

EFEITO DE HERBICIDAS EM *Spirodela punctata* (G.F.W.Meyer) Thompson (LEMNACEAE) CULTIVADA EM DIFERENTES SOLUÇÕES NUTRITIVAS

D. M. M. SANTOS¹, R. A. PITELLI² & D. A. BANZATTO³

1. Bióloga Profa. Assistente Doutora, Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da FCAV/Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Cep 14884-900, Jaboticabal, SP. E-mail: dumaria@fcav.unesp.br

2. Eng. Agrôn., Titular, Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da FCAV/Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Cep 14884-900, Jaboticabal, SP. E-mail: pitelli@fcav.unesp.br

3. Eng. Agrôn., Adjunto, Departamento de Ciências Exatas da FCAV/Unesp, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Cep 14884-900, Jaboticabal, SP. E-mail: banzatto@asbyte.com.br

Aceito para publicação em: 11/10/2001.

RESUMO

No presente trabalho verificaram-se as respostas biológicas de *Spirodela punctata* às concentrações subletais dos herbicidas butaclor, glifosato e propanil preparadas em soluções comumente utilizadas para o seu cultivo. Para tanto, foram realizados bioensaios com as seguintes soluções: solução nutritiva de Hillman 1:10 (ensaio 1) e 1:1 (ensaio 2), solução nutritiva de Hutner 1:10 (ensaio 3) e 1:1 (ensaio 4) e água de torneira (ensaio 5). Nestas soluções foram avaliadas alterações na produção de frondes (crescimento), e os efeitos deletérios (morte de frondes) provocados por cinco concentrações (0,005; 0,05; 0,5; 5 e 50 mg L⁻¹) dos três herbicidas, além do tratamento controle (0 mg L⁻¹). Os bioensaios foram conduzidos por sete dias, em condições controladas (5000 lux, fotoperíodo de 12/12 horas e temperatura de 25° ± 1°C). Os resultados do tratamento controle mostraram que a solução de Hillman diluída e a água de torneira não são adequadas para o crescimento, embora não tenham interferido nos efeitos tóxicos dos herbicidas. A solução de Hutner foi mais adequada, mesmo diluída (1:10), provocando um aumento mais pronunciado na produção de frondes, recomendando-a, preferencialmente, para ensaios rápidos que verifiquem a atividade biológica de herbicidas presentes na água.

Palavras-Chave: macrófita aquática, crescimento, toxicidade, butaclor, glifosato, propanil.

ABSTRACT

EFFECT OF HERBICIDES ON *Spirodela punctata* (G.F.W.Meyer) Thompson (LEMNACEAE) CULTIVED IN DISTINCT NUTRIENT SOLUTIONS

In this work it was observed the effect of sublethal doses of the herbicides butachlor, glyphosate and propanil on the physiological response of *Spirodela punctata* using the following nutrient solutions usually employed to cultivate aquatic plants: Hillman nutrient solution at 1:10 dilution (assay 1) and 1:1 dilution (assay 2), Hutner nutrient solution at 1:10 dilution (assay 3) and at 1:1 dilution (assay 4), and tap water (assay 5). Changes in frond production (growth) and the deleterious effects (frond death) of the herbicides above cited were evaluated in those solutions using five concentrations: 0.005, 0.05, 0.5, 5 and 50 mg L⁻¹ and a control treatment (0 mg L⁻¹). The assays were conducted over a period of seven days under controlled conditions (5000 lux, 12/12 hour photoperiod and temperature of 25° ± 1°C). The results of the control treatment showed that the diluted Hillman solution and tap

water are inadequate for growth, although they did not interfere with the toxic effects of the herbicides. Hutner solution was the most adequate even at 1:10 dilution, causing a more pronounced increase in frond production. Thus, this solution should be preferentially recommended for rapid assays aiming the determination of biological activity of herbicides present in water.

Key Words: Duckweed, growth, toxic effects, butachlor, glyphosate, propanil.

INTRODUÇÃO

Os herbicidas, de um modo geral, incluem-se no grupo de poluentes aquáticos. Assim, o desenvolvimento de técnicas analíticas com a necessária sensibilidade e com ampla especificidade de organismos vegetais é de considerável interesse e importância comercial (WESTON & ROBINSON, 1991).

Devido a uma acentuada sensibilidade, as macrófitas aquáticas são muito utilizadas nos estudos que tratam da atividade biológica dos herbicidas, podendo ser empregadas em testes de toxicidade e como indicadoras de poluição de herbicidas na água (WANG, 1986).

