

ESTABILIDADE DA SÍLICA BIOGÊNICA EXTRAÍDA DE CAPIM JARAGUÁ (*Hyparrhenia rufa*) EM SOLUÇÃO DE NaOH

Liovando M. Costa

Departamento de Solos, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa - MG, Brasil

Ana Maria S. S. Moreau* e Mauricio S. Moreau

Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus – Itabuna, km 16, 45650-000 Ilhéus – BA, Brasil

Recebido em 29/10/09; aceito em 20/5/10; publicado na web em 17/9/10

STABILITY OF BIOGENIC SILICA EXTRACT OF JARAGUÁ GRASS (*Hyparrhenia rufa*) IN NaOH SOLUTION. Biogenic silica is used to describe compounds of hydrated silica ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), with specific shapes and sizes, deposited in plants. The chemical composition of biogenic silica and its stability in Jaraguá grass was studied in increasing concentration of NaOH. The analytical results demonstrated high concentration of Si, Al, Fe, Mg, P and low of Cu, Cd and Zn in the phytoliths composition. The silica bodies stability in NaOH solution with increasing concentration was different among the shapes and sizes. Silicified stomata and silicified plant tissues were dissolved along with the dumbbells because they are the less stable forms of biogenic silica.

Keywords: phytoliths; silica bodies; Poaceae.

INTRODUÇÃO

A crosta terrestre possui 27,7% de silício em massa em sua composição e os solos possuem, em média, 32% de Si, predominantemente na forma de minerais silicatados, primários ou secundários.^{1,2} Apesar de o silício ser o segundo elemento mais abundante na crosta terrestre, sua contribuição na composição química dos organismos é relativamente pequena, enquanto o carbono, quimicamente muito semelhante ao silício, mas cuja abundância é muitíssimo menor, é o principal componente dos seres vivos.^{3,4}

Apesar de estar presente em concentrações não desprezíveis nos tecidos vegetais o Si não é considerado, pela grande maioria dos fisiologistas, como um elemento essencial na nutrição de plantas superiores. Epstein^{5,6} defende a essencialidade do silício para algumas espécies vegetais e propõe que, para a maioria, o elemento seria no mínimo benéfico, partindo das observações de que o silício é praticamente onipresente nos vegetais e, em geral, as concentrações de Si são maiores do que as de macronutrientes. Trabalhos como os de Martínez Angel *et al.*⁷ atestam a essencialidade do silício ao demonstrarem a viabilidade técnica de valorizar um resíduo como a casca de arroz, pela obtenção de cinza com altos teores de sílica amorfa (>93%) e baixos teores de carbono (perda ao fogo inferior a 3%).

O quartzo, apesar de ser a forma mais abundante de silício na crosta terrestre, não se constitui numa fonte apreciável de ácido monossilícico para a biota, pois a taxa de intemperização do mesmo é muito baixa.⁸

Nesse sentido, organismos como diatomáceas, esponjas e vegetais superiores teriam um papel relevante no ciclo biogeoquímico do silício, apesar da ênfase maior ser dada à renovação do silício na crosta terrestre via sub-ducção do assoalho oceânico e formação de montanhas, o que requer dezenas ou centenas de milhões de anos.

Não obstante, a acumulação de Si nas plantas é suficiente para afetar a disponibilidade da sílica em solução. Na selva do Congo, na África, 74% do Si solúvel se originou da dissolução de fitólitos. Numa ilha vulcânica do Oceano Índico, registrou-se uma camada de 15 cm de espessura de fitólitos e a acumulação foi favorecida pela presença do bambu e de Si disponível nas cinzas vulcânicas.⁹

A questão da dissolução diferencial de morfotipos diversos de fitólitos é relevante não só para a compreensão do balanço de silício na solução do solo, mas também para interpretação da dinâmica de deposição e movimentação dos fitólitos no solo,¹⁰ de deposição de sedimentos,¹¹ de formação de paleossolos e para análise de sítios arqueológicos. Assim como pólen e esporos, fitólitos fósseis são usados como representativos de antigas formas de vegetação nas pesquisas sobre o Quaternário.¹²

