

Diversidade Genética e Evolução nos Gêneros *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*: Uma Abordagem Filogenética e Filogenômica

Daniel Gomes^{1,*}, Reno Nooblath^{2,*}, and Vinícius Abreu^{2,+}

¹Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

²Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil

*daniel.h.gomes18@gmail.com

*reno.bioinfo@gmail.com

ABSTRACT

As cianobactérias têm sido objeto de investigação utilizando bioinformática devido à sua capacidade de formar florações tóxicas prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana. No entanto, além dessas preocupações, existe um interesse crescente na pesquisa de genes com potencial para a produção de bioprodutos naturais e na compreensão de seu papel na fixação de nitrogênio, um processo crucial para os ecossistemas aquáticos, onde essas bactérias desempenham um papel fundamental no suprimento de nitrogênio para o crescimento de outros organismos, como algas e plantas aquáticas. Este estudo se concentrou na análise da diversidade genética e da evolução de dois gêneros da família Aphanizomenonaceae, *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*. A análise envolveu a comparação de genomas de espécies selecionadas por meio de técnicas de filogenia do rRNA 16S, de genes concatenados e análise pangenômica através de softwares de bioinformática, algoritmos e alguns scripts. Os dados resultantes foram utilizados para conduzir análises filogenéticas e filogenômicas, que foram, por sua vez, estudadas por meio da abordagem de genômica comparativa. Os resultados revelaram uma divergência na evolução dos dois gêneros apesar de dividirem características morfológicas como nichos ecológicos semelhantes, fato esse que possivelmente foi influenciado pelas condições ambientais e pela transferência horizontal de genes. Além disso, dentro do gênero *Cylindrospermopsis*, foram identificados grupos distintos de espécies em diferentes regiões geográficas, indicando possíveis adaptações locais. Em contraste, as espécies de *Sphaerospermopsis* permaneceram geneticamente mais conservadas. Essas descobertas proporcionam uma compreensão abrangente das relações evolutivas, da diversidade biológica e da classificação entre as espécies de *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*, oferecendo compreensões valiosas para pesquisas científicas e aplicações biotecnológicas. Em adição, elas contribuem para uma melhor caracterização taxonômica desses gêneros. A pesquisa também destaca a importância contínua da monitorização de cianobactérias devido às suas potenciais florações tóxicas. Essas informações ressaltam a relevância da bioinformática na exploração da biologia desses organismos essenciais para a saúde do nosso planeta.

Introdução

As cianobactérias, também conhecidas como algas azuis-verdes, desempenham um papel crucial nos ecossistemas aquáticos, sendo organismos fotossintetizantes pioneiros que evoluíram há bilhões de anos. Sua importância ecológica está intrinsecamente ligada à capacidade única de realizar fotossíntese oxigênica, desempenhando um papel vital na produção de oxigênio atmosférico [1]. Caracterizadas por sua diversidade fenotípica, as cianobactérias exibem morfologias variadas, desde células unicelulares até formas filamentosas e coloniais. A presença de heterócitos em algumas espécies é uma característica distintiva que permite a fixação de nitrogênio atmosférico, enriquecendo ecossistemas aquáticos com esse nutriente essencial. As cianobactérias podem ser encontradas em diversos nichos como água doce, água salgada e até folhas de árvores. Algumas delas são consideradas extremófilas, podendo ser encontradas em áreas com temperaturas elevadas como em solo vulcânico ou em temperaturas baixas como na Antártida. Desse modo fica evidente a plasticidade fenotípica das cianobactérias em sua capacidade de prosperar em ambientes extremos.

As cianobactérias, especificamente aquelas do gênero *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*, têm conquistado uma atenção crescente na comunidade científica dado a sua importância ecológica e o potencial impacto sobre a saúde humana e ecossistemas aquáticos. Estes microrganismos fotossintéticos estão distribuídos globalmente em ambientes aquáticos desempenhando um papel vital na fixação de nitrogênio e na produção de oxigênio [2]. No entanto, sua proliferação descontrolada, muitas vezes desencadeada pela eutrofização e mudanças climáticas [3], pode resultar na formação de florações de cianobactérias, que podem liberar toxinas prejudiciais para a saúde humana e a vida aquática. Outro ponto de significância no estudo dessas

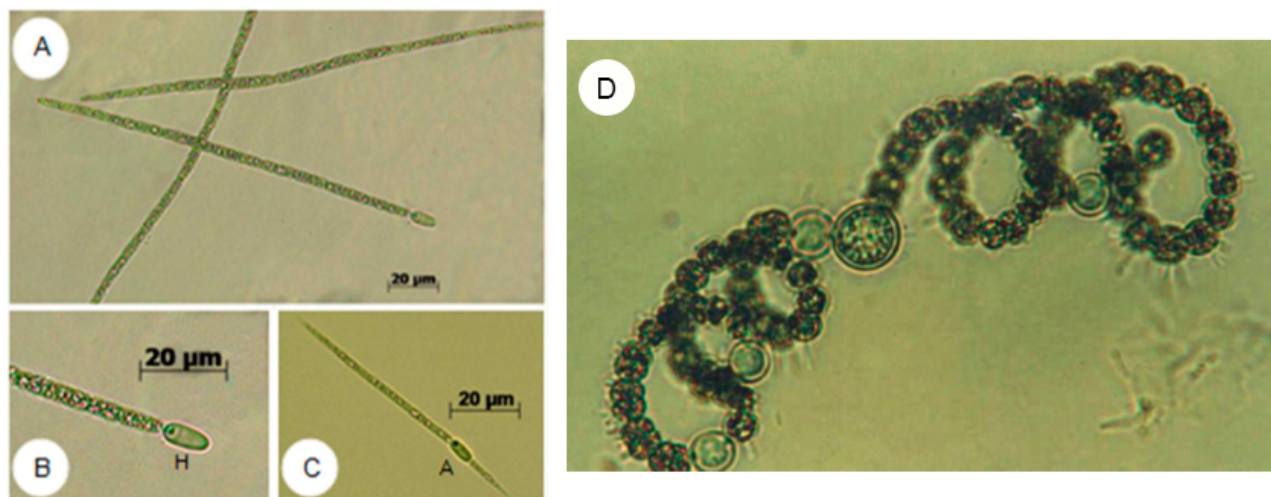


Figura 1. A:C Morfologia de *Cylandrospermopsis*¹ e **D** *Sphaerospermopsis*².

cianobactérias é a sua evolução e diversificação. Portanto, a compreensão aprofundada das relações filogenéticas e da diversificação genômica nesses gêneros é essencial para aprimorar a compreensão sobre os mecanismos subjacentes à sua ecologia, fisiologia e potencial toxicogênico [4].

