CAPÍTULO II

Mesocosmos como modelo experimental na avaliação da ecotoxicidade aquática

*Lucas Gonçalves Queiroz¹, Daniel C. V. R. Silva²

¹Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, São Paulo

²Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Estudos do Xingu, São Félix do Xingu, Pará

*lucasgoncalvesqueiroz@gmail.com

<https://doi.org/10.4322/978-65-86819-07-6-02>

RESUMO

A ecotoxicologia aquática surgiu como uma ferramenta para auxiliar na compreensão dos impactos de poluentes em ecossistemas aquáticos. Diferentes metodologias foram desenvolvidas utilizando organismos representativos do ambiente aquático em experimentos laboratoriais que buscam obter resultados semelhantes ao que é observado no ambiente. Entretanto, as condições controladas em que os ensaios são desenvolvidos podem ter influência sobre os dados que serão obtidos. Neste contexto, surgiram os ensaios ecotoxicológicos desenvolvidos em escala de mesocosmos que visam simular as condições ambientais de ecossistemas aquáticos com o intuito de obter informações mais realistas sobre os efeitos de poluentes na biota aquática. Para este tipo de avaliação, diferentes sistemas têm sido propostos, os quais combinam modelos capazes de simular as características físicas e químicas do ambiente a organismos representativos da biota aquática, a fim de mimetizar o ecossistema objeto de estudo. Os estudos reportados na literatura que têm apostado na utilização destas metodologias têm obtido informações relevantes sobre o impacto e a dinâmica de poluentes em um ecossistema aquático.

Palavras-chave: Mesocosmo; Ecotoxicologia aquática; Poluição hídrica; Ecossistema aquático; Modelos de avaliação ecotoxicológica

POLUIÇÃO DE ÁGUAS SUPERFICIAIS

A poluição de um ecossistema aquático é caracterizada como qualquer alteração na qualidade da água que possa comprometer a biota deste ambiente, ou torná-la imprópria para as atividades humanas. A contaminação de ambientes aquáticos é considerada um dos principais desafios do século 21 devido à grande quantidade de substâncias tóxicas oriundas das atividades humanas que são despejadas em corpos hídricos como rios, lagos e mares diariamente (Häder et al., 2020).

Atualmente, em muitos países, desenvolvidos ou não, diversos corpos hídricos apresentam características físicas, químicas e biológicas que permitem classificá-los como degradados. De modo geral, as atividades humanas apresentam elevado potencial poluidor e são responsáveis por grandes alterações nas características dos ecossistemas aquáticos. Estes ambientes localizados próximos a áreas antropizadas estão cada vez mais vulneráveis a poluição por uma grande variedade de contaminantes que podem causar impactos significativos no ecossistema a curto e longo prazo (do Amaral et al., 2018; Yang et al., 2020).

Dentre as principais causas da redução da qualidade da água em mananciais é possível destacar a falta de planejamento do uso e ocupação do solo resultando em uma expansão desordenada das áreas urbanas, agrícolas, industriais e de mineração. Além disso, estas atividades contribuem significativamente com a geração de resíduos, sólidos e líquidos, que quando não tratados de forma adequada podem causar impactos nos corpos hídricos (Fig. 1). Como consequência destas atividades humanas, a sociedade perde a garantia dos serviços ecossistêmicos oferecidos pelos mananciais, como a utilização deste recurso para o abastecimento, irrigação e atividades de lazer e recreação.

Fig. 1. Principais atividades antrópicas responsáveis pela degradação dos ecossistemas aquáticos.

Além dos serviços oferecidos à humanidade, o principal papel dos corpos hídricos está inserido no ponto de vista ambiental, uma vez que se trata de um ecossistema de elevada complexidade ecológica, que oferece suporte para comunidades aquáticas e terrestres (Häder et al., 2020).

Pressões causadas pelas atividades humanas têm grande impacto nas comunidades aquáticas e ripárias de macroinvertebrados, sobretudo na riqueza de espécies e suas condições ecológicas associadas à locomoção, fecundidade, resistência a condições desfavoráveis, longevidade de adultos, números de ciclos reprodutivos por ano, tamanho corporal, entre outras características. Estas, por sua vez, podem ser avaliadas a fim de determinar os efeitos de estressores sobre organismos aquáticos (Bruno et al., 2014; Statzner and Bêche, 2010).

Deste modo, a forma indiscriminada como diversos compostos químicos são lançados em corpos hídricos e a recorrente incidência de determinadas substâncias nestes ambientes colocam em risco não somente a biota aquática, mas também, a biota terrestre que depende em grande parte do corpo hídrico associado à sua área de ocorrência. A redução da qualidade da

água pode resultar no desequilíbrio de ambientes aquáticos, como resultado das alterações do nicho de determinadas espécies, do favorecimento de espécies oportunistas e da perda ou fuga de espécies que habitam estes ambientes (Dudgeon, 2019).

O intenso uso e ocupação do solo próximo a corpos hídricos resulta em uma grande quantidade de sedimento que atinge os mananciais podendo resultar no assoreamento e aumento da turbidez da água, o que afeta diretamente a reprodução e alimentação da biota aquática (Wilkinson et al., 2018). Outro aspecto ambiental associado às áreas urbanas é o lançamento de esgotos domésticos sem o tratamento adequado. Esta prática contribui significativamente na redução da qualidade da água de corpos hídricos. Estes efluentes possuem elevada carga orgânica, promovendo assim a redução do oxigênio dissolvido presente na coluna d'água. Além do aporte orgânico, outros poluentes são comumente encontrados em efluentes domésticos, como metais, hormônios e fármacos (Schmeller et al., 2018). Estes compostos representam uma pequena fração do efluente bruto e por este motivo ocorrem no ambiente aquático em baixas concentrações devido a capacidade de diluição em corpos hídricos. Entretanto, mesmo em baixas concentrações, estes xenobióticos podem causar efeitos crônicos aos organismos quando estes são expostos durante longos períodos, afetando seu comportamento, desenvolvimento e reprodução (de Souza et al., 2020; Gillis, 2012; Plahuta et al., 2017).

A agricultura também é capaz de causar grandes impactos no ecossistema aquático. As atividades agrícolas fazem uso de uma grande quantidade de compostos químicos que podem atingir o corpo hídrico por meio do escoamento superficial e deposição atmosférica. Dentre os principais compostos químicos utilizados pela agricultura, os agrotóxicos e os fertilizantes causam grande preocupação uma vez que podem causar efeitos nocivos aos organismos aquáticos (Rasmussen et al., 2015).