Carnelli *et al.*¹³ analisaram fitólitos de monocotiledôneas, dicotiledôneas e coníferas dos Alpes suíços, detectando, a partir de análises semiquantitativas, virtual ausência de Al em fitólitos de monocotiledôneas, enquanto em fitólitos de folhas de dicotiledôneas e coníferas a presença de Al foi comum. Os autores sugerem que a variabilidade nos teores de Al entre grupos vegetais pode auxiliar na análise de assembleias de fitólitos indicadores de paleoambientes, visto que a maior resistência à dissolução de certos tipos morfológicos, que seriam diferencialmente preservados, levaria a um enriquecimento gradual destes fitólitos nos horizontes mais profundos de solos não perturbados, como observado por Alexandre *et al.*¹⁰

Sabe-se que o teor de Si nas plantas e a concentração de Si solúvel na solução do solo são interdependentes. Quais seriam então os efeitos da aplicação de adubos silicatados sobre a solubilidade de fitólitos? A produção de fitólitos mais susceptíveis à dissolução mais lábeis, nas palavras de Alexandre *et al.*,¹⁰ pode ser uma resposta evolutiva a uma pressão ambiental, talvez escassez de Si (em Latossolos, por exemplo). A adição de adubos ricos em Si ao solo poderia influenciar as condições de formação dos fitólitos nas plantas, quiçá aumentando as concentrações de fitólitos menos solúveis.

Entretanto, a diminuição da solubilidade de fitólitos no solo pode ser desejável, por exemplo, visando aumentar a durabilidade da proteção dos compostos orgânicos oclusos nos corpos silicosos. Avaliando a contribuição do carbono ocluso em fitólitos para o carbono orgânico total do solo em Paleossolos, Parr e Sullivan¹⁴ detectaram aumento na relação C fitólitos/C total com a idade dos estratos, sugerindo que a sílica biogênica confere ao carbono proteção contra a degradação microbiana por um período longo. Esta proteção pode ser quantitativamente maximizada pela otimização dos fatores que afetam a produção de fitólitos pelas plantas.

*e-mail: amoreau@uesc.br

Apesar da relevância do tema e das inúmeras aplicações, a estabilidade da sílica biogênica não tem sido estudada adequadamente por pesquisadores que se dedicam às biomineralizações. A biogeoquímica do silício pode beneficiar-se muito com as informações que podem ser obtidas nos estudos de estabilidade da sílica biogênica.

São muitos escassos os relatos de metodologias visando analisar a dissolução diferencial de diferentes morfologias de fitólitos. As formas mais estáveis de fitólitos podem funcionar como marcadores de mudanças climáticas e de vegetação em estudos do Quaternário e permitem, ainda, estudar a distribuição de plantas nativas ou cultivadas de importância ambiental e econômica em determinada área. Além disto, como já abordado, a constatação da dissolução diferencial de diferentes morfotipos de corpos silicosos pode auxiliar no entendimento da contribuição da sílica biogênica no ciclo biogeoquímico do silício.

PARTE EXPERIMENTAL

Foi selecionada a gramínea forrageira Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*) pela variedade de fitólitos produzidos por ela, sendo encontrados os halteres, os bastonetes lisos e serrilhados, tricomas, os estômatos e tecidos silicificados.¹⁵⁻¹⁷ O material foi coletado em talude de tufo na BR 365, município de Patos de Minas, MG (coordenadas 18° 38' 04" sul e 46° 21' 44" oeste).

Após a lavagem inicial com água de torneira para remoção de impurezas, separaram-se as folhas para extração dos fitólitos. As amostras do material vegetal foram então enxaguadas com água destilada e deionizada, secas ao ar e depois cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm. A seguir, a biomassa fragmentada foi colocada em cadinhos de porcelana e levada à mufla regulada a 500 ± 5 °C por 5 h. Nesse binômio tempo-temperatura, a parte orgânica é transformada em gás carbônico, vapor de água e energia, sobrando as cinzas. Essas são constituídas de fitólitos, carvão e alguns elementos químicos contidos na biomassa queimada. O que realmente interessa são os fitólitos, facilmente identificados por observação microscópica.