O crescimento de espécies aquáticas da família *Lemnaceae* é aproximadamente exponencial quando o fornecimento de nutrientes e CO₂ é suficiente e equilibrado. As frondes não se propagam pela simples duplicação, e dependendo da espécie e das condições ambientais uma única fronde pode produzir acima de 20 novas frondes antes de se separarem em colônias menores (LANDOLT & KANDELER, 1987). A espécie *Spirodela punctata* (G.F.W.Meyer), macrófita aquática flutuante, é comumente encontrada em mananciais, lagos, lagoas e charcos. Caracteristicamente possui vigoroso crescimento vegetativo associado à elevada sensibilidade aos produtos diluídos na água, sendo utilizada como planta bioindicadora de poluentes na água (COLEY & KAY, 1992). Em geral, quando se empregam macrófitas aquáticas em bioensaios, para detectar poluentes na água, faz-se necessário utilizar soluções nutritivas, que possibilitem a sobrevivência da planta no período experimental. Para um cultivo com adequado crescimento são empregadas ao redor de sete tipos distintos de soluções nutritivas em espécies da família Lemnaceae (LANDOLT & KANDELER, 1987) destacando-se, principalmente, a solução nutritiva de Hutner e a de Hillman. A solução nutritiva de Hutner (HUTNER, 1953), entretanto, contém o agente quelante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético), que embora não seja um nutriente

vegetal, é um componente orgânico que provoca um maior incremento da produção de frondes (LANDOLT & KANDELER, 1987). Devido a este fato e, como esta solução nutritiva é muito utilizada no cultivo de *S. punctata* (HILLMAN, 1961; LANDOLT & KANDELER, 1987), estabeleceu-se a hipótese de que o EDTA pudesse complexar total ou parcialmente os herbicidas e provocar alguma interferência nas respostas biológicas da planta.

Assim, supondo-se que soluções nutritivas quimicamente diferentes possam interferir com os componentes químicos das formulações dos herbicidas, mascarando respostas biológicas das espécies aquáticas às concentrações destes produtos químicos, no presente trabalho foram estudados os efeitos dos herbicidas, freqüentemente utilizados em ambientes aquáticos, butachlor, glyphosate e propanil no crescimento e morte de frondes de *S. punctata*.

MATERIAL E MÉTODOS

S. punctata foi coletada em uma lagoa, onde ocorre espontaneamente, localizada no bairro do Sobrado, município de Rio Claro, SP. (SANTOS, 1992). Antes de iniciar-se a montagem dos bioensaios com os herbicidas e soluções nutritivas, foi realizada a limpeza de detritos nas plantas coletadas, através de lavagens com água destilada. Posteriormente, o material foi acondicionado em caixas com capacidade de 500 litros de água do lago onde as plantas foram coletadas, nas dependências do jardim experimental do Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Rio Claro, SP. Os bioensaios foram realizados somente após um mês de aclimatização da espécie no local.

O crescimento das plantas foi verificado pela taxa de multiplicação, cuja fórmula está descrita em LANDOLT & KANDELER (1987): $TM = 1000 (1/t \log (n_1 / n_0))$ em percentagem, onde: TM= taxa de multiplicação; $t = t_2 - t_1$ (tempo final - tempo inicial, em dias); n_0 = número de frondes iniciais; n_1 = número de frondes finais.

Para a avaliação do número de frondes mortas, considerou-se a fronde inteiramente clorótica ou necrosada, sendo que a morte das frondes não significou necessariamente morte da planta (SANTOS, 1992).

Foram utilizadas formulações comerciais dos herbicidas butachlor, glyphosate e propanil.

O butachlor (2-cloro-2', 6'-dietil-N (butoximetil) acetanilida) apresenta solubilidade em água de 20 mg L⁻¹ a 20°C; o glyphosate (N-(fosfonometil)glicina) apresenta solubilidade na água de 10000 mg L⁻¹ a 25°C e o propanil (3,4-dicloropropionanilida) apresenta solubilidade na água de 225 mg L⁻¹ a 25°C (ALMEIDA & RODRIGUES, 1988).

Através de cinco bioensaios foram avaliados os parâmetros de crescimento de frondes e o número de frondes mortas, provocados pelos três herbicidas diluídos em duas soluções nutritivas (Tabela 1). O bioensaio 1 constou de solução de Hillman na proporção de 1:10 (sem EDTA); o bioensaio 2 constou de solução de Hillman na proporção de 1:1 (sem EDTA); o bioensaio 3 constou de solução de Hutner na proporção de 1:10 (com EDTA); o bioensaio 4 constou de solução de Hutner na proporção de 1:1 (com EDTA) e

TABELA 1. Substâncias e concentrações (mg L⁻¹) utilizadas na preparação das soluções nutritivas de HUTNER (1953) e de HILLMAN (1961).