Pois como esses organismos eram considerados como algas, sua classificação taxonômica era definida basicamente por características morfológicas. Entretanto, essas cianobactérias têm morfologias muito próximas (**Figura 1**), o que pode acarretar em classificações equivocadas e levar a interpretações errôneas sobre a relação evolutiva entre diferentes linhagens, sua distribuição geográfica e seus fenótipos. Assim sendo, é necessário uma comparação molecular para classificar de modo correto tais espécies.

Nesse contexto, a filogenética molecular se estabelece como uma ferramenta *sine qua non* na elucidação da história evolutiva de microrganismos procariontes proporcionando um arcabouço taxonômico essencial. Mediante a análise de sequências moleculares altamente conservadas, como o gene 16S rRNA, pesquisadores têm delineado com precisão a posição taxonômica dos gêneros *Cylandrospermopsis* e *Sphaerospermopsis* dentro da classe Cyanobacteria [5]. Entretanto, apesar dos avanços, ainda persistem questões sobre as relações mais profundas entre esses gêneros e suas intrincadas interações ecológicas. A vertiginosa expansão no sequenciamento de genomas completos tem viabilizado uma análise filogenômica mais abrangente e precisa, conferindo esclarecimentos substanciais sobre a adaptação e evolução desses organismos [6].

A análise filogenética dos gêneros *Cylandrospermopsis* e *Sphaerospermopsis* proporciona uma perspectiva aprofundada da diversidade genética e evolução dessas cianobactérias. Esses estudos desempenham um papel fundamental para a compreensão da importância ecológica desses organismos em ecossistemas de água doce, uma vez que a variação nas respostas aos fatores ambientais, bem como nas interações com outros organismos, pode ser correlacionada com a sua estrutura fenotípica, oferecendo uma visão mais clara das adaptações locais e as pressões seletivas enfrentadas por esses microrganismos em diferentes habitats [7].

Por outro lado, a análise filogenômica possibilita a identificação de genes relacionados à produção de metabólitos secundários, apresentando potenciais aplicações práticas na descoberta de novos compostos bioativos [8]. A combinação de dados filogenéticos e genômicos proporciona uma compreensão abrangente das relações evolutivas entre as espécies desses gêneros, abrindo novas perspectivas para a pesquisa científica e o desenvolvimento de aplicações biotecnológicas.

No âmbito deste estudo, adotamos uma abordagem de genômica comparativa para investigar a diversidade e uniformidade genética presente nos genomas de diferentes cepas dos gêneros de *Cylandrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*. Através da análise de sequências de DNA, na aplicação de técnicas de inferência de árvores filogenéticas e na análise de pan-genoma, visamos aprofundar a compreensão dos padrões de evolução, adaptação e diversificação desses organismos aquáticos ao longo do tempo.

¹HOFF-RISSETI, Caroline et al. *Cylandrospermopsin and saxitoxin synthetase genes in Cylandrospermopsis raciborskii strains from Brazilian freshwater*. PLoS One, v. 8, n. 8, p. e74238, 2013.

²WERNER, Vera Regina et al. *Morphological and molecular studies of Sphaerospermopsis torques-reginae (Cyanobacteria, Nostocales) from South American water blooms*. Phycologia, v. 51, n. 2, p. 228-238, 2012.

Este enfoque pode fornecer revelações para responder a questões intrigantes, como a possível relação de irmandade entre os gêneros *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*, conforme mencionado em [9].

Resultados

Distribuição Global de Cianobactérias

Na análise dos dados obtidos através do NCBI, destacamos as espécies de *Cylindrospermopsis* e *sphaerospermopsis*, utilizando representações visuais por meio de esferas coloridas para facilitar a identificação. Essa abordagem permitiu uma visualização mais clara da distribuição global dessas cianobactérias (**Figura 2**).

