

ANÁLISES QUÍMICAS EM FOLHAS DE CAFEEIROS  
ATACADOS POR *Atta* spp.

P. Mazzafera<sup>1</sup>

INTRODUÇÃO

São praticamente inexistentes referências sobre o ataque de formigas do gênero *Atta* spp. a *Coffea arabica*, a espécie de café mais cultivada. Muito provavelmente isto se explica pelo ataque ser esporádico e, quando ocorre, os danos econômicos são insignificantes. Além disso, o controle com granulados tem apresentado grande eficiência no combate a estas formigas cortadeiras (GALLO et alii, 1978). Por outro lado, é comum o ataque de formigas *Atta* spp. a outras espécies de café, que não são cultivadas comercialmente, causando severa desfolha. Isto tem sido observado para as espécies *C. dewevrei*, *C. salvatrix* e *C. congensis*, que tinham próximas a elas plantas de *C. arabica*, que não eram atacadas (A. Carvalho, comunicação pessoal). Em 1985 foram instalados dois experimentos de produção de café no Centro Experimental de Campinas, do Instituto Agronômico, estando incluída em um deles plantas da progênie H13491, híbridos de *C. arabica* e *C. salvatrix*. No outro experimento estavam incluídas plantas da progênie H12967, híbridos entre *C. arabica* e um híbrido entre *C. salvatrix* e *C. racemosa*. Todas as plantas utilizadas nos cruzamentos possuíam  $2n = 44$  cromossomos. Desde a implantação dos experimentos observou-se o constante ataque de *Atta* spp., afetando o crescimento e a produção das plantas. Ainda hoje, com cinco anos de idade, as plantas são atacadas, sendo cortadas tanto folhas novas como velhas. Representantes de

<sup>1</sup> Unicamp, Campinas, SP.

*C. arabica* próximos a essas plantas não são atacadas. Com o objetivo de averiguar a razão da preferência desses cafeeiros por essas formigas cortadeiras, folhas foram analisadas para uma série de substâncias que poderiam estimular ou inibir o ataque das formigas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas as folhas de quatro plantas da progênie H13491, do experimento de produção (EP) 361, e oito plantas da progênie H12967, do EP 319. Também foram incluídas nas análises representantes legítimos de *C. arabica*, *C. salvatrix* e *C. racemosa*, da coleção de espécies do Instituto Agrônomo, Campinas (SP). Folhas do 2º, 3º e 4º partes foram coletadas dos cafeeiros no período da manhã e acondicionadas em sacos plásticos umedecidos internamente com água. Em laboratório, as folhas foram lavadas com água destilada, congeladas a  $-18^{\circ}\text{C}$  e liofilizadas. O material seco e pulverizado em almofariz foi extraído com metanol: clorofórmio:água (12:5:3, v/v/v) por dois dias a  $5^{\circ}\text{C}$  (BIELESK & TURNER, 1966). A adição de clorofórmio e água em proporções definidas permitiu a separação do extrato em duas fases, uma aquosa-metanólica e outra clorofórmica. Alíquotas da fase aquosa-metanólica foram secas em banho-maria a  $35^{\circ}\text{C}$ , ressuspensas em água destilada e nelas dosou-se o conteúdo de açúcares solúveis (DUBOIS et alii, 1956), tendo sacarose como padrão; aminoácidos livres (COCKING & YEMM, 1954), tendo leucina como padrão; e sacarose (VAN HANDEL, 1968). O resíduo vegetal da solução extratora foi recuperado por filtração e nele dosou-se proteínas, após extração com NaOH 0,1N, pelo método de BRADFORD (1976). Em uma porção de material liofilizado, que havia sido tratada com éter de petróleo  $30-60^{\circ}$ , foi extraída com etanol absoluto a  $5^{\circ}\text{C}$  por uma semana, para a quantificação de fenóis não glicolisados (SWAIN & HILLIS, 1959), empregando-se ácido fênico como padrão. Esse mesmo extrato alcoólico foi utilizado para a separação de taninos (MASQUELIES citado por RIBEREAU-GAYON, 1972) e sua dosagem espectrofotométrica (Pigman et alii, citados por RIBEREAU - GAYON,

