

LISBOA 2015

LISBOA 2015
08-10 JULHO

**Instituto Nacional de Saúde
Doutor Ricardo Jorge**

LIVRO DE RESUMOS

4º CONGRESSO IBÉRICO DE CIANOTOXINAS
VI REUNIÃO DA REDE IBÉRICA DE CIANOTOXINAS

4º CONGRESO IBÉRICO DE CIANOTOXINAS
VI REUNIÓN DE LA RED IBÉRICA DE CIANOTOXINAS
LIBRO DE RESÚMENES

08 -10 JULHO

Lisboa 2015

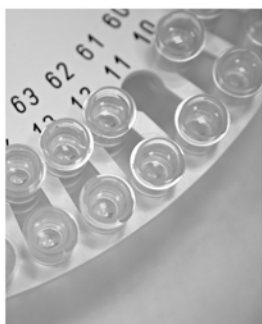
PATROCINADORES



AMBIENTE



- Monitorização e avaliação de águas naturais, de consumo e de processo
 - Caracterização de efluentes líquidos, resíduos sólidos, sedimentos e solos
 - Verificação e calibração de equipamentos de monitorização em contínuo
 - Caracterização de combustíveis sólidos
 - Análise de emissões gasosas
-
- Serviços de consultoria sobre a qualidade da água
 - Estudos de corrosão química e biológica, de *biofouling* e de otimização de águas de processo
 - Avaliação do estado trófico de albufeiras e da qualidade ecológica de rios
 - Avaliação da eficácia de regimes de caudais ecológicos
-
- 60.600 análises/ano
 - 690 campanhas amostragem/ano
 - 99 ensaios acreditados



COMISSÃO ORGANIZADORA

COMITÉ ORGANIZADOR

Paulo Pereira

Arminda Vilares

Carina Menezes

Catarina Churro

Elisabete Valério

Elsa Dias

Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia

Departamento de Saúde Ambiental

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge



COMISSÃO CIENTÍFICA

COMITÉ CIENTÍFICO

Ana Caméan Universidad de Sevilla

Antonio Quesada Universidad Autónoma de Madrid

Elisabete Valério Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Elsa Dias Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Fernando Cobo Universidad de Santiago de Compostela

Francisca del Campo Universidad Autónoma de Madrid

Isabel Moreno Universidad de Sevilla

Josep Caixach Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua de Barcelona (IDAEA)-CSIC

Luis Botana Universidad de Santiago de Compostela

M. Luisa Peleato Universidad de Zaragoza.

Mariangeles Puig Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CEAB)-CSIC

Marina Aboal Universidad de Murcia

Paulo Pereira Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Rosário Martins Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental- CIIMAR/ CIMAR, Universidade do Porto

Vitor Vasconcelos Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental- CIIMAR/ CIMAR, Universidade do Porto

PROGRAMA

QUARTA-FEIRA/MIÉRCOLES

8 DE JULHO/JULIO

	13:00	Recepção e Entrega de Documentação
	14:30	Sessão de abertura Comissão Organizadora do 4°CIC Conselho Directivo do Instituto Ricardo Jorge
	14:45 15:45	Conferência Inaugural Cyanotoxins: an old business or an innovative opportunity? <u>António Quesada</u> (Universidad Autónoma de Madrid)
Sessão 1 Sesión 1	15:45 16:15	Sessão Plenária <i>Distribución de cianobacterias y cianotoxinas</i> <u>Soledad Sanz</u> (Universidad Autónoma de Madrid)
Monitorização, ocorrência e filogeografia de cianobactérias e cianotoxinas	16:15 16:35	S101 Monitorização de cianotoxinas em águas doces portuguesas: primeira deteção de cilindrospermopsina, anatoxina-a e saxitoxinas <u>Moreira C.</u> , Mendes R, Matos A, Vasconcelos V, Antunes A
Monitoreo, ocurrencia y filogeografía de cianobacterias y cianotoxinas	16:35 16:55	S102 Estudos de toxicidade em um manancial de água doce com floração de cianobactérias no Estado do Rio Grande do Sul (RS)- Brasil Fraga TM, Vargas VF, Dutra BK, <u>Rodrigues NR</u>
	16:55 17:15	Coffee-break
Moderadores	17:15 17:35	S103 Monitorização do gene <i>mcyA</i> e de microcistina numa florescência de <i>Planktothrix agardhii</i> – Que papel desempenha o parasitismo quitrídeo na dinâmica destas florescências? <u>Churro C.</u> , Penado A, Silva B, Menezes C., Dias E, Valério E, Vasconcelos V
Filomena Araújo (Administração Regional de Saúde do Alentejo)	17:35 17:55	S104 Endolithic Cyanobacteria from extreme environments: Biodiversity and Chemodiversity <u>Rego A.</u> , Martins T, Costa MSR, Ramos V, Vasconcelos V, Magalhães C., Leão P
Maríangeles Puig (Centro de Estudios Avanzados de Blanes/CSIC)	17:55 18:15	S105 Metacomunity of cyanobacterial blooms in a semi-arid reservoir <u>Lorenzi AS.</u> , Chia MA, Navarrete AA, Affonso GF, Bittencourt-Oliveira MC
	18:15 18:35	S106 Efeito do herbicida glifosato sobre o crescimento e produção de saxitoxinas em <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <u>Dörr E.</u> , Pinto E
	18:35	Porto de Honra

Sessão 2 Sesión 2	09:30 10:00	Sessão Plenária <i>Determinación de cianotoxinas. Caracterización y Cuantificación por Espectrometría de Masas</i> <u>Cintia Flores</u> (Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua de Barcelona / CSIC)
Biossíntese, métodos de detecção e caracterização de cianotoxinas	10:00 10:20	S2O1 Ecotoxicological assays and detection of cyanobacteria toxigenic genes as tools for predicting toxicity by specific cyanotoxins <u>Diniz C</u> , Palma P, Reis MP
Biosíntesis, métodos de detección y caracterización de cianotoxinas	10:20 10:40	S2O2 Avaliação da influência da intensidade de luz na expressão do gene <i>mcyA</i> e na produção de microcistina em <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Planktothrix agardhii</i> <u>Salvador D</u> , Churro C, Valério E
Moderadores	10:40 11:00	Coffee-break
Pedro Leão (Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental/ Universidade do Porto)	11:00 11:20	S2O3 Detecção do potencial cianotóxico em águas superficiais do Arquipélago dos Açores através de métodos moleculares <u>Cordeiro R</u> , Luz R, Gonçalves V, Fonseca A
Josep Caixach (Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua de Barcelona/ CSIC)	11:20 11:40	S2O4 Novel cyanopeptolin variants produced by <i>Desmonostoc</i> sp. CENA382 from the Brazilian Atlantic Forest <u>Sanz M</u> , Pinto E
	11:40 13:00	Sessão de Posters/Sesión Posters Demonstrações/Taller de demostración
	13:00 14:00	Almoço/Almuerzo

Sessão 3 Sesión 3 Avaliação, gestão e remediação de riscos ecológicos e para a saúde humana Evaluación, gestión y recuperación de los riesgos ambientales y de salud humana		Sessão Plenária
	14:00 14:30	<i>Riscos decorrentes da exposição humana a cianotoxinas por via ora;; água, outros alimentos e suplementos alimentares</i> <u>Vitor Vasconcelos</u> (Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental/ Universidade do Porto)
	14:30 14:50	S3O1 Sistema Renal Hídrico (SRH) para el manejo y control de cuerpos de agua eutrofizados <u>Santiago E, Patricio BS, Andrinolo D</u>
	14:50 15:10	S3O2 Bioacumulação e depuração de microcistina-LR em hortaliças (<i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Eruca sativa</i> Mill.) irrigados com água contaminada: Implicações para a saúde humana <u>Bittencourt-Oliveira MC, Cordeiro-Araújo MK, Chia MA, Tornisiello VL, Vilca FZ, Moura AN, Arruda-Neto JDT</u>
Moderadores	15:10 15:30	S3O3 Effects of proteolytic digestion on the cyanotoxins microcystin-LR and cylindrospermopsin: the importance in integrating the bioaccessibility in human health risk assessment <u>Freitas M, Azevedo J, Carvalho AP, Mendes VM, Manadas B, Campos A, Vasconcelos V</u>
Fernando Cobo (Universidad de Santiago Compostela)	15:30 15:50	S3O4 Degradação de microcistina através da exposição à radiação gama e feixes de elétrons <u>Cavalcante-Silva E, Andrette RO, Rocha O, Arruda-Neto JDT, Quesada A</u>
António Quesada (Universidad Autónoma de Madrid)	15:50 16:20	Coffee-break
Sessão 4 Sesión 4 Toxicologia de cianotoxinas Toxicología de cianotoxinas		Sessão Plenária
	16:20 16:50	<i>Nuevos avances en el conocimiento de la toxicidad de cianotoxinas</i> <u>Silvia Pichardo</u> (Universidad de Sevilla)
	16:50 17:10	S4O1 Efectos de metabolitos tóxicos producidos por <i>Aphanizomenon ovalisporum</i> en cultivos de células HepG2 <u>Valle S, Fernández-Freire P, Barón-Sola A, Sanz-Alfárez S</u>
	17:10 17:30	S4O2 Effects of the irrigation with Microcystin contaminated water on the quality of carrots (<i>Daucus carota</i>) <u>Machado J, Azevedo J, Freitas M, Pinto E, Vasconcelos V, Campos A</u>
	17:30 17:50	S4O3 Glutathione Transferases responses induced by Microcystin-LR in the clam <i>Ruditapes philippinarum</i> <u>Carneiro M, Reis B, Azevedo J, Machado J, Campos A, Osório H, Vasconcelos V, Martins JC</u>
	17:50 18:10	S4O4 Uso da levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para elucidar mecanismos de toxicidade da microcistina-LR <u>Valério E, Campos A, Vilares A, Osório H, Pereira P, Vasconcelos V</u>
	18:10 18:30	S4O5 Cianobactérias associadas a esponjas marinhas (Porifera): diversidade e produção de toxinas <u>Regueiras A, Vasconcelos V</u>
	18:30	Visita guiada a Lisboa em autocarro anfíbio – HIPPOtrip Visita guiada a Lisboa en autobús anfíbio - HIPPOtrip
	20:30	Jantar do Congresso/ Cena del Congreso

Sessão 5 Sesión 5	09:00 09:30	Sessão Plenária <i>Las nuevas tendencias de I&D en las cianobacterias y cianotoxinas</i> <u>Luís Botana López</u> (Universidade de Santiago Compostela)
Novas tendências de I&D em cianobactérias e Cianotoxinas	09:30 09:50	S501 ¿Cómo pueden contribuir las técnicas de secuenciación masiva a la detección de cianobacterias tóxicas? El ejemplo del Embalse de Rosarito (España) <u>Casero MC</u> , Velázquez D, Cirés S, Medina M, Quesada A
Las nuevas tendencias de I&D en las cianobacterias y cianotoxinas	09:50 10:10	S502 Structure and Biosynthesis of the Bartolosides <u>Leão PN</u> , Nakamura H, Costa M, Pereira AR, Martins R, Vasconcelos V, Gerwick WH, Balskus EP
Moderadores Elsa Dias (Instituto Ricardo Jorge)	10:10 10:30	S503 Isolation of bioactive compounds from Morocco marine cyanobacterial mats <u>Martins I</u> , Ramos V, Costa MS, Bessa LJ, Martins da Costa P, Urbatzka R, Hassouani M, Brahim S, Vasconcelos V, Leão P
Rosário Martins (Escola Superior das Tecnologias da Saúde/ Instituto Politécnico do Porto)	10:30 10:50	S504 Effect of the pharmaceuticals metformin, escitalopram and furosemide in cyanobacteria growth Oliveira L, Pereira R, Costa J, <u>Barros P</u>
	10:50 11:10	S505 Susceptibilidade reduzida a antibióticos e genes de resistência em cianobactérias de água doce superficial e residual <u>Dias E</u> , Oliveira M, Jones-Dias D, Vasconcelos V, Caniça M
	11:10 11:30	Coffee-break
	11:30 13:00	Sessão de Posters/Sesión Posters Demonstrações/Taller de demostración Reunião da Rede Ibérica de Cianotoxinas Reunión Red Ibérica de Cianotoxinas Moderadores Mariangeles Puig (Centro de Estudios Avanzados de Blanes/CSIC) Vitor Vasconcelos (Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental/ Universidade do Porto)
	13:00 13:30	Entrega de Prémios Sessão de Encerramento/Clausura del Congreso Comissão Organizadora do 4ºCIC Conselho Directivo do Instituto Ricardo Jorge

RESUMOS

RESÚMENES

Cyanotoxins: an old business or an innovative opportunity?

Quesada A.

Dpt. Biología. Universidad Autónoma de Madrid. 28049 Madrid. España

* antonio.quesada@uam.es

Tras más de un siglo de estudio de las cianotoxinas y varias décadas de experimentación activa, es el momento de hacer una reflexión sobre el tema. Qué sabemos?, qué nos falta por saber?, hemos progresado?, Los desarrollos de los últimos años han conducido a unas capacidades analíticas con las que podemos secuenciar la comunidad completa de un lago a lo largo del año, podemos analizar la presencia de toxinas en concentraciones muy bajas con sistemas más accesibles y con una certidumbre muy elevada. Hemos descubierto nuevas toxinas, como el BMAA, que preocupan enormemente, y en lo que respecta a la gestión, la mayor parte de los estados han diseñado estrategias de monitorización y de acción que muestran una creciente sensibilidad. Sin embargo, es en el ámbito ecológico donde no hemos progresado tanto. Las cianobacterias siguen dominando muchos de nuestros ecosistemas acuáticos, siguen produciendo toxinas y la población sigue expuesta a los riesgos derivados de las cianotoxinas. Seguimos sin entender bien el papel de las cianotoxinas en los ecosistemas aunque nuevas hipótesis han emergido en los últimos años (parasitismo, etc.) y es en estos campos donde más podremos progresar en los próximos años. Nuevos avances tecnológicos permitirán determinar de forma semiautomática la comunidad de cianobacterias in situ con muy buena resolución taxonómica, espacial y temporal. Determinaremos también de forma automática e in situ la concentración de varias cianotoxinas, lo que permitirá mejorar la gestión del problema. Los sistemas integrados de gestión, incluyendo acercamientos multiescala que permitirán entender y modelizar los ecosistemas con costes accesibles y con las resoluciones necesarias para permitir un conocimiento ecológico más sólido y una gestión más adecuada. No debemos olvidar la participación ciudadana que con la popularización de las herramientas sociales puede participar de manera muy activa en la investigación y la gestión del problema.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Innovación, métodos integrados, nuevas tecnologías

SESSÃO 1

MONITORIZAÇÃO, OCORRÊNCIA E FILOGEOGRAFIA DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

SESIÓN 1

MONITOREO, OCURRENCIA Y FILOGEOGRAFÍA DE CIANOBACTERIAS Y CIANOTOXINAS

Distribución de cianobacterias y cianotoxinas

Sanz-Alfárez S.

Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Biología. Campus de Cantoblanco. 28049-Madrid

* soledad.sanz@uam.es

Los afloramientos de cianobacterias han aumentado como consecuencia del cambio climático y de la eutrofización de sistemas acuáticos, generado por el enriquecimiento de nutrientes (principalmente por nitrógeno y compuestos ricos en fósforo) procedentes del desarrollo urbano, agrícola e industrial. En general, en estos afloramientos se acumulan compuestos tóxicos, por lo que son denominados *blooms* de algas nocivas: *cyanoHABs*; aunque coexisten tanto cianobacterias productoras de toxinas como no productoras, así como otros organismos del fitoplancton. La detección precoz de las especies cianotoxigénicas es una herramienta valiosa para iniciar los protocolos de prevención, control y tratamiento del agua. En la actualidad, las reacciones de PCR y real time qPCR son frecuentemente empleadas, estando basadas en la descripción previa de los genes involucrados en la formación de las enzimas que participan en la síntesis de las cianotoxinas, principalmente PKs y NRPSs. Por otro lado, con el fin de entender la dispersión global de cianobacterias y la distribución de cianotoxinas se han realizado estudios filogenéticos con distintas especies y/o estirpes, aplicándose métodos moleculares, desde la comparación de secuencias del gen rDNA 16S, la región ITSs, y RAPDs, hasta estudios de perfiles complejos de DNAs y descripción de genomas completos. La aplicación y el avance en el diseño de programas informáticos y estadísticos también han ayudado a interpretar los resultados obtenidos en estos análisis moleculares. Se presentarán los resultados obtenidos en algunos estudios filogenéticos, basados en diferentes regiones genómicas, en los que se estudian las estructuras filogeográficas que podrían justificar la distribución de estirpes cianobacterianas en puntos geográficos y ambientes concretos.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianotoxinas, cianotoxigénica, filogenéticos, filogeográficos

Monitorização de cianotoxinas em águas doces portuguesas: primeira deteção de cilindrospermopsina, anatoxina-a e saxitoxinas

Moreira C.^{1*}, Mendes R.^{1,2}, Matos A.¹, Vasconcelos V.^{1,2}, Antunes A.^{1,2}

(1) CIIMAR/CIMAR, Laboratório de Ecotoxicologia, Genómica e Evolução, Rua dos Bragas, 289, Porto 4050-123, Portugal

(2) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, Porto 4169-007, Portugal

* cmoreira@ciimar.up.pt

Os blooms de cianobactérias são uma ameaça crescente para os ecossistemas aquáticos em todo o mundo. Além de diminuírem a qualidade da água a libertação de compostos bioativos tóxicos (cianotoxinas) pode seriamente afetar a saúde humana e animal que depende desses ecossistemas aquáticos. Com vários casos de morbilidade e de mortalidade quer em humanos quer em animais descritos em todo o mundo a sua repercussão no meio ambiente também é outro grande impacto que estes compostos acarretam. Denominadas de cianotoxinas estas resultam do metabolismo secundário dos seres mais antigos que habitam o nosso planeta, as cianobactérias. Embora amplamente descritas em todos os continentes a sua distribuição é distinta em que, enquanto nalguns casos a representação é mais global noutras é mais restrita. Em Portugal, o seu impacto foi destacado onde pela primeira vez foi confirmada a presença de três cianotoxinas importantes (cilindrospermopsina, anatoxina-a e saxitoxinas) em ecossistemas de água doce. Para tal foram efectuadas amostragens entre 2012 e 2013 nos meses de Maio a Outubro num total de sete sistemas aquáticos localizados nas zonas Norte e Centro de Portugal. As amostras foram primeiro sujeitas a uma deteção molecular da presença de cianotoxinas usando primers já previamente descritos. Dos resultados positivos obtidos por análise molecular foi depois efectuada a quantificação das cianotoxinas por métodos analíticos como ELISA e HPLC com confirmação posterior por LC-MC. Os valores obtidos indicam a presença pela primeira vez de cilindrospermopsina, anatoxina-a e saxitoxinas em águas doces portuguesas com impacto doméstico, recreativo e agrícola. Este estudo vem realçar a importância da monitorização destas três cianotoxinas em Portugal dado que esta avaliação constitui a sua primeira deteção.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cianotoxinas, Monitorização, Cilindrospermopsina, Anatoxina-a, Saxitoxinas

Estudos de toxicidade em um manancial de água doce com floração de cianobactérias no Estado do Rio Grande do Sul (RS)- Brasil

Fraga T.M.^{1,2}, Vargas V.F.¹, Dutra B.K.¹, Rodrigues N.R.^{1*}

(1)Departamento de Pesquisas e Análises Laboratoriais-Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM)

(2)Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul-(PIBIC FEPAM)

* ninarr@fepam.rs.gov.br; thaniziane_fraga@yahoo.com.br

A Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) monitora a qualidade de corpos hídricos no Rio Grande do Sul conforme parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira. Entre esses parâmetros, encontra-se a densidade de cianobactérias, organismos que podem crescer em excesso, nas denominadas florações, em ambientes eutrofizados, e que são potencialmente tóxicos, pois podem produzir hepatotoxinas, neurotoxinas e dermatotoxinas. A Lagoa do Peixoto, localizada em Osório (RS) (S29°86'63", W50°23'11"), apresenta usos como recreação, pesca, despejos domésticos, irrigação e consumo humano. Neste manancial existem registros de florações, sendo algumas tóxicas. Os objetivos deste trabalho foram verificar a ocorrência de floração de cianobactérias, a possível produção de microcistinas (hepatotoxinas) e efeitos de genotoxicidade (mutagenicidade) e citotoxicidade em amostras da Lagoa do Peixoto. Foram coletadas 18 amostras de água superficial da lagoa no Projeto Balneabilidade - FEPAM, no verão 2013-2014, as quais foram analisadas para identificação e contagem de cianobactérias, com câmara de Sedgwick-Rafter (DIVBIO-FEPAM), e duas analisadas para concentração de microcistinas (laboratório externo). Duas amostras (uma antes e outra durante a floração) foram submetidas ao ensaio *Salmonella*/microssoma método de microssuspensão, utilizando as linhagens TA98 e TA100, em presença e ausência de metabolização hepática de ratos (S9mix). Os resultados foram analisados no programa Salanal (ANOVA e análise de regressão). Os gêneros de cianobactérias *Dolichospermum* e *Aphanocapsa* predominaram na amostra com floração, contudo não foi detectada concentração significativa de microcistinas. Nas amostras analisadas para genotoxicidade, não foram detectadas atividades mutagênica ou citotóxica. Embora não se tenha verificado uma concentração significativa de microcistinas e efeito mutagênico ou citotóxico nas amostras, estudos indicam que as florações podem causar diferentes efeitos biológicos, o que tem estimulado a continuidade das investigações sobre interações de compostos e outros fatores no manancial. Apoio: CNPq

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianobactérias, toxicidade, microcistinas, mutagênese

Monitorização do gene *mcyA* e de microcistina numa florescência de *Planktothrix agardhii* – Que papel desempenha o parasitismo quitrídeo na dinâmica destas florescências?