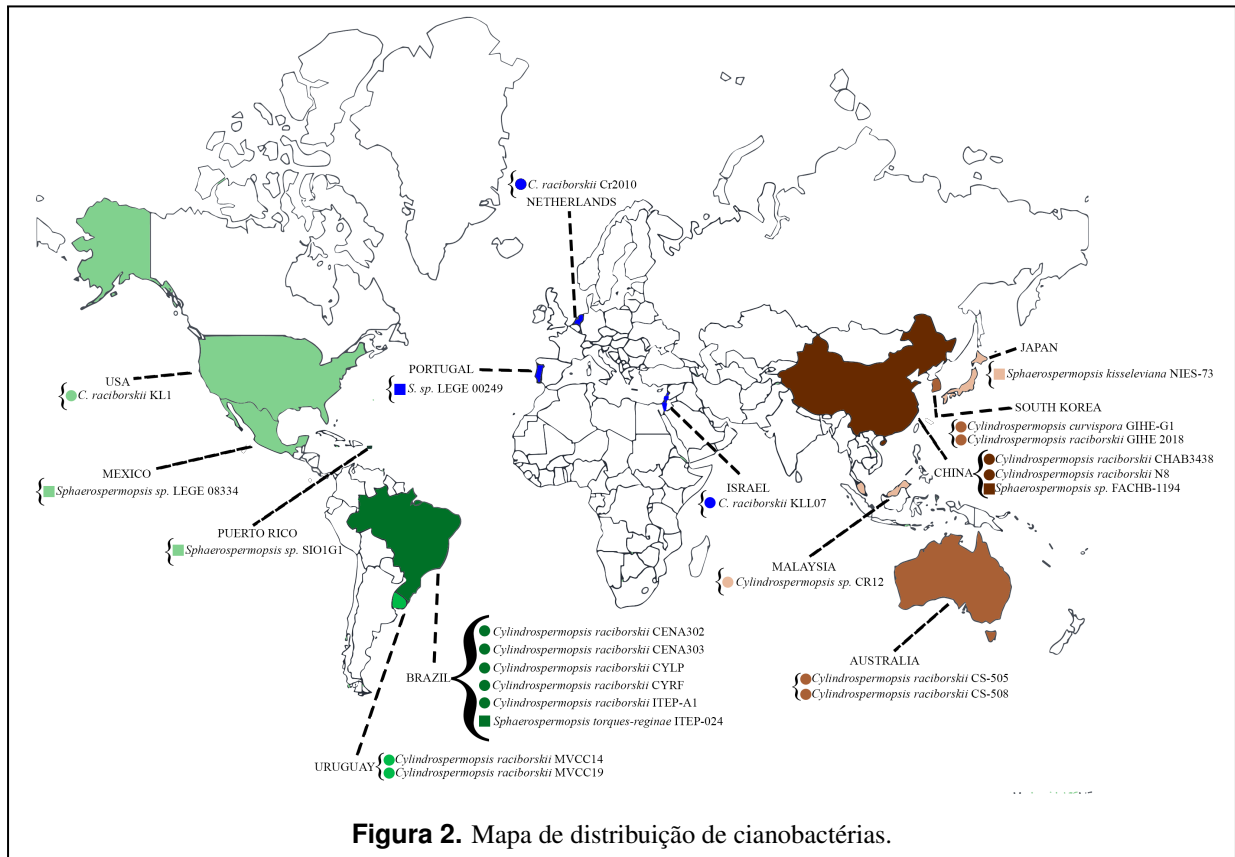


Figura 2. Mapa de distribuição de cianobactérias.

Como se pode observar, foram verificados basicamente três divisões entre as linhagens estudadas pertencentes aos continentes americano, europeu e asiático/oceânico. Não foram encontradas espécies representantes do continente africano na base de dados do NCBI.

Análise filogenética e filogenômica

Os genomas das espécies de cianobactérias analisadas neste estudo apresentaram semelhanças notáveis, apesar de serem provenientes de diversos locais do mundo. Após a inferência da árvore filogenética, foi encontrado uma clara separação entre os dois gêneros em estudo (**Figura 3A**), sugerindo que eles podem ter divergido de um ancestral comum mais distante do que os outros gêneros da família *Aphanizomenaceae*; o que indica que sua evolução foi necessária para se adaptar ao seu meio ambiente e, uma vez que essas cianobactérias são altamente adaptáveis [10], desenvolveram características morfológicas e fisiológicas únicas que as diferenciaram entre si.

Também foi possível identificar dois grupos se diferenciando entre as *Cylindrospermopsis*: um grupo composto pelas espécies encontradas na América e outro com uma união entre as espécies da Europa, Ásia e Oceania. Isso nos levar a indagar sobre as condições ambientais onde são encontradas essas espécies que podem causar essa aproximação. Já as espécies de *sphaerospermopsis* permaneceram próximas, o que implica que elas não sofreram mudanças evolutivas significativas nos últimos anos.

Analisando a árvore de Máxima Verossimilhança (ML) (**Figura 3B**) essa mesma estrutura é mantida, complementando a ideia acima. No caso das *sphaerospermopsis*, foi verificado que sua estrutura permanece a mesma.

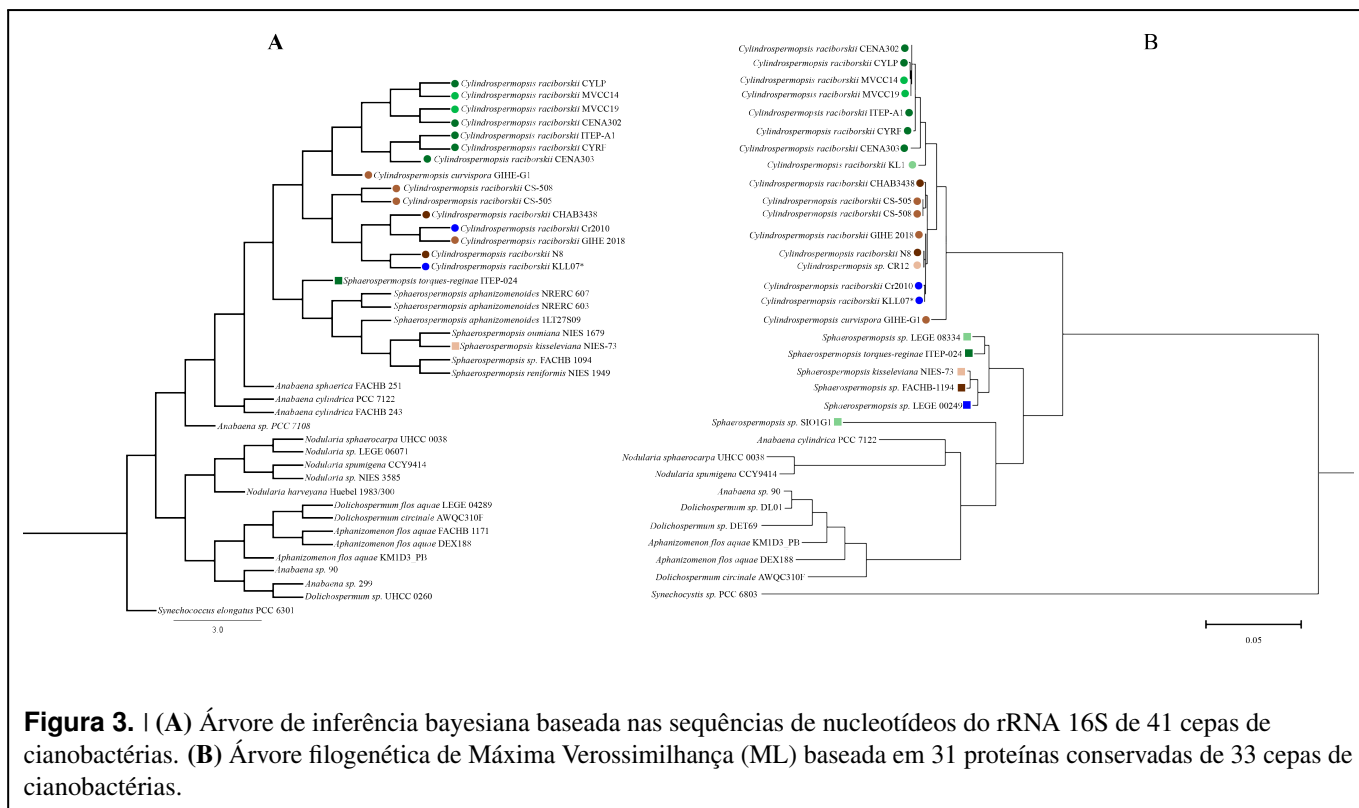


Figura 3. | (A) Árvore de inferência bayesiana baseada nas sequências de nucleotídeos do rRNA 16S de 41 cepas de cianobactérias. (B) Árvore filogenética de Máxima Verossimilhança (ML) baseada em 31 proteínas conservadas de 33 cepas de cianobactérias.