Os agrotóxicos podem causar efeitos comportamentais, fisiológicos e até levar os organismos não-alvo à morte devido à sua elevada toxicidade (Kumar et al., 2010; Nordborg et al., 2017; Pérez-Parada et al., 2018). Já o aporte de fertilizantes em um corpo hídrico pode contribuir significativamente para o processo de eutrofização, que é caracterizado pelo enriquecimento de nutrientes na água, podendo levar a proliferação de organismos

fotossintetizantes, como algas verdes e cianobactérias, incluindo aquelas produtoras de toxinas, e alterar a comunidade do ambiente contaminado (Ortiz-Reyes and Anex, 2018). Nutrientes, como o nitrogênio, podem apresentar formas tóxicas, como a amônia, o nitrato e o nitrito, que podem causar toxicidade em organismos aquáticos (Camargo and Alonso, 2006). Além disso, estas atividades também geram uma grande quantidade de sedimentos erodidos, que contribuem para o processo de assoreamento de rios e lagos.

A indústria, por sua vez, emite uma grande variedade de metais pesados e compostos químicos orgânicos e inorgânicos que podem causar efeitos tóxicos aos organismos expostos, levando à mortalidade ou comprometendo o seu ciclo de vida (Singh and Chandra, 2019; Zhou et al., 2008). A mineração é uma das atividades que mais contribuem com o aporte de sedimentos e substâncias químicas tóxicas em ambientes aquáticos (Goher et al., 2019). A seguir, a Tab. 1 lista os principais poluentes de ecossistemas aquáticos, bem como seus efeitos no ambiente aquático e suas fontes mais comuns.

Considerando o cenário atual de intensa degradação de corpos hídricos em todo o mundo, a preocupação da comunidade científica sobre os efeitos nocivos que poluentes podem causar na comunidade biológica só aumenta. Principalmente devido ao fato de que alguns destes poluentes apresentam capacidade de bioacumulação e baixa biodegradabilidade, o que contribui para a sua persistência no ambiente (Häder et al., 2020).

A compreensão das propriedades físicas e químicas de poluentes, as vias de entrada no ambiente aquático, o comportamento na coluna d'água e a forma como atuam nos indivíduos, populações e na comunidade torna-se cada vez mais necessária. Estas informações possibilitam a proposição de ações e diretrizes que promovam a mitigação dos impactos causados pelas atividades humanas.

Tab. 1. Principais poluentes e seus efeitos em ecossistemas aquáticos.

Tipo de poluente	Efeito	Fonte
Matéria orgânica	Contaminação fecal, redução do oxigênio disponível para organismos aquáticos, eutrofização	Esgoto doméstico e efluentes industriais, resíduos agropecuários.
Nutrientes	Eutrofização, redução da penetração da luz solar no ambiente aquático	Esgoto doméstico, resíduos agropecuários e fertilizantes.
Sedimentos	Elevação da turbidez da água, assoreamento de corpos hídricos e comprometimento de cadeias alimentares e outros processos.	Erosão causada pelo uso e ocupação do solo indiscriminado, mineração, agricultura.
Metais pesados	Efeito carcinogênico, danos a estruturas celulares, alterações nos sistemas fisiológicos de espécies aquáticas, letalidade.	Efluentes industriais, mineração e produtos químicos domésticos.
Compostos químicos orgânicos e inorgânicos	Alterações em sistemas fisiológicos de espécies aquáticas, letalidade.	Efluentes industriais, agricultura, mineração, produtos químicos domésticos.
Desreguladores endócrinos	Alterações nos sistemas endócrino e reprodutivo de espécies aquáticas.	Esgoto doméstico, efluentes industriais.

ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA

A ecotoxicologia aquática surge como uma ciência que permite compreender de que modo determinadas substâncias de origem antrópica atuam sobre os organismos aquáticos. Esta compreensão se dá por meio da realização de ensaios ecotoxicológicos utilizando organismos representativos da coluna d'água ou do sedimento de corpos hídricos. A partir destes ensaios é possível determinar as concentrações que causam efeitos nocivos à biota

aquática e estabelecer limites permissíveis para a proteção da vida aquática (Zagatto and Bertoletti, 2008).

Diversas metodologias já foram padronizadas por órgãos ambientais de todo o mundo, como a Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) e International Organization for Standardization (ISO). No Brasil, Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) estabelece normas e métodos para avaliação da toxicidade aquática utilizando diferentes organismos, como *Daphnia* sp. (ABNT 12713/16), *Ceriodaphnia* sp. (ABNT 13373/17), *Hyalella* sp. (ABNT 15470/13), peixes (ABNT 15088/16) e algas clorofíceas (ABNT 12648/18). Estas normas propõem diferentes técnicas de fácil e rápida execução e análise dos resultados, o que faz com que estas metodologias sejam amplamente adotadas tanto em pesquisas de cunho científico, como no controle da poluição por empresas e órgãos fiscalizadores.

Durante muito tempo, a toxicologia ambiental utilizou os ensaios em escala de microcosmos focando no entendimento dos efeitos tóxicos agudos. Para isso, a toxicidade aguda e as relações dose-resposta eram usadas para determinar as concentrações efetivas e letais sobre organismos-modelo (Boone and James, 2005). Esta abordagem desconsiderava os possíveis efeitos crônicos de uma exposição prolongada a baixas concentrações dos compostos avaliados. Atualmente, uma nova perspectiva sobre os efeitos de compostos xenobióticos tem sido considerada em pesquisas científicas. Assim, diferentes métodos de avaliação têm sido desenvolvidos, avaliando não somente os efeitos agudos observados em um curto período de exposição, normalmente imobilidade ou mortalidade, mas também os efeitos crônicos, associados ao crescimento, desenvolvimento, reprodução e comportamento.

De modo geral, os ensaios ecotoxicológicos são desenvolvidos em condições laboratoriais utilizando uma única espécie como bioindicador. Neste caso, estes ensaios laboratoriais são denominados microcosmos, ou seja, utilizam pequenos volumes de amostra e são desenvolvidos em condições controladas de laboratório. Este tipo de experimento permite avaliar compostos químicos de interesse ou ainda matrizes mais complexas, como efluentes e amostras ambientais. Em todos os casos, variáveis como temperatura e luminosidade são controladas a fim de garantir a reprodutibilidade e

repetibilidade dos ensaios, obtendo assim resultados mais confiáveis (Albarano et al., 2020; Merlin et al., 1992; Odum, 1984).

