

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**AVALIAÇÃO DO pH DE RIZOSFERA E SEUS EFEITOS NA
DISPONIBILIDADE DO SILÍCIO (Si) EM ARROZ E SOJA**

ANA CRISTINA PEREIRA

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Julho – 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

AVALIAÇÃO DO pH DE RIZOSFERA E SEUS EFEITOS NA
DISPONIBILIDADE DO SILÍCIO (Si) EM ARROZ E SOJA

ANA CRISTINA PEREIRA


Universidade Federal de Uberlândia
Prof.^a Dra. Ana Angélica Almeida Barbosa
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Aprovado Pela Banca Examinadora Em 10 / 07 / 2003 Nota 98

Prof. Dr. Gaspar Henrique Korndörfer (Orientador)

Lilian Aparecida de Oliveira
Mestranda Lilian Aparecida de Oliveira (2º membro da banca examinadora)

Mônica Sartori de Camargo
Dra. Mônica Sartori de Camargo (3º membro da banca examinadora)

Uberlândia, 15 de julho de 2003.

DEDICATÓRIA

À minha família, em especial aos meus pais, Donizete e Maria; aos meus irmãos, Luciana, Paulo e Carla, ao meu cunhado Maurício, à minha sobrinha Mayra que nos tem proporcionado tanta alegria, e principalmente a Deus, que me deu força para caminhar em meio a todas as dificuldades.

Dedico-lhes não só este trabalho, mas também toda a minha vida...

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, sem as quais este não seria possível. Ao meu orientador Prof. Dr. Gaspar Henrique Korndörfer, à minha co-orientadora Lilian Aparecida de Oliveira, ao Grupo de Pesquisa em Silício e a todos os meus amigos que me deram a mão nas horas mais difíceis. Por fim, agradeço ao meu namorado Alexandre, por todo apoio e compreensão.

A todos vocês o meu muito obrigado.

RESUMO

Foi realizado um estudo em casa de vegetação com o objetivo de avaliar a relação entre pH da rizosfera e a disponibilidade de silício para uma gramínea (arroz) e uma leguminosa (soja), na ausência de calagem, através do método ágar indicador de pH (bromocresol púrpuro). As culturas foram desenvolvidas em caixas de madeira (rizotron), com as raízes próxima a uma lâmina de vidro. Após trinta dias a lâmina foi removida e uma fina camada de ágar contendo o indicador foi colocada sobre a superfície do solo, tendo-se a análise qualitativa do pH. Também foram realizadas análises do crescimento radicular, análises quantitativas do pH em água, na rizosfera e solo, quantificação de silício para a rizosfera e solo e também para as plantas (parte aérea e raiz). Observou-se um leve desenvolvimento de coloração arroxeadada em volta das raízes do arroz, indicando alcalinização do meio. Na análise quantitativa, observou-se um aumento de pH de rizosfera na soja, aumentando a disponibilidade de silício nesta região. O arroz, por ser uma espécie acumuladora conseguiu absorver mais silício do que a soja.

Palavras chave: pH de rizosfera, disponibilidade, silício, arroz, soja, ágar indicador.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Análise física do solo	09
Tabela 2 – Análise química do solo	09
Tabela 3 – Análise de variância para os valores de pH do solo e rizosfera, com média das duas espécies (arroz e soja).....	19
Tabela 4 – Valores médios de pH nas diferentes regiões do solo (rizosfera e rizotron) com médias das duas espécies (arroz e soja) usando o Teste de Tukey a 5%.....	20
Tabela 5 – Análise de variância para os teores de silício no solo e rizosfera.....	22
Tabela 6 - Teores de silício para o solo e para a rizosfera em duas culturas.....	23
Tabela 7 – Análise de variância para os teores de silício na folha e na raiz, média das 2 espécies (arroz e soja)	24
Tabela 8 – Variação das médias dos teores de silício para folha e raiz, usando o Teste de Tukey a 5%.....	25

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 – Rizotrons em casa de vegetação mostrando a inclinação de 45. °	10
Figura 2 – Lâmina de vidro contendo ágar vertido	11
Figura 3 - Germinação da soja e arroz, após 3 dias de início do experimento.....	15
Figura 4 - Germinação após 5 dias de desenvolvimento das espécies com início de observação do sistema radicular.....	16
Figura 5 - Medidas de Crescimento radicular para arroz e soja, em um período de 9 dias de desenvolvimento.....	16
Figura 6 - Desenvolvimento das raízes após 20 dias de início do desenvolvimento	17
Figura 7 - Embebição de ágar pelas raízes.....	17
Figura 8 - Análise qualitativa do pH de Rizosfera.....	18
Figura 9 - Valores de pH em H ₂ O da Rizosfera e do solo para arroz e soja.....	20
Figura 10 - Entrelaçamento das raízes de soja e arroz após 30 dias de desenvolvimento.	21
Figura 11 - Teores de silício (ácido acético 0,5 M) da região da Rizosfera e do solo como um todo	23
Figura 12 - Porcentagem de silício Disponível nas Folhas e Raízes.....	25

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - OBJETIVOS GERAIS	7
2.1 - Objetivos Específicos	7
3 - MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 - Local e período de condução do experimento	8
3.2 - Seleção das espécies	8
3.3 - Preparação do solo	8
3.4 - Cultivo em Rizotrons	9
3.4.1 - Rizotron ou Rizoboxes	9
3.4.2 - Condução do Experimento	10
3.5 - Análise do pH de Rizosfera	11
3.5.1 - Ágar Neutro	11
3.5.2 - Embebição das raízes e solo no ágar	12
3.6 - Análise dos teores de silício em tecidos de folhas e raízes	12
3.7 - Análise de silício no solo	13
3.8 - Análise do pH em água	14
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1 - Crescimento radicular	15
4.2 - Avaliação do pH de Rizosfera	17
4.3 - Quantificação do pH de Rizosfera	19
4.4 - Silício no Solo	22
4.5 - Silício na Planta	24
5 - CONCLUSÕES	27
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 – INTRODUÇÃO

Hiltner em 1904 denominou “rizosfera” a zona de influência das raízes que vai desde sua superfície até uma distância de 1 a 3 mm dessa. Alguns autores consideram a distância de até 5 mm. O termo se origina dos termos gregos rhizo/rizha e sphaera que significam área de influência e/ou localização física em volta da raiz. A rizosfera é ainda dividida, por alguns autores, em “ectorrizosfera”, que é a área externa das raízes e “endorizosfera”, compreendendo os tecidos corticais (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002).

A troca de matéria entre plantas, microrganismos e partículas inorgânicas do solo ocorre sobre as superfícies das raízes (rizosfera), onde as raízes mais finas absorvem água e íons nutritivos e cedem compostos orgânicos (produtos de excreção ou secreção ou ainda células mortas da rizoderme) (LARCHER, 2000).

A composição química da rizosfera difere da composição química do volume do solo (DINKELAKER et al; 1993). As diferenças ocorrem em virtude, principalmente, da absorção de água e de nutrientes, das mudanças no pH da rizosfera, da exsudação de ácidos orgânicos e da atividade microbiológica. Muitos desses processos podem influenciar a disponibilidade de nutrientes, tais como fósforo, ferro, manganês, zinco e cobre e, também, a solubilidade de elementos tóxicos, como o alumínio (BRACCINI et al; 2000). Ferro e fósforo ocorrem no solo em diversas formas, cuja solubilidade pode ser aumentada pela diminuição do pH. Esta solubilidade pode ser causada pelo resultado da excreção aumentada de H^+ de uma mudança no balanço de carga iônica (GIJSMAN, 1990).

O controle do pH da rizosfera e a exclusão do alumínio pela membrana plasmática das raízes das plantas têm sido considerados como possíveis mecanismos de tolerância a este elemento. O pH do meio envolvendo as raízes tem grande influência na especiação do

alumínio, sendo fundamental na redução da toxidez na rizosfera pelo mesmo (BRACCINI et al; 2000).

