

CIRCULAR TÉCNICA

48

Dourados, MS
Dezembro, 2019

Determinação de silício em tecido vegetal com abertura das amostras em digestor com aquecimento por micro-ondas

Oscar Fontão de Lima Filho
Eduardo Soares Neves
Wéverton Paulo de Oliveira Vareiro
William Marra Silva



Determinação de silício em tecido vegetal com abertura das amostras em digestor com aquecimento por micro-ondas

Este documento tem como objetivo apresentar metodologia de análise de silício em plantas, por meio de abertura das amostras em digestor com aquecimento por micro-ondas (forno de micro-ondas) e determinação por colorimetria, adaptando-se a metodologia à estrutura do Laboratório de Solos, Plantas e Corretivos (LASPC) da Embrapa Agropecuária Oeste (Dourados, MS).

O silício (Si) é um elemento químico onipresente na natureza, representando 27% da massa da crosta terrestre, sendo superado em quantidade apenas pelo oxigênio. Por causa de sua alta afinidade com o oxigênio (O), é encontrado somente em formas combinadas, como a sílica e os minerais silicatados. Estes têm fórmula geral $Si_aO_bX_c$, no qual X representa um ou mais cátions, tais como alumínio (aluminossilicatos), magnésio (talco), cálcio (wollastonita), magnésio e ferro (olivina) e muitos outros, além da presença quase constante do hidrogênio (H). As letras a, b e c ditam a estequiometria e a estrutura do mineral. Silicatos que estão no cotidiano das pessoas, como o vidro e a areia, contêm somente hidrogênio como cátion acompanhante, com uma notação geral simplificada de SiO_2 (Sripanyakorn et al., 2005).

Os silicatos são encontrados em todas as águas, atmosfera (pó silicoso), vegetais e animais. O Si é essencial para os animais e considerado um elemento benéfico para as plantas, apesar de sua essencialidade ser comprovada apenas para membros da família Equisetaceae (“cavalinha” ou “rabo-de-cavalo”), bem como para diatomáceas e inúmeras espécies de algas unicelulares.

¹ Oscar Fontão de Lima Filho, Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências, pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS; Eduardo Soares Neves, Engenheiro-agrônomo, Dourados, MS; Wéverton Paulo de Oliveira Vareiro, Engenheiro-agrônomo, Dourados, MS; William Marra Silva, engenheiro-químico, mestre em Agronomia, analista da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS.

As plantas absorvem o Si como ácido silícico (H_4SiO_4), forma presente na solução do solo e que está em uma faixa de concentração entre 0,1 mM a 0,6 mM, aproximadamente (Epstein, 1999; Epstein; Bloom, 2006). Já os valores de Si encontrados em plantas são bem mais elevados, pois variam de 1 g kg^{-1} a 100 g kg^{-1} , ou seja, nos mesmos níveis dos macronutrientes. Sete das dez culturas mais cultivadas no mundo são consideradas acumuladoras de Si, ou seja, possuem teor de Si igual ou superior a 10 g kg^{-1} da matéria seca (Hodson et al., 2005).

O Si tem um papel importante nas relações planta-ambiente, pois pode dar às culturas condições para suportar adversidades climáticas, edáficas e biológicas. Estudos científicos têm demonstrado aumentos significativos na taxa fotossintética, melhoria da arquitetura foliar e de outros processos no metabolismo vegetal, principalmente em condições de estresses de natureza biótica ou abiótica, resultando em aumento no crescimento e na produção. Assim, o Si pode ser considerado como um antiestressante natural para as plantas, o que o torna interessante quando utilizado na agricultura.

As plantas submetidas a estresses de natureza abiótica, por exemplo, podem ter seus efeitos reduzidos com o uso da fertilização silicatada, principalmente naquelas consideradas acumuladoras do elemento. Exemplos de condições ambientais estressantes, não biológicas, incluem deficiência hídrica, salinidade, toxidez por metais pesados, radiação ultravioleta B (UV-B), ventos fortes e temperaturas extremas. Do mesmo modo, o silício pode aumentar a tolerância contra diversos insetos-praga e fungos patogênicos, agindo tanto como uma barreira física, quanto pela mediação de defesas bioquímicas (Balakhnina, 2013; Bakhat et al., 2018). Também são comprovadas interações nutricionais que podem ser benéficas às plantas, como a maior absorção e acumulação de fósforo (Rothamsted Research, 2012).