Dentro do espectro laboratorial, os microcosmos podem ser estáticos ou semi-estáticos (Fig. 2). Os sistemas estáticos consistem em bioensaios em que a solução-teste não é renovada, ou seja, ela é mantida do início ao fim do experimento. Por serem simples e apresentarem um baixo custo, estes sistemas são amplamente utilizados em testes agudos de curta duração. Já nos sistemas semi-estáticos, ocorre a troca parcial ou total da solução de interesse. Embora os organismos sejam manuseados constantemente, o que pode causar seu estresse, o método semi-estático é adequado caso uma substância seja pouco estável sob determinadas condições ambientais ou apresente elevada volatilidade (Caquet et al., 2000; Odum, 1984).

Fig. 2. Sistemas de exposição de experimentos laboratoriais.

Devido às diferentes variáveis envolvidas em um ambiente natural, a poluição hídrica é um aspecto ambiental que afeta os ecossistemas aquáticos de forma bastante complexa. Uma série de fatores bióticos e abióticos do ambiente pode influenciar o efeito dos contaminantes nos organismos. Esta complexidade pode não ser facilmente replicada por ensaios toxicológicos realizados em laboratório (Boone e James, 2005). Além disso, estes experimentos possuem uma dificuldade em avaliar a parte e o todo em

conjunto, ou seja, os resultados gerados dizem respeito a uma única espécie, desconsiderando sua rede de interações ecológicas em um ambiente natural.

Embora amplamente utilizados, os ensaios em escala de microcosmo não possuem o compromisso de reproduzir a complexidade do ambiente natural, mas sim, fornecer informações rápidas e necessárias para a tomada de medidas que possam auxiliar agências fiscalizadoras no controle desses compostos no ambiente.

A compreensão dos fatores que influenciam a dinâmica de uma comunidade biológica depende de sua biodiversidade, das interações diretas e indiretas na teia alimentar e de fatores abióticos, temporais e espaciais. Deste modo, os avanços no conhecimento nesta área resultaram de estudos em sistemas artificiais que tinham como objetivo obter resultados cada vez mais próximos daqueles observados no ambiente natural, os chamados mesocosmos (Wilbur, 1997).

SISTEMAS EM ESCALA DE MESOCOSMOS COMO FERRAMENTA PARA COMPREENSÃO DOS EFEITOS DE POLUENTES AQUÁTICOS

Os experimentos em escala de mesocosmos têm como objetivo principal obter resultados mais próximos daqueles observados no ambiente natural. Estas metodologias têm sido bastante utilizadas, sobretudo no meio acadêmico, com o intuito de melhor compreender os processos ecológicos, dentre eles a resposta causada pelos compostos de origem antrópica no ecossistema aquático (Odum, 1984).

Mesocosmos aquáticos são ferramentas normalmente utilizadas em pesquisas de ecologia e ecotoxicologia aquática. Os mesocosmos são maiores, quando comparados aos microcosmos, e são considerados modelos simplificados do mundo real por consistir em sistemas que buscam simular algum aspecto de um ecossistema. O termo mesocosmo foi adotado pois o método apresenta tamanho moderado, estando entre os microcosmos de laboratório e o ambiente natural, grande e complexo, denominado macrocosmo. Estes sistemas promovem um balanço entre o controle dos experimentos de laboratório e as condições ambientais observadas em comunidades aquáticas (Boone e James, 2005; Caquet et al., 2000). Além

disso, permite a geração de uma grande quantidade de informações, uma vez que cria um ambiente onde a parte e o todo pode ser investigado simultaneamente.

Os sistemas de mesocosmos permitem mimetizar condições como a composição de espécies da comunidade, variações de temperatura, limitação de alimento e a presença de efeitos indiretos sobre a comunidade. Estes constituintes da comunidade aquática são importantes quando se busca avaliar os impactos de estressores em um ecossistema (Mikó et al., 2015; Odum, 1984; Tonetta et al., 2018; Weir et al., 2014).

Tipos de sistemas de mesocosmos

Os experimentos em mesocosmos podem ser desenvolvidos tanto em condições laboratoriais como no ambiente natural. E a escolha do modelo a ser utilizado dependerá das variáveis ambientais que se pretende ter o controle durante o estudo (Fig. 3).

Os modelos laboratoriais indoor, por exemplo, têm sido desenvolvidos com o intuito de avaliar como determinadas características ambientais podem influenciar nos impactos causados por xenobióticos em organismos aquáticos. Este modelo consiste em canais ou tanques artificiais mantidos em laboratório. Neste caso, é possível combinar o controle e a reprodução de condições ambientais.

No ambiente natural, os experimentos podem ser realizados a partir de lagos, fontes e canais artificiais criados para este objetivo (modelo outdoor). Este modelo trata-se de um ambiente onde é possível ter o controle de determinadas variáveis físicas, químicas e biológicas. Um sistema de mesocosmo também pode ser constituído de uma área cercada no próprio habitat, contendo solo, água ou biota representativa (modelo *in situ*). Neste caso, trata-se de um sistema aberto, onde não há o controle das variáveis ambientais (Caquet et al., 2000; Rowe and Dunson, 1994).

Fig. 3. Sistemas de exposição de experimentos em escala de mesocosmo.

De modo geral, os modelos adotados para os estudos de campo em escala de mesocosmos podem ser classificados como fechados, onde a entrada e a saída dos compostos ocorrem de forma controlada, ou abertos, em que não há o controle das concentrações destes estressores, dependendo exclusivamente de sua presença no ambiente.

Quando se busca obter resultados mais realistas deve-se considerar a aplicação de sistemas de mesocosmos *in situ*, uma vez que este está diretamente inserido no ambiente de estudo. Entretanto, este modelo apresenta algumas limitações como susceptibilidade a intempéries, vandalismo, fuga de organismos modelo do sistema, predação por outras espécies que possam invadir o sistema e a falta de controle de variáveis ambientais. Esta última variável impede a realização de um planejamento experimental onde se busca determinar as condições ambientais em que o composto pode ser mais ou menos nocivo. Deste modo, diferentes modelos outdoor e indoor têm sido propostos a fim de aprofundar o conhecimento acerca dos poluentes no ambiente aquático e eliminar variáveis que possam comprometer o estudo.