Solução Nutritiva de Hutner	
Substâncias	mg L ⁻¹
KOH	200,00
EDTA	500,00
NH ₄ NO ₃	200,00
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	354,00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	492,00
FeSO ₄ ·7H ₂ O	24,90
MnCl ₂ ·4H ₂ O	17,40
ZnSO ₄ ·5H ₂ O	65,90
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	25,20
CuSO ₄ ·5H ₂ O	3,95
H ₃ BO ₃	14,20
pH	6,2 a 6,5
Solução Nutritiva de Hillman	
Substâncias	mg L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	680,00
KNO ₃	1515,00
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	1180,00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	492,00
FeCl ₂ ·6H ₂ O	5,40
MnCl ₂ ·4H ₂ O	17,40
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,22
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,12
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,08
Ácido tartárico	3,00
pH	6,0

bioensaio 5 constou apenas de água de torneira. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições, em esquema fatorial 3 x 5, onde constituíram variáveis os três herbicidas e cinco concentrações (0,005; 0,05; 0,5; 5 e 50 mg L⁻¹), além da testemunha sem aplicação de herbicidas (0 mg L⁻¹).

Os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada, com luminosidade de 5000 lux, fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro e temperatura de constante de 25° ± 1°C. Para avaliar o crescimento e o número de frondes mortas utilizaram-se recipientes com 6,5 cm de diâmetro e 4,5 cm de profundidade, com 100 mL de solução e 50 frondes em 100 mL de uma das soluções acima mencionadas. Os copos, etiquetados, foram tampados com filme de polietileno transparente e as avaliações foram realizadas após sete dias completos. Para a análise estatística utilizou-se o teste F, e os graus de liberdade foram desdobrados para estudar a regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificaram-se em todas as soluções nutritivas com herbicidas, efeitos significativos para o crescimento e morte de

frondes (Figuras 1 a 6), exceto para o crescimento na espécie quando submetida às concentrações de glyphosate em Hillman 1:10 e água de torneira, mostrando que este produto nas respectivas soluções não causa qualquer efeito em *S. punctata*.

Para o herbicida glyphosate (Figura 1) observa-se o crescimento da espécie em Hutner 1:1 (Figura 1A) e Hillman 1:1 (Figura 1B). A regressão polinomial mostrou que as concentrações intermediárias de 10 a 35 mg L⁻¹ de glyphosate em Hutner 1:1 (Figura 1A) ocasionaram estimulação do crescimento, e as concentrações mais elevadas (a partir de 35 mg L⁻¹) provocaram acentuado declínio da taxa de multiplicação de *S. punctata*. Em Hillman 1:1 (Figura 1B), ocorreu um comportamento linear significativo, indicando que o aumento na concentração do herbicida provoca acentuada inibição no crescimento de frondes. Para o número de frondes mortas (Figura 2), os resultados revelaram que em Hutner 1:1 (Figura 2A), Hutner 1:10 (Figura 2B), Hillman 1:1 (Figura 2C) e Hillman 1:10 (Figura 2D) a regressão polinomial mostrou um comportamento significativo, indicando que o aumento da concentração do herbicida provoca maior morte de frondes de *S. punctata*. Estas respostas deletérias da espécie ao herbicida glyphosate em Hutner e Hillman, mostram que, provavelmente, houve mais o efeito do herbicida independentemente da solução utilizada.

O glyphosate é muito utilizado em ambientes aquáticos para controle de macrófitas (GROSSBARD & ATKINSON, 1985; SOLBER & HIGGINS, 1993). Em espécies de Lemnaceae, HARTMAN & MARTIN (1984) constataram elevada toxicidade. Entretanto, de acordo com NILSSON (1985), vários metais de comum ocorrência em águas naturais retardaram o movimento e reduziram a fitotoxicidade do glyphosate devido às propriedades quelantes deste produto.