Devido aos benefícios que a fertilização silicatada pode trazer, como maior tolerância a estresses de natureza biótica e abiótica, com maior crescimento e produtividade da cultura, a análise de Si em tecidos vegetais torna-se necessária e importante, tanto para o diagnóstico dos teores do elemento em cultivos comerciais, como em ensaios de pesquisa.

Vários procedimentos para determinação de Si em plantas já foram desenvolvidos. Inicialmente, era utilizado o método gravimétrico, com a remoção da matéria orgânica por oxidação química ou térmica, solubilização ácida e pesagem do silício residual. Ao longo do tempo, foram utilizadas várias metodologias de abertura das amostras, como, por exemplo, fusão em alta temperatura e solubilização do tecido vegetal com ácido hidrofúorídrico (Saihua et al., 2018). Entretanto, pela maior sensibilidade, o método gravimétrico foi substituído pela análise espectrométrica (colorimétrica).

A digestão alcalina em autoclave e quantificação por colorimetria é o método mais utilizado no Brasil, pois apresenta baixo custo, é rápido e utiliza reagentes menos perigosos. Ocorre a hidrólise e dissolução da matriz orgânica do tecido da planta pelo hidróxido de sódio (NaOH) e a oxidação subsequente pelo H_2O_2 (solução de peróxido de hidrogênio). A pressão exercida pela autoclave permite que o oxidante permaneça na matriz digerida, o que aumenta a oxidação da matéria orgânica (Elliot; Snyder, 1991).

A extração de um analito, incluindo elementos minerais em plantas, pode ser realizada por diversas técnicas modernas, cuja eficiência depende de composição e volume do solvente, temperatura e características da amostra. Dentre estas, o método de extração de componentes químicos por forno de micro-ondas já é bastante utilizado em muitas áreas. Apesar de pesquisas indicarem vantagens na abertura de amostras com micro-ondas para determinação de Si, na prática ainda é pouco utilizada. Essa técnica permite redução no tempo de extração e no consumo de solventes orgânicos, baixa contaminação das amostras, além de não ocorrer liberação de gases tóxicos (Boaventura; Ribeiro, 1996; Huie, 2002).

Para validar a metodologia de determinação de silício por meio da digestão assistida por energia micro-ondas (EM), foi feita a comparação com a abertura de amostras vegetais por digestão tradicional em autoclave e em forno de micro-ondas, os quais aceleram a reação dos reagentes. O método descrito em Korndörfer et al. (2004), que utiliza digestão úmida em autoclave, é uma modificação daquele proposto por Elliott e Snyder (1991), sendo um dos mais utilizados para determinação de Si em plantas.

Foram utilizadas amostras foliares das forrageiras capim-tobiatã (*Panicum maximum* cv. Tobiatã) e capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), além de soja (*Glycine max* (L.) Merrill), todas coletadas no campo experimental da Embrapa Agropecuária Oeste. Também foi utilizada amostra padrão de arroz (*Oryza sativa* L.) (casca), cedida pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A digestão úmida alcalina em autoclave e em forno de micro-ondas, bem como a quantificação colorimétrica, foi realizada em três ensaios distintos. Em cada teste foram utilizadas seis repetições, e as médias dos tratamentos (digestão por autoclave ou forno de micro-ondas para cada espécie vegetal) foram submetidas à análise de variância, e comparadas pelo teste t a 5% de significância e também por regressão quando pertinente, pelo programa de análise estatística Sisvar (Ferreira, 2014).