Não há um consenso na literatura sobre a dimensão e o modelo ideal de um sistema de análise ecotoxicológica para que ele seja considerado um mesocosmo. Quanto ao tamanho do sistema, alguns autores propuseram diferentes volumes que variam de 1 a 10 m³ (Guanguo, 1990), de 1 e 300m³

(La Point et al., 2018) e de 0,1 e 1000 m³ (Graney et al., 1995). De modo geral, quanto maior o sistema maior será a quantidade e a complexidade de dados obtidos, o que dificultaria a compreensão dos resultados. Neste caso, modelos de mesocosmos em menor escala podem facilitar tanto a obtenção como a compreensão dos resultados.

Diferentes layouts de mesocosmos têm sido aplicados. A escolha do modelo deve considerar o tipo de ambiente simulado, os organismos utilizados e as características do composto avaliado, bem como suas vias de entrada e suas concentrações no ambiente. O conhecimento prévio das características físicas e químicas do poluente é de grande importância, uma vez que podem influenciar sua estabilidade e persistência no ambiente aquático, bem como as variáveis ambientais que podem influenciar na dinâmica deste composto no corpo hídrico. No caso de experimentos *in situ*, o conhecimento das condições ambientais do local onde o estudo será realizado é fundamental para garantir um bom desenvolvimento da pesquisa.

Bioindicadores utilizados em ensaios em escala de mesocosmo

Em ensaios ecotoxicológicos recomenda-se o uso de mais de uma espécie de bioindicador. O uso de espécies diferentes permite a compreensão do efeito sobre a comunidade aquática e não somente sobre uma população (Costa et al., 2008). Uma vantagem dos sistemas de mesocosmos é que, dependendo do modelo adotado, a avaliação de diferentes espécies pode ocorrer simultaneamente, o que difere dos estudos em microcosmos nos quais os organismos são avaliados separadamente (Queiroz, 2019).

Os sistemas de mesocosmos permitem inúmeras abordagens ecológicas para a avaliação de um poluente. É possível utilizar organismos-modelo cultivados em laboratório em um experimento que simula uma condição existente no ambiente natural (Queiroz, 2019) ou ainda utilizar espécies nativas do corpo hídrico em questão e expô-las a um possível cenário de contaminação (Shangguan et al., 2017).

Em experimentos que utilizam modelos de mesocosmos *in situ*, realizados em uma área do próprio ambiente, é possível utilizar os organismos presentes no local onde o sistema foi instalado. Nestes estudos, comumente

são utilizadas comunidades planctônicas e bentônicas que possuem grande número de indivíduos (Bashnin et al., 2019; Shangguan et al., 2017). Outra possibilidade é a inserção de organismos-modelo cultivados em laboratório dentro do sistema teste (Egea-Serrano and Tejedo, 2014). Nesta abordagem, o uso de organismos alóctones cultivados em laboratório pode ser uma alternativa viável, porém espécies autóctones podem trazer informações mais próximas da realidade. Além disso, deve-se tomar cuidado para que espécies alóctones não sejam inseridas no ambiente de estudo.

No caso de sistemas de mesocosmos outdoor ou indoor, os organismos podem ser coletados de ambientes naturais onde não haja ocorrência de poluição ou ainda utilizar bioindicadores cultivados em laboratório (Berghahn et al., 2012; Novelli et al., 2015; Weir et al., 2014). Considerando o atual estado de preservação dos mananciais brasileiros (De Mello et al., 2018; Mello et al., 2018), a utilização de organismos de ambientes naturais pode não ser uma alternativa viável devido à dificuldade de acesso a corpos hídricos totalmente preservados, bem como a dificuldade de se garantir que estes organismos nativos não foram expostos a qualquer poluente.

Ambiente mimetizado em um sistema de mesocosmo

Os ecossistemas aquáticos superficiais podem ser classificados como lênticos e lóticos, dependendo do padrão de movimentação de suas águas. Os ecossistemas lênticos, representados por lagos, lagoas e reservatórios, são ambientes que apresentam pouco ou nenhum fluxo de água. Diferentemente, os ambientes lóticos são definidos como aqueles que possuem correnteza permanente que movimenta suas águas de um ponto a montante (nascente) até a sua jusante (fz) (circulação horizontal), ou seja, rios e riachos (Esteves, 2011).

A movimentação das águas é uma variável importante para a execução destes experimentos, uma vez que é capaz de determinar os organismos que habitam neste local. É esperado que organismos que naturalmente ocorrem em ambientes com pouca movimentação das águas sejam utilizados em sistemas lênticos. Da mesma forma que organismos que comumente ocorrem em rios devam ser utilizados em sistemas lóticos. A inadequação das espécies ao tipo

de sistema escolhido pode causar situações de estresse dos indivíduos testados, o que afetaria diretamente o resultado da pesquisa.

A movimentação de massas de água em um corpo hídrico também pode influenciar no destino do composto na coluna d'água. Uma vez na coluna d'água, os poluentes podem permanecer dissolvidos na água ou ainda se acumular no sedimento presente no fundo dos mananciais. Em ambientes lênticos, há uma tendência de que determinados tipos de poluentes permaneçam no leito do rio devido à baixa circulação. Enquanto em ecossistemas lóticos, a intensa circulação horizontal e vertical pode promover a constante suspensão de compostos depositados no sedimento (Aljaibachi et al., 2020; Jaiswal and Pandey, 2018; Nayar et al., 2004; Newcombe and MacDonald, 1991) (Fig. 4). O destino de um xenobiótico em um ecossistema aquático deve ser considerado, uma vez que tanto as comunidades planctônica, nectônica e bentônica podem ser expostas ao poluente em questão.

Fig. 4. Vias de entrada e comportamento de poluentes na coluna d'água.

A fim de simular ambientes lênticos e lóticos, diferentes modelos de mesocosmos lóticos e lênticos têm sido propostos. Em estudos indoor e outdoor, tanques de diferentes volumes podem ser empregados a fim de simular ambientes lênticos. Enquanto canais artificiais que contam com sistemas de bombeamento para simular a vazão de um rio têm sido

desenvolvidos para simular ambientes lóticos (Fig. 5) (Boone e James, 2005; Rowe and Dunson, 1994).

Fig. 5. Modelos e tipos de ambientes simulados em ensaios de mesocosmos.

