

TÉCNICAS DE AVALIAÇÃO DA TOXIDEZ DO ALUMÍNIO EM PLÂNTULAS DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) CULTIVADAS EM SOLUÇÃO NUTRITIVA¹

Maria do Carmo Lana Braccini²
Alessandro de Lucca e Braccini²
Herminia Emilia Prieto Martinez²
Paulo Roberto Gomes Pereira²
Paulo Cezar Rezende Fontes²

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de alumínio (Al) no solo, em níveis tóxicos, tem sido considerada importante fator na limitação do crescimento e da produtividade das culturas em regiões com elevada acidez do solo. Embora a prática da calagem permita corrigir ou atenuar os efeitos do Al, a eficiência da correção limita-se à camada de incorporação do corretivo, podendo o subsolo continuar com elevado teor de Al trocável (16).

O efeito nocivo da toxidez de Al manifesta-se, geralmente, bloqueando o crescimento radicular, diminuindo, assim, o volume de solo explorado pelas raízes. Nessas condições, as plantas não conseguem obter água e nutrientes suficientes do subsolo, tornando-se, portanto, menos produtivas (1). Os mecanismos fisiológicos da toxidez de Al no crescimento radicular não são, ainda, bem compreendidos, sendo a inibição da divisão celular um efeito primário, causado pela ligação do Al com ácidos nucléicos, e a inibição da alongação radicular se deve ao efeito

¹Trabalho apresentado como parte das exigências da disciplina FIT 611 (Nutrição Mineral de Plantas).

Aceito para publicação em 18.08.1994.

²Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

desta sobre as células da coifa (10).

Uma das opções que tem sido considerada para contornar esse problema é a exploração do potencial genético dos cultivares. Nem sempre todas as espécies respondem igualmente ao estresse de Al, ao contrário, espécies de plantas e variedades dentro de espécies diferem amplamente na tolerância ao excesso de Al (6).

Os mecanismos de tolerância ao Al podem ser agrupados em duas categorias principais: mecanismos de exclusão e mecanismos de tolerância interna. Mecanismos de exclusão são aqueles em que o Al é impedido de atravessar a membrana plasmática e entrar no simplasto, podendo incluir imobilização na parede celular, permeabilidade seletiva da membrana, barreira de pH induzida pela planta na rizosfera, exsudação de quelatos ligantes, exsudação de fosfatos e efluxo de Al (3, 6, 19). Em contraste, mecanismos de tolerância interna são definidos como casos em que o Al entra no simplasto e a tolerância é obtida pela imobilização, compartimentalização ou desintoxicação, podendo incluir quelatização no citossol por ácidos orgânicos, proteínas ou outros ligantes, compartimentalização no vacúolo e evolução de enzimas tolerantes ao Al (4, 20).

Várias metodologias têm sido propostas para se avaliar a tolerância diferencial ao Al. O uso da coloração por hematoxilina pode indicar, em nível macroscópico, o acúmulo de Al na extremidade de radículas. O critério de avaliação baseia-se no fato de que a hematoxilina, após ser oxidada a hemateína por NaIO_3 e em presença de íons metálicos, tem a propriedade de ser corante de ácidos nucleicos (17). Além disso, breves exposições ao Al podem resultar em sintomas de toxidez, causando inibição mensurável da elongação radicular (21), bem como redução no peso de matéria seca de raízes e parte aérea de plântulas de feijão (12, 13).

O presente estudo teve por objetivo analisar a resposta à toxidez de Al em duas variedades de feijão pelo método de coloração pela hematoxilina, elongação radicular, capacidade de recuperação e peso de matéria seca de raízes de plântulas submetidas ao estresse de Al, com a finalidade de estabelecer possíveis diferenças na tolerância a este elemento e estabelecer procedimentos adequados de seleção.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido em laboratório e em casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em que foram utilizadas plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) das variedades 'Vermelho 2157' (sensível ao Al) e 'Carioca' (tolerante ao Al).