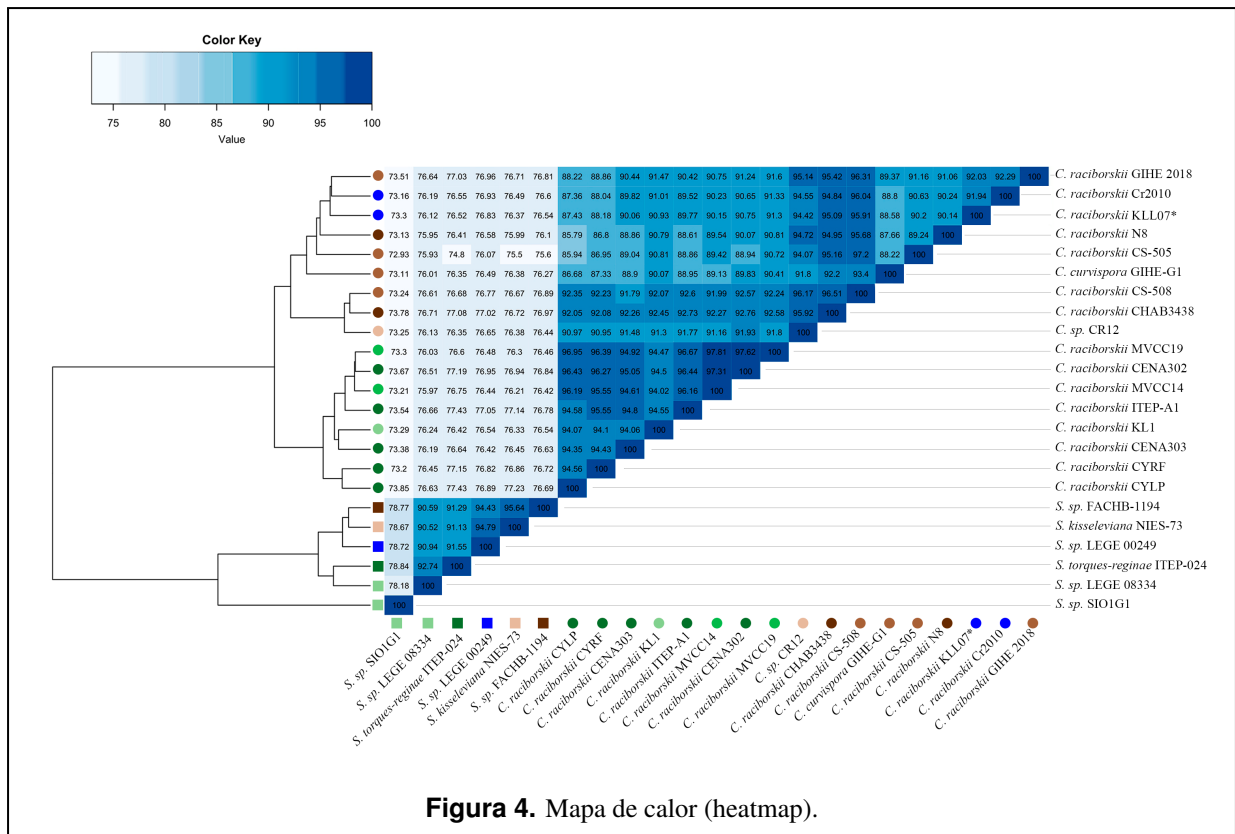
As linhagens de *Cylindrospermopsis raciborskii* demonstraram alta identidade entre si, com valores que variam entre 88.22% e 97.62%. Isso sugere que essas linhagens são muito semelhantes do ponto de vista molecular. A análise não formou clusters que englobassem tanto linhagens de *Cylindrospermopsis* quanto linhagens de *Sphaerospermopsis*. Isso indica que os genomas desses dois gêneros não são molecularmente semelhantes o suficiente para formar grupos com base na identidade de nucleotídeos. A linhagem *Sphaerospermopsis* LEGE 08334 apresenta diferentes níveis de identidade genética em relação a outras linhagens do gênero *Sphaerospermopsis*. Na (Figura 4) estão as porcentagens de identidade calculadas com base na similaridade de suas sequências genéticas.

A espécie *Sphaerospermopsis torques* ITEP 024 possui identidade de notáveis 91.55% quando comparada a *Sphaerospermopsis* LEGE 00249, e esta possui identidade genética atinge 90.94% em relação a *Sphaerospermopsis* LEGE 08334. A linhagem *Sphaerospermopsis* Kisseleviana NIES 73 exibe uma identidade de 90.52% em relação a *Sphaerospermopsis* LEGE 08334. A identidade genética com *Sphaerospermopsis* FACHB 1194 é de 90.59%. Por fim, a linhagem *Sphaerospermopsis* SIO1G1 apresenta uma identidade genética menor, com 78.18%. Essas porcentagens de identidade refletem a semelhança das sequências genéticas entre as linhagens, sendo que maior identidade implica em maior similaridade genética. Portanto, *Sphaerospermopsis torques* ITEP 024 é a mais similar, com o valor de identidade média de 97,53%, enquanto *Sphaerospermopsis* SIO1G1 é a menos similar, com o valor de identidade média de 87,25%, em comparação com *Sphaerospermopsis* LEGE 08334.

Discussão

No cenário da biologia aquática, a investigação da diversidade genética e evolução de cianobactérias se destaca como um campo crucial, com implicações diretas na saúde de ecossistemas aquáticos e na segurança humana. Este estudo direciona seu foco para os gêneros *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*, pertencentes à família Aphanizomenonaceae, cujas características morfológicas distintas e potenciais impactos ambientais fazem deles objetos de pesquisa de grande relevância.