A fim de simular ambientes lênticos, tanques são comumente utilizados na avaliação ecotoxicológica de poluentes. Berghahn et al. (2012) avaliaram os efeitos do pesticida neonicotinóide imidacloprido sobre macroinvertebrados bentônicos. Para isto, utilizaram um modelo de mesocosmos lótico, no qual os organismos eram expostos repetidamente ao pesticida durante um determinado período ao longo de uma semana, simulando o processo de aplicação do pesticida em lavouras. Os autores observaram efeito sobre o comportamento, imobilidade e mortalidade destes organismos. Böttger et al. (2013), em um experimento semelhante, não observaram efeitos como mortalidade ou imobilidade sobre *Gammarus roeseli*, porém ao fim dos experimentos houve uma redução das ninhadas produzidas.

Os efeitos do inseticida tiametoxam sobre a comunidade zooplânctônica foram investigados em um sistema de mesocosmo constituídos por tanques de polietileno com volume de 4,13 m³. Os resultados demonstraram que durante o período de exposição de 56 dias, concentrações de até 500 µg.L⁻¹ do inseticida não foram capazes de causar efeitos deletérios na comunidade zooplânctônica, considerando a abundância e a diversidade destes organismos (Lobson et al., 2018).

Outro sistema que tem sido utilizado na avaliação dos efeitos de poluentes sobre os ecossistemas aquáticos consiste em canais artificiais que simulam ambientes lóticos. O modelo indoor comumente é o mais utilizado devido a facilidade de execução e a possibilidade de controle de variáveis ambientais.

Experimentos em mesocosmo lótico outdoor foram realizados com o intuito de melhor compreender os efeitos do desregulador endócrino bisfenol A sobre organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos. Neste estudo foram utilizados grandes canais com 20 m de comprimento, 1m de largura e coluna d'água de 30 cm de profundidade. Além disso, os experimentos foram conduzidos por um longo período (165 dias). Os pesquisadores observaram impactos sobre a abundância e estrutura das populações de macrófitas, macroinvertebrados e peixes na concentração de 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e efeitos sobre gônadas de peixes fêmeas e machos nas concentrações de 1 e 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente (De Kermoyan et al., 2013).

Canais artificiais indoor foram utilizados para avaliar o efeito crônico do pesticida atrazina sobre o comportamento de moluscos das espécies *Physa acuta* e *Ancylus fluviatilis*. Neste estudo, os canais foram feitos em acrílico e possuíam 170 cm de comprimento, 20 cm de largura e 20 cm de profundidade. Os resultados da pesquisa indicaram uma redução no deslocamento destes organismos quando expostos ao pesticida. Além disso, foram observadas lesões no tecido renal após 10 dias de exposição ao composto em concentrações acima de 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Rosés et al., 1999).

Outro estudo utilizando este sistema foi desenvolvido com o objetivo de simular eventos de contaminação reais em ecossistemas aquáticos lóticos causados pelo inseticida neonicotinóide imidacloprido. Neste caso, o sistema era constituído por um canal artificial com capacidade para 8 L e um reservatório com capacidade para 12 L. Além de contar com bombas que promoviam a circulação da água entre o canal e o reservatório. Como bioindicadores foram utilizados o crustáceo *Daphnia similis*, as larvas do inseto *Chironomus sancticarloi* e o peixe *Danio rerio*, os quais foram expostos simultaneamente para avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico. Os organismos foram mantidos isolados dentro do sistema a fim de evitar a predação, pois, neste caso, buscou-se avaliar apenas a mortalidade e as

alterações fisiológicas causadas pelo inseticida. Embora o modelo experimental adotado apresentasse menor complexidade ecológica, o sistema em questão permitia a realização de experimentos promovendo maiores interações entre os organismos. Os autores constataram que a maior concentração do imidacloprido detectada em águas superficiais ($320,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) é capaz de eliminar populações de insetos aquáticos, uma vez que o experimento apresentou 100% de mortalidade em *C. sancticaroli*. Além disso, enzimas responsáveis pelo processo de detoxificação em *D. rerio* apresentaram alterações após exposição ao composto (Queiroz, 2019).

Matrizes mais complexas, como efluentes domésticos, também podem ser utilizadas em mesocosmos baseados em canais artificiais. Pereda et al. (2019) demonstraram que o biofilme de ambientes aquáticos sofreu estresse após a exposição a concentrações elevadas de efluentes domésticos, comprometendo a decomposição da matéria orgânica por estes organismos. Segundo os autores, a complexidade do poluente também gera resultados complexos.

Sistemas de mesocosmos realizados *in situ* são ainda mais complexos e podem ser desenvolvidos de diferentes formas. A fim de avaliar os efeitos de metais pesados sobre a comunidade planctônica, Nayar et al. (2004) optaram por utilizar câmaras transparentes onde foram acondicionados os organismos fitoplanctônicos obtidos a partir da filtragem de 20 L de água coletada em um lago. À esta câmara foram adicionados sais de diferentes metais compondo tratamentos distintos. As câmaras foram mantidas submersas no lago de onde a água foi coletada durante 5 dias. Metais como cobre, níquel e chumbo causaram efeitos tóxicos que resultaram na inibição do fitoplâncton e bactérias autótrofas.

Em um lago altamente eutrofizado, Tang et al. (2018) desenvolveram um experimento *in situ* para avaliar a eficiência da adição de caulinita modificada com quitosana em reestabelecer o equilíbrio do ambiente dominado por fitoplâncton e melhorar a qualidade da água. A caulinita foi adicionada em compartimentos de 2,5 m x 2,5 m alocados dentro do lago eutrofizado. O experimento foi conduzido durante 48 dias e ao longo deste período os parâmetros de qualidade da água associados ao grau de trofia foram determinados. A adição da caulinita melhorou os parâmetros de qualidade da

água e reduziu a biomassa fitoplanctônica. Além disso, promoveu o crescimento de macrófitas submersas que auxiliaram na redução da turbidez da água.

Os efeitos tóxicos crônicos, após uma exposição prolongada a baixas concentrações, também podem ser avaliados a partir destes sistemas, uma vez que permitem a avaliação por períodos mais extensos, o que nem sempre é possível em experimentos em microcosmos. Deste modo, é possível avaliar o efeito dos estressores de interesse sobre gerações sequenciais do organismo, permitindo a compreensão sobre o ciclo de vida e reprodução dos organismos expostos, bem como observar distúrbios secundários e terciários dos poluentes (Hayasaka et al., 2012).