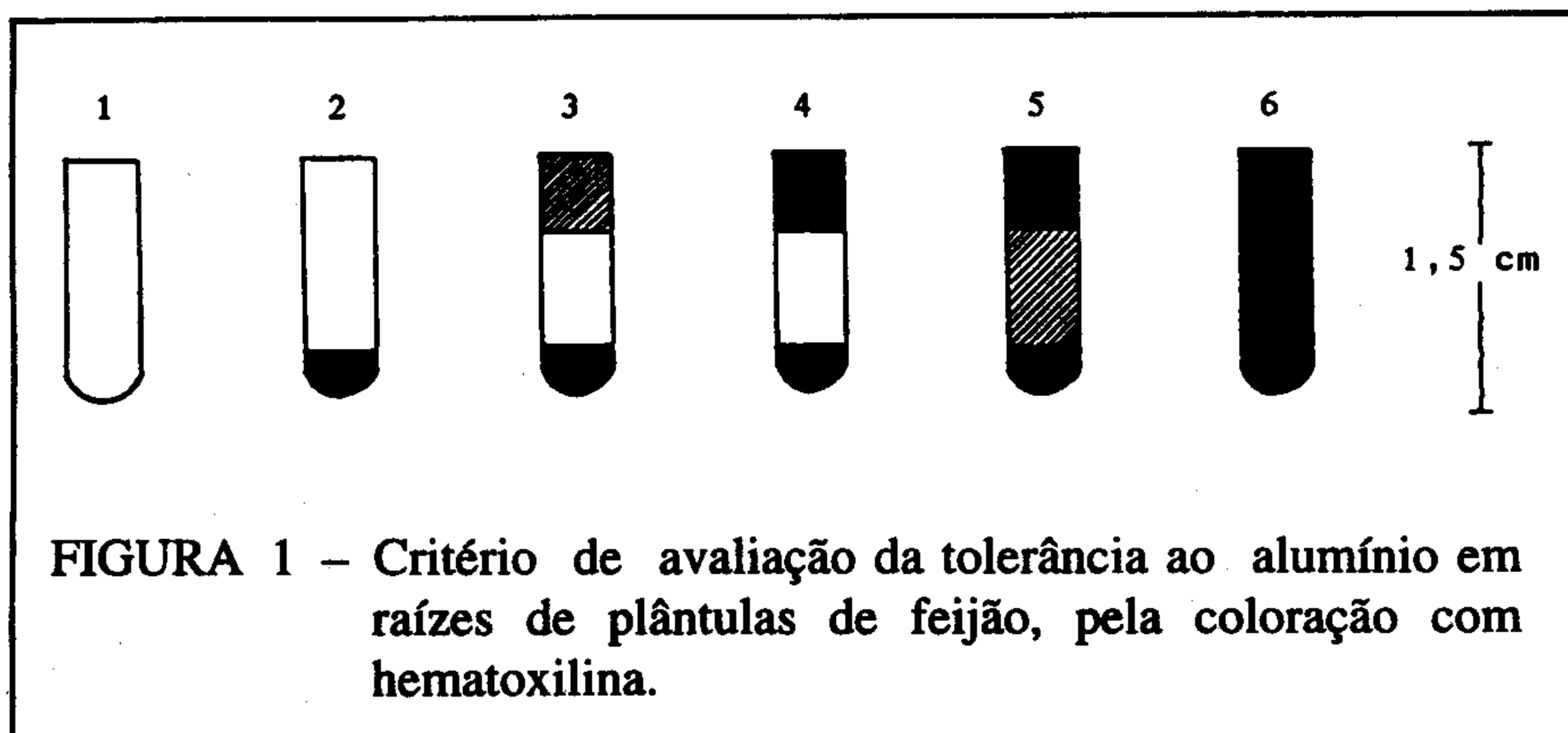
Sementes das duas variedades de feijão foram colocadas para

germinar em rolos de papel-toalha, num total de 50 sementes por rolo, sendo utilizadas três vezes mais sementes que o necessário para o experimento. Em seguida, estas foram levadas a um germinador regulado para manter constante a temperatura de $\pm 25^{\circ}\text{C}$, durante quatro dias.

Após este período, as plântulas foram previamente selecionadas quanto à uniformidade de comprimento da radícula e, posteriormente, transferidas para solução contendo $19 \mu\text{M}$ de Boro (H_3BO_3) e 1 mM de Cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), por dois dias. Em seguida, as plântulas foram fixadas sobre placas de isopor, revestidas com papel alumínio, sendo colocadas em recipientes plásticos de cor preta contendo, cada um, 13 litros da solução de B e Ca, com pH ajustado para 6,5. As plântulas foram mantidas sob aeração constante, fornecida por um compressor.

Após o período de dois dias em solução de B e Ca, as plântulas foram submetidas a dois níveis de alumínio (0 e $3 \mu\text{g/ml}$), fornecido como $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, com pH da solução ajustado para 4,4. Foram utilizados seis períodos de exposição ao Al, após os quais avaliaram-se a intensidade de coloração com hematoxilina e a alongação radicular. Doze e 24 horas após o último período de estresse de Al foi avaliada a capacidade de recuperação das raízes. Para isso, imediatamente após o período de 25 horas de estresse, as plântulas foram colocadas em solução nutritiva completa. Foi avaliado, também, o peso de matéria seca das raízes. O delineamento experimental foi em blocos completos casualizados, com três repetições de cinco plântulas, utilizando-se o esquema fatorial para o arranjo dos tratamentos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

