

NODULAÇÃO DE TREVO-BRANCO INOCULADO COM DUAS ESTIRPES DE *RHIZOBIUM TRIFOLIUM* SOB DIFERENTES NÍVEIS DE Al E Mn EM SOLUÇÃO NUTRITIVA¹

EDEMAR BROSE² e EDOARD SCHAFFARTH³

RESUMO - Trabalho conduzido em solução nutritiva com trevo-branco e duas estirpes de *Rhizobium trifolii*, num pH 4,6 com seis níveis de Al (0, 25, 50, 75, 100 e 125 μM) e dois níveis de Mn (10 e 200 μM). As estirpes de rizóbio utilizadas foram EEL 8382 (suscetíveis a Al) e EEL 13882 (tolerante a Al). O objetivo principal do trabalho foi verificar qual o nível crítico de Al para selecionar estirpes tolerantes e eliminar as suscetíveis. Com base na nodulação e produção de matéria seca, os resultados demonstraram que 50 μM de Al foi o nível crítico para a estirpe tolerante EEL 13882 nos dois níveis de Mn. A estirpe suscetível EEL 8382 sofreu o efeito tóxico do Al no nível de 25 μM e com 10 μM de Mn, sendo que quando o Mn foi aumentado para 200 μM o efeito tóxico do Al só ocorreu no nível de 50 μM . Nos níveis de 0 a 50 μM de Al não houve um efeito significativo sobre o desenvolvimento da raiz, o que indica que as diferenças na nodulação se devem mais ao efeito do Al sobre o rizóbio do que ao efeito indireto deste elemento sobre a planta. Uma possível interação entre os níveis de Al e Mn também são discutidos neste trabalho.

Termos para indexação: rizóbio, alumínio, manganês, pH.

NODULATION OF WHITE CLOVER INOCULATED WITH TWO *RHIZOBIUM TRIFOLIUM* STRAINS UNDER DIFFERENT Al AND Mn LEVELS IN NUTRIENT SOLUTION

ABSTRACT - A trial in nutrient solution was carried out with clover and two *Rhizobium trifolii* strains on pH 4.6 with six levels of Al (0, 25, 50, 75, 100 and 125 μM) and two levels of Mn (10 and 200 μM). The main objective was to identify the critical level of Al to select the Al tolerant and eliminate the Al susceptible strains. The rhizobia strains used were EEL 8382 (Al susceptible) and EEL 13882 (Al tolerant). The critical level of Al on the tolerant strain EEL 13882 was 50 μM in base of plant nodulation and dry matter production on both levels of Mn. The susceptible strain EEL 8382 was inhibited with 25 μM of Al at 10 μM of Mn, whereas on 200 μM of Mn the Al was toxic at 50 μM . On the range of 0 to 50 μM of Al it did not affect significantly the root elongation, thus the effect of Al on the plant nodulation is attributed as a more direct effect on the rhizobia sensitivity than on the plant root. A possible interaction between Al and Mn is discussed.

Index terms: rhizobia strains, aluminum, manganese, pH.

INTRODUÇÃO

O alumínio (Al) quase sempre está associado com os solos ácidos, ocorrendo, na maioria das vezes, em níveis tóxicos, tanto para a planta como para o *Rhizobium trifolii*. Tem sido comprovado que o Al, mesmo em concentrações baixas, pode causar efeitos inibitórios sobre a multiplicação do rizóbio. Nos últimos anos, têm aumentado os trabalhos de seleção de estirpes de rizóbio com tolerância a baixo pH e alto Al. A maioria dos trabalhos demonstram que existe uma variação grande entre as estirpes quanto à

capacidade de se multiplicarem nos meios de pH que variam de 4,5 a 5,5 e com teores de Al de até 50 μM (Keyser et al. 1979, Thornton & Davey 1983, Wood et al. 1984a e Brose 1984).

O efeito do pH, até certo nível, é mais marcante sobre o rizóbio e sobre a formação do nódulo do que propriamente sobre o desenvolvimento da raiz da planta (Vincent 1965, Lie 1969 e Munns 1970). O Al, no entanto, afeta mais severamente a ambos, sendo em primeiro lugar o rizóbio, e em segundo, o desenvolvimento do pêlo radicular da planta (Cooper et al. 1983, Wood et al. 1984ab, Carvalho et al. 1982).

