

## Efeito do alumínio e do sulfato sobre a atividade da sulfúrilase do ATP e sobre o teor de tióis solúveis em dois cultivares de sorgo

**Carlos Moacir Bonato**

*Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá-Paraná, Brazil.  
e-mail: cmbonato@dbi.uem.br*

**RESUMO.** A enzima sulfúrilase do ATP catalisa a primeira etapa do processo de assimilação de sulfato, e um aumento na sua atividade pode estar relacionado com a produção de tióis solúveis, compostos supostamente relacionados com tolerância a diversos tipos de estresse. Neste experimento, procurou-se verificar a possibilidade de isto estar ocorrendo em plantas sob toxicidade de Al. Para isso, submetem-se dois cultivares de sorgo, Al-tolerante e Al-sensível, a duas concentrações de S (0 e 0,6 mM) e a duas de Al (0 e 0,185 mM), durante 10 dias, em solução nutritiva de Clark, pH 4,0. A atividade específica da sulfúrilase do ATP aumentou, na presença de Al, apenas nas raízes dos dois cultivares, que não diferiram entre si. Na ausência de S, a atividade total da sulfúrilase do ATP foi extremamente baixa, independentemente da presença de Al. Na presença de S, sua atividade aumentou enormemente, grande parte da qual foi eliminada pela presença de Al, especialmente nas folhas do cultivar sensível. Desta forma, o teor de tióis solúveis foi sempre maior que nas raízes e aumentou quando se omitiu o S. Na ausência de S, o Al aumentou o teor de tióis nos dois cultivares, mas, na presença, não afetou ou reduziu no cultivar sensível e tolerante, respectivamente. Nas raízes, independentemente da presença de S, o tratamento com Al resultou em aumento no teor de tióis. O cultivar tolerante apresentou teor médio de tióis 76 e 81% superior ao cultivar sensível na presença e na ausência de Al, respectivamente.

**Palavras chave:** tolerância ao alumínio, estresse, atividade enzimática.

**ABSTRACT. Effects of aluminum and sulphate on ATP sulphurylase activity and on soluble thiol content in two sorghum cultivars.** The ATP sulphurylase enzyme catalyzes the first step of the sulphate assimilation process and its activity increase can be related to the production of soluble thiols, compounds supposedly connected with tolerance to several stress types. The aim of this experiment was to verify the possibility of this process in plants under Al toxicity and two sorghum cultivars, one Al - tolerant and the other Al - sensitive, were submitted to two S concentrations (0 and 0.6mM) and to two Al concentrations (0 and 0.185mM) for a period of ten days in a Clark nutrient solution at 4.0pH. The specific activity of ATP sulphurylase in the presence of Al increased only in the root system of both cultivars but showed no difference between them. In the absence of S, the total activity of ATP sulphurylase was extremely low, independently of Al presence. In the presence of S, its activity was highly increased but a great part of it was eliminated in the presence of Al, especially in the leaves of the sensitive cultivar where soluble thiol content was always higher than in the root system and increased in the absence of S. In the absence of S, Al increased thiol content in both cultivars, but in the presence of S it did not affect or reduce in either sensitive or tolerant cultivar. Independent from the presence of S, the treatment with Al resulted in a thiol content increase in the root system. The tolerant cultivar showed an average thiol content respectively >76% and 81% higher than the sensitive cultivar in the presence or absence of Al.

**Key words:** aluminum tolerance, stress, enzymatic activity.

A toxicidade do alumínio (Al) é um dos mais importantes fatores que limitam a produtividade das culturas em solos ácidos, os quais compreendem

acima de 40% das terras aráveis do mundo (Fageria e Zimmermann 1979; Kochian, 1995). No Brasil, aproximadamente 1,8 milhões de km<sup>2</sup> de solos estão

sob vegetação de cerrado, em que há predominância de forte acidez, deficiência extrema de P, Ca, Mg e níveis elevados de Al e Mn. A baixa produtividade e a baixa resposta de muitos desses solos à fertilização podem ser, em grande parte, atribuídas à presença de Al em níveis tóxicos.

