EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO ZINCO EM SEDIMENTO SOBRE PARÂMETROS REPRODUTIVOS DO COPÉPODE *Nitokra* sp.

Francisca Ariana Marinho Silva, Ana Luiza Gonçalves Sepulcro, Jéssica Dutra Ferreira, Échily Sartori, Cristiane dos Santos Vergilio

[1]Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, SN, Guararema - 29500-000, Alegre-ES, Brasil, franciscasilva1122@gmail.com,ana.l.sepulcro@edu.ufes.br,jessicadutra017@gmail.com, cristiane.vergilio@ufes.br.
[2]Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, 28013-602, Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil, echilysartori1@gmail.com

Resumo

A contaminação de ambientes estuarinos por metais constitui uma preocupação ambiental, devido à capacidade dos sedimentos de acumular e disponibilizar contaminantes aos organismos bentônicos. Dentre os metais, o zinco (Zn), embora seja um elemento essencial para diversos processos fisiológicos, pode apresentar efeitos tóxicos quando presente em concentrações elevadas. Nesse contexto, os copépodes do gênero *Nitokra sp.* são utilizados como organismos-teste em avaliações ecotoxicológicas devido à sua associação com o sedimento, ao ciclo de vida curto e à sensibilidade a contaminantes. O presente estudo avaliou os efeitos ecotoxicológicos da exposição isolada do Zn no sedimento em nível limiar (TEL) e provável de efeitos (PEL) para a biota estabelecidos pela NOAA – EUA. Ambas as concentrações testadas não induziram letalidade dos organismos expostos, no entanto, foram observados efeitos subletais de inibição da reprodução. Assim, a inibição reprodutiva mostrou-se um indicador sensível da toxicidade do Zn e reforça a aplicabilidade de *Nitokra* sp. no monitoramento ecotoxicológico de sedimentos estuarinos contaminados por metais.
Palavras-chave: Ecotoxicologia. Zn. Metais. Reprodução. Bentos

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Biologia geral.

Introdução

A crescente contaminação dos ambientes aquáticos por metais desperta grande preocupação ambiental devido aos impactos causados na biodiversidade, a qualidade da água e o equilíbrio ecológico dos ecossistemas aquáticos (Maldonado & Wendling, 2009). Os metais possuem elevada persistência no ambiente, capacidade de bioacumulação e potencial tóxico para diversos organismos aquáticos, podendo afetar processos fisiológicos, reprodutivos e comportamentais (Marques e Pinê, 2018). O zinco (Zn) apresenta especial interesse ecotoxicológico devido à sua dupla função nos organismos. Em concentrações adequadas, constitui um micronutriente essencial, participando da atividade de diversas enzimas, da síntese de proteínas e da regulação de processos metabólicos. Entretanto, quando sua concentração excede a capacidade de regulação fisiológica, o Zn pode tornar-se tóxico, interferindo na homeostase iônica e provocando alterações no crescimento, na sobrevivência e na reprodução dos organismos aquáticos (Muyssen et al., 2006).

Os metais são transportados pela coluna d'água de rios e córregos em direção aos ambientes costeiros. Parte do material transportado pode sofrer deposição no sedimento de fundo (Segura et al., 2016). Nesse sentido, o sedimento é amplamente utilizado como geomarcador para o monitoramento dos poluentes no ecossistema aquático, uma vez que podem atuar como reservatórios dos poluentes (Lacerda et al., 2020).

Os valores-guia de qualidade de sedimentos estabelecidos pela *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA) são utilizados para estimar a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos à biota aquática. O *Threshold Effect Level* (TEL) corresponde à concentração abaixo da qual efeitos tóxicos são raramente observados, enquanto o *Probable Effect Level* (PEL) representa a concentração acima da qual esses efeitos são frequentemente esperados. Concentrações situadas entre o TEL e o PEL indicam uma faixa na qual os efeitos adversos podem ocorrer ocasionalmente (MacDonald et al., 1996). Esses valores constituem referências importantes para a avaliação da contaminação dos

sedimentos, embora não comprovem isoladamente a ocorrência de toxicidade, que também depende da biodisponibilidade do contaminante e das características físico-químicas da matriz.