Utilizou-se o forno de micro-ondas, modelo MARS 6® (CEM Corp., EUA), com tubos pressurizados do tipo MARSXpress, fabricados em politetrafluoretileno (PTFE – teflon), volume máximo de 55 mL e bandeja suporte para preparo de até 40 amostras simultaneamente. Durante a extração, há aumento de pressão no interior dos frascos, os quais ventilam caso atinjam o limite de pressão (500 psi ou 34 atm) e temperatura máxima de 260 °C.

Como citado anteriormente, a utilização dos reagentes para a digestão em autoclave e em forno de micro-ondas, bem como a determinação em espectrofotômetro, foram baseadas em Körndorfer et al. (2004), com modificações em relação ao volume utilizado dos reagentes. O procedimento para digestão em forno de micro-ondas e a subsequente determinação colorimétrica está descrito em detalhes no final desta Circular Técnica. A metodologia no uso dos reagentes, para digestão da amostra vegetal e para a quantificação colorimétrica, foi igual tanto com o uso da autoclave como para o forno de micro-ondas.

As quatro espécies avaliadas tinham teor foliar de Si variando entre 3 g kg⁻¹ (soja) e 50 g kg⁻¹ (arroz), em média. Em todas as amostras, a abertura por EM extraiu quantidades menores do que a abertura por

autoclave. Entretanto, essa diferença foi muito pequena para as gramíneas com teores mais elevados de Si em suas folhas, como foi o caso do capim-braquiária e do arroz, com uma variação média negativa de 4,5% e 2,3%, respectivamente. Em relação ao capim-tobiatã, com teor de Si em torno de 10 g kg^{-1} , os valores obtidos por meio de EM foi, em média, 9,3% menor. Para a soja, com valores médios de Si baixos, a diminuição foi maior, chegando a quase 19%, considerando-se os três ensaios em conjunto. Apesar de os teores serem bem próximos para as gramíneas com teor elevado de Si em seus tecidos, as médias foram estatisticamente distintas, fruto de um baixo coeficiente de variação nos dois métodos de abertura (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Teor foliar de silício (g kg^{-1}) em quatro espécies vegetais, com a abertura das amostras realizada em digestor com aquecimento por micro-ondas e em autoclave e determinação por colorimetria.

Ensaio 1				
	Soja	Capim-tobiatã	Capim-braquiária	Arroz
Forno de micro-ondas	2,8*	9,9*	14,1*	48,7*
Autoclave	3,3	10,7	15,0	49,6
Ensaio 2				
	Soja	Capim-tobiatã	Capim-braquiária	Arroz
Forno de micro-ondas	2,6*	9,2 ^{ns}	14,0 ^{ns}	48,6 ^{ns}
Autoclave	3,4	10,2	14,6	48,4
Ensaio 3				
	Soja	Capim-tobiatã	Capim-braquiária	Arroz
Forno de micro-ondas	2,8*	8,9*	13,5*	47,1*
Autoclave	3,4	10,0	14,1	49,5

* Diferença significativa pelo teste t a 5% de probabilidade; ^{ns} não significativo pelo teste t a 5% de probabilidade, dentro de cada ensaio e espécie.

Tabela 2. Coeficientes de variação (CV%) das concentrações de silício obtidas por abertura de amostras com digestor com aquecimento por micro-ondas e por autoclave, em diferentes espécies vegetais (média de três ensaios).

Espécie vegetal	Microondas	Autoclave
Soja	6,90	8,40
Capim-tobiatã	2,70	4,10
Capim-braquiária	2,00	1,90
Arroz	0,34	0,35

Nos testes realizados, observou-se que a abertura via EM é mais prática e rápida do que com o uso da autoclave, inclusive por ser possível eliminar a etapa do banho-maria. Na digestão por autoclave, o uso do banho-maria, proposto por Körndorfer et al. (2004), permite a evolução total dos gases formados, evitando vazamentos do extrato durante o aquecimento na autoclave. Ao avaliar o efeito do banho-maria na extração por EM, entretanto, não houve diferença nos resultados obtidos (Tabela 3).