Após esse procedimento, amostras de 500 mg das cinzas foram pesadas com precisão analítica e submetidas a tratamento com 40 mL de HCl 0,5 mol L⁻¹ por 4 h. O uso deste ácido na referida concentração objetivou extrair das cinzas os elementos químicos que não constituem os fitólitos propriamente, ou seja, o material pulverizado que não pode ser identificado ao microscópio ótico. Dos ácidos comumente utilizados em laboratório, como HCl, HNO₃ e H₂SO₄, optou-se pelo HCl pela alta solubilidade dos cloretos a partir das cinzas. Apesar do HNO₃ também formar sais muito solúveis, o HCl é mais barato e, em função dos resultados obtidos, foi o ácido selecionado para este trabalho.

Após filtragem, nos extratos obtidos foram determinados Ca, Mg, P, Si, Al, Fe, Mn, Zn, Ni, Cu, Cd, As, Cr e Pb, por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), marca PerkinElmer modelo Optima 3300 DV.

O resíduo desse tratamento constitui-se de fitólitos e para o estudo da estabilidade da sílica biogênica, 250 mg desse material, pesado com precisão analítica, permaneceu em contato por 6 h, com agitações de 20 em 20 min, com NaOH nas concentrações de 0,50; 1,00; 1,50 e 2,00 mol L⁻¹. Esse procedimento foi realizado na temperatura de 25 °C e em banho-maria a 90 °C, com três repetições para cada concentração. Após o período de 6 h, filtrou-se o sobrenadante e nos extratos obtidos foram determinados por ICP OES os elementos Si, Al, Fe, Mg, P, Cu, Cd, Zn, Se, Cr, Pb, Mn, Ni, Ca e As.

Após cada dissolução, sub-amostras dos resíduos foram preparadas em lâminas e observadas ao microscópio ótico para avaliação do comportamento de dissolução dos corpos silicosos. Utilizou-se microscópio óptico Olympus CX31 (com aumentos de 100 e 400

vezes). Assim se pode acompanhar o processo de desgaste dos diferentes corpos silicosos por meio das microfotografias, para registro da dissolução mediante adição crescente de hidróxido de sódio à sílica biogênica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 encontram-se os resultados referentes aos teores dos elementos químicos presentes na cinza do capim Jaraguá, extraídos com HCl 0,5 mol L⁻¹. Os resultados revelam que os principais constituintes da cinza são Ca, Mg, P, Si, Al e Fe. Apesar do baixo teor do silício obtido com HCl, as amostras de capim Jaraguá quando tratadas com NaOH 0,5 mol L⁻¹ a 25 °C apresentaram um aumento de 61 vezes no teor de Si e de 132 vezes a 90 °C, com a menor concentração do hidróxido.

Tabela 1. Análise química do extrato obtido após tratamento da cinza do capim Jaraguá com HCl 0,5 mol/L

Elemento	Teores no extrato	
	mg/kg	%
Ca	13223,69	1,32
Mg	7906,36	0,79
P	5923,37	0,59
Si	3328,82	0,33
Al	572,44	0,057
Fe	503,40	0,050
Mn	153,73	0,0153
Zn	52,64	0,0052
Ni	29,10	0,0029
Cu	16,02	0,0016
Cd	6,45	0,00065
As	2,49	0,00025
Cr	0,54	0,000054
Pb	0,50	0,000050

Segundo Korndörfer *et al.*,¹⁸ os teores totais de Si na planta são classificados como baixos quando menores que 17000 mg kg⁻¹; médios, de 17000 a 34000 mg kg⁻¹ e altos acima de 34000 mg kg⁻¹.