Entre os organismos utilizados em estudos ecotoxicológicos, os copépodes bentônicos destacam-se por sua importância ecológica e elevada sensibilidade às alterações ambientais (Lotufo e Abessa, 2002). Esses microcrustáceos desempenham papel fundamental nos ecossistemas aquáticos, atuando como elo entre produtos primários e consumidores de níveis tróficos superiores, além de participarem da ciclagem de nutrientes e da manutenção da produtividade biológica dos ambientes aquáticos (Tanioka & Katsumi, 2018). Devido à sua ampla distribuição, ao rápido ciclo de vida, facilidade de cultivo em laboratório e à sensibilidade a contaminantes, os copépodes são amplamente utilizados como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos para avaliação da qualidade da água e dos efeitos de substâncias tóxicas presentes nos ambientes aquáticos (ABNT NBR 16723, 2021). Além disso, alterações na sobrevivência, no comportamento e na reprodução desses organismos podem indicar a presença de contaminantes no ambiente aquático e auxiliar na compreensão dos impactos ambientais causados pela poluição química (Rocha et al., 2025). Tais características tornam os copépodos bentônicos organismos adequados para avaliação de toxicidade e monitoramento ambiental (Domingues & Bertoletti, 2006). Dentre os copépodes, o gênero *Nitokra sp.* tem sido empregado em pesquisas ecotoxicológicas por apresentar tolerância a diferentes condições ambientais e facilidade de manutenção em cultura (ABNT NBR 16723, 2021).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos ecotoxicológicos da exposição isolada ao zinco associado ao sedimento sobre a sobrevivência e a reprodução do copépode *Nitokra* sp.

Metodologia

Amostras de sedimento foram coletadas em uma área de estuário, do Rio Caeté, em Bragança, no nordeste do Pará. O local de coleta foi distante de áreas urbanas e possíveis fontes diretas de contaminação, sendo legalmente protegido pela reserva extrativista de uso sustentável (RESEX) Marinha de Caeté-Taperaçu.

A contaminação (“spiking”) do sedimento foi realizada utilizando solução-estoque de sulfato de zinco ($ZnSO_4$). Inicialmente, o sedimento de referência foi seco em estufa por 4 dias a 60°C. O sedimento seco foi hidratado com a solução de uso do metal, a fim de atingir a concentração nominal de 124 mg/kg de Zn, correspondente ao nível mais elevado de contaminação (N2), correspondente ao nível PEL-NOAA (nível se prováveis efeitos tóxicos para a biota) (Buchman, 2008). Diluição de 50% das soluções de uso serão preparadas a fim de atingir a menor concentração testada (N1), correspondente ao TEL (nível limiar para indução de efeitos tóxicos para a biota) de 62 mg/kg. O sedimento contaminado foi homogeneizado, deixado em repouso por 7 dias a 4 °C. Após esse período, o sedimento foi utilizado nos ensaios. Uma quantidade de sedimento não contaminado foi submetida ao mesmo processo de contaminação para uso como um controle, sendo utilizado apenas água do mar reconstituída (sal red sea dissolvido em água deionizada) com salinidade 20%.

Os copépodes *Nitokra sp.* que foram utilizados para os ensaios ecotoxicológicos foram provenientes do cultivo do Laboratório de Ecotoxicologia da UFES Campus de Alegre. Esses organismos foram obtidos a partir do cultivo inicial do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. Os organismos foram cultivados de acordo com o método proposto por Lotufo & Abessa (2002) com pequenas modificações. O cultivo desenvolvido no Laboratório de Ecotoxicologia é realizado em Erlenmeyer com 700 mL de água do mar reconstituída (sal red sea dissolvido em água deionizada) com salinidade 20%. A alimentação dos organismos foi fornecida com 1,5 mL de alga verde unicelular *Raphidocelis subcapitata* na concentração de 1 x 10^7 células/mL e 0,5 mL de ração líquida de peixe fermentada com levedura diariamente. A manutenção das culturas é realizada a cada 15 dias, realizando troca da água marinha e contagem de fêmeas ovadas para ensaio ou para início de uma nova cultura.