A concentração de ácidos orgânicos na rizosfera é normalmente superior ao restante do solo. Isto é devido ao material em volta das raízes, à excreção pelas raízes ou por microrganismos que vivem nesta região, sendo que isto tem efeito no pH de rizosfera quando estes ácidos orgânicos não são excretados como sais neutros (GIJSMAN, 1990).

O crescimento e desenvolvimento de uma planta são acompanhados pela excreção de prótons, processo conhecido como "crescimento ácido" (RAYLE, CLELAND, 1970). A excreção, ou efluxo de H^+ , ocorre em maior frequência na zona de não crescimento da raiz, especialmente no fim da região de pêlos absorventes ou na zona basal da raiz e o fluxo desse H^+ ocorre na zona de alongação ou crescimento da raiz (WEISENSEEL, DORN, JAFFE, 1979). Para o milho foi relatada a diferença de -0,4 a -1,8 unidades de pH em toda a extensão da raiz, justamente pela diferenciação dessas das zonas no sistema radicular. A queda mais brusca de pH ocorre na zona que possui maior crescimento axial (PILET, VERSEL, MAYOR, 1983).

Diferenças na liberação de íons H^+ ou OH^- estão relacionadas ao balanço do total de íons absorvidos que varia entre as espécies e, particularmente, à forma de nitrogênio absorvida (BRACCINI et al; 2000). Conforme relatado por Marschner e Römheld (1983), plantas supridas com $N-NO_3$ aumentaram o pH do solo, enquanto a fertilização com $N-NH_4$ resultou em redução. As gramíneas de uma forma geral aumentam moderadamente o pH da rizosfera quando aplicado uma baixa concentração de nitrato superficialmente. Já para as leguminosas o pH da rizosfera decresce com o uso de fontes de nitrato.

As raízes de milho, por exemplo, aumentam o valor de pH na rizosfera para aproximadamente 7,5 quando submetida exclusivamente a uma nutrição com o nitrogênio sob a forma NO_3^- , entretanto, com o suprimento de nitrogênio predominantemente na forma NH_4^+ o pH da rizosfera é decrescido podendo atingir 4,0 (MARSCHNER, ROMHELD, 1983).

Além do nitrogênio, o nutriente mais absorvido quantitativamente pelas plantas, outros elementos como o fósforo, cálcio, magnésio, potássio e ferro, contribuem para o balanço dos nutrientes absorvidos e para a liberação de íons H^+ ou OH^- pelas raízes (MARSCHNER, 1995).

A composição mineral de uma planta é característica de cada espécie e do ambiente no qual a mesma encontra-se inserida (TAKAHASHI, 1996). A inclusão do silício na lista

dos elementos essenciais tem sido contestada, existem, todavia, inúmeras evidências de efeitos benéficos da sílica tais como resistência a insetos e parasitas, melhoria do estado nutricional e redução da taxa de transpiração, sendo estes benefícios mais evidentes sob condições de estresse biótico e abiótico (MA, MIYAKE, TAKAHASHI, 2001).

A essencialidade do silício foi demonstrada pelo critério indireto, ou seja, em sua falta diversas espécies (tomate, pepino) não completam o ciclo, e antes de morrer mostram sintomas de deficiência como crescimento retardado e clorose internerval das folhas maduras (MALAVOLTA, VITTI, OLIVEIRA, 1997).

O silício é o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre sendo encontrado sob a forma de sílica e minerais silicatados, como o quartzo, os feldspatos alcalinos e os plagioclásios, sendo os dois últimos aluminossilicatos, cujo intemperismo enriquece a crosta em alumínio (JACKSON, 1964).

Um outro efeito do silício é o alívio do papel do alumínio registrado em muitas espécies de plantas cultivadas, incluindo milho, algodão, arroz, teosinto, sorgo e aveia. Foi observado que a adição de silício induz o alívio dos efeitos fitotóxicos do alumínio, e que este alívio é fortemente dependente de um pH (4,6) sendo expresso pela relação entre o peso seco da parte aérea e o peso seco das raízes, sempre maior nos tratamentos com adição de alumínio e simultânea ausência de silício. A adição de silício à solução nutritiva também impediu internamente às raízes a ligação entre alumínio e fósforo (COCKER, EVANS, HODSON, 1998).

Estudos realizados em culturas de milho demonstraram que a adição de ácido silícico na solução nutritiva reduziu a concentração de Al_3^+ , aliviando a alumino-inibição do desenvolvimento radicular. Tais resultados sugerem que a interação silício-alumínio ocorreu na solução, provavelmente via formação de complexos alumínio-silício, em forma não tóxica (MA, MIYAKE, TAKAHASHI, 2001).

As gramíneas nativas do cerrado brasileiro têm uma grande capacidade de acumular na sua estrutura o silício, formando corpos silicosos (SÖNDAHL, LABORIAU, 1970), como em espécies cultivadas, como arroz e cana de açúcar, não sendo esclarecidos os fatores que influenciam a maior absorção e deposição de silício em gramíneas de uma forma geral.

Do ponto de vista agrônomo as principais formas de silício presentes no solo são o silício solúvel (H_4SiO_4 - ácido monossilícico) proveniente da decomposição de resíduos vegetais, o silício absorvido ou precipitado com óxidos de ferro ou alumínio; e o silício

associado aos minerais silicatados cristalinos ou amórficos (RAIJ, CAMARGO, 1973). A dissolução desses minerais para a liberação do silício é afetada por fatores inerentes ao solo tais como: matéria orgânica, umidade, potencial de oxi-redução e teores de sesquióxidos.

De acordo com Mckeague e Cline (1963), o H_4SiO_4 na solução do solo se comporta como um ácido muito fraco, de forma que, apenas 0,2% se ioniza na forma carregada negativamente a pH 7,0, sendo que o grau de ionização aumenta com o pH. A solubilidade de silício em H_2O não é influenciada pelo pH, quando varia de 2,0 a 9,0. Porém em altas concentrações ($28 \text{ mg dm}^{-3} \text{ Si}$) na solução do solo, o monômero (H_4SiO_4) se polimeriza para formar precipitados de Sílica amorfa. Jones e Handreck (1963) relatam o decréscimo da concentração de ácido monossilícico na solução de 33 para 11 mg / dm^{-3} de silício, quando o aumento de pH foi de 5,4 para 7,2.

Quanto aos ácidos polissilícicos, eles possuem dois ou mais átomos de silício, podendo ter forma de anéis, esferas e galhos (ILER, 1979) e não formam complexos de cor amarela com o molibdato de amônio, como o ácido monossilícico. Sendo que o processo de polimerização inicia-se com uma concentração acima de 120 mg L^{-1} de SiO_2 , ocorrendo precipitação quando combinarem-se polímeros desse com monômeros solúveis de H_4SiO_4 . (MCKEAGUE e CLINE, 1963; ILER, 1979; MARSCHNER, 1995).

Alguns autores observaram uma resposta diretamente proporcional entre o teor de sílica nas plantas e o teor de ácido monossilícico na solução do solo (JONES, HANDRECK, 1967).

Após a absorção, o ácido silícico é transportado até a parte aérea da planta via vasos do xilema, com grandes quantidades de sílica podendo ser depositadas na parede celular, onde podem evitar a compressão dos vasos quando em presença de elevadas taxas de transpiração (RAVEN, 1983).

Ao atingir as folhas e parte aérea, o ácido silícico concentra-se e, devido à perda de água, polimeriza-se em ácido silícico coloidal originando sílica gel (MA et al, 2001), por meio do aumento da concentração de ácido silícico sendo encontrada em maiores quantidades sob forma hidratada (YOSHIDA, OHNISHI, KITAGISH, 1962; POSTEK, 1981; DAYANANDAM, KAUFMAN, FRANKLIN, 1983).

Essa sílica fica então depositada em locais comumente denominados fitólitos ou silicofitólitos, dispondo-se intra ou intercelularmente sob a forma de pequenos sólidos opalinos (PIPERNO, 1988), podendo ainda ser encontrada incrustada ou impregnada na parede celular (METCALFE, 1983; FAHN, 1990; SANGSTER, HODSON, TUBB, 1999).