Considerando que o glyphosate é um produto que atua em baixas quantidades na planta e que, no presente trabalho, as frondes de *S. punctata* ficaram expostas à solução durante sete dias, pode-se inferir que a absorção deste herbicida foi pequena. Esta baixa absorção poderia ter sido devido a presença de EDTA na solução nutritiva, pois sabe-se que esta substância forma complexo com a molécula de glyphosate (NILSSON, 1985). Ainda, em reforço a esta afirmativa NILSSON (1985) salienta que, os efeitos do glyphosate não são influenciados quando ferro é adicionado como agente quelante com o EDTA. De fato, SHILLING et al. (1990) verificaram que 100 mM de EDTA reduzem a atividade fitotóxica do glyphosate na macrófita aquática *Panicum repens*. No entanto, os estudos efetuados no presente trabalho em soluções sem EDTA (Hilman 1:1 e 1:10) praticamente eliminaram esta hipótese.

É importante ainda salientar que, quando *S. punctata* cresceu em água de torneira, os efeitos do glyphosate foram similares aos verificados nas soluções nutritivas. A redução de crescimento provocada pelo glyphosate é bastante dependente da sua concentração na solução nutritiva. Nas maiores concentrações provavelmente houve maior absorção do

produto e os efeitos foram mais drásticos e rápidos. Ressalta-se que, para plantas terrestres, os efeitos do glyphosate normalmente evidenciam sintomas drásticos após sete dias de aplicação. Além disso, a intensidade luminosa

influencia de forma direta a velocidade e a intensidade dos sintomas do glyphosate (GROSSBARD & ATKINSON, 1985). Os experimentos deste trabalho foram conduzidos em baixas intensidades luminosas. Por este motivo, é possível que sob um período experimental mais longo, ou sob intensidade luminosa maior, os efeitos do glyphosate fossem mais evidentes.

Estes comentários não invalidam os resultados observados, pois os experimentos foram conduzidos em situações de bioensaios, sob condições ótimas de luminosidade para o crescimento da espécie. Segundo LANDOLT & KANDELER (1987) a intensidade luminosa ideal para o crescimento de Lemnaceae está situada em uma ampla faixa. Nos vários trabalhos que tratam deste assunto, os autores utilizam desde luminosidades mínimas de 800 lux até máximas de 16000 lux (BOWKER et al., 1980; HILLMAN, 1961; LANDOLT & KANDELER, 1987). De um modo geral, as espécies de lemnáceas aparecem em todas intensidades luminosas, e diferentes variedades clonais de uma mesma espécie podem apresentar diferentes requisitos de luz sob condições experimentais (HILLMAN, 1961). Sugere-se que, para outro programa de pesquisa, considere-se variações na intensidade luminosa e na extensão do período de observações, uma vez que, segundo os resultados ora obtidos, a solução nutritiva pouco influenciou na resposta de *S. punctata* à ação deste herbicida.

Na Figura 3 observa-se o crescimento da espécie para Hutner 1:10 (Figura 3A), Hillman 1:1 (Figura 3B) e Hillman 1:10 (Figura 3C) com propanil. A regressão polinomial mostrou um comportamento significativo, indicando que o aumento na concentração de herbicida provoca acentuada inibição no crescimento de frondes. Em contrapartida, o comportamento da espécie em Hutner 1:10 (Figura 3A), evidenciou maior decréscimo na produção de frondes até a concentração de 30 mg L⁻¹, indicando leve aumento do crescimento a partir de 40 mg L⁻¹. Um aspecto extremamente importante observado em relação ao propanil é que em baixas concentrações o produto pouco inibiu o crescimento da espécie. De fato, para o crescimento de algas, o propanil foi mais tóxico que o glyphosate, inclusive as baixas concentrações de propanil estimularam o crescimento de algumas espécies de algas (MAULE, 1984). Para o número de frondes mortas (Figura 4), os resultados revelaram que em todas as soluções com propanil (Figuras 4A a 4E) a regressão polinomial mostrou um comportamento linear significativo, indicando que o aumento da concentração de herbicida provoca maior morte de frondes. Contudo, nas soluções nutritivas de Hutner 1:1 (Figura 4A) e Hillman 1:1 (Figura 4C), nas concentrações mais elevadas, a partir de 40 mg L⁻¹, o efeito tóxico diminuiu ocasionando menor efeito deletério nas frondes de *S. punctata*. Para o herbicida butachlor (Figura 5) o comportamento da espécie em Hillman 1:10 (Figura 5A) e água de torneira (Figura 5B), evidenciou maior decréscimo na produção

A

1

$$y=42,34031+0,71246 x-0,02127 x^2$$

B

55

Figura 1. Crescimento de *Spirodela punctata* sete dias após a aplicação do herbicida glyphosate, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hutner 1:1. **B.** Hillman 1:1.