Na Tabela 2 nota-se que os teores de Si nos fitólitos são altos e a temperatura teve um efeito marcante na concentração do silício dissolvido, que passou de 203216 para 439488 mg kg⁻¹ quando a temperatura de reação do NaOH 0,5 mol/L passou de 25 para 90 °C, ou seja 2,1 vezes maior. Com o aumento da concentração da base, o pH aumenta, mas não consegue manter a concentração de Si em solução. Os teores de Si recuperados nos tratamentos à temperatura de 90 °C são maiores que os obtidos a 25 °C, no entanto, a tendência foi de diminuir com o aumento da concentração de hidróxido de sódio. Tudo indica que a 90 °C parte do Si se polimeriza, por isso, a concentração relativa decresce 6% e a 25 °C o acréscimo é de 18%, comparados com a concentração de 0,5 mol/L. Na maior concentração do NaOH houve redução de 26% no teor de Si. Desse modo, a concentração do Si em solução atingiu o ponto máximo, 43,9%, quando a concentração do hidróxido foi de 0,5 mol/L.

Na temperatura de 25 °C ocorre aumento de Si em solução na medida que a concentração do NaOH aumenta. Além disso, a concentração de Si em solução aumentou 30% da primeira para a última concentração da base. Não ocorreu concentração máxima do Si no intervalo de 0,5 a 2,0 mol/L de NaOH. A partir dos dados da Tabela

Tabela 4. Análise química dos extratos de dissolução do capim Jaraguá com quatro concentrações de hidróxido de sódio a 90 °C

Elementos	Tratamentos NaOH (mol/L) (Média de três repetições)				Média Tratamentos	Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
	0,5	1,0	1,5	2,0			
	----- mg/kg -----						%
Si	439488,00	411425,33	353798,00	326825,30	382884,20	44741,46	11,68
Al	219,47	226,83	280,68	377,89	276,22	63,28	22,91
Fe	303,09	146,08	159,28	137,36	186,45	67,79	36,36
Mg	286,88	51,01	21,24	15,79	93,73	112,32	119,83
P	94,16	80,88	79,40	79,97	83,60	6,12	7,32
Cu	9,68	8,27	8,60	7,47	8,50	0,79	9,33
Cd	3,15	3,01	3,04	3,09	3,07	0,05	1,73
Zn	6,72	6,00	8,12	7,52	7,09	0,80	11,31
Ca	41,07	2,32	0,0	0,0	10,85	17,47	161,06
Cr	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pb	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mn	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ni	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Se	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
As	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

diferentes tamanhos postos em contato com o hidróxido de sódio não apresentaram a mesma reatividade com esse reagente, mesmo tendo sido formados na mesma planta e nas mesmas condições ambientais. Isso demonstra que eles têm estabilidades diferentes em meio básico.

Tanto os estômatos como os tecidos silicificados tendem a ser dissolvidos juntamente com os halteres. Os estômatos e os tecidos silicificados devem apresentar estabilidade semelhante. Observa-se ao microscópio (Figura 1a), que a silicificação ocorre nas paredes celulares dos tecidos silicificados. Nesse caso, a superfície de contato entre o hidróxido e as paredes celulares silicificadas é grande, o que facilita em muito a dissolução da sílica nessa parte dos tecidos.

Há uma organização natural da distribuição dos tecidos silicificados nas folhas das plantas (Figura 1a). Esse aspecto pode ser visto com facilidade nas fotos microscópicas obtidas nesta pesquisa. É inevitável a formação de pontos carbonizados nas cinzas, o que dá cor escura na massa queimada. Os fitólitos encontrados nas ilhas de material carbonizado parecem não reagir com o tratamento à base de hidróxido (Figura 2). As substâncias orgânicas, contidas no interior dos fitólitos, podem ser carbonizadas, o que confere cor escura a eles. Sabe-se que todo biomineral tem forma que é definida pelos compostos orgânicos que fazem parte de sua constituição química. É possível que o teor de carbono possa ser diferente dentro do mesmo tipo de sílica biogênica ou entre diferentes tipos. As formas de fitólitos são sintetizadas nos organismos vivos tendo por base uma matriz orgânica. Nas análises de fitólitos, o carbono orgânico é determinado no conjunto de diversos tipos de fitólitos contidos na amostra. Por outro lado, uma análise individual somente seria possível usando técnicas microquímicas.