Depois de solidificado o silício torna-se imóvel na planta. Nas células epidérmicas do arroz, abaixo da cutícula, aparece uma camada de sílica a qual deve ajudar a limitar a perda de água por transpiração e dificultar a penetração de hifas de fungos. Nas dicotiledôneas essa camada não aparece. A repartição depende da espécie, sendo uniforme nas plantas que acumulam pouco; noutras há maior proporção nas raízes. Em acumuladoras, como é o caso do arroz, cerca de 90% está na parte aérea (MALAVOLTA, VITTI, OLIVEIRA, 1997).

São consideradas plantas acumuladoras de silício, aquelas que possuem um conteúdo desse elemento acima de 1%, intermediárias as que possuem a relação de Si/Ca menor que 1 e não acumuladoras, plantas com teor de silício menor que 0,5% (MA, MIYAKE, TAKAHASHI, 2001). Já Jones e Handreck (1967) dividiram as plantas de acordo com sua capacidade de absorção de silício, o que depende de sua polimerização (porcentagem em matéria seca). As acumuladoras incluindo as gramíneas, Equisetacea e Cyperaceae (10-15%) e as não acumuladoras incluindo outros gêneros de gramíneas e dicotilidôneas (< 0,5%). Estes mesmos autores ainda afirmam que a absorção de silício está relacionada com a posição das famílias em uma árvore filogenética, na qual as famílias acumuladoras como as gramíneas, estão na base dessa árvore. Sendo assim a absorção de silício estaria relacionada com a própria evolução dos vegetais.

As diferenças no teor de silício entre as espécies encontra-se relacionada com sua habilidade intrínseca em absorvê-lo e da concentração desse elemento no solo, podendo dar-se de forma ativa, passiva e ou rejeitiva. A absorção será passiva quando a concentração de silício for de 0,35 mM (10 ppm), dependendo do coeficiente de transpiração dessas espécies. As gramíneas como, por exemplo, o arroz, de uma forma geral, possuem o modo de absorção ativo, já para a maioria das dicotiledôneas esta absorção se dá de forma rejeitiva e para algumas, passiva (MA, MIYAKE, TAKAHASHI, 2001).

Vários métodos têm sido utilizados para a avaliação de alterações químicas ao longo das raízes de plantas crescendo em solução nutritiva ou no solo. A maioria deles baseia-se no uso do meio ágar contendo reagentes específicos e indicadores. Pela reação de coloração é possível demonstrar os seguintes processos na rizosfera: mudanças de pH (MARSCHNER e RÖMHELD, 1983), exsudação de ácidos orgânicos e solubilização de vários fosfatos inorgânicos, redução de Fe III e Mn IV (DINKELAKER et al., 1993). Os métodos indicam em que zona ao longo da raiz esses processos ocorrem. Eles também podem

ajudar a entender os mecanismos pelos quais as plantas se adaptam a condições adversas, tais como altas concentrações de alumínio e baixa fertilidade (BRACCINI et al; 2000).

Tendo em vista a grande importância das variações de pH do solo tanto para o desenvolvimento da raiz quanto para a nutrição da planta e a falta de dados que possam esclarecer os mecanismos de absorção de silício pelas mesmas, fazem-se necessários à realização de novos estudos que forneçam dados confiáveis a esse respeito.

2 – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar o efeito de pH da interface solo-raiz (rizosfera) na disponibilidade de silício (Si) para uma espécie acumuladora desse elemento, o arroz (gramínea) e uma espécie não acumuladora, a soja (leguminosa).

2.1 – Objetivos Específicos

- Avaliar a viabilidade do uso do método agar-corante indicador de pH no estudo de mudanças no pH de rizosfera;
- Medir o pH do solo e da rizosfera, comparando mudanças nestes valores;
- Relacionar as espécies com as mudanças de pH da rizosfera;
- Analisar o teor de silício na planta (teor em matéria seca), nas folhas e raízes das espécies estudadas;
- Correlacionar variações do pH de rizosfera com a absorção do silício.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Local e período de condução do experimento

O experimento foi conduzido na casa de vegetação do Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Uberlândia – Uberlândia – MG, no período de 19 de fevereiro a 19 de março de 2003, onde foi observada a temperatura durante todo o período de cultivo das plantas, variando entre 30 a 35° C.

3.2 – Seleção das espécies

Foram selecionadas uma espécie de gramínea, o arroz (*Oriza sativa L*), e uma espécie de leguminosa, a soja (*Glycine max*), para que pudesse se observar os diferentes comportamentos dessas espécies em relação à indução natural de mudança de pH da rizosfera e à absorção de silício.

A escolha dessas espécies também ocorreu pelo fato de serem tradicionalmente cultivadas em solos diversificados, inclusive em regiões do Cerrado. Além disso, ambas as espécies são economicamente importantes para a região e para o país.

3.3 – Preparação do solo

O solo utilizado no experimento foi coletado à margem da BR 365 – no Triângulo Mineiro – em janeiro de 2003, amostrando-se um perfil, com profundidade de 0 a 20 cm.

Este solo se trata de um Nitossolo Vermelho Eutroférico Chernossólico (Nvef), de textura argilosa, apresentando 77% de argila e apenas 2% de areia grossa (tabela 1).

Tabela 1 – Análise física do solo

Solo	Horizonte	Argila	Silte	Areia Grossa	Areia Fina	Areia Total
%						
Nvef	A	77	16	2	5	7

Tabela 2 – Análise química do solo

Solo	Horizonte	pH (KCl)	pH (H ₂ O)	MO%	P	K	Ca	Mg	Al	Si
					mgKg ⁻¹		cmol cKg ⁻¹			mgKg ⁻¹
Nvef	A	5,0	6,0	1,75	14,20	2,10	15,95	1,83	0,00	104

A preparação do solo foi feita inicialmente com secagem, peneiramento e pesagem para cada vaso a ser utilizado. Este solo dispensou o uso de fertilizantes ou corretivos agrícolas (Tabelas 1 e 2).

3.4 – Cultivo em Rizotrons

3.4.1 – Rizotron ou Rizoboxes

Rizotrons ou Rizoboxes são vasos de madeira pré-confeccionados e são assim denominados e empregados nos estudos de vários autores (MARSCHNER & RÖMHELD, 1983; HÄUSSLING et al. 1985, RÖMHELD, 1986; DINKELAKER et al, 1993).

Estes vasos possuem um formato retangular (45 x 25 x 15 cm), com um dos lados formado por uma lâmina de vidro, em contato com o solo. Sobrepondo-se a esta, tem-se uma lâmina de madeira, a fim de se evitar o efeito da luz no crescimento radicular e na sua fisiologia. Ambas as lâminas são móveis, com a finalidade de facilitar o emprego da metodologia proposta neste trabalho, além disto, possibilitar a observação do crescimento radicular das espécies, o qual foi realizado diariamente com aferições métricas através de fitas milimetradas simples.

3.4.2 – Condução do Experimento

Com a escolha e preparação do solo, cada rizotron foi preenchido com, aproximadamente, 9 Kg de solo e os mesmos foram então molhados de acordo com a sua capacidade de campo.

Com o solo do rizotron previamente umidecido, foram plantadas em cada um desses vasos, oito sementes de arroz e oito sementes de soja, uniformemente espaçadas.

Os rizotrons foram então colocados de forma inclinada, formando um ângulo de 45° , de forma com que a lâmina de vidro e a de madeira ficassem voltadas para baixo, propiciando que as raízes se desenvolvessem rente ao vidro, facilitando a observação de seu crescimento (Figura 1).

