

INFLUÊNCIA DE HERBICIDAS EM MACRÓFITAS AQUÁTICAS¹

DURVALINA MARIA MATHIAS DOS SANTOS² e DAVID ARIIVALDO BANZATTO³

RESUMO - Os efeitos dos herbicidas atrazine, 2,4-D, glyphosate (direct e rodeo) e trifluralin foram avaliados no crescimento e morte de frondes das macrófitas aquáticas, *Spirodela punctata* (G.F.W Meyer) Thompson e *Salvinia minima* Baker, por meio de três séries de concentrações de cada herbicida em sala climatizada (3000 lux, 12/12 horas claro e escuro e $23 \pm 1^\circ\text{C}$). Após sete dias, verificou-se que as concentrações da série 1 (0,025, 0,125, 0,625 e 3,125 mg.L⁻¹) inibiram o crescimento de *Salvinia minima*. Em *Spirodela punctata* somente o rodeo e trifluralin provocaram inibição do crescimento. Tais concentrações não provocaram morte de frondes nas espécies. As concentrações da série 2 (40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹) dos herbicidas 2,4-D, direct e trifluralin provocaram inibição do crescimento em *Salvinia minima*. Nessas concentrações a morte de frondes ocorreu com 2,4-D e trifluralin em *Salvinia minima*, e com direct e trifluralin em *Spirodela punctata*. Na série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹), o 2,4-D causou declínio no crescimento de ambas as espécies. Rodeo e trifluralin mostraram ser mais letais para as plantas. Atrazine provocou elevado número de mortes de frondes em *Spirodela punctata*.

Termos para indexação: bioindicadoras, agrotóxicos, crescimento, morte de frondes.

EFFECTS OF HERBICIDES ON AQUATIC MACROPHYTES

ABSTRACT - The effects of the herbicides atrazine, 2,4-D, glyphosate (direct and rodeo) and trifluralin were determined on the growth and death of fronds of the aquatic macrophytes *Spirodela punctata* (G.F.W. Meyer) Thompson and *Salvinia minima* Baker, through three series of concentrations of each herbicide in climatic chamber (3000 lux, 12/12 hours photoperiod, temperature $23 \pm 1^\circ\text{C}$). After seven days, the concentrations of series 1 (0.025, 0.125, 0.625 and 3.125 mg.L⁻¹) inhibited the growth of *Salvinia minima*. In *Spirodela punctata*, only the herbicides rodeo and trifluralin caused growth inhibition. These concentrations did not caused death of fronds in the species. The concentrations of series 2 (40, 60, 80 and 100 mg.L⁻¹) of the herbicides 2,4-D, direct e trifluralin decreased growth of *Salvinia minima*; death of fronds was caused by 2,4-D and trifluralin to *Salvinia minima*, and by direct and trifluralin to *Spirodela punctata*. For the series 3 (200, 400, 600, 800 and 1000 mg.L⁻¹), the herbicide 2,4-D caused growth decrease of both species. The herbicides rodeo and trifluralin showed to be the most lethal for both species. The herbicide atrazine caused death of fronds in *Spirodela punctata*.

Index terms: bioindicators, pesticides, growth, frond death.

¹ Aceito para publicação em 11 de setembro de 1997.

Financiado pela FAPESP, (proc. 92/3770-3; proc. 92/4394-5; proc. 91/0612-5).

² Bióloga, Dr^a., Prof^a. Assistente, Dep. de Biologia Aplicada à Agropecuária, FCAV, UNESP, Rodovia Carlos Tonanni, km 5 CEP 14870-000 Jaboticabal, SP. E-mail: dumaria@fcav.unesp.br

³ Eng. Agr., Prof. Adjunto, Dep. de Ciências Exatas, FCAV, UNESP.

INTRODUÇÃO

Entre os ecossistemas, o aquático destaca-se como um ambiente extremamente vulnerável a diversas contaminações. A água constitui-se num dos elementos fundamentais para a sobrevivência dos organismos. Se ela estiver contaminada por agrotóxicos, os demais elementos bióticos e abióticos do ecossistema também estão ou ficarão contaminados. Os aspectos negativos, decorrentes do uso inadequado desses produtos, como a toxicidade, ecotoxicidade e contaminação do meio, precisam ser controlados para que não ocorram efeitos adversos (Kingman, 1993).

Os estudos ecotoxicológicos fornecem os resultados que representam a base para o desenvolvimento de testes de toxicidade, levando-se em conta que nem todos os efeitos biológicos observados nos organismos vivos podem ser utilizados com um objetivo prático, pois, para que isso aconteça, torna-se necessário que os efeitos observados tenham significado ecológico bem definidos. Nesse sentido, efeitos sobre os aspectos

biológicos mostram-se objetivamente práticos na aferição das respostas ecológicas, pois evidenciam globalmente as características das comunidades considerando suas inter-relações bióticas e abióticas (Wang, 1991; Vandergaag, 1992; Baird, 1993).