Churro C.^{*1,2,3}, Penado A.^{4,5}, Silva B.⁶, Menezes C.³, Dias E.³, Valério E.³, Vasconcelos V.^{1,2}

(1) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal (2) Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, CIIMAR/CIMAR, Universidade do Porto, Rua dos Bragas 280, 4050-123 Porto, Portugal (3) Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal (4) School of Life Sciences, University of Sussex, Brighton, East Sussex, BN1 9RH, UK (5) CIBIO/UP Jardim Botânico Tropical/IICT Tv. Conde da Ribeira, 9 1300-142 Lisboa Portugal (6) Departamento de Genética, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

* catarina.churro@gmail.com

A cianobactéria *Planktothrix agardhii* forma blooms persistentes em reservatórios de água doce superficiais e está frequentemente associada à presença de microcistinas. No entanto, densidades celulares elevadas de *P.agardhii* nem sempre correspondem a níveis elevados de microcistinas e vice-versa. As florescências de *Planktothrix* sp. são constituídas por estirpes tóxicas e não-tóxicas que são visualmente indistinguíveis. Contudo, as estirpes tóxicas podem ser quantificadas molecularmente uma vez que possuem um conjunto de genes envolvidos na síntese de microcistinas, onde se inclui o gene *mcyA*.

Neste trabalho, foi monitorizada uma florescência perene de *P.agardhii* durante dois anos (2012-2014), com o objectivo de caracterizar a variabilidade temporal dos génotipos tóxicos e concentração de microcistinas. Foram também medidos vários parâmetros físico-químicos (nitratos, fósforo total, pH e condutividade) e biológicos (presença de quitrídeos parasitas nos tricomas de *P.agardhii*). A concentração total de microcistina na água foi medida por ELISA. O nº de cópias do gene *mcyA* e do gene 18SrDNA de fungos quitrídeos foi quantificado por PCR em tempo-real.

Os resultados demonstraram que a quantidade do gene *mcyA* e a concentração de microcistina total variam ao longo do tempo estando ambos correlacionados (coeficiente de correlação de Spearman de 0,84). O período em que a concentração do gene *mcyA* e de microcistina foi mais elevado coincidiu com a presença de parasitas quitrídeos da cianobactéria *P.agardhii*. A quantidade do gene 18SrDNA correlaciona-se com o gene *mcyA* (coeficiente de correlação de Spearman de 0,83) e com a concentração de microcistina (coeficiente de correlação de Spearman de 0,82). Não houve qualquer correlação entre os parâmetros físico-químicos e a concentração do gene *mcyA* e de microcistinas.

Face aos resultados obtidos colocam-se questões que interessa explorar: Qual será a influencia dos parasitas quitrídeos na modelação da densidade e toxicidade das florescências de *P.agardhii*? Será que a sua presença favorece o aparecimento de florescências tóxicas? Que factores influenciam a relação parasitas quitrídeos-*Planktothrix*?

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Planktothrix agardhii*, Quitrídeos, *Rhizophyidium megarrhizum*, PCR em tempo-real

Endolithic Cyanobacteria from extreme environments: Biodiversity and Chemodiversity

Rego A.^{1,2*}, Martins T.^{1,2,3}, Costa M.S.R.², Ramos V.^{1,2}, Vasconcelos V.^{1,2}, Magalhães C.², Leão P.²

(1) Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, Porto 4169-007, Portugal

(2) CIMAR/CIIIMAR—Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Rua dos Bragas 177, Porto 4050-123, Portugal

(3) Biomedical Sciences Institute of Abel Salazar, University of Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, Porto 4050-313, Portugal

*adriana-rego@hotmail.com

Cyanobacteria constitute one of the largest, most diverse and widely distributed group of prokaryotes. They are able to thrive in extreme environments, such as the hyper-arid hot and cold deserts, where they play an important role as primary producers and nitrogen fixers. In these environments, cyanobacteria rely on a series of adaptations for survival. The search for microhabitats (as pores and fissures inside rocks) and the ability to enter prolonged dormancy constitute some of the most important ones. Still, little is known regarding the potential for production and the role of secondary metabolites in cyanobacteria from extreme habitats.

Here, we present our results on the diversity and chemodiversity of endolithic and edaphic strains from an hyper-arid cold desert, the McMurdo DryValleys, and from an endolithic *Hyella* sp. strain from arid zones. Two endolithic strains have been successfully isolated, from a sandstone sample from the McMurdo Dry Valleys. Additional samples collected from soil are in isolation process. Preliminary data derived from the morphological and molecular characterization indicate that two of the strains exhibits high similarity to *Leptolyngbya antarctica* and possess PKS biosynthetic machinery, having thus the genetic potential to produce bioactive compounds of polyketide nature. In order to isolate secondary metabolites produced by these and from the *Hyella* sp. strain, we have performed large-scale cultivation followed by organic extraction. Bioassays are guiding the isolation process. An overview of the whole experimental approach and of the most promising bioactivities is conveyed.

Keywords: extreme environments, endolithic colonization, secondary metabolites

Metacommunity of cyanobacterial blooms in a semi-arid reservoir

Lorenzi A.S.^{1*}, Chia M.A.¹, Navarrete A.A.², Affonso G.F.¹, Bittencourt-Oliveira M.C.¹

(1) Laboratory of Cyanobacteria, Department of Biological Sciences, Luiz de Queiroz College of Agriculture, University of São Paulo (USP), Piracicaba, SP, Brazil

(2) Cell and Molecular Biology Laboratory, Center for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo (USP), Piracicaba, Brazil

* aslorenz@gmail.com

The semi-arid region of Brazil has many reservoirs that provide portable water during extended periods of drought. Nutrient-enriched conditions coupled with high water temperatures and extended water residence times have been responsible for the excessive proliferation of potentially toxic cyanobacteria in these reservoirs. Studies have reported the presence of microcystins (MC) and cylindrospermopsins (CYN) in these water bodies. In this sense, the present study aims to complement results from previous studies by (1) characterizing the community composition of cyanobacterial blooms in Mundaú reservoir, northeastern Brazil, during the dry season (March 17 and November 09, 2009) by using next-generation sequencing technology, and (2) investigating the cyanobacterial genera associated with the detection of cyanotoxins genes. PCR amplifications were performed on genomic DNA, targeting the 16S-23S ITS and *cpcBA*-IGS regions. In addition, genes coding for microcystins (*mcyE*), saxitoxins (*sxtA*) and cylindrospermopsins (*cyJ*) were investigated in the cyanobacterial metacommunity of Mundaú reservoir. Amplicons were sequenced with Illumina MiSeq system, and the taxonomic and functional analyses of the unassembled DNA sequences were performed using BLASTX with the metagenomic RAST server (MG-RAST). Genomic contribution of the genus *Microcystis* was approximately 86% and 82% of total cyanobacterial community in Mar 17 and Nov 09, respectively, and was followed by the genus *Cylindrospermopsis*. The *cyJ* gene was not detected. *Microcystis* was strongly associated with the presence of the *mcyE* gene, while *Cylindrospermopsis* was associated with *sxtA* gene abundance. Our results show that the functional potential of cyanobacterial communities of the Mundaú reservoir in the semi-arid region of Brazil is highly conserved during the dry season. The results of this study are particularly important for a better understanding about the cyanobacterial community inhabiting aquatic ecosystems in Latin America.

Keywords: cyanotoxins, genotypic composition, metagenomics, public water supply, water monitoring

Efeito do herbicida glifosato sobre o crescimento e produção de saxitoxinas em *Cylindrospermopsis raciborskii*

Dörr F., Pinto E.*

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo – Brasil

* ernani@usp.br

O estudo de cianotoxinas tem demonstrado um amplo campo a ser explorado, com poucos relatos sobre o favorecimento de eutrofização pela presença de herbicidas em corpos d'água. Embora a toxicidade do glifosato em alguns organismos aquáticos seja conhecida, poucos estudos abordam o efeito desse composto sobre a produção de metabólitos secundários por cianobactérias. Descrito como potencial contaminante ambiental, o glifosato é o herbicida mais usado no mundo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes concentrações de glifosato sobre o crescimento e produção de cianotoxinas pela cepa brasileira *Cylindrospermopsis raciborskii* CENA 302. O crescimento foi avaliado espectrofotometricamente e saxitoxinas analisadas por cromatografia em fase líquida e detecção por fluorescência com oxidação pós-coluna. Dentre as concentrações de glifosato avaliadas, 5 a 15 mg/L de glifosato não foram capazes de afetar os parâmetros analisados. Na presença de 20 mg/L de glifosato, o crescimento foi reduzido e a produção de saxitoxinas (normalizada pela densidade celular) aumentada. Concentrações superiores a 30 mg/L impediram o crescimento celular e, por consequência, a avaliação da produção de saxitoxinas. Sendo assim, diante da elevada resistência da cianobactéria *C. raciborskii* ao glifosato, e considerando-se a elevada interferência antrópica através das práticas agrícolas, pode-se inferir que o uso excessivo e frequente desse herbicida é capaz de estimular o crescimento e dominância desses organismos, podendo modificar a estrutura e funcionalidade de ecossistemas aquáticos.

Palavras-Chave/Palabras Clave: glifosato, *Cylindrospermopsis raciborskii*, saxitoxinas

Dynamics of cyanotoxin occurrence in Alqueva reservoir (Southern Portugal)

Rodrigues M.¹, Mateus C.², Costa C.^{1,3}, Caetano S.^{1,3,4}, Reis M.P.^{3*}, Palma P.^{3,5}

(1) AquaExam, Lda., Centro Empresarial de Gambelas, Pavilhão B1, Universidade do Algarve, 8005-139 Faro, Portugal (2) Chemistry Research Center of Algarve (CIQA), Universidade do Algarve, edifício 2, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal (3) Center for Marine and Environmental Research (CIMA), Universidade do Algarve, edifício 7, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal (4) School of Health, University of Algarve, Avenida Dr. Adelino da Palma Carlos, 8000-510 Faro, Portugal (5) Department of Technologies and Applied Sciences, Polytechnic Institute of Beja – School of Agriculture, 7800-295, Beja, Portugal

* mpreis@ualg.pt

Cyanobacteria Harmful Algal Blooms (CyanoHABs) affect negatively water quality and might display toxicity. Such blooms have been documented throughout the Guadiana watershed before and after the construction of the Alqueva dam, with high densities of potentially toxic species from genera, such as *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Cylindrospermopsis*, *Geitlerinema*, *Merismopedia*, *Microcystis*, *Oscillatoria/Planktothrix*, *Phormidium*, *Pseudanabaena*, *Raphidiopsis*, *Woronichinia* and *Synechocystis*. Several toxigenic species of these genera produce hepatotoxic, neurotoxic, cytotoxic and/or genotoxic compounds, namely microcystins (MCT), cylindrospermopsins (CYN), saxitoxins (STX) or anatoxins (ATX). This work aimed to follow the dynamics of cyanotoxin occurrence, during a two year period of spatial and temporal monitoring of phytoplankton dynamics in Alqueva reservoir. Phytoplankton analysis was performed according to European standard protocols, on composite depth integrated samples, collected along the main channels of the reservoir. Replicates of these samples were used to detect and quantify MCT and CYN through LC-MS/MS analysis. These cyanotoxins were chosen in view of the results of phytoplankton specific abundance. Till recently MCT variants (hepatotoxins) were the main concern in terms of cyanotoxin exposure in Europe, but detection of *Cylindrospermopsis raciborskii* raised concerns about the potential presence of CYN, which in fact was detected in trace amounts. The MC-RR, YR and LR quantification limits obtained by liquid chromatography-electrospray ion trap tandem mass spectrometry (LC/ESI/ Ion trap - MS/MS), after SPE extraction, were 17.9, 31.7 and 15.8 ng/L, respectively. Total MC highest concentrations were found in the warm months of June, July and September in Alqueva sampling sites, with concentrations of MC LR and RR ranging 19-90 and 20-63 ng/L, respectively, showing comparable results for MC-RR and LR but quite below the limits recommended by WHO guidelines for drinking water (1 µg/L). Detected values for MC-YR were below method quantification limit. Thus, low cyanotoxin concentrations did not reflect high cyanobacteria biovolumes of summer CyanoHABs.

Keywords: CyanoHABs, microcystin, cylindrospermopsin, freshwater phytoplankton dynamics

Monitorização de cianotoxinas em lagoas inseridas em Áreas Protegidas

Medeiros M.C.^{1*}, Medeiros D.M.D.¹, Muelle, H.², Santos M.C.R.², Gonçalves V.³

(1) Secretaria Regional da Agricultura e Ambiente / Direção Regional do Ambiente / Direção de Serviços de Recursos Hídricos e Ordenamento do Território- Avenida Antero de Quental - 9º C - 2º andar – 9500-160 Ponta Delgada, Portugal

(2) Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente / Faculdade de Ciências e Tecnologia / Universidade Nova de Lisboa - Quinta da Torre - 2829-516 Caparica, Portugal

(3) CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, InBIO Laboratório Associado, Pólo dos Açores – Departamento de Biologia da Universidade dos Açores, 9501-801 Ponta Delgada, Portugal

* Maria.MA.Medeiros@azores.gov.pt

A Rede Regional de Áreas Protegidas dos Açores tem como objetivo, entre outros, o estabelecimento de mecanismos de conservação, preservação e de gestão dos ecossistemas, da biodiversidade e dos valores e recursos naturais, paisagísticos, científicos e espirituais dos Açores. O cumprimento deste objetivo não pode ser alcançado sem a preservação das massas de água superficiais que integram a Rede de Áreas Protegidas dos Açores. Uma das principais ameaças à preservação dos ecossistemas lacustres açorianos, e que põe em causa parte significativa dos serviços destes ecossistemas, é a ocorrência de *blooms* de cianobactérias potencialmente tóxicas. Para avaliar a toxicidade associada aos desenvolvimentos de cianobactérias nas lagoas dos Açores, foi implementada uma rede de monitorização de cianotoxinas em 15 lagoas dos Açores, 14 das quais integram diversos tipos de áreas protegidas, nomeadamente, Reserva Natural, Área Protegida para a Gestão de Habitats ou Espécies e Área de Paisagem Protegida. No âmbito do programa realizaram-se, em 2010 e 2011, amostragens trimestrais que incluíram determinações locais de elementos gerais de caracterização do estado da água (e.g. temperatura, pH, oxigénio dissolvido, condutividade e turvação) e a recolha de amostras para as determinações das concentrações dos principais nutrientes e da clorofila *a*, caracterização da comunidade fitoplanctónica e quantificação de microcistinas intracelulares e em solução. Nos anos em análise, o estado trófico das lagoas estudadas variou entre oligotrófico (média anual de clorofila $a < 2,5 \mu\text{g.L}^{-1}$) e eutrófico (média anual de clorofila $a > 10 \mu\text{g.L}^{-1}$), com um predomínio de lagoas eutróficas (47%). Apesar de apresentarem diferentes estados tróficos, em todas as lagoas estudadas foram detetadas microcistinas intracelulares e/ou em solução, tendo a concentração de microcistinas totais variado entre 0 $\mu\text{gMC-LRequiv.L}^{-1}$ e 14,62 $\mu\text{gMC-LRequiv.L}^{-1}$. Estes resultados vieram mostrar que, apesar dos instrumentos de proteção das áreas protegidas já em vigor, são necessárias medidas adicionais que conduzam à redução da ocorrência de *blooms* de cianobactérias.

Palavras-Chave/PalabrasClave: Cianotoxinas, Lagoas, Açores, Áreas protegidas, Monitorização

Estudio de la presencia de cianotoxinas en la aparición de *blooms* en el embalse de Vilasouto (Lugo, España)

Bueres A.¹, De Anta A.¹, Fompedriña D.¹, Alonso C.², Peg M.^{3*}, Dominguez A.³, De Hoyos C.³, Toro M.³, Alonso A.M.³

(1) Confederación Hidrográfica Miño-Sil

(2) Instituto IMDEA Agua

(3) Centro de Estudios Hidrográficos, CEDEX

* maria.peg@cedex.es

En la primavera de 2011 se detectó una proliferación masiva de cianobacterias en el embalse de Vilasouto situado en el río Mao (Lugo), siendo la especie dominante *Planktothrix rubescens*, potencialmente productora de toxinas. Dos años después se volvió a producir un *bloom* de dicha especie, detectándose cianotoxinas en todo el embalse.

Durante 2013, se llevaron a cabo análisis de microcistinas presentes en la fracción sestónica (filtros), agua disuelta, agua intersticial y sedimento. Se cuantificaron todas las variantes de microcistinas para las que se dispone de patrones comerciales: MC-RR, MC-YR, MC-LR, MC-LA, MC-LY, MC-LW, MC-LF y MC-dmRR, empleando nodularina como patrón interno.

Los análisis cualitativos y cuantitativos se realizaron mediante un cromatógrafo de líquidos de Thermo Electron acoplado a un espectrómetro de masas TSQuantum Discovery Max en tándem, con detector de triple cuadrupolo en modo positivo (LC/ESI-MS/MS).

En todos los puntos del embalse muestreados (desde la cola hasta la presa), en las muestras de agua y fracción sestónica, se observaron principalmente niveles notables de MC-dmRR y MC-RR (siendo esta última detectada en mucha menos proporción). La máxima concentración de MC-dmRR se alcanzó en verano, en superficie y en la zona de presa: 4,047 µg/L en agua disuelta, muy superior al límite recomendado por la Organización Mundial de la Salud (1 µg/L), y de 17,534 µg/L en la fracción sestónica. Ocasionalmente se observaron también otras microcistinas con concentraciones más bajas.