1972). Por falta de padrão adequado adotou-se que a maior leitura de absorbância serviria de referência para as outras, calculando-se a porcentagem de cada uma. De uma outra porção do material liofilizado extraiu-se e do sou-se cafeína segundo o método de LOPES (1971). Em uma quarta porção do material vegetal observou-se a presença ou não de glicosídeos cianogênicos (Pursey, 1963, citado por HARBORNE, 1973) e, finalmente, em uma quinta porção quantificou-se o conteúdo de nitrato (GALLO & LOTT, 1965). Os extratos utilizados para a dosagem de açúcares foram, também, cromatografados em papel Whatman nº 3, empregando-se o sistema de solventes acetado de etila : piridina:água:ácido acético:ácido propiônico (50:50:10:5:5, v/v/v/v/v), com duas corridas, secando-se o cromatograma entre elas (WALKLEY & TILLMAN, 1977). Os cromatogramas foram revelados para açúcares redutores com ácido 3,5-dinitrosalisílico (Zweig & Sherma, citados por SIMON & FREEMAN, 1985).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A grande diferença no conteúdo de nitrogênio entre os tecidos de insetos e os de plantas seria a razão para a herbivoria, principalmente considerando-se sementes (SOUTHWOOD, 1972). O crescimento e o sucesso reprodutivo de um inseto dependeria da sua habilidade em ingerir, digerir e converter o nitrogênio vegetal de maneira rápida e eficiente. Entretanto, existe na literatura um grande número de trabalhos contraditórios que com o aumento do conteúdo de nitrogênio no tecido vegetal há aumento da herbivoria por insetos (SCRIBER, 1984). A importância do nitrogênio poderia não implicar diretamente na nutrição do inseto em si, mas no caso de formigas cortadeiras, com a nutrição do fungo que lhes serve de alimento. MARTIN & MARTIN (1970) observaram que na excreção de *Atta colombica tonsipes* havia presença de enzimas proteolíticas, que, depositada sobre o material vegetal, auxiliariam na decomposição do mesmo, tornando o nitrogênio mais disponível ao fungo. O fungo não possuiria as enzimas necessárias para desdobrar compostos protéicos.

Observou-se que três das plantas de H13491 posicionaram-se entre as com menor teor de proteínas (Quadro I). Quanto ao conteúdo de aminoácidos, não se pode observar uma definição de um grupo de plantas. Por outro lado, no cultivar Catuaí de *C. arabica* foi encontrado o maior conteúdo de nitrato.

Quadro I - Conteúdo de proteínas, aminoácidos e nitrato em folhas de cafeeiros.

Experimento	Genótipo	Proteína <sup>1,2</sup>	Aminoácidos	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
		-----	mg/g	-----
361	H13491-1	178,87a	24,79ad	4,30b
	-2	243,17bd	23,56bd	1,75fg
	-3	183,81e	34,92a	1,41g
	-4	177,77e	29,89ac	2,06ef
319	H12967-1	261,55b	28,08ac	2,98cd
	-2	316,27ab	33,99ab	2,78cd
	-3	136,55f	19,45ce	1,48g
	-5	308,60a	27,97ac	1,20g
	-9	260,21b	12,14e	3,24c
	-10	245,92bc	16,35de	1,38g
	-11	260,23b	27,19ac	2,41de
	-13	257,46b	27,60ac	1,32g
	<i>C. racemosa</i>	207,45de	14,58f	3,12c
	<i>S. salvatrix</i>	220,64cd	12,90e	0,52h
	<i>C. arabica</i> cv. Catuaí	235,00bd	16,04de	5,62a

<sup>1</sup> Letras diferentes indicam significância pelo teste de Duncan a 5%.

<sup>2</sup> Médias de seis repetições.

Considerando-se a controvérsia sobre o papel do nitrogênio em plantas e sua relação com o ataque por insetos, Catuaí não poderia, a princípio, ser incluído na

hipótese de que o maior conteúdo desse elemento conferiria um maior ataque por *Atta* spp. Para melhor averiguação dessa possibilidade, cafeeiros de diferentes espécies e com diferentes níveis do elemento nas folhas, através do fornecimento de diferentes doses de um determinado adubo, deveriam ser expostas ao ataque de formigas. Quanto aos resultados obtidos nas dosagens de açúcares, (Quadro II) é curioso notar que o Catuaí foi o cafeeiro com menor conteúdo de açúcares solúveis, mediano teor de sacarose, entretanto, com maior proporção de sacarose em relação aos açúcares solúveis. Indiretamente, isto implicaria no fato de que a quantidade de açúcares redutores nesse cafeeiro seria menor do que nos outros cafeeiros.