O Al parece acumular-se, principalmente, no sistema radicular das plantas, sendo pequena a quantidade translocada para a parte aérea. A região do ápice das raízes parece ser o tecido alvo, refletindo os efeitos desse íon sobre o sistema radicular das plantas (Foy, 1966, 1974, 1992). Em consequência, ocorre rápida redução do crescimento do sistema radicular, considerado como indicativo de estresse de Al em planta (Pavan e Bingham, 1982). Em geral, o Al interfere na absorção, no transporte e na utilização de vários nutrientes pela planta (Foy, 1974; Foy e Fleming, 1978; Calbo e Cambraia, 1980; Roy *et al.* 1988). Em nível celular, o Al interfere com o metabolismo de açúcares fosforilados, nucleotídeos e ácidos nucleicos, inclusive DNA (Clarkson, 1966 e 1969; Minocha *et al.* 1992 e Matsumoto *et al.*, 1976). O Al forma complexos com ATP e inibe as ATPases e outras fosfatases da membrana plasmática, dificultando ou impedindo a utilização da energia contida nas ligações do ATP pelas células (Calbo e Cambraia, 1980 e Cambraia, 1989). A grande maioria dos trabalhos com Al enfoca o efeito desse elemento sobre o metabolismo de Ca, P, Mg, N e outros elementos, mas pouco se conhece a respeito da influência do Al sobre o metabolismo do enxofre (S).

A maior parte do S é absorvida pelo sistema radicular na forma de  $\text{SO}_4^{2-}$  por um processo ativo (Marschner, 1995), mediante carreador protéico específico (Ansari e Bowling, 1972 e Schiff, 1983). A deficiência desse elemento pode acarretar redução na taxa de fotossíntese líquida e síntese de proteínas. Grande parte do  $\text{SO}_4^{2-}$  absorvido é translocada para a parte aérea, onde é assimilado. O processo de assimilação envolve a redução do sulfato e a formação de intermediários antes da incorporação do S reduzido a compostos orgânicos. Em plantas superiores, as enzimas de redução e assimilação estão localizadas nos cloroplastos e nos plastídeos (Marschner, 1995).

O primeiro passo na assimilação do S é a ativação do íon  $\text{SO}_4^{2-}$  pelo ATP, catalisado pela enzima sulfúrilase do ATP. Essa enzima é amplamente distribuída na natureza, e sua atividade é regulada, tanto pela nutrição do S quanto pela do N.

Estudos envolvendo Al e S quanto a aspectos metabólicos são bastante escassos em plantas e ainda está indefinido se o efeito do Al sobre a absorção do

sulfato ocorre diretamente sobre o transportador ou sobre as enzimas de redução/assimilação ou se é indireto, eliminando o suprimento de energia para esses sistemas. Assim, este trabalho teve por objetivo estudar a ação tóxica do Al sobre a atividade da Sulfúrilase do ATP e sobre a formação de compostos intermediários, representados pela fração denominada tióis solúveis totais.

## Material e métodos

No experimento, foram utilizados dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench): o BR007A (cultivar sensível ao Al) e o BR006R (cultivar tolerante ao Al), fornecidos pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG.

As sementes, selecionadas quanto ao tamanho e forma, após tratamento com hipoclorito de sódio 2%, foram colocadas para germinar em cartuchos de papel imersos em solução nutritiva de Clark (1975), com 1/3 de força iônica, sob arejamento. Após sete dias, as plântulas foram selecionadas quanto ao tamanho e transferidas em número de quatro para vasos plásticos com capacidade de 1,5l, contendo solução nutritiva completa de Clark (1975), pH 4,0 onde permaneceram por três dias. Após esse período, a solução nutritiva foi renovada e aplicadas duas doses de  $\text{SO}_4^{2-}$  (0 e 0,6mM) na forma de  $\text{MgSO}_4$  e duas doses de Al (0 e 0,185mM) na forma de  $\text{AlCl}_3$ .

O experimento foi conduzido em sala de crescimento com temperatura controlada ( $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ), fluxo de fótons de  $230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 16h. Os vasos receberam arejamento contínuo e o pH da solução nutritiva foi ajustado diariamente para 4,0.

Após 10 dias de exposição aos tratamentos, as plantas foram colhidas, lavadas em água corrente e, a seguir em água desmineralizada, secas em papel toalha, divididas em raízes e parte aérea.

Para extração dos tióis solúveis totais, 500mg de matéria fresca de cada parte da planta foram homogeneizadas em nitrogênio líquido e, em seguida, adicionaram-se 5 mL do tampão constituído de EDTA 1mM e de ácido acético 0,1M, com o pH ajustado para 2,0. Após centrifugação do homogeneizado a  $10.000 \times g$  por 30 min, retirou-se alíquota de 1,0mL do sobrenadante, à qual acrescentaram-se 2,0mL do reagente de Ellman (Obata e Umehayashi, 1993). O teor de tióis solúveis totais foi determinado com base na absorvância medida a 412nm, utilizando-se uma curva padrão de cisteína.