de frondes nas concentrações de 10 mg L⁻¹ a 30 mg L⁻¹, indicando leve aumento do crescimento a partir de 40 mg L⁻¹. Lui & Tsai citado por LANDOLT & KANDELER (1987) verificaram que, baixas concentrações de butachlor (ao redor de 0,1 mg L⁻¹) inibiam o crescimento de plantas daninhas de arroz inundado, tais como *Cyperus* sp e *Monochoria* sp. Para morte de frondes (Figura 6), os resultados revelaram que em Hillman 1:1 (Figura 6B), Hillman 1:10 (Figura 6C) e água de torneira (Figura 6D), ocorreu um comportamento linear significativo, indicando que o aumento da concentração do herbicida é diretamente proporcional ao aumento de frondes mortas. Também, em Hutner 1:1 houve aumento da morte de frondes com o aumento da concentração do herbicida, mas, nas concentrações mais elevadas, a partir de 30 mg L⁻¹, o efeito tóxico diminuiu ocasionando menor mortalidade (Figura 6A). Isto, provavelmente, pode ter ocorrido porque o produto, em concentrações mais elevadas, não estava disponível nesta solução nutritiva, para que a planta pudesse absorvê-lo. Na solução de Hillman e na água de torneira os efeitos do butachlor, em média, foram reduzidos quando comparados com aqueles observados na solução nutritiva de Hutner. Este fato ressalta, especificamente para o butachlor, que é muito importante considerar a composição da solução nutritiva em que desenvolveu esta Lemnaceae. Salienta-se que a solução nutritiva de Hillman não contém EDTA, no entanto, não foi encontrada, na literatura consultada, informação que suportasse qualquer discussão sobre o efeito do EDTA na ação do butachlor. É um aspecto interessante a ser considerado em futuros programas de pesquisas.

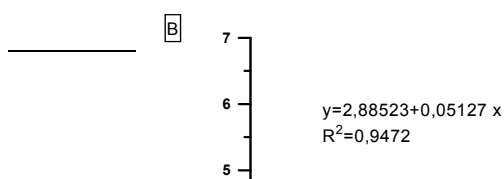
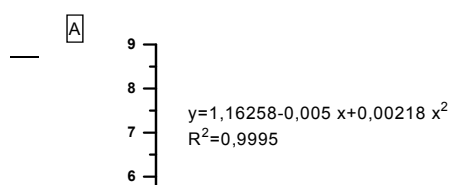
Além do mais, avaliando-se os resultados apresentados na testemunha verificou-se que a solução de Hillman diluída

(Hillman 1:10) e água de torneira não são soluções adequadas para o crescimento de *S. punctata* causando elevado declínio da produção de frondes. Estas soluções não interferiram nos efeitos dos herbicidas, além de provocar efeitos deletérios no crescimento de plantas do tratamento testemunha. A solução de Hutner foi mais adequada mesmo diluída, pois, o crescimento de *S. punctata* nesta solução foi mais pronunciado. De acordo com LANDOLT & KANDELER (1987) as lemnáceas podem permanecer vivas em soluções nutritivas muito diluídas por dias ou semanas, usando os nutrientes acumulados em suas frondes.

CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu concluir que:

- Todos os herbicidas, introduzidos nas soluções nutritivas, apresentaram efeitos prejudiciais ao crescimento da espécie. O glyphosate foi aquele que apresentou menor ação fitotóxica em *S. punctata*. Os herbicidas butachlor e propanil apresentaram elevada toxicidade em *S. punctata*, em ordem decrescente glyphosate < butachlor = propanil.
- A solução de Hillman diluída (Hillman 1:10) e água de torneira não são soluções adequadas para o cultivo de *S. punctata*. A solução de Hutner, mesmo diluída, é a mais adequada para o cultivo da espécie, recomendando-a, preferencialmente, para ensaios rápidos que verifiquem a atividade biológica de herbicidas presentes na água.