Schmidt (1993) salienta a importância dos bioensaios para identificar e conhecer diferentes propriedades de herbicidas. Com a descoberta de novas classes de herbicidas ou modos de ação, a escolha de novos métodos de bioensaios torna-se indispensável (Outridge & Noller, 1991). Os bioensaios para monitoramento de herbicidas no meio permitem utilizar diferentes organismos para determinar respostas adequadas na avaliação da toxicidade (Streibig & Kudsk, 1993a, 1993b).

No presente trabalho foram realizados estudos comparativos das respostas biológicas de *Spirodela punctata* (Lemnaceae) e *Salvinia minima* (Salviniaceae), sob efeito de diferentes concentrações de herbicidas, visando indicar estas espécies para monitorar águas contaminadas por produtos químicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Salvinia minima foi coletada na Represa de Barra Bonita, localizada entre os municípios de Barra Bonita e Igarapu, SP (Calijuri & Tundisi, 1990), e *Spirodela punctata* em lagoa localizada no bairro de Sobrado, município de Rio Claro, SP (Santos, 1992).

Antes de iniciar-se a montagem dos bioensaios com os herbicidas foi feita a limpeza de detritos nas plantas coletadas. O material foi acondicionado em caixas com capacidade de 1000 litros com água da Represa do Lobo (Broa), nas dependências externas do laboratório do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo (CRHEA/EESC/USP), Itirapina, SP. As caixas d'água foram tampadas com tela sombrite, para evitar a incidência direta do sol sobre as plantas. Os bioensaios foram realizados somente após um mês de aclimação das espécies no local.

O crescimento das plantas foi verificado pela taxa de multiplicação, cuja fórmula está descrita em Landolt & Kandeler (1987):

$$TM = 1000 (1/t \log n_0/n_1) \text{ em percentagem}$$

onde:

TM = taxa de multiplicação;

t = $t_1 - t_2$ (tempo final menos tempo inicial, em dias);

n_0 = número de frondes iniciais;

n_1 = número de frondes finais.

Para o número de frondes mortas, adotou-se como critério a fronde inteiramente clorótica ou necrosada, de acordo com Santos (1992). Salienta-se que a morte das frondes não significa necessariamente morte da planta.

Os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada, com luminosidade de 3000 lux, fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro e temperatura constante de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Tanto para a solução de cultivo como para as diluições dos herbicidas foi utilizada a água da Represa do Lobo (oligotrófica). Para avaliar a produção e morte de frondes utilizaram-se recipientes com 6,5 cm de diâmetro e 4,5 cm de profundidade, com 100 mL de solução com herbicidas e 10 frondes, que correspondiam, em média, a três plantas de cada espécie. As avaliações foram realizadas após sete dias completos.

Utilizaram-se três séries de concentrações para verificar a taxa de multiplicação e morte de frondes: 0,025, 0,125, 0,625 e 3,125 mg.L⁻¹ (série 1); 40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹ (série 2); 200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹ (série 3), de cinco herbicidas, em formulações comerciais: atrazine (2-cloro-4(etilamino)-6-(isopropilamino)-s-triazina); 2,4-D (sal amina do ácido 2,4 diclorofenoxiacético); trifluralin (α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro-N-N-dipropil-p-toluidina); e duas formulações do glyphosate: direct (sal amônico de N(fosfometil)glicina) e rodeo (sal de isopropilamina de N(fosfonometil)glicina). Em todos os bioensaios houve o tratamento controle, isento de herbicida, para cada uma das séries testadas e para cada uma das espécies estudadas.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 x 5 x 4 e mais duas testemunhas (tratamento controle), com três repetições, com os fatores espécies (*Spirodela punctata* e *Salvinia minima*), herbicidas (atrazine, 2,4-D, direct, rodeo e trifluralin) e concentrações (série 1: 0,025, 0,125, 0,625 e 3,125 mg.L⁻¹ e série 2: 40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹). No estudo da série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹), em que foi excluído o herbicida direct, o esquema fatorial foi 2 x 4 x 5. Para a análise estatística utilizou-se o teste F, e os graus de liberdade foram desdobrados para estudar a regressão polinomial.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos resultados da série 1 observou-se uma reação diferente das duas espécies aos herbicidas rodeo e trifluralin (Tabela 1), com *Spirodela punctata* mostrando maior sensibilidade do que *Salvinia minima*. A regressão polinomial (Fig. 1) mostrou um comportamento linear significativo ($P < 0,01$) em *Salvinia minima*, indicando que o aumento de concentração dos herbicidas, independentemente do produto usado, provocou acentuada inibição no crescimento das frondes. Essas concentrações subletais ($0,025$, $0,125$, $0,625$ e $3,125$ mg.L^{-1}) não provocaram morte em nenhuma das espécies.