Tabela 3. Teor foliar de silício (g kg^{-1}) e coeficiente de variação (CV%) em soja e braquiária, com abertura das amostras em digestor com aquecimento por micro-ondas, com ou sem a utilização do aquecedor banho-maria (média de seis repetições de cada espécie).

	Com banho-maria		Sem banho-maria	
	Si	CV%	Si	CV%
Capim-braquiária	14,0 ^{ns}	1,8	13,9 ^{ns}	1,8
Soja	3,0	9,4	3,0	5,7

^{ns} Não significativo pelo teste t a 5% de probabilidade, entre espécies com e sem banho-maria.

Além de impedir perda de gases voláteis ao ambiente, os quais podem ser tóxicos, o uso do forno de micro-ondas permite a análise de número maior de amostras. Também verificou-se que os valores obtidos em forno de micro-ondas, apesar de menores, estão dentro da faixa fisiológica das plantas e que há discriminação efetiva em uma ampla faixa de teor foliar do elemento, sendo que a correlação linear foi altamente significativa

(Figura 1). Os resultados neste trabalho indicam a viabilidade do uso de digestor por aquecimento por micro-ondas na abertura de amostras vegetais para análise de Si por colorimetria, dentro da faixa obtida de concentração foliar de Si e espécies avaliadas neste estudo, tendo como principal vantagem a maior rapidez na análise.

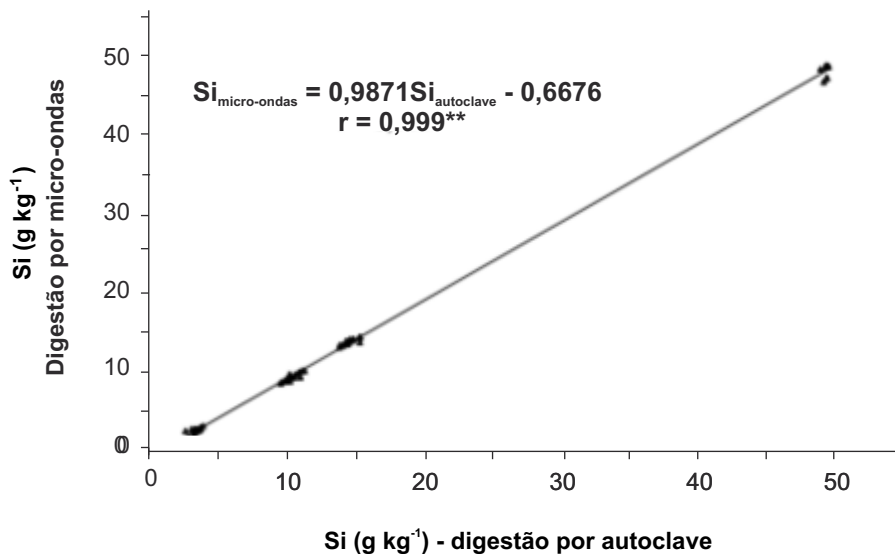


Figura 1. Correlação entre a determinação de silício por abertura de amostras por autoclave e por digestor com aquecimento por micro-ondas, em quatro espécies (soja, capim-tobiatã, capim-braquiária e arroz) e em três ensaios em conjunto, totalizando 72 amostras.

Metodologia para análise de silício por digestão alcalina em digestor com aquecimento por micro-ondas e determinação colorimétrica

Princípio

A sílica do tecido vegetal é solubilizada pela hidrólise e dissolução da matriz orgânica pelo hidróxido de sódio (NaOH) e pela oxidação subsequente, ocasionada pela solução de peróxido de hidrogênio (água oxigenada). A dissolução e mineralização da matéria orgânica é efetivada pelo aquecimento dielétrico por ondas eletromagnéticas não ionizantes, na faixa de frequência de 2.450 MHz pela energia micro-ondas (EM). As amostras são colocadas em tubos de teflon pressurizados e fechados, que permitem a absorção da EM e o aquecimento do material e do aumento da pressão interna. O calor gerado se dá por meio de dois mecanismos: a) rotação de dipolos, onde a EM causa movimento das moléculas, as quais são alinhadas de acordo com o campo eletromagnético e b) condução iônica, quando ocorre a resistência ao deslocamento dos íons (causados pela EM) no interior da amostra, os quais são orientados pelo campo eletromagnético, gerando calor.