CHERRET & SEAFORTH (1970), estudando os componentes químicos do albedo de toranja (grapefruit), observaram que a mistura de sacarose, frutose e glicose atraíam *A. cephalotes*, mas não *Acromyrmex octospinosus*. As proporções usadas foram duas, sacarose e glicose 2% em água, e a mesma solução mais a adição de frutose 1%. As concentrações procuravam imitar os níveis fisiológicos encontrados no albedo do fruto. Tais dados poderiam indicar a participação de açúcares redutores na atração de *A. cephalotes*, no entanto, Barrer & Cherret (citados por CHERRET & SEAFORTH, 1970) demonstraram que solução de sacarose espalhada sobre a superfície de discos foliares da mesma planta aumentada o ataque de *A. cephalotes*.

Os cromatogramas desenvolvidos a partir dos extratos aquoso-metanólicos de algumas plantas mostraram exclusivamente a presença de glicose. A escolha das plantas para essa análise foi em função da proporção de sacarose nos açúcares solúveis. O quadro II mostra a ordem decrescente de acordo com a intensidade das manchas nos cromatogramas revelados.

O cafeeiro H12967-1 possuía, nitidamente, mais glicose que os demais. Com manchas menos intensas apareceram H13491-1, *C. racemosa* e *C. salvatrix* em um mesmo grupo, que também se diferenciava visualmente dos cultivares H13491-3 e Catuaí, que vinham em seguida. Os cafeeiros H12967-10 e H12967-5 foram os que apresentaram menos glicose.

Quadro II - Conteúdo de açúcares solúveis e sacarose, proporção de sacarose em relação a açúcares solúveis e, para alguns cafeeiros, ordem decrescente de glicose em função da intensidade das manchas nos cromatogramas revelados.

Experimento	Genótipo	Açúcares <sup>1,2</sup> solúveis (mg/g)	Sacarose (mg/g)	% sacarose	Glicose
361	H13491-1	98,49a	17,06g	17,40hi	20
	-2	101,62ac	22,94de	22,57cg	
	-3	112,80ab	20,55f	16,47i	50
	-4	98,49ad	25,06bc	25,45bd	
319	H12967-1	84,98de	17,06g	20,07fi	10
	-2	97,90bd	25,88ab	26,49bc	
	-3	97,19cd	24,32cd	25,06be	
	-5	104,87ac	27,12a	25,87bd	80
	-9	102,38ac	21,24f	20,76ei	
	-10	113,69a	22,02ef	19,36gi	70
	-11	84,48de	18,16g	21,71dh	
-13	106,22ac	25,88ab	24,44bf		
<i>C. racemosa</i>		83,76de	23,40de	27,98b	30
<i>C. salvatrix</i>		112,72ab	23,35de	32,75a	40
<i>C. arabica</i> cv. <i>Catuai</i>		72,95e	23,82cd	20,79ei	60

1 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Duncan a 5%

2 Médias de seis repetições

Com estes resultados, a suposição de que a maior proporção de sacarose representaria menor conteúdo de açúcares redutores parece não ser correta, pois *C. racemosa* apresentou alta porcentagem de sacarose e posicionou-se entre aquelas com mais glicose, enquanto que para H12967-10 ocorreu justamente o contrário. Polissacarídeos solúveis poderiam explicar tais diferenças.

SCRIBER (1984) definiu como aleloquímicos substâncias não nutrientes produzidas por um organismo, no caso uma planta, que afetariam o comportamento, saúde ou sanidade ecológica de um outro organismo. Estariam incluídas nessa classe uma série de substâncias, em sua maioria participantes do metabolismo secundário, tendo como exemplos aminoácidos tóxicos, glicosídeos cianogênicos, terpenóides, fenóis, taninos, lipídeos tóxicos, etc. Todavia, REESE (1979) advertiu que o efeito aleloquímico seria dependente tanto da concentração como da situação, ou melhor, dos organismos envolvidos.

Não só em café (MAZZAFERA & MAGALHÃES, 1989) como em outras plantas (KOSUGE, 1969) os compostos fenólicos, particularmente os flavonóides, têm sido relacionados com a resistência a doenças. Entretanto, considerando-se o aspecto quantitativo, verifica-se (Quadro III) que o cultivar Catuaí, pouco atacado por *Atta* spp., foi o cafeeiro que apresentou o menor conteúdo dessas substâncias, enquanto que *C. salvatrix*, que é atacado, apresentou grande quantidade de fenóis.