Cylindrospermopsis é um gênero de cianobactéria amplamente reconhecido por suas características únicas, como a formação de tricomas cilíndricos e a produção de toxinas potencialmente nocivas, como a cilindrospermopsina. Estas toxinas têm implicações para a qualidade da água e a saúde humana, tornando o estudo dessa cianobactéria de grande importância [11]. *Sphaerospermopsis*, por sua vez, apresenta uma morfologia semelhante, caracterizada por tricomas alongados, mas com células mais esféricas e a presença distintiva ou não de bainhas mucilaginosas [12]. Esta diferenciação morfológica aponta para possíveis variações genéticas que podem influenciar as adaptações e interações ecológicas desse organismo em seu habitat.



Ambos os gêneros compartilham habitats de água doce e normalmente águas paradas como lagos e exibem uma notável capacidade de adaptação, ou seja, elas desenvolvem características genéticas específicas para se adaptarem a diferentes ambientes. Isso inclui adaptações a variações de temperatura, disponibilidade de nutrientes e outros fatores ambientais. No entanto, suas diferenças morfológicas refletem-se em suas filogenias genéticas. Uma das principais questões abordadas no estudo é como esses dois gêneros, que compartilham características morfológicas e ecológicas semelhantes, conseguiram prosperar em diferentes ambientes aquáticos. Através de análises filogenéticas como o rRNA 16S, análise de genes concatenados e inferência do mapa de calor, o estudo revelou uma divergência na evolução desses gêneros, indicando que fatores ambientais e transferência horizontal de genes desempenham um papel fundamental em sua evolução [13, 14]. Além disso, a capacidade de migrar pode ter desempenhado um papel significativo na ocupação de novos habitats e na adaptação a condições ambientais diversas ao longo do tempo, já que a migração de microrganismos, embora frequentemente associada a organismos multicelulares, desempenham um papel vital na dinâmica populacional de cianobactérias, como, por exemplo, os ciclos biogeoquímicos como o ciclo do nitrogênio e do fósforo. A diversidade evolutiva influencia a eficiência desses processos, impactando a disponibilidade de nutrientes nos ecossistemas aquáticos. Esses resultados são consistentes com pesquisas anteriores que destacaram a importância da adaptação genética e da plasticidade [15] para a sobrevivência de cianobactérias em ambientes variáveis.

Foi observado também que no mapa de calor (heatmap), (**Figura 4**), a espécie *Cylindrospermopsis Raciborskii* KLL07 [16] (bioamostra coletada do Mar da Galileia em Israel) teve um grau de identidade maior com *Cylindrospermopsis Raciborskii* Cr2010 [17] (sua bioamostra foi coletada dos lagos de Reeuwijkse, na cidade de Reeuwijk nos Países Baixos), espécies encontradas na Europa e EuroAsia. Isso reforça a suposição de que essas cianobactérias podem ser consideradas espécies cosmopolitas [18].

A análise de clados irmãos é fundamental na reconstrução da história evolutiva das espécies. Ela proporciona informações sobre quais grupos são mais estreitamente relacionados entre si, permitindo uma compreensão mais profunda da diversificação e das relações evolutivas ao longo do tempo. A identificação de clados irmãos também é crucial para a classificação e a taxonomia, ajudando a agrupar organismos de acordo com sua história evolutiva compartilhada. Entretanto, a definição de "clado irmão" é descrita apenas como espécies que possuem ancestrais comuns; só que essa definição é muito vaga e pouco eficiente, por isso é necessário uma análise mais profunda. Por isso, com os resultados deste estudo, fica claro que *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis*, do ponto de vista filogenético e filogenômico, são grupos distintos e com tendência a se diferenciarem mais. Logo a ideia desses gêneros serem irmãos, conforme foi proposto por [9], se torna ineficaz. Essa conclusão é consistente com a dinâmica evolutiva complexa observada em muitas cianobactérias, onde a convergência adaptativa, a transferência horizontal de

genes e a migração desempenham papéis importantes na diversificação genômica. Prova disto são os estudos sobre biogeografia de [19] que apontam que cianobactérias podem aparecer em qualquer lugar do mundo desde de que as condições sejam ideais, enquanto outras são geograficamente distintas.

A importância da atualização taxonômica é destacada por estudos anteriores que demonstraram a necessidade de revisões periódicas para refletir a compreensão atual da filogenia bacteriana [20], sendo assim também crucial para refletir e conhecer com precisão as relações e distinções evolutivas entre esses gêneros. A taxonomia precisa é fundamental, não apenas para a comunidade científica, mas também para aplicações práticas como a gestão de ecossistemas aquáticos e a compreensão dos potenciais impactos ambientais dessas cianobactérias.

Finalmente, o presente estudo acerca da diversidade genética e evolução das espécies *Cylindrospermopsis* e *Sphaerospermopsis* ressalta a significativa contribuição da análise filogenética e genômica para estudos abrangentes dos genomas bacterianos. Os resultados oriundos desta pesquisa não apenas esclarecem a compreensão fundamental da biodiversidade inerente a essas cianobactérias, mas também determinam perspectivas promissoras para futuras aplicações biotecnológicas. Esses resultados também ressaltam a necessidade de manter uma atualizada as suas classificações taxonômicas devido a dinâmica evolutiva complexa desses organismos e destaca a importância contínua da pesquisa para desvendar os mistérios genéticos das cianobactérias e seu impacto nos ecossistemas aquáticos e humano.

Em trabalhos futuros, serão feitas anotações desses genomas para que sejam identificados os genes responsáveis por essas características evolutivas desses organismos e quais aplicações podem ser inferidas a partir disso.