A determinação colorimétrica do silício envolve a reação do ácido molíbdico com o ácido monossilícico, com a formação de um complexo sílico-molíbdico de cor amarela. Essa complexação é máxima após 5 minutos, mantendo-se estável em pH ácido por mais dez minutos. O pH entre 1,4 e 2,0 é mantido por meio da inclusão do ácido clorídrico. A interferência do ferro, que consome o redutor e do fósforo, que reage com o molibdato de amônio, é eliminada com a adição de ácido oxálico.

Todas as soluções devem ser preparadas com reagentes de grau analítico e os volumes finais ajustados com água purificada (destilada ou deionizada).

Reagentes e soluções

Ácido acético ($C_2H_4O_2$) 200 g L⁻¹ (substituto do ácido oxálico)

Ácido clorídrico (HCl) 500 g L⁻¹

Ácido oxálico [(COOH)₂. 2H₂O]

Hidróxido de sódio (NaOH) 300 g L⁻¹

Molibdato de amônio [(NH₄)₆Mo₂₇O₂₄.4H₂O]

Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 300 g L⁻¹

Solução padrão de Si Tritisol[®], 1.000 mg L⁻¹ de Si

Material e equipamentos

Agitador tipo vórtex

Balança de precisão

Balões volumétricos de 25 mL, 50 mL, 500 mL e 1.000 mL

Capela de exaustão de gases

Copos plásticos de 50 mL

Destilador ou deionizador de água ou aparelho de osmose reversa com coluna desmineralizadora

Digestor com aquecimento por micro-ondas

Espectrofotômetro UV-Visível

Estufa com circulação forçada de ar

Moinho de facas tipo Willey

Pipetas automáticas reguláveis: 0–5 mL, 0–10 mL e 0–20 mL

Pipetas volumétricas de 25 mL

EPIs (luvas, jaleco, máscara e óculos)

Preparo das amostras

Após a coleta, lavar o material vegetal com água corrente, em solução com detergente neutro, fazer uma imersão rápida (dez segundos) em HCl 0,1%, novamente lavar em água corrente e depois em água destilada ou deionizada (purificada). Caso o material não esteja muito sujo, não há necessidade da imersão em HCl ou detergente neutro.

Deixar sair o excesso de água e secar o material em estufa de circulação forçada a 65 °C, até peso constante. É recomendável que os sacos de papel que acondicionarão o material sejam perfurados para garantir maior arejamento e secagem mais uniforme e rápida.

Moer o material previamente aquecido a 65 °C por 30 minutos, em moinho do tipo Willey, em peneira de 60 mesh. Acondicionar a amostra moída em saco (plástico ou de papel) ou tubo plástico e identificar.

Preparo das soluções

Solução padrão de Si de 50 mg L⁻¹ – Acrescentar 25 mL de solução padrão 1.000 ppm de Si em balão volumétrico de 500 mL e completar com água destilada ou deionizada.

Solução de Molibdato de Amônio tetrahidratado [(NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O] – Dissolver 100 g de molibdato de amônio em aproximadamente 500 mL de água destilada. Ajustar o pH entre 7,0 a 8,0 utilizando NaOH 40%. Transferir para balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água destilada ou deionizada. Acondicionar a solução em frasco plástico (polietileno) e guardar na geladeira.

Hidróxido de Sódio (NaOH) 30% – Pesar 300 g de NaOH granulado, completar com 1.000 mL de água destilada ou deionizada em balão volumétrico. Dissolver e homogeneizar. Esfriar até temperatura ambiente e acondicionar em frasco plástico.

Água oxigenada (H₂O₂) 30% – Misturar 300 mL de peróxido de hidrogênio com 700 mL de água destilada ou deionizada e guardar em geladeira.