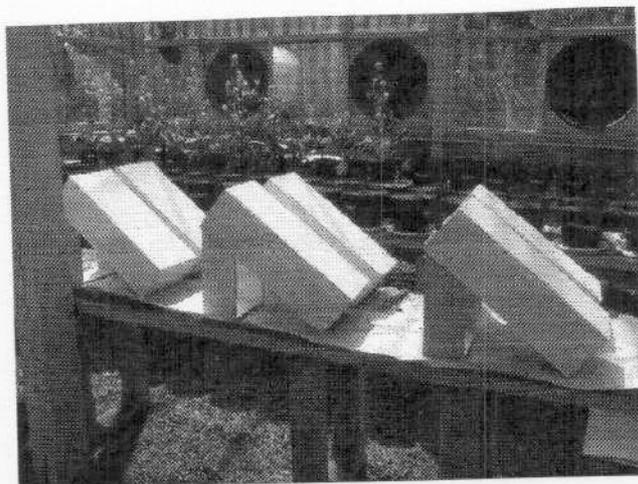


Figura 1 - Rizotrons em casa de vegetação mostrando a inclinação de 45° .

O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com os tratamentos arranjados em um esquema fatorial 2×2 (espécies e locais de medição do pH), com 6 repetições, fazendo-se teste das médias a Tukey 5%.

Os rizotrons foram posicionados na parte central da casa de vegetação, usando-se um pequeno espaço da bancada central tentando minimizar os efeitos da luz e temperatura.

Até o período de germinação das sementes, os rizotrons foram regados duas vezes ao dia, com 200 mL de água destilada e uma vez ao dia após a germinação.

3.5 – Análise do pH de Rizosfera

3.5.1 – Ágar Neutro

Para a determinação da mudança do pH de rizosfera, foi utilizado o método do ágar indicador de pH descrito e utilizado por Marschner e Römheld (1983) e também Heckman e Strick (1996).

Na preparação do meio ágar indicador (0,75%), foi utilizado 100 mL de água destilada e 0,75 g de ágar. Esta solução foi aquecida até a completa dissolução, usando-se becker e aquecedor elétrico, sendo necessário manter constante agitação da solução, com o uso de um bastão de vidro.

Após o resfriamento da solução, foi adicionado o corante indicador de pH (bromocresol púrpuro) na concentração de 0,006 %, ou seja, 0,06 g de corante para cada 100 mL de água destilada. O pH do meio foi ajustado com NaOH 1N para um valor de 6,0 apresentando, neste caso, a coloração vermelha (pH 4,5 a 7,5) e com HCl 1N para um pH mais baixo, apresentando neste caso uma coloração amarelada (pH 3,8 a 5,4). Esta solução foi então vertida sobre uma lâmina de vidro com um filme PVC, que após aproximadamente 10 minutos de resfriamento obteve a camada de ágar sólido de 2-3 mm (Figura 2).

Dessa forma, ao entrar em contato com o solo da rizosfera, o corante indicaria uma coloração arroxeada escura (devido ao pH alcalino) ou uma coloração amarelada (devido ao pH ácido).

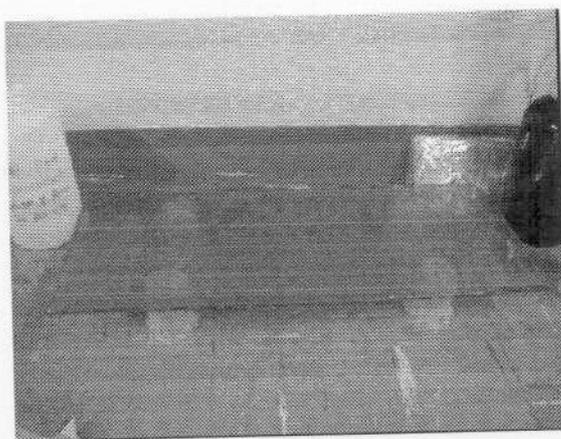


Figura 2 - Lâmina de vidro coberto por camada de ágar

Após trinta dias de crescimento, os rizotrons foram colocados horizontalmente em uma bancada do Laboratório de Análises de Plantas e Fertilizantes (LAFER) da Universidade Federal de Uberlândia, com as lâminas de madeira e de vidro voltadas para cima, que a seguir foram cuidadosamente removidas.

Em seguida, colocou-se uma fina camada (2-3 mm) de ágar contendo o indicador sobre as raízes. Após um período, que oscilou entre quinze minutos a duas horas, foram observadas mudanças de coloração do ágar, em função da alteração no pH da rizosfera.

3.6 – Análise dos teores de silício em tecidos de folhas e raízes

Encerradas as análises de medição de pH com o ágar indicador, as plantas foram cuidadosamente retiradas das caixas e separadas em duas partes, raízes e partes aéreas. As diferentes partes da planta foram colocadas separadamente de molho em água destilada e detergente (0,01%) para que todo o excesso de solo fosse removido, e após meia hora foram enxaguadas em água destilada corrente até a limpeza total dos resíduos.

Após a lavagem, foram colocadas para secar dentro de sacos de papel, contendo furos, em uma estufa de circulação forçada de ar, a 65 °C, até atingir peso constante. Estando secas, as amostras foram moídas no moinho da Universidade Federal de Uberlândia.

Para a análise de silício na planta, foi utilizada a metodologia de Elliot e Snyder (1988) adaptada. Foram pesados 0,100 g de cada amostra, colocado em tubos de polietileno (100mL) previamente enxaguados com NaOH 0,1 M e água destilada, onde foram adicionados 2 mL de H₂O₂ 50% e levemente agitados por alguns minutos em um vibrador e 3 mL de NaOH 50% seguindo o mesmo procedimento. Após essa etapa, os tubos foram colocados em banho-maria durante uma hora, agitando-os periodicamente durante os trinta primeiros minutos. Após este procedimento os tubos foram individualmente cobertos com copos plásticos e, posteriormente, levados à autoclave com 138 Kpa por uma hora. Completado este período, os tubos foram removidos e acrescidos de 45 mL de água destilada. As amostras foram deixadas em repouso por 12 horas e, em seguida, o silício foi determinado colorimetricamente.

Foi separada uma alíquota de 1 mL do sobrenadante do extrato, colocado em copo plástico (50 mL), acrescentando-se 15 mL de água destilada. Foram adicionados às amostras, rapidamente, os seguintes reagentes: 1 mL de HCl (1:1 ou 50%) + 2 mL de molibdato de amônio. A cor amarela apareceu em todas as amostras contendo silício. Depois de 5 a 10 minutos, foram adicionados 2 mL de ácido oxálico (50%). Ao mesmo tempo, foram preparadas curvas padrões, com concentrações diferentes de silício.

A determinação do silício foi realizada em um colorímetro com comprimento de onda de 410 nm após um intervalo de 2 minutos. A cor amarela é pouco estável, permanecendo assim por apenas 15 minutos.

3.7 – Análise de silício no solo

O solo contido nos rizotrons foi separado em solo da rizosfera, isto é, o solo mais próximo da região da raiz e o solo da caixa como um todo. Este procedimento foi seguido tanto para a soja, como para o arroz.

As amostras de solo, depois de separadas e identificadas, foram colocadas para secar, peneiradas e guardadas em sacos plásticos devidamente fechados. Após este procedimento, iniciou-se o método de determinação do silício no solo, seguindo a metodologia descrita por Korndörfer et al. (1999).

Foram pesados 10 g de solo (TFSA) de cada amostra e adicionados a cada uma dessas, 100,0 mL de ácido acético 0,5 M e submetidas à agitação por uma hora. Após a suspensão, as amostras permaneceram 15 minutos em repouso para decantação. A seguir, a suspensão foi filtrada, permanecendo o filtrado em repouso por uma noite (12 horas).

Para a determinação do silício foram utilizados 10,0 mL do filtrado, ao qual acrescentou-se 1 mL de solução sulfo-molibdica. O ácido orto-silícico (H_4SiO_4), que é a forma em que o silício se apresenta na solução, reagirá com o molibdato desenvolvendo a cor amarela. Após 10 minutos foram acrescentados 2 mL de uma solução de ácido tartárico a 20 %, a fim de complexar o fósforo (P) da solução.