Quanto ao conteúdo de taninos também não foi possível concluir a respeito de sua participação como aleloquímicos, desde que *C. salvatrix* apresentou o mesmo nível que o cultivar Catuaí e H13491-2, que possuíam o maior teor. Quanto aos glicosídeos cianogênicos, não se constatou sua presença em nenhum dos cafeeiros analisados.

NATHANSON (1984) observou o efeito inibitório de cafeína no desenvolvimento de larvas de *Manduca sexta*. Apesar de ainda não se conhecer o papel fisiológico desse alcalóide em plantas de café, tem sido sugerido, além do efeito observado por NATHANSON (1984), que o mesmo tenha função alelopática (WALLER & CHOU, 1980) ou ainda que

Quadro III - Conteúdo de fenóis, taninos e cafeína em folhas de cafeeiros.

Exp.	Genótipo	Fenóis <sup>1,2</sup> (mg/g)	Taninos <sup>3</sup> (mg/g)	Cafeína <sup>4</sup> (%)	Glicosídeos Cianogênicos	Produção anual média (87-90) (g)	
361	H13491-1	143,26c	56,10b	0,250b	nd	67	
	-2	119,07e	17,90ef	0,200bc	nd	330	
	-3	151,80a	100,00a	0,215bc	nd	0	
	-4	93,79h	42,70bc	0,144cd	nd	183	
	H12967-1		63,43k	19,30ef	0,013e	nd	80
		-2	109,27f	34,05ce	0,017e	nd	430
		-3	130,88d	39,50bd	nd	nd	990
		-5	101,60g	34,25ce	0,016e	nd	560
		-9	119,52e	41,15bd	0,010e	nd	1180
	-10	140,79c	43,05bc	0,035e	nd	1160	
	-11	111,99f	17,70ef	0,012e	nd	810	
	-13	110,45f	57,15b	nd	nd	390	
	<i>C. racemosa</i>		74,41j	10,05f	0,059de	nd	-
<i>C. salvatrix</i>		146,43b	13,55f	0,064de	nd	-	
<i>C. arabica</i> cv. Catuaí		78,04i	22,15d	0,860a	nd	-	

1 Médias de seis repetições

2 Letras diferentes indicam significância pelo teste de Duncan a 5%

3 Na falta de padrão adequado tomou-se a maior leitura de absorbância como referência

4 nd = não detectado



se comporte como reserva de nitrogênio para o processo de germinação (BAUMAN & GABRIEL, 1984).

Pode-se observar que o conteúdo de cafeína foi bem distinto entre plantas do EP 319, do EP 361 e os representantes dos parentais (Quadro III). As folhas dos híbridos apresentaram menos cafeína do que o cultivar Catuaí, cujo resultado juntamente com os de *C. salvatrix* e *C. racemosa* são confirmados por aqueles obtidos por MAZZAFERRA (1990).

Apesar desses resultados indicarem uma possível relação da cafeína com o ataque de *Atta* spp., as considerações a respeito devem ser feitas com reserva porque, ainda que esporádico, ocorre o ataque a cafeeiros com teor de cafeína nas folhas próximo a 1%, como no cultivar Catuaí. Deve-se considerar ainda que, apesar de baixo, os valores encontrados para os cafeeiros do EP 31 são redor de quinze vezes superiores aos do EP 319, o que representa um quarto do encontrado no Catuaí. Ajusta-se muito bem a essa situação o conceito de defesas químicas quantitativas e qualitativas, proposto por Feeny, 1975, citado por SCRIBER (1984). Para o efeito quantitativo estariam inclusas as substâncias que reduzem a digestibilidade e agiriam de acordo com sua concentração nas plantas, enquanto que para o efeito qualitativo estariam inclusas aquelas substâncias cujas atividades seriam efetivas em baixa concentração e exigiriam pouco gasto energético para serem produzidas pela planta. O presente caso indica que a cafeína poderia ser classificada como uma defesa quantitativa. NATHANSON (1984) relatou que a inibição ao ataque de *M. sexta* a folhas de fumo era dependente da quantidade de cafeína fornecida, seja na forma de extrato aquoso de pó de café e de chá ou como droga pura espalhada sobre a superfície.