Ácido Clorídrico (HCl) 50% – Misturar volumes iguais de ácido clorídrico 12 N e água destilada ou deionizada. Acondicionar a solução em frasco plástico (polietileno) e guardar em geladeira.

Ácido Oxálico [(COOH)₂·2H₂O] 0,6 M – Dissolver 75 g de ácido oxálico em 500 mL de água destilada ou deionizada. Transferir a solução para balão volumétrico de 1.000 mL e completar o volume com água destilada ou deionizada.

Ácido Acético (C₂H₄O₂) 20% – Dissolver 200 g de ácido acético em 1.000 mL de água destilada ou deionizada. Caso não haja disponibilidade do ácido oxálico, preparar e utilizar a solução de ácido acético (substituto).

Procedimento

1. Digestão

Pesar 50 mg de cada amostra vegetal, pré-aquecida por 1 hora a 65 °C e transferir para os tubos de teflon do forno de micro-ondas. Incluir uma amostra-padrão (referência) e uma em branco (apenas com as soluções extratoras) para cada 20 amostras analisadas.

Na capela de exaustão de gases, acrescentar ao tubo com a amostra 3 mL de H₂O₂ 30%, agitar por alguns segundos no agitador vórtex. Em seguida, adicionar 3 mL de NaOH 30%, agitando novamente. Deixar os tubos abertos na capela por 30 minutos. Utilizar luvas, jaleco, máscara e óculos (EPIs).

Tampar os tubos corretamente e colocá-los nas camisas de kevlar do forno de micro-ondas. Transferir os tubos individualmente para o carrossel na ordem correta, certificando-se da correta posição de encaixe.

Programa de aquecimento: rampa (tempo) de aquecimento até 120 °C durante 20 minutos, após atingir essa temperatura, a amostra é aquecida por 30 minutos com uma potência máxima de 1.000 W e uma pressão limite de 500 psi ou 34 atm.

2. Preparo dos padrões para silício

0 mg L⁻¹ – Adicionar e completar água destilada ou deionizada em balão volumétrico de 50 mL.

2 mg L⁻¹ – Pipetar 2 mL da solução padrão de 50 mg L⁻¹ de Si em balão volumétrico de 50 mL e completar com água destilada ou deionizada.

4 mg L⁻¹ – Pipetar 4 mL da solução padrão de 50 mg L⁻¹ de Si em balão volumétrico de 50 mL e completar com água destilada ou deionizada.

6 mg L⁻¹ – Pipetar 6 mL da solução padrão de 50 mg L⁻¹ de Si em balão volumétrico de 50 mL e completar com água destilada ou deionizada.

8 mg L⁻¹ – Pipetar 8 mL da solução padrão de 50 mg L⁻¹ de Si em balão volumétrico de 50 mL e completar com água destilada ou deionizada.

10 mg L⁻¹ – Pipetar 10 mL da solução padrão de 50 mg L⁻¹ de Si em balão volumétrico de 50 mL e completar com água destilada ou deionizada.

3. Preparo da amostra

Após a finalização do processo no micro-ondas, retirar as amostras do forno, deixar esfriar e diluir o produto da digestão em balão volumétrico para 25 mL. Transferir para um frasco plástico/acrílico identificado e deixar em repouso para a deposição dos resíduos.

4. Marcha analítica

4.1. Padrões

Pipetar uma alíquota de 20 mL de cada padrão em copo plástico de 50 mL. Adicionar 2 mL de HCl 50% + 3 mL de molibdato de amônio. Agitar levemente. Após 5 a 10 minutos, adicionar 3 mL de ácido oxálico e repetir a agitação. O desenvolvimento da cor amarela é diretamente proporcional ao teor de Si na solução.

4.2. Amostras

Pipetar 2 mL do sobrenadante da amostra e colocar em copo plástico de 50 mL. Adicionar 18 mL de água destilada ou deionizada. Adicionar 2 mL HCl 50% + 3 mL de molibdato de amônio. Agitar levemente. Após 5 a 10 minutos, adicionar 3 mL de ácido oxálico e repetir a agitação.