Os ensaios ecotoxicológicos, foram realizados com o copépode *Nitokra* sp. para avaliação da toxicidade da exposição isolada do zinco associado ao sedimento, de acordo com a metodologia proposta por Lotufo & Abessa (2002). As amostras de sedimento foram distribuídas em recipientes-teste, contendo aproximadamente 2,0 g de sedimento homogeneizado, onde foram adicionados 15 mL de água do mar reconstituída (sal red sea dissolvido em água deionizada) com salinidade de 20%. Os

testes de toxicidade foram realizados em 10 réplicas por amostra, para que pudesse ser possível avaliar a variabilidade entre os organismos testados. Em cada recipiente-teste foram adicionadas 5 fêmeas ovígeras que foram mantidas pelo tempo de exposição de 10 dias. Os recipientes-teste não foram aerados e a alimentação foi fornecida apenas no primeiro dia de ensaio com 0,2 mL de suspensão algácea (1 x 10^5 células/ mL). Os recipientes-teste foram mantidos em incubadora BOD à 24º C e fotoperíodo 16:8. Os parâmetros físico-químicos de oxigênio dissolvido (OD), pH, temperatura, salinidade e condutividade foram medidos no início e no fim do experimento.

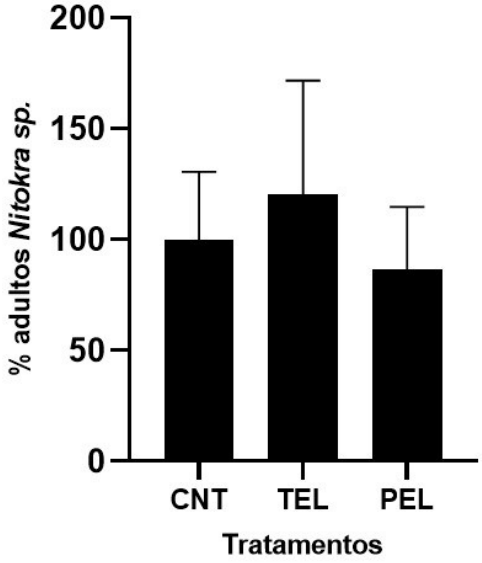
Ao final do experimento foi adicionada uma mistura de formaldeído 10% com o corante Rosa Bengala, por 48h, para posterior contagem e visualização dos organismos. Em seguida, as amostras foram peneiradas, utilizando uma peneira com malha de 0,045 mm, para contagem dos organismos com auxílio de estereomicroscópio. A contagem visa avaliar o potencial de toxicidade do sedimento na reprodução dos organismos testados, a partir da fecundidade das fêmeas que foram expostas, sendo contabilizado os estágios de fêmeas ovadas, copepoditos, náuplios e adultos.

Para as análises quantitativas, foi utilizado o teste ANOVA seguido do Teste de Tukey, sendo considerada uma margem de erro de 5%. Os cálculos e os gráficos foram realizados com a utilização do software GraphPad Prism.

Resultados

Não foram observadas diferenças estatísticas no percentual de adultos de *Nitokra* sp. entre o controle e os tratamentos de exposição ao Zn, nos níveis do TEL e PEL (Figura 1).

Figura 1 – Percentual dos adultos de *Nitokra sp*. após a exposição ao sedimento contaminado com zinco.

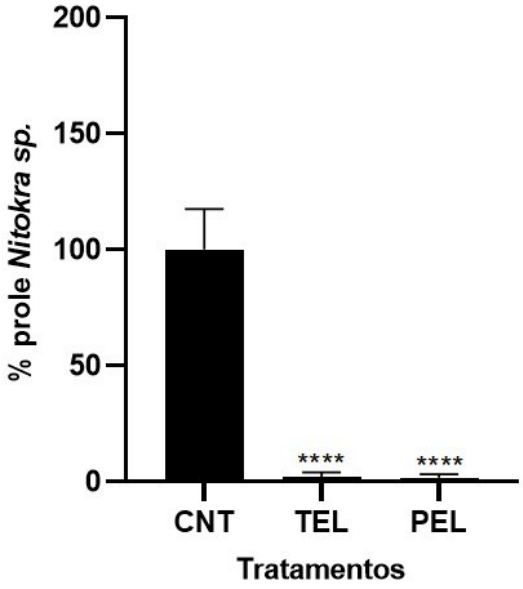


Fonte: Dos autores (2026).

Legenda: CNT: controle; TEL: *Threshold Effect Level* (Nível de Efeito de Limiar); PEL: *Probable Effect Level* (Nível de Efeito Provável). As diferenças significativas entre as concentrações foram determinadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). **** $p < 0,0001$.