O acúmulo de Al foi avaliado pela coloração com hematoxilina, segundo metodologia proposta por POLLE *et alii* (17), modificada. A solução corante foi preparada dissolvendo-se 1 g de hematoxilina, 0,1 g de NaIO_3 e uma gota de NaOH 0,1 N em um litro de água destilada. As plântulas das variedades 'Vermelho 2157' (sensível) e 'Carioca' (tolerante) foram submetidas ao tratamento contendo $3 \mu\text{g/ml}$ de Al, durante 0, 1, 4, 7, 13 e 25 horas de exposição, após as quais as raízes foram coradas pela hematoxilina. Após cada período de exposição ao Al, as plântulas foram transferidas para frascos contendo água destilada por 40 minutos, em seguida submetidas a solução com hematoxilina por 15 minutos, sendo novamente lavadas em água destilada durante 30 minutos. A porção terminal das raízes (1,5 cm) foi avaliada por meio de uma escala de notas que variou de 1 (maior tolerância) a 6 (menor tolerância), conforme a intensidade e localização da região colorida, segundo o critério adotado por FONSECA Jr. (2) (Figura 1).



A alongação radicular das duas variedades foi avaliada medindo-se o comprimento desde a região do coleto até a extremidade terminal da raiz principal, como utilizado por WALLACE *et alii* (21), das plântulas submetidas a dois níveis de Al (0 e 3 $\mu\text{g/mL}$), durante os seguintes períodos de exposição: 0, 1, 4, 7, 13 e 25 horas. Os resultados da alongação radicular foram expressos em termos relativos, partindo do princípio de que na ausência do alumínio tem-se uma situação ideal e, na presença, há substancial redução relativa da alongação radicular (REDREL), determinada da seguinte forma:

$$\text{REDREL} = 100 - \left[\frac{\text{incremento na presença do Al}}{\text{incremento na ausência do Al}} \right] \times 100$$

Estabeleceram-se os valores relativos para o comprimento após cada período na presença e ausência do Al, obtendo-se, assim, o incremento no crescimento radicular nas duas situações.

Após o último período de exposição ao Al (25 horas), as plântulas foram transferidas para solução nutritiva completa de Clark (1/5 de força), por 12 e 24 horas, para avaliação da capacidade de recuperação. Ao final destes dois períodos, foi medido o comprimento da raiz principal, seguindo-se metodologia descrita anteriormente.

O peso de matéria seca das raízes de plântulas das duas variedades foi avaliado ao final do período de 24 horas de recuperação, colocando-se as raízes em sacos de papel para secar em estufa com circulação de ar, à temperatura de aproximadamente 70°C, durante 72 horas, sendo, posteriormente, pesadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Coloração com Hematoxilina

No Quadro 1 encontram-se os dados referentes à coloração das raízes de plântulas de feijão pela hematoxilina. A análise de variância dos resultados desta avaliação revelou diferença significativa para tempo de exposição e variedade, mas não para a interação tempo x variedade. Observa-se claramente, crescente acúmulo de Al nos tecidos radiculares com o aumento do tempo de exposição ao elemento, porém no último período de exposição (25 horas) não foi possível observar comportamento distinto entre as variedades. Considerando-se que a tolerância estaria relacionada com o menor acúmulo de Al, a variedade 'Carioca' mostrou-se significativamente mais tolerante que a 'Vermelho 2157', principalmente nos períodos iniciais de exposição ao Al.

QUADRO 1 – Médias estimadas das classes de coloração pela hematoxilina das raízes de plântulas de duas variedades de feijão, submetidas a seis tempos de exposição ao alumínio¹

Tempo (hora)	Variedade		Média
	'Carioca'	'Vermelho' 2157'	
0	1,00	1,00	1,00 f
1	2,00	2,33	2,17 e
4	2,33	3,00	2,67 d
7	4,00	5,00	4,50 c
13	5,00	5,33	5,17 b
25	6,00	6,00	6,00 a
Média	3,39 B	3,78 A	
C.V. (%)	11,65		

¹ As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, na linha, ou minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Após 1 hora de exposição das raízes ao Al foi possível diferenciar as variedades com relação ao acúmulo deste elemento. Contudo, o período de sete horas de exposição ao elemento (Quadro 1) foi considerado o melhor para avaliação da tolerância diferencial, sendo possível estabelecer classes distintas de coloração pela hematoxilina, de acordo com a escala proposta por FONSECA Jr. (2) (Figura 1).