Sin embargo, en el sedimento solamente se observaron bajas concentraciones de MC-RR, posiblemente debido a la solubilidad de las microcistinas en el agua. Es por ello que se detectaron niveles más altos de otras microcistinas en el agua intersticial.

Palavras-Chave/Palabras Clave: microcistinas, LC/ESI-MS/MS

Characterization of cyanobacteria in waters from Portuguese dams

Caeiro J.M.F.^{1*}

Inst Sup Tecn, Univ Tecn Lisboa, Av. Rovisco Pais 1, 1049-001 Lisboa, Portugal

* jose.caeiro@outlook.pt

Cyanobacteria, or blue green algae, due to sharing characteristics with both algae and bacteria, are bacteria with a blue-green color from their capacity to photosynthesize (autotrophs). It is believe that they are responsible of providing food and oxygen for nearly all life on Earth, making up the bottom of the food web.

They occur worldwide (frequently in calm and rich nutrients water), and when optimal conditions are achieve they can form blooms, becoming the dominant organism with a possibility of reducing the water quality.

Some species produce toxins (microcystins) which can harm both humans and animals. Depending on the affected organ in humans, they are refer by different names, but all share an absence of odor or taste, being a cause of gastrointestinal problems, headache, and even promote cancer.

The capacity of a massively development with the production of microcystins reveals the importance of detailed studies about their presence and activity in waters.

Cyanobacteria in surface water is still a problem that lacks an ample investigation, to avoid the dangerous consequences from this microorganism.

In this work, 26 water samples from 19 dams in Portugal were analyze to identify the major genus of cyanobacteria present.

Between autumn and winter of 2014-2015 a standard operating procedure, resourcing to the medium BG-13 modified, was apply.

18 samples (69.23%) reveal the presence of cyanobacteria, from which 12 samples (66.67%) had potential microcystins producers.

These results show a frequency of genus of potential pathogenic cyanobacteria, microcystins producers that may put in danger organisms expose to this water.

Keywords: Cyanobacteria, Microcystins, Dam

Monitoring cyanobacteria and cyanotoxins in Alqueva Reservoir, Portugal

Zavattieri M.A.^{*1}, Morais M.M.¹, Nunes S.¹, Penha A.¹, Caldeira A.T.^{2,3}, Martins M.R.^{3,4}, Salgado R.⁵

(1) Water Laboratory, , Évora University. Rua da Barba Rala, nº 1, Parque Industrial e Tecnológico de Évora, 7005-345 Évora, Portugal

(2) Chemistry Department. School of Sciences and Technology, Évora University, Rua Romão Ramalho 59, 7000-671, Évora, Portugal

(3) HERCULES Laboratory. Palácio do Vimioso. Largi Marquês de Marialva, 8. 7000-809, Évora, Portugal.

(4) Institute of Mediterranean Agricultural and Environmental Sciences (ICAAM), University of Évora. Apartado 94. 7006-554 Évora, Portugal

(5) Department of Physics and Geophysics. University of Évora, Col. Luis Verney, R. Romão Ramalho, 59, Évora 7000-671, Portugal

* zavattieri@uevora.pt

Alqueva is nowadays the most important water reservoir in Portugal. Additionally, it is becoming an important agronomic and touristic region. These facts bring the questions of the water quality use. During the Alqueva hydro-meteorological experiment (ALEX) campaign, the team of the Water Laboratory from the University of Évora investigated the biological quality indicators of the Alqueva water. Among biological communities investigated, such as Chironomid pupal exuvia, benthic diatoms and phytoplankton, a special attention was given to the presence of cyanobacteria since cyanobacterial blooms are associated with the production of cyanotoxins that pose a health risk to human and livestock water consumers.

Polymerase chain reaction (PCR) was used to corroborate microscopic identification and to verify the presence of toxic genes associated with cyanobacteria.

Field campaign in Alqueva reservoir took place from June to September 2014. An additional campaign was performed in October due to a bloom situation. Water samples were monthly collected from three fixed platforms placed in the lacustrine zone and selected sites in the margins.

Results show that in the integrated phytoplankton samples analyzed, a total of 62 taxa were identified, 15 corresponded to cyanobacteria. Even when Chlorophytes was the richest group, cyanobacteria dominated in abundance in all sampling sites and throughout the whole sampling period, being *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* and *Aphanocapsa* the most frequent and abundant genera. The observation of the phytoplankton samples collected at discrete depths revealed the presence of cyanobacteria in the bottom samples collected in Alcarrache and Alqueva-Mourão platforms (20 m) and in Alqueva-Montante (50 m). Given the abundance of cyanobacteria, molecular techniques confirmed also the presence of *Microcystis* species and microcystin-producing genes (hepatotoxins). It was not possible to confirm the presence of cylindrospermopsin. More primers are being tested to complete the list of microscopic identification of species and cyanotoxins.

Keywords: PCR; Molecular techniques; *Microcystis*, cyanotoxins, Alqueva

Evolución interanual de las floraciones toxigénicas de *Planktothrix rubescens* en el embalse de Vilasouto (Lugo, NW-España)

Lago L.^{1*}, Barca S.^{1,2}, Vieira-Lanero R.², Cobo F.^{1,2}

(1) Universidade de Santiago de Compostela. Departamento de Zooloxía e Antropoloxía Física, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela. (Spain)

(2) Estación de Hidrobioloxía "Encoro do Con", USC. Castroagudín s/n, 36617 Vilagarcía de Arousa, Pontevedra. (Spain)

* lorena.lago@usc.es

Entre octubre del año 2012 y febrero del 2015 se analizaron 84 muestras del embalse de Vilasouto (Lugo), en las que se identificaron y cuantificaron las especies de cianobacterias presentes y se determinó la concentración de la toxina microcistina-LR (MC-LR), tanto en la fracción sestónica como en la disuelta.

Para la identificación y la cuantificación de las cianobacterias se aplicó la norma UNE-EN15204, utilizando una cámara de sedimentación combinada bajo un microscopio invertido Nikon Eclipse TE 2000-S. La detección y determinación de ambas fracciones de MC-LR se realizó por enzimoimmunoensayo utilizando el kit EnviroGard Microcystins QuantiTube.

Las especies de cianobacterias identificadas en Vilasouto fueron *Anabaena planctonica*, *Gomphosphaeria* sp., *Planktothrix agardhii* y *Planktothrix rubescens*; todas ellas potencialmente tóxicas. *P. rubescens* fue la especie dominante durante los primeros meses del año 2013 y 2014. El afloramiento de 2013 fue el más intenso (con máximos de abundancia de 257550 cél./ml en febrero y 1448000 cél./ml en abril), prolongándose incluso hasta el mes de julio.

Las concentraciones de MC-LR sestónica y disuelta superaron el valor límite propuesto por la OMS (1µg/l) en octubre del 2012, de enero a julio de 2013 y en los meses de marzo y mayo de 2014. Estas concentraciones presentan una correlación de Spearman significativa ($\alpha=0.05$) con la abundancia de *P. rubescens* y *A. planctonica*.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianobacteria, microcistina-LR, floración, *Planktothrix rubescens*

Cianobacterias y valores de microcistina-LR sestónica y disuelta en embalses de la cuenca hidrográfica del Miño-Sil (NW-España)

Lago L.^{1*}, Barca S.^{1,2}, Vieira-Lanero R.², Cobo F.^{1,2}

(1) Universidade de Santiago de Compostela. Departamento de Zooloxía e Antropoloxía Física, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela. (Spain)

(2) Estación de Hidrobioloxía "Encoro do Con", USC. Castroagudín s/n, 36617 Vilagarcía de Arousa, Pontevedra. (Spain)

* lorena.lago@usc.es

Entre octubre del año 2012 y febrero del 2015 se analizaron 201 muestras de agua de nueve embalses de la cuenca hidrográfica del Miño-Sil (Vilasouto, As Conchas, Castadón, Cachamuíña, Prada, Lindoso, Os Peares, Faramontaos y Salas), en las que se identificaron y cuantificaron las especies de cianobacterias presentes y se determinó la concentración de la toxina microcistina-LR (MC-LR), tanto en la fracción sestónica como en la disuelta.

Para la identificación y la cuantificación de las cianobacterias se aplicó la norma UNE-EN15204, utilizando una cámara de sedimentación combinada bajo un microscopio invertido Nikon Eclipse TE 2000-S. La detección y determinación de ambas fracciones de MC-LR se realizó por enzoinmunoensayo utilizando el kit EnviroGard Microcystins QuantiTube.

Excepto en el embalse de Salas, en el que no se detectó la presencia de cianobacterias ni de MC-LR, en los ocho embalses restantes se identificaron diez especies de cianobacterias: *Anabaena circinalis*, *Anabaena crassa*, *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena planctonica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Gomphosphaeria* sp., *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*, *Planktothrix rubescens* y *Woronichinia naegeliana*; todas ellas potencialmente tóxicas. Sin embargo, únicamente en cinco de estos embalses (Vilasouto, Castadón, Cachamuíña, Os Peares y Faramontaos) se detectó MC-LR.

Las especies que afloraron fueron *A. planctonica*, *Gomphosphaeria* sp. y *P. rubescens* en Vilasouto; *M. aeruginosa* en As Conchas, Cachamuíña y Castadón; *A. circinalis* en Prada y Faramontaos; *W. naegeliana* en Os Peares, *A. flos-aquae* en Faramontaos y *Aph. flos-aquae* en Lindoso.

Los embalses de As Conchas y Lindoso, a pesar de estar situados uno a continuación del otro en el río Limia, presentaron floraciones no tóxicas diferentes: de *M. aeruginosa* y *Apha. flos-aquae* respectivamente; mientras que Castadón y Cachamuíña que se sitúan de la misma forma en el río Lonia, presentaron afloramientos tóxicos de *M. aeruginosa*.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianobacteria, microcistina-LR, floración, embalse

Presencia de cianotoxinas como consecuencia de un vertido tóxico

Gómez López M.^{1*}, Díaz M. T.¹, Martín Alonso J.², Vázquez García M. J.¹

(1) Labaqua S.A. Santiago de Compostela

(2) Aigües de Barcelona- Barcelona

* mariano.gomez@labaqua.com

El día 1 de septiembre de 2006, se produjo en Caldas de Reis, (Pontevedra, España) un vertido tóxico al río Umia con una gran variedad de compuestos químicos debido al incendio que se originó en la fábrica que Brenntag tenía instalada en dicha localidad.

Este hecho puntual originó multitud de problemas como contaminación en el aire y en el agua, incidencia en los habitats (fauna y flora del río y el entorno), riesgos en el agua abastecida a la población y riesgos de contaminación en la desembocadura del Umia y posibilidad de contaminación de los bancos marisqueros de la Ría de Arousa.

Otra de las consecuencias que provocó fue que para intentar minimizar la velocidad del agua en el río se cerró el embalse de A Baxa en Caldas de Reis. Este embalse, que siempre ha sido muy problemático por su elevado estado de eutrofización, sufrió uno de los mayores episodios algales que se conocen. La consecuencias de este HAB fueron, entre otras, que se produjo la liberación de cianotoxinas que, en algún caso, llegaron a los habitantes de las poblaciones suministradas.

Palavras-Chave/Palabras Claves: vertido, cianotoxina, HAB

Diversity and toxicity of marine cyanobacterial species harvested from the Atlantic coast of Morocco

Hassouani M.¹, Sabour B.^{1*}, Reani A.¹, Morais J.², Ramos V.^{2,3}, Urbatzka R.², Preto M.², Silva M.^{2,3}, Vasconcelos V.^{2,3*}

(1) Phycology RU – LB2VE – Department of Biology, Faculty of Sciences, University Chouaib Doukkali, PO Box 20, El Jadida 24000, Morocco

(2) Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, CIIMAR/CIMAR, 4050-123 Porto, Portugal

(3) Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, 4169-007 Porto, Portugal

* vmvascon@fc.up.pt ; sabour.b@ucd.ac.ma

Cyanobacterial blooms have been known to produce cyanotoxins, neuro- or hepatotoxic compounds that cause mass mortalities of birds, wild animals and livestock. While intoxications of aquatic organisms by these toxins have been widely documented for freshwater ecosystems, such poisonings in marine environments have only occasionally been reported excepting some tropical regions and seas of lower salinity. This is the case of 1500 km shorelines of Morocco where investigations on occurrence and ecotoxicology of marine cyanobacteria are almost absent. In this work, diversity of marine benthic cyanobacteria collected along the Northwestern Atlantic coast was explored and species were identified by the use of morphological and molecular approaches. Microcystins, hepatotoxic cyanotoxins, were extracted and analyzed by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. First results, expressed as microcystin-LR equivalents, vary from 0.69 to 1.6 µg/g in some dominant *Lyngbya*, *Rivularia* and *Nostoc* species forming spectacular coloured hairy matted mass or vesicular thalli in intertidal or supralittoral zones. Results of the MTT cell cytotoxicity assay, *Artemia* bioassay as well as chemical characterization by HPLC/MS will be presented in terms of species and habitat. This is the first report on the diversity, toxicity and cyanotoxins suggesting potential ecological and health risks from such a poisonings which are probably underestimated and need to be considered when monitoring marine coastal environment in Morocco.

Keywords: Marine Cyanobacteria, Microcystins, Morocco

SESSÃO 2

BIOSSÍNTESE, MÉTODOS DE DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CIANOTOXINAS

SESIÓN 2

BIOSÍNTESIS, MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CIANOTOXINAS

Determinación de Cianotoxinas. Caracterización y Cuantificación por Espectrometría de Masas

Flores C.*, Caixach J.

Laboratori d'Espectrometria de Masses/Contaminants Orgànics, IDAEA-CSIC, Jordi Girona 18, 08034 Barcelona, Spain

* cintia.flores@cid.csic.es, josep.caixach@cid.csic.es

Hasta la fecha el análisis de cianotoxinas ha sido abordado desde diferentes perspectivas (bioensayos, kits ELISA y PPA, técnicas moleculares y diferentes metodologías basadas en cromatografía de líquidos, LC). En concreto, la espectrometría de masas (MS) es una herramienta con un gran potencial para el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos orgánicos. En los últimos años, la LC acoplada a espectrometría de masas en tándem con ionización electrospray (LC-ESI-MS/MS) y el análisis mediante Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) han sido las metodologías utilizadas con mayor frecuencia en la determinación de cianotoxinas. La LC-ESI-MS/MS presenta una excelente selectividad, especificidad y sensibilidad, un amplio rango dinámico lineal y utiliza una instrumentación accesible (triple cuadrupolo). Por otro lado, el análisis por MALDI-TOF ha sido ampliamente utilizado debido a que permite una identificación rigurosa de todas las toxinas de una muestra simultáneamente y de forma rápida sin ninguna separación previa. Es una técnica sensible y de alta resolución (HRMS) que además requiere poca manipulación y una baja cantidad de muestra. Por último, con la introducción del analizador Orbitrap y la actualización de los equipos TOF, el uso de la LC-HRMS está emergiendo con fuerza como una alternativa de referencia para el análisis de cianotoxinas. La HRMS permite obtener la medida de masa exacta de las señales detectadas y proponer las formulas moleculares para la confirmación de la presencia de los analitos y la identificación de toxinas emergentes o desconocidas, productos de degradación y metabolitos, e incluso cualquier compuesto que pueda ser tóxico. Por su parte, la HRMS ofrece entre otras las siguientes ventajas: una alta selectividad, elevado grado de confianza en la identificación (puntos de identificación), una baja probabilidad de falsos positivos y negativos, y la posibilidad de realizar análisis retrospectivos y "post-targeted" sin necesidad de volver a analizar las muestras.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cianotoxinas, identificación, cuantificación, LC-ESI-MS/MS, MALDI-TOF, LC-HRMS

Ecotoxicological assays and detection of cyanobacteria toxigenic genes as tools for predicting toxicity by specific cyanotoxins

Diniz C.¹; Palma P.^{1,2}; Reis M.P.^{1*}

(1) Center for Marine and Environmental Research (CIMA), Universidade do Algarve, edifício 7, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

(2) Department of Technologies and Applied Sciences, Polytechnic Institute of Beja – School of Agriculture, 7800-295, Beja, Portugal

* mpreis@ualg.pt

Cyanobacteria known to potentially produce cyanotoxins, like cylindrospermopsins (CYN) or saxitoxins (STX), have been increasingly detected in Southern Portugal reservoirs. Specific detection and quantification of these toxins may be done through ELISA assays, HPLC or LC-MS/MS. Nevertheless, these methods lack cost effectiveness for regular use in toxicity screening, which can effectively be done through the use of ecotoxicological assays. In fact, assays testing *Thamnocephalus platyurus* mortality or the inhibition of mobility and/or reproduction of *Daphnia magna* are known to successfully detect CYN and STX toxicity. The conjugation of these assays with the detection of the presence of CYN or STX producing genotypes of toxigenic species, such as *Aphanizomenon flos-aquae* or *Cylindrospermopsis raciborskii*, should constitute a precious indication of which metabolites should be analyzed in each sample. CYN biosynthesis gene cluster, *cyr*, is encoded by 42 kb distributed in 15 ORFs, named from *cyr A* to *cyr O*, while STX biosynthesis gene cluster, *sxt*, is potentially encoded by 35 kb in 31 ORFs. The detection of *cyr* or *sxt* genes was achievable through the use of several pairs of primers in PCR amplification of DNA extracted from pure cultures, and can be fine-tuned for the use in natural samples. This work reports methods used and results obtained in screening for *sxt* and *cyr* genotypes both in isolates and natural samples, as well as in confirming their potential toxicity through the use of acute and chronic ecotoxicological assays with the crustaceans *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna* (primary consumers at trophic chain).

Avaliação da influência da intensidade de luz na expressão do gene *mcyA* e na produção de microcistina em *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*

Salvador D.*, Churro C., Valério E.

Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

* daniel_fsalvador@hotmail.com

As cianobactérias são frequentemente associadas à produção de toxinas, nomeadamente microcistinas. A sua síntese é não ribossomal, e acontece utilizando complexos multienzimáticos (genes *mcy*). Diversos estudos têm demonstrado que os fatores ambientais podem influenciar a produção de toxina.

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da intensidade da luz na transcrição do gene *mcyA* e correspondente produção de microcistina em isolados tóxicos de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*.

Para esse fim, as culturas foram expostas a três diferentes intensidades de luz (4, 20 e 30 $\mu\text{mol fotões m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 18 dias a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. O crescimento foi seguido diariamente espectrofotometricamente. O nível de transcritos foi quantificado por RT-qPCR e a expressão relativa determinada usando três genes de referência - *rRNA 16S*, *gltA* e *rpoc1*.

Os resultados mostraram a existência de uma correspondência entre a taxa de crescimento e a intensidade de luz em ambas as espécies. As taxas de crescimento foram menores a 4 e maiores a 30 $\mu\text{mol fotões m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em *M. aeruginosa* a concentração de microcistina por célula foi semelhante entre intensidades de luz e ao longo do tempo, enquanto que em *P. agardhii* a concentração foi mais elevada na fase estacionária a 4 $\mu\text{mol fotões m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Existiram diferenças na expressão de *mcyA* entre as duas espécies. Em *M. aeruginosa*, a expressão foi máxima a 4 $\mu\text{mol fotões m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase de adaptação, já em *P. agardhii* foi máxima a 4 $\mu\text{mol fotões m}^{-2} \text{s}^{-1}$ na fase exponencial de crescimento.

Em suma, as intensidades de luz testadas influenciaram simultaneamente o crescimento, produção de microcistina e expressão génica, embora de forma diferente entre as duas espécies.