TABELA 1. Taxa de multiplicação (%) de *Spirodela punctata* e *Salvinia minima*, sete dias após a aplicação de cinco herbicidas. Médias das concentrações da série 1 ($0,025$, $0,125$, $0,625$ e $3,125$ mg.L^{-1})¹.

Herbicida	<i>Spirodela punctata</i>	<i>Salvinia minima</i>
Atrazine	22,13 a	20,54 a
2,4-D	16,38 a	19,78 a
Direct	21,80 a	22,13 a
Rodeo	15,47 b	22,26 a
Trifluralin	10,42 b	24,75 a

¹ Para cada herbicida, médias de espécies seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

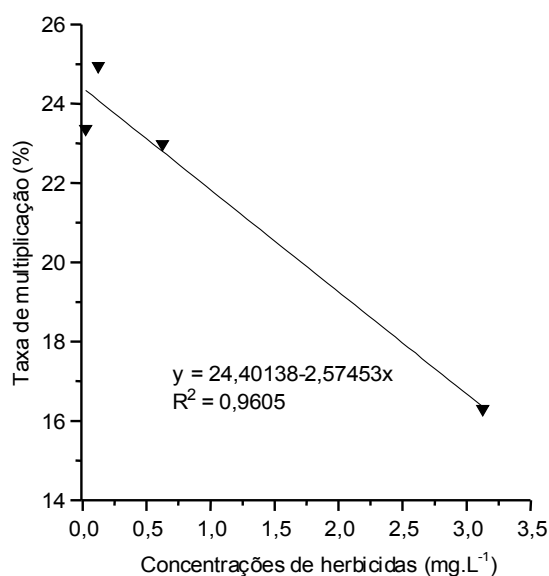


FIG. 1. Efeito de concentrações da série 1 ($0,025$, $0,125$, $0,625$ e $3,125$ mg.L^{-1}) dos herbicidas atrazine, 2,4-D, direct, rodeo e trifluralin, no crescimento de *Salvinia minima*.

Na série 2 (40 , 60 , 80 e 100 mg.L^{-1}), *Salvinia minima* apresentou menor crescimento (taxa de multiplicação) para o 2,4-D, direct e trifluralin e, portanto, maior sensibilidade a estes herbicidas do que *Spirodela punctata* (Tabela 2).

Estudos de Charpentier & Garnier (1985) demonstraram que concentrações subletais do herbicida 2,4-D provocavam decréscimo no crescimento de espécies da família Lemnaceae, na qual se inclui *Spirodela punctata*. Porém, observando o comportamento dessa espécie ao ser submetida às concentrações de 40 , 60 , 80 e 100 mg.L^{-1} de 2,4-D, verificou-se que não ocorreu diminuição no número de frondes. Waithaka (1979) relatou que, apesar de retardar o crescimento caulinar, o 2,4-D ocasiona reincidência do crescimento com a

formação de novas frondes. É possível que *Spirodela punctata* absorva menos 2,4-D do que *Salvinia minima*, embora Fernández et al. (1972) tivessem verificado que as raízes de Lemnaceae absorviam esse herbicida muito rapidamente. Também ressaltaram que tanto as raízes quanto a superfície inferior das frondes podem absorver 2,4-D. Entretanto, Landolt (1986) e Landolt & Kandeler (1987) descreveram que as raízes são mais estabilizadoras das estruturas da espécie do que auxiliares na absorção de substâncias. Os resultados encontrados com *Spirodela punctata* estão próximos dos encontrados por Sahai et al. (1980), que observaram acentuada tolerância de outra espécie de *Spirodela* (*S. polyrrhiza*) ao herbicida.

TABELA 2. Taxa de multiplicação (%) de *Spirodela punctata* e *Salvinia minima*, sete dias após a aplicação de herbicidas. Médias das concentrações da série 2 (20, 40, 80 e 100 mg.L⁻¹)¹.

Herbicida	<i>Spirodela punctata</i>	<i>Salvinia minima</i>
Atrazine	8,74 a	12,27 a
2,4-D	28,61 a	11,27 b
Direct	13,91 a	1,95 b
Rodeo	10,50 a	10,95 a
Trifluralin	26,38 a	11,80 b

¹ Para cada herbicida, médias de espécies seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P > 0,05).

A significativa sensibilidade ao 2,4-D por *Salvinia minima* mostra discordância ao comportamento encontrado em outras espécies de *Salvinia* (*S. natans* e *S. molesta*) que são resistentes à ação do produto, tanto em baixas concentrações, 5 mg.L⁻¹ (Sinha & Verma, 1992), como em altas, de 50 a 1000 mg.L⁻¹ (Waithaka, 1979). Mas, os resultados encontrados nesta estão de acordo com Axelsen & Julian (1988), que declararam que o 2,4-D pode controlar satisfatoriamente o crescimento de espécies de *Salvinia*. Esse produto é relatado como muito eficiente para macrófitas aquáticas (Bird, 1993).