Passados 5 minutos, foram acrescentados 10 mL de solução de ácido ascórbico para promover o aparecimento da cor azul na solução (este ácido se oxida rapidamente e, portanto, funciona como eficiente redutor). Após 1 hora a leitura foi realizada em um colorímetro com comprimento de onda de 660 nm.

3.8 – Análise do pH em água

O mesmo material de solo preparado para quantificação de silício foi utilizado para a leitura do pH em água.

A reação do solo foi determinada pelo método potenciométrico, utilizando-se uma relação solo solução na proporção 1:2,5. Foram utilizados 10 cm³ de solo e 25,0 mL de H₂O. Após agitação por 15 minutos e repouso por 45 minutos, foi realizada a leitura em pH-metro com a suspensão em repouso (EMBRAPA, 1979).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Crescimento radicular

A utilização de vasos de cultivo na forma de rizotrons possibilitou a observação detalhada do crescimento radicular para o arroz e a soja, feitas na lâmina de vidro. Para ambas as espécies, a visualização na superfície dos vasos ocorreu após 3 dias em que foram plantadas (Figura 3), nesta época se observava o ponto de emergência dessas sementes.

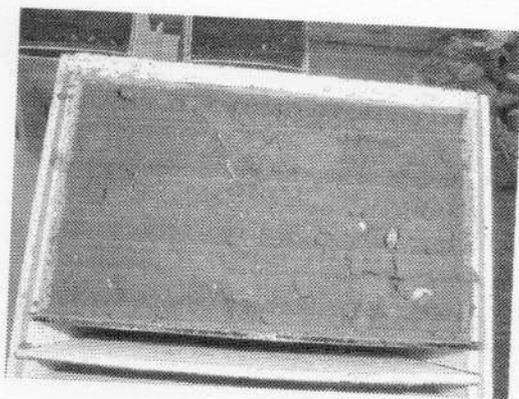


Figura 3 - Germinação da soja e arroz, após 3 dias de início do experimento.

A observação do crescimento radicular só pôde ser iniciada 5 (cinco) dias após a germinação das plantas, tempo este em que as raízes levaram para atingir a lâmina de vidro perpendicular dos rizotrons (Figura 4).



Figura 4 – Germinação após 5 dias de desenvolvimento das espécies com início de observação do sistema radicular

As duas culturas apresentaram um comportamento diferente quanto ao desenvolvimento radicular (Figura 5) por serem espécies distintas, o que está em concordância com Raven (2001) que afirma que, sendo a soja uma dicotiledônea e por apresentar o sistema radicular do tipo pivotante, a mesma apresenta um crescimento mais rápido de suas raízes, pois estas conseguem penetrar mais profundamente no solo que o sistema radicular fasciculado, apresentado pelo o arroz, que é uma monocotiledônea.

O crescimento das plantas, em caixas do tipo rizotron, tornou a avaliação do sistema radicular mais fácil, pois se pode acompanhar a germinação das sementes, seu estágio inicial de desenvolvimento até o período final do experimento, no qual o sistema radicular já se encontra com uma biomassa bastante desenvolvida (Figura 6).

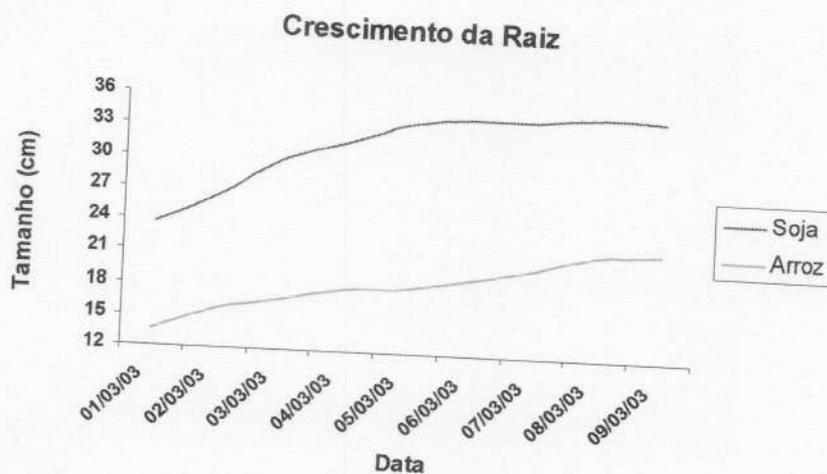


Figura 5 – Medidas de Crescimento radicular para arroz e soja, em um período de 9 dias de desenvolvimento.

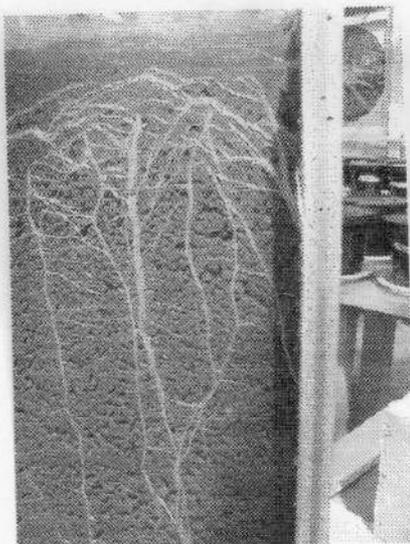


Figura 6 – Desenvolvimento das raízes após 20 dias de início do experimento.

4.2 – Avaliação do pH de Rizosfera

O ágar com pH 6,0 (vermelho) foi colocado sobre o solo. Para a observação das alterações do pH do solo em relação ao pH da rizosfera da superfície radicular (Figura 7).

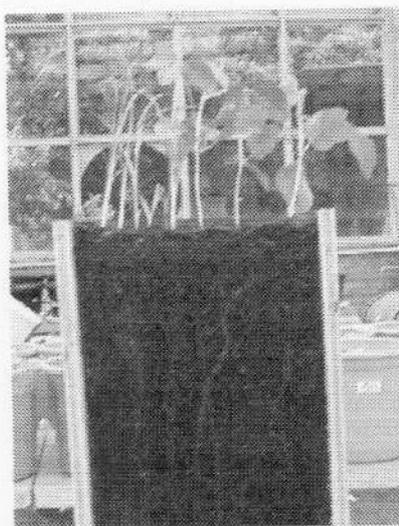


Figura 7 - Embebição de ágar pelas raízes.

Foi possível a observação da mudança da coloração no pH na região da rizosfera em poucas tentativas, sendo que esta mudança quando ocorreram, foram discretas. Nessas observações, a rizosfera do arroz mostrou uma coloração final arroxeada, pelo fato dessa espécie alcalinizar a rizosfera. A alcalinização se dá pela maior absorção de ânions em

relação a cátions. Já a rizosfera da soja, tornou-se amarelada, pois por ser uma leguminosa, possui a capacidade de acidificar a rizosfera pela excreção de H^+ (Fig 8).

Estes resultados concordam com Römheld (1986) e Marschner e Römheld (1983), quando induziram a mudança de pH da rizosfera pela adição de diferentes fontes nitrogenadas para leguminosas, como a soja, e gramínea, como o arroz.

As variações da coloração ao longo das raízes foram provavelmente relacionadas com balanço de nutriente ao longo dessas. Segundo Heckmam e Strick (1996), as diferenças no pH da rizosfera nas áreas de desenvolvimento da raiz (zonas meristemáticas, de alongamento e maturação) podem ser relacionadas às diferenças na razão das cargas de cátion para ânion na taxa de transpiração da raiz, na taxa de nitrificação e os seus padrões de respiração.