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*, intensidade de luz, microcistinas, gene *mcyA*

Deteção do potencial cianotóxico em águas superficiais do Arquipélago dos Açores através de métodos moleculares

Cordeiro R.^{1*}; Luz R.¹; Gonçalves V.^{1,2}, Fonseca A.¹

(1) Departamento de Biologia, Universidade dos Açores, 9501-801 Ponta Delgada, Portugal

(2) CIBIO, Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos, InBIO Laboratório Associado, Pólo dos Açores – Departamento de Biologia da Universidade dos Açores, 9501-801 Ponta Delgada, Portugal

* ritacordeiro_isabel@hotmail.com

Nas últimas décadas a densidade de cianobactérias e a frequência dos seus *blooms* nas lagoas dos Açores registou um aumento significativo. Reconhecendo a importância das cianobactérias e suas toxinas nas águas superficiais, foi implementado um programa de monitorização das lagoas do arquipélago em que é determinada a concentração de microcistinas por métodos analíticos standardizados (HPLC). Contudo, as espécies dominantes (e.g. várias espécies dos géneros *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Pseudanabaena*) são capazes de produzir outras toxinas para além das microcistinas, nomeadamente saxitoxinas, anatoxinas e cilindrospermopsinas.

Com o objetivo de detetar o potencial de produção de saxitoxinas, anatoxinas e microcistinas nas lagoas da ilha de São Miguel (Açores), colheram-se amostras mensais de 14 lagoas, analisando-se a presença de cianobactérias (gene da ficocianina – *cpcB-cpcA*) e de genes de saxitoxinas (*SxtA*), anatoxinas (*anaB*) e microcistinas (*mcyA*, *mcyB*, *mcyC*, *mcyD*, *mcyE* e *mcyG*) através de técnicas moleculares (PCR). Simultaneamente, procedeu-se ao isolamento e cultivo de espécimes presentes nestas amostras para avaliar a distribuição destes genes nas espécies existentes.

Em cerca de metade das 117 amostras estudadas (47,9%) foi detetado o gene da ficocianina. Quanto aos genes das toxinas, os mais frequentes foram os das microcistinas (25,0%) e das saxitoxinas (22,1%). Apesar de mais raro, o gene da anatoxina foi detetado em 9,7% das amostras. Estes resultados mostram que existe um elevado potencial de produção de cianotoxinas nas lagoas de São Miguel, não apenas de microcistinas (já anteriormente detetadas), mas também de saxitoxinas e anatoxinas, o que pode por em risco a saúde humana e ambiental. Face a estes resultados, recomenda-se a inclusão de saxitoxinas e anatoxinas na rede de monitorização de cianotoxinas das lagoas dos Açores. A metodologia testada mostrou-se eficaz na deteção do potencial cianotóxico podendo vir a ser usada em sistemas de alerta de risco para a saúde pública decorrentes da presença de cianotoxinas.

Palavras-Chave/Palabras Claves: Saxitoxinas, Anatoxinas, Microcistinas, PCR, Açores

Novel cyanopeptolin variants produced by *Desmonostoc* sp. CENA382 from the Brazilian Atlantic Forest

Sanz M., Pinto E.*

Faculty of Pharmaceutical Science, University of São Paulo, Avenida Lineu Prestes 580, Bl 17 05508-900, São Paulo, SP, Brazil

* ernani@usp.br

Cyanopeptolins are a high structurally diverse group of cyclic depsipeptides produced by cyanobacteria. Structurally, cyanopeptolins are formed by a ring of six amino acids and a side chain of different lengths and compositions. This family of peptides is commonly described as serine protease inhibitors and the influence of structural features on this activity was widely studied. However little is known about their toxicity. The scarce studies which investigated the toxicity of cyanopeptolins have been suggested that they are toxic (Microcystilide A, Cynopeptolin SS and Cyanopeptolin 1020). In this work, the cyanopeptolin diversity of the strain *Desmonostoc* sp. CENA382 isolated from the Atlantic Forest was studied by liquid chromatography/electrospray ionization coupled to high resolution quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. This approach allowed the identification of 11 new cyanopeptolin congeners. Accuracy masses and isotopic patterns for both precursor and product ions were used to comprehensively postulate the structures of the observed peptides. As the most common structural feature, these cyanopeptolins contained N-acetyl-proline-glutamine as side-chain, with the fifth position occupied by either a dimethylated tyrosine or chlorinated-methylated tyrosine. Valine and leucine alternated in positions 4 and 6.

Keywords: cyanopeptolin, HPLC–ESI-QTOF-MS, *Desmonostoc*.

Molecular characterization of three Brazilian strains of *Cylindrospermopsis raciborskii*. Can they simultaneously produce CYN and STX?

Ferrão-Filho A.S.^{1*}, Santos H.L.C.¹, Manzi M.M.², Azevedo S.M.F.³

(1) Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Av. Brasil, 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ 21040-900, Brasil

(2) Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, Rio de Janeiro, RJ 20550-900, Brasil

(3) Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ 21949-900, Brasil

* aloysio@ioc.fiocruz.br

Among cyanobacteria, the filamentous *Cylindrospermopsis raciborskii* is one of the most successful bloom forming organism in many freshwater ecosystems. Because of its potential toxicity and increased frequency of blooms, *C. raciborskii* has become one of the most notorious occurrences in phytoplankton communities in Brazilian waters. This cyanobacterium, reported to be originally of sub-tropical distribution, are being considered as an invasive species in temperate region, although phylogenetic analysis revealed that strains belongs to different clusters. *C. raciborskii* strains have been reported to produce only cylindrospermopsins (CYN) or saxitoxins (STX). Recently, however, one study reported for Brazilian strains the presence of CYN and STX genes. In this study, we report the presence of genes encoding for CYN (*cyr*) and STX (*stx*) biosynthesis in the same strains. However, LC-MS analysis showed that the studied strains are not producing CYN, whereas they are producing STX. We analyzed also for *myc* (A-D) gene but it could not be amplified. Acute toxicity tests revealed that all strains were toxic *Daphnia similis*, although with different toxicities. Further analysis will be performed with different primer sequences to unravel the potential production of MC by these strains. This study was financed by CNPq (Universal 486339/2011-4 and PROEP 400107/2011-2).

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Cylindrospermopsis*, cylindrospermopsins, saxitoxins, microcystins, *Daphnia*.

Identificação, deteção e caracterização molecular de cianobactérias em produções de microalgas à escala industrial

Duarte M. * Guerra L.T.

A4F, AlgaFuel S.A, Campus do Lumiar – Edifício E, R/C, Estrada Paço do Lumiar, Lisboa, Portugal

* margarida.duarte@algafuel.pt

A produção industrial de microalgas tem sido alvo de um grande interesse a nível biotecnológico devido às elevadas potencialidades que apresentam.

Na produção intensiva de microalgas, o controlo de contaminações é essencial para garantir a qualidade dos produtos. Um dos contaminantes mais críticos de controlar são as cianobactérias pois estas podem, por um lado, facilmente dominar a cultura alterando as características do produto desejado e, por outro, algumas espécies apresentam a capacidade de produzir toxinas, nomeadamente microcistinas, que podem afetar gravemente a saúde dos organismos que ingerirem a biomassa contaminada ou produtos resultantes desta.

Neste trabalho, descrevemos a aplicação de métodos moleculares para a deteção e identificação de cianobactérias e suas toxinas na biomassa microalgal produzida à escala industrial. Recorrendo a primers específicos, demonstramos a capacidade de detetar uma grande diversidade de cianobactérias com alta sensibilidade e ainda de verificar a presença de genes responsáveis pela síntese de microcistinas. Contudo, em amostras positivas para o operão da microcistina, poderá não haver produção da toxina se o operão estiver inativo. Para esses casos, demonstramos a utilização de testes de ELISA específicos para a quantificação de microcistinas na biomassa.

O estabelecimento destes testes e a sua hierarquização permite desenvolver uma chave de decisão que será utilizada para o controlo de qualidade da biomassa produzida.

Palavras-Chave: (microalgas, cianobactérias, microcistina, PCR, ELISA)

SESSÃO 3

AVALIAÇÃO, GESTÃO E REMEDIAÇÃO DE RISCOS ECOLÓGICOS E PARA A SAÚDE HUMANA

SESIÓN 3

EVALUACIÓN, GESTIÓN Y RECUPERACIÓN DE LOS RIESGOS AMBIENTALES Y DE SALUD HUMANA

Riscos decorrentes da exposição humana a cianotoxinas por via oral; água, outros alimentos e suplementos alimentares

Vasconcelos V.^{1,2}

(1) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal

(2) Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, CIIMAR/CIMAR, Universidade do Porto, Rua dos Bragas 280, 4050-123 Porto, Portugal

* vmvascon@fc.up.pt

A ocorrência de cianotoxinas em águas doces podem colocar em risco a saúde humana através do contato direto pela pele, pela inalação ou pela ingestão, accidental ou intencionada (água e alimentos). Esta ultima via de entrada de cianotoxinas está relativamente bem documentada, dado que existem a nível mundial muitos estudos sobre a incidência de cianotoxinas na água, em alimentos contaminados (animais ou vegetais) e em suplementos alimentares. Nesta apresentação será feita uma abordagem destas várias vias, salientando-se as principais cianotoxinas envolvidas e os riscos inerentes a cada uma. Será feita uma tentativa de hierarquização dos vários tipos de alimentos contaminados, dando-se destaque aos mais problemáticos do ponto de vista de saúde humana, bem como às dificuldades analíticas inerentes a essas análises. Os suplementos alimentares produzidos a partir de cianobactérias e/ou microalgas podem apresentar contaminação por cianotoxinas e estes últimos também por cianobactérias. Quando ingeridos por grupos de risco, crianças, doentes crónicos e doentes com cancro, podem causar o agravamento dessas doenças de uma forma irreversível. Será ainda apontada a necessidade de desenvolver normas nacionais e europeias no que diz respeito ao controle de qualidade de suplementos alimentares produzidos a partir de cianobactérias e/ou de microalgas, dados os casos conhecidos de contaminação com cianotoxinas.

Palavras-Chave/Palabras Clave: riscos, exposição oral, alimentos, suplementos alimentares, cianotoxinas

Sistema Renal Hídrico (SRH) para el manejo y control de cuerpos de agua eutrofizados

Santiago E.^{1,2}; Patricio B.S.^{3,2}; Andrinolo D.^{1,4*}

(1) Laboratorio de toxicología y Programa Ambiental de Extensión Universitaria (PAEU), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Calle 47 y 115, CP 1900, La Plata, pcia. de Buenos Aires, 0221 4226977

(2) Comisión Nacional de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC)

(3) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata. Calle 47 y 115, CP 1900, La Plata, pcia. de Buenos Aires, 0221 4236686 int 214

(4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

* dandrinolo@yahoo.com

La eutrofización es un problema ambiental persistente caracterizado por una elevada carga de fósforo y nitrógeno. Una de las consecuencias de la eutrofización en lagunas pampeanas son el aumento de la turbidez, los florecimientos de cianobacterias toxigénicas y la disminución de la diversidad biológica. En los últimos años se llegó a un consenso en que el control de los niveles de fósforo en los cuerpos de agua sería la clave para recuperar el estado trófico de los cuerpos de agua. Se acepta que reducir el nivel de fósforo a menos de 30 – 50 ppb permitirá disminuir la turbidez y mitigar los florecimientos cianobacterianos.

EL SRH tiene como objetivo potenciar la calidad de los cuerpos de agua tanto como sustento de actividades de recreación y deportivas sino también como fuente de agua de consumo y la producción acuícola y fundamentalmente en mitigar los procesos eutrofizantes.

Se basa en la remoción (física, química y biológica) controlada de biomasa y nutrientes fundamentalmente P. Consiste en la incorporación de una corriente en paralelo al cuerpo de agua, la cual es sometida a una serie de tratamientos físicos, químicos y biológicos que permitan retener biomasa, y nutrientes.

El proceso general es un proceso que se constituye de 2 unidades fenomenológicas fundamentales: floculación- sedimentación y filtración y corrección. Las 2 unidades del proceso involucran y una tercera unidad que es el sistema de bombeo.

La unidad de mayor importancia, donde se realiza la remoción de fósforo es la unidad de floculación-sedimentación. El floculo es así una de las claves del proceso que debe ser investigada con detenimiento, sus características en cuanto a la capacidad de retener no solo fósforo sino también metales pesados o pesticidas debe ser estudiada.

Palabras-Chave/Palabras Clave: Eutrofización, lagunas pampeanas, Sistema Renal Hídrico, remoción fósforo

Bioacumulação e depuração de microcistina-LR em hortaliças (*Lactuca sativa* L. e *Eruca sativa* Mill.) irrigados com água contaminada: Implicações para a saúde humana

Bittencourt-Oliveira M.C.^{1,2*}, Cordeiro-Araújo M.K.^{1,2}, Chia M.A.¹, Tornisiello V.L.³, Vilca F.Z.³, Moura A.N.², Arruda-Neto J.D.T.⁴

(1) Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, Brasil

(2) Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

(3) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, Brasil

(4) Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil

* mbitt@usp.br

O consumo de microcistina-LR (MC-LR) em vegetais contaminados é uma rota reconhecida de exposição humana e representa risco significativo para a saúde pública. Até o momento, não há estudos sobre depuração em hortaliças agriculturáveis contaminadas com cianotoxinas. O objetivo deste estudo foi investigar a bioacumulação e posterior depuração de MC-LR purificada nas concentrações de 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ nos tecidos foliares de alface e rúcula após irrigação com água com MC-LR (MC+). Na fase de depuração, as plantas foram irrigadas diariamente por mais 7 dias com água sem MC-LR (MC-). As concentrações de MC-LR foram determinadas por LC-MS/MS (cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em sequência). Nos tecidos foliares da alface houve acúmulo de 51,20 e 101,09 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ no último dia de irrigação com água MC+, para as concentrações de 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Após 7 dias de irrigação com água MC- e após o experimento de bioacumulação, restaram cerca de 1,7% e 25% da concentração inicial de MC-LR para 5 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ nos tecidos foliares, respectivamente. Já a rúcula não acumulou microcistinas nos tecidos foliares. Se um adulto de 60 kg e uma criança de 40 kg, consumirem 40g de folhas de alface (cerca de 4 folhas) irrigadas com 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ estariam consumindo 4,04 μg de MC-LR. Isso equivaleria a 0,07 e 0,11 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de MC por massa corpórea para um adulto e criança, respectivamente, ultrapassando, dessa forma, a ingestão diária tolerável recomendada pela Organização Mundial de Saúde de 0,04 $\mu\text{g kg}^{-1}$ por massa corpórea.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Contaminação alimentar, Alface, Rúcula, Saúde pública.

Effects of proteolytic digestion on the cyanotoxins microcystin-LR and cylindrospermopsin: the importance in integrating the bioaccessibility in human health risk assessment

Freitas M.^{1,2,3*}, Azevedo J.¹, Carvalho A.P.^{1,2}, Mendes V.M.⁴, Manadas B.⁴, Campos A.¹, Vasconcelos V.^{1,2}

(1) CIIMAR/CIMAR - Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Rua dos Bragas 289, P 4050-123 Porto, Portugal

(2) Faculty of Sciences, Porto University, Rua do Campo Alegre, 4169-007 Porto, Portugal

(3) Department of Environmental Health, School of Allied Health Technologies. Polytechnic Institute of Porto. CISA/Research Center in Environment and Health, Rua de Valente Perfeito, 322, 4400-330 Gaia, Portugal

(4) Center for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Portugal

* marisaalexandrafreitas@gmail.com

The occurrence and proliferation of toxic cyanobacterial blooms are an emergent environmental concern worldwide. Microcystin-LR (MC-LR), a potent hepatotoxin, is the most documented and studied cyanotoxin. The cytotoxin cylindrospermopsin (CYN) has been recognized of increased concern due to the invasive nature of its main producer, *Cylindrospermopsis raciborskii*. Previous studies have shown that edible aquatic organisms, especially bivalves, can accumulate high levels of these cyanotoxins. MC-LR and CYN are stable at a wide range of temperatures and pHs, thus the knowledge of the influence of human digestion on its concentration in food is required to achieve a more accurate health risk assessment. The aim of this study was to assess the MC-LR and CYN bioaccessibility in edible bivalves.

Clams (*C. fluminea*) fed MC-LR-producing *M. aeruginosa* and mussels (*M. galloprovincialis*) fed CYN-producing *C. raciborskii* were subjected to an *in vitro* digestion model adapted from Maulvault et al. (2011) and Versantvoort et al. (2005). Bioaccessibility of MC-LR and CYN were then assessed by LC-MS/MS.

The bioaccessibility of MC-LR after proteolytic digestion was reduced to 83%, potentially because of its degradation by pancreatic enzymes. The *in vitro* digestion with salivary and gastrointestinal juices considerably decreased the CYN availability in uncooked and steamed mussels. Our results suggest that risk assessment based on MC-LR and CYN concentration in raw products might not be representative of true human exposure, once bioaccessibility strongly reduces the potential toxicological risks. Thus, the incorporation of the bioaccessibility of these cyanotoxins in the human exposure estimation would be of particular relevance to the application of more forceful management measures.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Bioaccessibility, bivalves, cylindrospermopsin, microcystin-LR, risk assessment

Degradação de microcistina através da exposição à radiação gama e feixes de elétrons

Cavalcante-Silva E.^{1*}, Andrette R.O.², Rocha O.³, Arruda-Neto J.D.T.^{2, 4}, Quesada A.¹

(1) Universidad Autónoma de Madrid, Espanha

(2) Universidade de São Paulo, Brasil

(3) Universidade Federal de São Carlos, Brasil

(4) Universidade Italiana-Brasileira - CEPESq/Unifitalo - Brasil

* erika.cavalcante@gmail.com

Microcystis são cianobactérias que apresentam formações de florações e produção de microcistina. As florações estão relacionadas à eutrofização artificial causada por excesso de nutrientes oriundos de atividades humanas. Os reservatórios de água utilizados para abastecer a população estão sujeitos ao aparecimento de florações de cianobactérias que precisam ser monitoradas para evitar riscos à saúde humana. O sistema convencional de tratamento de água não remove a toxina do meio aquático. O objetivo deste trabalho foi investigar a atenuação da microcistina pela ação de feixes de elétrons e radiação gama. A cianotoxina estudada foi exposta à radiação gama e feixes de elétrons, nas doses: 3, 5, 10 e 15 kGy. Para comprovar se houve degradação da toxina foram realizados testes de ecotoxicidade com o cladóceros *Ceriodaphnia silvestrii*. Os resultados dos ensaios apresentaram degradação da toxina quando expostas a ambas radiações. A exposição da microcistina à radiação gama exibiu menor taxa de degradação quando comparadas com as amostras irradiadas com feixes de elétrons. Os resultados mostraram que dentre as radiações ionizantes utilizadas neste estudo, a exposição aos feixes de elétrons provou ser o tipo de radiação mais indicada para a atenuação da microcistina. Este estudo indica, portanto, que existem perspectivas promissoras para a continuidade de pesquisas com utilização de feixes de elétrons para a atenuação ou eliminação da toxicidade de cianotoxinas.

Palavras-Chave/Palabras Clave: radiação gama, feixes de elétrons, microcistina, *Ceriodaphnia silvestrii*.