As duas variedades mostraram-se diferentes quanto à afinidade da coloração pela hematoxilina. A variedade 'Carioca' apresentou bandas intermediárias não-coloridas ou com coloração menos intensa na porção terminal da raiz principal, nos períodos de 4, 7 e 13 horas de exposição ao Al, enquanto a 'Vermelho 2157' apresentou coloração mais intensa desta região nos mesmos períodos. Contudo, a porção da raiz que se tornou colorida pela hematoxilina após os períodos de exposição ao elemento foi pequena, comparada com a massa total do sistema radicular, concentrando-se na região meristemática até 1,5 cm da coifa. O comprimento da área colorida, bem como a intensidade da coloração, tendeu a aumentar com a duração do tratamento com Al, concordando com os resultados obtidos por WALLACE *et alii* (21).

O local onde ocorreu a reação de coloração coincidiu com a região de alongamento celular, indicando maior acúmulo de Al nestas células, especialmente para a variedade mais sensível ('Vermelho 2157'). NAIDOO *et alii* (15) encontraram maior acúmulo do elemento nas células da coifa de raízes de feijão e algodão tratadas com alumínio.

A coloração das raízes de plântulas de feijão pela hematoxilina mostrou ser um método rápido, mas isoladamente não pode ser considerado um método de seleção adequado para tolerância ao Al em variedades de feijão. Esta avaliação deve ser acompanhada por medidas de crescimento radicular e de produção de matéria seca.

Os resultados obtidos neste experimento sugerem que algum mecanismo de exclusão possa estar envolvido na tolerância diferencial ao Al por esta espécie, pelo fato de as raízes da variedade 'Carioca' expostas ao Al, após coloridas pela hematoxilina, ao serem colocadas novamente em água destilada por algumas horas, perderam parcialmente a coloração característica, indicando que a maior parte do Al estaria presente no apoplasto das raízes, possivelmente adsorvido aos grupos carboxílicos dos ácidos poligalacturônicos da parede celular (19, 20). Outro mecanismo de exclusão proposto para feijão seria a liberação de ácidos orgânicos, como citrato, que promoveriam a quelatização do Al na rizosfera (8, 14).

3.2. *Elongação Radicular*

A análise de variância dos dados da redução relativa da elongação

radicular (REDREL) mostrou efeito significativo para variedade, tempo de exposição ao Al e interação variedade x tempo de exposição. O REDREL representa o quanto a alongação radicular foi reduzida pela presença do Al.

Verificou-se que o Al, na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$, causou grande inibição no alongamento das raízes da variedade sensível 'Vermelho 2157' nos períodos iniciais de exposição a este elemento, conforme observado pelos valores de REDREL (Quadro 2). WALLACE *et alii* (21), trabalhando com plântulas de trigo, observaram que a alongação radicular foi claramente inibida após quatro ou mais horas de exposição ao tratamento com 5 $\mu\text{g/mL}$ de Al. O Al limita o crescimento radicular, possivelmente, por afetar a divisão celular, reduzindo a plasticidade e elasticidade da parede celular (7).

QUADRO 2 – Valores da redução relativa da alongação radicular (REDREL) das raízes de plântulas de duas variedades de feijão, submetidas a cinco tempos de exposição ao alumínio ¹

Tempo exposição hora	Variedade		Média
	'Carioca'	'Vermelho 2157'	
	%		
1	25,72 Bc	65,24 Aa	45,48
4	38,84 Bbc	65,65 Aa	52,25
7	45,79 Abc	43,22 Ab	44,51
13	54,53 Bab	61,75 Aab	58,14
25	71,97 Aa	72,72 Aa	72,35
Média	47,37	61,72	
C.V. (%)	20,72		

¹ As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, na linha, ou minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

A variedade 'Vermelho 2157' mostrou ser mais sensível ao Al, exceto para os períodos de 7 e 25 horas de exposição ao elemento, apresentando valores de REDREL superiores aos da variedade 'Carioca' (Quadro 2). Essa diferença foi mais evidente após uma hora de exposição ao Al, em que a variedade 'Carioca' apresentou redução da ordem de

25,72% na alongação radicular, enquanto a 'Vermelho 2157' teve redução de 65,24%. Em média, a alongação radicular se reduziu a 61,72%, em relação ao incremento que poderia ser obtido na ausência do Al, enquanto para a variedade 'Carioca' essa redução foi de 47,37%.

Observou-se uma relação direta entre redução na alongação radicular e intensidade de coloração com hematoxilina, ou seja, a variedade 'Vermelho 2157', que apresentou coloração mais intensa após a exposição ao Al, apresentou, também, maior redução na alongação radicular.