O limite mínimo do pH, tanto para o crescimento do rizóbio como para a nodulação da planta, varia conforme a espécie vegetal. Em alfafa (*Medicago sativa* L.) com pH de 5,5 para baixo já foi observado o efeito inibitório sobre a nodulação (Munns 1968); em trevo-branco e trevo-vermelho, o limite de pH foi de 5,0 (Wood et al. 1984ab, e Shil'nikova & Nesterova 1969). Os limites de tolerância dos rizó-

¹ Aceito para publicação em 9 de março de 1989.

Trabalho conduzido na Estação Experimental da EMPASC em Lages, financiado pela EMBRAPA.

² Eng. Agr., M.Sc., Estação Experimental da EMPASC, Caixa Postal 181, CEP 88500 Lages, SC.

³ Eng. - Agr., EMPASC/Centro de Pesquisas para Pequenas Propriedades (CPPP), Caixa Postal 151, CEP 89800 Chapecó, SC.

bios para estas espécies também estão próximos a estes valores de pH, muito embora as variações entre estirpes de rizóbio da mesma espécie vegetal hospedeira sejam maiores devido ao diferente grau de tolerância de cada estirpe (Thornton & Davey 1983, Keyser et al. 1979 e Keyser & Munns 1979b). O mesmo ocorre com o Al, mas com efeito muito mais severo. Este efeito do Al, no entanto, pode ser amenizado pelo aumento das concentrações de cálcio. Wood et al. (1984a) encontraram que o efeito de 50 µM de Al sobre a alongação da raiz de trevo-branco num pH de 4,3 e 4,7 foi reduzido quando foi aumentada a concentração de Ca de 50 para 1000 µM.

O Mn, em muitos casos, também está associado com o baixo pH no solo. Trabalhos realizados mostram, no entanto, que os efeitos tóxicos deste elemento são quase nulos (Keyser & Munns 1979a, Holding & Lowe 1971, Mayz de Manzi et al. 1984, e Wood et al. 1984a), a não ser em níveis acima de 730 µM (Holding & Lowe 1971).

O presente trabalho teve como objetivo ver qual o nível crítico do Al sobre a nodulação e o desenvolvimento da raiz de trevo-branco para trabalhos de seleção de estirpes tolerantes, e qual o efeito de um nível considerado não-tóxico de Mn em presença do Al.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testadas duas estirpes de *Rhizobium trifolii*: EEL 8382 (isolado 83/82) e EEL 13882 (isolado 138/82) em solução nutritiva com pH 4,6 em seis níveis de Al (0, 25, 50, 75, 100 e 125 µM) sob dois níveis de Mn (10 e 200 µM). As duas estirpes de rizóbio foram isoladas na Estação Experimental de Lages (EEL) da EMPASC. A planta hospedeira foi o *Trifolium repens* cv. Ladino Regal. As duas estirpes utilizadas foram de comprovada eficiência, porém a EEL 8382 foi suscetível a pH 4,6 e 50 µM de Al, e a EEL 13882 foi tolerante a este mesmo tratamento, conforme testes já realizados anteriormente (Brose 1984).

A solução nutritiva utilizada para o crescimento das plantas foi a descrita por Cooper et al. (1983), sendo que o Al foi utilizado na forma de $Al_2(SO_4)_3$, e o Mn, na forma de $MnSO_4$, autoclavados separadamente e depois adicionados ao meio estéril. Para ajustar o pH, foi utilizado HCl ou NaOH a 0,05 N. As sementes foram desinfectadas com hipoclorito de sódio a 2,0% do princípio ativo de Cl, pré-germinadas em placas esterilizadas, e transplantadas duas plantas por tubo de ensaio 30 x 200 mm contendo 15 ml do meio acima referido, solidificado com ágar em forma de bisel, conforme citado por Gibson (1980). Após o transplante, foram adicionados mais 10 ml da solução líquida, e esta foi renovada semanalmente, para manter constante o pH e a concentração dos nutrientes.

O experimento foi um delineamento fatorial de 2 x 2 x 6 com as variáveis estirpes, Mn e Al, respectivamente, com blocos completamente casualizados e quatro repetições.