A produção de prole de *Nitokra* sp. foi drasticamente reduzida nos tratamentos com sedimento contaminado por Zn. Enquanto o controle apresentou aproximadamente 100% de produção de prole, os tratamentos correspondentes ao TEL e ao PEL apresentaram valores próximos de zero. A redução foi estatisticamente significativa em ambos os tratamentos em relação ao controle (****, $p < 0,0001$), evidenciando forte inibição da reprodução mesmo na menor concentração testada. Esses resultados demonstram que a reprodução foi um parâmetro sensível à exposição ao Zn associado ao sedimento.

Figura 2 - Percentual da prole (náuplios e copepoditos) de *Nitokra sp.* após a exposição ao sedimento contaminado com zinco.



Fonte: A autora (2026).

Legenda: CNT: controle; TEL: *Threshold Effect Level* (Nível de Efeito de Limiar); PEL: *Probable Effect Level* (Nível de Efeito Provável). As diferenças significativas entre as concentrações foram determinadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). **** $p < 0,0001$.

Discussão

Embora a exposição ao Zn não tenha afetado significativamente o percentual de adultos de *Nitokra* sp., verificou-se acentuada inibição da produção de prole nos tratamentos TEL e PEL. Essa diferença entre as respostas indica que a reprodução foi mais sensível à contaminação do sedimento do que a sobrevivência, permitindo detectar efeitos subletais que não seriam evidenciados apenas pela avaliação da letalidade. A redução da prole evidencia, portanto, a ocorrência de efeitos subletais associados à exposição prolongada (toxicidade crônica) ao sedimento contaminado, sendo particularmente relevante do ponto de vista ecotoxicológico, uma vez que alterações reprodutivas podem comprometer a manutenção das populações ao longo do tempo.

Esse padrão é consistente com os resultados de estudos que avaliaram a toxicidade de sedimentos utilizando *Nitocra spinipes* e demonstraram maior sensibilidade dos parâmetros relacionados ao desenvolvimento em comparação à sobrevivência (Perez-Landa; Simpson, 2011). A utilização da produção de prole como parâmetro de efeito também é sustentada por (Bengtsson e Bergström, 1987), que desenvolveram um ensaio de fecundidade com *N. spinipes*, baseado na exposição de fêmeas durante 13 dias e na quantificação dos descendentes produzidos. O método foi aplicado à avaliação de diferentes substâncias químicas, incluindo o Zn, demonstrando a adequação da resposta reprodutiva para a identificação da toxicidade desse elemento em copépodes.

A ausência de uma resposta gradual entre TEL e PEL pode indicar que a menor concentração testada já foi suficiente para promover elevada inibição reprodutiva, aproximando a resposta do seu limite máximo. Embora esses valores-guia representem faixas de ocorrência esperada de efeitos adversos, a toxicidade efetiva também depende da biodisponibilidade do Zn, influenciada pelas características físico-químicas do sedimento e da água intersticial (MacDonald et al., 1996). Dessa forma, os resultados evidenciam que concentrações correspondentes tanto ao TEL quanto ao PEL podem comprometer severamente a reprodução de *Nitokra* sp., reforçando a importância da inclusão de parâmetros subletais na avaliação ecotoxicológica de sedimentos contaminados.

Conclusão

A exposição ao Zn associado ao sedimento, em concentrações correspondentes ao TEL e ao PEL, não afetou a sobrevivência de *Nitokra* sp., mas promoveu acentuada inibição da produção de prole. Esses resultados demonstram que a reprodução constitui um parâmetro mais sensível do que a sobrevivência para detectar os efeitos subletais do Zn. A elevada inibição reprodutiva observada, inclusive na concentração correspondente ao TEL, desperta um alerta quanto à capacidade desses valores de referência de indicar a proteção de organismos bentônicos contra efeitos crônicos. Assim, a produção de prole de *Nitokra* sp. mostra-se um parâmetro relevante para complementar a avaliação da qualidade de sedimentos contaminados por Zn.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 16723: ecotoxicologia aquática — método de ensaio com copépodos marinhos e estuarinos (Copepoda, Crustacea). Rio de Janeiro: **ABNT**, 2021

BENGTSSON, B. E.; BERGSTRÖM, B. A flowthrough fecundity test with Nitocra spinipes (Harpacticoidea Crustacea) for aquatic toxicity**. Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 14, n. 3, p. 260–268, 1987.