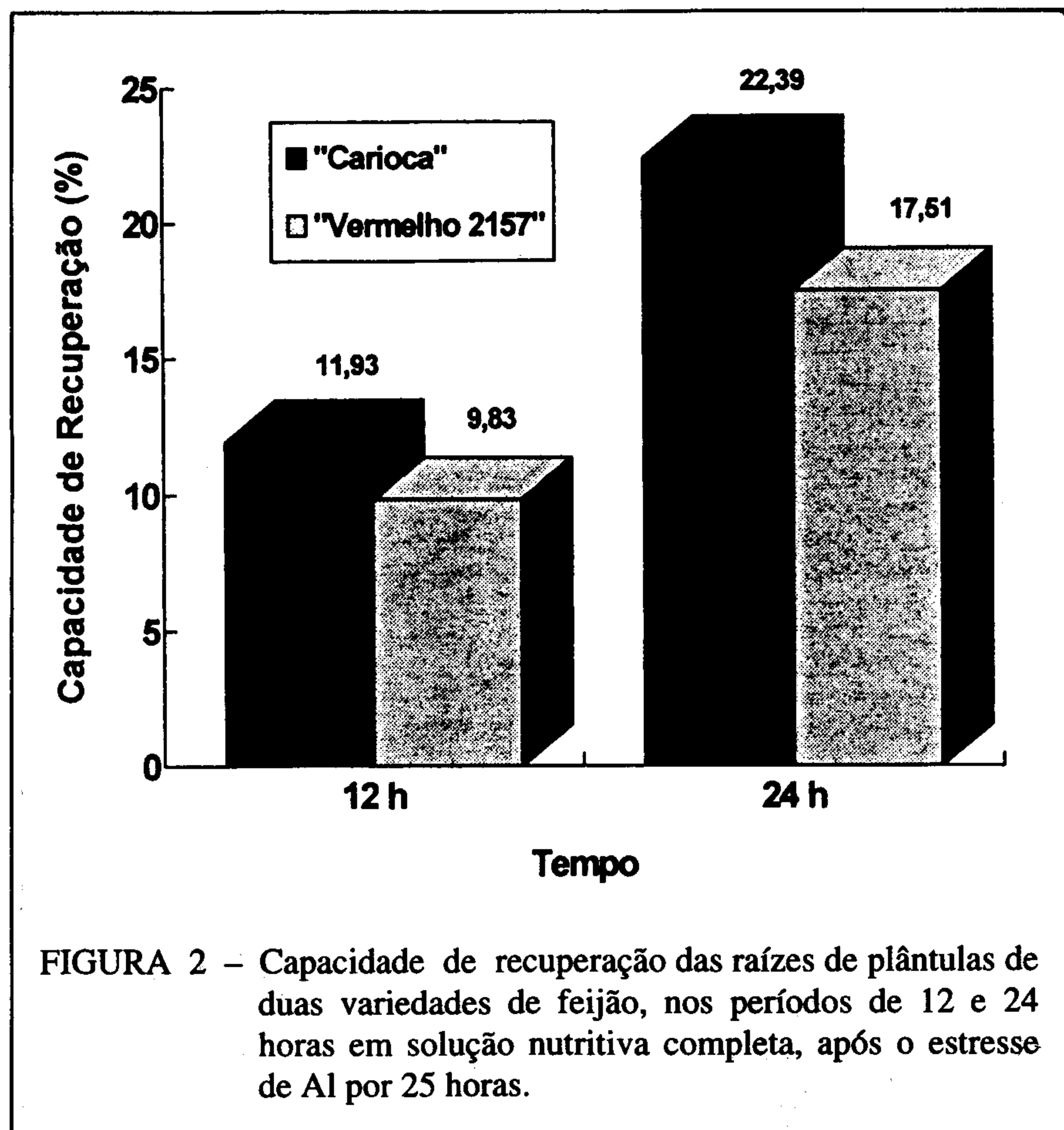
3.3. Capacidade de Recuperação

A capacidade de recuperação após a remoção do estresse de Al (Figura 2) repetiu o padrão descrito para alongação radicular, refletindo a maior sensibilidade da 'Vermelho 2157'. No período de 24 horas, as raízes da variedade 'Vermelho 2157' cresceram 17,51% em relação ao crescimento das raízes de plantas não-estressadas, enquanto para a 'Carioca' esse valor foi de 22,39%, indicando sua maior capacidade de recuperação. Observou-se, entretanto, que a variedade 'Carioca' continuou a emitir raízes laterais (Figura 3), mesmo na presença do Al, o que foi comprovado pela maior produção de matéria seca de suas raízes (Quadro 3). Assim, pode-se supor que a maior emissão de raízes laterais reduziu a translocação de fotoassimilados e nutrientes para a raiz principal, reduzindo os valores obtidos para alongação radicular e capacidade de recuperação.