Algumas plantas produzem cinzas muito claras e outras cinzas muito escuras, nesta última a queima foi incompleta com formação de partículas de carvão. Parece existir uma relação entre a concentração dos fitólitos com cor escura da cinza. A cor escura observada no interior de fitólitos pode ser uma evidência de transformação da matéria orgânica em carvão pela carbonização (Figura 2).

Os tecidos silicificados servem de suporte na distribuição dos diferentes fitólitos em cada planta. Esses tecidos juntamente com os fitólitos evitam o acamamento das plantas que os contêm. Desse

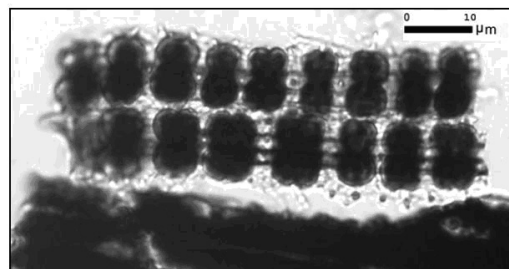


Figura 2. Presença de tecido carbonizado nas cinzas do capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*) após tratamento com NaOH

modo, o silício tem sido recomendado para evitar a quebra de plantas que sofrem esforços no sentido de quebrá-las. Sendo o Si um elemento estrutural, oferece rigidez às diversas partes das plantas, reduzindo a ruptura de partes das plantas submetidas aos ventos ou qualquer outro tipo de estresse mecânico.

Os tecidos silicificados permitem que pedaços de cinzas fluem no ar e podem ser transportados a diferentes distâncias, em função da estabilidade dessa estrutura ou do arranjo natural dos componentes da sílica biogênica. Partículas de cinzas, normalmente de cor escura, de capim Jaraguá podem espalhar-se por uma considerável área a partir do ponto onde o capim é queimado. A referida organização começa a ser alterada à medida que a cinza entra em contato com os reagentes usados na remoção das impurezas ou na dissolução em meio básico. Nesse processo, os halteres do Jaraguá são retirados da estrutura original quando o NaOH rompe os pontos de ligação entre diferentes formas de sílica contidas na planta. Os fitólitos ficam assim individualizados à medida que a concentração do hidróxido aumenta, principalmente aqueles que dependem do suporte dos tecidos silicificados. A Figura 3 ilustra esse fato com muita propriedade.

A dissolução dos halteres foi mais ativa naqueles de tamanhos maiores (Figura 4). Assim, observou-se aumento na concentração relativa dos halteres menores. Esse é um resultado paradoxal, já que os halteres menores têm superfície específica maior, o que deveria

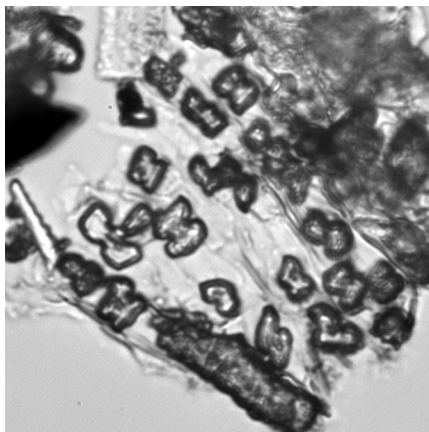


Figura 3. Tecido silicificado do capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), com a presença de fitólito do tipo halter dentro e fora dessa estrutura, após tratamento com HCl 0,5 mol/L

torná-los mais reativos, pois a superfície de contato entre o hidróxido e os fitólitos é maior. Isso mostra que o tamanho dos fitólitos não é a única característica importante na dissolução. Acredita-se que a composição química dos dois tamanhos de halteres possa dar alguma ajuda nesse sentido, no entanto, nas análises químicas, todos os fitólitos são analisados sem levar em conta os tipos e os tamanhos deles, pois, separá-los para serem analisados não é uma tarefa simples.