A enzima sulfúrilase do ATP foi extraída segundo metodologia descrita por Schmutz e Brunold (1982).

Amostras de 500mg do material vegetal (folha e raiz) foram homogeneizadas em nitrogênio líquido e, em seguida, adicionaram-se 5mL de tampão Tris-HCl 0,1M, pH 8, contendo MgCl<sub>2</sub> 2mM, KCl 100 mM e DTE 10 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 x g por 15min e o sobrenadante foi utilizado para a avaliação da atividade da enzima.

A atividade da sulfúrilase do ATP foi determinada com base na metodologia descrita por Adams e Johnson (1968), com algumas modificações. A 0,8mL do meio de reação, contendo 18,75 μmol MgCl<sub>2</sub>, 187,5 μmol de tampão Tris-HCl, pH 9,0 e 4,69 μmol de pCMB (p-cloromercuribenzoato), foi adicionado 0,2mL do extrato enzimático, seguindo-se incubação a 25°C por 5 min. A seguir, adicionou-se ao meio 0,5mL de uma solução contendo 60μmol de Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> (ou 120μmol NaCl para o branco) e 30μmol de ATP, sendo feita nova incubação a 25°C. Após 20min, paralizou-se a reação com a adição de 1mL de TCA 10% p/v gelado. Após centrifugação, tomou-se uma alíquota de 0,1mL do sobrenadante e determinou-se o fósforo inorgânico liberado de acordo com Lindemann (1958).

Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial (2x2x2), correspondendo, respectivamente, aos dois cultivares, às duas doses de Al e às duas doses de S, no delineamento de blocos casualizados com três repetições.

## Resultados e discussão

O teor de tióis solúveis totais nas folhas foi sempre maior do que no sistema radicular, independentemente do tratamento aplicado ou do cultivar analisado (Tabela 1). A maior parte (90%) destes tióis solúveis totais é constituída de glutatona e localiza-se predominantemente nas folhas (Marschner, 1995).

**Tabela 1.** Teor de tióis solúveis totais nas folhas e no sistema radicular de dois cultivares de sorgo na ausência e na presença de Al e de S

Doses do elemento	Teor de tióis solúveis totais				
	S	Folhas		Sistema radicular	
		Sensível	Tolerante	Sensível	Tolerante
Al					
	mM	mmol kg <sup>-1</sup> MF			
0	0	<sup>b</sup> 0,60Ab	<sup>b</sup> 1,05Aa	<sup>b</sup> 0,26Aa	<sup>b</sup> 0,28Aa
	0,6	<sup>a</sup> 0,42Bb	<sup>a</sup> 0,80Ba	<sup>b</sup> 0,25Aa	<sup>b</sup> 0,26Aa
0,185	0	<sup>a</sup> 0,77Ab	<sup>a</sup> 1,40Aa	<sup>a</sup> 0,36Aa	<sup>a</sup> 0,36Aa
	0,6	<sup>a</sup> 0,40Bb	<sup>b</sup> 0,66Ba	<sup>a</sup> 0,35Aa	<sup>a</sup> 0,33Ba

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas para cada dose de S e pela mesma letra sobrescrita e subscrita à esquerda para cada dose de Al, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente pelo teste F, a 5% de probabilidade

Tanto na ausência como na presença de Al, observou-se decréscimo no teor de tióis nos dois

cultivares com a adição de sulfato à solução nutritiva. Esse comportamento, em parte, pode ser explicado pelo fato de que algumas enzimas responsáveis pela redução/assimilação de sulfato, como a sulfúrilase do ATP, podem ser reprimidas na presença de níveis supra-ótimos de S (Adams e Rinne, 1969; Reuveny e Filner, 1977; Wilkinson, 1994).

O cultivar tolerante apresentou um teor médio de tióis 76 e 81% superior ao cultivar sensível, na presença e na ausência de Al, respectivamente. É evidente, em todos os tratamentos, a maior capacidade do cultivar tolerante em manter altos teores de tióis solúveis, em relação ao cultivar sensível.

Na presença de Al, mas na ausência de S, observou-se aumento no teor de tióis solúveis totais nos dois cultivares, tendo o cultivar tolerante apresentado maior incremento nesse teor. Na presença de S, na solução nutritiva, o Al reduziu o teor de tióis solúveis totais apenas no cultivar tolerante, embora esse teor ainda tenha sido maior do que no cultivar sensível.