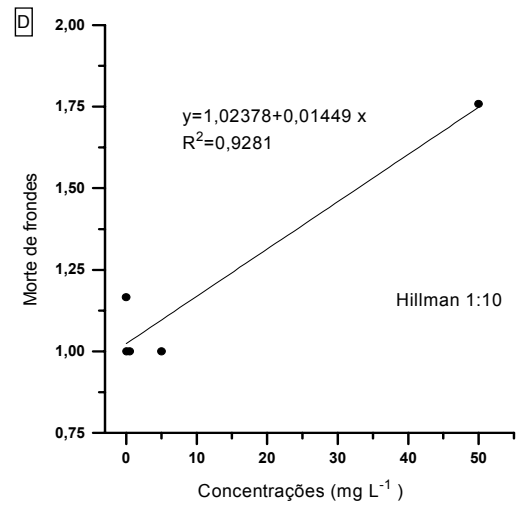
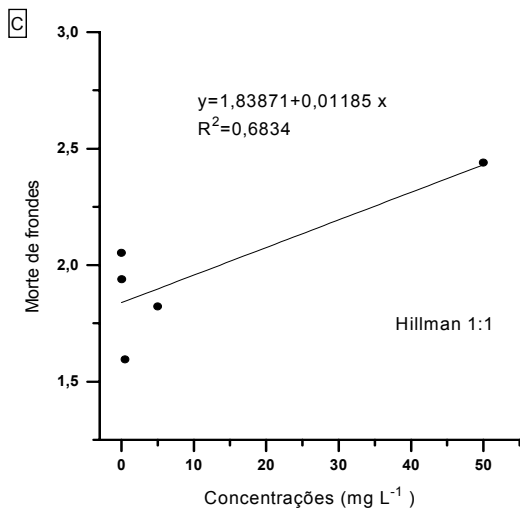


Figura 2. morte de frondes de *Spiroaeta punctata* sete dias após a aplicação do herbicida glyphosate, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hutner 1:1. **B.** Hutner 1:10. **C.** Hillman 1:1. **D.** Hillman 1:10.

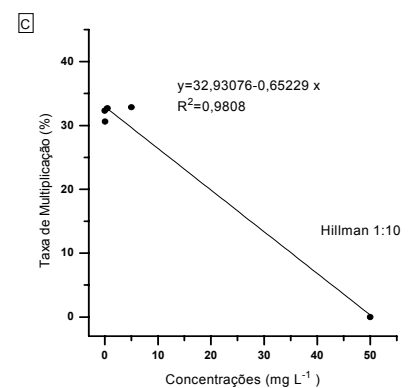
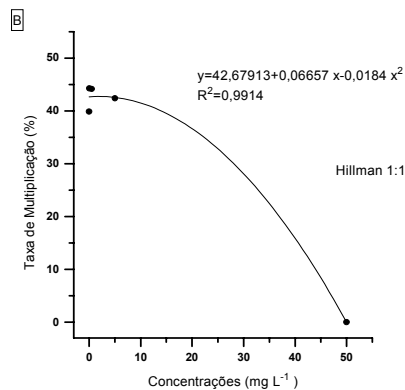
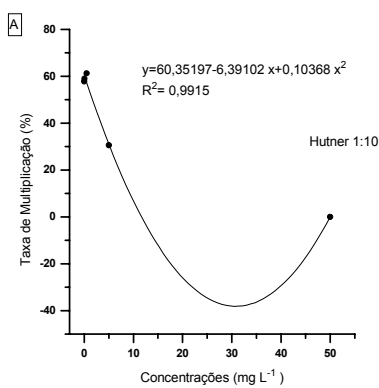
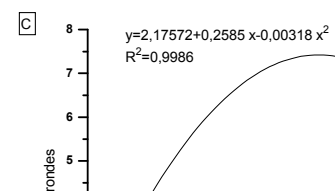
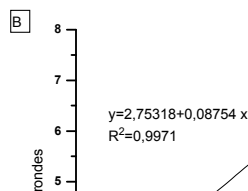
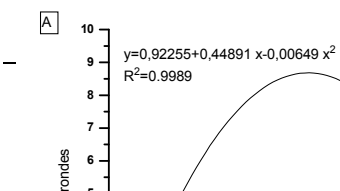


Figura 3. Crescimento de *Spirodela punctata* sete dias após a aplicação do herbicida propanil, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hutner 1:10. **B.** Hillman 1:1. **C.** Hillman 1:10.