Organismo	ID taxonômico	Scaffolds	Origem da Amostra	Tamanho(Mb)	GC%	CDS
<i>Cylindrospermopsis curvispora</i> GIHE-G1	2666332	2	South Korea	4.05721	40.1	3461
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CENA302	1170768	58	Brazil	3.47642	40.1	3066
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CENA303	1170769	77	Brazil	3.3986	40.3	3014
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CHAB3438	1480071	189	China	3.54409	40.5	3077
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> Cr2010	2108055	1	Netherlands	3.75785	40.2	3216
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CS-505	533240	6	Australia	4.15926	40.3	3620
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CS-508	533243	162	Australia	3.5566	40.2	3076
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CYLP	2021699	188	Brazil	3.97214	40.0	0
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> CYRF	2021698	166	Brazil	4.15005	40.0	0
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> GIHE 2018	2588993	3	South Korea	3.62982	40.2	3203
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> ITEP-A1	1810942	195	Brazil	3.60584	40.1	3206
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> KLI	2787621	100	Usa	3.65739	40.0	3115
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> KLL07	683357	1	Israel	3.80818	40.2	3221
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> MVCC14	940191	99	Uruguay	3.59452	40.1	3165
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> MVCC19	940192	155	Uruguay	3.5152	40.1	3043
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> N8	1524929	1	China	3.85717	40.1	3291
<i>Cylindrospermopsis</i> sp. CR12	1747196	136	Malaysia	3.72396	40.1	3215
<i>Sphaerospermopsis kisseleviana</i> NIES-73	1973480	2	Japan	5.60999	37.7	4744
<i>Sphaerospermopsis</i> sp. FACHB-1194	2692862	108	China	5.40592	37.6	4881
<i>Sphaerospermopsis</i> sp. LEGE 00249	1380707	177	Portugal	5.29888	37.5	4675
<i>Sphaerospermopsis</i> sp. LEGE 08334	1828651	119	Mexico	5.54873	37.2	4876
<i>Sphaerospermopsis</i> sp. SIO1G1	2607814	38	Puerto Rico	5.18785	36.3	4160
<i>Sphaerospermopsis torques-reginae</i> ITEP-024	984208	1	Brazil	5.25454	37.5	4705

Tabela 1. Lista dos genomas analisados.

Métodos

Cepas de Cianobactérias

Os genomas analisados neste estudo foram obtidos diretamente da plataforma do National Center for Biotechnology Information (NCBI), usando a seguinte especificação de busca: “*Cylindrospermopsis*” e “*Sphaerospermopsis*”. Os resultados foram filtrados por número de scaffolds de até 200, de modo a evitar perda da qualidade das informações (**Figura 5**). No total, foram identificados 23 genomas (17 *Cylindrospermopsis* e 6 *Sphaerospermopsis*) (**Tabela 1**).

Inferência das Árvores Filogenética e Filogenômica

Para obter a árvore filogenética do gene 16S RNAr (**Figura 6**), foi definido a espécie de referência *Cylindrospermopsis Raciborskii* KLL07 [16]. Então foi utilizado a ferramenta online Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) tendo como "query sequence" a linhagem de referência, e como "subject sequence" as outras espécies em análise. As sequências obtidas

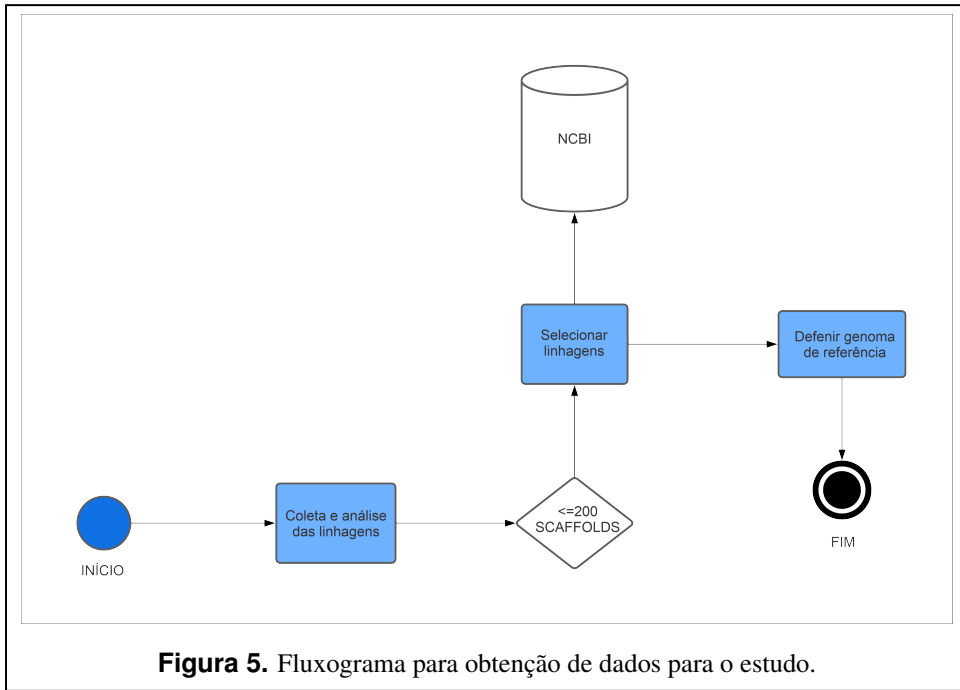


Figura 5. Fluxograma para obtenção de dados para o estudo.

