SUMMONS, Roger E. et al. 2-Methylhopanoids as biomarkers for cyanobacterial oxygenic photosynthesis. **Nature**, v. 400, n. 6744, p. 554-557, 1999.

THOMAS, Joseph. Absence of the pigments of photosystem II of photosynthesis in heterocysts of a blue-green alga. **Nature**, v. 228, n. 5267, p. 181-183, 1970.

THOMPSON, Peter A; JAMESON, Ian; BLACKBURN, Susan I. The influence of light quality on akinete formation and germination in the toxic cyanobacterium *Anabaena circinalis*. **Harmful Algae**, v. 8, n. 3, p. 504-512, 2009.

TSUJIMURA, Shigeo. Reduction of germination frequency in *Anabaena* akinetes by sediment drying: a possible method by which to inhibit bloom formation. **Water Research**, v. 38, n. 20, p. 4361-4366, 2004.

VAN DOK, Wendy; HART, Barry T. Akinete Differentiation in *Anabaena Circinalis* (Cyanophyta) 1. **Journal of Phycology**, v. 32, n. 4, p. 557-565, 1996.

VENKATARAMAN, Gopalamudram Sitaraman. **Blue-green algae for rice production: a manual for its promotion**. Food & Agriculture Org., 1981.

WHITTON, Brian A; POTTS, Malcolm (Ed.). **The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space**. Springer Science & Business Media, 2007.

WILDMAN, Ruth B; LOESCHER, Judith H.; CAROL, L. Winger. DEVELOPMENT AND GERMINATION OF AKINETES OF APHANIZOMENON FLOS-AQUAE 1. **Journal of Phycology**, v. 11, n. 1, p. 96-104, 1975.

WILDON, D. C; MERCER, F. V. The ultrastructure of the heterocyst and akinete of the blue-green algae. **Archiv für Mikrobiologie**, v. 47, n. 1, p. 19-31, 1963.

VERMAAS, Wim FJ. Photosynthesis and respiration in cyanobacteria. **Encyclopedia of life sciences**, v. 1, p. 1-7, 2001.

ZHANG, Cheng-Cai et al. Heterocyst differentiation and pattern formation in cyanobacteria: a chorus of signals. **Molecular microbiology**, v. 59, n. 2, p. 367-375, 2006.