Após 45 dias, foi feita avaliação da produção de matéria seca, número de plantas noduladas, e comprimento da raiz.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão os resultados da produção de matéria seca e número de plantas noduladas. A estirpe EEL 8382 foi altamente suscetível ao Al na ausência de Mn, ou seja, no primeiro nível de Al (25 µM) o número de plantas noduladas baixou de 7 para 2, ao passo que na presença de 200 µM de Mn o efeito tóxico do Al só ocorreu a partir de 50 µM de Al, sendo que o efeito tóxico só se deu a partir de 75 µM nos dois níveis de Mn. Nos níveis de 0 a 50 µM de Al, a estirpe EEL 13882 foi significativamente superior a EEL 8382 ($p < 0,01$) pelo teste de Duncan, sendo que acima deste nível não houve mais diferença significativa entre as duas estirpes.

O desenvolvimento da raiz variou significativamente, em função dos níveis de Al e das estirpes, ao passo que o Mn não teve efeito (Tabela 3). Com a estirpe EEL 13882, a raiz apresentou um desenvolvimento médio superior a EEL 8382 nos dois níveis de Mn. Considerando cada combinação dos níveis de Al e Mn, a diferença entre o comprimento da raiz foi significativa em função das estirpes apenas nos níveis de 0, 50 e 100 µM de Al com 200 µM de Mn, pelo teste de Duncan (Tabela 2).

Na produção de matéria seca houve também interação significativa entre as estirpes e os níveis de Al, como também entre os níveis de Mn e Al (Tabela 3). Nos níveis de 25 µM de Al e 200 µM de Mn houve uma interação positiva tanto na produção de matéria seca como no crescimento das raízes (Tabelas 1 e 2).

Na Tabela 4 estão as correlações entre produção de matéria seca, número de plantas noduladas e comprimento de raiz para cada estirpe nos dois níveis de Mn. A produção de matéria seca se correlacionou muito mais com o número de plantas noduladas do que com o comprimento da raiz nos dois níveis de Mn e nas duas estirpes. O coeficiente r para produção de matéria seca com o número de plantas noduladas variou de 0,929 a 0,948, sendo que para o comprimento da raiz esta variação esteve entre 0,363 até 0,857. Da mesma forma, o número de plantas com o comprimento de raiz apresentou coeficientes de correlação bem inferiores (0,513 a 0,877).

Na comparação entre as duas estirpes, no trata-

TABELA 1. Número de plantas noduladas e produção de matéria seca da parte aérea de trevo-branco inoculado com estirpes de *Rhizobium trifolii* (EEL 8382 e EEL 13882) em seis níveis de Al e dois de Mn em solução nutritiva com pH 4,6. Médias de quatro repetições com duas plantas por tubo.

Níveis de Al (µM)	10 µM de Mn					200 µM de Mn				
	Nº de plantas noduladas		Prod. de mat. seca (mg/tubo)			Nº de plantas nodul.		Prod. de mat. seca (mg/tubo)		
	EEL 8382	EEL 13882	EEL 8382	EEL 13882	Médias	EEL 8382	EEL 13882	EEL 8382	EEL 13882	Médias
0	7	8	4,8 bcd	8,6 a	6,7	5	8	5,8 bcd	7,6 ab	6,4
25	2	8	3,0 cde	7,0 ab	5,0	7	7	6,5 abc	8,8 a	7,7
50	3	7	3,8 cde	5,5 bc	5,1	2	6	1,2 e	5,4 bcd	4,4
75	0	2	1,6 e	2,2 de	1,9	1	1	3,3 de	2,2 e	2,2
100	0	1	1,4 e	2,1 de	1,8	1	3	2,3 e	3,8 cde	3,0
125	2	1	2,0 de	1,3 e	1,6	0	3	1,5 e	4,0 cde	2,8
Médias	2,3	4,5	2,7	4,4	3,7	2,7	4,7	3,4	5,3	4,4

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, pelo teste de Duncan (P < 0,05).

TABELA 2. Comprimento de raiz (cm) de trevo-branco inoculado com duas estirpes de *Rhizobium trifolii* (EEL 8382 e EEL 13882) em seis níveis de Al e dois de Mn em solução nutritiva com pH 4,6. Médias de quatro repetições com duas plantas por tubo.