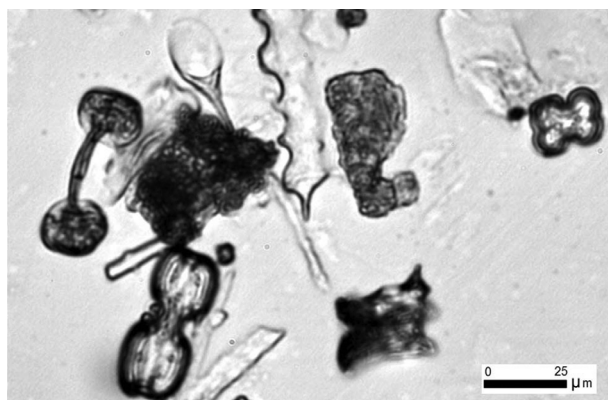


Figura 4. Dissolução dos fitólitos maiores do tipo halteres de capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), em tratamento com hidróxido de sódio 0,5 mol/L

O desgaste dos halteres inicia-se na concentração de hidróxido de sódio 0,5 mol/L e progride para concentrações maiores, especialmente na sua cintura, onde sempre começa a dissolução (Figura 5), e nos tecidos e estômatos silicificados. Nos dois últimos não é possível observar os desgastes diretamente ao microscópio, como são vistos nos halteres. De qualquer forma, nota-se que as estruturas silicificadas começam a diminuir quando comparadas com a amostra que apenas teve contato com o único tratamento feito com o HCl 0,5 mol/L usado para remover as impurezas dos fitólitos (Figura 1). Além disso, as estruturas silicificadas começam a perder o poder de manter os fitólitos agregados a elas.

As fotos mostram que a dissolução é preferencial em pontos definidos dos fitólitos. No caso dos halteres, ela começa pela cintura do fitólito e avança em direção às suas extremidades. A dissolução é mais rápida e severa nos tratamentos em banho-maria a 90 °C. Nestes, a dissolução ocorre mais na transversal do que na direção longitudinal, chegando à quebra da haste que liga as extremidades. Há uma visível deformação dos fitólitos quando a dissolução encontra-se em estágio avançado (Figura 6).

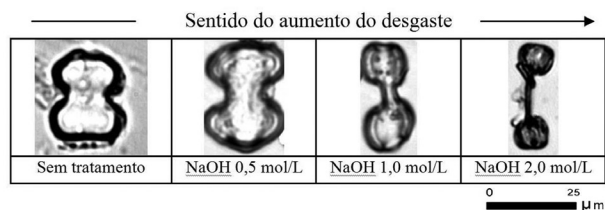


Figura 5. Dissolução de fitólitos do tipo halteres de capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), em doses crescentes de hidróxido de sódio à temperatura ambiente

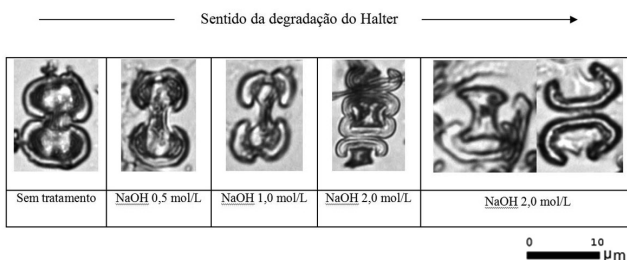


Figura 6. Dissolução de fitólitos do tipo halteres de capim Jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), em doses crescentes de hidróxido de sódio em mufla a 90 °C

CONCLUSÕES

As análises químicas dos extratos obtidos pela reação do NaOH com os fitólitos não foram capazes de mostrar a relação direta da composição química com a estabilidade dos fitólitos. Contudo, os dados analíticos obtidos são úteis para conhecimento da química dos corpos silicosos.

Os fitólitos do capim Jaraguá contêm concentrações consideráveis de Si, Al, Fe, Mg e P, além de concentrações menores de Cu, Cd e Zn.