CHERRET & SEAFORTH (1970), que fracionaram com diferentes solventes o albedo de toranja e testaram a atração que cada uma delas exercia sobre *A. cephalotes* e *A. octospinosus*, concluíram que os resultados mais efetivos foram obtidos com a fração que representaria uma mistura de carboidratos, aminoácidos e compostos fenólicos e outros glicosídeos não retidos em coluna de poliamida. Su-

pos-se que o ataque dessas formigas cortadeiras a tal vegetal seria devido não somente a um composto atrativo presente, ou devido à ausência de um repelente, e sim resultante da ação conjunta de várias substâncias. Neste contexto, poderia ser explicado o ataque a plantas com cafeína nas folhas, como é o caso do cultivar Catuaí, ou mesmo aos híbridos H13491, com 0,2% do alcalóide. Outra possibilidade é o efeito de determinado repelente no fungo que serve de alimento às formigas. Ou as formigas achariam repelentes as mesmas substâncias que prejudicariam o desenvolvimento do fungo, ou o efeito repelente seria tal que impediria o corte do tecido vegetal (CHERRET, 1972).

#### AGRADECIMENTOS

O autor é grato ao Dr. Alcides Carvalho, da Seção de Genética do Instituto Agrônomo, Campinas (SP), por estimular o interesse pelo assunto e pela facilidade ao acesso do material vegetal.

#### RESUMO

Cafeeiros instalados em experimentos de campo, híbridos de *C. arabica* com *C. salvatrix* e de *C. arabica* com um híbrido de *C. salvatrix* e *C. racemosa*, todos com ploidia  $2n=44$ , tiveram suas folhas analisadas em função do constante ataque de *Atta* spp. Plantas de *C. arabica* próximas não eram atacadas. Analisaram-se proteínas, aminoácidos, nitrato, fenóis, taninos, açúcares solúveis, sacarose, cafeína e glicosídeos cianogênicos. Folhas dos cafeeiros oriundos da hibridação *C. arabica* x *C. salvatrix* possuíam cafeína ao redor de 0,200%, enquanto que em *C. arabica* x (*C. salvatrix* x *C. racemosa*) o nível foi de 0,015%. Representantes legítimos de *C. arabica*, *C. salvatrix* e *C. racemosa* apresentaram, respectivamente, 0,860%, 0,064% e 0,059% de cafeína nas folhas. Com exceção de nitrato, em que *C. arabica* apresentou o maior teor, não se observaram agrupamentos definidos de cafeeiros em relação às outras substâncias analisadas. Discu-

te-se o papel da cafeína como composto repelente e a participação das outras substâncias no ataque de folhas de café por *Atta* spp. Concluiu-se que cafeína seria uma defesa química quantitativa, ou melhor, que atuaria em função de sua concentração no tecido vegetal.

## SUMMARY

CHEMICAL ANALYSES IN LEAVES OF COFFEE PLANTS  
ATTACKED BY *Atta* spp.

Leaves of inter-specific coffee hybrids were analysed for some substances on account of the continuous cutting by *Atta* spp. The coffee trees were hybrids of *C. arabica* and *C. salvatrix*, and of *C. arabica* and a hybrid of *C. salvatrix* and *C. racemosa*. Proteins, amino acids, nitrate, phenolics, tannins, soluble sugars, sucrose, caffeine and cyanogenic glycosides were evaluated. Plants of *C. arabica* x *C. salvatrix* presented caffeine level around 0.200% and those of *C. arabica* x (*C. salvatrix* x *C. racemosa*) 0.015%. The parentals *C. arabica*, *C. salvatrix* and *C. racemosa* presented, respectively, 0.806%, 0.064% and 0.059%. Nitrate contents was highest in *C. arabica*. A possible repellent effect of caffeine and the role of the other substances in the attack of *Atta* spp. on coffee trees is discussed. Caffeine would be a quantitative chemical defense, in other words, it would depend on its concentration in the coffee leaves.

## LITERATURA CITADA

- ARNON, D.I., 1949. Cooper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiol.**, 24: 1.
- BAUMANN, T.W. & H. GABRIEL, 1984. Metabolism and excretion of caffeine during germination of *Coffea arabica* L. **Plant Cell. Physiol.**, 25(8): 1431-1436.