QUADRO 3 – Médias estimadas do peso de matéria seca das raízes de plântulas de duas variedades de feijão, submetidas aos tratamentos com e sem alumínio¹

Variedade	Tratamento		Média
	Com Al	Sem Al	
	mg		
'Carioca'	27,33	30,67	29,00 a
'Vermelho 2157'	19,33	22,67	21,00 b
Média	23,33 B	26,67 A	
C.V. (%)	7,42		

¹ As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula, na linha, ou minúscula, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.



FOY (3) observou que a tolerância do trigo ao Al estava associada à maior habilidade em continuar a elongação radicular e em resistir a danos morfológicos na ponta da raiz principal e raízes laterais, sob estresse de Al, além de iniciar novas raízes laterais, quando o estresse era removido.

Acredita-se que o menor crescimento das raízes laterais na variedade 'Vermelho 2157' (Figura 3) poderia estar associado à sua maior sensibilidade ao Al. Dessa forma, foi possível concluir que o maior número de raízes laterais foi um bom parâmetro para explicar a tolerância ao Al por esta espécie. Segundo FOY *et alii* (5), as raízes do cultivar de feijão sensível ao Al tiveram seu crescimento retardado, com o aparecimento de raízes curtas e grossas, e redução no número de raízes laterais por unidade de raiz principal. Verificou-se que as raízes das

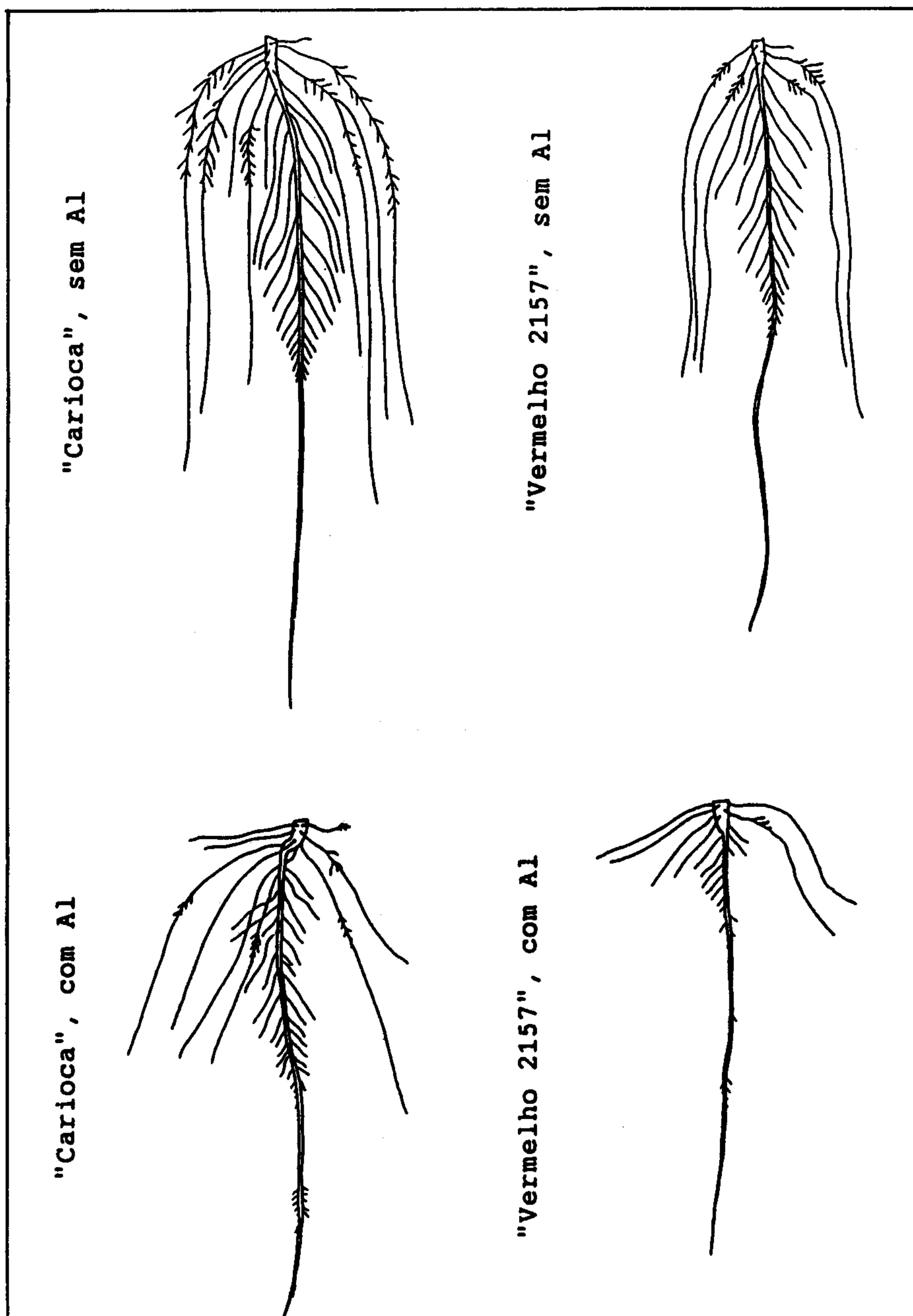


FIGURA 3 – Aspecto do sistema radicular de plântulas de feijão das variedades 'Carioca' e 'Vermelho 2157', submetidas aos tratamentos com e sem alumínio.