Aguardar dois minutos após a adição dos reagentes nas amostras e/ou padrões e fazer a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm.

5. Cálculos

a. Coeficiente angular

Após a leitura dos padrões no espectrofotômetro, obtém-se a curva de regressão, onde o eixo das abscissas (x) representa os teores de Si e o eixo das ordenadas (y), a absorvância lida no aparelho:

$y = ax + b$, onde

y = leitura da absorvância

x = padrão de Si

a = coeficiente angular, ou seja, a inclinação da reta em relação ao eixo x (abscissas);

b = coeficiente linear, valor onde a reta passa no eixo das ordenadas com x = zero.

b. Fator de diluição

(1) 25 mL do extrato / 0,05 g de tecido vegetal = 500 vezes

(2) (2 mL do extrato + 18 mL de água) / 2 mL extrato = dez vezes, não se considera no cálculo a adição de 2 mL HCl 50%, 3 mL de molibdato de amônio e 3 mL de ácido oxálico.

Total de diluição: $500 \times 10 = 5.000$

c. Concentração de silício na amostra

$\text{Si (\%)} = [(\text{absorvância da amostra} - \text{absorvância do branco}) / \text{coeficiente angular}] \times 5.000$

ou

$\text{Si (mg kg}^{-1}\text{)} = [(\text{absorvância da amostra} - \text{absorvância do branco}) / \text{coeficiente angular}] \times 50.000$

A Figura 2 resume o procedimento de análise de Si em tecido vegetal com abertura da amostra em micro-ondas e determinação por espectrometria.

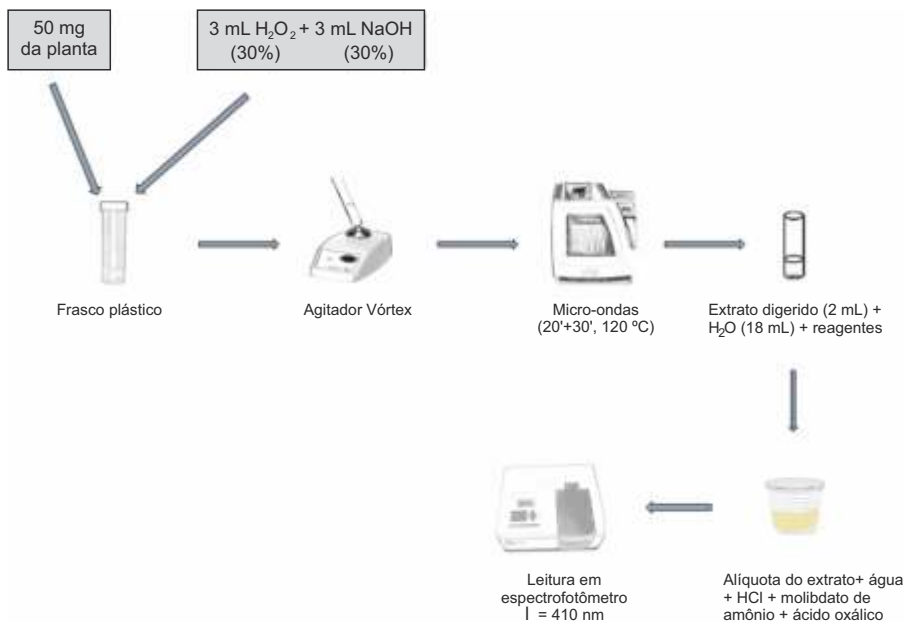


Ilustração: Oscar Fontão de Lima Filho

Figura 2. Esquema simplificado da análise de Si em tecidos vegetais com digestão alcalina em digestor com aquecimento por forno de micro-ondas e quantificação por espectrofotometria ou colorimetria.

Agradecimentos

Ao técnico Mário Paes Kozima, da Embrapa Agropecuária Oeste, pela colaboração na condução do experimento; ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas de iniciação científica – Pibic e aos coautores Eduardo Soares Neves e Wéverton Paulo de Oliveira Vareiro.