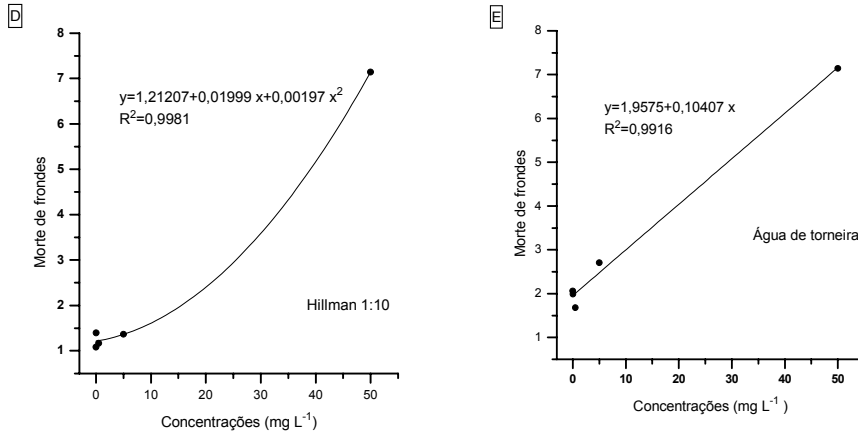


Figura 4. Morte de frondes mortas de *Spirodela punctata* sete dias após a aplicação do herbicida propanil, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hutner 1:1. **B.** Hutner 1:10. **C.** Hillman 1:1. **D.** Hillman 1:10. **E.** Água de torneira.

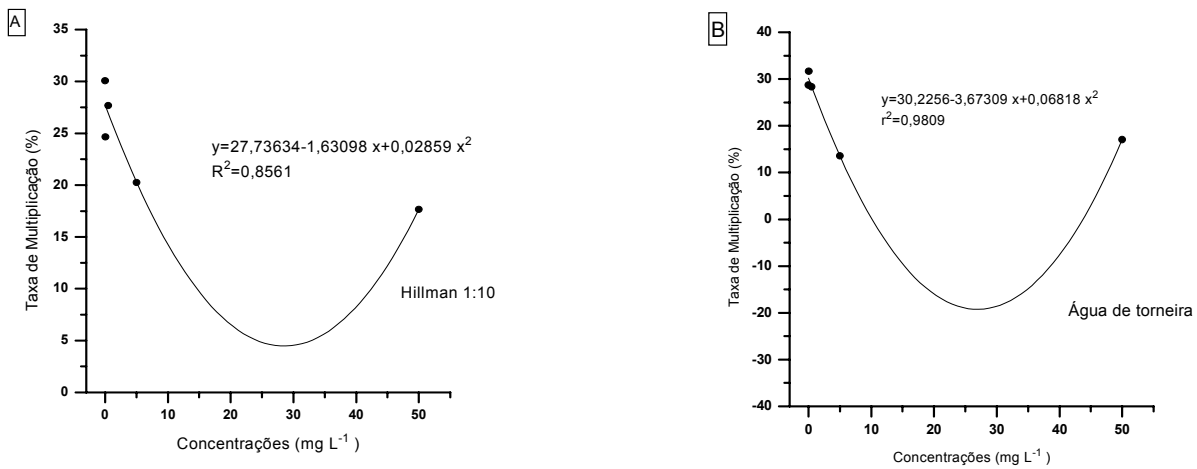
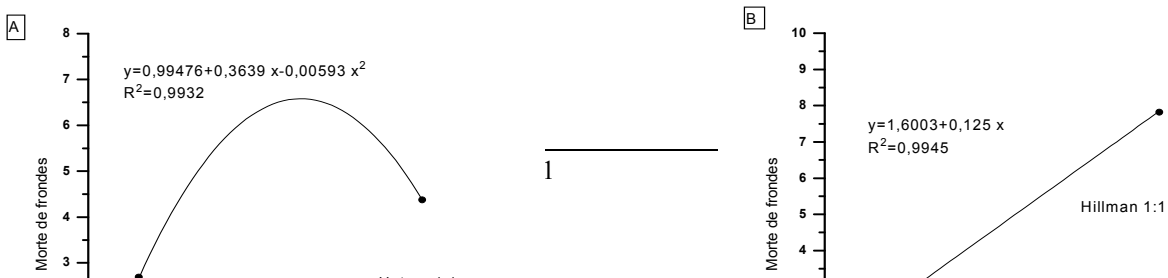


Figura 5. Crescimento de *Spirodela punctata* sete dias após a aplicação do herbicida butachlor, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hillman 1:10. **B.** Água de torneira.