Níveis de Al (µM)	10 µM Mn			200 µM Mn		
	EEL 8382	EEL 13882	Médias	EEL 8382	EEL 13882	Médias
	cm					
0	7,0 abc	8,2 a	7,6	5,8 cd	8,2 abc	7,0
25	6,5 abcd	8,8 a	7,6	9,8 a	9,2 a	9,6
50	8,0 ab	7,9 ab	7,9	4,0 d	9,0 ab	6,5
75	4,8 cde	6,8 abc	5,8	6,0 cd	4,8 d	5,4
100	5,2 bcde	6,5 abcd	5,8	4,0 d	6,5 bcd	5,2
125	3,2 e	3,8 de	3,5	4,2 d	4,5 d	4,4
Médias	5,8	7,0	5,9	5,6	7,1	6,4

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente, pelo teste de Duncan (P < 0,05).

TABELA 3. Quadrado médio da análise da variância para a produção de matéria seca e comprimento de raiz.

Causas da variância	GL	Matéria seca	Comprimento de raiz
Estirpes	1	68,85 (P < 0,001)	40,04 (P < 0,001)
Mn	1	11,5 (P < 0,005)	0,04 (P < 0,902)
Al	5	70,78 (P < 0,001)	43,47 (P < 0,001)
Estirpes x Mn	1	7,7 x 10 ⁻⁶ (P < 0,994)	0,38 (P < 0,725)
Estirpes x Al	5	8,44 (P < 0,022)	2,97 (P < 0,567)
Mn x Al	5	6,83 (P < 0,056)	5,67 (P < 0,107)
Est. x Mn x Al	5	5,15 (P < 0,142)	9,70 (P < 0,011)
Resíduo	72	3,01	3,01

O valor P representa o nível de significância calculado para cada causa de variação.

TABELA 4. Coeficientes de correlação r entre produção média de matéria seca, número total de plantas noduladas e comprimento médio de raiz nos seis níveis de Al.

Combinações de variáveis	10 μM Mn		Estirpes	200 μM Mn	
	EEL 8382	EEL 13882		EEL 8382	EEL 13882
MS x nº pl. noduladas	0,948**	0,932**		0,929**	0,939**
MS x comprim. raiz	0,363 NS	0,825*		0,857*	0,843*
Nº pl. nodul. x comprim. raiz	0,513 NS	0,868*		0,877*	0,849*

* Correlação significativa ao nível de 5%. MS Produção de matéria seca.

** Correlação significativa ao nível de 1%. NS Correlação não-significativa.

mento sem Al, a estirpe suscetível (EEL 8382) apresentou rendimento bem inferior ao da EEL 13882 (Tabela 1). Estas duas estirpes quando foram testadas anteriormente em solução nutritiva em pH 6,5, apresentaram a mesma eficiência. No entanto, quando testadas em pH 5,0, a EEL 8382 foi inferior quanto à produção de matéria seca (Brose 1984); provavelmente por esta razão é que se observou um decréscimo na produção de matéria seca por esta estirpe, com um baixamento ainda maior do pH, visto na Tabela 1. Por outro lado, a estirpe tolerante (EEL 13882) apresentou produção de matéria seca decrescente em função do aumento de 0 a 50 μM de Al, embora, não tendo variado significativamente no número de plantas noduladas. Acima de 50 μM de Al a diminuição na produção de matéria seca foi mais drástica devido ao menor número de plantas noduladas (Tabela 1). Uma possível diminuição da atividade da nitrogenase através de uma mutação de bactéria, causada pelo Al seria difícil de comprovar apenas com os resultados obtidos neste trabalho. A diminuição na produção de matéria seca na faixa de 0 a 50 μM de Al pode ser atribuída unicamente à menor nodulação e ao efeito tóxico do Al sobre a planta (Tabela 1). O efeito do Al diretamente sobre o rizóbio encontra subsídio no trabalho realizado por Carvalho et al. (1982) com *Stylosanthes*, onde se sugere que o efeito do Al é maior na fase de infecção e formação do nódulo, e não, sobre o processo da fixação do N_2 . Munns & Keyser (1981) também concluíram que o efeito do Al ocorre impedindo a multiplicação celular da estirpe bacteriana sem produzir uma mutação espontaneamente, sendo que o grau de tolerância da estirpe é uma propriedade estável. Outro efeito indireto do Al, comprovadamente conhe-

cido, é sobre a fisiologia da planta, pela redução do crescimento radicular e pelo aumento da viscosidade do protoplasma celular da raiz, o que faz diminuir a permeabilidade aos sais e à água (Johnson & Jackson 1964, Lee 1971 e Foy & Brown 1963, 1964).