Referências

- BAKHAT, H. F.; BIBI, N.; ZIA, Z.; ABBAS, S.; HAMMAD, H. M.; FAHAD, S.; ASHRAF, M. R.; SHAH, G. M.; RABBANI, F.; SAEED, S. Silicon mitigates biotic stresses in crop plants: a review. **Crop Protection**, v. 104, p. 21-34, Feb. 2018. DOI: 10.1016/j.cropro.2017.10.008
- BALAKHNINA, T. I. Effects of silicon on plant resistance to environmental stresses: review. **International Agrophysics**, v. 27, n. 2, p. 225-232, Apr. 2013. DOI: 10.2478/v10247-012-0089-4
- BOAVENTURA, G. R.; RIBEIRO, R. L. V. Decomposição de silicatos usando forno de microondas. **Geochimica Brasiliensis**, v. 10, n. 1, p. 217-224, 1996.
- ELLIOTT, C. L.; SNYDER, G. H. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 6, p. 1118-1119, June 1991. DOI: /10.1021/jf00006a024
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology**, v. 50, n. 1, p. 641-664, 1999. DOI: 10.1146/annurev.arplant.50.1.641
- EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas**. 2. ed. Londrina: Planta, 2006. 403 p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, mar./abr. 2014. Disponível em: <<https://tinyurl.com/ycg6dqq2>>. Acesso em: 11 out. 2018.
- HODSON, M. J.; WHITE, P. J.; MEAD, A.; BROADLEY, M. R. Phylogenetic variation in the silicon composition of plants. **Annals of Botany**, v. 96, n. 6, p. 1027-1046, Sept. 2005. DOI: 10.1093/aob/mci255
- HUIE, C. W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 373, n. 1-2, p. 23-30, May 2002. DOI: 10.1007/s00216-002-1265-3
- KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. 2. ed. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Agrárias, 2004. 34 p. (UFU. Boletim técnico, 2).
- ROTHAMSTED RESEARCH. **Guide to the classical and other long-term experiments, datasets and sample archive**. Harpenden, 2012. 56 p. il. color. Reprinted. Título da capa: Rothamsted: long-term experiments. Disponível em: <<https://tinyurl.com/yb9g4v2z>>. Acesso em: 11 out. 2018.
- SAIHUA, L.; YUNHE, X.; JI, X.; JUAN, H.; BOCHARNIKOVA, E. A.; MATICHENKOV, V. V. Microwave digestion for colorimetric determination of total si in plant and mineral samples. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 49, n. 7, p. 840-847, 2018. Disponível em: <<https://tinyurl.com/lydz7g8n6>>. Acesso em: 11 out. 2018.

SRIPANYAKORN, S.; JUGDAOHSINGH, R.; THOMPSON, R. P. H.; POWELL, J. J. Dietary silicon and bone health. **Nutrition Bulletin**, v. 30, p. 222-230, Aug. 2005. DOI: 10.1111/j.1467-3010.2005.00507.x

Embrapa Agropecuária Oeste

BR 163, km 253,6
Trecho Dourados-Caarapó
79804-970 Dourados, MS
Caixa Postal 449
Fone: (67) 3416-9700
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
E-book (2019)



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



Comitê Local de Publicações
da Unidade

Presidente

Harley Nonato de Oliveira

Secretária-Executiva

Sílvia Mara Belloni

Membros

*Alexandre Dinnys Roese, Christiane
Rodrigues Congro Comas, Eder Comunello,
Luís Antonio Kioshi Aoki Inoue, Marciana Retore,
Marcio Akira Ito e Oscar Fontão de Lima Filho*

Supervisão editorial

Eliete do Nascimento Ferreira

Revisão de texto

*Eliete do Nascimento Ferreira
Sílvia Zoche Borges*

Normalização bibliográfica

Sílvia Mara Belloni

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Eliete do Nascimento Ferreira

Fotos da capa

*Oscar Fontão de Lima Filho
Nilton Pires de Araújo*