A análise estatística efetuada no estudo de morte de frondes em *Salvinia minima* revelou efeitos significativos em todas as equações da regressão polinomial (R.L., regressão linear; R.Q., regressão quadrática e R.C., regressão cúbica). Esses resultados foram indicados pelos valores encontrados nos quadrados médios (Q.M.) e coeficientes de determinação (R²). Os valores encontrados na R.L., R.Q. e R.C. foram, respectivamente, de 2,1585** (Q.M.) e 0,4842 (R²); 0,5131* (Q.M.) e 0,5992 (R²); e 1,7867** (Q.M.) e 1,0000 (R²). Essa espécie foi muito mais sensível do que *Spirodela punctata*, embora a tendência cúbica encontrada em *Salvinia minima* revelasse que a ação do herbicida dificulta uma coerente explicação biológica, pois em baixas concentrações ocorre maior número de frondes mortas do que em altas concentrações.

Quanto ao herbicida direct (formulação de glyphosate), somente os valores encontrados na R.L. foram significativos (Q.M.=2,7374** e R²=0,8747). Neste caso, ocorreu uma relação linear positiva entre as concentrações e a morte de frondes de *Spirodela punctata*, mostrando sensibilidade da espécie ao produto (Fig. 2). Hartman & Martin (1984) constataram elevada toxicidade do glyphosate em espécies de Lemnaceae. Solber & Higgins (1993) relataram que este herbicida é frequentemente usado para controle da vegetação aquática. Contudo, os resultados encontrados por Santos (1992) mostraram que *Spirodela punctata* exibiu respostas pouco sensíveis ao produto quando diluído na água. Os resultados do presente trabalho indicam que a formulação direct pode ser mais efetiva do que a formulação Roundup utilizada por Santos (1992).

Constataram-se, também, no herbicida trifluralin valores significativos apenas na R.L. Neste caso, o efeito linear das concentrações na morte de frondes ocorreu em ambas as espécies (Fig. 3), sendo positivo em *Salvinia minima* (Q.M.=0,6443* e R²=0,9577) e negativo em *Spirodela punctata* (QM=0,7120* e R²=0,5920). Em concentrações menores (de 40 a 55 mg.L⁻¹), *Spirodela punctata* foi mais sensível ao trifluralin que *Salvinia minima*, apresentando maior morte de frondes, invertendo-se a situação em concentrações mais elevadas. *Salvinia minima* respondeu linearmente à elevação de concentrações, indicando maior sensibilidade e, portanto, ser mais adequada para monitorar ambientes poluídos com o trifluralin. Esse resultado é muito positivo, visto que o produto é considerado muito tóxico para ambientes aquáticos, chegando a provocar, em concentrações baixas (0,01 a 0,04 mg.L⁻¹) e em poucas horas, elevada mortalidade de peixes (Okay et al., 1994).

Na série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹), o herbicida direct foi letal para *Spirodela punctata*, impossibilitando o estudo do crescimento da espécie, como também a análise comparativa com os resultados de *Salvinia minima*.

A análise indicou regressões de quarto grau significativas da taxa de multiplicação das duas espécies com o herbicida 2,4-D, com valores de 127,6969* (Q.M.) e 1,0000 (R^2), em *Spirodela punctata*; e 104,6942* (Q.M.) e 1,0000 (R^2), em *Salvinia minima*. As espécies apresentaram resultados divergentes, difíceis de serem explicados biologicamente.

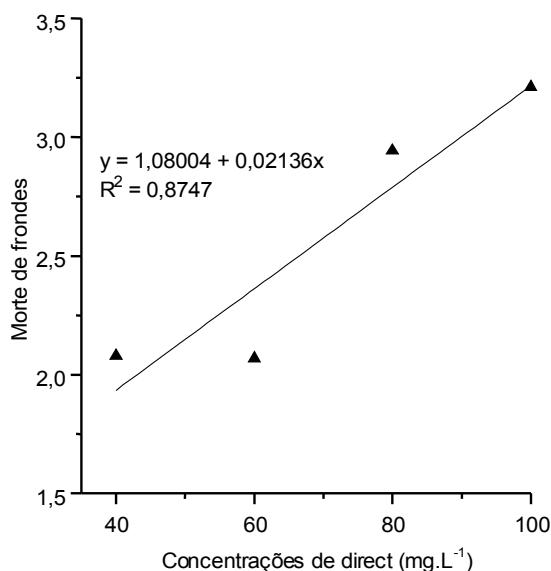


FIG. 2. Morte de frondes de *Spirodela punctata* sob efeito das concentrações da série 2 (40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹) do herbicida direct. Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