No sistema radicular, na ausência de Al, estando o S presente ou não, os teores de tióis solúveis totais não sofreram alterações significativas nos dois cultivares (Tabela 1).

Na presença de Al, observou-se aumento médio de 39 e 28% no teor de tióis nos cultivares sensível e tolerante, respectivamente. Na presença de metais pesados, como o Cd na concentração de apenas 50 μM, observa-se acúmulo de tióis de até 300% (Rüeggsegger e Brunold, 1992; Florijn *et al.*, 1993). Trabalho recente de Kochian (1995) mostra haver ainda pouca evidência de que o Al induza a produção de compostos sulfurados de baixo peso molecular como as fitoquelatinas. Em alguns casos, o Al parece induzir a síntese de certas proteínas no ápice radicular de algumas plantas, mas, na maioria das vezes, essas proteínas foram encontradas tanto nos cultivares tolerantes quanto nos sensíveis ao Al (Cruz-Ortega e Ownby, 1993). O aumento dessas proteínas parece ser consequência do estresse causado pelo Al, mas não um mecanismo de tolerância. Fica evidente, dessa forma, que o aumento no teor de tióis solúveis totais, desencadeado pela presença do Al, principalmente no sistema radicular, não é componente importante no mecanismo de tolerância ao Al, porém apenas um desvio do metabolismo do S, em razão do estresse causado por esse elemento.

Nas folhas, a atividade da sulfúrilase do ATP não apresentou variação significativa com a adição de S e de Al à solução nutritiva (Tabela 2). Os cultivares também não diferiram entre si em qualquer das

doses de S e Al estudadas. A atividade da sulfúrilase do ATP geralmente aumenta em condições limitantes de sulfato (Reuveny e Filner, 1977; Zink, 1984; Adams e Rinne, 1969), parecendo existir estreita relação entre a absorção do sulfato e a sua atividade (Cacco *et al.*, 1977). Neste experimento, entretanto, talvez pelo fato de todas as plantas terem sido cultivadas na presença de sulfato antes da aplicação dos tratamentos, durante três dias, não se observou qualquer efeito da adição de sulfato sobre a atividade da sulfúrilase do ATP.

**Tabela 2.** Atividade da sulfúrilase do ATP nas folhas e no sistema radicular de dois cultivares de sorgo na ausência e na presença de Al e de S

Doses do elemento	Atividade da sulfúrilase do ATP				
	Al	Folha		Sistema radicular	
		S	Sensível	Tolerante	Sensível
	mM	mmol Pi liberado h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> MF			
0	0	2,68	2,73	2,17	2,17
	0,6	2,87	2,97	2,39	2,37
Média				2,28 B	2,27 B
0,185	0	2,70	2,88	2,49	2,67
	0,6	2,78	2,75	2,69	2,40
Média				2,59 A	2,54 A

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas no sistema radicular não diferem estatisticamente pelo teste F, a 5% de probabilidade

Nas raízes, independentemente da presença ou não de Al, não se observou diferença significativa na atividade da sulfúrilase do ATP entre os cultivares (Tabela 2). A atividade dessa enzima também não se alterou significativamente com a adição ou não de sulfato à solução nutritiva.

A presença de Al na solução nutritiva, contudo, aumentou a atividade da sulfúrilase do ATP nos dois cultivares. Knecht *et al.* (1995) acreditam que a atividade dessa enzima na presença de metais pesados possa aumentar o substrato para a biossíntese de fitoquelatinas, envolvidas em mecanismos de tolerância a esses metais. O aumento na atividade da sulfúrilase do ATP, observado nas raízes dos dois cultivares (Tabela 2), foi proporcional ao aumento observado no teor de tióis solúveis totais (Tabela 1), indicando a ocorrência de um deslocamento do metabolismo do S para a produção de substâncias como a glutatona (Rüeggsegger *et al.*, 1992), importante precursor da síntese de fitoquelatinas ou atenuador de estresses oxidativos causados por metais (De Vos *et al.*, 1992). Acredita-se, entretanto, que o aumento no teor de tióis solúveis totais detectado neste experimento não seja importante no mecanismo de tolerância destas plantas ao Al.

A atividade total da enzima na parte aérea foi, em média, 9,5 e 5,5 vezes maior do que no sistema

radicular, na ausência e na presença de Al, respectivamente (Tabela 3). Esses números confirmam os resultados de outros autores, segundo os quais, o sulfato é reduzido e, ou, assimilado preferencialmente na parte aérea (Rennenberg, 1984; Marschner, 1995).