plântulas das duas variedades, quando submetidas ao estresse de Al, apresentavam-se mais curtas, engrossadas e com coloração marrom, ocorrendo uma desestruturação visível na região meristemática, tornando as raízes mais quebradiças e com uma aparência coralóide.

3.4. *Produção de Matéria Seca das Raízes*

Observou-se que o Al, na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$, reduziu significativamente a produção de matéria seca de raízes de feijão das variedades 'Carioca' e 'Vermelho 2157' (Quadro 3). Resultados semelhantes, com diferentes espécies e variedades, foram obtidos por outros autores (1, 11, 12, 18).

Embora não tenha havido efeito significativo para a interação variedade x tratamento, a variedade 'Carioca' teve sua produção de matéria seca reduzida em 10,9% sob estresse de Al, enquanto para a variedade 'Vermelho 2157' esta redução foi de 14,7%, o que sugere a menor tolerância desta última variedade ao Al.

Diferindo do relatado por MALAVOLTA *et alii* (9), para plântulas de sorgo e feijão, neste trabalho, a produção de matéria seca de raízes não se mostrou uma característica adequada para a seleção de material tolerante ao Al.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

O acúmulo de Al na região meristemática da raiz, avaliado pela coloração desenvolvida pelo uso da hematoxilina; o peso de matéria seca; a alongação radicular de plântulas submetidas a estresse de Al; e a capacidade de recuperação da taxa de crescimento após a exposição ao Al podem ser usados para avaliar a sensibilidade de diferentes variedades ao alumínio. Com base nessas considerações, foi conduzido um experimento em casa de vegetação, com o objetivo de correlacionar a sensibilidade de duas variedades de feijão, 'Vermelho 2157' (sensível) e 'Carioca' (tolerante), com essas características. Plântulas das duas variedades foram submetidas a dois níveis de Al (0 e 3 $\mu\text{g/mL}$), durante períodos de 0, 1, 4, 7, 13 e 25 horas, após os quais foram avaliadas a intensidade de coloração com hematoxilina e a alongação radicular. A capacidade de recuperação foi avaliada colocando-se as plântulas por 12 e 24 horas em solução nutritiva completa, após o período de estresse de Al de 25 horas. Após o último período de recuperação, foi avaliado o peso de matéria seca das raízes. A coloração mais intensa na região meristemática, especialmente para a variedade 'Vermelho 2157', indicou maior acúmulo de Al. Foi observada diferença entre as variedades com relação à alongação radicular,

em curtos períodos de exposição ao Al. A capacidade de recuperação e o peso de matéria seca de raízes não se mostraram diferentes entre as variedades tolerante e sensível. Dentre os procedimentos empregados, a redução relativa da elongação radicular (REDREL), após uma hora de exposição ao Al, e o número de raízes laterais, após o período de 24 horas de recuperação do estresse, mostraram-se os mais promissores como técnicas de seleção, seguidos pela coloração com hematoxilina, após sete horas de exposição ao Al. Os resultados sugerem que mecanismos de exclusão estejam envolvidos na tolerância ao Al por esta espécie.

5. SUMMARY

(TECHNIQUES FOR EVALUATION OF ALUMINUM TOXICITY IN BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) SEEDLINGS CULTIVATED IN NUTRIENT SOLUTION)

Al accumulation at the tip of the root evaluated by hematoxylin staining, dry matter weight, root elongation of seedling under Al stress and regrowth capacity after Al exposure can be used to evaluate Al tolerance of different varieties. An experiment was conducted in a greenhouse to correlate the differential response of Al tolerance in two bean varieties, 'Vermelho 2157' (sensitive) and 'Carioca' (tolerant), with these characteristics. Seedlings from both varieties were exposed to two levels of Al (0 and 3 ug/mL) during periods of 0, 1, 4, 7, 13 and 25 hours, after which the intensity of hematoxylin staining and root elongation were evaluated. Regrowth capacity was determined by transferring the seedlings into a recovery solution for 12 and 24 hours, after an Al stress period of 25 hours. After the last period of regrowth, dry matter weight was determined. The more intense staining at the root tip (especially for variety 'Vermelho 2157') revealed a greater Al accumulation. Differences between the two varieties were observed in relation to root elongation after brief exposures to Al. Regrowth capacity and root dry matter weight did not present any differences between the sensitive and tolerant varieties. Among the procedures applied, the relative reduction of the root elongation, after 1 hour of Al exposure and the number of lateral roots, after 24 hours of stress recovery were the most promising techniques, followed by hematoxylin stainability after 7 hours of Al exposure. The results suggest that exclusion mechanisms may be involved in the Al tolerance by this species.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Tânia Maria Leal Barbosa, Paulo Cesar