Outra formulação do herbicida glyphosate, o rodeo (Fig. 4), provocou intenso declínio apenas no crescimento de *Salvinia minima* (Q.M.=247,7969** e $R^2=0,9541$). O glyphosate, de um modo geral, controla eficientemente macrófitas aquáticas (Almeida & Rodrigues, 1988) e, em espécies de *Salvinia*, Prusty et al. (1990) verificaram efeitos de elevada toxicidade. Em *Spirodela punctata* tais efeitos não ocorreram, corroborando os resultados de Santos (1992). Também, Richardson (1985) salientou que, quando diluído em água, o herbicida declina em seus efeitos tóxicos, causando menor toxicidade às plantas.

Ocorreram efeitos significativos do herbicida trifluralin no crescimento de *Spirodela punctata*, com a análise de regressão polinomial indicando uma R.Q. (Q.M.=157,0950** e $R^2=0,5710$). Pela Fig. 5 verifica-se que, a princípio, houve um declínio no crescimento de *Spirodela punctata* (até 600 mg.L⁻¹) e, posteriormente, uma recuperação da taxa de multiplicação, caracterizando que, provavelmente, concentrações elevadas do herbicida não foram absorvidas pela espécie, como observado na série 2 (Fig. 3).

O herbicida atrazine foi letal apenas para *Spirodela punctata* (Q.M.=0,3589* e $R^2=0,9102$), embora seu efeito tenha se intensificado nas concentrações mais elevadas (600 a 1000 mg.L⁻¹) da série 3, como pode ser visualizado na tendência quadrática na Fig. 6. Squillace et al. (1993) ressaltaram que concentrações baixas do produto, no meio aquático, não são tóxicas às plantas. Em estudos de O'Neal & Lembi (1983), com algas verdes, foi constatado que os herbicidas do grupo das triazines, ao qual pertence o atrazine, não causavam quaisquer efeitos fitotóxicos, mesmo após 45 dias. Todavia, Beaumont et al. (1976, 1978) observaram que, após 20 dias em concentrações subletais (0,02 e 0,025 mg.L⁻¹), *Lemna minor* (espécie de Lemnaceae) apresentou alterações fisiológicas, com acentuada inibição do crescimento. Liu & Cedeño-Maldonado (1979) e Sahai et al. (1980) declararam que, em Lemnaceae, concentrações baixas das triazines podem causar efeitos antagonísticos de toxicidade, ora apresentando inibição ora estimulação do crescimento das espécies. O resultado encontrado em *Spirodela punctata* no presente trabalho demonstra que a espécie somente responde

ao atrazine em elevadas concentrações por causa da baixa toxicidade do herbicida ambiente aquático. Alguns autores (Almeida & Rodrigues, 1988; Abou-Waly et al., 1991; Huber, 1993) afirmaram ser baixa a toxicidade do produto para peixes e, deste modo, é seguro utilizá-lo no controle de plantas daninhas em ambientes aquáticos.

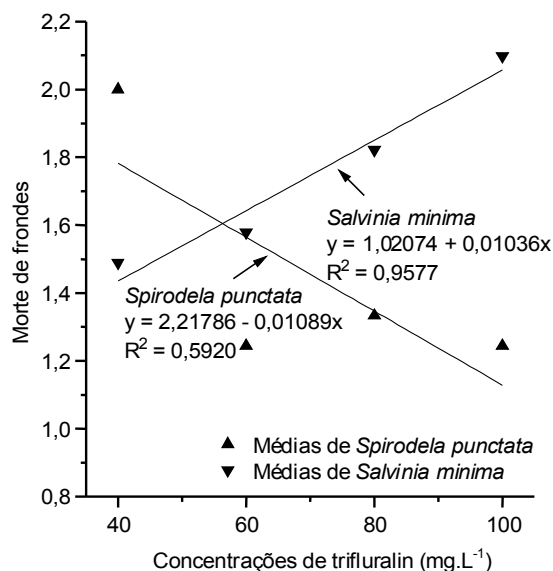


FIG. 3. Morte de frondes de *Spirodela punctata* e *Salvinia minima* sob efeito das concentrações da série 2 (40, 60, 80 e 100 mg.L⁻¹) do herbicida trifluralin. Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

Em ambas as espécies (Fig. 7) houve aumento de morte de frondes com aumento das concentrações do herbicida rodeo (glyphosate), notadamente em *Salvinia minima*, cujo número foi superior. Houve também um acentuado declínio do crescimento da espécie de *Salvinia minima* quando se utilizaram as concentrações da série 3 do rodeo (Fig. 4). Prusty et al. (1990), estudando outras espécies de *Salvinia* também constataram drásticos efeitos tóxicos de glyphosate. Harman (1994) salientou que o rodeo, por ser muito pouco tóxico em meio aquático, é usado frequentemente no controle de plantas aquáticas.