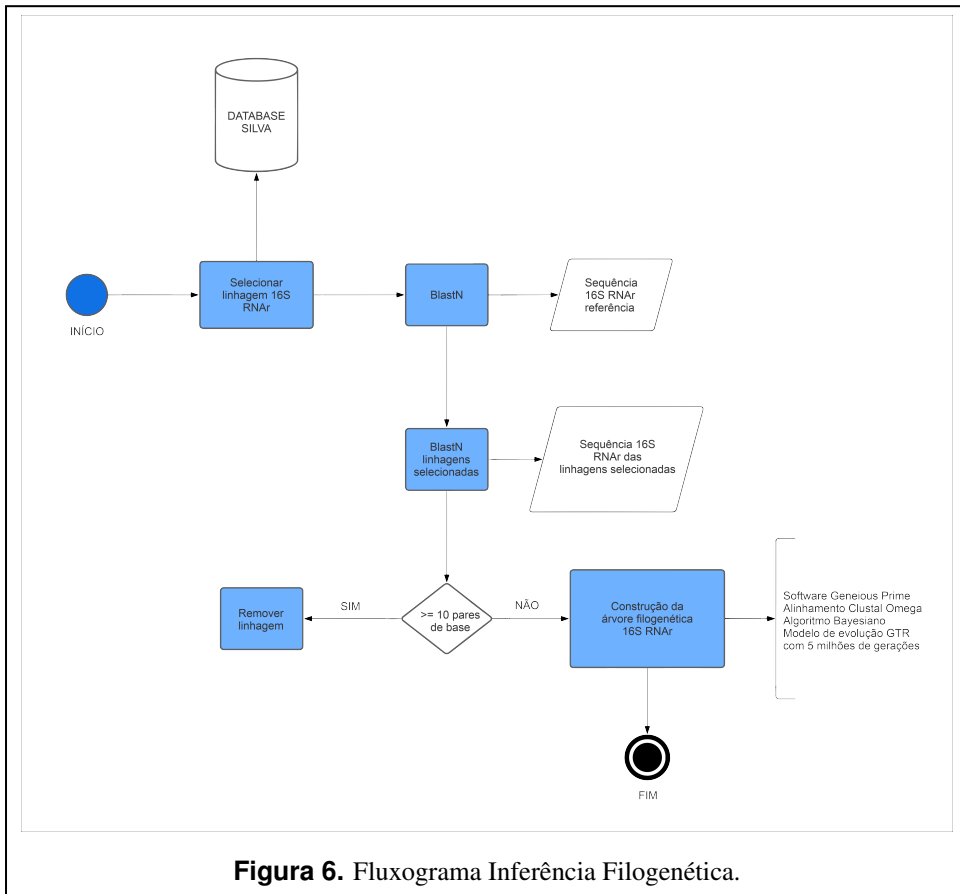


Figura 6. Fluxograma Inferência Filogenética.

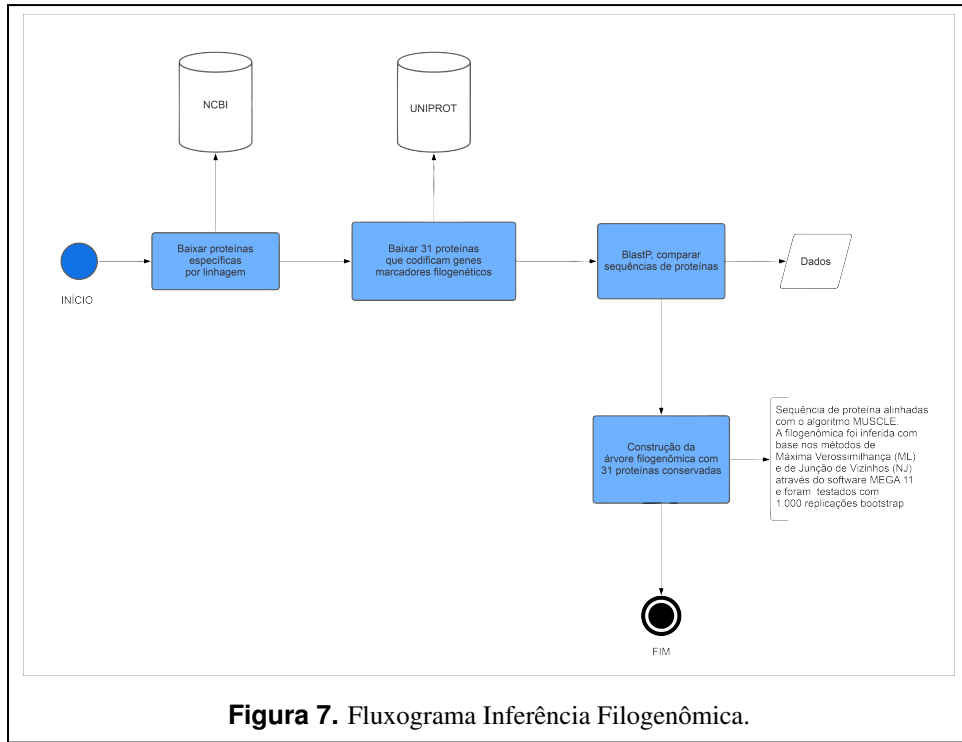


Figura 7. Fluxograma Inferência Filogenômica.

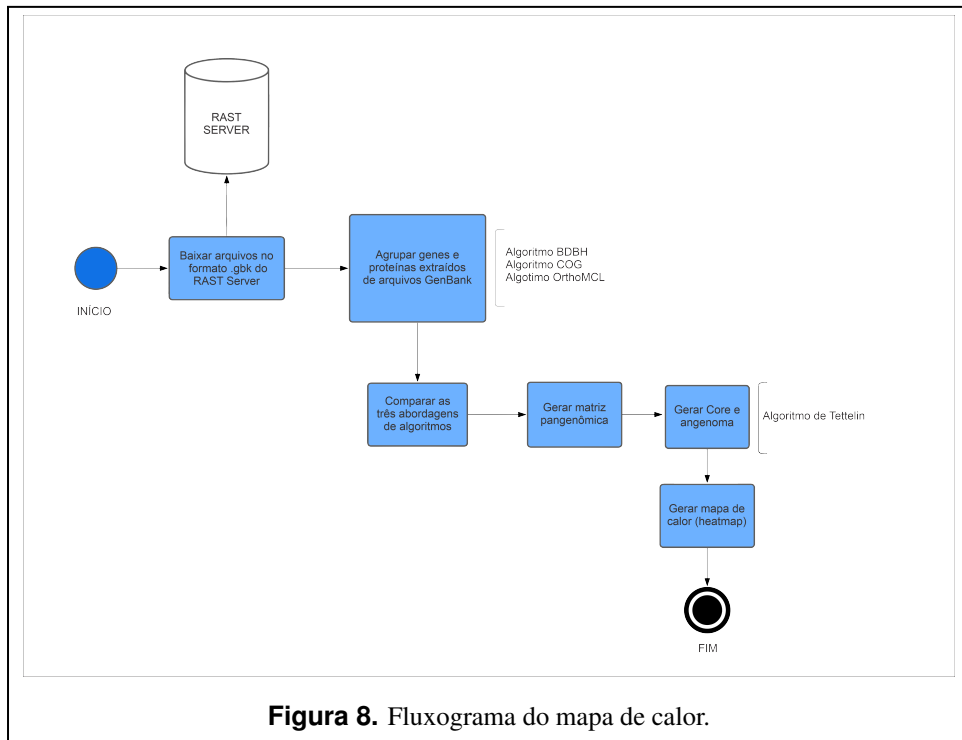


Figura 8. Fluxograma do mapa de calor.

foram alinhadas utilizando o software Geneious Prime 2023 com a sub-ferramenta Clustal Omega; com as sequências alinhadas, foi utilizado a inferência bayseana através da subferramenta Mr. Bayes para gerar a árvore de filogenética com 5.000.000 de gerações [21]. A árvore filogenômica foi inferida, (**Figura 7**), utilizando 31 sequências de proteínas altamente conservadas [22]. A pesquisa por homólogos foram feitas através do BLASTP com 33 genomas de cianobactérias. Foi utilizado a ferramenta MEGA V.11 [23] para fazer o alinhamento das sequências com a opção MUSCLE com parâmetros padrão. Então, a árvore de máxima verossimilhança (ML) foi construída por essa mesma ferramenta utilizando o modelo de substituição Whelan And Goldman + Freq [24] com valor de replicações de bootstrap de 1.000 [25].