Buchman, M. F. (2008). *Screening Quick Reference Tables (SQuiRTs)* (NOAA OR&R Report 08-1). **Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration.** Recuperado de NOAA Institutional Repository.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Resolução nº 454, de 1º de novembro de 2012. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos referenciais para o gerenciamento do material a ser dragado em águas sob jurisdição nacional. Brasília, DF: **CONAMA**, 2012. Disponível em: https://conama.mma.gov.br/index.php?option=com_sisconama&task=documento.download&id=1778. Acesso em: 3 set. 2026.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, manutenção e cultivo de organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (org.). Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. São Carlos: **Rima**, 2006. p. 153-184.

INNIK, P. M.; ZUBENKO, I. B. Role of bottom sediments in the secondary pollution of aquatic environments by heavy-metal compounds. **Lakes & Reservoirs: Research and Management**, v. 5, n. 1, p. 11–21, 2000.

CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). Canadian Environmental Quality Guidelines. **Winnipeg: CCME,** 1999. Disponível em: https://ccme.ca/en/curret-activities/canadian-environmental-quality-guidelines. Acesso em: 3 set. 2026.

Lacerda, L. T., Diniz, R. C. R., Lima, F. V., Chagas, M. H., Tourino, F. D., Andrade, A. G., & Bemben, M. G. (2020). Is performing repetitions to failure less important than volume for muscle hypertrophy and strength? ***Journal of Strength and Conditioning Research***, *34*(5), 1237–1248. doi.org [1, 2]

LINNIK, P. M.; ZUBENKO, I. B. Role of bottom sediments in the secondary pollution of aquatic environments by heavy-metal compounds**. Water Resources**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 294–306, 2000.

LOTUFO, G. R.; ABESSA, D. M. S. **Testes de toxicidade com sedimento total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos,** 2002.

MALDONADO, A. C. D.; WENDLING, B. Manejo de ecossistemas aquáticos contaminados por metais pesados. **Acta Tecnológica**, São Luís, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2009.

MARQUES, M. B. L.; AMÉRICO-PINHEIRO, J. H. P. **Efeitos ecotoxicológicos de metais aos organismos aquáticos.** Fórum Ambiental da Alta Paulista, Tupã, v. 14, n. 2, p. 1-13, 2018.

MACDONALD, D. D.; CARR, R. S.; CALDER, F. D.; LONG, E. R.; INGERSOLL, C. G. **Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. Ecotoxicology**, v. 5, n. 4, p. 253−278, 1996.

MUYSSEN, B. T. A.; REYNDERS, H.; BLUST, R.; SMOLDERS, E.; JANSSEN, C. R. Mechanisms of chronic waterborne Zn toxicity in Daphinia magna. **Aquatic Toxicology,** v. 77, n. 4, p. 393-401, 2006.

NASCIMENTO, A. L. et al. Sewage sludge microbial structures and relations to their sources, treatments, and chemical attributes. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, p. 1462, 2018.

NATIONAL OCEANIC AND ATMOSPHERIC ADMINISTRATION (NOAA). **About our agency**. 2026. Disponível em: https://www.noaa.gov/about-our-agency. Acesso em 3: set. 2026.

PEREZ-LANDA, V.; SIMPSON, S. L. A short life-cycle test with the epibenthic copepod Nitocra spinipes for sediment toxicity assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 6, p. 1430–1439, 2011.

ROCHA, Giseli Swerts; LOMBARDI, Ana Teresa; ESPÍNDOLA, Evaldo L. G. Effects of copper and cadmium mixtures on photosynthetic parameters of the freshwater microalga Ankistrodesmus densus (Chlorophyceae). **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 37, p. 3771-3783, 2025.

SEGURA, F. R. et al. Potencial risks of the residue from Samarcos's mine dam burst (Bento Rodrigues, Brazil). **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 218, p. 813-825, 2016.

SIMPSON, S. L.; SPADARO, D. A. (2011). Performance and sensitivity of rapid sublethal sediment toxicity tests with the amphipod Melita plumulosa and copepod Nitocra spinipes. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 30(10), 2326–2334.

TANIOKA, Tatsuro; MATSUMOTO, Katsumi. Effects of incorporating age-specific traits of zooplankton into a marine ecosystem model**. Ecological Modelling**, Amsterdam, v. 368, p. 257-264, 24 jan. 2018.