Ainda, na série 3, o trifluralin evidenciou, em ambas as espécies, resultados difíceis de serem interpretados biologicamente. A análise de regressão não apresentou um resultado homogêneo, pois somente as regressões de quarto grau foram significativas, o que permite inferir que as espécies não são adequadas para evidenciar efeitos tóxicos de trifluralin e, conseqüentemente, restringem sua utilização em aplicações práticas de monitoramento em ambientes muito poluídos com este herbicida.

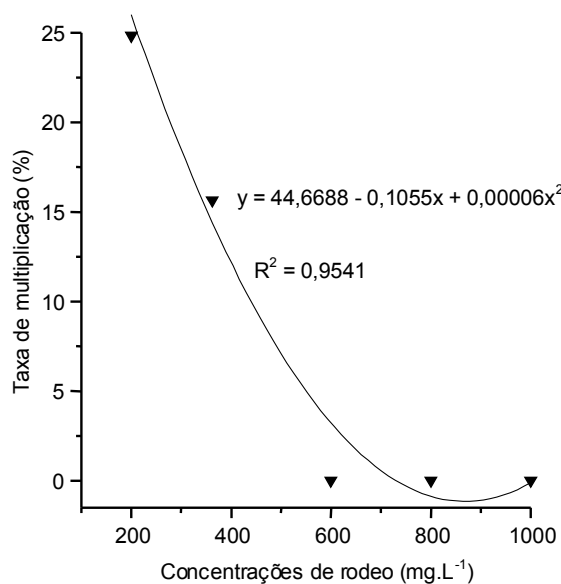


FIG. 4. Efeito das concentrações da série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹) do herbicida rodeo no crescimento de *Salvinia minima*.

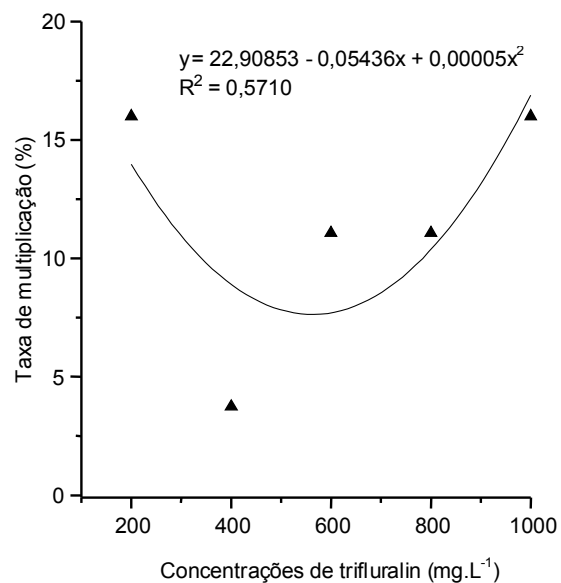


FIG. 5. Efeito das concentrações da série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹) do herbicida trifluralin no crescimento de *Spirodela punctata*.

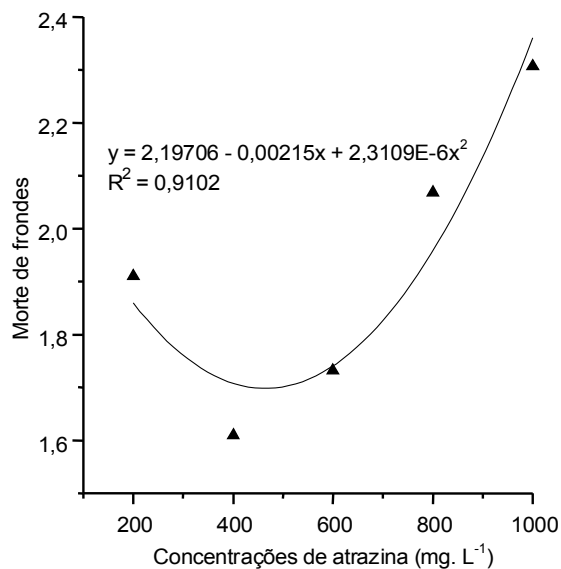


FIG. 6. Morte de frondes de *Spirodela punctata* nas concentrações da série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹) do herbicida atrazine. Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