- BIELESK, R.L. & N.A. TURNER, 1966. Separation and stimulation of amino acids in crude plant extracts by thin layer chromatography. *Anal. Biochem.*, 17: 278-282.
- BRADFORD, M.M., 1976. A rapide and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-251.
- CHERRET, J.M. & C.E. SEAFORTH, 1970. Phytochemical ar-restants for the leaf cutting ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus*, with some notes on the ants' response. *Bull. Ent. Res.*, 59: 615-625.
- COCKING, E.C. & E.W. YEMM, 1954. Estimation of amino acids by ninhidrin. *Biochem. J.*, 58: xii-xiii.
- DUBOIS, M.K.; K.A. HILLER; J.K. HAMILTON, P.A. RIBERS & T. SMITH, 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- GALLO, D.; O. NAKANO, S. SILVEIRA NETO; R.P. CARVALHO; G.C. de BATISTA; E. BERTI FILHO; J.R.P. PARRA; R.A. ZUCCHI & S.B. ALVES, 1978. *Manual de Entomologia Agrícola*, Editora Agrônômica Ceres Ltda. São Paulo, pp. 280-290.
- GALLO, J.R. & W.L. LOTT, 1965. Método simplificado para determinação de nitrato nas folhas, com ácido fenoldissulfônico. *Bragantia*, 24: iii-vii.
- HARBORNE, J.B., 1973. Nitrogen Compounds. In: *Phytochemical Methods*, Chapman & Hall, London, pp.166-211.
- KOSUGE, T., 1969. The role of phenolic in the host response infection. *Annual Review of Plant Physiol.*, 7: 195-222.
- LOPES, H.J., 1971. Teor de cafeína em cafés espontâneos de Moçambique. In: *Colloque International sur le Café (ASIC)*, V, Lisbone, pp.63-69.
- MARTIN, M.M. & J.S. MARTIN, 1970. The biochemical basis for the symbiosis between the ant *Atta colombica tonsipes* and its food fungus. *J. Insect Physiol.*, 16: 109-119.

- MAZZAFERA, P., 1990. Metabolismo de cafeína em espécies de café (*Coffea* L.). Universidade Estadual de Campinas, Campinas (SP), Tese de doutorado, p.79.
- MAZZAFERA, P. & A.C.N. MAGALHÃES, 1989. Resistência induzida no complexo *Coffea arabica* . - *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.: Fenóis e enzimas. **Turrialba**, 39 (3): 334-345.
- NATHANSON, J.A., 1984. Caffeine and related methylxanthines: Possible naturally occurring pesticides. **Science**, 226(4671): 184-187.
- REESE, J.C., 1979. Interactions of allelochemicals with nutrients in herbivore food. In: **Herbivore Interactions with Secondary Metabolites**, G.A. Rosenthal & DDD H. Jangen (eds.), Academic Press, New York, pp. 309-330.
- RIBEREAU-GAYON, P., 1972. Tannins. In: **Plant Phenolics**, Oliver & Boyd, Edinburg, pp.169-197.
- SCRIBER, J.M., 1984. Host plant suitability. In: **Chemical Ecology of Insects**, W.J. Beale & R.T. Cardé (eds), Chapman & Hall Ltd, pp.159-202.
- SIMON, P.W. & R.E. FREEMAN, 1985. A rapide method for screening reducing sugars in carrot roots. **Hort-Science**, 20(1): 133-134.
- SOUTHWOOD, T.R.E., 1972. The insect/plant relationship - an evolutionary perspective. In: **Insect Plant Relationships**, H.F. Van Eenden (ed.), Symp. R. Ent. Soc., London, nº 6: 3-30.
- SWAIN, T. & W.E. HILLIS, 1959. The phenolic of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.**, 10: 63-68.
- VAN HANDEL, E., 1968. Direct microdetermination of sucrose. **Anal. Biochem.**, 22: 280-283.
- WALKLEY, J.W. & J. TILLMAN, 1977. A simple thin - layer chromatography technique for the separation of mono and oligosaccharides. **J. Chromat.**, 132: 172-174.
- WALLER, G.R. & C.H. CHOU, 1980. Allelopathic constituent of *Coffea arabica* caffeine, dimethylxanthines and plant phenolics. In: **Colloque International sur le Cafe (ASIC)**, IX, London, pp.619-629.