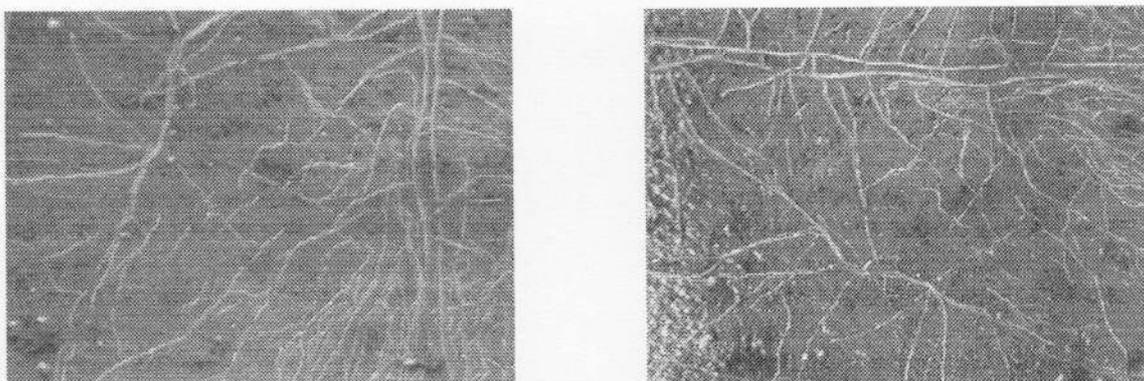


Figura 8 - Análise qualitativa do pH de Rizosfera.

De acordo com Marschner (1995), o poder tampão do solo e o pH inicial são os principais fatores que determinam a extensão na qual as raízes podem alterar o pH da rizosfera. O tamponamento do pH do solo depende dos teores de argila, matéria orgânica e do tipo da argila, os quais podem contribuir com a liberação de prótons (H^+) resistindo às mudanças de pH induzidas pelas raízes. O solo utilizado no presente trabalho apresenta 77% de argila (2:1), podendo ter influenciado na resistência do solo em alterar o pH da rizosfera, por apresentar um poder tampão muito elevado.

Além disso, a mudança de coloração só foi evidenciada na porção terminal das raízes (região de pêlos absorventes) local de maior troca ou absorção de nutrientes, (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002).

As vantagens do método ágar-indicador estão relacionadas à sua natureza não destrutiva, além de permitir melhor visualização das variações de pH ao longo das raízes. Para melhor visualização das diferenças do pH da rizosfera, outro método a ser utilizado

poderia ser o uso de microeletrodos. Por sua vez, a separação mecânica do solo para a avaliação do pH deve definir claramente qual distância da superfície das raízes é considerada como rizosfera.

4.3 – Quantificação do pH de Rizosfera

Houve uma correlação entre as culturas e as mudanças de pH do solo original e da rizosfera. Pode-se observar também que as diferenças quantitativas de pH estão ligadas à cultura ou ao local de medição do pH e que ocorre uma interdependência entre estas variáveis (Tabela 3).

Tabela 3 – Análise de variância para os valores de pH do solo e rizosfera, com média das duas espécies (arroz e soja)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Pr > F
Cultura	1	0,07593750	0,07593750	0,81	0,3822
Tipo	1	0,63050417	0,53050417	6,73	0,0203 *
Cultura x Tipo	1	1,15720417	1,15720417	12,35	0,0031 *
Resíduo	20	1,40542917	0,09369528		
Total	23	3,65779583			

* Valores significativos $P < 0,05$

Para a cultura da soja, houve aumento de pH 6,5 em relação ao solo para um pH de 7,2 na região da rizosfera. Já para o arroz, o valor final foi de 6,7 (Figura 9).

Esses valores, testados estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% mostraram que o pH da rizosfera é diferente em cada cultura (Tabela 4). Diferente disso ocorreu no solo do rizotron, em que não foram observadas diferenças entre os valores. Isso já era esperado, pois a região da rizosfera é mais sensível à ocorrência da mudança de pH concordando com Marschner e Römheld (1983).

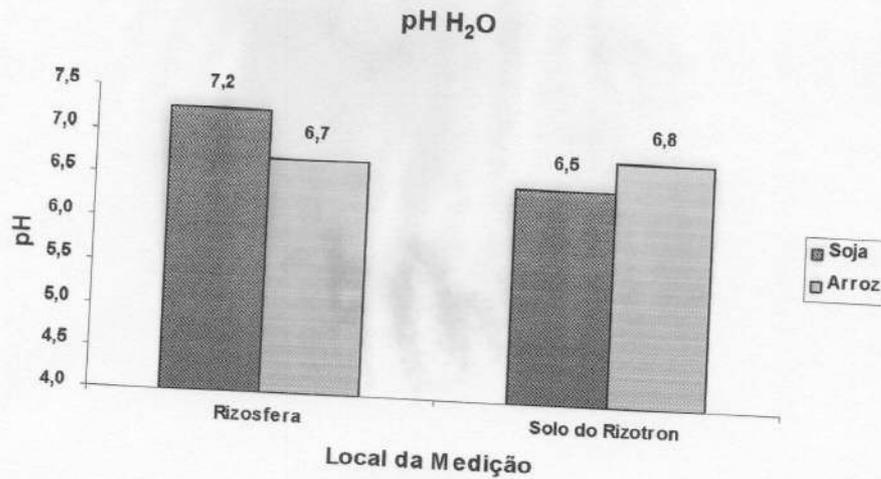


Figura 9 - Valores de pH em H₂O da Rizosfera e do solo para arroz e soja.

Os resultados qualitativos mostraram que a soja, sendo uma leguminosa, aumentou seu pH de rizosfera, o que não condiz com as análises qualitativas (Figuras 7 e 8) e nem com resultados de literatura, de Marschner e Römheld (1983). Esses fatores demonstraram que a diferença de pH de rizosfera está relacionada com a liberação de íons H⁺ ou OH⁻ e ao balanço do total de íons absorvidos que varia entre as espécies e, particularmente, à forma de nitrogênio absorvida.

Tabela 4 – Valores médios de pH nas diferentes regiões do solo (rizosfera e rizotron) com médias das duas

espécies (arroz e soja) usando o Teste de Tukey a 5%.

Cultura	Número de Repetições	Médias de pH do Solo	Médias de pH da Rizosfera
Arroz	6	6,8 A	6,7 A
Soja	6	6,5 A	7,3 B
		DMS = 0,5	DMS = 0,1
		CV= 3,6	CV= 3,5

Letras iguais na coluna não se diferenciam estatisticamente.

O estudo aqui desenvolvido não empregou nenhuma forma de adubação e o pH de rizosfera final pode ter sido influenciado pelo fato das culturas terem sido cultivadas em um mesmo rizotron. Isso pode ter levado a um entrelaçamento entre as raízes das culturas, provocando uma disputa natural por nutrientes e excreção de exudatos ácidos e básicos podem ter sido contrabalanceados ou misturados (Figura 10).

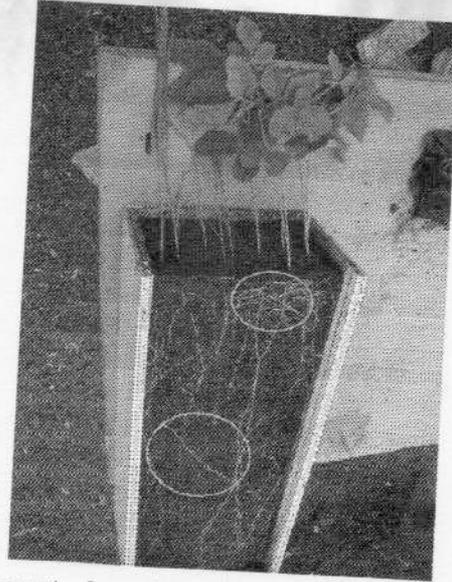


Figura 10- Entrelaçamento das raízes de soja e arroz após 30 dias de desenvolvimento.

Para evitar erros metodológicos, as diferentes culturas poderiam ser cultivadas em rizotrons diferentes ou em menor número em um mesmo vaso como na metodologia inicial MARSCHNER e RÖMHELD (1983).