Tecnologias avançadas de remoção de cianobactérias no tratamento de água para consumo humano

Camacho F.P.^{1*}, Moreti L.O.R.¹, Silva, M.O.¹, Ferreira-Pinto L.¹, Giufrida W.M.¹, Cardozo-Filho L.¹, Vieira A.M.S.¹, Amorim M.T.S.P.², Bergamasco R.¹

(1) Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química, Av. Colombo, 5790. 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil

(2) Universidade do Minho. Campus de Azurém. 4800-058. Guimarães, Portugal

* franciele_camacho@hotmail.com

O objetivo deste trabalho foi avaliar a remoção de cianobactérias por meio da etapa de flotação por ar dissolvido, utilizando a semente de *Moringa oleífera* como coagulante natural. Na primeira fase, foi realizado o cultivo em laboratório da espécie *Cylindrospermopsis raciborskii*. A segunda etapa consistiu na extração do óleo da semente com o solvente propano em condições supercríticas. Os experimentos foram conduzidos em temperaturas de 30 a 60 °C, pressão de 80 a 120 bar e fluxo do solvente constante em 1 mL·min⁻¹. Em seguida, foram realizados ensaios de FAD com as finalidades de comparar a eficiência do pó integral e do pó desengordurado e de avaliar se há interferência do óleo nas dosagens de 25 a 1000 mg·L⁻¹. Os resultados obtidos foram para G_{mr} igual a 810 s⁻¹, t_{mr} de 20 segundos, G_f de 30 s⁻¹ e t_f de 20 minutos. Para a etapa da FAD, os melhores resultados foram para P_{sat} de 4 bar, t_{sat} de 8 minutos, R de 15% e V_f igual 5 cm·min⁻¹. Os resultados da extração por fluido supercrítico (EFS) do óleo de *M. oleífera* indicaram rendimentos na faixa de 39% a 42%, sendo a condição experimental de 80 bar e de 30 °C a que apresentou o maior rendimento em óleo, condizentes com os teores de proteína apresentados (41,72%). Isso indicou que a EFS é uma técnica eficiente para extração do óleo e obtenção de um pó desengordurado com alto teor proteico. Dentre os dois coagulantes testados com suas respectivas dosagens ótimas, o pó desengordurado foi o que apresentou as melhores eficiências de remoções de 97,4% clorofila-*a*, de 81,0% cor, de 84,0% turbidez e valores de potencial zeta próximos de zero, utilizando as menores dosagens. Assim, pode-se concluir que o óleo presente nas sementes pode ocultar proteína, minimizando a eficiência dos processos de coagulação/floculação.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Coagulação/floculação, flotação por ar dissolvido, *Moringa oleífera* Lam, cianobactéria, cianotoxinas.

Avaliação do polímero comercial PVA auxiliar ao coagulante natural *Moringa oleífera* Lam para a remoção de *Microcystis aeruginosa* no tratamento de água para consumo humano

Moreti L.O.R.^{1*}, Camacho F.P.¹, Silva, M.F.¹, Coldebella P.F.¹, Nishi L.¹, Cossich E.S.¹, Amorim M.T.S.P.², Bergamasco R.¹

(1) Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química, Av. Colombo, 5790. 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil

(2) Universidade do Minho. Campus de Azurém. 4800-058. Guimarães, Portugal

* li.moreti@hotmail.com

Polímeros podem ser utilizados como coagulante primário ou como auxiliares de floculação. Entretanto, o uso de coagulantes inorgânicos, que são sais trivalentes de ferro e alumínio, é mais frequente em estações de tratamento de água. Recentemente, estes coagulantes têm sido alvo de discussão, em função de haver evidências de que o mal de Alzheimer está associado ao alumínio na água destinada ao consumo humano, além de não ser biodegradável, ocasionando problemas de disposição final. Sendo assim, em vários países, inúmeras plantas e seus derivados estão sendo utilizadas como coagulantes/floculantes naturais, alguns biopolímeros vêm sendo investigados mais intensamente que outros, como é o caso da *Moringa oleífera* Lam. Desta forma esta pesquisa tem como objetivo avaliar a remoção de clorofila-a, cor, turbidez e compostos por absorção em UV₂₅₄, nos processos de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido utilizando como coagulante natural o pó integral de *Moringa oleífera* associada à um polímero catiônico, o álcool polivinílico (PVA), devido sua capacidade de aglutinação de partículas. Para a realização dos ensaios foi utilizado uma "água sintética" a partir de água destilada inoculada com a espécie *Microcystis aeruginosa* na concentração de 10⁶ cel.mL⁻¹. Utilizou-se a dosagem de 100 mg.L⁻¹ do pó coagulante e variou-se a dosagem de polímero de 0,05 à 0,4 mg.L⁻¹. Os ensaios apresentaram resultados satisfatórios e a partir de análise estatística, teste Tukey, foi estabelecida a concentração ótima de PVA, 0,2 mg.L⁻¹, na qual atingiu-se remoções de 88% para clorofila-a, 68% para cor, 78% para turbidez e 30% para UV₂₅₄. Com relação ao potencial zeta foi observado um valor de -11,3 mV, mostrando maior estabilidade dos flocos após o uso do polímero catiônico. No entanto, deve-se considerar que essa fase do estudo não contemplou um sistema de tratamento completo que permite o polimento da água tratada após o processo de flotação por ar dissolvido.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cianobactérias, polímero, *Moringa oleífera*, coagulação/floculação, flotação.

Remoção de cianobactérias tóxicas de águas superficiais com uso do coagulante da *Moringa oleifera* Lam. e sua influência na filtração lenta com não-tecidos

Gouvêa-Barros S.^{1*}, Bittencourt-Oliveira M.C.², Paterniani J.E.S.¹

(1) Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Laboratório de Saneamento, 13083-875, Campinas, SP, Brasil

(2) Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Laboratório de Cianobactérias, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

* selma.barros@feagri.unicamp.br

Cianobactérias representam uma séria preocupação para a Saúde Pública por liberarem cianotoxinas na água de mananciais de captação. Estratégias mitigatórias devem ser implementadas em processos de tratamento de água para remover esses compostos indesejáveis. A planta *Moringa oleifera* possui em suas sementes substâncias coagulantes e atividade cianobactericida, representando uma potencial alternativa aos coagulantes químicos no tratamento de água contendo altas concentrações de cianobactérias tóxicas. Outra estratégia alternativa apropriada para tratamento da água é a filtração lenta, por ser tecnologia de fácil implementação e de baixa manutenção. O uso de meio filtrante de manta sintética não-tecida adiciona as vantagens de diminuir custos de operação do filtro e prolongar a duração da filtração. Objetivou-se avaliar a influência do coagulante de moringa na remoção de cianobactérias tóxicas da água, bem como sua interferência no desempenho da filtração lenta com não-tecidos. Através do Planejamento Experimental Fatorial Completo, as condições dos processos de coagulação e floculação foram otimizadas para atingir a melhor resposta em remoção celular e de turbidez, considerando densidade celular inicial de $4E+05$ células.mL⁻¹ (BCCUSP232 *Microcystis aeruginosa*, produtora de microcistinas) e turbidez de 54,00 NTU, seguida de filtração com taxa de aplicação de 6,0 m³.m⁻².dia⁻¹. O teste F foi altamente significativo para ambas respostas e os modelos matemáticos obtidos foram adequados para descrever os resultados através da superfície de resposta com finalidade preditiva. Além disso, o uso do coagulante da moringa aumentou o tempo de duração da carreira de filtração em aproximadamente 40 %, além de manter seu efluente com níveis muito baixos de densidade celular do início ao fim da filtração. Concluiu-se que o uso da moringa ocasiona vantagens no desempenho da filtração lenta com não-tecidos, pois este é beneficiado pela sedimentação da maior parte das células suspensas, promovida pela ação do coagulante, representando uma eficiente remoção de microcistinas suspensas.

Palavras-Chave/Palabras Clave: tratamento de água, microcistinas, moringa, filtração lenta, não-tecidos

SESSÃO 4

TOXICOLOGIA DE CIANOTOXINAS

SESIÓN 4

TOXICOLOGÍA DE CIANOTOXINAS

Nuevos avances en el conocimiento de la toxicidad de cianotoxinas

Pichardo S. *, Jos A., Cameán A.M.

Área de Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Profesor García González nº 2, 41012. Sevilla. España

* spichardo@us.es

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado las cianobacterias productoras de cianotoxinas como un problema de salud emergente. Por su conocida presencia en la naturaleza, el hombre puede entrar en contacto con ellas por diferentes vías, destacando la vía oral, bien por ingesta directa de agua o alimentos contaminados. Entre todas las cianotoxinas que pueden inducir efectos adversos en el hombre, caben destacar las microcistinas (MCs) y cilindrospermopsina (CYN). Además, debido a su carácter emergente, es también de gran preocupación la toxina β -N-metilamino-L-alanina (BMAA), que presenta efectos tóxicos a nivel neurológico estando relacionada con la aparición de enfermedades neurodegenerativas. Todas ellas, presentan diferentes estructuras químicas y consecuentemente diferentes toxicocinéticas y mecanismos de acción tóxicos. Existen estudios que demuestran la transferencia a alimentos tanto de las toxinas más estudiadas (MCs y CYN), como de BMAA, constatándose recientemente su presencia en trigo y mejillones de agua dulce, e incluso en berberechos (presentes en el mar).

Por todo ello, en la presente ponencia, se presentan los avances producidos en los estudios toxicológicos en estos últimos años de dichas cianotoxinas. Entre ellos, destacamos los estudios moleculares que han puesto de manifiesto alteraciones a nivel transcripcional debido a la exposición de MCs y CYN en modelos experimentales tanto *in vitro* como *in vivo* y que han servido en gran medida para profundizar en los mecanismos de acción tóxica de ambas toxinas. Estas investigaciones han puesto de manifiesto aspectos novedosos como el papel del óxido nítrico en la genotoxicidad crónica inducida por MC-LR o la influencia de la especie animal y el congénere de MC en la conjugación con GSH, así como el potencial daño pulmonar y neurotóxico de CYN.

Palavras-Chave/Palabras Clave: microcistina, cilindrospermopsina, β -N-metilamino-L-alanina, toxicidad

Efectos de metabolitos tóxicos producidos por *Aphanizomenon ovalisporum* en cultivos de células HepG2

Valle S., Fernández-Freire P., Barón-Sola A., Sanz-Alfárez S. *

Universidad Autónoma de Madrid. Departamento de Biología. Campus de Cantoblanco. 28049-Madrid.

* soledad.sanz@uam.es

La cilindrospermopsina (CYN) es una cianotoxina alcaloidea producida por varias especies de cianobacterias distribuidas en ecosistemas acuáticos diversos, entre las que se encuentra *Aphanizomenon ovalisporum*. En los últimos años se ha producido un incremento considerable de esta toxina, aumentando la preocupación por su potencial genotóxico y cancerígeno. Recientemente, se ha determinado la presencia de otro metabolito producido por algunas cianobacterias, el guanidinoacetato (GAA). Este compuesto actúa como precursor en la síntesis de CYN, siendo el producto de la primera reacción enzimática en la que participa una amidinotransferasa codificada por el gen *aoaA/cyrA*, sin embargo se ha detectado tanto en cianobacterias productoras de CYN como no productoras, por lo que el GAA parece ser un metabolito común de cianobacterias. Es uno de los compuestos guanidínicos tóxicos más estudiado en humanos debido a su efecto sobre el sistema nervioso, y la producción de hipercisteinemia, representando un riesgo cardiovascular.

En el presente trabajo se ha estudiado la toxicidad de CYN y GAA sobre la línea celular de hepatoma humano, HepG2. Los ensayos se han realizado tanto con los compuestos puros individualmente como combinados, así como con extractos de células procedentes de cultivos de *A. ovalisporum* UAM-MAO, productora de CYN y GAA. También se ha iniciado el estudio de cambios morfológicos, y de expresión de genes relacionados con diferentes procesos celulares, descritos durante procesos tóxicos. Los ensayos de viabilidad celular nos han permitido comprobar que se induce un efecto bastante letal, sobre todo cuando el tratamiento se realizaba con los extractos celulares procedentes de *A. ovalisporum* UAM-MAO. Y en menor medida cuando el ensayo se realiza con la mezcla de ambas toxinas puras. Los resultados aportarán una información valiosa que ayudará a mejorar el conocimiento del efecto que provocan estos metabolitos, y facilitará la ampliación de los estudios de gestión y evaluación de la cianotoxicidad en los sistemas acuáticos.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cilindrospermopsina, guanidinoacetato, células HepG2, viabilidad celular.

Effects of the irrigation with Microcystin contaminated water on the quality of carrots (*Daucus carota*)

Machado J.^{1*}, Azevedo J.¹, Freitas M.^{1,2}, Pinto E.^{2,3}, Vasconcelos V.^{1,4}, Campos A.¹

(1) Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR/CIMAR), University of Porto, Rua dos Bragas 289, P 4050-123 Porto, Portugal

(2) Polytechnic Institute of Porto. Environmental Health Department. School of Applied Health Technologies. CISA/Research Center in Environment and Health, Rua de Valente Perfeito, 322, P 4400-330 Gaia, Portugal

(3) REQUIMTE, Department of Chemical Sciences, Laboratory of Bromatology and Hydrology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, P 4050-313 Porto, Portugal

(4) Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, P 4069-007 Porto, Portugal

* joana.ffmachado@gmail.com

Cyanobacteria blooms are often found in freshwaters and may reflect the increased eutrophication of these environments. Microcystin-LR (MC-LR), mainly produced by *Microcystis aeruginosa*, is the most documented and studied cyanotoxin causing serious problems to human health. Contaminated waters are commonly used for agriculture purposes and may represent a risk to food safety and crop's quality. The plant root system is usually more exposed via soil irrigation, and therefore, root-vegetables are more predisposed to contamination. Is important to evaluate the possible negative effects of the use of water containing MC in the physiology and quality of carrots (*Daucus carota*) due to its importance for human nourishment and economy.

For this purpose young carrots (~ 1 month old) were grown in soil during 1 month in environmental conditions (room temperature and natural photoperiod). Three groups were performed with plants being irrigated with non-contaminated water (control) or with a crude *M. aeruginosa* extract containing respectively with 10 and 50 µg/L MC twice a week. Evaluation of physiological conditions were accessed through quantification of the growth parameters (fresh and dry weight of roots and leaves) and evaluating the maximum efficiency of photosystem II, evaluated by pulse amplitude modulation (PAM). The nutritional quality of the carrots was also studied by quantifying the macro (AAS and spectrophotometry) and micro minerals (ICP-MS) content.

The results showed that *M. aeruginosa* crude extract did not produced toxic effects in *D. carota*, under conditions of prolonged exposure at environmental concentrations of the toxin. Additionally, the results showed that both short and prolonged exposure to MC increases photosynthetic efficiency of plants. It was also possible to observe alterations in the mineral content of the crops. The observed alterations may have consequences on the nutritional value of the carrots or even toxic implications thus requiring further clarification.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Agricultural crops, cyanotoxins, *Daucus carota*, *Microcystis aeruginosa*, Microcystin-LR

Glutathione Transferases responses induced by Microcystin-LR in the clam *Ruditapes philippinarum*

Carneiro M.^{1*}, Reis B.¹, Azevedo J.¹, Machado J.¹, Campos A.¹, Osório H.^{2,3,4}, Vasconcelos V.^{1,5}, Martins J.C.¹

(1) CIIMAR/CIMAR – Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(2) Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, University of Porto, 4200-135 Porto, Portugal

(3) IPATIMUP - Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto, 4200-465 Porto, Portugal

(4) Faculty of Medicine, University of Porto, 4200-319 Porto, Portugal

(5) Department of Biology, Faculty of Sciences, Porto University, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal

* marianarcarneiro@gmail.com

Among several toxin congeners, the most commonly produced cyanotoxin is microcystin-LR (MC-LR). Although MC-LR is considered to be a public health issue mainly in freshwater systems, this toxin has already been found in marine habitats. Aquatic organisms are especially subjected to a more direct and frequent contact with contaminants such as this. Being a sessile, filter feeding and lower trophic level class organism, bivalves are one of the most threatened groups by cyanotoxins. Glutathione Transferases (GSTs) are phase II detoxification enzymes known to be involved in the molecular response against MC induced toxicity. However, the individual role of the several GST isoforms in the MC detoxification process is still unknown. In this way, the molecular behavior of *R. philippinarum* upon exposure to MC-LR was studied regarding the detoxification mechanisms of the GST system. Using the cytosolic fraction, the enzymatic activity of GSTs, superoxide dismutase (SOD), serine/threonine protein phosphatases (PPP2) along with the gene expression levels of four GST isoforms (π , μ , σ 1, σ 2) were investigated in the gills and hepatopancreas of the clams exposed for 24 h to 10, 50 and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ of MC-LR. Results suggest a distinct role of GST system in counteracting MCs toxicity between the gills and the hepatopancreas of *R. philippinarum*, revealing different roles between GST isoforms within and among both organs. In a continuous effort, the time-dependent changes on gene expression of GST isoforms were studied according to the results of the previous exposure to MC-LR (10 and 100 $\mu\text{g L}^{-1}$). GST transcriptional changes in gills promoted by MC-LR were characterized by an early (12h) induction of μ and σ 1 transcripts. On the other hand, the GST transcriptional changes in hepatopancreas were characterized by a later induction (48h) of μ transcript, but also by an early inhibition (6h) of the four transcripts. The different transcription patterns obtained for the tested GST isoforms in this study highlight the potential divergent physiological roles played by each isoenzymes during the detoxification of MC-LR.

Palavras-Chave/Palabras Clave: microcystins, glutathione transferases, *R. philippinarum*, detoxification, biomarker

Uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elucidar mecanismos de toxicidade da microcistina-LR

Valério E. ^{1,2*}, Campos A. ²; Vilarés A. ¹, Osório H. ³, Pereira P. ¹, Vasconcelos V. ^{2,4}

(1) Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

(2) Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR/CIMAR), Universidade do Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(3) IPATIMUP - Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto, 4200-465 Porto, Portugal

(4) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal

* elisabete.valerio@insa.min-saude.pt

Até à data, foram já efetuados diversos estudos com vários organismos e linhas celulares para desvendar os mecanismos moleculares de toxicidade da microcistina, uma das mais frequentes hepatotoxinas produzida por cianobactérias. Em células de mamíferos, o mecanismo de toxicidade da microcistina é atribuída a um processo que envolve várias vias, um deles relacionado com a inibição das fosfatases proteicas PP1 / PP2A e outro com a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS). Contudo, existem ainda algumas lacunas na identificação destes mecanismos, que impede a total caracterização do modo de ação desta toxina. Por forma a contribuir para a elucidação dos mecanismos de toxicidade da variante química microcistina-LR (MCLR), neste estudo foram avaliados os efeitos de várias concentrações de MCLR nos níveis de ROS, resposta do sistema antioxidante, indução de apoptose, expressão diferencial de proteínas e alteração da expressão génica na levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Verificou-se que após coloração das células com fluorocromos, a exposição das células à toxina induziu um aumento dos níveis intracelulares dos ROS. Este aumento provocou uma ativação do sistema antioxidante, especialmente na resposta da catalase. Além disso, observou-se uma inibição da superóxido dismutase citosólica, o que em conjunto com o tipo de espécies reativas de oxigénio passíveis de estarem presentes, sugere que a ROS maioritariamente induzida é peróxido de hidrogénio (H₂O₂). Observaram-se ainda sinais de apoptose após avaliação por citometria de fluxo, usando um kit de Anexina V-FITC. Da análise proteómica, verificou-se que 14 proteínas foram diferencialmente expressas nas células expostas a diferentes concentrações de MCLR, quando comparada com o controlo. A análise da expressão relativa dos genes homólogos das PP1/PP2A e de genes BER envolvidos na reparação de DNA revelou que alguns destes apresentaram respostas diferenciais, dependentes da concentração de toxina usada. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* VL3 apresenta alguns dos principais efeitos tóxicos induzidos pela microcistina-LR em eucariotas superiores e o seu uso revelou que existem proteínas e genes alterados pela exposição à MCLR que são transversais a vários modelos eucarióticos.