Além de ensaios ecotoxicológicos, experimentos em escala de mesocosmos também podem ser usados para compreender como os poluentes se comportam em um corpo hídrico em diferentes condições ambientais.

Tanques outdoors foram utilizados para mimetizar ecossistemas pelágicos na avaliação dos efeitos de mudanças climáticas na distribuição de poluentes orgânicos. O sistema consistia em tanques de 1m³ acondicionados em piscinas que possuíam sistemas de circulação com controle de temperatura. Para esta análise os pesquisadores desenvolveram diferentes cenários a partir da temperatura e de concentrações de carbono orgânico dissolvido no sistema. Os resultados apresentados demonstram que poluentes orgânicos apresentaram maior persistência no ecossistema no cenário com maior nível de carbono orgânico dissolvido na água. Além disso, na maior temperatura avaliada (18° C) foram detectadas as menores concentrações de poluentes (Ripszam et al., 2015).

Em outro trabalho, pesquisadores avaliaram o destino de fragmentos de poliestireno (15 µm) em um corpo hídrico utilizando um sistema de mesocosmo outdoor constituído por tanques. Os resultados demonstram que em ambiente lânticos há uma tendência dos fragmentos de microplásticos suspensos na coluna d'água se depositarem no sedimento ao longo do tempo. Além disso, os autores demonstraram que variações de temperatura e precipitação não estão relacionadas com o número de fragmentos de microplásticos na coluna d'água (Aljaibachi et al., 2020).

Devido a sua proximidade às condições ambientais, os experimentos ecotoxicológicos em mesocosmos podem apresentar resultados diferentes dos observados em laboratório.

Em estudos avaliando os efeitos de compostos nitrogenados sobre larvas do anfíbio *Pelophylax perezi*, (Egea-Serrano and Tejedo, 2014) utilizaram tanto sistemas de mesocosmos outdoor como *in situ*. Os autores observaram diferenças nos resultados obtidos em cada um dos sistemas. Nos ensaios em mesocosmos, houve uma redução na massa e no crescimento das larvas de *P. perezi* expostas aos compostos nitrogenados, o que não foi observado nos ensaios utilizando mesocosmo *in situ*.

Discrepâncias entre os resultados obtidos em testes ecotoxicológicos em escala laboratorial e mesocosmos foram observadas em experimentos que avaliaram o efeito do pesticida glifosato sobre girinos de rãs *Rana damaltina*. Em laboratório houve alta taxa de mortalidade, redução da massa corpórea e aumento no tempo de metamorfose dos organismos. Diferentemente, em escala de mesocosmos a taxa de sobrevivência não foi afetada e o tempo de metamorfose foi reduzido. Segundo os autores, esta diferença sugere que os testes realizados em laboratório não são capazes de prever corretamente os efeitos dos pesticidas no ambiente natural por não conseguirem reproduzir suas condições (Mikó et al., 2015).

A diferença observada entre os modelos de microcosmos e mesocosmos pode estar associada a fatores como a diferença entre populações envolvidas, disponibilidade de alimento, competição interespecífica, biodegradação e estratificação dos compostos avaliados. Os testes realizados em menor escala podem não ser capazes de prever corretamente os efeitos dos pesticidas no ambiente natural, por não conseguirem reproduzir as condições ambientais (Mikó et al., 2015). Assim, quando se busca avaliar os efeitos tóxicos de poluentes em um corpo hídrico é conveniente considerar os cenários naturais mais realistas (Egea-Serrano and Tejedo, 2014).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A complexidade do ecossistema aquático e os processos aos quais os contaminantes estão sujeitos no ambiente pode dificultar a extrapolação dos dados obtidos em laboratório para a escala ambiental. Estudos em mesocosmos podem auxiliar na validação de resultados obtidos em escala laboratorial, melhorando a compreensão dos reais impactos de xenobióticos sobre os ecossistemas aquáticos.

Do ponto de vista da conservação da biodiversidade é necessário compreender como ecossistemas podem reagir e se recuperar da exposição de compostos químicos tóxicos. Deste modo, experimentos em mesocosmos são uma poderosa ferramenta para monitoramento e predição de impactos causados por poluentes em uma variedade de comunidades aquáticas. Além disso, os mesocosmos são instrumentos valiosos que permitem explorar a influência do tempo e de variáveis ambientais na estrutura ecológica dos ecossistemas aquáticos perturbados por efeitos secundários e terciários dos poluentes.

Embora apresentem algumas limitações, os testes em microcosmos envolvendo uma única espécie são bastante relevantes, pois fornecem informações rápidas, conclusivas e decisivas sobre a toxicidade de substâncias, auxiliando no manejo e gestão dos recursos hídricos. Assim, os estudos em mesocosmos, quando realizados simultaneamente ou como uma etapa posterior à realização de ensaios laboratoriais usando uma única espécie, combinaria a precisão e agilidade do laboratório com a realidade do campo. A junção destes modelos traria informações relevantes a fim de assegurar a proteção dos ecossistemas aquáticos, além de fornecer uma base para desenvolvimento de um modelo de avaliação ecotoxicológica cada vez mais eficaz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albarano, L., Costantini, M., Zupo, V., Lofrano, G., Guida, M., Libralato, G., 2020. Marine sediment toxicity: A focus on micro- and mesocosms towards remediation. Sci. Total Environ. 708, 134837. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134837>

Aljaibachi, R., Laird, W.B., Stevens, F., Callaghan, A., 2020. Impacts of polystyrene microplastics on *Daphnia magna*: A laboratory and a mesocosm study. *Sci. Total Environ.* 705, 135800. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135800>

Bashnin, T., Verhaert, V., De Jonge, M., Vanhaecke, L., Teuchies, J., Bervoets, L., 2019. Relationship between pesticide accumulation in transplanted zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and community structure of aquatic macroinvertebrates. *Environ. Pollut.* 252, 591–598. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.140>

Berghahn, R., Mohr, S., Hübner, V., Schmiediche, R., Schmiedling, I., Svetich-Will, E., Schmidt, R., 2012. Effects of repeated insecticide pulses on macroinvertebrate drift in indoor stream mesocosms. *Aquat. Toxicol.* 122–123, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.05.012>

Boone, M., James, S., 2005. Aquatic and terrestrial mesocosms in amphibian ecotoxicology. *Appl. Herpetol.* 2, 231–257. <https://doi.org/10.1163/1570754054507442>