Nos níveis de 200 μM de Mn e 25 μM de Al, ocorreu efeito interativo aumentando o comprimento da raiz e o peso de matéria seca nas duas estirpes. No número de plantas noduladas, esta interação só ocorreu na estirpe suscetível (Tabelas 1 e 2). Torna-se difícil explicar esta ocorrência, em face de escassez de trabalhos estudando especificamente uma possível interação entre Al e Mn. Algumas hipóteses poderiam ser levantadas para explicar esta ocorrência: A primeira é a lei das concentrações mínimas dos elementos essenciais para as plantas, que é mais comum ser detectado quando se trabalha em condições hidropônicas. A segunda hipótese pode ser também uma possível competição entre cátions, em função da sua atividade iônica e das concentrações de cada elemento na solução. Wood et al. (1984a) observaram, também, que 200 μM de Mn em solução nutritiva produziu um aumento no comprimento da raiz de trevo-branco na faixa de pH de 4,3 a 5,5. Estes autores constataram, também, que o Mn interagiu significativamente entre pH, Ca e Al. No presente trabalho houve também interação significativa, entre estirpes, de Mn e Al no comprimento da raiz ($P < 0,011$). De acordo com a hipótese da atividade iônica dos elementos, o Mn^{2+} apresenta uma atividade iônica maior do que Al^{3+} (Richburg & Adams 1970). Na concentração de 25 μM de Al pode ter havido uma absorção maior de Mn em substituição ao Al, dada a diferença de concentrações e a atividade iônica entre estes dois elementos, podendo,

desta forma, ter diminuído o efeito tóxico do Al sobre a planta. Em termos de nodulação da planta, este efeito tornou-se mais pronunciado com a estirpe suscetível (EEL 8382), uma vez que a estirpe tolerante não sofreu os efeitos tóxicos do Al até a concentração de 50 μM .

A falta de correlação entre o comprimento da raiz (Tabela 4) com a produção de matéria seca ($r = 0,363$) e o número de plantas noduladas ($r = 0,513$) na estirpe suscetível (EEL 8382), no nível de 10 μM de Mn, deve-se ao fato de o Al ter tido efeito maior sobre o rizóbio do que sobre o desenvolvimento da raiz da planta (Tabelas 1 e 2). Pelo teste de Duncan, até o nível de 50 μM de Al o efeito sobre o crescimento da raiz não foi significativo. Semelhante resultado também foi observado no trabalho realizado por Wood et al. (1984b), em que se estudaram os efeitos do pH e Al sobre a nodulação de trevo-branco, verificando-se que em pH 5,5 o Al afetou a multiplicação do rizóbio mas não o desenvolvimento da raiz, e em pH 4,7 o efeito do Al sobre a raiz também foi inibido por concentrações maiores de Ca (1000 μM), sendo que no presente trabalho o nível de Ca utilizado foi de 500 μM .

CONCLUSÕES

1. A estirpe EEL 13882 foi tolerante a 50 μM de Al em pH 4,6, e a estirpe EEL 8382 foi suscetível a este nível.
2. O efeito do Al foi maior sobre as estirpes de rizóbio e nodulação da planta do que sobre o desenvolvimento da raiz.
3. O aumento de Mn de 10 μM para 200 μM na solução mascarou o efeito do Al na estirpe suscetível EEL 8382 no nível de 25 μM de Al.

AGRADECIMENTOS

Ao pesquisador Luis Carlos Greiner, pela análise estatística realizada.

REFERÊNCIAS

BROSE, E. Seleção de estirpes de *Rhizobium trifolii* para trevo-branco tolerantes a baixo pH e fósforo e alto alumínio e manganês. In: REUNIÃO LATINOAMERICANA SOBRE RHIZOBIUM, Campinas, São Paulo, 1984. p.79-90.