**Tabela 3.** Atividade total da sulfúrilase do ATP nas folhas e no sistema radicular de dois cultivares de sorgo na ausência e na presença de Al e de S

Doses do elemento	Atividade da sulfúrilase do ATP					
	Al	S	Parte aérea		Sistema radicular	
			Sensível	Tolerante	Sensível	Tolerante
		mM	mmol Pi liberado h <sup>-1</sup> planta			
0		0	<sup>a</sup> 0,13Bb	<sup>a</sup> 0,25Ba	<sup>a</sup> 0,03Bb	<sup>a</sup> 0,06Ba
		0,6	<sub>a</sub> 1,33Ab	<sub>a</sub> 1,75Aa	<sub>a</sub> 0,10Ab	<sub>a</sub> 0,18Aa
0,185		0	<sup>a</sup> 0,14Bb	<sup>a</sup> 0,27Ba	<sup>a</sup> 0,04Bb	<sup>a</sup> 0,08Ba
		0,6	<sub>b</sub> 0,43Ab	<sub>b</sub> 0,84Aa	<sub>b</sub> 0,07Ab	<sub>b</sub> 0,12Aa

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, sobrescritas e subscritas à esquerda, para as doses 0 e 0,6 mM de S, respectivamente, para cada parte da planta, não diferem estatisticamente pelo teste F, a 5% de probabilidade

A atividade total da enzima na parte aérea aumentou enormemente com a adição de sulfato à solução nutritiva, nos dois cultivares, tendo o cultivar tolerante apresentado maior atividade do que o sensível.

O Al diminuiu significativamente a atividade total da sulfúrilase do ATP apenas na presença de sulfato, nos dois cultivares, não havendo diferença significativa quando se omitiu o S da solução nutritiva. A mesma tendência ocorreu no sistema radicular.

Os aumentos observados na atividade total da sulfúrilase do ATP parecem refletir os efeitos que o Al e o S tiveram sobre a produção de matéria seca pelos dois cultivares e não sobre a atividade da enzima em si.

A atividade da sulfúrilase do ATP na presença de Al também aumentou apenas no sistema radicular dos dois cultivares, independente da presença de S. A atividade total da enzima, ao contrário, foi muito maior na parte aérea e na presença de S, sendo a maior parte dessa eliminada pelo Al.

## Referências bibliográficas

- Adams, C.A.; Johnson, R.E. ATP sulfurylase activity in the soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Plant Physiol.*, 43:2041-2044, 1968.
- Adams, C.A.; Rinne, R.W. Influence of age and sulfur metabolism on ATP sulfurylase activity in the soybean and a survey of selected species. *Plant Physiol.*, 44:1241-1246, 1969.
- Ansari, A.Q.; Bowling, D.J.F. Measurement of the transroot electrical potential of plants grown in soil. *New Phytol.*, 71:111-117, 1972.