Lima Marrocos e Quintino Reis Araujo, alunos da disciplina FIT 611 - Nutrição Mineral de Plantas, pela participação na condução do experimento.

7. LITERATURA CITADA

1. FERREIRA, R.P. *Tolerância de cultivares de soja (Glycine max (L.) Merrill) ao alumínio em solução nutritiva*. Viçosa, UFV, 1983. 53 p. (Tese M.S.).
2. FONSECA Jr., N.S. *Estudo da herança da tolerância ao alumínio em soja (Glycine max (L.) Merrill), pelo método da hematoxilina*. Viçosa, UFV, 1982. 46 p. (Tese M.S.).
3. FOY, C.D. Effects of aluminum in plant growth. In: CARSON, E.W. (ed.). *The plant root and its environment*. Charlottesville, Univ. Press of Virginia, 1974. p. 601-642.
4. FOY, C.D. Plant adaptation to acid, aluminum-toxic soils. *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.*, 19: 959-987, 1988.
5. FOY, C.D.; FLEMING, A.L. & GERLOFF, G.C. Differential aluminum tolerance in two snapbean varieties. *Agron. J.*, 64: 815-818, 1972.
6. FOY, C.D.; CHANEY, R.L. & WHITE, M.C. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29: 511-566, 1978.
7. KLIMASHEVSKII, E.L. & DEDOV, V.M. Localization of the mechanism of growth-inhibiting action of Al³⁺ in elongating cell walls. *Sov. Plant Physiol.*, 28: 1040-1046, 1976.
8. LEE, E.H. & FOY, C.D. Aluminum tolerance of two snapbean cultivars related to organic acid content evaluated by high-performance liquid chromatography. *J. Plant Nutr.*, 9: 1481-1498, 1986.
9. MALAVOLTA, E.; NOGUEIRA, F.D. & OLIVEIRA, I.P. Aluminum tolerance in sorghum and bean - methods and results. *J. Plant Nutr.*, 3: 687-694, 1981.
10. MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. London, Academic Press, 1986. 674 p.
11. MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C. & BARCELO, J. Aluminum tolerance assessment in bush bean cultivars by root growth analysis and hematoxylin staining. *Suelo y Planta*, 1: 25-32, 1991.
12. MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C. & BARCELO, J. Uptake, translocation and efficiency of nutrients in *Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender exposed to aluminum. *Suelo y Planta*, 2: 571-579, 1992.
13. MASSOT, N.; POSCHENRIEDER, C. & BARCELO, J. Differential response of three bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to aluminum. *Acta Bot. Neerl.*, 41: 293-298, 1992.
14. MIYASAKA, S.C.; BUTA, J.G.; HOWELL, R.K. & FOY, C.D. Mechanism of aluminum tolerance in snapbeans - root exudation of citric acid. *Plant Physiol.*, 96: 737-743, 1991.
15. NAIDOO, G.; STEWART, J.McD. & LEWIS, R.J. Accumulation sites of Al in snapbeans and cotton roots. *Agron. J.*, 70: 489-492, 1978.
16. OLMOS, I.L.J. & CAMARGO, M.N. Ocorrência de alumínio tóxico nos solos do Brasil, sua caracterização e distribuição. *Ciência e Cultura*, 28: 171-180, 1976.
17. POLLE, E.; KONZAK, C.F. & KITTRICK, J.A. Visual detection of aluminum tolerance levels in wheat by hematoxylin staining of seedling roots. *Crop Sci.*, 18: 823-827, 1978.

18. SCOTT, B.J.; FISHER, J.A. & SPOHR, L.J. Tolerance of Australian wheat varieties to aluminium toxicity. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 23: 509-526, 1992.
19. TAYLOR, G.J. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 19: 1179-1194, 1988.
20. TAYLOR, G.J. Current views of the aluminum stress response; the physiological basis of tolerance. *Current Topics in Plant Biochem. and Physiol.*, 10: 57-93, 1991.
21. WALLACE, S.U.; HENNING, S.J. & ANDERSON, I.C. Elongation, Al concentration, and hematoxylin staining of aluminum-treated wheat roots. *Iowa State J. Res.*, 57: 97-106, 1982.