Outro fator a ser considerado é que em presença de indutores de mudança de pH, tais como adubação nitrogenada, o pH de rizosfera seria fortemente modificado nessas condições e a visualização e quantificação de pH poderiam apresentar maiores variações entre espécies e locais. Ainda há de ser considerado o fato de que este solo estando na sua forma "in natura" a população de microorganismos estavam em seu estado ótimo de desenvolvimento, sendo bastante diferenciado os organismos que ocorrem em leguminosas e gramíneas. Com a liberação de exudatos e materiais orgânicos disponíveis, isto favorece a população de microorganismos na superfície de raiz. Assim a população microbiana pode variar em função da espécie vegetal, tipo de solo e até da cultivar, que influenciarão grupos nutricionais específicos na rizosfera (MOREIRA E SIQUEIRA, 2002).

O solo escolhido (Nitossolo Vermelho Eutroférico Chernossólico - Nvef), por ser muito argiloso e com grande poder de tamponamento, dificultou as mudanças no pH. Além

disso, como a sua coloração é intensamente avermelhada, a visualização da alteração do ágar indicador (que é por contraste) foi um pouco prejudicada.

Outros solos com baixo teor de argila e com uma coloração menos avermelhada, por exemplo areia quartzosa, poderiam ser utilizados com o emprego da mesma metodologia para diminuir o efeito de tamponamento e, com isso, evidenciar as alterações de pH.

4.4 – Silício no Solo

Pela análise dos teores de silício extraídos em ácido acético 0,5 M nas regiões da rizosfera e solo, houveram diferenças significativas entre essas regiões. Para as culturas não se observaram diferenças significativas (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise de variância para os teores de silício no solo e rizosfera.

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Pr > F
Cultura	1	8,2602667	8,2602667	0,02	0,8800
Tipo	1	3.932,160000	3.932,160000	11,23	0,0044 *
Cultura x Tipo	1	183,1537500	183,1537500	0,52	0,4807
Resíduo	20	5.252,6904333	350,1793622		
Total	23	12.593,3969833			

* Valores significativos $P < 0,05$.

As mudanças do pH de rizosfera apresentaram efeito discreto na disponibilidade de silício para as plantas. Em um pH alcalino como o que a soja apresentou de 7,2 a disponibilidade de silício foi ligeiramente maior na região da rizosfera que aquela apresentada pelo arroz, que apresentou um pH na região da rizosfera de 6,7, tornando-se a disponibilidade de silício pouco menor (Figura 11).

A diferença do teor de silício na rizosfera e no solo do rizotron foi significativa, porém não ocorre interação entre as culturas e o local de amostragem do solo, sendo assim a disponibilidade de Si na rizosfera ou no solo não dependente da cultura (Tabela 5).

Entre as culturas, não se observaram diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% quanto à disponibilidade de silício, com a quantidade desse elemento sendo estatisticamente a mesma em relação ao solo do rizotron e da rizosfera para ambas as culturas (Tabela 6).



Figura 11 - Teores de silício (ácido acético 0,5 M) da região da Rizosfera e do solo como um todo.

Quando se compara o teor de silício entre as espécies não se observa muito bem o efeito do pH quanto à disponibilidade desse elemento, considerando a interação entre as culturas e o solo do rizotron. Apesar do teor de silício ter sido diferente entre a região da rizosfera e o solo do rizotron, isto não é significativo quanto à influência da cultura neste aumento. Dessa forma, a soja consegue induzir um aumento de pH da rizosfera, porém não afeta significativamente a disponibilidade de silício para esta cultura.

Tabela 6 – Teores de silício para o solo e para a rizosfera em duas culturas.

Cultura	Número de Repetições	Médias de silício no solo	Médias de silício na rizosfera
Arroz	6	81,89 A	103,350 A
Soja	6	77,53 A	108,653 A
		DMS = 28, 839 CV = 3,635	DMS = 24,201 CV = 3,460

Letras iguais na coluna não se diferenciam estatisticamente.

Estas observações concordam com Jones e Handreck (1963) que relatam que em altas concentrações (28 mg / dm^{-3} de silício) na solução do solo, o monômero (H_4SO_4) se polimeriza para formar precipitados de Sílica amorfa. Nesta concentração o ácido monossilícico na solução do solo, quando o aumento de pH foi de 5,4 para 7,2, diminuiu de 33 para 11 mg dm^{-3} de silício. Dessa forma a quantidade de silício disponível na solução do solo

está relacionada principalmente com sua concentração e o pH terá diferentes influências, relacionando com as diferentes concentrações.

De acordo com McKeague e Cline (1963) o ácido monossilícico na solução do solo se comporta como um ácido muito fraco, de forma que apenas 0,2% se ioniza na forma carregada negativamente a pH 7,0, sendo que o grau de ionização aumenta com o pH.

4.5 – Silício na Planta

Os teores de silício apresentaram diferença estatística entre os teores foliares e radiculares para cada cultura. Ocorrendo dependência entre a cultura, deposição de silício, e o local do solo analisado (Tabela 7). Isto mostra que a deposição do silício na planta é diferenciada para cada cultura e para o local da amostragem e que estes são dependentes.

Os teores de silício na planta variam entre si e entre as culturas. Existe uma diferença na deposição de silício para cada espécie. O arroz consegue depositar em até seis vezes mais silício do que a soja (Figura 12). O arroz, tanto na parte aérea quanto radicular, apresentou um teor de silício superior à soja, que é uma leguminosa (tabela 8). Já os valores foliares e do sistema radicular da soja foram menores do que os depositado no arroz. Os resultados apresentados concordam com outros trabalhos que a deposição de silício na planta é diferenciada e depende da espécie (MALAVOLTA, 1997).

Tabela 7 – Análise de variância para os teores de silício na folha e na raiz, média das 2 espécies (arroz e soja)

Causas de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Pr > F
Cultura	1	4987,0134000	497,0134000	791,82	0,0001 *
Tipo	1	668,0260167	668,0260167	106,07	0,0001 *
Cultura x Tipo	1	1859,9682667	1859,9682667	295,32	0,0001 *
Resíduo	20	94,4727167	6,2981811		
Total	23	7676,54658			

* Valores significativos.

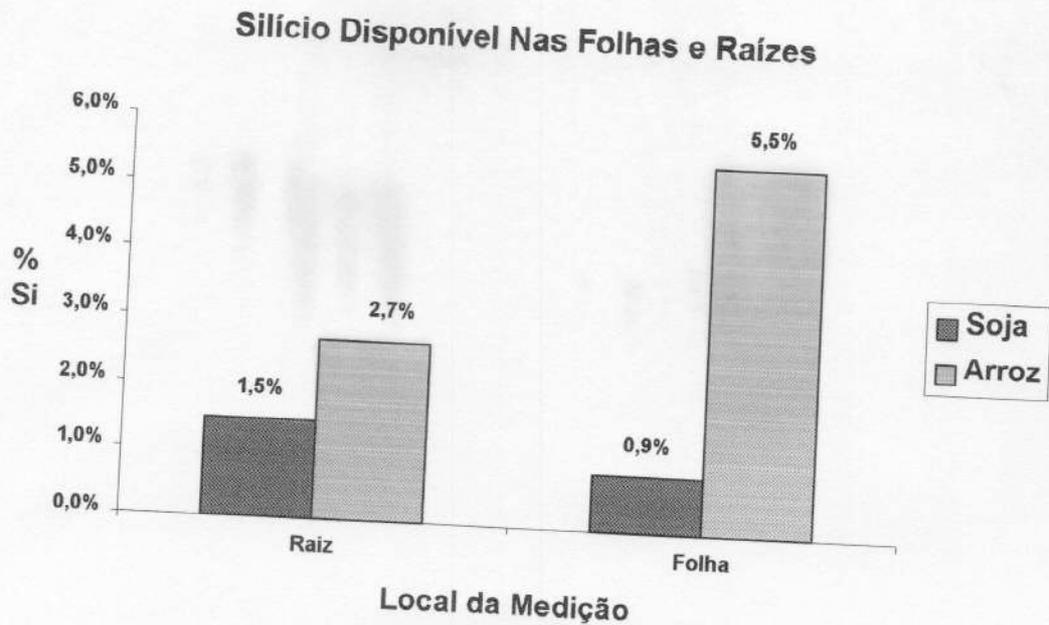


Figura 12 - Porcentagem de silício Disponível nas Folhas e Raízes.