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Saccharomyces cerevisiae*, Microcistina-LR, stress oxidativo, apoptose

Cianobactérias associadas a esponjas marinhas (Porifera): diversidade e produção de toxinas

Regueiras A.^{1,2*}, Vasconcelos V.^{1,2}

(1) Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Portugal

(2) CIIMAR-UP – Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto

* anaregueiras@gmail.com

As cianobactérias formam relações simbióticas com um grande número de organismos eucarióticos. Em ambientes marinhos são comuns relações simbióticas de cianobactérias com esponjas, embora ainda sejam escassos os trabalhos realizados em climas temperados. As relações entre estes dois organismos trazem benefícios a ambos. As cianobactérias transferem nutrientes essenciais para as esponjas e produzem metabolitos secundários, conferindo proteção e aumentando a sua competitividade por substrato. Por outro lado, as esponjas providenciam abrigo e níveis superiores de amónio e fósforo do que os presentes no oceano. Uma vez que as esponjas são organismos filtradores, filtram milhares de litros de água por dia, concentrando no seu interior microorganismos presentes na coluna de água. Sabe-se que alguns destes microorganismos, embora não verdadeiramente simbiotes, resistem à fagocitose, podendo viver no interior da esponja.

Muitos dos compostos secundários, de elevado interesse comercial e farmacêutico, extraído de esponjas marinhas, são biossintetizados por organismos associados às esponjas. As cianobactérias de vida livre produzem uma enorme diversidade de metabolitos secundários, contudo, são escassos os estudos de toxicologia com cianobactérias associadas a esponjas.

O presente trabalho tem como objectivo o isolamento de cianobactérias presentes no interior de esponjas marinhas da costa portuguesa, e a avaliação do potencial tóxico destas estirpes.

Resultados preliminares demonstram que certas estirpes possuem um potencial tóxico elevado. Algumas das espécies isoladas foram igualmente detectadas na coluna de água, apontando para o facto de não serem verdadeiramente simbiotes. Contudo, uma vez que as esponjas são organismos filtradores, isto demonstra a capacidade que têm em concentrar no seu interior os organismos presentes na coluna de água. Assim, as esponjas poderão ser usadas para monitorização e obtenção de cianobactérias simbióticas e presentes na coluna de água.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cianobactérias, Esponjas, metabolitos secundários, monitorização, toxinas

Hepatic and intestine alteration in mice after oral low doses of Microcystin-LR prolonged exposure

Sedan D. ^{1*}, Laguens M. ²; Copparoni G. ¹, Aranda O. ¹, Giannuzzi L. ³, Marra C.A. ⁴, Andrinolo D. ¹

- (1) Laboratorio de Toxicología. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina
- (2) Cátedra de Patología B, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata, La Plata; Argentina
- (3) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-CONICET), La Plata, Argentina
- (4) INIBIOLP (Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata), Cátedra de Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina

* dandrinolo@yahoo.com

MC-LR oral prolonged exposure is worrying since implicate the principal route of exposure and could lead to liver damages which has not had specific symptomatology. Also this kind of exposure is not enough explored yet. The aim of this work was to explore the liver and intestine damages generated by oral prolonged exposure to 50 and 100 µg MC-LR/kg in a murine model.

We found a 10% and 35% of hepatic steatosis for 50 and 100µg MC-LR/kg treated animals respectively and a dose dependent intraepithelial lymphocytes decrease. Also, were registered alterations in TBARS, SOD activity and glutathione profile in liver and intestine of mice exposed to both doses of MC-LR. In addition the presence of MC-LR was detected in both organs which indicate that the damage generated in liver (main target of the toxin) and intestine (the most important organ involved in the toxin absorption) is generated by the contact whit MC-LR. Our results indicate that intermittent oral exposure at doses as low as 50 µg MC-LR/kg generates damage not only in liver but also in intestine.)

Palavras-Chave/Palabras Clave: microcystin, Low oral doses, intestine and hepatic alteration.

Toxicological effects and microcystin bioaccumulation in several bivalve species exposed to toxic *M. aeruginosa* cells

Carneiro M.^{1*}, Reis B.¹, Azevedo J.¹, Vasconcelos V.^{1,2}, Martins J.C.¹

(1) CIIMAR/CIMAR – Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(2) Department of Biology, Faculty of Sciences, Porto University, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal.

* marianarcarneiro@gmail.com

Cyanobacterial blooms that produce potent and environmentally persistent biotoxins like microcystins (MCs) are an emerging global health issue, affecting not only freshwater and estuarine systems, but also marine habitats (land-sea flows). MCs are known to accumulate in aquatic organisms and to promote adverse effects on life history traits. Bivalves are the main vectors for the transfer of several major groups of phycotoxins, presenting marked inter-specific differences in their bioaccumulation potential. In the same way, MCs accumulation in these organisms is dependent on the balance between the processes associated with toxin intake and the mechanisms of detoxification, which may differ between species. The aim of this study was to assess the impact of a *Microcystis aeruginosa* toxic strain on the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*, the freshwater clam *Corbicula fluminea*, and the estuarine clam *Ruditapes philippinarum*. For this, the MC accumulation and biochemical responses (GST, SOD, PPP2, LPO, GSH) were analysed in the gills and hepatopancreas of all bivalve species after 2 and 7 days of exposure to a toxic *M. aeruginosa* toxic strain (1×10^5 cells ml^{-1}). New insights on MC dynamics between bivalves are crucial to define interspecies-specific differences and trends and to clarify which species are better adapted to cyanotoxin exposure.

Palavras-Chave/Palabras Clave: microcystins, bivalves, bioaccumulation, biomarkers

Depuration process (3 or 7 days) reverses histopathological effects in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) subchronically exposed to *A. ovalisporum* culture

Guzmán-Guillén R.¹, Prieto A.I.¹, Moreno I.M.¹, Moyano R.², Blanco A.³, Cameán A.M.^{1*}

(1) Área de Toxicología. Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Universidad de Sevilla

(2) Departamento de Farmacología, Toxicología y Medicina Legal y Forense. Universidad de Córdoba

(3) Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba

* camean@us.es

Cylindrospermopsin (CYN) is a cytotoxin produced by several species of freshwater cyanobacteria and it is considered the second most studied cyanotoxin worldwide. Studies concerning the depuration of cyanobacterial toxins in aquatic organisms, especially in fish, are of great interest for fish economy and public health, but in the case of CYN, they are scarce. In this paper, we evaluated the efficiency of a depuration process in a clean environment in restoring the histopathological changes induced in liver, kidney, heart, gastrointestinal tract and gills of tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to CYN. For this purpose, fish were exposed to the toxin by immersion in an *Aphanizomenon ovalisporum* culture, by adding repeated doses of 10 µg CYN/L every two days for 14 days, after which they were transferred to clean aquaria to be depurated for 3 or 7 days, and the histopathological analysis was performed by light and electron microscopy. The results revealed that after 3 days of depuration only the gills achieved a recovery of their normal structure, while the liver, kidney and gastrointestinal tract required 7 days for this. However, longer periods of depuration than the studied in this work may be needed for a full recovery of the cardiac alterations induced. These results validate the depuration process as an effective practice for detoxification in fish contaminated with CYN.

Keywords: Cylindrospermopsin, *Aphanizomenon ovalisporum*, tilapia, histopathology, depuration.

Protective role of vitamin E supplementation against the oxidative stress on Cylindrospermopsin-exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Guzmán-Guillén R., Prieto Al., Martín-Cameán A., Jos A. *

Área de Toxicología. Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Universidad de Sevilla

* angelesjos@us.es

Cylindrospermopsin (CYN) is one of the most important toxins in terms of both human health and environmental quality. The main mode of action of CYN is the inhibition of protein and glutathione synthesis, its genotoxicity by DNA fragmentation and more recently different studies have demonstrated that oxidative stress also plays a significant role in CYN pathogenesis on fish. The present study investigated the effects of vitamin E supplementation against the oxidative stress induced by pure CYN in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish were pretreated with 700 mg vitamin E/kg fish body weight (bw)/day for 7 days, and on day seven, they received a single dose of 400 µg pure CYN/kg fish bw by oral route, and were killed after 24 h. The biomarkers evaluated included lipid peroxidation (LPO), protein and DNA oxidation, glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and γ-glutamyl-cysteine synthetase (GCS) activities, and ratio of reduced glutathione-oxidized glutathione (GSH/GSSG). Results showed that vitamin E supplementation was effective in reducing the toxicity induced by CYN, recovering the biomarkers assayed to basal levels. Therefore, the present work is the first to present the use of vitamin E as a safe chemoprotectant in the prophylaxis of CYN-intoxications in tilapia.

Keywords: Cylindrospermopsin, vitamin E, oxidative stress, fish.

Vitamin E pretreatment prevents histopathological effects in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) acutely exposed to Cylindrospermopsin

Guzmán-Guillén R.¹, Prieto A.I.¹, Gutiérrez-Praena D.¹, Moreno I.M.¹, Moyano R.², Blanco A.³, Cameán A.M.^{1*}

(1) Área de Toxicología. Departamento de Nutrición y Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. Universidad de Sevilla

(2) Departamento de Farmacología, Toxicología y Medicina Legal y Forense. Universidad de Córdoba

(3) Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba

* camean@us.es

Cylindrospermopsin (CYN) is a cyanotoxin frequently involved in blooms with a predominantly extracellular availability, which makes it easily taken up by a variety of aquatic organisms. CYN is a potent protein and glutathione synthesis inhibitor, and also induces genotoxicity, oxidative stress and several histopathological lesions. The present study investigates the protective role of a vitamin E pretreatment (700 mg vit E/kg fish bw/day, for 7 days) on the histopathological alterations induced in different organs of tilapia (*Oreochromis niloticus*) acutely exposed to a single oral dose of 400 µg pure CYN/kg bw fish. The major histological changes observed were degenerative glucogenic process and loss of the hepatic structure glomerulopathy and tubular tumefaction in the kidney, myofibrosis and edema in the heart, catarrhal enteritis and necrosis in the gastrointestinal tract, hyperemic processes in the gill lamellae, and high basophilia, degeneration and tumefaction of granular neurons. Vitamin E pretreatment was effective in preventing or ameliorating the abovementioned alterations induced by CYN. In addition, a morphometric study indicated that the average nuclear diameter of hepatocytes, and cross-sections of proximal and distal convoluted tubules, together with the cardiac fiber and capillaries diameters represent a useful tool to evaluate the damage induced by CYN. This is the first study reporting vitamin E prevention of histopathological damage in tissues of fish intoxicated with CYN.

Keywords: Cylindrospermopsin, Vitamin E, tilapia, histopathology, morphometry.

SESSÃO 5

NOVAS TENDÊNCIAS DE I&D EM CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

SESIÓN 5

LAS NUEVAS TENDENCIAS DE I&D EN LAS CIANOBACTERIAS Y CIANOTOXINAS

Nuevas tendencias de I&D en cianotoxinas

Botana L.M.

Departamento de Farmacología, Fac. Veterinaria, Univ. Santiago de Compostela, Lugo

* Luis.Botana@usc.es

Las cianotoxinas están cada vez más presentes y extendidas geográficamente, debido a varios factores relacionados con la actividad humana y el cambio climático. Su efecto tóxico tiene relevancia en las aguas dulces, pero son numerosas las cianotoxinas marinas. Esta presentación discutirá los aspectos relacionados con su investigación toxicológica (métodos de absorción in vitro, estudios de imagen), su mecanismo de toxicidad (estudios in vitro en varias líneas celulares) y su mecanismo de acción, sus formas de detección (cromatografía y detección con espectrometría de masas, métodos basados en anticuerpos, métodos basados en receptores, biosensores), y finalmente sus formas de separación (nuevos métodos cromatográficos).

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cilindrospermopsin, Microcistin, Palytoxin, Saxitoxin, Anatoxin

¿Cómo pueden contribuir las técnicas de secuenciación masiva a la detección de cianobacterias tóxicas? El ejemplo del Embalse de Rosarito (España).

Casero MC.^{1*}, Velázquez D.¹, Cirés S.¹, Medina M.², Quesada A.¹

(1) Departamento de Biología, Universidad Autónoma de Madrid, España

(2) Centro de Estudios Hidrográficos del CEDEX, Ministerio de Fomento, España

* mariacristina.casero@estudiante.uam.es

Las cianobacterias capaces de dar lugar a blooms tóxicos son frecuentes en los cuerpos de agua dulce en la Península Ibérica. Ante esta situación, el objetivo de este trabajo consiste en describir los taxones de la comunidad de cianobacterias del embalse de Rosarito (España) potencialmente implicados en la toxicidad del embalse. Para ello se trabajó en la detección y posterior secuenciación mediante la plataforma Illumina-MiSeq -Next Generation Sequencing (NGS)- de genes elegidos como marcadores moleculares de las rutas biosintéticas de las principales cianotoxinas (anatoxina-a, microcistinas, saxitoxinas, cilindrospermopsina) en muestras de cuatro meses del bloom del embalse en 2013. La presencia de los genes de las rutas biosintéticas de anatoxina-A, microcistinas y saxitoxinas coincidió con la detección de éstas en las muestras. La comparación entre la evolución de las OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales) de los principales productores potenciales de las cianotoxinas obtenidas mediante NGS y la tendencia que siguen las mismas a lo largo del tiempo sugiere la posible asociación entre las OTUs y la producción de cianotoxinas sin necesidad de técnicas tradicionales de aislamiento y caracterización. La identificación de *Planktothrix agardhii* como potencial productor de microcistinas, resultado de gran importancia biogeográfica, de *Aphanizomenon issatschenkoi* como uno de los potenciales productores de anatoxina-a y de dos genotipos distintos de *Aphanizomenon gracile* potencialmente productores de saxitoxinas son resultados que muestran la ampliación del conocimiento sobre el potencial toxigeno del embalse gracias a este estudio. Se encontraron un total de 7 potenciales productores de cianotoxinas, incluyendo 2 de microcistinas, 3 de anatoxina-a y 2 de saxitoxinas. Este estudio abre paso al uso de técnicas de NGS en el futuro próximo para la descripción precoz de posibles blooms tóxicos en cuerpos de agua dulce, mediante la elaboración de catálogos genéticos de especies potencialmente productoras de cada embalse de gran utilidad en estudios de gestión.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianotoxinas, next generation sequencing, *Planktothrix agardhii*.

Structure and Biosynthesis of the Bartolosides

Leão P.N.¹ *, Nakamura H.², Costa M.¹, Pereira A.R.³, Martins R.^{1,4}, Vasconcelos V.^{1,5}, Gerwick W.H.^{3,6}, Balskus E.P.²

(1) CIIMAR, University of Porto, Portugal

(2) Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University, USA

(3) Scripps Institution of Oceanography, University of California, San Diego

(4) CISA, ESTSP, Polytechnic Institute of Porto, Portugal

(5) Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal

(6) Skaggs School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of California, San Diego, USA

* pleao@ciimar.up.pt

As a reflection of their distinct ecophysiology, cyanobacteria synthesize many secondary metabolites whose structural features are unparalleled in other chemically prolific taxa. Here we report the isolation, from phylogenetically distant strains of marine *Synechocystis salina* and *Nodosilinea* sp., of an unprecedented group of glycolipids – the bartolosides. These molecules consist of a dialkylresorcinol backbone decorated by halogenation and glycosylation, and show moderate cytotoxicity towards human cancer cell lines. The structural elucidation of the bartolosides by spectroscopic methods alone was challenging, which, together with their intriguing structural features, prompted us to study their biosynthesis. We used a genome mining approach to identify the bartolosides biosynthetic gene cluster, and reconstituted, in vitro, the enzymatic steps involved in the formation of the dialkylresorcinol moiety. This information proved to be instrumental in enabling the elucidation of the full planar structures of the bartolosides, expanding the repertoire of unusual glycolipids produced by cyanobacteria. The present work illustrates the usefulness of easily-accessible genome data for aiding structural elucidation efforts.

Palavras-Chave/Palabras Claves structural elucidation; biosynthesis; glycolipids; dialkylresorcinols; spectroscopic methods

Isolation of bioactive compounds from Morocco marine cyanobacterial mats

Martins T.^{1,2,3*}, Ramos V.^{1,2}, Costa M.S.², Bessa L.J.^{2,3}, Martins da Costa P.^{2,3}, Urbatzka R.², Hassouani M.⁴, Brahim S.⁴, Vasconcelos V.^{1,2}, Leão P.²

(1) Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, 4169-007 Porto, Portugal

(2) Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR/CIMAR), University of Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(3) Biomedical Sciences Institute of Abel Salazar (ICBAS), University of Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal

(4) Chouaib Doukkali University, Faculty of Science, Laboratory of Plant Biotechnology and Recovery of Aquatic Ecosystems, El Jadida, Morocco

* teresamartins_26@hotmail.com

Cyanobacteria produce a large number of secondary metabolites with diverse structures and potent bioactivities. To uncover new chemical diversity from this phylum, we have undertaken a sampling campaign along the Atlantic coast of Morocco. Biological material was collected from three marine benthic cyanobacteria mats dominated by *Lyngbya* spp., one from a rocky beach (Oualidia) and two from small saltern ponds located just behind the primary dune (Mrizika).

Crude organic extracts were obtained for the three mats, which were then fractionated by Vacuum Liquid Chromatography (VLC). The resulting fractions were submitted to a panel of bioassays, namely antimicrobial assays against Gram-negative bacteria, Gram-positive bacteria, and the yeast *Candida albicans*; enzymatic inhibition assays (using the 20S proteasome and HDAC as targets); as well as in vitro cytotoxicity assays with human cell lines.

Some fractions showed exceptional antimicrobial activity against *B. subtilis* and *S. aureus*, as well as evident cancer cell cytotoxicity activities, indicating the presence of promising compounds. These fractions are currently undergoing bioassay-guided isolation, with the goal of purifying and identifying the structures of these cyanobacterial secondary metabolites. The whole isolation process is being monitored by ¹H NMR analysis to verify the purification state and chemical nature of the compounds.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Morocco, secondary metabolites, *Lyngbya*, bioassay-guided isolation, antimicrobial activity, anticancer activity

Effect of the pharmaceuticals metformin, escitalopram and furosemide in cyanobacteria growth

Oliveira L.¹, Pereira, R.², Costa J.², Barros P.^{2*}

(1) Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia de Santa Catarina, Rua Adriano Korman, 510. Bela Vista. Brasil

(2) CISA- Centro de Investigação em Saúde e Ambiente; ESTSP-IPP- Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico Porto. Rua Valente Perfeito, 322. Portugal

* pbarros@estsp.ipp.pt

Worldwide one of the most prevalent water problems is eutrophication, a result of high nutrient concentration, mainly phosphorus and nitrogen. In freshwater environments, anthropogenic inputs of nutrients and other substances are a major contributing to eutrophication and consequent formation of cyanobacteria and algal blooms. The formation of cyanobacteria blooms can result in toxin production and have ecological and human health impacts. Another emerging water quality concern is the impact of personal care products and pharmaceuticals in the environment. In eutrophic waters the increased availability of pharmaceuticals can interfere with cyanobacteria cells and disrupt or enhance cyanobacteria growth. This study describes the effect of metformine, escitalopram and furosemide in the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. Cyanobacteria tests were conducted following the European Guideline (OECD 201) for algal and cyanobacteria growth inhibition test. Cyanobacteria were incubated in microplate with pharmaceuticals solutions prepared in Z8 medium under continuous light and shaking at 22°C. Results were quantified in terms of average growth rates calculated from cell numbers based on OD determination at 24h period until 120h. Pharmaceuticals used were metformin an anti-diabetic, escitalopram an antidepressive and furosemide a diuretic in ten concentrations. At 120h exposure and at the higher concentration tested the three pharmaceuticals (metformin-10mg/mL; 100% inhibition; escitalopram- 0.1mg/ml; 100% inhibition and furosemide-0.4 mg/mL; 50% inhibition) inhibited *Microcystis* growth rate. Escitalopram response showed hormesis but at higher concentrations it was more toxic than metformin and furosemide. Time related response was different between pharmaceuticals. The three pharmaceuticals interfere with *Microcystis* growth rate in different ways.