Böttger, R., Feibicke, M., Schaller, J., Dudel, G., 2013. Effects of low-dosed imidacloprid pulses on the functional role of the caged amphipod *Gammarus roeseli* in stream mesocosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 93, 93–100. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.04.006>

Bruno, D., Belmar, O., Sánchez-Fernández, D., Guareschi, S., Millán, A., Velasco, J., 2014. Responses of Mediterranean aquatic and riparian communities to human pressures at different spatial scales. *Ecol. Indic.* 45, 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.04.051>

Camargo, J.A., Alonso, Á., 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environ. Int.* 32, 831–849. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.002>

Caquet, T., Lagadic, L., Sheffield, S.R., 2000. Mesocosms in ecotoxicology (1): Outdoor aquatic systems. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 165, 1–38. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1172-3_1

Costa, R.C., Olivi, P., Botta, C.M.R., Espíndola, E.L.G., 2008. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Quim. Nova* 31, 1820–1830. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>

De Kermoyan, G., Joachim, S., Baudoin, P., Lonjaret, M., Tebby, C., Lesaulnier, F., Lestremau, F., Chatellier, C., Akrou, Z., Pheron, E., Porcher, J.M., Péry, A.R.R., Beaudouin, R., 2013. Effects of bisphenol A on different trophic levels in a lotic experimental ecosystem. *Aquat. Toxicol.* 144–145, 186–198. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.09.034>

de Souza, R.M., Seibert, D., Quesada, H.B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M.R., Bergamasco, R., 2020. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review, *Process Safety and Environmental*

Protection. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.12.035>

do Amaral, A.M.B., de Lima Costa Gomes, J., Weimer, G.H., Marins, A.T., Loro, V.L., Zanella, R., 2018. Seasonal implications on toxicity biomarkers of *Loricariichthys anus* (Valenciennes, 1835) from a subtropical reservoir. *Chemosphere* 191, 876–885. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.114>

Dudgeon, D., 2019. Multiple threats imperil freshwater biodiversity in the Anthropocene. *Curr. Biol.* 29, R960–R967. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.08.002>

Egea-Serrano, A., Tejedo, M., 2014. Contrasting effects of nitrogenous pollution on fitness and swimming performance of Iberian waterfrog, *Pelophylax perezi* (Seoane, 1885), larvae in mesocosms and field enclosures. *Aquat. Toxicol.* 146, 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.003>

Esteves, F.A., 2011. *Fundamentos de Limnologia*, 3a ed. Interciência, Rio de Janeiro.

Gillis, P.L., 2012. Cumulative impacts of urban runoff and municipal wastewater effluents on wild freshwater mussels (*Lasmigona costata*). *Sci. Total Environ.* 431, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.061>

Goher, M.E., Ali, M.H.H., El-Sayed, S.M., 2019. Heavy metals contents in Nasser Lake and the Nile River, Egypt: An overview. *Egypt. J. Aquat. Res.* 45, 301–312. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.002>

Graney, R.L., Giesy, J.P., Clark, J.R., 1995. Field studies, in: RAND, G.M. (Ed.), *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate and Risk Assessment*. CRC Press, Washington, pp. 257–305.

Guanguo, L., 1990. Different types of ecosystem experiments, in: Lalli, C.M. (Ed.), *Enclosed Experimental Marine Ecosystems: A Review and Recommendations*. Springer-Verlag, New York, pp. 7–19.

Häder, D.P., Banaszak, A.T., Villafañe, V.E., Narvarte, M.A., González, R.A., Helbling, E.W., 2020. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Sci. Total Environ.* 713, 136586. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136586>

Hayasaka, D., Korenaga, T., Suzuki, K., Saito, F., Sánchez-Bayo, F., Goka, K., 2012. Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 80, 355–62. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.04.004>

Jaiswal, D., Pandey, J., 2018. Impact of heavy metal on activity of some microbial enzymes in the riverbed sediments: Ecotoxicological implications in the Ganga River (India). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 150, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.015>

Kumar, A., Correll, R., Grocke, S., Bajet, C., 2010. Toxicity of selected pesticides to freshwater shrimp, *Paratya australiensis* (Decapoda: Atyidae): Use of time series acute toxicity data to predict chronic lethality. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73, 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.09.001>

La Point, T., Fairchild, J.F., Little, E.E., Finger, S.E., 2018. Laboratory and field techniques in ecotoxicology research: strengths and limitations, in: BODOU, A. (Ed.), *Aquatic Toxicology: Fundamentals, Concepts and Methodologies*. CRC Press, Boca Raton, pp. 239–255.

Lobson, C., Luong, K., Seburn, D., White, M., Hann, B., Prosser, R.S., Wong, C.S., Hanson, M.L., 2018. Fate of thiamethoxam in mesocosms and response of the zooplankton community. *Sci. Total Environ.* 637–638, 1150–1157. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.05.087>

Mello, K., Valente, R.A., Randhir, T.O., Santos, A.C.A., Vettorazzi, C.A., 2018a. Effects of land use and land cover on water quality of low-order streams in Southeastern Brazil: Watershed versus riparian zone. *Catena* 167, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2018.04.027>

Mello, K., Valente, R.A., Randhir, T.O., Vettorazzi, C.A., 2018b. Impacts of tropical forest cover on water quality in agricultural watersheds in southeastern Brazil. *Ecol. Indic.* 93, 1293–1301. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.06.030>

Merlin, G., Thiebaud, H., Blake, G., Sembiring, S., Alary, J., 1992. Mesocosms' and microcosms' utilization for ecotoxicity evaluation of dichloromethane, a chlorinated solvent. *Chemosphere* 24, 37–50.