Tabela 8 – Variação das médias dos teores de silício para folha e raiz, usando o Teste de Tukey a 5%.

Cultura	Número de Repetições	Teor de silício na folha	Teor de silício na raiz
Arroz	6	54,955 A	29,706 A
Soja	6	8,518 B	15,573 B
		DMS = 4,443	DMS = 9,468
		CV=3,365	CV=3.460

Letras iguais na coluna não se diferenciam estatisticamente.

O fato de o arroz conseguir absorver mais silício do que a soja está ligada a um conjunto de fatores. Um desses fatores é o fato de o arroz ser uma espécie acumuladora de silício (JONES e HANDRECK, 1967), Diferente da soja que é uma leguminosa não acumuladora deste elemento.

Outro fator a ser mencionado é o fato dessas espécies apresentarem uma estrutura anatômica bem distinta, sendo que o arroz possui características que permitem melhor absorção de silício do que a soja, sendo esta absorção feita de forma ativa no arroz e passiva na soja, por ser uma dicotiledônea (MA; MIYAKE; TAKAHASHI, 2001).

Nas células epidérmicas do arroz, abaixo da cutícula, aparece uma camada de sílica a qual deve ajudar a limitar a perda de água por transpiração e dificultar a penetração de hifas de fungos. Nas dicotiledôneas como a soja, esta camada não aparece. A repartição do silício

na planta depende da espécie, sendo uniforme nas plantas que acumulam pouco; noutras há maior proporção nas raízes. Em acumuladoras, como é o caso do arroz, cerca de 90% está na parte aérea (MALAVOLTA, VITTI, OLIVEIRA, 1997).

Além desses fatores, as gramíneas são evolutivamente mais adaptadas ao ambiente terrestre do que as dicotiledôneas, tendo assim uma maior facilidade de absorção e deposição de silício (MA; MIYAKE; TAKAHASHI, 2001).

5 – CONCLUSÕES

A técnica do ágar indicador (neste trabalho, o bromocresol púrpuro) é eficiente para o estudo de avaliação do pH de rizosfera, pois evidencia as mudanças qualitativas no mesmo, mas deve ser mais bem avaliada e com outros solos.

Ocorreram diferenças no pH de rizosfera e do solo do rizotron e que as mesmas proporcionaram uma maior disponibilidade do silício.

Não houve diferenças de pH com relação à cultura, mas o fator determinante para estas mudanças foi a região do solo estudado.

O arroz conseguiu absorver mais silício que a soja mesmo não tendo mudado o pH de rizosfera.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRACCINI, M. C. L. et al. Avaliação do pH da rizosfera de genótipos de café em resposta à toxidez de alumínio. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 83-88, 2000.
- COCKER, M. K.; EVANS, D. E.; HODSON, M. J. The amelioration of aluminium toxicity by silicon in wheat (*Triticum aestivum* L.): malate exudation as evidence for a plant mechanism. **Planta**, v. 204, p. 318-323, 1998.
- DINKELAKER, B. et al. Non-destructive methods for demonstrating chemical changes in the rhizosphere I. Description of methods. **Plants and Soil**, v. 155/156, p. 67-70, 1993.
- ELLIOT, C. L., SNYDER, G.H. Rapid gravimetric determination of Si in rice straw. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**. v. 19. p. 1542-1550. 1988.
- EMBRAPA. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análises de solos**. Rio de Janeiro, 1979.
- GIJSMAN, A. **Nitrogen nutrition and rhizosphere pH of Douglas-fir**. 1990. 132 f. Dissertação (Ph.D.) – Rijksuniversiteit Groningen, Groningen. 1990.
- HÄUSSLING, M. et al. An improved method for non-destructive measurements of the pH at the root-soil interface (Rhizosphere). **Journal Plant Physiology**, v. 117, p. 371-375, 1985.

HECMAM, J. R.; STRICK, J. E. Teaching plant-soil relationships with color images of rhizosphere pH. **Journal of Natural Resources and life Sciences Education**. v. 25, n. 1, p. 13-17, 1996.

ILER, R.K. **The Chemistry of Silica**. Wiley, New York, 1979.

JACKSON, M. L. Chemical composition of soils. In: BEAR, S. E (Ed). **Chemistry of the soil**. 2ª ed. New York: Reinhold, 1964. p. 71-141.

JOES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Sílica in soils, plants and animals. **Advances in Agronomy**. v. 19, p. 107-149, 1967.

KORNDÖRFER, G. H. et. al. Avaliação de métodos de extração de silício para solos cultivados com arroz de sequeiro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 101-106. 1999.

KORNDÖRFER, G. H.; SNYDER, G. H.; DATNOFF, L. E. Calibration of soil and plant silicon analysis for rice production. **Journal of Plant Nutrition**, Athens, v. 24, n. 7, p. 1071-1084. 2001.

LARCHER, M. **Ecofisiologia Vegetal**. São Paulo: Rima, 2000. 412-458 p.

MA, J. F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plant. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDÖRFER, G. H. 9Ed). **Silicon in agriculture**, 2001. p. 17-39.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Princípios e Aplicações. Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato. São Paulo: Gráfica NAGY, 201 p. 1987.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Princípios e Aplicações. Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato. 2ª ed. São Paulo: Gráfica NAGY, 319 p. 1997.

- MARSCHNER, H.; ROMHELD, V. Induced pH changes at the soil-root interface. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, v. 111, n. 3, p. 241-251. 1983.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. San Diego: Academic Press, 1986.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. London: Academic Press, 889 p. 1995.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2002. 626 p.
- MCKEAGUE, J. A.; CLINE, M. G. Sílica in soils. *Advances in Agronomy*. v. 15, p. 339-397, 1963.
- METCALFE, C. R. Secretary mineral substances-silica. In: METCALFE, C. R.; CHARK, L. (Ed.). **Anatomy of the dicotyledons**, 2. ed. Oxford: Clarendon Press, 1983. p. 82-94.
- PILET, P. E.; VERSEL, J. M.; MAYOR, G. Growth distribution and surface pH patterns along maize roots. *Planta*. v. 158, p. 398-402. 1983.
- PIPERNO, D. R. **Phytoliths analysis: an archaeological and geological perspective**. San Diego: Academic Press, 1988.
- POSTEK, M. T. The occurrence of sílica in leaves of *Magnolia grandiflora*. *Bot. Gaz.*, v. 142, n. 1, p. 124-134. 1981.
- RAIJ, B. V.; CAMARGO, O. A. Sílica solúvel em solos. *Bargantia*, v. 32, p. 223-236. 1973.
- RAYLE, D. L.; CLELAND, R. E. Enhancement of wall loosening and elongation by acid solutions. *Plant Physiol*. v. 46, p. 250-253. 1970.

- RAVEN, J. A. The transport and function of silicon in plants. **Biology Review**, v. 58, p. 179-207. 1983.
- RÖMHELD, V. pH changes in the rhizosphere of various crop plants in relation to the supply of plant nutrients. **Potash Review**, Berne, subject 6, n. 12, p. 1-8. 1986.
- SÖNDAHL, M. R.; LABORIAU, L. G. Corpos silicosos de gramíneas dos Cerrados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 5, p. 419-430.
- TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of sílica. In: **SCIENCE OF THE RICE PLANT: Physiology. Food and Agriculture**. Policy Res. Center, Tokyo, v. 2, p. 420-433. 1996
- WEISENSEEL, K. S; DORN, A; JAFFE, L. F. Natural H^+ currents traverse growing roots and roots hairs of barley (*Hordeum vulgare L.*). **Plant Physiol.** v. 64, p. 512-518. 1979.
- YOSHIDA, S.; OHNISHI, Y.; KITAGISH, K. *Soil Sci. Plant Nutr.* Tóquio, v. 8, n. 30, p. 113. 1962.