Palavras-Chave/Palabras Clave: *Microcystis*, metformine, escitalopram, furosemide, hormesis

Susceptibilidade reduzida a antibióticos e genes de resistência em cianobactérias de água doce superficial e residual

Dias E.^{1,2,3*}, Oliveira M.¹, Jones-Dias D.^{2,3}, Vasconcelos V.^{4,5}, Caniça M.^{2,3}

(1) Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Laboratório Nacional de Referência da Resistência aos Antibióticos e Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(3) Centro de Estudos de Ciência Animal (CECA, ICETA), Universidade do Porto, Porto, Portugal

(4) Laboratório de Ecotoxicologia, Genómica e Evolução, CIMAR/CIIMAR, Porto, Portugal

(5) Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Porto, Portugal

* elsa.dias@insa.min-saude.pt

É reconhecido que os recursos hídricos representam reservatórios de poluição por antibióticos e microrganismos resistentes e que os mecanismos de resistência em isolados clínicos têm provavelmente origem no resistoma ambiental, através da transferência horizontal de genes entre bactérias ambientais e patogénicas. A temática da resistência a antibióticos em bactérias aquáticas tem vindo a ganhar particular atenção, mas, pelo contrário, o papel das cianobactérias no resistoma hídrico nunca foi investigado. Num estudo prévio, determinámos as concentrações inibitórias mínimas (CIM) de várias classes de antibióticos em 4 estirpes cianobacterianas de espécies diferentes, provenientes de reservatórios de água doce superficial, com base na análise do crescimento celular e na integridade das culturas. Concluímos que todas apresentam susceptibilidade reduzida ao trimetoprim e ao ácido nalidíxico, sendo mais susceptíveis aos antibióticos beta-lactâmicos. Com o presente trabalho, pretendemos avaliar se o padrão de susceptibilidade a antibióticos em cianobactérias é condicionado por características intrínsecas à estirpe/espécie/género e por aspetos extrínsecos como o seu nicho ecológico. Foram avaliadas 8 estirpes de *Microcystis aeruginosa* e de *Planktothrix agardhii* isoladas de diferentes reservatórios de água doce superficial e 8 estirpes de *Planktothrix mougeotii* isoladas de uma estação de tratamento de águas residuais. Foram pesquisados genes de resistência a vários antibióticos por PCR/sequenciação. Os resultados obtidos confirmam a suscetibilidade reduzida ao ácido nalidíxico e ao trimetoprim em todas as estirpes avaliadas, sugerindo que as cianobactérias apresentam uma resistência natural a estes antibióticos. Adicionalmente, as estirpes de *M. aeruginosa* apresentaram susceptibilidade reduzida à tetraciclina, as estirpes de *P. agardhii* à norfloxacin e as estirpes de *P. mougeotii* à tetraciclina, à norfloxacin e à amoxicilina. Os resultados preliminares indicam que as estirpes de *P. mougeotii* apresentam um maior número de genes de resistência. Globalmente, os resultados sugerem que o fenótipo/genótipo de resistência de cianobactérias a antibióticos depende da espécie/género e habitat.

Palavras-Chave/Palabras Clave: cianobactérias, antibióticos, genes de resistência

Combined effect of light intensity and CO₂ concentration on *Microcystis aeruginosa* growth

Geada P.¹, Vasconcelos V.^{2,3}, Vicente A.¹, Fernandes B.^{1*}

(1) CEB - Centre of Biological Engineering, University of Minho, Braga, Portugal

(2) CIIMAR/CIMAR - Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Porto, Portugal

(3) Faculty of Sciences, Porto University, Porto, Portugal

* brunofernandes@deb.uminho.pt

Worldwide occurrence of hepatotoxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and the accumulation of its toxin (microcystin), have been responsible for several human deaths and animal intoxication incidents. In recognition to its toxicity, the WHO and national governments established recommendation values for this toxin in water, which gave rise to an increasing demand for microcystin's analytical standards. These standards might be used either as laboratory standards in human and environmental risk assessment or as tools for molecular and cell biology studies. However, their availability is limited due to constraints found in production and purification processes, which inflate the final price to values as high as 28000€/mg. Thus, the optimization of this cyanobacterium cultivation and toxin purification techniques is needed to decrease production cost of such high added-value product. Despite numerous studies reporting the influence of environmental factors over cyanobacterial growth and toxicity, not much is known about the impact of synergies generated between those parameters in *Microcystis* cultivation. The aim of this work is therefore to assess the combined effect of light intensity and CO₂ concentration on *M. aeruginosa* growth and toxin productivity. For that purpose, different light intensities were tested (10-145 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) jointly with several CO₂-enriched air streams (0-7.5 % (v/v)). The influence of these variables on maximum biomass concentration (X_{max} , g.L⁻¹) and productivity (P_{max} , g.L⁻¹.d⁻¹) was evaluated through a factorial design. According to results obtained, optimum light intensity - reflected on maximum biomass concentration or productivity achieved - is highly dependent on CO₂ concentration and vice-versa, showing a bell-shaped curve behavior (e.g. optimal point reached at intermediate conditions). The highest X_{max} and P_{max} were observed at 55 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and 2.5 % (v/v) CO₂ (≈ 1.95 g.L⁻¹), and at 145 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ and 5 % (v/v) (≈ 0.17 g.L⁻¹.d⁻¹) CO₂, respectively. These results thus point at the possibility of increasing microcystin productivity through adequate regulation of cultivation parameters.

Palavras-Chave/Palabras Clave: *M. aeruginosa*; CO₂; Light intensity; Productivity; Synergies

Bioactive Compound Discovery from Portuguese Marine Cyanobacteria

Pinheiro Â.^{1*}, Bessa L.J.^{1,2}, Vasconcelos V.^{1,3}, Martins da Costa P.^{1,2}, Leão P.N.¹

(1) Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR/CIMAR), University of Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(2) ICBAS — Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, Porto 4050-313, Portugal

(3) Department of Biology Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, Edifício FC4, Porto 4169-007, Portugal

* angelmferr@gmail.com

Marine microorganisms are a well-established rich source of bioactive metabolites. Cyanobacteria from marine environments produce a large number of unique compounds, with activities spanning a wide range of therapeutic and pharmacological application. With the aim of discovering new bioactive secondary metabolites from marine cyanobacteria collected in the Portuguese coast, our ongoing investigation relies on the bio-guided processing of extracts from several strains that are part of the LEGE culture collection at CIIMAR. Thus far, we have explored strains belonging to the genera *Chroococcidiopsis*, *Leptolyngbya* and *Nodosilinea*. After large-scale culturing, the study includes a standard protocol of organic extraction, followed by Vacuum Liquid Chromatography. The resulting fractions are tested for possible antimicrobial activity, in disc diffusion assays against therapeutically relevant bacteria and fungi isolates, and anti-tumor potential, in relevant enzymatic assays, namely, 20S-Proteasome and HDAC. The bioactivity trails are promising and will be further explored so as to isolate and identify the metabolites responsible for the observed activities.

Parasita fúngico de cianobactérias: isolamento e quantificação por PCR em tempo-real

Churro C.^{1,2,3*}, Dias E.³, Vasconcelos V.^{1,2}

(1) Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre, 4069-007 Porto, Portugal

(2) Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, CIIMAR/CIMAR, Universidade do Porto, Rua dos Bragas 280, 4050-123 Porto, Portugal

(3) Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

* catarina.churro@gmail.com

Os parasitas fúngicos zoospóricos são ubíquos nos sistemas aquáticos e a infeção de fitoplâncton por estes fungos é um fenómeno comum em águas doces. Os fungos parasitas de fitoplâncton pertencem principalmente ao filo Chytridiomycota (quitrídeos) e distinguem-se de outros fungos por produzirem zoósporos flagelados. Estes fungos parasitas podem infetar vários tipos de fitoplâncton incluindo espécies de cianobactérias formadoras de florescências. No entanto, existe pouca informação sobre o efeito destas infeções na ocorrência, periodicidade e toxicidade das florescências cianobacterianas. O estudo aprofundado destas interações é dificultado, pelo facto destes fungos serem difíceis de visualizar ao microscópio, pela falta de métodos de detecção alternativos à microscopia e, sobretudo, pela dificuldade de cultivar estes organismos e de obter culturas puras. Neste estudo reportamos a ocorrência de parasitismo quítrideo numa florescência de *P. agardhii* em águas superficiais portuguesas e descrevemos o isolamento e manutenção em cultura monoclonal deste parasita de *P. agardhii*. A obtenção de culturas puras possibilitou o acesso a DNA para testar a aplicabilidade de um método já descrito para fungos zoospóricos na detecção e quantificação deste parasita de *P. agardhii* em amostras naturais.

As culturas obtidas e o sucesso na aplicação do método de PCR em tempo-real para quantificação deste parasita de *P. agardhii* possibilitam o estudo deste parasitismo cuja influência na dinâmica de florescência é ainda pouco conhecida.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Quitrídeos, *Planktothrix agardhii*, *Rhizophydium megarrhizum*.

Remoção de microcistina-LR com granulado de cortiça

Menezes C.^{1*}, Pires R.², Aroso I.², Fernandes E.², Reis R.², Silva S.P.³, Carvalho A.P.⁴, Mestre A.S.⁴, Pereira P.¹

(1) Laboratório de Biologia e Ecotoxicologia, Departamento de Saúde Ambiental, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa, Portugal

(2) Grupo de investigação 3B's, Departamento de Engenharia de Polímeros, Universidade do Minho, Guimarães, Portugal

(3) Amorim, S.G.P.S., S.A., Rua do Ribeirinho, 202, 4536-907 S. Paio de Oleiros, Portugal

(4) Centro de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, 1749-016 Lisboa, Portugal

* carina.menezes@insa.min-saude.pt

Actualmente, os métodos mais eficazes de remoção de cianotoxinas envolvem o uso de tecnologias dispendiosas. Os carvões activados são ainda de elevado custo pelo que a procura de adsorventes alternativos é o foco de estudos de tratamento de águas destinadas ao consumo humano.

O presente trabalho tem como objectivo a avaliação do potencial de utilização de granulados de cortiça para a remoção de MCLR. Para isso, foram utilizados grânulos de cortiça de granulometria de 1-2 mm (GC1/2) e grânulos sujeitos a tratamento químico com ácido sulfúrico (GC1/2K). Como controlo, foram também avaliadas as capacidades de remoção de carvões activados comerciais. As cinéticas de adsorção foram obtidas a partir de ensaios em batch, em condições controladas (tempos de contacto de 0,25h, 1h, 24h, 48h, 72h e 5 dias, sob agitação), com extractos semi-purificados de MCLR (de *Microcystis aeruginosa*), quantificada por HPLC-DAD.

A cortiça GC1/2 tem pouca afinidade para a MCLR, apresentando um máximo de remoção de 20%, independentemente do tempo de contacto. No entanto, com a cortiça GC1/2K obtiveram-se remoções acima dos 80%. Tanto o aumento do tempo de contacto como da concentração de GC1/2K favorecem a remoção de MCLR. Colocamos a hipótese de que o ácido sulfúrico residual na cortiça reduz o pH da solução, induzindo alterações estereoquímicas na molécula de MCLR que diminuem a sua solubilidade na água, potenciando, assim a adsorção da MCLR à GC1/2K. Os resultados obtidos revelam que materiais de cortiça tal qual e modificados têm uma capacidade de remoção inferior à demonstrada pelos carvões activados comerciais. No entanto, o estudo da aplicação de resíduos industriais na remoção de cianotoxinas da água é uma área que deverá ser explorada.

Palavras-Chave/Palabras Clave: Cianotoxinas, cortiça, adsorção, microcistina-LR

Elucidating the Mechanisms Involved in the Cytotoxicity Induced by Marine Cyanobacteria Strains against the RKO Colon Carcinoma Cell Line

Freitas S.¹, Urbatzka R.¹, Campos A.¹, Osório H.^{2,3}, Costa M.¹, Barros P.⁴, Vasconcelos V.^{1,5}, Martins R.^{1,4, 5*}

(1) Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR/CIMAR), University of Porto, Rua dos Bragas 289, 4050-123 Porto, Portugal

(2) PATIMUP—Institute of Molecular Pathology and Immunology of the University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal

(3) Faculty of Medicine, University of Porto, Al. Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal;

(4) Health and Environmental Research Center (CISA), School of Allied Health Sciences of Porto, Polytechnic Institute of Porto, Rua Valente Perfeito 322, 4400-330 Vila Nova de Gaia, Portugal

(5) Department of Biology Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, Edifício FC4, 4169-007 Porto, Portugal.

* mrm@estsp.ipp.pt

Cyanobacteria are known to synthesize secondary metabolites that may have potential as drugs for the treatment of human diseases such as cancer. Previous studies on marine cyanobacteria isolated from the Portuguese coast revealed strains of the picoplanktonic genera *Cyanobium* and *Synechocystis* as potential sources of anticancer compounds. The ethyl acetate fraction of the strains *Cyanobium* sp. LEGE06113 and the *Synechocystis* salina LEGE06155 was found to reduce cell viability of cancer cell lines. This work aimed to elucidate the mechanisms involved in the cytotoxicity of this strains in the colon adenocarcinoma cell line RKO by employing real-time PCR (RT-PCR) for genes involved in cell cycle and apoptosis, by flow cytometry for cell cycle and by two-dimensional gel electrophoresis for protein expression. RT-PCR results revealed differences in mRNA expression of genes CCNB1 (cell cycle) and BCL-2 (apoptosis). Flow cytometry results revealed a decrease in the G0/G1 and S phase and increased its number in the G2/M phase, which is in accordance with the lower expression of CCNB1. The proteomic results demonstrated different protein patterns comparing treatment groups with control. Proteins differentially regulated in exposed RKO cells were involved in cell cycle regulation, apoptosis, cell structure, protein regulation and cell metabolism. Although several of these proteins were identified in cells exposed to both cyanobacterial extracts, the data provides an indication that the cytotoxicity is induced by different toxic mechanisms in LEGE06113 and LEGE06155 fractions.

Keywords: marine cyanobacteria; anticancer potential; cell cycle; apoptosis; proteomics

ÍNDICE DE AUTORES

A	
Affonso G.F.	17
Alonso A.M.	21
Alonso C.	21
Amorim M.T.S.P.	42, 43
Andrette R.O.	41
Andrinolo D.	38, 52
Antunes A.	13
Aranda O.	52
Aroso I.	67
Arruda-Neto J.D.T.	39, 41
Azevedo J.	40, 48, 49, 53
Azevedo S.M.F.	34
B	
Balskus E.P.	60
Barca S.	24, 25
Barón-Sola A.	47
Barros P.	62, 68
Bergamasco R.	42, 43
Bessa L.J.	61, 65
Bittencourt-Oliveira M.C.	17, 39, 44
Blanco A.	54, 56
Botana L.M.	58
Brahim S.	61
Bueres A.	21
C	
Caeiro J.M.F.	22
Caetano S.	19
Caixach J.	29
Caldeira A.	23
Camacho F.P.	42, 43
Cameán A.M.	46, 54, 56
Campos A.	40, 48, 49, 50, 68
Caniça M.	63
Cardozo-Filho L.	42
Carneiro M.	49, 53
Carvalho A.P.	40, 67
Casero MC.	59
Cavalcante-Silva E.	41
Chia M.A.	17, 39
Churro C.	15, 31, 66
Cirés S.	59
Cobo F.	24, 25
Coldebella P.F.	43
Copparoni G.	52
Cordeiro R.	32
Cordeiro-Araújo M.K.	39
Cossich E.S.	43
Costa C.	19
Costa J.	62
Costa M.	60, 68
Costa M.S.	61
Costa M.S.R.	16
D	
De Anta A.	21
De Hoyos C.	21
Dias E.	15, 63, 66
Díaz M. T.	26
Diniz C.	30
Dominguez A.	21
Dörr F.	18
Duarte M.	35
Dutra B.K.	14
F	
Fernandes B.	64
Fernandes E.	67
Fernández-Freire P.	47
Ferrão-Filho A.S.	34
Ferreira-Pinto L.	42
Flores C.	29
Fompedriña D.	21
Fonseca A.	32
Fraga T.M.	14
Freitas M.	40, 48
Freitas S.	68
G	
Geada P.	64
Gerwick W.H.	60
Giannuzzi L.	52
Giufriada W.M.	42
Gómez López M.	26
Gonçalves V.	20, 32
Gouvêa-Barros S.	44
Guerra L.T.	35
Gutiérrez-Praena D.	56
Guzmán-Guillén R.	54, 55, 56
H	
Hassouani M.	27, 61
J	
Jones-Dias D.	63
Jos A.	46, 55
L	
Lago L.	24, 25
Laguens M.	52
Leão P.	16, 61
Leão P.N.	60, 65
Lorenzi A.S.	17
Luz R.	32
M	
Machado J.	48, 49
Magalhães C.	16
Manadas B.	40
Manzi M.M.	34
Marra C.A.	52
Martín Alonso J.	26
Martín-Cameán A.	55
Martins da Costa P.	61, 65

Martins J.C.	49, 53
Martins M.R.	23
Martins R.	60, 68
Martins T.	16, 61
Mateus C.	19
Matos A.	13
Medeiros D.M.D.	20
Medeiros M.C.	20
Medina M.	59
Mendes R.	13
Mendes V.M.	40
Menezes C.	15, 67
Mestre A.S.	67
Moraís J.	27
Moraís M.M.	23
Moreira C.	13
Moreno I.M.	54, 56
Moreti L.O.R.	42, 43
Moura A.N.	39
Moyano R.	54, 56
Muelle, H.	20
N	
Nakamura H.	60
Navarrete A.A.	17
Nishi L.	43
Nunes S.	23
O	
Oliveira L.	62
Oliveira M.	63
Osório H.	49, 50, 68
P	
Palma P.	19, 30
Paterniani J.E.S.	44
Patricio B.S.	38
Peg M.	21
Penado A.	15
Penha A.	23
Pereira A.R.	60
Pereira P.	50, 67
Pereira, R.	62
Pichardo S.	46
Pinheiro Â.	65
Pinto E.	18, 33, 48
Pires R.	67
Preto M.	27
Prieto A.I.	54, 56
Prieto Al.	55
Q	
Quesada A.	10, 41, 59
R	
Ramos V.	16, 27, 61
Reani A.	27
Rego A.	16
Regueiras A.	51
Reis B.	49, 53
Reis M.P.	19, 30
Reis R.	67
Rocha O.	41
Rodrigues M.	19
Rodrigues N.R.	14
S	
Sabour B.	27
Salgado R.	23
Salvador D.	31
SANTIAGO E.	38
Santos H.L.C.	34
Santos M.C.R.	20
Sanz M.	33
Sanz-Alfárez S.	12, 47
Sedan D.	52
Silva B.	15
Silva M.	27
Silva S.P.	67
Silva, M.F.	43
Silva, M.O.	42
T	
Tornisielo V.L.	39
Toro M.	21
U	
Urbatzka R.	27, 61, 68
V	
Valério E.	15, 31, 50
Valle S.	47
Vargas V.F.	14
Vasconcelos V.	13, 15, 16, 27, 37, 40, 48, 49, 50, 51, 53, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 68
Vázquez García M. J.	26
Velázquez D.	59
Vicente A.	64
Vieira A.M.S.	42
Vieira-Lanero R.	24, 25
Vilares A.	50
Vilca F.Z.	39
Z	
Zavattieri M.A.	23