Core e pangenoma

Os arquivos anotados foram obtidos no formato GenBank por meio do servidor RAST Server, abrangendo tanto sequências de nucleotídeos quanto de proteínas. A análise do core e do pangenoma foi realizada utilizando a ferramenta GetHomologues, que emprega três abordagens algorítmicas distintas: o algoritmo Markov Cluster, COGtriangles e Best Database hits. A Filogenômica foi conduzida em três fases distintas. Na primeira etapa, foram desenvolvidos o core e pangenoma para os gêneros de cianobactérias *Cylindrospermopsis*. Na segunda etapa, o core e pangenoma foram estabelecidos para as cianobactérias do gênero *Sphaerospermopsis*. Na última etapa, foi desenvolvido o core e pangenoma incorporando todas as linhagens estudadas. Um mapa de calor, calculando a identidade média de nucleotídeos, foi gerado utilizando a matriz pangenoma como entrada para o script "plot matrix heatmap" da ferramenta GetHomologues. Essa análise foi realizada com base na similaridade de sequências entre todos os genomas (**Figura 8**).

Referências

1. Zhmur, S. I. & Gerasimenko, L. M. Biomorphic forms in carbonaceous meteorite allende and possible ecological system as producer of organic matter of chondrites. In *Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology II*, vol. 3755, 48–58 (SPIE, 1999).
2. Zehr, J. P. *et al.* Globally distributed uncultivated oceanic n₂-fixing cyanobacteria lack oxygenic photosystem ii. *science* **322**, 1110–1112 (2008).
3. Ndlela, L. L., Oberholster, P. J., Van Wyk, J. & Cheng, P.-H. An overview of cyanobacterial bloom occurrences and research in africa over the last decade. *Harmful Algae* **60**, 11–26 (2016).
4. Abreu, V. A. *et al.* Genomic and genotypic characterization of *cylindrospermopsis raciborskii*: toward an intraspecific phylogenetic evaluation by comparative genomics. *Front. microbiology* **9**, 306 (2018).
5. Suda, S. *et al.* Taxonomic revision of water-bloom-forming species of oscillatorioid cyanobacteria. *Int. journal systematic evolutionary microbiology* **52**, 1577–1595 (2002).
6. Shih, P. M. *et al.* Improving the coverage of the cyanobacterial phylum using diversity-driven genome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 1053–1058 (2013).
7. Humbert, J.-F. *et al.* A tribute to disorder in the genome of the bloom-forming freshwater cyanobacterium *microcystis aeruginosa*. *PloS one* **8**, e70747 (2013).
8. Yang, C., Lin, F., Li, Q., Li, T. & Zhao, J. Comparative genomics reveals diversified crispr-cas systems of globally distributed *microcystis aeruginosa*, a freshwater bloom-forming cyanobacterium. *Front. microbiology* **6**, 394 (2015).
9. Sant'Anna, C. L. *et al.* Phylogenetic connection among close genera of aphanizomenonaceae (cyanobacteria): *Amphiheterocytum* gen. nov., *cylindrospermopsis* and *sphaerospermopsis*. *Algal Res.* **37**, 205–214 (2019).
10. Padisak, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (wołoszynska) seenayya et subba raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Arch. Für Hydrobiol. Suppl. Monogr. Beitrage* **107**, 563–593 (1997).
11. Pearson, L., Mihali, T., Moffitt, M., Kellmann, R. & Neilan, B. On the chemistry, toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin and *cylindrospermopsin*. *Mar. drugs* **8**, 1650–1680 (2010).
12. McGregor, G. B. Freshwater cyanobacteria of north-eastern australia: 3. nostocales. *Phytotaxa* **359**, 21–22 (2018).
13. Daubin, V. & Szöllösi, G. J. Horizontal gene transfer and the history of life. *Cold Spring Harb. perspectives biology* **8**, a018036 (2016).
14. Komarek, J., Kaštovský, J., Mares, J. & Johansen, J. Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach. *Preslia -Praha-* **86**, 295–335 (2014).
15. Hairston Jr, N. *et al.* Natural selection for grazer resistance to toxic cyanobacteria: evolution of phenotypic plasticity? *Evolution* **55**, 2203–2214 (2001).

16. Laloum, E. *et al.* Isolation and characterization of a novel lambda-like phage infecting the bloom-forming cyanobacteria *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environ. Microbiol.* **24**, 2435–2448 (2022).
17. Martin, R. M. *et al.* *Cylindrospermopsis raciborskii* virus and host: genomic characterization and ecological relevance. *Environ. microbiology* **21**, 1942–1956 (2019).
18. Antunes, J. T., Leão, P. N. & Vasconcelos, V. M. *Cylindrospermopsis raciborskii*: review of the distribution, phylogeography, and ecophysiology of a global invasive species. *Front. Microbiol.* **6**, 473 (2015).
19. Beaver, J. R., Tausz, C. E., Scotese, K. C., Pollard, A. I. & Mitchell, R. M. Environmental factors influencing the quantitative distribution of microcystin and common potentially toxigenic cyanobacteria in us lakes and reservoirs. *Harmful Algae* **78**, 118–128 (2018).
20. Whitman, W. B., Coleman, D. C. & Wiebe, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **95**, 6578–6583 (1998).
21. Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**, 1572–1574 (2003).
22. Wu, M. & Eisen, J. A. A simple, fast, and accurate method of phylogenomic inference. *Genome biology* **9**, 1–11 (2008).
23. Tamura, K., Stecher, G. & Kumar, S. Mega11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol. biology evolution* **38**, 3022–3027 (2021).
24. Whelan, S. & Goldman, N. A general empirical model of protein evolution derived from multiple protein families using a maximum-likelihood approach. *Mol. biology evolution* **18**, 691–699 (2001).
25. Felsenstein, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *evolution* **39**, 783–791 (1985).