Mikó, Z., Ujszegi, J., Gál, Z., Imrei, Z., Hettyey, A., 2015. Choice of experimental venue matters in ecotoxicology studies: Comparison of a laboratory-based and an outdoor mesocosm experiment. *Aquat. Toxicol.* 167, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.07.014>

Nayar, S., Goh, B.P.L., Chou, L.M., 2004. Environmental impact of heavy metals from dredged and resuspended sediments on phytoplankton and bacteria assessed in in situ mesocosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59, 349–369. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.08.015>

Newcombe, C.P., MacDonald, D., 1991. Effects of Suspended Sediments on Aquatic Ecosystems. *North Am. J. Fish. Manag.* 11, 72–82. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(1991\)011<0072](https://doi.org/10.1577/1548-8675(1991)011<0072)

Nordborg, M., Davis, J., Cederberg, C., Woodhouse, A., 2017. Freshwater ecotoxicity impacts from pesticide use in animal and vegetable foods produced in Sweden. *Sci. Total Environ.* 581–582, 448–459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.153>

Novelli, A., Vieira, B.H., Braun, A.S., Mendes, L.B., Daam, M.A., Espíndola, E.L.G., 2015. Impact of runoff water from an experimental agricultural field applied with Vertimec® 18EC (abamectin) on the survival, growth and gill morphology of zebrafish juveniles. *Chemosphere* 144, 1408–1414. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.004>

Odum, E.P., 1984. The mesocosm. *Bioscience* 35, 419–422. <https://doi.org/10.2307/1309598>

Ortiz-Reyes, E., Anex, R.P., 2018. A life cycle impact assessment method for freshwater eutrophication due to the transport of phosphorus from agricultural production. *J. Clean. Prod.* 177, 474–482. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.12.255>

Pereda, O., Acuña, V., von Schiller, D., Sabater, S., Elozegi, A., 2019. Immediate and legacy effects of urban pollution on river ecosystem functioning: A mesocosm experiment.

Pérez-Parada, A., Goyenola, G., Teixeira de Mello, F., Heinzen, H., 2018. Recent advances and open questions around pesticide dynamics and effects on freshwater fishes. *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.* 4, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.08.004>

Plahuta, M., Tišler, T., Toman, M.J., Pintar, A., 2017. Toxic and endocrine disrupting effects of wastewater treatment plant influents and effluents on a freshwater isopod *Asellus aquaticus* (Isopoda, Crustacea). *Chemosphere* 174, 342–353. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.01.137>

Queiroz, L.G., 2019. Efeitos tóxicos do inseticida neonicotinóide imidacloprido em organismos aquáticos não-alvo. Universidade de São Paulo.

Rasmussen, J.J., Wiberg-Larsen, P., Baattrup-Pedersen, A., Cedergreen, N., McKnight, U.S., Kreuger, J., Jacobsen, D., Kristensen, E.A., Friberg, N., 2015. The legacy of pesticide pollution: An overlooked factor in current risk assessments of freshwater systems. *Water Res.* 84, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.021>

Ripszam, M., Gallampois, C.M.J., Berglund, Å., Larsson, H., Andersson, a., Tysklind, M., Haglund, P., 2015. Effects of predicted climatic changes on distribution of organic contaminants in brackish water mesocosms. *Sci. Total Environ.* 517, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.051>

Rosés, N., Poquet, M., Muñoz, I., 1999. Behavioural and histological effects of atrazine on freshwater molluscs (*Physa acuta* Drap. and *Ancylus fluviatilis* Mull. Gastropoda). *J. Appl. Toxicol.* 19, 351–356. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1263\(199909/10\)19:5<351::AID-JAT588>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1263(199909/10)19:5<351::AID-JAT588>3.0.CO;2-H)

Rowe, C.L., Dunson, W.A., 1994. The Value of Simulated Pond Communities in Mesocosms for Studies of Amphibian Ecology and Ecotoxicology. *J. Herpetol.* 28, 346–356. <https://doi.org/10.2307/1564534>

Schmeller, D.S., Loyau, A., Bao, K., Brack, W., Chatzinotas, A., De Vleeschouwer, F., Friesen, J., Gandois, L., Hansson, S. V., Haver, M., Le Roux, G., Shen, J., Teisserenc, R., Vredenburg, V.T., 2018. People, pollution and pathogens – Global change impacts in mountain freshwater ecosystems. *Sci. Total Environ.* 622–623, 756–763. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.006>

- Shangguan, Y., Glibert, P.M., Alexander, J., Madden, C.J., Murasko, S., 2017. Phytoplankton assemblage response to changing nutrients in Florida Bay: Results of mesocosm studies. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 494, 38–53. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.05.006>
- Singh, A.K., Chandra, R., 2019. Pollutants released from the pulp paper industry: Aquatic toxicity and their health hazards. *Aquat. Toxicol.* 211, 202–216. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.04.007>
- Statzner, B., Bêche, L.A., 2010. Can biological invertebrate traits resolve effects of multiple stressors on running water ecosystems? *Freshw. Biol.* 55, 80–119. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2009.02369.x>
- Tang, X., Zhang, X., Cao, T., Ni, L., Xie, P., 2018. Reconstructing clear water state and submersed vegetation on behalf of repeated flocculation with modified soil in an in situ mesocosm experiment in Lake Taihu. *Sci. Total Environ.* 625, 1433–1445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.008>
- Tonetta, D., Staehr, P.A., Obrador, B., Brandão, L.P.M., Brighenti, L.S., Petrucio, M.M., Barbosa, F.A.R., Bezerra-Neto, J.F., 2018. Effects of nutrients and organic matter inputs in the gases CO₂ and O₂: A mesocosm study in a tropical lake. *Limnologia* 69, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2018.02.001>
- Weir, S.M., Wooten, K.J., Smith, P.N., Salice, C.J., 2014. Phthalate ester leachates in aquatic mesocosms: Implications for ecotoxicity studies of endocrine disrupting compounds. *Chemosphere* 103, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.097>
- Wilbur, H.M., 1997. Experimental Ecology of Food Webs: Complex Systems in Temporary Ponds. *Ecology* 78, 2279. <https://doi.org/10.2307/2265892>
- Wilkinson, C.L., Yeo, D.C.J., Tan, H.H., Fikri, A.H., Ewers, R.M., 2018. Land-use change is associated with a significant loss of freshwater fish species and functional richness in Sabah, Malaysia. *Biol. Conserv.* 222, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2018.04.004>
- Yang, H., Zhao, Y., Wang, J.H., Xiao, W.H., Jarsjö, J., Huang, Y., Liu, Y., Wu, J.P., Wang, H. jia, 2020. Urban closed lakes: Nutrient sources, assimilative capacity and pollutant reduction under different precipitation frequencies. *Sci. Total Environ.* 700, 134531. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134531>
- Zagatto, P.A., Bertoletti, E., 2008. *Ecotoxicologia Aquática - Princípios e aplicações*, 2a ed. RiMa, São Carlos.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., Jiang, G., 2008. Biomonitoring: An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Anal. Chim. Acta* 606, 135–150. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>