PARTICIPANTES

Almeida, Alexandre
dn.geral@edp.pt
EDP Labelec

Alvarez-Cedrón, Amparo
maalvarezc@fcc.es
FCC Aqualia, Salamanca, Espanha

Andrinolo, Dario
Dandrinolo@yahoo.com
Universidad Nacional de la Plata-CONICET,
Ensenada, Argentina

Araújo, Filomena
Filomena.araujo@arsalentejo.min-saude.pt
Administração Regional de Saúde do Alentejo,
Évora, Portugal

Barca Bravo, Sandra
sandra.barca@usc.es
Estación de Hidrobiología "Encoro do Con" de la
Universidade de Santiago de Compostela,
Vilagarcía de Arousa, Espanha

Barros, Piedade
pbarros@estsp.ipp.pt
Centro de Investigação em Saúde e Ambiente.
Escola Superior de Tecnologia da Saúde. Instituto
Politécnico Porto, Vila Nova de Gaia, Portugal

Bittencourt-Oliveira, Maria do Carmo
mbitt@usp.br
Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil

Botana, Luis M.
luis.botana@usc.es
Universidad de Santiago de Compostela, Lugo,
Espanha

Caeiro, José Manuel Ferreira
jose.caeiro@outlook.pt
Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa,
Loures, Portugal

Caixach, Josep
josep.caixach@cid.csic.es
IDAEA-CSIC, Laboratori d'Espectrometria de
Masses/Contaminants Organics
Barcelona, Espanha

Camacho, Franciele
franciele_camacho@hotmail.com
Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil

Camean Fernandez, Ana Maria
camean@us.es
Universidad de Sevilla, Sevilla, Espanha

Carneiro, Mariana
marianarcarneiro@gmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Casero, María Cristina
mariacristina.casero@estudiante.uam.es
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid,
Espanha

Cavalcante-Silva, Erika
erika.cavalcante@gmail.com
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid,
Espanha

Churro, Catarina
catarina.churro@gmail.com
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

Cobo Gradín, Fernando
fernando.cobo@usc.es
Estación de Hidrobiología "Encoro do Con" de la
Universidade de Santiago de Compostela,
Vilagarcía de Arousa, Espanha

Cordeiro, Rita Isabel Pereira
ritacordeiro_isabel@hotmail.com
Universidade dos Açores, Ponta Delgada,
Portugal

Dias, Elsa
elsa.dias@insa.min-saude.pt
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

Diniz, Catarina
catarina-diniz@sapo.pt
CIMA, Centro de Investigação Marinha e
Ambiental, Faro, Portugal

Dörr, Fabiane
fabidorr@usp.br
Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Duarte, Margarida
margarida.duarte@algafuel.pt
A4F, AlgaFuel S.A., Lisboa, Portugal

Fernandes, Bruno
brunofernandes@deb.uminho.pt
Universidade do Minho, Braga, Portugal

Ferrão-Filho, Aloysio da Silva
alloysio@ioc.fiocruz.br
Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro,
Brasil

Ferreira Pinheiro, Ângela Maria de Marques Lopes
angelmferr@gmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Flores, Cintia
cintia.flores@idaea.csic.es
IDAEA-CSIC, Laboratori d'Espectrometria de
Masses/Contaminants Organics
Barcelona, Espanha

Franca, Susana
msusanafranca@gmail.com
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

Freitas, Marisa
marisaalexandrafreitas@gmail.com
Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto,
Instituto Politécnico do Porto, Vila Nova de Gaia,
Portugal

García, Ana María Alonso
ana.m.alonso@cedex.es
CEDEX, Centro de Estudios Hidrográficos, Madrid,
Espanha

Gada, Pedro
pedrogeada@ceb.uminho.pt
Universidade do Minho, Braga, Portugal

Gonçalves, Sónia
dn.geral@edp.pt
EDP Labellec

Gouvea-Barros, Selma
selma.barros@feagri.unicamp.br
UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil

Hernández, Noemí
nhg@chduero.es
Confederación Hidrográfica del Duero,
Valladolid, Espanha

Jos Gallego, Angeles
angelesjos@us.es
Universidad de Sevilla, Sevilha, Espanha

Lago Meijide, Lorena
lorena.lago@usc.es
Estación de Hidrobiología "Encoro do Con" de la
USC, Vilagarcía de Arousa, Espanha

Leão, Pedro
pleao@ciimar.up.pt
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Leitão, Maria da Paz
leitao@bieau.fr
Bi-Eau, Angers, França

Lezcano Vega, María Ángeles
angeles.lezcano@imdea.org
IMDEA Agua, Alcalá de Henares, Madrid,
Espanha

Lorenzi, Adriana Sturion
asllorenz@gmail.com
ESALQ/USP, Universidade de São Paulo,
Piracicaba/SP, Brasil

Machado, Joana Filipa Félix
joana.ffmachado@gmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Martins, José
jcmartins@hotmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Martins, Olga Cristina
o.martins@agda.pt
AgdA - Águas Públicas do Alentejo, S.A., Beja,
Portugal

Martins, Rosário
mrfmarti@gmail.com
Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto,
Instituto Politécnico do Porto, Vila Nova de Gaia,
Portugal; CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Martins, Teresa
teresamartins_26@hotmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Medeiros, Dina Pacheco
dina.md.pacheco@azores.gov.pt
Direção Regional do Ambiente, Ponta Delgada,
Portugal

Medeiros, Margarida Correia
maria.ma.medeiros@azores.gov.pt
Direção Regional do Ambiente, Ponta Delgada,
Portugal

Mendes, Rita
ritaammendes@gmail.com
ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel
Salazar, Porto, Portugal

Menezes, Carina
carina.menezes@insa.min-saude.pt
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

Morais, Maria Manuela
mmorais@uevora.pt
Instituto Ciências da Terra (ICT), Universidade de
Évora, Évora, Portugal

Moreira, Cristiana
cmoreira@ciimar.up.pt
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Moreira dos Santos, Sílvia
silviamoreira@saneago.com.br
Saneamento de Goiás, Goiânia, Brasil

Moura, Ariadne do Nascimento
ariadne_moura@hotmail.com
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Recife, Brasil

Neto, Célia
celianet@adp.pt
EPAL – Empresa Portuguesa das Águas Livres, SA,
Lisboa Portugal

Noronha, Vera
vera.noronha@arslv.min-saude.pt
Administração Regional de Saúde de Lisboa e Vale do Tejo, Lisboa, Portugal

Oliveira, Micaela
micaela.a.oliveira@gmail.com
Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa/Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

Oliveira, Pedro
pedro.gb.oliveira@gmail.com
Centro Hospitalar do Porto, Trofa, Portugal

Pádua, João
dn.geral@edp.pt
EDP Labelec

Paulino, Sérgio
sergio.paulino@insa.min-saude.pt
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

Paulino, Vanda Isabel Deus
luciadia@epal.pt
EPAL, Empresa Portuguesa das Águas Livres, S.A., Lisboa, Portugal

Peg Cámara, María
maria.peg@cedex.es
CEDEX, Centro de Estudios Hidrográficos, Madrid, Espanha

Pichardo, Silvia
spichardo@us.es
Universidad de Sevilla, Sevilha, Espanha

Pinto, Ernani
ernani@usp.br
Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Puig, Maria Angeles
puig@ceab.csic.es
CEAB-CSIC, Centre d'Estudis Avançats de Blanes, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Blanes, Espanha

Quesada, Antonio
antonio.quesada@uam.es
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Espanha

Rasga, Maria João
Administração da Região Hidrográfica do Alentejo

Rego, Adriana
adriana-rego@hotmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Regueiras, Ana
anaregueiras@gmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Reis, Bruno
brunobuendia@gmail.com
CIIMAR/UP, Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Reis, Márcia
smaspeniche@cm-peniche.pt
Serviços Municipalizados de Peniche, Peniche Portugal

Reis, Margarida P.
mpreis@ualg.pt
CIMA, Centro de Investigação Marinha e Ambiental, Faro Portugal

Ríos, David
david.rios@technospec.es
Techno Spec, Universitat de Barcelona, Barcelona, Espanha

Rito, Rita
ritarito@adp.pt
EPAL – Empresa Portuguesa das Águas Livres, SA, Lisboa Portugal

Rodrigues, Nina
ninarr@fepam.rs.gov.br
FEPAM, Fundação Estadual de Protecção Ambiental, Porto Alegre, Brasil

Ruivo, Maria Manuela
ruivo.m@gmail.com
EDIA, Empresa de Desenvolvimento e Infra-estruturas do Alqueva, S.A., Beja, Portugal

Salvador, Daniel
daniel.fsalvador@hotmail.com
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa. Portugal

Sanz Alférez, Soledad
soledad.sanz@uam.es
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Espanha

Sanz Roldán, Miriam
miriam.sanz.rolsan@usp.br
Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil

Seisdedos Fidalgo, Pablo
psf@chduero.es
Confederación Hidrográfica del Duero, Valladolid, Espanha

Anabela Silva
dn.geral@edp.pt
EDP Labelec

Silva, Maria José
zer.silva@hotmail.com
Unidade de Saúde Pública do Alentejo Litoral, Santiago do Cacém, Portugal

Soares, Ana Catarina
r.amaro@agda.pt
AgdA, Águas Públicas do Alentejo, S.A., Beja, Portugal

Souza, Claudia Alves de
claudiasouza@saneago.com.br
Saneamento de Goiás S.A., Goiânia, Brasil

Valadas, Ângela
r.amaro@agda.pt
AgdA, Águas Públicas do Alentejo, S.A., Beja,
Portugal

Valério, Elisabete
elisabete.valerio@insa.min-saude.pt
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

Valle Rodríguez, Sandra
san.valle@estudiante.uam.es
Universidad Autónoma de Madrid, Madrid,
Espanha

Vasconcelos, Vítor
vmvascon@fc.up.pt
CIIMAR/FCUP, Centro Interdisciplinar de
Investigação Marinha e Ambiental, Universidade
do Porto, Porto, Portugal

Vaz, Dora
r.amaro@agda.pt
AgdA, Águas Públicas do Alentejo, S.A., Beja,
Portugal

Vieira Lanero, Rufino
rufino.vieira@usc.es
Estación de Hidrobiología "Encoro do Con" de la
Universidad de Santiago de
Compostela, Vilagarcía de Arousa, Espanha

Viegas, Vera
dn.geral@edp.pt
EDP Labelec

Vilares, Arminda
arminda.vilares@insa.min-saude.pt
Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo
Jorge, Lisboa, Portugal

ÍNDICE

PATROCINADORES	2
COMISSÃO ORGANIZADORA/COMITÉ ORGANIZADOR	4
COMISSÃO CIENTÍFICA/COMITÉ CIENTÍFICO	4
PROGRAMA.....	5
RESUMOS/RESÚMENES.....	8

COMUNICAÇÃO INAUGURAL

Cyanotoxins: an old business or an innovative opportunity?	10
------------------------------------------------------------------	----

SESSÃO 1

MONITORIZAÇÃO, OCORRÊNCIA E FILOGEOGRAFIA DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

SESIÓN 1

MONITOREO, OCURRENCIA Y FILOGEOGRAFÍA DE CIANOBACTERIAS Y CIANOTOXINAS

SESSÃO PLENÁRIA 1 SESIÓN PLENARIA 1

Distribución de cianobacterias y cianotoxinas.....	12
----------------------------------------------------	----

S1O1

Monitorização de cianotoxinas em águas doces portuguesas: primeira deteção de cilindrospermopsina, anatoxina-a e saxitoxinas	13
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

S1O2

Estudos de toxicidade em um manancial de água doce com floração de cianobactérias no Estado do Rio Grande do Sul (RS)- Brasil.....	14
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

S1O3

Monitorização do gene <i>mcyA</i> e de microcistina numa florescência de <i>Planktothrix agardhii</i> – Que papel desempenha o parasitismo quitrídeo na dinâmica destas florescências?	15
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

S1O4

Endolithic Cyanobacteria from extreme environments: Biodiversity and Chemodiversity	16
-------------------------------------------------------------------------------------------	----

S1O5

Metacomunity of cyanobacterial blooms in a semi-arid reservoir	17
----------------------------------------------------------------------	----

S1O6

Efeito do herbicida glifosato sobre o crescimento e produção de saxitoxinas em <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	18
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

S1P1

Dynamics of cyanotoxin occurrence in Alqueva reservoir (Southern Portugal)	19
S1P2	
Monitorização de cianotoxinas em lagoas inseridas em Áreas Protegidas	20
S1P3	
Estudio de la presencia de cianotoxinas en la aparición de <i>blooms</i> en el embalse de Vilasouto (Lugo, España)	21
S1P4	
Characterization of cyanobacteria in waters from Portuguese dams	22
S1P5	
Monitoring cyanobacteria and cyanotoxins in Alqueva Reservoir, Portugal	23
S1P6	
Evolución interanual de las floraciones toxigénicas de <i>Planktothrix rubescens</i> en el embalse de Vilasouto (Lugo, NW-España)	24
S1P7	
Cianobacterias y valores de microcistina-LR sestónica y disuelta en embalses de la cuenca hidrográfica del Miño-Sil (NW-España)	25
S1P8	
Presencia de cianotoxinas como consecuencia de un vertido tóxico	26
S1P9	
Diversity and toxicity of marine cyanobacterial species harvested from the Atlantic coast of Morocco	27
SESSÃO 2	
BIOSÍNTESE, MÉTODOS DE DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CIANOTOXINAS	SESIÓN 2
BIOSÍNTESIS, MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CIANOTOXINAS	
SESSÃO PLENÁRIA 2/SESIÓN PLENARIA 2	
Determinación de Cianotoxinas. Caracterización y Cuantificación por Espectrometría de Masas ...	29
S2O1	
Ecotoxicological assays and detection of cyanobacteria toxigenic genes as tools for predicting toxicity by specific cyanotoxins	30
S2O2	

Avaliação da influência da intensidade de luz na expressão do gene <i>mcyA</i> e na produção de microcistina em <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Planktothrix agardhii</i>	31
S2O3	
Deteção do potencial cianotóxico em águas superficiais do Arquipélago dos Açores através de métodos moleculares	32
S2O4	
Novel cyanopeptolin variants produced by <i>Desmonostoc</i> sp. CENA382 from the Brazilian Atlantic Forest.....	33
S2P1	
Molecular characterization of three Brazilian strains of <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> . Can they simultaneously produce CYN and STX?	34
S2P2	
Identificação, deteção e caracterização molecular de cianobactérias em produções de microalgas à escala industrial	35
SESSÃO 3	
AVALIAÇÃO, GESTÃO E REMEDIAÇÃO DE RISCOS ECOLÓGICOS E PARA A SAÚDE HUMANA	
SESIÓN 3	
EVALUACIÓN, GESTIÓN Y RECUPERACIÓN DE LOS RIESGOS AMBIENTALES Y DE SALUD HUMANA	
SESSÃO PLENÁRIA 3/SESIÓN PLENARIA 3	
Riscos decorrentes da exposição humana a cianotoxinas por via oral; água, outros alimentos e suplementos alimentares	37
S3O1	
Sistema Renal Hídrico (SRH) para el manejo y control de cuerpos de agua eutrofizados	38
S3O2	
Bioacumulação e depuração de microcistina-LR em hortaliças (<i>Lactuca sativa</i> L. e <i>Eruca sativa</i> Mill.) irrigados com água contaminada: Implicações para a saúde humana	39
S3O3	
Effects of proteolytic digestion on the cyanotoxins microcystin-LR and cylindrospermopsin: the importance in integrating the bioaccessibility in human health risk assessment	40
S3O4	
Degradação de microcistina através da exposição à radiação gama e feixes de elétrons	41
S3P1	
Tecnologias avançadas de remoção de cianobactérias no tratamento de água para consumo humano	42

S3P2

Avaliação do polímero comercial PVA auxiliar ao coagulante natural *Moringa oleifera* Lam para a remoção de *Microcystis aeruginosa* no tratamento de água para consumo humano 43

S3P3

Remoção de cianobactérias tóxicas de águas superficiais com uso do coagulante da *Moringa oleifera* Lam. e sua influência na filtração lenta com não-tecidos 44

SESSÃO 4

TOXICOLOGIA DE CIANOTOXINAS

SESIÓN 4

TOXICOLOGÍA DE CIANOTOXINAS

SESSÃO PLENÁRIA 4/SESIÓN PLENARIA 4

Nuevos avances en el conocimiento de la toxicidad de cianotoxinas 46

S4O1

Efectos de metabolitos tóxicos producidos por *Aphanizomenon ovalisporum* en cultivos de células HepG2 47

S4O2

Effects of the irrigation with Microcystin contaminated water on the quality of carrots (*Daucus carota*) 48

S4O3

Glutathione Transferases responses induced by Microcystin-LR in the clam *Ruditapes philippinarum* 49

S4O4

Uso da levedura *Saccharomyces cerevisiae* para elucidar mecanismos de toxicidade da microcistina-LR..... 50

S4O5

Cianobactérias associadas a esponjas marinhas (Porífera): diversidade e produção de toxinas 51

S4P1

Hepatic and intestine alteration in mice after oral low doses of Microcystin-LR prolonged exposure . 52

S4P2

Toxicological effects and microcystin bioaccumulation in several bivalve species exposed to toxic *M. aeruginosa* cells 53

S4P3

Depuration process (3 or 7 days) reverses histopathological effects in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) subchronically exposed to *A. ovalisporum* culture 54

S4P5

Protective role of vitamin E supplementation against the oxidative stress on *Cylindrospermopsis*-exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*) 55

S4P6

Vitamin E pretreatment prevents histopathological effects in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) acutely exposed to *Cylindrospermopsis* 56

SESSÃO 5

NOVAS TENDÊNCIAS DE I&D EM CIANOACTÉRIAS E CIANOTOXINAS

SESIÓN 5

LAS NUEVAS TENDENCIAS DE I&D EN LAS CIANOACTÉRIAS Y CIANOTOXINAS

SESSÃO PLENÁRIA 5/SESIÓN PLENARIA 5

Nuevas tendencias de I&D en cianotoxinas 58

S5O1

¿Cómo pueden contribuir las técnicas de secuenciación masiva a la detección de cianobacterias tóxicas? El ejemplo del Embalse de Rosarito (España). 59

S5O2

Structure and Biosynthesis of the Bartolosides 60

S5O3

Isolation of bioactive compounds from Morocco marine cyanobacterial mats 61

S5O4

Effect of the pharmaceuticals metformin, escitalopram and furosemide in cyanobacteria growth .. 62

S5O5

Susceptibilidade reduzida a antibióticos e genes de resistência em cianobactérias de água doce superficial e residual 63

S5P1

Combined effect of light intensity and CO₂ concentration on *Microcystis aeruginosa* growth 64

S5P2

Bioactive Compound Discovery from Portuguese Marine Cyanobacteria 65

S5P3

Parasita fúngico de cianobactérias: isolamento e quantificação por PCR em tempo-real 66

S5P4

Remoção de microcistina-LR com granulado de cortiça	67
S5P5	
Elucidating the Mechanisms Involved in the Cytotoxicity Induced by Marine Cyanobacteria Strains against the RKO Colon Carcinoma Cell Line	68
PARTICIPANTES	71



LISBOA JULHO 2015

4º CONGRESSO IBÉRICO DE CIANOTOXINAS

VI REUNIÃO DA REDE IBÉRICA DE CIANOTOXINAS

LISBOA 2015