- CARVALHO, M.M. de; EDWARDS, D.G.; ASHER, C.J.; ANDREW, C.S. Effects of aluminum on nodulation of two *Stylosanthes* species grown in nutrient solution. **Plant Soil**, **64**:141-52, 1982.
- COOPER, J.E.; WOOD, M.; HOLDING, A.J. The influence of soil acidity factors on rhizobia. In: JONES, D.G. & DAIRE, D.S. ed. **Temperature legumes: physiology, genetics and nodulation**. Pitman, s.ed., 1983. p.319-35.
- FOY, C.D. & BROWN, J.C. Toxic factors in acid soils. I: Characterization of aluminum toxicity in cotton. **Soil Sci. Am. Proc.**, **28**:27-32, 1963.
- FOY, C.D. & BROWN, J.C. Toxic factors in acid soils. II: Differential aluminium tolerance of plant species. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, **28**:27-32, 1964.
- GIBSON, A.H. Methods for legumes in glasshouses and controlled environment cabinets. In: BERGERSEN, F.J. ed. **Methods for evaluating biological nitrogen fixation**. New York, John Wiley, 1980. p.139-184.
- HOLDING, A.J. & LOWE, J.F. Some effects of acidity and heavy metals on the *Rhizobium* leguminous plant association. **Plant Soil**, Special Volume, 153-66, 1971
- JOHNSON, R.E. & JACKSON, W.A. Calcium uptake and transport by wheat seedlings as affected by aluminum. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, **28**:381-6, 1964.
- KEYSER, H.H. & MUNNS, D.N. Effect of calcium, manganese and aluminium on growth rhizobia in acid media. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, **43**:500-3, 1979a.
- KEYSER, H.H. & MUNNS, D.N. Tolerance of rhizobia to acidity, aluminum and phosphate. **Soil Sci. Soc. Am. Proc.**, **43**:519-23, 1979b.
- KEYSER, H.H.; MUNNS, D.N.; HOHENBERG, J.S. Acid tolerance of rhizobia in culture and in symbiosis with cowpea. **Soil Sci. Am. Proc.**, **43**:729-22, 1979.
- LEE, C.R. Influence of aluminium on plant growth and mineral nutrition of potatoes. **Agron. J.**, **63**:604-8, 1971.
- LIE, T.A. Effects of low pH on different phases of nodule formation in pea plants. **Plant Soil**, **31**:391-406, 1969.
- MAYZ de MANZI, J.; SIM, N.; CARTWRIGHT, P.M. Cowpea rhizobia: variation in acid tolerance and the effects of aluminum and manganese ions. **Tropical Grain Legumes Bulletin**, **27**:17-20, 1984.
- MUNNS, D.N. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. I. acid-sensitive steps. **Plant Soil**, **28**(1):129-46, 1968.
- MUNNS, D.N. Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. V. calcium and pH requirements during infection. **Plant Soil**, **32**:90-102, 1970.
- MUNNS, D.N. & KEYSER, H.H. Responses of *Rhizobium* strains to acid and aluminium stress. **Soil Biol. Biochem.**, **13**:115-8, 1981.

- RICHBURG, J.S. & ADAMS, F. Solubility and hydrolysis of aluminium in soil solutions and saturated-paste extracts. **Soil Sci. Am. Proc.**, **34**:728-34, 1970.
- SHIL'NIKOVA, V.K. & NESTEROVA, I.M. Infection threads in clovers nodules at various pH of the medium. **Izv. Akad. Nauk SSSR Ser. Biol.** (5):777-9, 1969.
- THORNTON, F.C. & DAVEY, C.B. Acid tolerance of *Rhizobium trifolii* in culture media. **Soil Sci. Am. Proc.**, **47**:496-501, 1983.
- VINCENT, J.M. Environmental factors in the fixation of nitrogen by the legumes. In: BARTHOLOMEW, W.L. & CLARKE, F.E. ed. **Soil Nitrogen**. s.l., American Society of Agronomy, 1965. p.384-435.
- WOOD, M.; COOPER, J.E.; HOLDING, A.J. Soil acidity factors and nodulation of *Trifolium repens*. **Plant Soil**, **78**:367-79, 1984a.
- WOOD, M.; COOPER, J.E.; HOLDING, A.J. Aluminium toxicity and nodulation of *Trifolium repens*. **Plant Soil**, **78**:381-91, 1984b.