- Cacco, G.; Saccomani, M.; Ferrari, G. Development of sulphate uptake capacity and ATP-sulfurylase activity during root elongation in maize. *Plant Physiol.*, 60:582-584, 1977.
- Calbo, A.G.; Cambraia, J. Efeito do alumínio sobre a composição mineral de dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.) *Rev. Ceres*, 27:368-78, 1980.
- Cambraia, J. Mecanismos de tolerância à toxicidade de alumínio em plantas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL. 2, 1989, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: SBFV/ESALQ, 85-92, 1989.
- Clark, R.B. Characterization of phosphatase of intact maize roots. *J. Agric. Food Chem.*, 23:458-460, 1975.
- Clarkson, D.T. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings. *Plant Physiol.*, 41:165-72, 1966.
- Clarkson, D.T. Metabolic aspects of aluminum toxicity and some possible mechanisms for resistance. In: Rorison, I.H. (Ed.). *Ecological aspects of mineral nutrition of plants*. Oxford: Blackwell Scientific, 381-394, 1969.
- Cruz-Ortega, R.; Ownby, J.D. A protein similar to PR (pathogenesis-related) proteins is elicited by metal toxicity in wheat roots. *Physiol. Plant.*, 89:211-219, 1993.
- De Vos, C.H.R.; Vonk, M.J.; Vooijs, R.; Schat, H. Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*. *Plant Physiol.*, 98:853-858, 1992.
- Fageria, N.K.; Zimmermann, F.J.P. Seleção de cultivares de arroz para tolerância à toxicidade do alumínio. *Pesq. Agropec. Brasil.*, 14:41-47, 1979.
- Florijn, P.J.; Knecht, J.A.; Beusichem, M.L. Van. Phytochelatin concentrations and binding state of Cd in roots of maize genotypes differing in shoot/root Cd partitioning. *J. Plant Physiol.*, 142:537-542, 1993.
- Foy, C.D. Effect of aluminum on the uptake and metabolism of phosphorus by barley seedlings. *Plant Physiol.*, 41:165-72, 1966.
- Foy, C.D. Effects of aluminum on plant growth. In: Carson, E.W. (ed.) *The plant root and its environment.*, 1974, p.601-642.
- Foy, C.D. Soil Chemical factors limiting plant root growth. In: Hatfield, J.L.; Stewart, B.A. (ed.). *Limitations to plant root growth*. New York, 1992, p.97-149.
- Foy, C.D.; Fleming, A.L. The physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: Jung, G.A. (ed.). *Crop tolerance to suboptimal land conditions*, 1978, p.301-328.
- Knecht, J.A.; Baren, N. Van, Bookum, W.M.T.; Sang, H.W.W.F.; Koevoets, P.L.M.; Schat, H.; Verkley, J.A.C. Synthesis and degradation of phytochelatin in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Sci.*, 106:8-18, 1995.
- Kochian, L.V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46:237-260, 1995.
- Lindeman, W. Observations on the behaviour of phosphate compounds in *Clorella* at transition from dark to light. In: UNITED NATIONS INTERNATIONAL CONFERENCE ON THE PEACEFUL USES OF ATOMIC ENERGY, 2, 1958, Geneva. *Proceedings...* Geneva, 1958. p.8-15. 24, pt.1: Isotopes in biochemistry and physiology.
- Marschner, H. *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press, 1995. 889p.
- Matsumoto, H.; Hirsawa, F.; Morimura, S.; et al. Localization of aluminum in tea leaves. *Plant Cell Physiol.*, 17:890-895, 1976.
- Minocha, R.; Minocha, S.C.; Stephanie, L.L.; Shortle, W.C. Effects of aluminum on DNA synthesis, cellular polyamines, polyamine biosynthetic enzymes and inorganic ions in cell suspension cultures of a woody plant. *Catharauthus roseus*. *Physiol. Plant.*, 85:417-424, 1992.
- Obata, H.; Umabayashi, M. Production of SH compounds in higher plants of different tolerance to Cd. *Plant and Soil*, 155/156, p.533-536, 1993.
- Pavan, M.A.; Bingham, F.T. Toxicity of aluminum to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 46:993-997, 1982.
- Rennenberg, H. The fate of excess sulfur in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 35:121-153, 1984.
- Reuveny, Z.; Filner, P. Regulation of adenosine triphosphate sulfurylase in cultured tobacco cells. Effects of sulfur and nitrogen sources on the formation and decay of the enzyme. *J. Biol. Chem.*, 252:1858-1864, 1977.
- Roy, K.A.; Sharma, A.; Talukter, G. Some aspects of aluminum toxicity in plants. *Bot. Rev.*, 54:145-78, 1988.
- Rüeggsegger, A.; Brunold, C.H. Effect of cadmium and/or removal of kernels or shoots on the levels of cysteine,  $\gamma$ -glutamyl-cysteine, glutathione, and TCA-soluble thiols in maize seedlings. *Phyton (Horn, Austria) Special issue: "Sulfur metabolism"*, 32:109-112, 1992.
- Schiff, J.A. Reduction and other metabolic reactions of sulfate. In: Lauchli, A.; Bielecky, R.L. (Ed.). *Inorganic plant nutrition*. Berlin: Springer-Verlag, 1983. p.401-421. (Encyclopedia of plant physiology - New series, 15A).
- Schmutz, D.; Brunold, C. Rapid and simple measurement of ATP sulfurylase activity in crude plant extracts using an ATP meter for bioluminescence determination. *Anal. Biochem.*, 121:151-155, 1982.
- Wilkinson, R.E. *Plant-environment Interactions*. New York: Marcel Dekker, 599p. 1994
- Zink, M.W. Regulation of ATP sulfurylase by various nitrogen and sulfur in cultured *Ipomea* sp. *Can. J. Bot.*, 62:2107-2113, 1984.

Received on June 07, 1999.

Accepted on July 28, 1999.