O desgaste dos fitólitos, especialmente dos halteres, observado ao microscópio óptico, foi eficiente para mostrar a sua instabilidade em meio básico. Este é um procedimento promissor para o estudo da estabilidade de corpos silicosos.

A estabilidade dos fitólitos em meio básico diferiu entre as formas e tamanhos dos mesmos, sendo que estômatos e tecidos silicificados se dissolveram juntamente com os halteres e entre estes, a dissolução foi mais ativa naqueles de tamanhos maiores.

REFERÊNCIAS

- Lindsay, W. L.; *Chemical equilibria in soils*, Wiley-Interscience: New York, 1979.
- Isaji, C.; *Hydrobiologia* **2003**, *504*, 31.
- Iler, R. K.; *The colloid chemistry of silica and silicates*, Cornell University Press: Ithaca, 1955.
- Tréguer, P. C. R.; *Geoscience* **2002**, *334*, 3.
- Epstein, E.; *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 11.
- Epstein, E.; *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1999**, *50*, 641.
- Martinez Angel, J. D.; Pineda Vasquez, T. G.; Junkes, J. A.; Hotza, D.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 1110.
- Exley, C.; *J. Inorg. Biochem.* **1998**, *69*, 139.
- Meunier, J. D.; *Comp. Rend. Geosci.* **2003**, *335*, 1199.
- Alexandre, A.; Meunier, J.-D.; Colin, F.; Koud, J.-M.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **1997**, *61*, 677.
- Hart, D. M.; Humphreys, G. S. Em *Phytolith depth functions in surface regolith materials*; Roach, I. C., ed.; Advances in Regolith, Cooperative Research Centre for Landscape Environments and Mineral Exploration (CRC LEME): Bentley, 2003.
- Runge, F.; *Rev. Paleobot. Palynol.* **1999**, *107*, 23.

13. Carnelli, A. L.; Madella, M.; Theurillat, J. P.; Ammann, B.; *Am. J. Bot.* **2002**, *89*, 346.
14. Parr, J. F.; Sullivan, L. A.; *Soil Biol. Biochem.* **2005**, *37*, 117.
15. Sendulsky, T.; Labouriau, L. G.; *An. Acad. Bras. Ci.* **1966**, *38*, 159.
16. Cavalcante, P. B.; *Botânica* **1968**, *30*, 1.
17. Campos, A. C.; Labouriau, L. G.; *Pesq. Agropec. Bras.* **1969**, *4*, 143.
18. Komdörfer, G. H.; Datnoff, L. E.; Corrêa, G. F.; *J. Plant Nutr.* **1999**, *22*, 93.
19. Sillanpää, M.; *Trace elements in soils and agriculture*, FAO/SIDA: Rome, 1972. (FAO. Soils Bulletin, 17).
20. Kabata-Pendias, A.; Pendias, H.; *Trace elements in soils and plants*, 3rd ed., CRC: Boca Raton, 1985.
21. Alloway, B. J.; *Heavy metals in soils*, Blackie and Son: Glasgow, 1990.
22. Rolim Neto, F. C.; Schaefer, C. E. G. R.; Fernandes Filho, E. I.; Corrêa, M. M.; Costa, L. M.; *Rev. Bras. Ciênc. Solo* **2009**, *33*, 1795.
23. Brownlow, A.H. ; *Geochemistry*, Prentice-Hall: Englewood Cliffs, 1979.
24. Amanuma, K.; Suzuki, K. T.; *Toxicology* **1987**, *44*, 321.
25. *IARC Monogram Evaluating the Carcinogenic Risk to the Human*, International Agency for Research on Cancer: Lyon, 1993, p. 58.
26. Gadd, G. M.; *Experientia* **1990**, *46*, 834.
27. Baker, D. E.; Chesnin, L.; *Adv. Agron.* **1975**, *27*, 305.
28. Moraghan, J. T.; Mascagni, J. R. Em *Environmental and soil factors affecting micronutrient deficiencies and toxicities*; Mortvedt, J. J.; Giordano, P. M.; Lindsay, W. L., eds.; Soil Science Society of America: Madison, 1991.