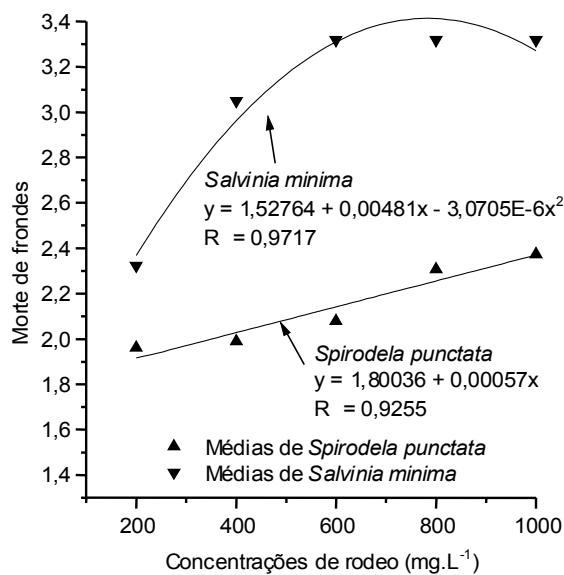


FIG. 7. Morte de frondes de *Spirodela punctata* e *Salvinia minima* nas concentrações da série 3 (200, 400, 600, 800 e 1000 mg.L⁻¹) do herbicida rodeo. Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

CONCLUSÕES

1. *Spirodela punctata* é muito sensível às concentrações subletais (0,025 a 3,125 mg.L⁻¹) de rodeo e trifluralin.
2. Ambas as espécies mostram acentuada sensibilidade aos herbicidas 2,4-D, direct e trifluralin nas concentrações das séries 2 (40 a 100 mg.L⁻¹) e 3 (200 a 1000 mg.L⁻¹).
3. Nas concentrações elevadas da série 3, *Salvinia minima* é muito sensível ao herbicida rodeo e *Spirodela punctata* é mais sensível ao atrazine.
4. As respostas biológicas (crescimento e morte das frondes) indicam sensibilidade das macrófitas aquáticas aos herbicidas presentes na água.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada, Escola de Engenharia de São Carlos (CRHEA/EESC/USP), e ao Prof. Dr. José Galizia Tundisi, pelo apoio, e pela permissão de uso das dependências laboratoriais para execução da parte experimental deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- ABOU-WALY, H.; ABOU-SETTA, M.M.; NIGG, H.N.; MALAORY, L.L. Dose response relationship of *Anabaena-flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum* to atrazine and hexazinone using chlorophyll (a) content and C-14 uptake. **Aquatic Toxicology**, v.20, n.3, p.195-204, 1991.
- ALMEIDA, F.S. de; RODRIGUES, B.N. **Guia de Herbicidas**. 2.ed. Piracicaba: Livroceres, 1988. p.131-136, 324-330, 445-450.
- AXELSEN, S.; JULIAN, C. Weed control in small dams. Part II. Control of salvinia, azolla and of water hyacinth. **Queensland Agricultural Journal**, v.114, n.5, p.291-298, 1988.
- BAIRD, D.J. Can toxicity testing contribute to ecotoxicology? **Functional Ecology**, v.7, n.4, p.510-511, 1993.
- BEAUMONT, G.; BASTIN, R.; THERRIEN, H.P. Effets physiologiques de l'atrazine à doses sublétales sur *Lemna minor* L. I. Influence sur la croissance, la teneur en chlorophylle, en protéine et en azote soluble et total. **Naturaliste Canadien**, Quebec, v.103, p.527-533, 1976.
- BEAUMONT, G.; BASTIN, R.; THERRIEN, H.P. Effets physiologiques de l'atrazine à doses sublétales sur *Lemna minor* L. III. influence sur les protéines solubles et les acides nucléiques. **Naturaliste Canadien**, Quebec, v.105, p.103-113, 1978.
- BIRD, K.T. Comparisons of herbicide toxicity using in vitro cultures of *Myriophyllum spicatum*. **Journal of Aquatic Plant Management**, v.31, p.43-45, 1993.
- CALIJURI, M.C.; TUNDISI, J.G. Limnologia comparada das represas do Lobo (Broa) e Barra Bonita - estado de São Paulo: mecanismos de funcionamento e bases para gerenciamento. **Revista Brasileira de Biologia**, v.50, n.4, p.893-913, 1990.
- CHARPENTIER, S.; GARNIER, J. Etude de la multiplication et la formation des colonies de *Spirodela polyrrhiza* L. **Comptes Rendu de l'Académie des Sciences**, v.15, p.587-590, 1985.
- FERNÁNDEZ, O.A.; ORDÓÑEZ, M.E.; CURVETTO, N.; FERNÁNDEZ, L.M.; RIGATO, M. Absorción del ácido 2,4-diclorofenoxiacético por *Spirodela intermedia* W. Koch. **Phyton**, v.29, n.1/2, p.105-117, 1972.
- HARMAN, C.R. Use of the registered aquatic herbicide fluridone (Sonar) and glyphosate (Rodeo and Accord) in the State of New York. In: HARMAN, C.R. (Ed.). **Draft generic environmental impact statement**. Albany, NY: State Dept. Environ. Conserv. and Dept. Regulatory Affairs, 1994. 322 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**, v.33, p.355-361, 1984.
- HUBER, W. Ecotoxicological relevance of atrazine in aquatic systems. **Environment Toxicological Chemical**, v.12, p.1865-1881, 1993.
- KINGMAN, A.B. The environmental impact of the use of herbicides at the global level. **Boletim da Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas**, v.1, n.2, p.22-25, 1993.