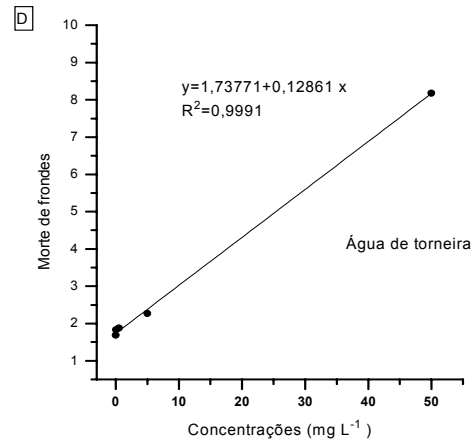
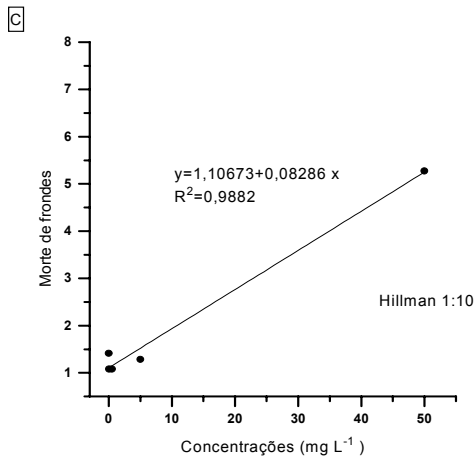


Figura 6. Morte de frondes de *Spirochaeta punctata* sete dias após a aplicação de herbicida glifosato, cultivada em diferentes soluções nutritivas. **A.** Hutner 1:1. **B.** Hillman 1:1. **C.** Hillman 1:10. **D.** Água de torneira.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, F.S.de.; RODRIGUES, B.N. **Guia de herbicidas**. 2.ed. Piracicaba: Livrocetes, 1988. p. 131-136, 324-330, 445-450.
- AUDUS, L.J. (ed.). **Herbicides: physiology, biochemistry, ecology**. 2.ed. San Francisco: Academic Press, 1976. v. 1, cap. 1, p. 1-50.
- BOWKER, D.W.; DUFFIELD, A.N.; DENNY, P. Methods for the isolation, sterilization and cultivation of Lemnaceae. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 10, p. 385-388, 1980.
- COLEY, C.R.; KAY, S.H. Sensitivity of floating aquatic weeds to imazapyr in the water column. **ASFA.**, v. 22, n. 8, s/n. 1992.
- GORHAM, P.R. Growth factors studies with *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 28, p. 98-101, 1945.
- GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Eds.). **The herbicide Glyphosate**. London: Butterworths. 1985. 490 p.
- HARTMAN, W.A.; MARTIN, D.B. Effect of suspended bentonite clay on the acute toxicity of glyphosate to *Daphnia pulex* and *Lemna minor*. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, Clermont-Ferrand, v. 33, p. 355-361, 1984.
- HILLMAN, W.S. The Lemnaceae or duckweeds: a review of the descriptive and experimental literature. **Botanical Review**, Bronx, v. 27, p. 221-287, 1961.
- HUTNER, S.H. Comparative physiology of heterotrophic growth. In: LOOMIS, W.E. (Ed.). **Growth and differentiation in plants**. Iowa: Iowa State College Press, 1953. p. 417-446.
- LANDOLT, E.; KANDELER, R. **The family of Lemnaceae – a monographic study**: phytochemistry, physiology, application, bibliography. Biosystematic investigation the family of duckweeds. Zurich, Stiftung Rubel: Veroffenteichungendes Geobotanischen Institutes der ETH, 1987. v. 4, 638 p.
- MAULE, A. Interactions of micro-algae with some herbicides, with particular reference to chlorpropham. **Dissertation Abstracts International, C (European Abstracts)**, v. 45, n. 1, p. 84, 1984.
- NILSSON, G. Interactions between glyphosate and metals essential for plant growth. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Eds.). **The herbicide Glyphosate**. London: Butterworths. 1985. cap.4, p. 35-48.
- SANTOS, D.M.M. **Toxicidade dos herbicidas butachlor, glyphosate e propanil em *Spirodela punctata* (G.F.W.Meyer) Thompson (Lemnaceae)**. 1992. 296 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 1992).
- SHILLING, D.G., HALLER, W.T., WILLARD, T.R. MOSSLER, M.A. Influence of surfactants and additives on phytotoxicity of glyphosate to toperdograss. **Journal of Aquatic Plant Management**, Washington, v.28, p.23-27, 1990.
- SOLBER, K.L.; HIGGINS, K.F. Effects of glyphosate herbicide on cattails, invertebrates, and waterfowl in South-Dakota wetlands. **Wildlife Society Bulletin**, Bethesda, v.21, n.3, p.299-307, 1993.
- WANG, W. Toxicity tests of aquatic pollutants by using common duckweed. **Environmental Pollution**, Barking, v.11, p.1-14, 1986.
- WESTON, L.H.; ROBINSON, P.K. Detection and quantification of triazine herbicides using algal cell fluorescence. **Biotechnology Techniques**, Northwood, v.5, n.5, p.327-330, 1991.
-