- LANDOLT, E. **The family of Lemnaceae - a monographic study**: morphology; kariology; ecology; geographic distribution; systematic position; nomenclature; descriptions. Zurich: Stiftung Rubel: Veroffentlichungendes Geobotanischen Institutes der ETH, 1986. v.2, 566p.
- LANDOLT, E.; KANDELER, R. **The family of Lemnaceae - a monographic study**: phytochemistry, physiology, application, bibliography. Biosystematic investigation of the family of duckweeds. Zburich, Stiftung Rubel: Veroffentlichungendes Geobotanischen Institutes der ETH, 1987. v.4, 638p.
- LIU, L.C.; CEDEÑO-MALDONADO, A. A bioassay method for detecting herbicide concentrations in water. **Jornal de Agricultura de la Universidad de Puerto Rico**, v.63, n.1, p.80-83, 1979.
- OKAY, S.O.; MORKOC, E.; GAINES, A. Effects of two herbicidal wastewaters on *Chlorella* sp. and *Phaeodactylum tricornutum*. **Environmental Pollution**, v.84, n.1, p.1-6, 1994.
- O'NEAL, S.W.; LEMBI, C.A. Relative tolerance of filamentous green algae to simazine. In: MEETING OF WEED. SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 1983. **Proceedings...** West Lafayette: Purdue Univ., 1983. v.44.
- OUTRIDGE, P.M.; NOLLER, B.N. Accumulation of toxic trace elements by freshwater vesicular plants. **Reviews of Environmental and Toxicology**, v.121, p.1-63, 1991.
- PRUSTY, J.C.; LENKA, D.; BEHERA, B.; MISHRA, R.K. Efficacy of glyphosate in controlling floating aquatic weeds. **Indian Journal of Weed Science**, v.22, n.3/4, p.86-88, 1990.
- RICHARDSON, W.G. Bioassays for glyphosate. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. (Eds.). **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. Ch.18, p.286-298.
- SAHAI, R.; ROY, P.S.; WAJIH, S.A. Effect of certain herbicides on the growth performance of *Spirodela polyrrhiza*. **Indian Journal of Weed Science**, v.12, n.1, p.87-92, 1980.
- SANTOS, D.M.M. **Toxicidade dos herbicidas butachlor, glyphosate e propanil em *Spirodela punctata* (G.F.W. Meyer) Thompson (Lemnaceae)**. Rio Claro: UNESP, Instituto de Biociências, 1992. 296p. Tese de Doutorado.
- SCHMIDT, R.R. Development of herbicides: role of bioassays. In: STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. (Eds.). **Herbicide bioassays**. London: CRC Press, 1993. Ch.2, p.7-28.
- SINHA, M.; VERMA, A.P. Chemical control of *Salvinia*: effect of phosphon-D on growth, morphology and pigments. **Geobios**, v.19, n.2/3, p.114-117, 1992.
- SOLBER, K.L.; HIGGINS, K.F. Effects of glyphosate herbicide on cattails, invertebrates and waterfowl in South-Dakota wetlands. **Wildlife Society Bulletin**, v.21, n.3, p.299-307, 1993.
- SQUILLACE, P.J.; THURMAN, E.M.; FURLONG, E.T. Groundwater as a nonpoint source of atrazine and Diethylatrazine in a river during base flow conditions. **Water Resources Research**, v.29, n.6, p.1719-1729, 1993.
- STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. Introduction. In: STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. (Eds.). **Herbicide bioassays**. London: CRC Press, 1993a. Ch.1, p.1-5.
- STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. Concluding Remarks. In: STREIBIG, J.C.; KUDSK, P. (Eds.). **Herbicide bioassays**. London: CRC Press, 1993b. Ch.13, p.253-255.
- VANDERGAAG, M.A. Combined effects of chemicals: an essential element in risk extrapolation for aquatic ecosystems. **Water Science and Technology**, v.25, n.11, p.441-447, 1992.
- WAITHAKA, J.M. Studies of herbicidal control of *Salvinia molesta*. In: EAST AFRICAN WEED SCIENCE CONFERENCE. 7., **Proceedings...** Nairobi: Kenyatta Univ. Coll., [S.l: s.n.], 1979. p.100-113.
- WANG, W. Literature review on higher plants for toxicity testing. **Water, Air & Soil Pollution**, n.59, p.381-400, 1991.